

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

TRẦN YẾN NGÀ

**TÁC ĐỘNG CỦA LASER CÔNG SUẤT THẤP
LÊN NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI
VÀ ỨNG DỤNG LÂM SÀNG**

Ngành: RĂNG HÀM MẶT

Mã số: 62720601

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. HỒ CHÍ MINH, Năm 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

TRẦN YẾN NGA

**TÁC ĐỘNG CỦA LASER CÔNG SUẤT THẤP
LÊN NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI
VÀ ỨNG DỤNG LÂM SÀNG**

Ngành: RĂNG HÀM MẶT

Mã số: 62720601

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học: GS.TS. HOÀNG TỬ HÙNG

TP. HỒ CHÍ MINH, Năm 2021

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là trung thực, khách quan và chưa từng được công bố ở bất kỳ nơi nào.

Tác giả luận án

Trần Yên Nga

MỤC LỤC

Trang

Trang phụ bìa	
Lời cam đoan	
Mục lục	
DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT VÀ ĐỐI CHIẾU THUẬT NGỮ VIỆT – ANH ...	i
DANH MỤC CÁC BẢNG	iv
DANH MỤC CÁC HÌNH	vi
DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ	vii
MỞ ĐẦU	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1 ĐẶC ĐIỂM ĐIỀU TRỊ CỦA LASER DIODE.....	3
1.2 NGHIÊN CỨU IN VITRO TÁC ĐỘNG CỦA LASER CÔNG SUẤT THẤP LÊN NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI	11
1.3 ỨNG DỤNG LÂM SÀNG LASER CÔNG SUẤT THẤP ĐIỀU TRỊ VIÊM NHA CHU	19
1.4 NHẬN ĐỊNH CHUNG TỪ TỔNG QUAN.....	26
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	27
2.1 NGHIÊN CỨU IN VITRO	27
2.2 NGHIÊN CỨU LÂM SÀNG	38
2.3 VẤN ĐỀ Y ĐỨC	51
2.4 TÓM TẮT CÁC QUI TRÌNH NGHIÊN CỨU.....	52
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	54
3.1 TÁC ĐỘNG CỦA LASER LÊN SỰ TĂNG SINH VÀ DI CƯ CỦA NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI.....	54
3.2 SO SÁNH HIỆU QUẢ LÂM SÀNG GIỮA HAI PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ PHẪU THUẬT VẬT CÓ VÀ KHÔNG KẾT HỢP VỚI LASER SAU 3, 6, VÀ 9 THÁNG.....	66
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	87
4.1 TÁC ĐỘNG CỦA LASER LÊN SỰ TĂNG SINH VÀ DI CƯ CỦA NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI.....	87
4.2 SO SÁNH HIỆU QUẢ LÂM SÀNG GIỮA HAI PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ PHẪU THUẬT CÓ VÀ KHÔNG KẾT HỢP VỚI LASER SAU 3, 6, VÀ 9 THÁNG ..	98

4.3 Ý NGHĨA ỨNG DỤNG CỦA ĐỀ TÀI	120
4.4 HẠN CHẾ CỦA ĐỀ TÀI.....	120
KẾT LUẬN.....	121
KIẾN NGHỊ.....	123
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT VÀ ĐỐI CHIẾU THUẬT NGỮ VIỆT – ANH

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
LC-XLMCR	Scaling and root planing	Lấy cao - Xử lý mặt chân răng
NBS	Fibroblast	Nguyên bào sợi
VNC	Periodontitite	Viêm nha chu
VSRM		Vệ sinh răng miệng
Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
AAP	American Academy of Periondontology	Hiệp hội Nha chu Hoa kỳ
bFGF	Basic fibroblast growth factor	Yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi cơ bản
BOP	Bleeding on probing	Chảy máu khi thăm khám
CAL	Clinical attachment loss	Mất bám dính lâm sàng
COL-I	Collagen type I	
EGF	Epidermal growth factor	Yếu tố tăng trưởng thượng bì
GI	Gingival index	Chỉ số nướu
GR	Gingival recession	Tụt nướu
IGF-1	Insulin-like growth factor	Yếu tố tăng trưởng dạng insulin
IGFBP3	IGF-1 binding proteins	
IL-1 β	Interleukin-1 β	
KGF	Keratinocyte growth factor	Yếu tố tăng trưởng tế bào sừng
LASER	Light Amplification by the Stimulated Emission of Radiation	Khuếch đại ánh sáng bằng phát xạ cưỡng bức

Viết tắt	Tiếng Anh	Tiếng Việt
MMP-1	Matrix metalloproteinase	
MTT	3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide	
PD	Pocket depth	Độ sâu túi
PGE ₂	Prostaglandin E ₂	
PII	Plaque index	Chỉ số mảng bám
PBI	Papillary bleeding index	Chỉ số chảy máu gai nướu
SBI	Sulcus bleeding index	Chỉ số chảy máu khe nướu
TGF-β1	Transforming growth factor -β1	Yếu tố tăng trưởng chuyển đổi β1
TIMP-1	Tissue inhibitor matrix metalloproteinase	
TM	Tooth mobility	Lung lay răng
TNFα	Tumor necrosis factor α	
tPA/PAI	tissue plasminogen activator/ plasminogen activator inhibition	
VAS	Visual analogue scale	
VEGF	Vascular endothelial growth factor	Yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu

Viết tắt tên vi khuẩn

Viết tắt	Viết đầy đủ
<i>A. actinomycetemcomutans</i>	<i>Actinomyces actinomycetemcomutans</i>
<i>F. nucleatum</i>	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>P. intermedia</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>P. melaninogenica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>P. nigrescences</i>	<i>Prevotella nigrescences</i>
<i>T. denticola</i>	<i>Treponema denticola</i>
<i>T. forsythensis</i>	<i>Tannerella forsythensis</i>

Tiếng Việt	Tiếng Anh
Bám dính biểu mô kéo dài	Long epithelial attachment
Bám dính mô liên kết	Connective tissue attachment
Cân bằng nội môi	Homeostasis
Cận tiết	Paracrine
Di cư	Migration
Điều hoà sinh học	Biomodulation
Lấy cao răng- Xử lý mặt chân răng	Scaling and root planing
Kích thích sinh học	Biostimulation
Laser công suất thấp	Low- power laser
Laser mức năng lượng thấp	Low-level laser
Liệu pháp quang động học	Photodynamic therapy
Mật độ công suất	Power density
Mật độ năng lượng	Energy density
Nguyên bào sợi dây chằng nha chu	Periodontal ligament fibroblast
Nướu= Lợi	Gingiva
Tác động quang hoá	Photochemical effect
Tác động quang nhiệt	Photothermal effect
Tăng sinh	Proliferation
Tự tiết	Autocrine
Viêm nha chu	Periodontitis
Yếu tố tăng trưởng	Growth factor

DANH MỤC CÁC BẢNG

	Trang
Bảng 1.1 Các laser thường dùng trong điều trị bệnh nha chu và bệnh quanh Implant.....	3
Bảng 1.2 Tóm tắt các thông số và các đáp ứng tế bào trong các nghiên cứu đánh giá tác động của laser lên NBS nướu người	18
Bảng 1.3 Tóm tắt các thông số trong các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng laser tác dụng kích thích sinh học	25
Bảng 2.4 Tóm tắt các biến trong nghiên cứu <i>in vitro</i>	28
Bảng 2.5 Tóm tắt các thông số cài đặt cho các nhóm trong nghiên cứu <i>in vitro</i>	33
Bảng 2.6 Tóm tắt các biến trong nghiên cứu lâm sàng.....	44
Bảng 3.7 So sánh giá trị mật độ quang giữa các thời điểm trong cùng nhóm	55
Bảng 3.8 So sánh giá trị mật độ quang giữa các nhóm tại mỗi thời điểm	56
Bảng 3.9 Tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào ở mỗi nhóm tại các thời điểm trước chiếu và sau chiếu 24, 48 giờ.....	63
Bảng 3.10 So sánh tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào giữa từng cặp nhóm.....	63
Bảng 3.11 Đặc điểm mẫu trong nghiên cứu lâm sàng	66
Bảng 3.12 Đặc điểm lâm sàng của mẫu nghiên cứu trước phẫu thuật.....	67
Bảng 3.13 Thay đổi các chỉ số nha chu lâm sàng trước và sau điều trị ở mỗi nhóm.....	68
Bảng 3.14 Các chỉ số nha chu lâm sàng của hai nhóm sau 3, 6, 9 tháng điều trị	70
Bảng 3.15 Các chỉ số GI, PD, GR, CAL trước và sau điều trị ở các túi 5-6 mm	71
Bảng 3.16 Các chỉ số GI, PD, GR, CAL trước và sau điều trị ở các túi ≥ 7 mm	73
Bảng 3.17 Số lượng các túi nha chu ở các thời điểm trước và sau điều trị.....	76
Bảng 3.18 Tỷ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 7 mm	77
Bảng 3.19 Đặc điểm lâm sàng của nam hút thuốc lá trước phẫu thuật.....	78
Bảng 3.20 Thay đổi các chỉ số nha chu lâm sàng trước và sau điều trị trên đối tượng nam có hút thuốc lá.....	79

Bảng 3.21 Các chỉ số nha chu lâm sàng của hai nhóm sau 3, 6, 9 tháng điều trị đối tượng nam hút thuốc lá	81
Bảng 3.22 Số lượng các túi nha chu ở các thời điểm trước và sau điều trị ở nam hút thuốc lá.....	82
Bảng 3.23 Tỷ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 5 mm	83
Bảng 3.24 Đặc điểm lâm sàng ở nhóm nam điều trị có kết hợp laser tại thời điểm trước phẫu thuật	84
Bảng 3.25 Các chỉ số PD, GR, CAL trước và sau điều trị ở nhóm nam hút và không hút thuốc lá.....	85
Bảng 4.26 Trung bình độ sâu túi trước điều trị ở các nghiên cứu ứng dụng laser trong điều trị phẫu thuật.....	106
Bảng 4.27 Tóm tắt các nghiên cứu ứng dụng laser ánh sáng hồng ngoại trên đối tượng bệnh nhân hút thuốc lá.....	113

DANH MỤC CÁC HÌNH

	Trang
Hình 1.1 Các bước sóng của laser diode trong phổ điện từ	4
Hình 1.2 Vai trò của nguyên bào sợi nướu trong duy trì cân bằng nội môi	12
Hình 1.3 Kỹ thuật phẫu thuật vật Widman biến đổi	24
Hình 2.4 Hình lâm sàng phẫu thuật cắt nướu vì lý do thẩm mỹ và mẫu mô nướu ...	28
thu nhận được.....	28
Hình 2.5 Thiết bị laser Picasso Lite	30
Hình 2.6 Phân lập và nuôi cấy nguyên bào sợi nướu người	31
Hình 2.7 Đầu chiếu đường kính 400 μ m	32
Hình 2.8 Bố trí các giếng tế bào trong thử nghiệm đánh giá tăng sinh tế bào	33
Hình 2.9 Vết thương <i>in vitro</i> và bố trí các nhóm thử nghiệm trên đĩa 35 mm	35
Hình 2.10 Vết thương <i>in vitro</i> và sự di cư tế bào vào vết thương	36
Hình 2.11 Phương pháp đo độ sâu túi nha chu (PD) và mắt bám dính lâm sàng (CAL).....	42
Hình 2.12 Liên quan giữa độ sâu túi PD và mắt bám dính lâm sàng CAL.....	43
Hình 2.13 Đánh giá chỉ số chảy máu khi thăm khám (BOP).....	43
Hình 2.14 Dụng cụ đo túi UNC-15 và bộ dụng cụ phẫu thuật.....	46
Hình 2.15 Các đường rạch trong kỹ thuật vật Widman biến đổi [98].	47
Hình 2.16 Mặt ngoài vạt sau loại bỏ biểu mô bằng laser theo kỹ thuật chiếu tiếp xúc	48
Hình 2.17 Minh họa hai vùng chiếu laser ở mặt ngoài vạt trên mỗi răng theo kỹ thuật chiếu không tiếp xúc	48
Hình 3.18 Vết thương <i>in vitro</i> và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm chứng và nhóm 1 ghi nhận bằng máy ảnh	58
Hình 3.19 Vết thương <i>in vitro</i> và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm 2 và nhóm 3 ghi nhận bằng máy ảnh	59
Hình 3.20 Vết thương <i>in vitro</i> và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm chứng và nhóm 1 phân tích với phần mềm Image J 1.50i	60
Hình 3.21 Vết thương <i>in vitro</i> và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm 2 và nhóm 3 phân tích với phần mềm Image J 1.50i	61
Hình 3.22 Vùng vô bào ở các nhóm qua các mốc thời gian phân tích với phần mềm Image J 1.50i.....	62

DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ, SƠ ĐỒ

	Trang
Biểu đồ 3.1 Tăng sinh ở mỗi nhóm thử nghiệm qua các mốc thời gian	54
Biểu đồ 3.2 So sánh tăng sinh tế bào giữa các nhóm ở ngày 9	57
Biểu đồ 3.3 Tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào ở mỗi nhóm	64
qua các mốc thời gian	64
Biểu đồ 3.4 So sánh tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào giữa các nhóm	64
qua các mốc thời gian	64
Biểu đồ 3.5 Mức giảm độ sâu túi ở các túi 5-6 mm và túi ≥ 7 mm	75
Biểu đồ 3.6 Mức cải thiện mất bám dính lâm sàng ở các túi 5-6 mm và túi ≥ 7 mm	75
Sơ đồ 2.1. Tóm tắt qui trình nghiên cứu <i>in vitro</i>	52
Sơ đồ 2.2. Tóm tắt qui trình nghiên cứu lâm sàng	53

MỞ ĐẦU

Viêm nha chu là bệnh mạn tính, đa nguyên nhân, là kết quả của tương tác phức tạp giữa vi khuẩn gây bệnh nha chu và ký chủ. Các vi khuẩn gây bệnh phóng thích nhiều loại enzyme, độc tố và hoá chất trung gian có tác động hoạt hóa và kéo dài đáp ứng viêm của ký chủ. Hậu quả sau cùng của tương tác này gây phá hủy mô nha chu, kích thích tiêu xương ổ răng dẫn đến mất răng. Hiện nay, nhiều liên quan giữa viêm nha chu với một số bệnh toàn thân đã và đang được xác định. Việc điều trị hay kiểm soát viêm nha chu không chỉ để giữ răng mà còn mang ý nghĩa dự phòng bệnh toàn thân cũng như các biến chứng của chúng [45].

Trong điều trị viêm nha chu, lấy cao- xử lý mặt chân răng là điều trị cơ bản và là chuẩn vàng đối với bệnh nha chu do mảng bám. Dù vậy, chỉ với lấy cao- xử lý mặt chân răng có thể không ngăn được sự xâm lấn của vi khuẩn gây bệnh, không đạt được sự lành thương tối ưu và gây mất chất mô răng khi lặp lại điều trị [15]. Cùng với các thuốc kháng khuẩn, laser hiện được xem là biện pháp hỗ trợ cho cả điều trị nha chu không phẫu thuật và phẫu thuật [15], [32]. Lợi ích mong đợi nhiều ở laser là tác động diệt khuẩn, khuyến khích tạo bám dính mới, kích thích tái tạo mô và giảm tác dụng phụ sau điều trị [85].

Các nghiên cứu *in vitro* về sự tăng nhiệt độ trong mô, sự thay đổi hình thái và tính tương hợp sinh học của mặt chân răng, khả năng diệt khuẩn và chức năng sinh học của các tế bào thuộc mô nha chu dưới tác động của laser là cơ sở để thiết lập, chọn lựa các thông số an toàn và mang lại lợi ích cho điều trị. Kết quả các đáp ứng sinh học tế bào dưới tác động của laser có ý nghĩa về tiềm năng sử dụng laser hỗ trợ điều trị đồng thời giúp giải thích cơ chế tác động của laser lên quá trình sửa chữa và tái tạo mô nha chu [100].

Hiệu quả ứng dụng lâm sàng của laser còn khác biệt giữa các nghiên cứu. Một số nghiên cứu dùng laser kết hợp với lấy cao- xử lý mặt chân răng không phẫu thuật hay phẫu thuật có thể giúp nâng cao và kéo dài hiệu quả lâm sàng [9], [18], [107], giảm lượng vi khuẩn dưới nướu [51], [123], cải thiện các chỉ số sinh hóa và

tế bào [46], [92], giảm đau, giảm biến chứng sau phẫu thuật [59], [108], ức chế sự tiêu xương và kích thích tái tạo mô [27]. Trong khi một số khác chỉ tìm thấy ít lợi ích hoặc không tìm thấy lợi ích thêm vào nào so với điều trị kinh điển [13], [23], [39], [50], [82].

Điều đáng lưu ý là cả trong kết hợp với điều trị nha chu phẫu thuật và không phẫu thuật, cách sử dụng laser là đa dạng và các chuẩn mực về thông số chưa được xác định [29], [83], [101], [114]. Sự đa dạng về thiết bị và thông số kỹ thuật riêng ở mỗi thiết bị khiến cho việc chọn thông số làm việc trở nên khó khăn và thiếu cơ sở lý giải. Do vậy, việc tìm hiểu ý nghĩa tác động của các thông số và hiệu quả ứng dụng chúng trong lâm sàng là cần thiết.

Tại Việt Nam, laser diode 810 nm là loại laser đang được quan tâm trong điều trị nha khoa vì có nhiều ứng dụng. Hiện chỉ có một số ít nghiên cứu về laser trong chuyên khoa Răng Hàm Mặt [1], [5], [7], chưa có nghiên cứu cơ bản và còn rất ít nghiên cứu ứng dụng lâm sàng của laser trong chuyên khoa nha chu [3].

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU TỔNG QUÁT

Đánh giá tác động của laser diode công suất thấp lên nguyên bào sợi nướu người và ứng dụng lâm sàng trong điều trị viêm nha chu.

MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU CHUYÊN BIỆT

1. Đánh giá tác động của laser diode 810 nm với các thông số chiếu khác nhau lên sự tăng sinh và sự di cư của nguyên bào sợi nướu người.
2. So sánh hiệu quả lâm sàng giữa hai phương pháp điều trị phẫu thuật vạt có và không kết hợp với laser diode 810 nm sau 3, 6, và 9 tháng.

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1 ĐẶC ĐIỂM ĐIỀU TRỊ CỦA LASER DIODE

1.1.1 Giới thiệu chung về laser diode

Laser là từ viết tắt, được tạo nên từ 5 chữ cái đầu tiên trong cụm từ tiếng Anh: Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, dịch theo tiếng Việt có nghĩa là *khuếch đại ánh sáng bằng phát xạ cưỡng bức*. Laser không thuộc loại bức xạ ion hóa như tia gamma hay tia X, do đó không chứa đựng nguy cơ gây bệnh ung thư hay đột biến di truyền như biến đổi gen, thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể, cấu trúc tế bào [6].

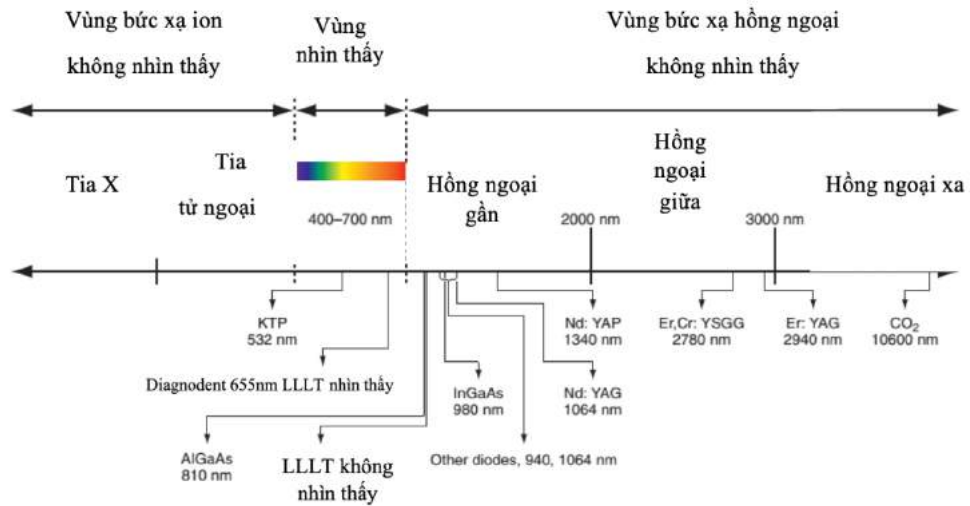
Bảng 1.1 Các laser thường dùng trong điều trị bệnh nha chu và bệnh quanh Implant

Môi trường hoạt chất	Tên gọi	Viết tắt
Chất khí	Laser Carbon dioxide	CO₂
Chất rắn	Laser Erbium	
	Erbium: yttrium-aluminum-ganet	Er:YAG
	Erbium chromium: yttrium-selenium- galium-ganet	Er,Cr:YSGG
	Laser Neodymium	
	Neodymium: yttrium-aluminum-ganet	Nd:YAG
	Neodymium: yttrium-aluminum-perovskite	Nd:YAP
Chất bán dẫn	Laser diode	
	Indium-galium- arsenide- phosphide	InGaAsP
	Gallium-aluminum-arsenide	GaAlAs
	Gallium-arsenide	GaAs

"Nguồn: Schwarz, 2009" [111]

Laser diode là loại laser có môi trường hoạt chất là chất bán dẫn, gồm Gallium, Arsenide và Aluminum hay Indium. Laser diode được giới thiệu vào cuối 1990 và trở nên rất phổ biến trong nha khoa do có ưu điểm thiết bị nhỏ gọn và giá thành thấp hơn các loại laser khác. Trong nhóm laser diode, các laser thường được

dùng nhất là GaAlAs (bước sóng 810 nm) và InGaAsP (bước sóng 980 nm) (Bảng 1.1). Phạm vi bước sóng của laser diode ngày càng được mở rộng (Hình 1.1). Năng lượng laser được truyền đến mô qua sợi quang dẫn dưới chế độ chiếu liên tục hay xung.



Hình 1.1 Các bước sóng của laser diode trong phổ điện từ

"Nguồn: Convissar, 2011" [32]

Laser diode được xếp vào loại laser thâm nhập sâu vào mô. Trong giới hạn bước sóng từ 800 đến 980 nm, laser diode hấp thu kém trong nước và trong mô khoáng hóa; hấp thu cao trong các mô có sắc tố, hemoglobin và oxi hemoglobin. Đặc điểm này phù hợp để loại bỏ các mô bị viêm, mô có nhiều mạch máu trong túi nha chu cũng như vi khuẩn tạo sắc tố dưới nướu như *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) và *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*).

Các laser diode dùng ở chế độ chiếu hay phát sóng liên tục hoặc xung đều rất hiệu quả ở mô mềm với các tác động cắt, cầm máu, đông mô hoàn hảo. Laser GaAlAs 810 nm đã được ứng dụng trong phẫu thuật mô mềm từ năm 1995 và khử nhiễm hay diệt khuẩn trong túi nha chu từ năm 1998 [14]. Bất lợi của laser diode là không hiệu quả đối với loại bỏ vôi răng và khả năng tạo nhiệt làm hại tủy răng, làm hại các mô cứng như ngà răng, xê măng và xương ổ răng khi có sự hiện diện của máu hay sử dụng ở công suất quá cao.

1.1.2 Các phương thức điều trị có kết hợp với laser trong nha chu

Laser dùng kết hợp với điều trị nha chu có thể được phân loại theo tác dụng như sau: loại bỏ mô bệnh và diệt khuẩn không quang động học, diệt khuẩn quang động học và kích thích hay điều hoà hoạt động sinh học.

1.1.2.1 Loại bỏ mô viêm và diệt khuẩn không quang động học

Với mục tiêu là loại bỏ mô viêm và giảm lượng vi khuẩn trong túi nha chu, điều trị thường sử dụng chế độ chiếu liên tục, có hay không kích hoạt đầu sợi quang dẫn.

Khi kích hoạt, 1-2 mm đầu tận của sợi được phủ lớp chất hấp thu sậm màu. Sự kích hoạt đầu sợi quang dẫn giúp tập trung năng lượng vào bề mặt, làm tăng tương tác quang nhiệt với mô, còn gọi là kỹ thuật tip nóng (hot tip). Khi đó mô bị đông hay bốc bay bằng nhiệt độ cao từ sự tiếp xúc với đầu tip quá nóng hơn là bằng chính năng lượng laser. Lợi ích của kỹ thuật tip nóng là sự thâm nhập của tia laser vào mô thấp nên ít tổn hại cho mô lân cận [123].

Khi có kích hoạt đầu sợi quang dẫn, laser diode được sử dụng dưới dạng di chuyển sợi quang sao cho đầu tip tiếp xúc với vách mềm của túi nha chu. Khi không kích hoạt đầu sợi, laser diode được sử dụng dưới dạng sợi quang di chuyển theo cử động quét trong túi, đầu tip được giữ song song hay tiếp xúc với vách mềm của túi nha chu. Theo cách này, năng lượng laser tương tác mạnh với các thành phần của mô viêm, chủ yếu là diệt khuẩn không cắt mô.

Trong điều trị bệnh nha chu, tác dụng diệt khuẩn mong đợi là diệt các vi khuẩn gây bệnh nha chu thuộc phức hợp đỏ như *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola* và phức hợp cam như *P. intermedia*, *F. nucleatum*. Do đặc điểm bước sóng của laser diode được hấp thu mạnh trong các sắc tố (đóng vai trò là chất nhạy sáng nội sinh) chứa trong các vi khuẩn *Porphyromonas spp*, *Prevotella spp*, *Tannerella spp* [31] nên tác động diệt khuẩn bổ sung của laser tạo ảnh hưởng tích cực lên lành thương hơn so với chỉ điều trị cơ học lấy cao- xử lý mặt chân răng (LC-XLMCR). Ngoài ra, nhiệt độ tăng trong túi nha chu làm biến chất protein giúp

dán kín mạch máu. Tác dụng cầm máu này giúp ức chế sự xâm lấn và phát tán của các vi khuẩn gây bệnh nha chu vào hệ tuần hoàn làm giảm nguy cơ nhiễm khuẩn huyết sau điều trị [16]. Cơ chế diệt khuẩn ở đây chủ yếu dựa trên tác động quang nhiệt. Nhiệt độ tăng làm vi khuẩn và độc tố vi khuẩn bị bốc hơi hoặc bị biến tính, kết quả dẫn đến chết hoặc bất hoạt.

Diệt khuẩn bằng laser có thể thực hiện trước hoặc sau LC-XLMCR bằng dụng cụ cơ học. Cùng với loại mô bệnh, laser với tác dụng diệt khuẩn bổ sung được mong đợi trở thành một là kỹ thuật mới trong điều trị nha chu [60].

1.1.2.2 Diệt khuẩn quang động học

Phương thức này còn được gọi là liệu pháp quang động học. Đây là một phương thức điều trị dựa vào nguồn sáng kích hoạt các thuốc nhuộm hay chất nhạy sáng ngoại sinh làm tổn thương tế bào vi khuẩn. Để có hiệu quả mong muốn, màu sắc của thuốc nhuộm được sử dụng trong điều trị cần có sự hấp thụ cao với các bước sóng và phải có độc tính tối thiểu. Các chất nhạy sáng như xanh methylen, xanh toludin thường sử dụng cho laser diode và gần đây là xanh indocyanine [93].

Các chất nhạy sáng được đặt trực tiếp vào túi nha chu có thể được kích hoạt bởi ánh sáng truyền từ ngoài vào túi nha chu qua mô nướu mỏng hoặc truyền trực tiếp vào túi nha chu. Tác dụng diệt khuẩn của laser ở đây là dựa trên tác động quang hóa. Có hai cơ chế diệt vi khuẩn bằng kích hoạt ánh sáng. Cơ chế loại I liên quan với sự truyền năng lượng cho các phân tử không phải oxi tạo thành các gốc tự do. Các gốc tự do sau đó phản ứng với oxi tạo thành các loại oxi phản ứng gây độc tế bào như superoxide, hydroxyl và các gốc từ lipid. Phản ứng theo cơ chế loại I như vậy với màng phospholipid sẽ làm mất tính nguyên vẹn của màng và làm thoát dịch bên trong tế bào. Đích của phản ứng cũng là các lipid và peptide của màng tế bào nên phản ứng cũng bất hoạt các enzyme và thụ thể của màng tế bào. Cơ chế loại II liên quan với sự truyền năng lượng từ chất nhạy sáng cho các phân tử oxi, tạo thành oxi đơn có khả năng oxi hóa nhanh chóng các phân tử sinh học như protein, acid nucleic và lipid, gây độc cho tế bào. Oxi đơn cũng phản ứng với các thành phần có

tác dụng tạo và duy trì cấu trúc màng tế bào như phospholipid, peptide và sterol. Gộp chung lại sản phẩm từ hai cơ chế này là oxi đơn và các loại oxi phản ứng làm đứt gãy chuỗi DNA, làm hỏng nhân và bất hoạt hệ thống ti lạp thể của tế bào vi khuẩn [120].

Bên cạnh tác dụng diệt khuẩn nhanh (khoảng 60 giây), liệu pháp quang động học cũng có một số cơ chế có lợi khác cho sự lành thương ở mô nha chu như ức chế sự sản xuất các chất trung gian gây viêm từ tế bào dây chằng nha chu, tạo thuận lợi cho hóa hướng động tế bào, khuyến khích giãn mạch và hình thành mạch tại chỗ. Liệu pháp này cũng gia tăng sự khuếch tán oxi vào mô tạo thuận lợi cho quá trình sửa chữa vì sự tổng hợp collagen từ nguyên bào sợi trong khung ngoại bào chỉ xảy ra khi có sự hiện diện của áp lực oxi cao. Đã có bằng chứng trên động vật cho thấy liệu pháp này có khả năng bất hoạt các cytokine gây phá hủy và ngăn chặn sự tái tạo mô [98].

Hiện liệu pháp này có triển vọng dùng thay thế cho thuốc kháng khuẩn tại chỗ, được khuyến khích ở các vị trí mà dụng cụ cơ học khó đạt tới hay trên đối tượng người có bệnh toàn thân, người cao tuổi không phù hợp với phương pháp điều trị phẫu thuật xâm lấn [112].

So với việc lặp lại điều trị LC-XLMCR, diệt khuẩn bằng laser giúp tránh gây mất chất mô răng dẫn đến quá cảm ngà chân răng. So với các tác nhân kháng khuẩn hóa học, các lợi ích ưu thế của dùng laser diệt khuẩn không quang động học và quang động học bao gồm: (i) liệu điều trị có thể đạt tới độ sâu trong mô tức thì không để lại liệu tồn đọng, (ii) tia laser có thể tác động đến các vi khuẩn hiện diện ở ngoài và trong tế bào, hay ở các vị trí khác như cao răng và các ống ngà, (iii) không có tác dụng phụ, hoặc tương tác làm giảm hiệu quả điều trị khác, và ngăn ngừa sự chọn lọc loài vi khuẩn kháng do tác dụng diệt khuẩn chỉ khởi xướng khi tiếp xúc với nguồn ánh sáng, (iiii) laser có tiềm năng phá vỡ cơ chế bảo vệ của màng phím vi khuẩn [57].

1.1.2.3 *Kích thích hay điều hoà hoạt động sinh học*

Điều trị được thực hiện với các thiết bị phát ánh sáng đỏ hay ánh sáng hồng ngoại có bước sóng dao động từ 600 đến 1000nm. Ánh sáng từ các thiết bị này có đặc điểm hấp thu kém trong nước nhưng lại có khả năng xâm nhập sâu vào mô mềm và mô cứng từ 3-15mm, mức năng lượng cung cấp vào mô 10^{-2} đến 10^2 J/cm² (Ren, 2016)[100].

Phương thức điều trị này không gây tăng nhiệt trong mô mà chủ yếu liên quan với hiệu ứng quang hóa. Tùy theo mức độ, thời gian và cách giải phóng năng lượng của chùm tia laser trên những loại mô khác nhau mà phần năng lượng hấp thu có thể gây ra nhiều hiệu ứng sinh học khác nhau về bản chất. Các đáp ứng sinh học chia thành 3 nhóm phản ứng: (i) những thay đổi sớm ở mức phân tử; (ii) những thay đổi trễ ở mức tế bào; (iii) đáp ứng của tổ chức và cơ thể. Khi hấp thụ năng lượng của laser, nhiều loại biến đổi sơ cấp xảy ra tại chính các quang thụ thể của mạch hô hấp tế bào như: tăng nhiệt độ trong phạm vi quang thụ thể, kích thích tạo oxi tự do và gốc H₂O₂ tự do có hoạt tính sinh học cao, thay đổi trạng thái oxi hóa khử của tế bào, thay đổi năng lượng liên kết hydro do đó thay đổi cấu hình phân tử. Những thay đổi trễ hơn ở mức tế bào khi tác động lên quá trình polymer hóa, biến đổi cấu trúc bào quan, thay đổi trạng thái oxi hóa khử và chuyển hóa tế bào. Cuối cùng là đáp ứng của tổ chức và cơ thể đối với các phản ứng viêm, đau, tái sinh, đáp ứng của hệ miễn dịch, hệ tim mạch và hệ nội tiết [6].

Trong tác dụng điều trị này, laser tạo các tác động tích cực trong lành thương như kích thích tăng sinh tế bào, tăng lưu lượng bạch huyết, giảm đau hoặc khó chịu, ức chế tiến trình viêm, kích thích lành thương và tái tạo mô [60]. Phương thức điều trị này bắt đầu được sử dụng kể từ 1960 và đã có một số bằng chứng chứng tỏ tác dụng tích cực hỗ trợ cho điều trị nha chu kinh điển, bao gồm cả điều trị không phẫu thuật và phẫu thuật, phẫu thuật tạo hình, phẫu thuật tái tạo. Dù vậy, nhiều bác sĩ lâm sàng còn chưa biết đến ứng dụng điều trị này và lợi ích còn bị nghi ngờ. Các cơ chế ở mức độ tế bào và phân tử tạo ra tiềm năng kích thích sinh học

thúc đẩy sự lành thương và tái tạo mô từ phương thức điều trị này đã và vẫn đang được tiếp tục tìm hiểu. Lợi ích lâm sàng thật sự vẫn cần được tiếp tục chứng tỏ trong các nghiên cứu tương lai [40], [115].

1.1.3 Quan niệm về công suất thấp trong các phương thức điều trị

Bên cạnh bước sóng liên quan mật thiết với tên gọi của chính thiết bị laser, các tham số hay các đơn vị dùng trong phép đo bức xạ được nhắc nhiều nhất bao gồm:

- Công suất bức xạ (đơn vị đo là Watt): là công suất phát xạ, truyền đi hay nhận được ở dạng bức xạ điện từ.
- Năng lượng bức xạ (đơn vị đo là Jun): là năng lượng phát xạ, truyền đi hay nhận được ở dạng bức xạ điện từ.
- Mật độ công suất (đơn vị đo là W/cm^2): là tỉ số giữa công suất của chùm tia (đơn vị Watt) và tiết diện chùm tia trên mô đích (đơn vị cm^2).
- Mật độ năng lượng (đơn vị đo là J/cm^2): là mật độ năng lượng tại một điểm trên bề mặt là lượng năng lượng bức xạ chiếu lên một đơn vị diện tích tại điểm đó.

Liên quan giữa mật độ công suất và mật độ năng lượng: Đối với một nguồn laser chiếu liên tục, công suất P (đơn vị W hay mW) chiếu đến một diện tích bề mặt A (đơn vị cm^2) cho mật độ công suất E (đơn vị W/cm^2) trong khoảng thời gian t (đơn vị giây) thì mật độ năng lượng H là : $H = \frac{Q}{A} = \frac{P \times t}{A} = E \times t$ (đơn vị J/cm^2).

Trong y học trước hết là năng lượng laser phải được hấp thu một cách thích đáng vào tổ chức sống vì chính năng lượng này quyết định hiệu ứng sinh học và do đó quyết định hiệu quả điều trị. Do vậy, các tham số đặc trưng cho laser y học là bước sóng và công suất kết hợp với thời gian chiếu [6].

Trong dùng laser để loại bỏ mô viêm và diệt khuẩn trong túi nha chu, tia laser có khả năng tương tác với các thành phần: các chất lắng đọng như mảng bám không khoáng hóa và khoáng hóa, độc tố vi khuẩn; các mô mềm gồm biểu mô, mô

liên kết nướu, dây chằng nha chu; các mô cứng gồm mặt chân răng, xương ổ răng. Các công suất đề nghị cho tác dụng này thường thay đổi 0,5 W đến 2,5 W. Khi sử dụng chế độ chiếu liên tục, các công suất ≤ 1 W được khuyến dùng vì y văn cho thấy nhiều bằng chứng an toàn đối với sự tăng nhiệt độ ở mô cứng và mô mềm quanh răng, không làm thay đổi hình thái và tính tương hợp sinh học của mặt chân răng, không ảnh hưởng chức năng sinh học của các tế bào thuộc mô nha chu. Tuy nhiên, khi giảm thấp công suất như vậy một câu hỏi đặt ra là khả năng loại bỏ mô bệnh và diệt khuẩn có còn hiệu quả.

Trong liệu pháp quang động học và tác dụng kích thích hay điều hoà hoạt động sinh học, công suất thường được tính bằng đơn vị miliwatt (mW). Laser với tác dụng kích thích hay điều hoà hoạt động sinh học còn gọi là điều trị với mức năng lượng thấp. Mức năng lượng thấp như vậy có thể được tạo ra từ nhiều công suất khác nhau, có thể từ công suất vài mW đến vài chục mW hay vài trăm mW hoặc >1 W với các thay đổi về thời gian chiếu và diện tích vùng chiếu.

Theo Vũ Công Lập, 2008 [6] laser dùng kích thích sinh học thường có giá trị từ 2-30mW trong khi các laser nhiệt dùng trong phẫu thuật có công suất cao từ 10-100 W. Trong điều trị nha chu, Fontana, 2004 [42] gọi các giá trị công suất từ 0,6-1,2 W dùng diệt khuẩn trong túi nha chu là công suất trung bình. Convissar, 2011 [32] xem công suất ở giới hạn 50-500 mW là công suất thấp dùng để tạo tác dụng kích thích sinh học. Các tác giả Sakurai, 2000 [105], Normura, 2001 [90] sử dụng công suất 700 mW để tạo mức năng lượng thấp. Sudhaka, 2015 [118] dùng công suất 1,5W với cách chiếu không tập trung tạo tác dụng kích thích sinh học. Portous, 2014 [97] xem các công suất <1 W với cách dùng không kích hoạt đầu chiếu là công suất thấp. Mizutani, 2016 [85] xem các công suất dùng để tạo tác dụng kháng khuẩn quang động học và kích thích sinh học là công suất rất thấp. Như vậy, khái niệm điều trị với mật độ công suất thấp hay điều trị với mức năng lượng thấp có thể cung cấp diễn đạt chính xác hơn so với cách nói điều trị với công suất thấp ở hai tác dụng liệu pháp quang động học và tác dụng kích thích hay điều hoà hoạt động sinh học.

Trong luận án này, các phương thức điều trị được phân loại theo tác dụng điều trị thay cho cách phân loại theo công suất cao, thấp thường được dùng trong laser y học nói chung. Và công suất thấp là gọi chung cho các công suất đã dùng trong hai nghiên cứu *in vitro* và nghiên cứu lâm sàng.

1.2 NGHIÊN CỨU *IN VITRO* TÁC ĐỘNG CỦA LASER CÔNG SUẤT THẤP LÊN NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI

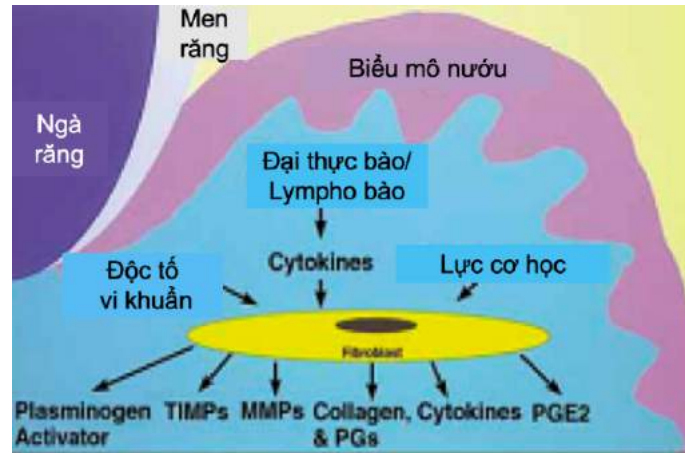
1.2.1 Đặc điểm của nguyên bào sợi nước trong mô nha chu

Ở mô nước người, nguyên bào sợi (NBS) là loại tế bào chiếm chủ yếu trong thành phần tế bào của mô liên kết nước. Trong 1cm^3 mô liên kết nước có khoảng 200×10^6 NBS, chiếm khoảng 5% thể tích. NBS thường có dạng thoi hay dạng sao với ít nhánh bào tương, nhân tròn hay bầu dục nằm giữa tế bào. NBS được bao quanh chặt chẽ bởi các sợi collagen và phân bố quanh các mạch [4].

Chức năng chính của các NBS là tổng hợp và duy trì các thành phần của khung ngoại bào của mô liên kết như sợi collagen, sợi elastin, glycoprotein và glycosaminoglycan. Các enzyme và các chất ức chế enzyme cũng như các yếu tố tăng trưởng cũng được tạo ra từ NBS. Thông qua thực bào và tiết collagenases, NBS tham gia đổi mới và tái cấu trúc mô. Quá trình này cho phép thay đổi hình dạng hoặc cấu trúc mà không làm suy yếu chức năng mô [20]. Trong mô nha chu, cùng với thành phần sợi, NBS có vai trò trong tạo bám dính mô liên kết [88].

Các NBS rất nhạy cảm với môi trường xung quanh và đáp ứng tùy thuộc vào các thông tin tiếp nhận. Đặc điểm nổi bật ở mô nha chu bệnh lý là các thay đổi định tính và định lượng trong mô liên kết. Phá hủy mô liên kết có thể xảy ra trong vòng 3-4 ngày sau khi tích tụ mảng bám. Sự phá hủy bắt đầu ở tại các bó collagen quanh mạch. Trong các ổ viêm, collagen bị mất khoảng 70%. Các yếu tố hiện diện trong môi trường bệnh tại chỗ như các sản phẩm phân hủy của khung, huyết tương, các cytokine và các yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc từ tế bào viêm đều có ảnh hưởng đến hoạt động di cư, bám dính, tăng sinh và tổng hợp khung của NBS [20]. Các NBS không chỉ có khả năng đáp ứng với các tín hiệu cận tiết mà còn có thể tổng

hợp và tiết ra một số yếu tố tăng trưởng, các cytokine và các sản phẩm trao đổi chất điều khiển hoạt động tế bào theo cách tự tiết (Hình 1.2).



Hình 1.2 Vai trò của nguyên bào sợi nướu trong duy trì cân bằng nội môi

"Nguồn: Bartold, 2000" [20]

Một số các yếu tố nguy cơ ảnh hưởng đến mức độ bệnh và kết quả lành thương sau điều trị nha chu như đái tháo đường và hút thuốc lá cũng tìm thấy có cơ chế liên quan đến hoạt động chức năng của NBS [53]. Bên cạnh các ảnh hưởng như hư hại chức năng bạch cầu, giảm sản xuất các kháng thể trong nước bọt và huyết thanh, tăng sinh các vi khuẩn gây bệnh, hư hại về chức năng và tăng sinh của NBS có thể giải thích cho lành thương sửa chữa và tái tạo kém hơn của mô nha chu sau cả điều trị không phẫu thuật và phẫu thuật ở người hút thuốc lá so với người không hút thuốc lá [68]. Hiện NBS nướu đã và vẫn đang được sử dụng làm phương tiện nghiên cứu tác động của nhiều tác nhân trong đó có laser lên lành thương sau điều trị nha chu [73].

1.2.2 Liên quan với tác dụng loại mô viêm và diệt khuẩn không quang động học

Dựa vào tác động quang nhiệt laser diode bước sóng 810nm có thể dùng để diệt khuẩn trong túi nha chu, loại bỏ hay bốc bay mô bệnh và biểu mô ở vách mềm túi nha chu. Tác động nhiệt của laser đã là chủ đề của nhiều nghiên cứu in vitro, làm cơ sở cho việc thiết lập các thông số hiệu quả và an toàn trong điều trị. So với các tác động đã đánh giá bao gồm sự tăng nhiệt độ trong mô, thay đổi hình thái và

tính tương hợp sinh học của mặt chân răng và khả năng diệt khuẩn thì tác động của hiệu ứng quang nhiệt của laser lên chức năng sinh học của NBS nướu người còn ít nghiên cứu.

Tác giả Kreisler, 2001 [69] thử nghiệm với laser diode 810 nm, chế độ chiếu liên tục, các công suất dùng diệt khuẩn trong túi nha chu và đầu sợi quang dẫn không kích hoạt. Nghiên cứu này đánh giá số lượng tế bào chết và còn sống sau chiếu 24 giờ ở nhiều công suất và thời gian chiếu khác nhau. Sau 24 giờ sử dụng một lần chiếu, kết quả từ 20 sự kết hợp của 5 công suất (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 W) và 4 thời gian chiếu (60; 120; 160; 240 giây) cho thấy công suất càng cao, thời gian chiếu càng dài thì lượng tế bào sống càng thấp. Với cùng một giá trị công suất, nhóm có thời gian chiếu lâu hơn có lượng tế bào còn sống thấp hơn. Bắt đầu từ công suất ≥ 2 W và thời gian chiếu ≥ 120 giây tốc độ chết của tế bào tăng. Một số cơ chế dẫn đến chết tế bào được gợi ý bao gồm tương tác quang nhiệt làm khô, biến chất protein, cũng như gây hư hại trong chuyển hóa tế bào. Tuy vậy, do các mô mềm thuộc mô nha chu có đặc tính lành thương nhanh nên các tác giả đặt ra vấn đề cần xem xét là liệu tổn hại tế bào như đã tìm thấy trong thử nghiệm này có ý nghĩa gì về lâm sàng.

Nghiên cứu của Hakki, 2012 [55] là duy nhất tìm hiểu tác động trên NBS nướu người của các thông số laser đã ứng dụng lâm sàng. Các tác giả chọn thử nghiệm với laser diode 904 nm, chế độ chiếu xung, các công suất diệt khuẩn 1,5 W không kích hoạt đầu sợi quang dẫn và công suất 2 W có kích hoạt đầu sợi quang dẫn. Kết quả hai nhóm tế bào có chiếu vừa nêu chứng tỏ không tăng khả năng tăng sinh nhưng tăng biểu hiện mRNA của các yếu tố tăng trưởng như yếu tố tăng trưởng dạng insulin-1 (IGF-1) và yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF) cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng. Kết quả tăng biểu hiện mRNA của các yếu tố tăng trưởng này chứng tỏ các thông số dùng diệt khuẩn và loại bỏ mô viêm có thể tạo tác động tích cực cho quá trình lành thương sau điều trị.

1.2.3 Liên quan với tác dụng kích thích sinh học

Đa số nghiên cứu đánh giá tác động quang hoá của laser lên NBS như người sử dụng laser với bước sóng thuộc ánh sáng hồng ngoại (>700 nm), công suất <100 mW (Bảng 1.2). Kết quả từ các nghiên cứu trên tế bào cung cấp các bằng chứng tác động tích cực của laser trong lành thương và tái tạo mô nha chu nói riêng và mô vùng miệng nói chung [96], [121]. Tuy nhiên, còn tồn tại những ý kiến khác nhau về loại laser, giá trị mật độ năng lượng và cách chiếu để tạo ra và tối ưu hoá tác động tích cực của laser.

1.2.3.1 Đáp ứng tăng sinh và tăng di cư tế bào

Tăng sinh và di cư tế bào đã được nghiên cứu rộng rãi như là một phần của quá trình lành thương. Nhiều nghiên cứu cũng ghi nhận laser năng lượng thấp đã kích thích tăng sinh tế bào. Đa số nghiên cứu thử nghiệm với các công suất <100 mW. Số lượng nghiên cứu đánh giá di cư tế bào còn rất ít (Bảng 1.2).

So sánh giữa các laser, Almeida-Lopes, 2001 [12] tìm thấy tăng sinh tế bào ở nhóm laser hồng ngoại (780 nm, 50 mW, 2 J/cm^2) cao hơn có ý nghĩa so với nhóm laser ánh sáng đỏ (670 nm, 10 mW, 2 J/cm^2).

Tác giả Kreisler, 2002 [70] tìm thấy NBS tăng sinh theo cách phụ thuộc năng lượng hay thời gian chiếu và việc chiếu lặp lại có tác dụng kéo dài thời gian tác động in vitro của laser. So với nhóm chứng không chiếu, các nhóm có chiếu laser đều thể hiện sự tăng sinh cao hơn rõ rệt ($p < 0,01$) ở 24 giờ sau chiếu nhưng chỉ có nhóm $7,84 \text{ J/cm}^2$ (mật độ năng lượng cao nhất) giữ khác biệt có ý nghĩa đến 48 giờ. Khi chiếu lặp lại lần 2 và lần 3 tăng sinh cũng cao hơn có ý nghĩa và tiếp tục duy trì mức ý nghĩa đến ngày 2 và ngày 3. Trong khi, Saygun, 2008 [109] cũng ghi nhận tăng sinh tế bào ở các nhóm chiếu cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng. Tuy nhiên, lượng tế bào sống khi so sánh giữa nhóm chiếu 1 lần so với nhóm chiếu 2 lần lại khác biệt không ý nghĩa (119,6% so với 109%).

Thử nghiệm với 5 giá trị mật độ năng lượng, Basso, 2012 [21] không tìm thấy tương quan tuyến tính giữa tăng sinh tế bào và thời gian chiếu. So với nhóm chứng không chiếu, tăng sinh tế bào cao hơn có ý nghĩa theo thứ tự giảm dần ở các nhóm chiếu 3 J/cm²; 0,5 J/cm²; 7 J/cm² và 1,5 J/cm² (p<0,05). Nhóm chiếu 5 J/cm² cho kết quả tăng sinh khác biệt không ý nghĩa so với nhóm chứng.

Tác giả Basso, 2016 [22] ghi nhận nhóm chiếu 0,5 J/cm² cho kết quả tăng sinh tế bào khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng không chiếu trong cùng điều kiện tế bào không tiếp xúc và có tiếp với các cytokine TNF- α , Il-6. Trong khi, Hakki, 2012 [55] không tìm thấy tác động tăng sinh tế bào ở nhóm chiếu 6 J/cm² (từ công suất 0,3 W). Tương tự, Haroli, 2019 [58] cũng ghi nhận kết quả laser không ảnh hưởng đến sự sống tế bào.

Tác giả Frozanfar, 2013 [43] tìm thấy kết quả tăng sinh ở nhóm chiếu 4 J/cm² sau 24 giờ (106,5%) khác biệt không ý nghĩa so với nhóm chứng. Tăng sinh sau 48 giờ (114%) và 72 giờ (144,7%) cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng (p<0,05). Theo các tác giả này tác động của laser lên tế bào cần có thời gian đủ dài để thể hiện.

Cùng với tác động tăng sinh tế bào, các nhóm chiếu 0,5 J/cm² và 3 J/cm² trong nghiên cứu của Basso, 2012 [21] cũng làm tăng di cư tế bào khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng không chiếu (p<0,05). Thử nghiệm với 3 giá trị mật độ năng lượng, Basso, 2016 [22] nhận thấy chỉ ở nhóm chiếu 0,5 J/cm² có tăng di cư tế bào làm giảm tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vết thương nhiều hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng không chiếu (p<0,05) trong điều kiện tế bào không tiếp xúc với các cytokine.

1.2.3.2 Đáp ứng tiết các yếu tố tăng trưởng và tổng hợp collagen

Sự giải phóng yếu tố tăng trưởng từ tế bào tổn thương và tế bào viêm là phần chính trong tiến trình lành thương. Các yếu tố tăng trưởng liên quan với NBS nêu đã được nghiên cứu bao gồm: yếu tố tăng trưởng NBS cơ bản (bFGF), yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF), yếu tố tăng trưởng chuyển đổi beta (TGF - β),

yếu tố tăng trưởng tế bào sừng (KGF), yếu tố tăng trưởng dạng insulin-1 (IGF-1). Các yếu tố tăng trưởng vừa kể trên có vai trò điều tiết sự tăng sinh, di cư, biệt hoá và thực hiện chức năng của nhiều loại tế bào như NBS, tạo cốt bào, nguyên bào xê măng, tế bào nội mô là những tế bào cơ bản cho lành thương và tái tạo mô nha chu.

Tác giả Damant, 2009 [35] nhận thấy laser ánh sáng hồng ngoại tốt hơn so với laser ánh sáng đỏ về phương diện tăng bFGF. Cụ thể nhóm chiếu laser 780 nm tăng bFGF cao hơn 1,49 lần so với nhóm chứng dương. Trong khi nhóm sử dụng laser ánh sáng đỏ InGaAlP 660nm không phát hiện bất kỳ thay đổi nào về bFGF.

Tác giả Saygun, 2008 [109] tìm thấy nhóm chiếu 1 lần cao hơn nhóm chứng về 2 yếu tố tăng trưởng bFGF, IGF-1 ($p < 0,05$), nhóm chiếu 2 lần cao hơn nhóm chứng về 2 yếu tố tăng trưởng bFGF, IGF-1 và thụ thể IGFBP3 ($p < 0,01$). Tuy nhiên, khác biệt định lượng các yếu tố tăng trưởng giữa hai nhóm chiếu 1 lần và chiếu 2 lần là không có ý nghĩa.

So với nhóm chứng không chiếu Hakki, 2012 [55] tìm thấy biểu hiện mRNA collagen type I tăng có ý nghĩa ở nhóm chiếu 6 J/cm^2 . Nhóm chiếu 4 J/cm^2 trong nghiên cứu Frozanfar, 2013 [43] cũng đồng thời tăng biểu hiện gen collagen type I ở ngày 3 sau chiếu nhiều hơn gấp 5 lần so với nhóm chứng không chiếu ($p < 0,05$). Cùng với tác động tăng sinh tế bào, nhóm chiếu $0,5 \text{ J/cm}^2$ của Basso, 2016 [22] tăng biểu hiện gen collagen type I cao hơn có ý nghĩa trong điều kiện có tiếp xúc với TNF- α , IL-6.

1.2.3.3 Đáp ứng ức chế sản xuất các cytokine hay các marker viêm

Trong bệnh viêm nha chu (VNC), các vi khuẩn gây bệnh tạo các độc tố lipopolysaccharide và peptidoglycan. Các độc tố vi khuẩn xâm nhập vào mô nướu kích thích các tế bào ký chủ sản xuất các cytokine tiền viêm như IL-1 β , TNF- α , PGE $_2$, IL-6, IL-8... Các tác nhân này có vai trò khởi phát và duy trì đáp ứng miễn dịch bệnh lý gây phá hủy mô mềm và tiêu xương ổ răng. Tác động làm giảm các cytokine hay các marker viêm này của laser có thể dùng giải thích cho cơ chế làm giảm viêm lâm sàng cũng như giảm cytokine trong tuần hoàn máu. Và do vậy laser

có thể tạo tác động tích cực lên tình trạng sức khoẻ toàn thân của bệnh nhân (Ren, 2016) [100].

Các nghiên cứu đánh giá tác động của laser lên đáp ứng sản xuất các cytokine hay các marker viêm cũng được thực hiện trong điều kiện thử nghiệm có kích thích ngoài như độc tố vi khuẩn hay các cytokine ở nồng độ cao lên tế bào trước khi chiếu laser. Sự tiếp xúc với các độc tố vi khuẩn làm tăng khả năng tiết các cytokine tiền viêm như IL-1 β , TNF- α , PGE₂ trong khi sự tiếp xúc với cytokine làm giảm khả năng tiết các yếu tố tăng trưởng từ NBS nướu. Các mức năng lượng từ 1,5- 16 J/cm² đã được ghi nhận có ảnh hưởng đến tiềm năng điều tiết viêm của NBS nướu người. Các cơ chế liên quan với tác động điều tiết các cytokine hay các marker viêm của laser vẫn đang được tiếp tục nghiên cứu.

Các tác giả Sakurai, 2000 [105] và Normura, 2001 [90] cùng ghi nhận các thông số chiếu có tác dụng ức chế sản xuất cytokine tiền viêm từ NBS nướu và ảnh hưởng ức chế này phụ thuộc thời gian chiếu. Thời gian chiếu càng dài tác dụng ức chế càng cao. So với nhóm chứng không chiếu, các nhóm chiếu 6, 10, 20 phút ức chế sản xuất PGE₂, IL-1 β nhiều hơn ở mức ý nghĩa p<0,001 trong khi nhóm chiếu 3 phút ức chế sản xuất PGE₂ nhiều hơn ở mức ý nghĩa p<0,05 và ức chế sản xuất IL-1 β nhiều hơn ở mức ý nghĩa p<0,01 trong cùng điều kiện tiếp xúc với độc tố vi khuẩn *Campylobacter rectus*.

Tác giả Basso, 2016 [22] ghi nhận nhóm chiếu 0,5 J/cm² có tác dụng điều hoà các cytokine gây hại cho quá trình lành thương. Cụ thể trong nghiên cứu này, biểu hiện gen các yếu tố tăng trưởng VEGF, COL-I, FGF2 tăng cao so với nhóm chứng không chiếu trong cùng điều kiện tiếp xúc với các cytokine TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8. Tác giả Lee, 2018 [73] nhận thấy nhóm có chiếu (8 J/cm²) có giảm biểu hiện gen các cytokine IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 so với nhóm chứng trong cùng điều kiện môi trường nuôi cấy 35 mM glucose mô phỏng cho tình trạng tăng đường huyết (p<0,05). Kết quả này chứng tỏ laser năng lượng thấp có thể có tác dụng kháng viêm và có thể có lợi cho điều trị VNC ở bệnh nhân đái tháo đường.

So sánh giữa các giá trị mật độ năng lượng 0,84; 1,4; 1,97 J/cm², Haroli, 2019 [58] tìm thấy nhóm chiếu 1,97 J/cm² có tác động ức chế sự tiết IL-6, IL-8. Điểm đặc biệt là các nhóm chiếu mật độ năng lượng thấp 0,84 và 1,4 J/cm² lại gây tăng tiết IL-6, IL-8. Kết quả tăng tiết cytokine ở các mức năng lượng thấp này là trái ngược với các nghiên cứu trước đây.

Bảng 1.2 Tóm tắt các thông số và các đáp ứng tế bào trong các nghiên cứu đánh giá tác động của laser lên NBS nướu người

Tác giả (Năm)	Bước sóng	Công suất	Mật độ năng lượng (J/cm ²)	Đáp ứng tế bào đánh giá
Kreisler, 2001 [69]	810 nm	0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 W		Số lượng tế bào chết và sống
Sakurai, 2000 [105]	830 nm	700 mW	0.95–6,32	Sản xuất PGE ₂
Normura, 2001 [90]	830 nm	700 mW	3.95–7.90	Sản xuất IL-1 β
Almeida-Lopes, 2001 [12]	670 nm 780 nm 692 nm 786 nm	10 mW 50 mW 30 mW	2	Tăng sinh tế bào
Kreisler, 2002 [70]	809 nm	10 mW	1,96; 3,92; 7,84 J/cm ²	Tăng sinh tế bào, bFGF
Azevedo, 2006 [19]	660 nm	10 mW 29 mW	2	Sự sống tế bào
Saygun, 2008 [109]	685 nm	25 mW	2	Tăng sinh tế bào, tiết bFGF, IGF-1, IGFBP3
Damant, 2009 [35]	780 nm 660 nm	40 mW	3 5	Tiết bFGF, KGF
Basso, 2012 [21]	780 nm	40 mW	0,5; 1,5; 3; 5; 7	Tăng sinh và di cư tế bào
Hakki, 2012 [55]	904 nm	2 W 1,5 W 0,3 W	20 15 6	Tăng sinh tế bào, biểu hiện gen VEGF, KGF, collagen type I
Frozanfar, 2013 [43]	810 nm	50 mW	4	Tăng sinh tế bào và biểu hiện gen collagen type I
Basso, 2016 [22]	780 nm	25 mW	0,5; 1,5; 3	Tăng sinh tế bào, di cư tế bào, biểu hiện gen VEGF, COI-1, FGF2
Lee, 2018 [73]	660 nm	70 mW	8	Biểu hiện gen IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8
Harorli, 2019 [58]	940nm	0,3, 0,5, 0,7W	0,84; 1,4; 1,97	Sự sống tế bào, tiết IL-6, IL-8

1.3 ỨNG DỤNG LÂM SÀNG LASER CÔNG SUẤT THẤP ĐIỀU TRỊ VIÊM NHA CHU

1.3.1. Laser dùng loại bỏ mô viêm và diệt khuẩn không quang động học

Đa số các nghiên cứu lâm sàng sử dụng công suất ≤ 1 W trong điều trị không phẫu thuật và cũng chưa tìm thấy lợi ích của việc dùng laser kết hợp với điều trị kinh điển.

Nghiên cứu của Cappuyns, 2012 [28] và của Giannopoulou, 2012 [50] có nhiều điểm tương đồng về thông số laser chọn (810 nm, 1 W, chế độ chiếu xung, thời gian chiếu 60 giây). Đối tượng là các bệnh nhân VNC mạn trong giai đoạn điều trị duy trì. So sánh giữa 3 phương thức điều trị: LC-XLMCR, LC-XLMCR kết hợp với laser khử nhiễm túi và LC-XLMCR kết hợp với liệu pháp quang động học kháng khuẩn, hai nghiên cứu này cho cùng kết quả cải thiện các chỉ số lâm sàng độ sâu túi (PD), chảy máu khi thăm khám (BOP), độ tụt nướu (GR) khác biệt không ý nghĩa giữa 3 nhóm. Giannopoulou, 2012 [50] đồng thời ghi nhận sự cải thiện các chỉ số sinh hóa cũng khác biệt không ý nghĩa giữa 3 nhóm. Nghiên cứu của Cappuyns, 2012 [28] chứng tỏ nhóm kết hợp với laser khử nhiễm túi làm giảm nhiều hơn có ý nghĩa 3 loại vi khuẩn *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola* so với 2 nhóm còn lại nhưng chỉ ở 14 ngày. Trong khi, ở 6 tháng sau điều trị nhóm LC-XLMCR và nhóm kết hợp liệu pháp quang động học giảm mạnh hơn 3 loại vi khuẩn vừa kể. Điều đáng lưu ý là cả hai nghiên cứu này đều cùng ghi nhận: nhóm dùng laser khử nhiễm túi có số cá thể có túi nha chu >4 mm và có biểu hiện chảy máu khi thăm khám sau điều trị cao hơn các nhóm khác. Kết quả này chứng tỏ về phương diện loại trừ túi nha chu, điều trị có kết hợp laser 810 nm loại bỏ mô bệnh và diệt khuẩn không quang động học không tốt bằng phương pháp kinh điển chỉ LC- XLMCR và LC- XLMCR kết hợp với liệu pháp quang động học.

Nghiên cứu của Zingagle, 2012 [126] dùng laser (810 nm, 0,8 W, chiếu liên tục, thời gian chiếu 30-45 giây) để loại bỏ mô bệnh ở vách mềm của túi cho thấy kết quả ít tụt nướu hơn ở nhóm laser so với các nhóm còn lại. Dù kết quả khác biệt về

độ tụt nướu này không đạt mức ý nghĩa thống kê nhưng tác giả gợi ý laser có thể là giải pháp lựa chọn trong điều trị không phẫu thuật túi nha chu ở vùng răng thẩm mỹ.

Nguyen, 2015 [89] so sánh hiệu quả của điều trị LC-XLMCR có và không dùng thêm laser trên đối tượng bệnh VNC đang trong giai đoạn điều trị duy trì. Kết quả ghi nhận dùng laser (904 nm, 0,8 W, chiếu liên tục, không giới hạn thời gian chiếu) kết hợp với LC-XLMCR điều trị các vị trí túi sâu ≥ 5 mm có biểu hiện chảy máu khi thăm khám cho cải thiện có ý nghĩa về các chỉ số PD, BOP, CAL và giảm IL-1 β ở 3 tháng sau điều trị. Tuy nhiên, các cải thiện ở nhóm có dùng laser khác biệt không ý nghĩa so với chỉ LC-XLMCR.

Duy nhất nghiên cứu của Kreisler, 2005 [71] tìm thấy lợi ích ưu thế của laser về bám dính lâm sàng. So sánh giữa hai nhóm có và không sử dụng laser kết hợp với LC-XLMCR tìm thấy nhóm có sử dụng laser (809 nm, 1 W, chiếu liên tục, thời gian chiếu 10 giây) cải thiện PD và CAL nhiều hơn ($p < 0,001$) trong khi các thông số khác không khác biệt. Sự cải thiện về độ lung lay răng và độ sâu túi theo các tác giả có lẽ không chỉ do giảm vi khuẩn trong túi mà còn do việc dùng laser để cắt bỏ biểu mô túi dẫn đến kích thích tạo bám dính mô liên kết.

Khác với các nghiên cứu ứng dụng laser cho điều trị không phẫu thuật như vừa kể, các nghiên cứu dùng laser loại bỏ mô bệnh ở vách mềm của túi kết hợp với điều trị phẫu thuật cùng sử dụng công suất > 1 W, chế độ chiếu liên tục và cùng ghi nhận kết quả khác biệt không ý nghĩa giữa 2 nhóm có và không dùng laser về nhiều thông số lâm sàng. Gokhale, 2012 [51] (980 nm, 2,5 W) ghi nhận khác biệt về PII, GI, PD, CAL giữa 2 nhóm là không ý nghĩa. Lobo, 2015 [76] (940 nm, 1,5 W) ghi nhận khác biệt không ý nghĩa giữa 2 nhóm về PII, GI, PD, CAL, GR, TM. Jonnalagadda, 2018 [64] (810 nm; 1,5 W) cũng tìm thấy khác biệt không ý nghĩa giữa hai nhóm về PII, GI, PD, CAL.

1.3.2 Laser dùng kích thích sinh học

Các nghiên cứu lâm sàng kết hợp laser với tác dụng kích thích sinh học có khác biệt về thông số chiếu, cách sử dụng (cách chiếu, thời điểm chiếu, số lần chiếu) (Bảng 1.3). Điều đáng lưu ý là đáp ứng với điều trị theo thói quen hút thuốc và theo độ sâu túi nha chu ban đầu bắt đầu được quan tâm.

Tác giả Aykol, 2011 [18] nghiên cứu trên 36 đối tượng VNC mạn mức độ từ trung bình đến nặng. Sau điều trị không phẫu thuật, các bệnh nhân được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm. Kết quả cho thấy sự cải thiện cao hơn có ý nghĩa các chỉ số chảy máu khe nướu (SBI), PD, CAL ở nhóm chiếu laser so với nhóm chứng ở các thời điểm 3 và 6 tháng sau điều trị ($p < 0,001$). Trong khi với các chỉ số sinh hóa khảo sát (MMP-1, TIMP-1, MMP-1/TIMP-1, TGF- β , b-FGF) chỉ tìm thấy sự giảm có ý nghĩa ở cả hai nhóm so với trước điều trị. Còn lại so sánh giữa hai nhóm đã không tìm thấy khác biệt nào ở cả 3 thời điểm đánh giá 1, 3 và 6 tháng sau điều trị. So sánh giữa các đối tượng có và không hút thuốc lá, nghiên cứu tìm thấy sự khác biệt về SBI và PD sau 6 tháng và về CAL sau 3 tháng điều trị. Theo các tác giả, các khác biệt này có thể liên quan với tác động tích cực của laser trên vi tuần hoàn, sản xuất collagen và cytokine vốn bị tác động âm tính của hút thuốc.

Tác giả Makhlof, 2012 [80] nghiên cứu trên đối tượng bệnh nhân VNC có túi 4-6 mm. Kết quả nghiên cứu với thiết kế nửa miệng cho thấy các vị trí thuộc phần hàm có chiếu laser thể hiện giảm độ sâu túi nhiều hơn có ý nghĩa so với các vị trí thuộc phần hàm chỉ LC- XLMCR ở 5 tuần và 3 tháng. Ngoài ra, mật độ xương trên phim ở phần hàm có chiếu laser cũng cao hơn có ý nghĩa so với phần hàm chỉ LC- XLMCR ở 6 -12 tháng. Nghiên cứu không tìm thấy khác biệt giữa các phần hàm có và không chiếu laser về mức IL-1 β trong dịch nướu cũng như các chỉ số lâm sàng như GI và PII.

Nghiên cứu trên đối tượng bệnh VNC mạn, Pamuk, 2017 [92] không tìm thấy lợi ích thêm vào nào của phương pháp điều trị có kết hợp trên cả hai nhóm đối tượng có và không hút thuốc lá về tất cả các thông số lâm sàng (GI, PI, PD, BOP,

CAL). So sánh giữa các đối tượng hút và không hút thuốc lá cùng được điều trị có kết hợp laser cho thấy tỉ lệ tPA/PAI trong dịch nướu giảm có ý nghĩa sớm hơn ở người hút (ngày 7) so với người không hút (ngày 14). Điều này chứng tỏ việc dùng laser kết hợp với điều trị không phẫu thuật có thể có lợi cho giảm viêm và lành thương mô nha chu ở người hút thuốc lá. Theo các tác giả này, thời gian theo dõi ngắn chỉ 1 tháng và trung bình độ sâu túi nha chu <7 mm của mẫu có thể là lý do lý giải cho việc chưa tìm thấy khác biệt có ý nghĩa giữa hai phương pháp điều trị.

Sử dụng thiết kế nửa miệng đánh giá hiệu quả giảm đau của laser sau phẫu thuật vạt trên các túi 5-7 mm ở hai bên hàm dưới, Heidari, 2018 [59] nhận thấy so với phần hàm không kết hợp laser, phần hàm có kết hợp laser chứng tỏ ít đau hơn sau phẫu thuật ở các ngày 2, 3, 4, 5, 6, 7 ($p < 0,05$) và số lượng thuốc giảm đau sử dụng cũng ít hơn có ý nghĩa ở các ngày 3, 7 ($p < 0,05$).

1.3.3 Xu hướng kết hợp các tác dụng điều trị

Lập luận của các nhà lâm sàng là tìm hiệu ứng hiệp đồng từ sự phối hợp điều trị. Cùng với các laser bước sóng khác, một số nghiên cứu với laser diode bước sóng 810 nm đã tìm thấy lợi ích của việc kết hợp các tác dụng điều trị.

1.3.3.1 Kết hợp loại mô viêm và diệt khuẩn không quang động học với thuốc kháng khuẩn tại chỗ

Nghiên cứu của Kachapilly, 2016 [65] so sánh sự cải thiện về lâm sàng giữa các nhóm vị trí túi nha chu có độ sâu 5-7 mm ở mặt bên các răng bao gồm các nhóm: nhóm 1 (nhóm chứng) chỉ LC-XLMCR, nhóm 2: LC-XLMCR + chiếu laser, nhóm 3: LC-XLMCR + chip CHX (chlorhexidine chip), nhóm 4: LC-XLMCR + chiếu laser + chip CHX. Kết quả sau 3 tháng ghi nhận cải thiện về PD và CAL ở nhóm có dùng CHX và nhóm dùng kết hợp laser với CHX cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng. Trong khi nhóm LC-XLMCR kết hợp với laser không chứng tỏ sự khác biệt có ý nghĩa so với nhóm chứng. Kết quả của nghiên cứu này được lý giải là tác dụng cộng hưởng của nhiều tác nhân tham gia điều trị: laser diệt khuẩn trong túi nha chu (810 nm, 0,5 W chiếu liên tục 10 giây cho 1 vị trí túi) giúp loại bỏ

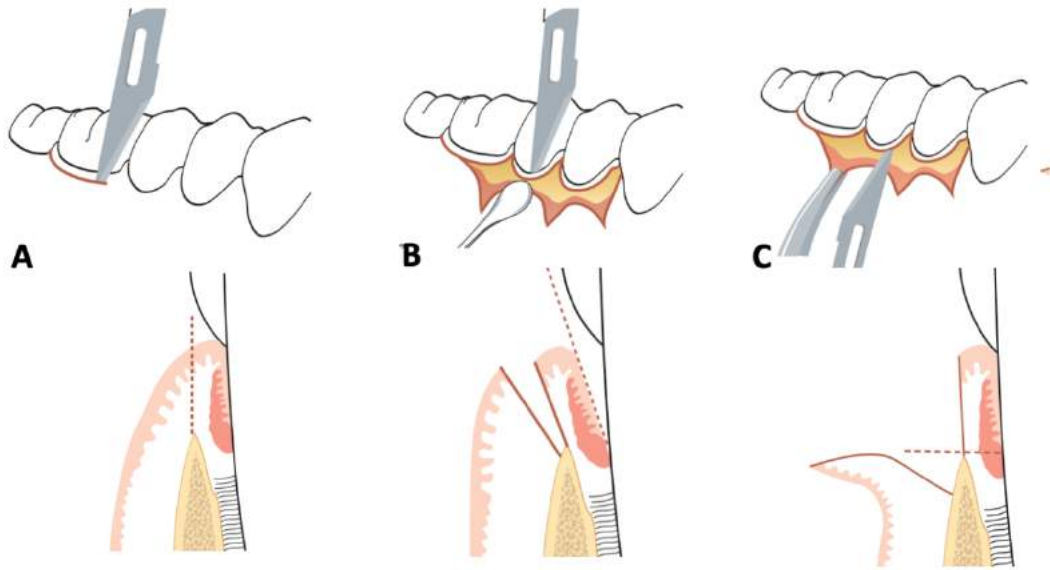
mảng bám vi khuẩn trong mô hoại tử ở vách mềm của túi và tác nhân kháng khuẩn tại chỗ chip CHX (dạng phóng thích chậm đặt vào túi) cho sự phóng thích tác nhân cao hơn 10-100 lần so với mức phóng thích từ kháng sinh dùng toàn thân.

1.3.3.2 Kết hợp loại bỏ mô viêm và diệt khuẩn không quang động học với diệt khuẩn quang động học

Nghiên cứu của Giannelli, 2015 [49] kết hợp 2 loại laser diode 810 nm dùng loại bỏ biểu mô ở mặt ngoài và trong vách mềm túi với laser 635 nm và thuốc nhuộm xanh methylen 0,3% dùng khử nhiễm mặt chân răng và xương ổ răng trên đối tượng VNC mạn. Kết quả theo dõi sau 4 năm ghi nhận sự cải thiện các chỉ số lâm sàng PD, CAL và tế bào (gồm các vi khuẩn, hồng cầu, bạch cầu đa nhân, biểu mô hư hại) ở nhóm có kết hợp laser cao hơn và kéo dài hơn so với nhóm không dùng laser. Hiệu quả cao và kéo dài ở đây được cho là kết hợp của laser đã loại bỏ nguồn vi khuẩn trú ẩn trong các tế bào biểu mô ở vách túi và chu kỳ diệt khuẩn quang động học ngăn sự tái nhiễm.

1.3.3.3 Kết hợp loại bỏ mô viêm và diệt khuẩn không quang động học với kích thích sinh học

Trong điều trị túi nha chu, phẫu thuật vạt nói chung có các chỉ định như sau: (i) tạo lối vào trực tiếp để XLMCR, (ii) sửa chữa các bất thường về hình thái nướu, (iii) giảm độ sâu túi nha chu. Hạn chế của điều trị phẫu thuật vạt là tụt nướu sau điều trị có thể ảnh hưởng đến thẩm mỹ, gây quá cảm ngà chân răng dẫn đến giảm khả năng tự kiểm soát mảng bám của bệnh nhân và sâu chân răng. Trong số các kỹ thuật vạt điều trị túi nha chu, vạt Widman biến đổi được xem là kỹ thuật điều trị bảo tồn vì lượng mô cắt bỏ là tối thiểu (Deas, 2016) [36]. Vạt Widman biến đổi cũng có các ưu điểm như đạt được sự áp sát của mô mềm vào mặt chân răng, giảm thiểu chấn thương do để lộ mô liên kết và xương ổ răng, ít gây tụt nướu để lộ mặt chân răng làm ảnh hưởng thẩm mỹ cho vùng răng trước so với các kỹ thuật vạt khác (vạt Widman nguyên thủy, vạt Newmann, vạt Kirkland, vạt đặt về phía chóp), [75].



Hình 1.3 Kỹ thuật phẫu thuật vạt Widman biến đổi

(..... hướng lưỡi dao phẫu thuật)

A. Lưỡi dao song song với trục dài của răng (đường rạch 1), B. Lưỡi dao đặt trong khe nướu (đường rạch 2), C. Lưỡi dao vuông góc với mặt chân răng (đường rạch 3)

"Nguồn: Lindhe, 2008"[75]

Laser mức năng lượng thấp được dùng kết hợp với phẫu thuật vạt trong điều trị viêm nha chu nhằm thúc đẩy sửa chữa và tái tạo mô nha chu đồng thời giảm tác dụng phụ sau phẫu thuật (giảm viêm, giảm phù nề và giảm đau).

Hiện chỉ có 2 nghiên cứu dùng kết hợp cả hai tác dụng laser loại bỏ mô bệnh ở vách mềm của túi và tác dụng kích thích sinh học trong điều trị phẫu thuật.

Xem xét hiệu quả của laser công suất thấp lên kết quả lành thương và giảm đau sau phẫu thuật vạt Widman biến đổi, Sanz-Moliner, 2013 [108] ghi nhận ở 1 tuần sau phẫu thuật, nhóm phẫu thuật kết hợp laser (1 W, chiếu liên tục loại mô bệnh ở vách mềm túi nha chu và 0,1W, chiếu liên tục, mật độ năng lượng 4J/cm² kích thích sinh học) chứng tỏ giảm phù nề mô nhiều hơn ($p < 0,05$) và giảm đau nhiều hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng chỉ phẫu thuật (điểm số VAS nhóm chứng

là $3,16 \pm 2,7$ so với nhóm laser là $2,4 \pm 1,9$; $p < 0,0001$). 7/13 bệnh nhân trong nghiên cứu này là có hút thuốc lá. Nhưng kết quả không tìm thấy ảnh hưởng của hút thuốc lên các thông số lâm sàng khảo sát. Nghiên cứu kết luận dùng kết hợp laser giúp giảm phù nề mô và giảm đau sau phẫu thuật vạt Widman biến đổi.

Tác giả Aena, 2015 [10] sử dụng thiết kế nghiên cứu và các thông số tương tự nghiên cứu của Sanz-Moliner, 2013 [108]. Thiết kế nửa miệng ngẫu nhiên trên các đối tượng đã qua điều trị không phẫu thuật ít nhất 6 tuần, các răng cùng nhóm thuộc hai phần hàm đối bên có túi nha chu ≥ 5 mm được chia ngẫu nhiên vào nhóm chứng chỉ phẫu thuật vạt Widman biến đổi và nhóm thử nghiệm dùng kết hợp laser với phẫu thuật vạt Widman biến đổi. Kết quả ghi nhận so với nhóm chứng, nhóm có dùng laser chứng tỏ chỉ số chảy máu gai nướu (PBI) thấp hơn ($p < 0,01$) ở 6 tháng, giảm PD nhiều hơn ở 9 tháng ($p < 0,01$) và giảm CAL nhiều ở cả 6 tháng ($p < 0,036$) và 9 tháng ($p < 0,001$) sau điều trị.

Bảng 1.3 Tóm tắt các thông số trong các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng laser tác dụng kích thích sinh học

Tác giả / Năm	Bước sóng (nm)	Công suất	Thời gian (giây)	Mật độ năng lượng (J/cm^2)	Số lần chiếu- Cách chiếu
Aykol, 2011 [18]	808	250 mW	10-20	4	3 lần, ngày 1, 2 và 7
Makhouf, 2012 [80]	830	100 mW	30	3	10 lần (6 lần /2 tuần đầu, 2 lần /tuần 3, 1 lần /tuần 4 và 5)
Sanz-Moliner, 2013 [108]	810	100 mW		4	1 lần (trước khi khâu đóng vạt)
Aena, 2015 [9]	810	100 mW		4	1 lần (trước khi khâu đóng vạt)
Pamuk, 2017 [92]	940	300 mW		3,4	3 lần, ngày 1, 2 và 7
Heidari, 2018 [59]	940	0,5 W	112	20	1 lần (trước khi khâu đóng vạt)

1.4 NHẬN ĐỊNH CHUNG TỪ TỔNG QUAN

Laser diode 810 nm đã là biện pháp hỗ trợ cho điều trị nha chu kinh điển từ không phẫu thuật đến phẫu thuật.

Các nghiên cứu trên tế bào

Do có vai trò quan trọng trong lành thương, duy trì và sửa chữa mô liên kết nướu nên NBS nướu được sử dụng làm phương tiện nghiên cứu tác động của laser lên lành thương sau điều trị nha chu.

Đáp ứng sinh học của tế bào thay đổi theo thông số laser tác động. Kết quả đánh giá các đáp ứng của tế bào dưới tác động của laser có ý nghĩa cung cấp bằng chứng về tính an toàn, tiềm năng ứng dụng, giúp nhận diện tập hợp các thông số tối ưu và góp phần làm sáng tỏ cơ chế tác động của laser trong sinh học lành thương sau điều trị. Ý nghĩa các đáp ứng của tế bào liên quan đến lành thương trong điều trị nha chu tìm thấy ở các nghiên cứu *in vitro* là câu hỏi đặt ra cho các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng.

Các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng

Ngoài diệt khuẩn và loại bỏ mô bệnh, các tác dụng tích cực trên tế bào NBS nướu trong điều tiết hay kích thích sinh học có thể làm laser có vai trò lớn hơn trong lành thương sau điều trị nha chu. Đã có một số bằng chứng có lợi của laser diode công suất thấp trong nhiều ứng dụng điều trị nha chu từ không phẫu thuật đến phẫu thuật. Xu hướng sử dụng kết hợp các phương thức điều trị để đạt hiệu ứng hiệp đồng đang dần được quan tâm hơn vì có thể mang lại lợi ích rõ hơn.

Số lượng nghiên cứu ứng dụng lâm sàng điều trị viêm nha chu bằng phương pháp phẫu thuật kết hợp với laser diode bước sóng 810 nm còn ít. Chưa có chuẩn mực rõ ràng về thông số chiếu và cách sử dụng cho mỗi tác dụng điều trị. Đối tượng hưởng được lợi ích của laser vẫn còn đang tìm kiếm.

CHƯƠNG 2:

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Công trình được trình bày trong luận án gồm hai nghiên cứu độc lập nhưng bổ sung cho nhau về mặt nội dung

2.1 NGHIÊN CỨU *IN VITRO*

2.1.1 Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu *in vitro*.

2.1.2 Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là nguyên bào sợi nướu người được nuôi cấy và phân lập từ mô nướu của bệnh nhân có chỉ định phẫu thuật cắt nướu vùng răng trước trên vì lý do thẩm mỹ.

Điều kiện chọn mẫu:

Tiêu chuẩn chọn:

- Đối với bệnh nhân: có sức khỏe toàn thân tốt, vệ sinh răng miệng tốt.
- Đối với vùng phẫu thuật: các răng trong vùng phẫu thuật không bị sâu, không bị bệnh nha chu, nướu không biểu hiện viêm đỏ hay chảy máu khi thăm khám.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Bệnh nhân có dùng thuốc ảnh hưởng đến mô nướu.
- Bệnh nhân là phụ nữ đang mang thai hay cho con bú.
- Bệnh nhân hiện đang có thói quen hút thuốc lá.

Mô nướu được thu nhận với sự đồng ý của bệnh nhân trong điều kiện vô trùng của phòng mổ (Hình 2.4). Phẫu thuật cắt nướu do tác giả luận án thực hiện.

Mô nướu được cho vào dung dịch bảo quản có chứa kháng sinh và nhanh chóng chuyển đến phòng thí nghiệm để tiến hành nuôi cấy và phân lập trong vòng 24 giờ.



Hình 2.4 Hình lâm sàng phẫu thuật cắt nướu vì lý do thẩm mỹ và mẫu mô nướu thu nhận được

2.1.3 Thời gian - Địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 9 năm 2016 đến tháng 5 năm 2017.

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Bộ môn Sinh lý học và Công nghệ sinh học động vật – Khoa Sinh học và Công nghệ sinh học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên – Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh.

2.1.4 Cỡ mẫu nghiên cứu

Ba mẫu tế bào nguyên bào sợi nướu người nuôi cấy và phân lập từ 3 mẫu mô nướu của 3 bệnh nhân.

2.1.5 Biến số

Bảng 2.4 Tóm tắt các biến trong nghiên cứu *in vitro*

Tên biến	Loại biến	Giá trị biến
Tăng sinh tế bào	Liên tục	Mật độ quang OD
Di cư tế bào	Liên tục	Tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào

2.1.6 Phương tiện nghiên cứu

Dụng cụ

Ống falcon 15, 50 ml (Omniceil)

Bình Roux 25 cm² (Nunc)

Đĩa nuôi 96 giếng và 35 mm (Nunc)

Micropipette (Omniceil)

Đầu tip pipette (ThermoFisher)

Hoá chất

Gồm các dung dịch và môi trường nuôi cấy được cung cấp bởi Sigma-Aldrich

- Dung dịch bảo quản mẫu mô có chứa kháng sinh:

Dung dịch DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) bổ sung kháng sinh 3X:
300 UI/ml Penicillin, 300 µg/ml Streptomycin.

- Dung dịch PBS 1X:

9 nước cất 2 lần hấp khử trùng bổ sung 1PBS 10X (Phosphate Buffer Saline, Gibco) bổ sung kháng sinh 500 µg/ml Streptomycin and 500 UI/ml Penicillin.

- Môi trường nuôi cấy mô và tế bào:

DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium: Nutrient Mixture F-12) bổ sung
10% FBS (Fetal bovine serum), 100 UI/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin

- MTT (3-(4,5- dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 5
mg/ml

- DMSO/ethanol (1:1)

- Trypsin-EDTA 0,25%

Thiết bị

Tủ nuôi cấy tế bào (Sanyo)

Tủ thao tác vô trùng (Nuaire)

Kính hiển vi đảo ngược (Narissbage)

Máy ly tâm (Hettich)

Máy đo mật độ quang

Máy laser Picasso Lite (Densply) và đầu tip đường kính 400 μm , dài 10 mm

Các thông số kỹ thuật của Máy laser diode 810nm (Picasso Lite) (Hình 2.5)

Laser loại IV

Môi trường hoạt chất: GaAlAs

Bước sóng: 810 nm \pm 10 nm

Công suất phát: 0.1 – 2.5 Watts \pm 20%

Chế độ phát: xung và liên tục

Thời gian mỗi xung: 10 ms – 9.9s

Khoảng cách giữa 2 xung: 10ms – 90 ms

Chùm tia dẫn: laser diode 635 nm \pm 20%
công suất tối đa 5 mW



Hình 2.5 Thiết bị laser Picasso Lite

2.1.7 Tiến trình thực hiện nghiên cứu

Gồm các bước chuẩn bị mẫu tế bào, tác động laser lên tế bào và đánh giá kết quả trong từng thử nghiệm.

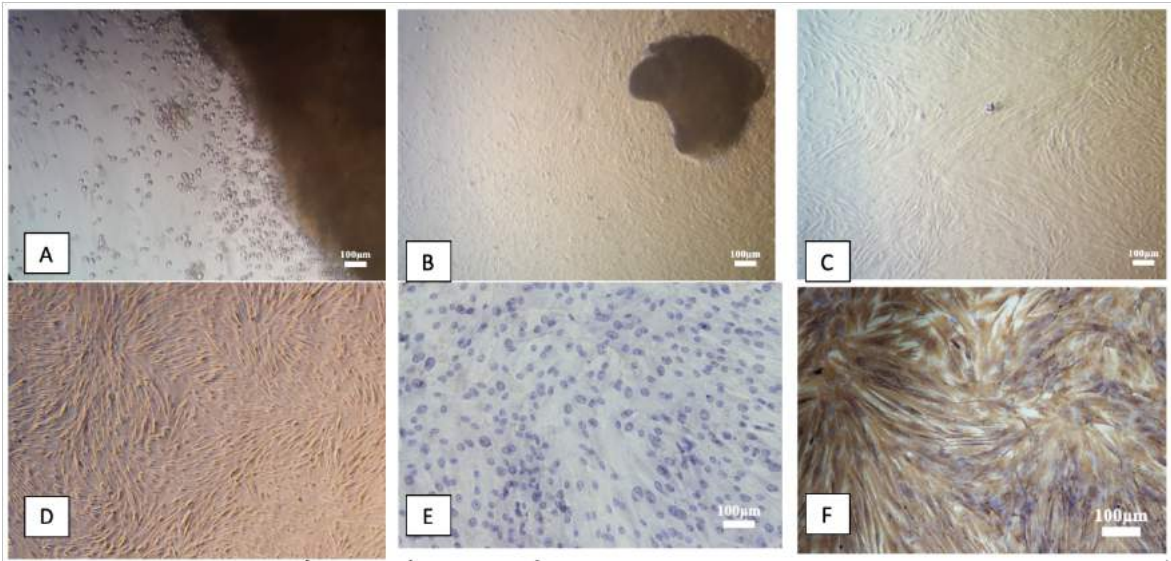
Chuẩn bị mẫu tế bào nghiên cứu:

Thực hiện nuôi cấy và phân lập nguyên bào sợi theo phương pháp nuôi cấy mảnh mô theo qui trình của tác giả Trần Lê Bảo Hà, 2009 [2].

Các đặc điểm của mẫu tế bào thu nhận (Hình 2.6):

- Về hình thái: quan sát dưới kính hiển vi đảo ngược tế bào có dạng hình thoi thuôn dài hai đầu của nguyên bào sợi.

- Bản chất trung mô của các nguyên bào sợi được xác định bằng nhuộm hóa tế bào miễn dịch: biểu hiện dương tính với Vimentin- marker của tế bào trung mô và âm tính với Cytokeratine- marker của tế bào biểu mô.



Hình 2.6 Phân lập và nuôi cấy nguyên bào sợi nướu người

Tế bào phát triển từ mảnh mô ở (A) ngày 7, (B) ngày 10, (C) ngày 15, (D) Tế bào sau 4 lần cấy chuyển ở ngày 15, (E) biểu hiện dương tính với nhuộm Vimentin, (F) biểu hiện âm tính với nhuộm Cytokeratine.

NBS nướu người thu nhận được ở thể hệ P3 chứa trong các eppendorf 1,5 ml được lưu trữ trong nitơ lỏng ở nhiệt độ -196°C . Trước khi thực hiện các thử nghiệm đánh giá tác động của laser lên tế bào, tế bào được rã đông nhanh trong tủ ủ ấm môi trường ở nhiệt độ 37°C cho đến khi khối tế bào đông tan hoàn toàn. Các tế bào ở thể hệ P3 tiếp tục cấy chuyển đến thể hệ P4 để tế bào đạt sự đồng nhất về hình dạng.

Các bước thực hiện cấy chuyển như sau:

- Hút bỏ môi trường nuôi cấy cũ trong bình nuôi cấy
- Rửa bề mặt với 2ml PBS (rửa 2 lần), hút bỏ PBS ở lần cuối
- Bổ sung 1ml Trypsin-EDTA 0,25% vào bình nuôi cấy để tách tế bào
- Ủ trong tủ ủ ấm môi trường trong 2-3 phút cho tế bào tách hết khỏi bề mặt bình nuôi
- Bổ sung 2 ml môi trường nuôi cấy vào bình để bất hoạt Trypsin
- Hút chuyển dung dịch tế bào vào ống ly tâm, ly tâm ở vận tốc 3000 vòng/phút trong 5 phút
- Loại bỏ dịch nổi và tái huyền phù cặn tế bào bằng 8ml môi trường nuôi cấy

- Hút dung dịch tế bào vào bình nuôi cấy mới (4 ml/bình)
- Nuôi tế bào trong tủ nuôi
- Thay môi trường 2 ngày 1 lần
- Theo dõi sự tăng sinh của các tế bào P4 khi chúng trải thành lớp đơn phủ bề mặt bình Roux đạt độ bao phủ khoảng 80% (khoảng 2 tuần). Lúc này các tế bào thể hệ P4 đã sẵn sàng cho các thử nghiệm.

Cách thức tác động laser lên tế bào:

Các thông số chiếu ở nhóm 1 dùng với đầu chiếu kích hoạt (mô phỏng đầu chiếu với tác dụng loại bỏ mô viêm và biểu mô). Các thông số chiếu ở nhóm 2 và 3 dùng với đầu chiếu không kích hoạt.

Kích hoạt đầu chiếu:

Dùng một miếng giấy than thử khò ở mức cao. Trước kích hoạt đầu chiếu tạo điểm sáng màu đỏ khi đạp pên máy laser. Đặt máy ở công suất 1 W, chế độ chiếu liên tục. Chạm đầu chiếu vào giấy than và đạp pên máy cho đến khi thấy cháy và bốc khói ở điểm tiếp xúc giữa giấy than và đầu chiếu. Lặp lại khoảng 3-5 lần. Đầu chiếu phủ một chấm đen 1-2 mm (chất hấp thu sậm màu). Sau kích hoạt, đầu chiếu tạo điểm sáng màu cam khi đạp pên máy.



Hình 2.7 Đầu chiếu đường kính 400 μ m

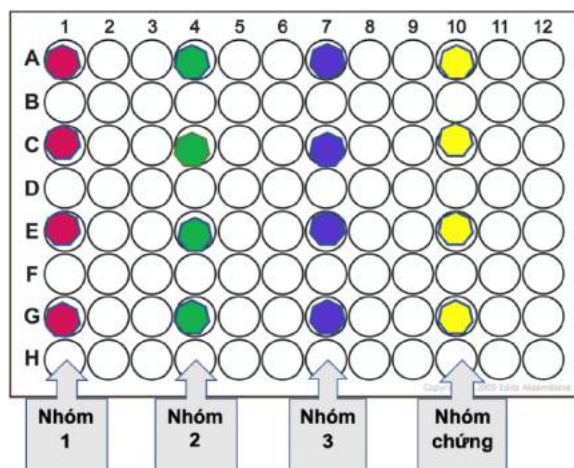
A. Không kích hoạt , B. Có kích hoạt

Bảng 2.5 Tóm tắt các thông số cài đặt cho các nhóm trong nghiên cứu *in vitro*

	Công suất chiếu (W)	Dạng sóng	Thời gian chiếu (giây)	Ứng dụng lâm sàng
Nhóm 1	0,8 Có kích hoạt đầu tip	Liên tục	20	Loại bỏ mô viêm và biểu mô túi
Nhóm 2	1,5	Xung	5	Khử nhiễm túi
Nhóm 3	0,1	Liên tục	15	Kích thích sinh học
Nhóm 4	Không chiếu			

Thử nghiệm tăng sinh tế bào

Tế bào ở thể hệ P4 đã chuẩn bị như trên được cấy vào đĩa 96 giếng với mật độ 10^3 tế bào/ giếng. Sau đó, thêm môi trường nuôi cấy vào các giếng và đưa đĩa vào tủ nuôi ở 37°C , 5 % CO_2 trong 24 giờ để tế bào ổn định và bám dính trước khi chiếu laser. Trên một đĩa nuôi, các giếng tế bào được phân chia thành 4 nhóm. Phân bố 4 giếng cho một nhóm và khoảng cách 2 giếng để trống giữa các nhóm (Hình 2.7).

**Hình 2.8 Bố trí các giếng tế bào trong thử nghiệm đánh giá tăng sinh tế bào**

Ngay trước khi chiếu, môi trường nuôi cấy được rút hết khỏi các giếng đã chuẩn bị. Thông số chiếu cài đặt cho mỗi nhóm được tóm tắt trong Bảng 2.4. Trình tự chiếu laser được thống nhất giữa các lần lặp lại, bắt đầu từ các giếng nhóm 1 đến

các giếng nhóm 2 và các giếng nhóm 3. Các giếng ở nhóm 4 là nhóm chứng không chiếu. Đối với các giếng thuộc nhóm 1, chiếu 20 giây nghỉ 20 giây. Trong thời gian chiếu, sợi quang 400 μm đặt vuông góc với đáy giếng và đầu tip cách đáy giếng 5 mm. Di chuyển sợi quang theo hình zic-zac để chùm tia chiếu phủ đầy bề mặt đáy giếng.

Sau khi chiếu laser, các giếng nuôi tế bào được rửa 1 lần với PBS, bổ sung môi trường nuôi cấy mới và đưa đĩa vào tủ nuôi ở 37 °C, 5 % CO₂ tiếp tục nuôi để đánh giá sự tăng sinh tế bào.

Sự tăng sinh tế bào được đánh giá ở các thời điểm ngày 1 (N1), ngày 3 (N3), ngày 5 (N5), ngày 7 (N7) và ngày 9 (N9) ngày sau chiếu bằng phương pháp MTT.

Ở các mốc thời gian đánh giá, loại bỏ môi trường cũ ở các giếng thêm vào môi trường mới và 100 μl dung dịch MTT 5 mg/ml. Trộn đều dung dịch ở mỗi giếng và đưa đĩa vào tủ ủ ấm trong 4 giờ. Sau đó, hút bỏ toàn bộ môi trường và cho vào 100 μl dung dịch DMSO/ethanol (1:1). Tiếp tục ủ đĩa trong 12 giờ. Sau ủ, đĩa được đưa vào máy đo mật độ quang để ghi nhận mật độ quang của dung dịch ở các giếng.

Sự tăng sinh tế bào được đánh giá định lượng thông qua tương quan giữa mật độ quang (OD) đo ở bước sóng 595 nm với mật độ tế bào. Mật độ quang càng cao chứng tỏ số lượng tế bào sống càng nhiều hay tăng sinh tế bào càng cao.

Thử nghiệm được lặp lại 3 lần trên 3 đĩa khác nhau.

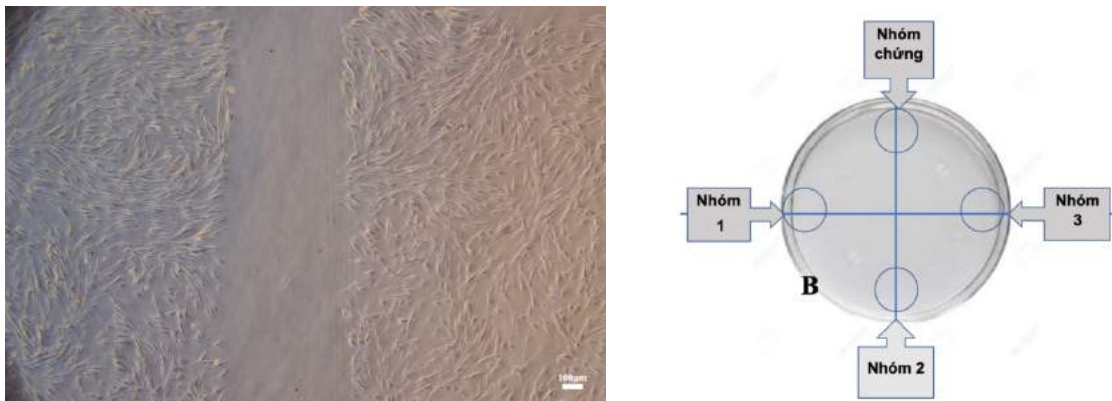
Thử nghiệm lành thương *in-vitro*

Tế bào ở thể hệ P4 đã chuẩn bị được cấy vào đĩa nuôi 35 mm với mật độ 5×10^3 tế bào/ đĩa. Sau khi cấy tế bào vào đĩa thêm môi trường nuôi cấy vào và đưa đĩa vào tủ nuôi. Sau 48 giờ nuôi, tế bào có độ bao phủ đạt 90% trên đĩa. Dùng đầu tip pipette p200 tạo hai đường rạch thẳng vuông góc với nhau trên bề mặt lớp đơn tế bào đang bám dính vào đáy đĩa nuôi. Các tế bào bong lên ở đường rạch được rửa và loại bỏ 1 lần bằng dung dịch PBS. Khoảng trống của đường rạch mô phỏng cho vết thương nằm giữa hai mép tế bào.

Kết quả tạo các vết thương *in vitro* được kiểm tra dưới kính hiển vi đảo ngược (Hình 2.9 A). Dùng bút lông vẽ 4 hình tròn đường kính 6 mm ở mặt dưới đáy

đĩa tương ứng với các vùng thử nghiệm (Hình 2.9 B) và đánh dấu các điểm tham chiếu.

Tế bào được bỏ đói 24 giờ trước thí nghiệm trong môi trường nuôi không huyết thanh. Ngay trước khi chiếu môi trường nuôi cấy được rút hết khỏi đĩa nuôi đã chuẩn bị. Thông số chiếu cài đặt cho mỗi nhóm được tóm tắt trong Bảng 2.4. Trình tự chiếu laser thống nhất giữa các lần lặp lại, bắt đầu từ nhóm 1 đến nhóm 2 đến nhóm 3 và nhóm 4 là nhóm chứng không chiếu. Trong thời gian chiếu, sợi quang 400 μm đặt vuông góc với đáy đĩa và đầu tip cách đáy đĩa 5 mm. Di chuyển sợi quang theo hình zic-zac để chùm tia chiếu quét trên diện tích chiếu là hình tròn đường kính 6 mm (tương đương với diện tích 0,3 cm^2) đã vẽ.



Hình 2.9 Vết thương *in vitro* và bố trí các nhóm thử nghiệm trên đĩa 35 mm

(A) Vết thương *in vitro* tạo bằng đầu pipette p200 trên lớp tế bào đơn

(B) Bố trí các nhóm thử nghiệm trên đĩa 35 mm sau khi tạo hai đường rạch tạo khoảng trống (đường màu xanh).

Sau chiếu laser, các đĩa nuôi tế bào được rửa 1 lần với PBS, bổ sung môi trường nuôi cấy mới và đưa đĩa vào tủ nuôi tiếp tục nuôi để đánh giá sự di cư tế bào.

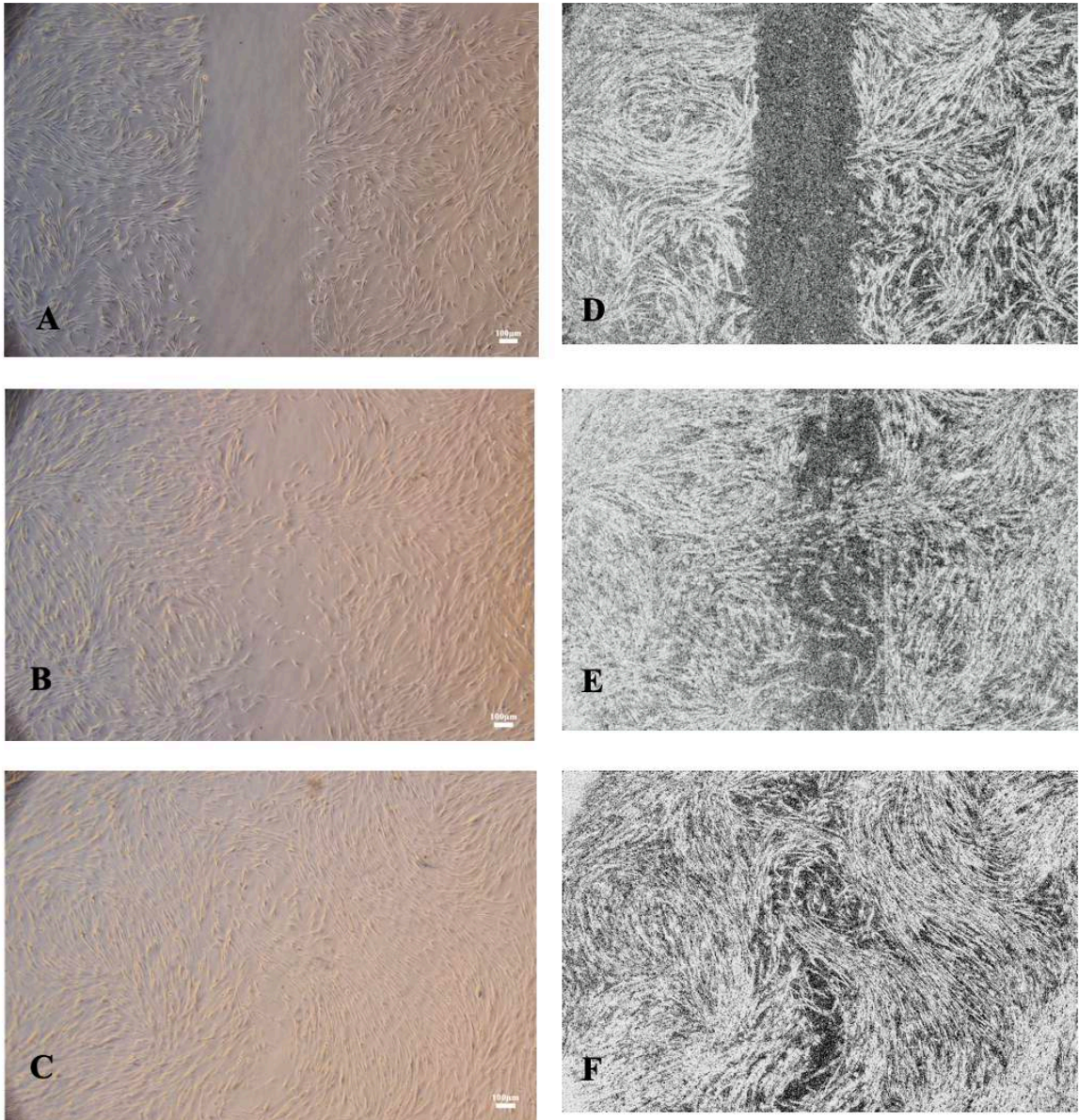
Quan sát và chụp hình các vị trí tham chiếu dưới kính hiển vi đảo ngược tại các mốc thời gian 0 giờ, 24 giờ và 48 giờ ghi nhận hình ảnh di cư của tế bào vào khoảng trống đường rạch. Sau mỗi lần quan sát đặt lại đĩa vào tủ nuôi.

Đánh giá định lượng mức độ di cư tế bào bằng phần mềm phân tích hình ảnh Image J 1.50i (Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD).

(<http://wsr.imagej.net/download/ImageJ-osx-java8.zip>)

Kết quả ghi nhận tỉ lệ phần trăm diện tích vết thương *in vitro* hay vùng vô bào của mỗi vùng thử nghiệm tại mỗi thời điểm. Tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào càng nhỏ chứng tỏ diện tích vùng vô bào càng thu hẹp và số lượng tế bào di cư vào khoảng trống đường rạch càng nhiều (Phụ lục 4).

Thử nghiệm cũng được lặp lại 3 lần trên 3 đĩa khác nhau.



Hình 2.10 Vết thương *in vitro* và sự di cư tế bào vào vết thương

A, B, C. Hình ghi nhận bằng máy ảnh - D, E, F. Hình phân tích với phần mềm Image J

1.50i. A,D. Trước chiếu laser, B, E. Sau chiếu 24 giờ, C, F. Sau chiếu 48 giờ.

(Nguồn: Nhóm chứng từ thí nghiệm này)

2.1.8 Kiểm soát sai lệch

- Một cử nhân thuộc Bộ môn Sinh lý học và Công nghệ sinh học động vật – Khoa Sinh học và Công nghệ sinh học Trường Đại học Khoa học tự nhiên phụ trách làm thử nghiệm MTT, thử nghiệm lành thương *in-vitro*, chụp hình dưới kính hiển vi theo quy trình của phòng thí nghiệm. Người này không biết về các thông số chiếu ở mỗi nhóm.

- Tác giả luận án thực hiện chiếu laser theo trình tự thống nhất giữa các lần lặp lại, bắt đầu từ nhóm 1 đến nhóm 2 đến nhóm 3, nhóm 4 là nhóm chứng không chiếu.

- Đánh giá tăng sinh tế bào thực hiện bằng máy cho nên bảo đảm tính khách quan.

- Các hình quan sát và đánh giá trong thử nghiệm di cư tế bào được chụp dưới cùng điều kiện và thông số. Thao tác phân tích hình bằng phần mềm được tùy chỉnh các thông số với mục đích nhìn thấy rõ hình ảnh nhất và các thông số gần như nhau giữa các lần phân tích để đảm bảo giảm thiểu sai lệch. Người phân tích hình không biết thông tin về nhóm hình chụp.

2.1.9 Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được nhập và phân tích thống kê với phần mềm thống kê SPSS 23.0. (IBM, NY).

Thống kê mô tả

- Giá trị mật độ quang được ghi nhận bằng giá trị trung vị và khoảng tứ phân vị

- Tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào ghi nhận bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn.

Thống kê suy lý

- Phân phối chuẩn được kiểm tra với kiểm định Shapiro-Wilk.

- Kiểm định Kruskal - Wallis so sánh mật độ quang giữa các nhóm ở các thời điểm.

- Kiểm định Mann-Whitney U so sánh mật độ quang giữa các cặp nhóm ở T9.

- Kiểm định phương sai một yếu tố One-way ANOVA (Post Hoc Tests Turkey HSD) so sánh trung bình tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào giữa các nhóm ở các thời điểm.

- Các phép kiểm được tiến hành với độ tin cậy ở mức xác suất $p=95\%$ và phần mềm thống kê SPSS 23.0 (IBM, NY).

2.2 NGHIÊN CỨU LÂM SÀNG

2.2.1 Thiết kế nghiên cứu

Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên, có nhóm chứng.

2.2.2 Đối tượng nghiên cứu

2.2.2.1 Dân số chọn mẫu: Bệnh nhân đến khám và điều trị VNC tại Khoa Răng Hàm Mặt Đại Học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.

2.2.2.2 Tiêu chí chọn mẫu

Tiêu chí lựa chọn:

- Bệnh nhân được chẩn đoán VNC mạn toàn thể theo Cập nhật phân loại của Hiệp hội Nha chu Hoa kỳ 1999 [9]. Các tiêu chí chẩn đoán bao gồm: (i) có một hay nhiều hơn một vị trí túi có biểu hiện chảy máu khi thăm khám, có biểu hiện tiêu xương trên phim X quang và độ sâu thăm dò $>3\text{mm}$ hay có mất bám dính lâm sàng, (ii) tuổi >25 , (iii) có $>30\%$ các răng có biểu hiện bệnh.

- Bệnh nhân đã qua giai đoạn điều trị không phẫu thuật ít nhất 4 tuần, có chỉ định phẫu thuật vạt cho các răng thuộc hai phần hàm đối bên, trong đó mỗi răng có ít nhất 2 vị trí túi sâu $\geq 5\text{ mm}$ và có biểu hiện chảy máu thăm khám.

- Bệnh nhân có ít nhất 16 răng thật trong đó ít nhất 4 răng trên một phần hàm không tính răng 8.

- Bệnh nhân không điều trị kháng sinh hay kháng viêm trên 10 ngày trong vòng 3 tháng trước.

- Bệnh nhân đồng ý tự nguyện tham gia nghiên cứu sau khi được thông báo về mục đích nghiên cứu.

- Răng chọn nghiên cứu không có phục hồi dưới nướu, xoang sâu, bệnh lý nội nha, lung lay độ III, chấn thương khớp cắn.

Tiêu chí loại trừ:

- Bệnh nhân là nữ đang có thai hay cho con bú.

- Bệnh nhân có tình trạng toàn thân chống chỉ định phẫu thuật nha chu: đái tháo đường không kiểm soát, bệnh tim mạch (cao huyết áp, bệnh mạch vành, tiền sử nhồi máu cơ tim, viêm nội tâm mạc, bệnh tim bẩm sinh, đặt van tim) ghép thận, đang sử dụng thuốc chống đông, bệnh lý về máu, rối loạn thần kinh (Parkinson, động kinh) [75].

- Bệnh nhân đã hoặc đang điều trị xạ trị, đang điều trị chỉnh hình răng, sâu nhiều răng, nhiễm nấm vùng miệng.

- Bệnh nhân có thói quen hút thuốc lá ≥ 10 điếu / ngày trong thời gian > 10 năm

2.2.3 Thời gian - Địa điểm nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 5 năm 2016 đến tháng 9 năm 2019.

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Răng Hàm mặt, Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh.

2.2.4 Cỡ mẫu nghiên cứu

Áp dụng công thức tính cỡ mẫu để kiểm định giả thuyết về hai số trung bình kỳ vọng giữa 2 phương pháp điều trị.

$$n = \frac{2\sigma^2 [z_{(1-\alpha/2)} + z_{(1-\beta)}]^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

$$\text{với } \sigma^2 = \frac{(n_1-1)s_1^2 + (n_2-1)s_2^2}{(n_1-1) + (n_2-1)}$$

n_1, n_2 : cỡ mẫu của nhóm 1 và 2 trong nghiên cứu trước

S_1, S_2 : độ lệch chuẩn của nhóm 1 và 2 trong nghiên cứu trước

σ : độ lệch chuẩn gộp

Với mức ý nghĩa là 95 % và sức mạnh thống kê là 80 %:

$$Z_{(1-\frac{\alpha}{2})} = 1,96$$

$$Z_{(1-\beta)} = 0,84$$

Dựa vào nghiên cứu lâm sàng của Aena, 2015 [10] có thiết kế nửa miệng, sử dụng phẫu thuật vạt Widman biến đổi có hay không kết hợp laser diode 810nm tác dụng loại mô viêm và biểu mô túi và laser kích thích sinh học. Kết quả khác biệt về PD và CAL giữa 2 phương pháp điều trị sau điều trị 9 tháng lần lượt là 0,74 mm và 0,94 mm.

Kết quả áp dụng công thức trên, cỡ mẫu tối thiểu là 10 bệnh nhân nếu tính theo CAL và 17 bệnh nhân nếu tính theo PD. Giả sử 20% mẫu mất thì cỡ mẫu sẽ là 20 bệnh nhân. Vậy cỡ mẫu của nghiên cứu là 20 bệnh nhân.

2.2.5 Biến số

- **Chỉ số mảng bám (PII)** đánh giá theo thang điểm của Loe và Silness (1964) [78], dùng đánh giá mức độ mảng bám trên mặt răng (Hình lâm sàng: Phụ lục 5).

Thực hiện đánh giá tại 4 vùng ở mỗi răng: gai nướu ngoài gần, nướu mặt ngoài, gai nướu ngoài xa, nướu mặt trong.

Cách ghi nhận:

Điểm số	Tiêu chuẩn
0	Không hiện diện mảng bám ở vùng nướu
1	Có một lớp mảng bám mỏng ở viền nướu và mặt răng liền kề, không thấy được bằng mắt thường, chỉ phát hiện được khi dùng dụng cụ thăm dò cạo trên mặt răng dọc theo khe nướu
2	Mảng bám tích tụ mức độ vừa trong khe nướu, trên viền nướu và/ hoặc mặt răng liền kề, có thể thấy được bằng mắt thường
3	Mảng bám tích tụ nhiều trong khe nướu và/ hoặc trên viền nướu và trên mặt răng liền kề

Tính điểm: Trung bình PII (nhóm) = Tổng điểm PII của tất cả các vị trí khám/ Tổng số vị trí khám.

- **Chỉ số nướu (GI)** đánh giá theo thang điểm của Loe và Silness, (1963)[77], dùng đánh giá mức độ viêm của nướu răng (Hình lâm sàng: Phụ lục 5).

Tương tự chỉ số PII, thực hiện đánh giá tại 4 vị trí ở mỗi răng: gai nướu ngoài gần, nướu mặt ngoài, gai nướu ngoài xa, nướu mặt trong.

Cách ghi nhận:

Điểm số	Tiêu chuẩn
0	Nướu bình thường
1	Nướu viêm nhẹ: hơi đổi màu, hơi phù nề, không chảy máu khi thăm khám
2	Nướu viêm trung bình: nướu đỏ, phù nề, căng bóng, chảy máu khi thăm khám
3	Nướu viêm nặng: nướu đỏ nhiều, phù nề, lở loét, có khuynh hướng chảy máu tự phát

Tính điểm: Trung bình (nhóm) = Tổng điểm GI của tất cả các vị trí khám / Tổng số vị trí khám.

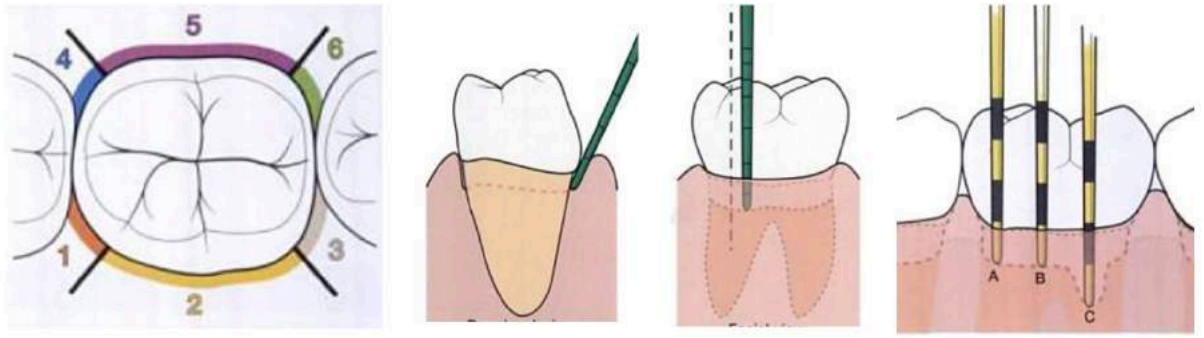
- **Độ sâu túi nha chu (PD) và mất bám dính lâm sàng (CAL)**

Sử dụng dụng cụ đo túi UNC-15, với các khắc chia vạch từng 1mm. Thực hiện đánh giá tại 6 vị trí ở mỗi răng: ngoài gần, ngoài giữa, ngoài xa, trong gần, trong giữa, trong xa (Hình 2.13).

- Đặt dụng cụ đo túi vào khe nướu sao cho song song với trục răng và áp sát vào bề mặt chân răng với lực đặt trên cây khoảng 10-20 gram.

- Vùng tiếp giáp giữa 2 răng kế cận, dụng cụ đo túi được nghiêng nhẹ để không bị vướng tiếp điểm và chạm vào đường giữa mặt bên của răng, đến vị trí sâu nhất của đáy túi.

- Di chuyển dụng cụ đo nhẹ nhàng dọc theo chu vi răng theo kiểu nhịp đi bộ (chiều ngang 1 mm, chiều cao 1-2 mm)



Hình 2.11 Phương pháp đo độ sâu túi nha chu (PD) và mất bám dính lâm sàng (CAL)

(Nguồn: Neild- Gehrig, 2013, trang 227, 228, 230) [85]

Cách ghi nhận:

- Số đo được làm tròn nếu $<0,5$ mm thì tính bằng 0mm, nếu $>0,5$ mm thì tính bằng 1 mm
- Vùng có nhiều số đo khác nhau, lấy số đo lớn nhất (vị trí C) (Hình 2.10)

Tính điểm:

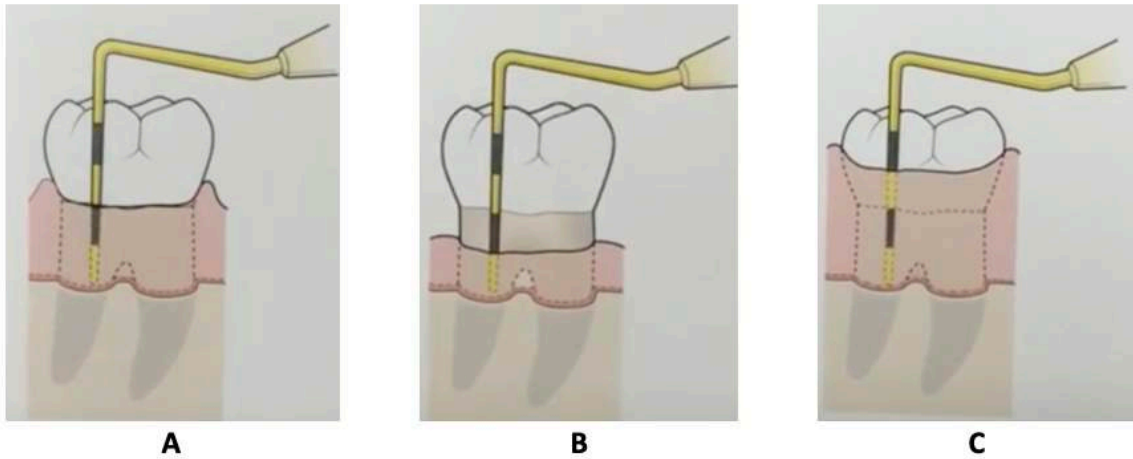
Trung bình PD (nhóm) = Tổng điểm PD của tất cả các vị trí khám/ Tổng số vị trí khám.

Trung bình CAL (nhóm) = Tổng điểm CAL của tất cả các vị trí khám/ Tổng số vị trí khám.

Trung bình GR (nhóm) = Tổng điểm GR của tất cả các vị trí khám/ Tổng số vị trí khám.

Liên quan giữa độ sâu túi PD và mất bám dính lâm sàng CAL (Hình 2.12)

- Đường viền nướu trùng với CEJ: ghi nhận $CAL=PD$ (Hình 2.12 A)
- Đường viền nướu ở về phía chóp so với CEJ (có tụt nướu): ghi nhận $CAL=PD +$ độ tụt nướu (Hình 2.12 B)
- Đường viền nướu ở về phía thân răng so với CEJ: ghi nhận $CAL= PD -$ Khoảng cách từ đường viền nướu đến CEJ (Hình 2.12 C)



Hình 2.12 Liên quan giữa độ sâu túi PD và mất bám dính lâm sàng CAL

- Chảy máu khi thăm khám (BOP)

Thực hiện đánh giá tại 6 vị trí ở mỗi răng: ngoài gần, ngoài giữa, ngoài xa, trong gần, trong giữa, trong xa. Ghi nhận đồng thời với lúc đo túi nha chu. Dụng cụ thăm dò đưa vào túi nha chu và di chuyển dọc theo chu vi răng nhẹ nhàng.

Cách ghi nhận: có hay không chảy máu ở vị trí khám sau khi dụng cụ thăm dò rời khỏi vị trí khám.

Tính điểm: Trung bình BOP (nhóm) = Tổng điểm của tất cả các vị trí khám / Tổng số vị trí khám.



Hình 2.13 Đánh giá chỉ số chảy máu khi thăm khám (BOP)

- Loại túi sau điều trị đánh giá theo (Serino 2001)[110]:

Kết quả thay đổi độ sâu túi sau điều trị phẫu thuật được phân chia thành 3 loại: túi đóng, túi tồn tại trung bình, túi tồn tại sâu (Bảng 2.6).

Bảng 2.6 Tóm tắt các biến trong nghiên cứu lâm sàng

Tên biến	Phân loại biến	Giá trị biến
Giới	Định danh	Có 2 giá trị: (1) Nam (2) Nữ
Hút thuốc	Thứ tự	Có 2 giá trị: (1) Có : hiện đang hút (2) Không: chưa bao giờ hút
Chỉ số mảng bám (PII)	Liên tục	Có 4 giá trị: 0: Không có mảng bám 1: Mắt thường không thấy mảng bám chỉ thấy khi dùng dụng cụ thăm dò cạo trên bề mặt răng ở khe nướu 2: Mảng bám thấy được bằng mắt thường 3: Mảng bám, vụn thức ăn tích tụ nhiều
Chỉ số nướu (GI)	Liên tục	Có 4 giá trị: 0: Nướu bình thường 1: Nướu viêm nhẹ 2: Nướu viêm trung bình 3: Nướu viêm nặng
Chảy máu khi thăm khám (BOP)	Liên tục	Có 2 giá trị (1) Có: có chảy máu sau khi rút dụng cụ thăm dò ra khỏi vị trí khám (2) Không: không chảy máu sau khi dụng cụ thăm dò rời khỏi vị trí khám
Độ tụt nướu (GR)	Liên tục	Tính bằng mm khoảng cách từ đường nối men-xê răng đến bờ viền nướu
Độ sâu túi nha chu (PD)	Liên tục	Tính bằng mm khoảng cách từ bờ viền nướu đến đáy túi nha chu
Mất bám dính lâm sàng (CAL)	Liên tục	Tính bằng mm khoảng cách từ CEJ đến đáy túi nha chu
Phương pháp điều trị	Thứ tự	Có 2 giá trị: (1) Chỉ phẫu thuật vạt: nhóm chứng (2) Phẫu thuật vạt có kết hợp laser: nhóm laser
Loại túi sau điều trị	Thứ tự	Có 3 giá trị: (1) Túi đóng khi PD=1-3 mm (2) Túi tồn tại trung bình khi PD= 4-5 mm (3) Túi tồn tại sâu khi PD \geq 6 mm

2.2.6 Phương tiện nghiên cứu

- Bộ dụng cụ khám, cây thăm dò nha chu UNC-15
- Phiếu khám
- Bộ dụng cụ phẫu thuật vạt, dụng cụ XLMCR tay và máy lấy cao răng siêu âm Satelec P5
- Nước muối sinh lý
- Bơm tiêm nhựa 10 ml dùng một lần để bơm rửa
- Thuốc tê
- Kim gây tê
- Kim chỉ khâu 4/0
- Thiết bị laser Picasso Lite (Hình 2.5) và các đầu chiếu đường kính 400 μm , chiều dài 10 mm

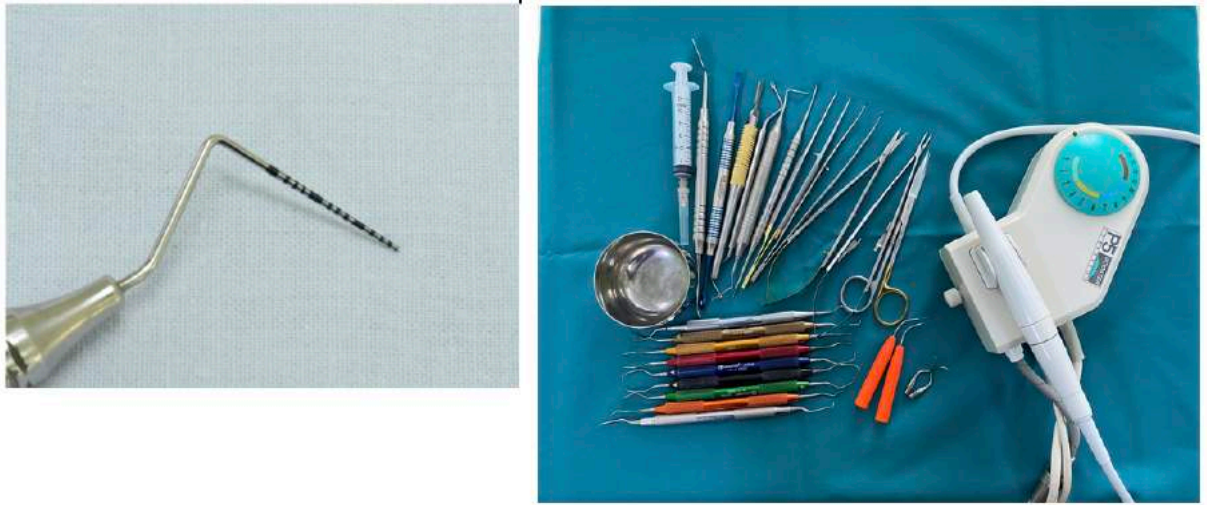
2.2.7 Tiến trình thực hiện nghiên cứu

Chuẩn bị bệnh nhân:

- Khám và ghi nhận thông tin hành chánh, thói quen răng miệng, các chỉ số nha chu lâm sàng vào phiếu khám (Phụ lục 3).
- Tất cả bệnh nhân tham gia nghiên cứu đều được làm sạch mảng bám, cao răng trên nướu toàn miệng và hướng dẫn vệ sinh răng miệng (VSRM) kiểm soát mảng bám sao cho các răng thuộc phần hàm nghiên cứu có chỉ số mảng bám PII ≤ 1 .
- Thời điểm T0: ngay trước phẫu thuật ghi nhận các chỉ số nha chu lâm sàng, gồm PII, GI, PD, CAL, GR.
- Phân chia ngẫu nhiên các răng thuộc hai phần hàm đối bên vào hai nhóm theo phương pháp tung đồng xu. Mặt hình: phần hàm bên phải chọn làm nhóm chứng, phần hàm bên trái làm nhóm laser; mặt lưng: ngược lại phần hàm bên phải làm nhóm laser, bên trái làm nhóm chứng. Việc tung đồng xu do trợ thủ phẫu thuật thực hiện.

Nhóm chứng: chỉ phẫu thuật vạt

Nhóm laser: phẫu thuật vạt + chiếu laser



Hình 2.14 Dụng cụ đo túi UNC-15 và bộ dụng cụ phẫu thuật

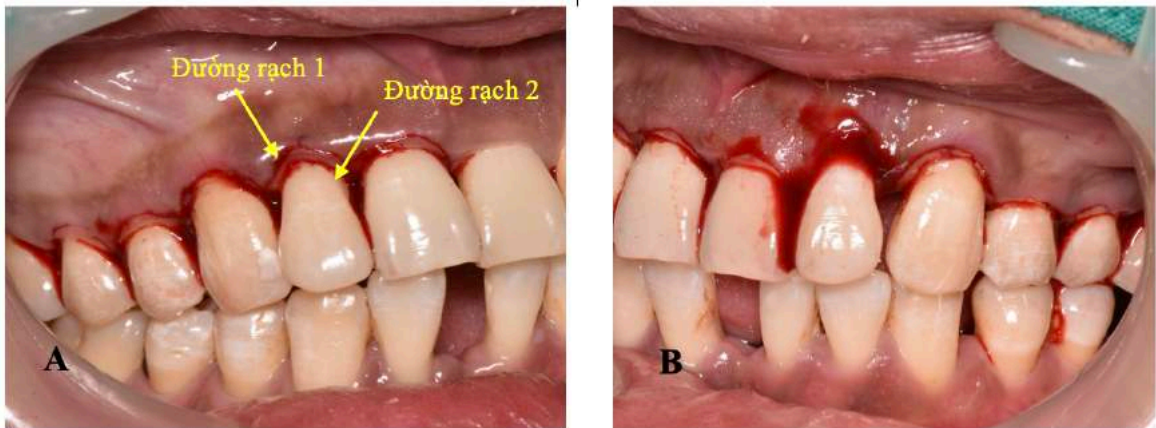
Điều trị

Điều trị phẫu thuật do tác giả luận án thực hiện.

Trình tự phẫu thuật theo kỹ thuật vật Widman biến đổi [99]

Đối với nhóm laser:

- Gây tê tại chỗ
- Thực hiện các đường rạch với dao 15C
 - Đường rạch thứ nhất: ở mặt ngoài các răng đường rạch cách đỉnh viền nướu 1 mm, song song với trục răng hướng về phía mào xương ổ, ở mặt trong các răng trên hướng dao hơi nghiêng về phía khẩu cái.
 - Dùng dụng cụ bóc tách bóc tách vạt bề dày toàn phần 2 mặt ngoài và trong ở vùng phẫu thuật và mở rộng thêm một răng ở hai đầu tận gần và xa của vạt. Mặt ngoài: bóc tách vạt vượt quá mào xương ổ còn lại 2mm, mặt trong: bóc tách tối thiểu, chỉ 2-3mm.
 - Đường rạch thứ hai: rạch trong khe nướu vòng theo các cổ răng.
 - Đường rạch thứ ba: rạch ngang giúp tách rời phần mô giữa hai đường rạch thứ nhất và thứ hai.



Hình 2.15 Các đường rạch trong kỹ thuật vạt Widman biến đổi [99].

Đường rạch thứ nhất cách viền nướu 1mm, đường rạch thứ hai trong khe nướu.

(A) phần hàm thuộc nhóm laser, (B) phần hàm thuộc nhóm chứng.

- XLMCR bằng dụng cụ Gracey và các insert trên máy lấy cao răng siêu âm Satelec P5 không giới hạn về thời gian cho đến khi mặt răng sạch và trơn láng.

- Bơm rửa bằng nước muối sinh lý.

- Chiếu laser loại bỏ mô bệnh còn sót ở mặt trong vạt và loại bỏ 5 mm biểu mô mặt ngoài vạt tính từ đường viền nướu theo kỹ thuật chiếu tiếp xúc.

Kỹ thuật chiếu tiếp xúc

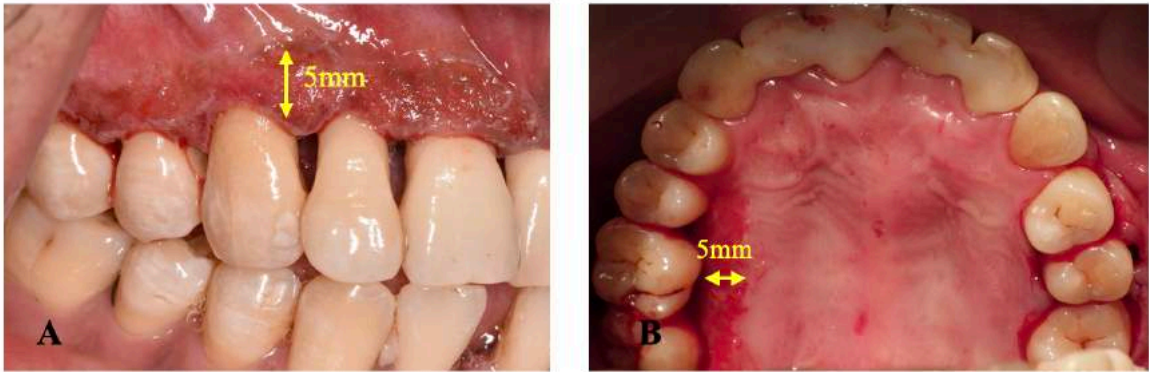
- Kích hoạt đầu chiếu tương tự như trong nghiên cứu *in vitro*.

- Đầu chiếu sau kích hoạt đặt tiếp xúc và trục sợi đặt nghiêng góc 45° với bề mặt vạt. Các thông số cài đặt là thông số của nhóm 1 trong nghiên cứu *in vitro*, bao gồm: công suất 0,8 W, thời gian chiếu 20 giây, chế độ chiếu liên tục. Di chuyển đầu chiếu theo hình zic-zac thấy dấu hiệu mô bị cắt (bốc khói). Chiếu 20 giây nghỉ 20 giây.

- Lau lớp vụn mô bị cháy trên mặt vạt bằng gạc tẩm nước muối sinh lý.

- Lau đầu chiếu bằng gạc ẩm tẩm nước muối sinh lý giữ đầu chiếu sạch không có vụn mô bám và có thể kích hoạt lại đầu chiếu khi cần trong quá trình cắt mô.

- Đậy vạt và ép vạt ngoài và trong vào nền xương và mặt chân răng bằng gạc tẩm nước muối sinh lý trong 3 phút.



Hình 2.16 Mặt ngoài vạt sau loại bỏ biểu mô bằng laser theo kỹ thuật chiếu tiếp xúc

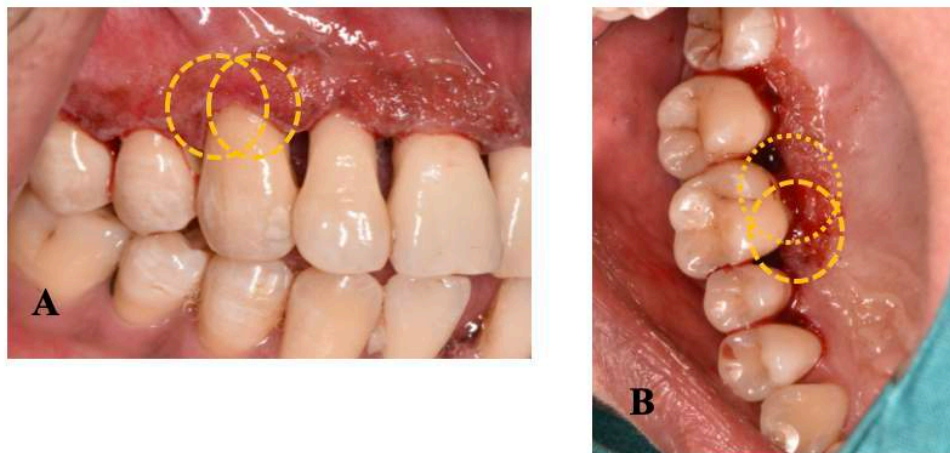
- Chiếu laser kích thích lành thương theo kỹ thuật chiếu không tiếp xúc.

Kỹ thuật chiếu không tiếp xúc

- Dùng đầu chiếu không kích hoạt.

- Sợi quang đặt vuông góc và cách niêm mạc nướu 1 mm. Các thông số cài đặt là thông số của nhóm 3 trong nghiên cứu *in vitro*, bao gồm: công suất 0,1 W, thời gian chiếu 15 giây, chế độ chiếu liên tục. Di chuyển đầu sợi theo hình tròn đường kính 6 mm trong thời gian chiếu. Kích thước chùm tia khoảng 1 mm. Năng lượng cung cấp cho mỗi vùng chiếu là 4 J/cm^2 (công suất đầu ra 80 mW, thời gian chiếu 15 giây, diện tích vùng chiếu $0,3 \text{ cm}^2$).

- Chia 2 vùng chiếu cho mỗi vùng vạt ngoài và trong trên một răng (Hình 2.17). Tổng năng lượng cung cấp cho 1 răng gồm tổng 4 vùng chiếu là 16 J/cm^2 .



Hình 2.17 Minh họa hai vùng chiếu laser ở mặt ngoài vạt trên mỗi răng theo kỹ thuật chiếu không tiếp xúc

- Trong khi chiếu laser Bác sĩ, trợ thủ và bệnh nhân được mang kính bảo vệ mắt.

- Khâu đóng vạt với chỉ 4/0.

Đối với nhóm chứng

Thực hiện các bước theo trình tự tương tự như nhóm laser nhưng không có hai bước chiếu laser.

Hướng dẫn và chăm sóc sau phẫu thuật

- Ghi toa thuốc uống kháng sinh Amoxicillin 500mg uống 3 lần/ ngày trong 5 ngày và giảm đau Panadol 500mg uống 3 lần/ ngày trong 3 ngày. Trong tuần đầu, súc miệng và lau vùng phẫu thuật bằng gạc với nước muối sinh lý sau mỗi khi ăn, tránh ăn thức ăn có nhiều gia vị.

- Hẹn cắt chỉ sau 1 tuần. Sau cắt chỉ, sử dụng bàn chải mềm chải răng theo phương pháp Bass. Chỉ nha khoa hay bàn chải kẽ chỉ sử dụng sau 1 tháng phẫu thuật.

- Bệnh nhân có thói quen hút thuốc lá được khuyến ngừng hút trong 1 tuần đầu sau phẫu thuật.

- Tái khám sau 3, 6 và 9 tháng.

Ở các thời điểm tái khám sau 3 tháng (T3), 6 tháng (T6), 9 tháng (T9) khám các đối tượng ghi nhận các chỉ số nha chu lâm sàng. Sau đó, bệnh nhân được hướng dẫn củng cố VSRM, làm sạch mảng bám trên nướu và đánh bóng răng nếu cần.

2.2.8 Kiểm soát sai lệch

- Tác giả luận án phụ trách điều trị phẫu thuật không biết về thông tin ghi nhận trước điều trị, chỉ biết độ sâu túi nha chu trong vùng điều trị, không tham gia đánh giá lâm sàng. Một Bác sĩ Răng hàm mặt thuộc chuyên khoa Nha chu đánh giá lâm sàng không biết phương pháp điều trị ở mỗi phần hàm.

*Huấn luyện định chuẩn:

- Một Tiến sĩ chuyên khoa Nha chu tập huấn cho điều tra viên cách khám và đánh giá các chỉ số nha chu lâm sàng.

- Điều tra viên cần phải đạt độ thống nhất cao với chuyên gia và đạt được độ kiên định cao $\geq 75\%$ giữa hai lần đánh giá.

- Đánh giá độ kiên định bằng cách khám lặp lại trên 5 bệnh nhân VNC không thuộc đối tượng chọn nghiên cứu. Đo tất cả các chỉ số lâm sàng trên tất cả các răng trừ răng 8. Khoảng cách thời gian giữa hai lần đo là 15 phút.

- Trong nghiên cứu này, độ kiên định của điều tra viên đạt 80,37% đối với chỉ số PII, 81,85% đối với chỉ số GI, 92,5% đối với chỉ số BOP, 80,8% đối với chỉ số PD, 78,1% đối với chỉ số CAL (Phụ lục 7).

2.2.9 Phương pháp xử lý số liệu

Thông tin và số liệu thu thập được nhập và phân tích thống kê với phần mềm thống kê SPSS 23.0. (IBM, NY).

Thống kê mô tả

- Đặc điểm mẫu

- Giá trị của các chỉ số PII, GI, BOP, PD, CAL trình bày dưới dạng trung vị, khoảng tứ phân vị.

Thống kê suy lý

- Phân phối chuẩn được kiểm tra với kiểm định Shapiro-Wilk và Kolmogorov

- Phép kiểm Wilcoxon xếp hạng có dấu (Wilcoxon Signed Ranks Test) so sánh các chỉ số lâm sàng trước và sau điều trị trong cùng nhóm.

- Phép kiểm Mann-Whitney U test so sánh các chỉ số lâm sàng trước và sau điều trị giữa hai nhóm điều trị, so sánh mức cải thiện PD, CAL theo độ sâu túi ban đầu giữa hai nhóm điều trị.

- Phép kiểm Chi bình phương so sánh tỉ lệ phần trăm các nhóm độ sâu túi sau điều trị giữa hai nhóm điều trị.

Tất cả các kiểm định trên được dùng với độ tin cậy 95 % và được kết luận khác biệt có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

2.3 VẤN ĐỀ Y ĐỨC

Đề cương được thông qua Hội đồng Khoa học và Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh ngày 08 tháng 7 năm 2016, số 205 ĐHYD-HĐ (Phụ lục 8).

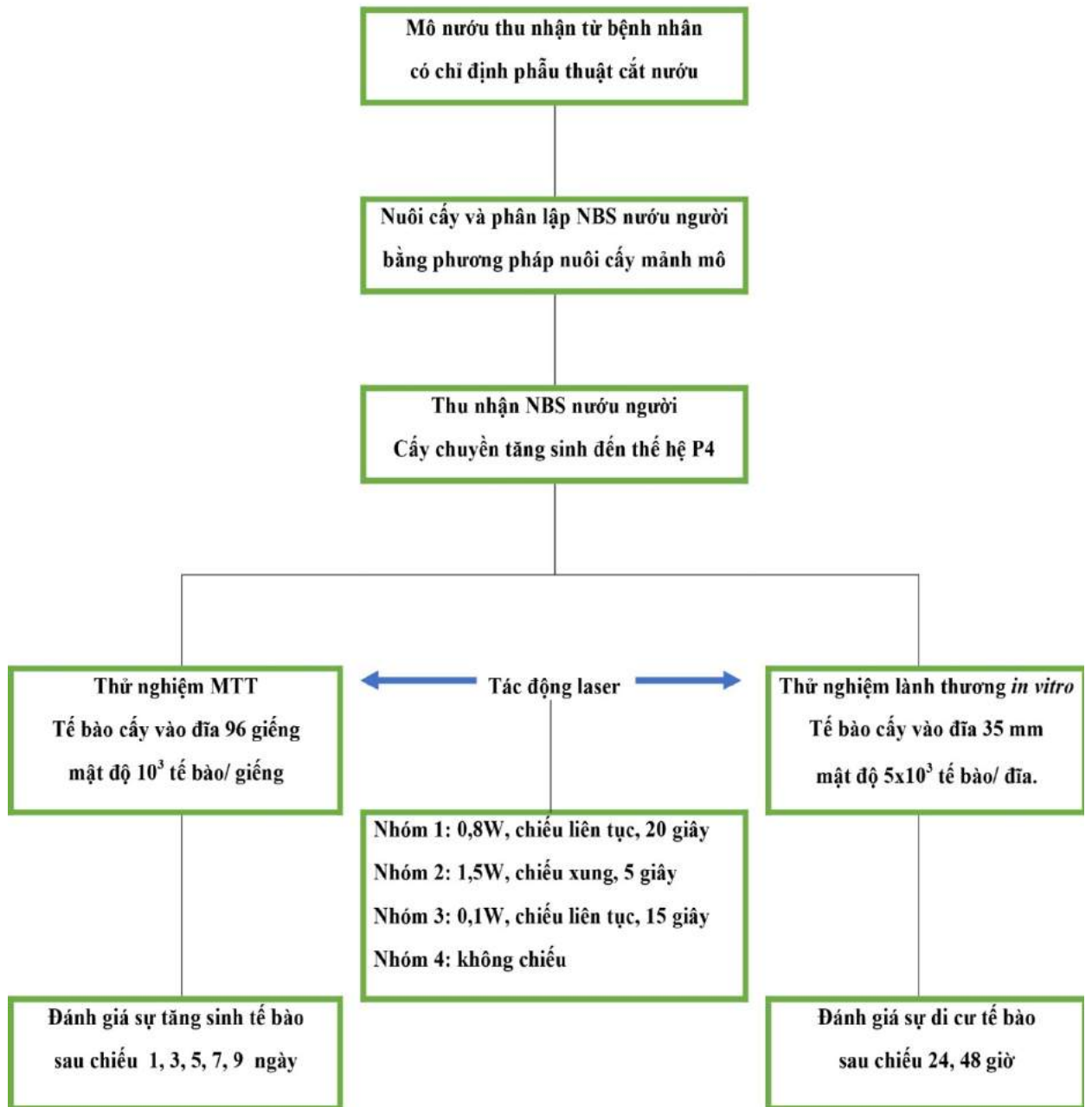
Đối với nghiên cứu *in vitro*

- Bệnh nhân được giải thích về việc cho mẫu mô nướu và tôn trọng quyền quyết định cho hay không của bệnh nhân.
- Việc thu nhận mô được thực hiện trong điều kiện vô trùng của phòng mổ do một Bác sĩ chuyên khoa Nha chu thực hiện.
- Tế bào thu nhận chỉ dùng cho nghiên cứu.

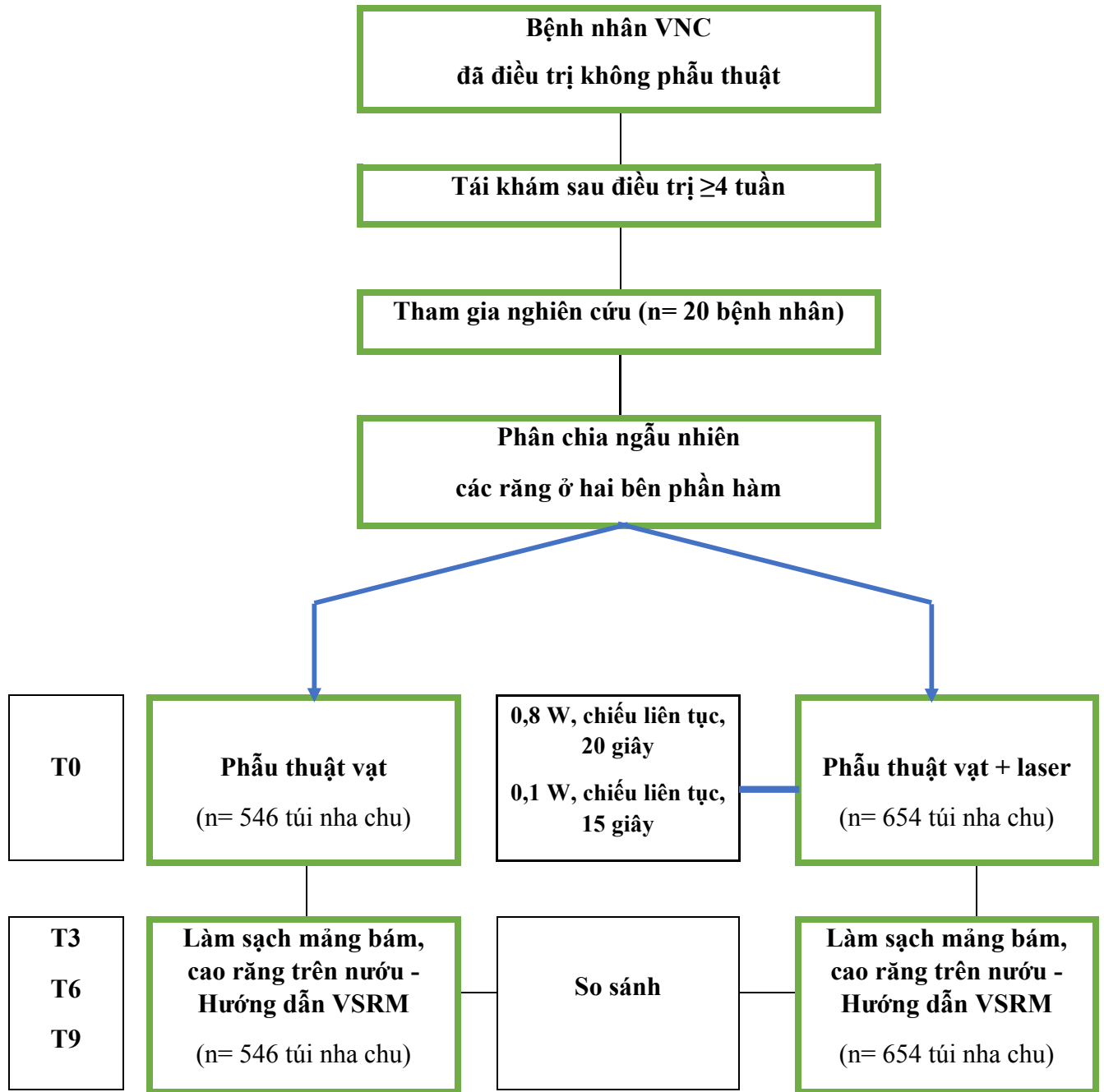
Đối với nghiên cứu lâm sàng

- Bệnh nhân được giải thích mục đích và tiến trình tham gia nghiên cứu (Phụ lục 1).
- Tôn trọng quyền tham gia hoặc không tham gia của bệnh nhân.
- Dụng cụ khám, điều trị vô trùng.
- Các thông số laser kết hợp 2 tác dụng điều trị dựa trên các nghiên cứu lâm sàng [10], [108].
- Các bệnh nhân tham gia nghiên cứu được bảo đảm bí mật về thông tin cá nhân và về tình trạng bệnh.
- Bệnh nhân không phải chi trả thêm phí điều trị laser.
- Kết thúc nghiên cứu bệnh nhân tiếp tục được theo dõi và điều trị duy trì.
- Số liệu thu thập chỉ dùng cho nghiên cứu.
- Số liệu của nghiên cứu này không mâu thuẫn với số liệu và lợi ích của người khác.

2.4 TÓM TẮT CÁC QUI TRÌNH NGHIÊN CỨU



Sơ đồ 2.1. Tóm tắt qui trình nghiên cứu *in vitro*

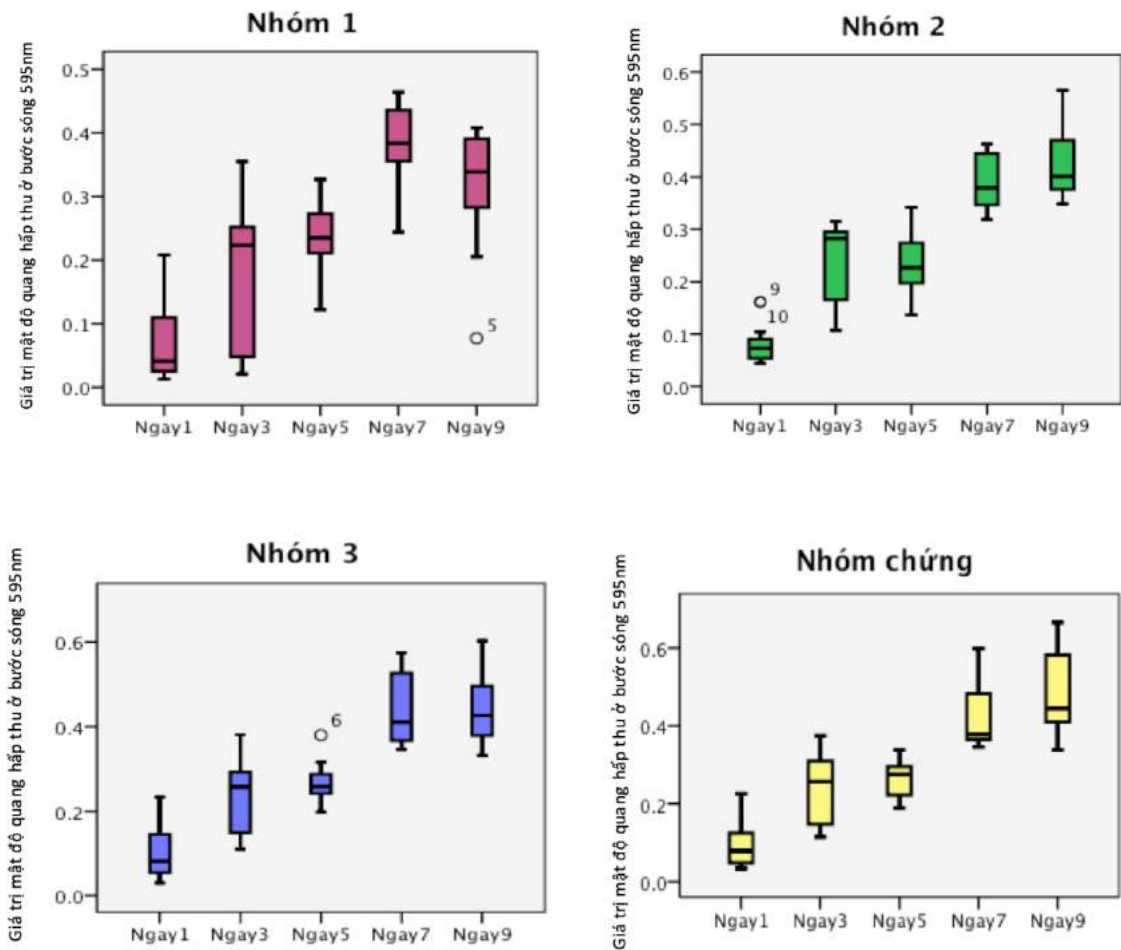


Sơ đồ 2.2. Tóm tắt quy trình nghiên cứu lâm sàng

CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 TÁC ĐỘNG CỦA LASER LÊN SỰ TĂNG SINH VÀ DI CƯ CỦA NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI.

3.1.1 Tác động của laser lên sự tăng sinh tế bào



Biểu đồ 3.1 Tăng sinh ở mỗi nhóm thử nghiệm qua các mốc thời gian

Nhận xét:

Sau chiếu tế bào ở tất cả các nhóm đều thể hiện xu hướng tăng sinh tăng dần theo thời gian. Tế bào nhóm 1 tăng sinh cao nhất vào ngày 7. Tế bào ở các nhóm 2, 3 và nhóm chứng cùng tăng sinh cao nhất ở ngày 9. So sánh trong cùng nhóm từ ngày 7 đến ngày 9, tăng sinh tế bào ở các nhóm 2, 3 và chứng tiếp tục tăng, chỉ có tăng sinh tế bào nhóm 1 giảm (Biểu đồ 3.1).

Bảng 3.7 So sánh giá trị mật độ quang giữa các thời điểm trong cùng nhóm

Thời điểm Nhóm				
	N1 so với N3	N3 so với N5	N5 so với N7	N7 so với N9
Nhóm 1	0,002*	0,034*	0,002*	0,099
Nhóm 2	0,002*	0,108	0,002*	0,906
Nhóm 3	0,002*	0,034*	0,003*	0,937
Nhóm chứng	0,002*	0,224	0,002*	0,019*

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị)

* $p < 0,05$ khác biệt có ý nghĩa thống kê (Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks).

Nhận xét:

So sánh trong cùng nhóm, ở ngày 3, tế bào ở tất cả các nhóm đều tăng sinh cao hơn có ý nghĩa so với ngày 1. Tương tự, ở ngày 7 tế bào ở tất cả các nhóm đều tăng sinh cao hơn có ý nghĩa so với ngày 5.

Ở ngày 5, chỉ có tế bào ở nhóm 1 và chứng tăng sinh cao hơn có ý nghĩa so với ngày 1.

Riêng biệt, ở ngày 9, mật độ quang ở nhóm 1 giảm thấp hơn ngày 7 nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa 2 ngày. Mật độ quang ở cả hai nhóm 2 và 3 cũng tăng cao hơn ngày 7 nhưng khác biệt không có ý nghĩa. Riêng biệt nhóm chứng tăng sinh ở ngày 9 khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với ngày 7 (Bảng 3.7).

Bảng 3.8 So sánh giá trị mật độ quang giữa các nhóm tại mỗi thời điểm

Nhóm Ngày	Nhóm 1	Nhóm 2	Nhóm 3	Nhóm chứng	p
1	0,041 (,025 -,109)	0,073 (,054 -,090)	0,081 (,054 -,145)	0,079 (,048 -,125)	0,416
3	0,223 (,048 -,252)	0,226 (,166 -,274)	0,242 (,149 -,260)	0,257 (,147 -,310)	0,469
5	0,235 (,211 -,273)	0,282 (,205 -,295)	0,274 (,255 -,301)	0,275 (,223 -,295)	0,316
7	0,383 (,355 -,435)	0,379 (,346 -,470)	0,410 (,367 -,527)	0,377 (,365 -,482)	0,559
9	0,339 (,282 -,390)	0,401 (,376 -,444)	0,426 (,379 -,496)	0,444 (,379 -,496)	0,001*

Số liệu trình bày: Trung vị (khoảng tứ vị).

* $p < 0,01$ khác biệt rất có ý nghĩa thống kê (Kiểm định Kruskal - Wallis test).

Nhận xét:

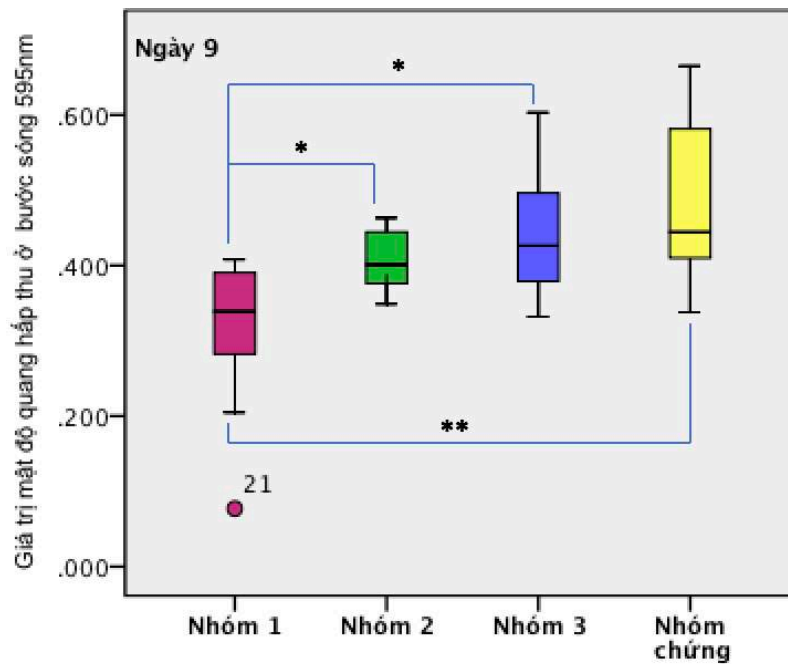
So sánh giữa các nhóm:

- Tế bào nhóm 1 tăng sinh thấp nhất so với các nhóm còn lại ở mọi thời điểm. Tế bào nhóm 3 tăng sinh cao hơn tế bào các nhóm 1 và 2 ở hầu hết các thời điểm và tăng sinh cao hơn tế bào nhóm chứng chỉ ở ngày 1 và 7.

- Ở ngày 1, 3, 5, 7 khác biệt về tăng sinh tế bào giữa các nhóm không đạt mức ý nghĩa thống kê.

- Khác biệt về tăng sinh tế bào giữa các nhóm chỉ tìm thấy có ý nghĩa ở ngày 9 ($p=0,001$) (Bảng 3.8).

- Ở ngày 9, tế bào ở nhóm chứng tăng sinh cao nhất, kể đến tế bào nhóm 3 và 2. Nhóm 1 tăng sinh thấp nhất và khác biệt có ý nghĩa so với các nhóm còn lại (Biểu đồ 3.2).



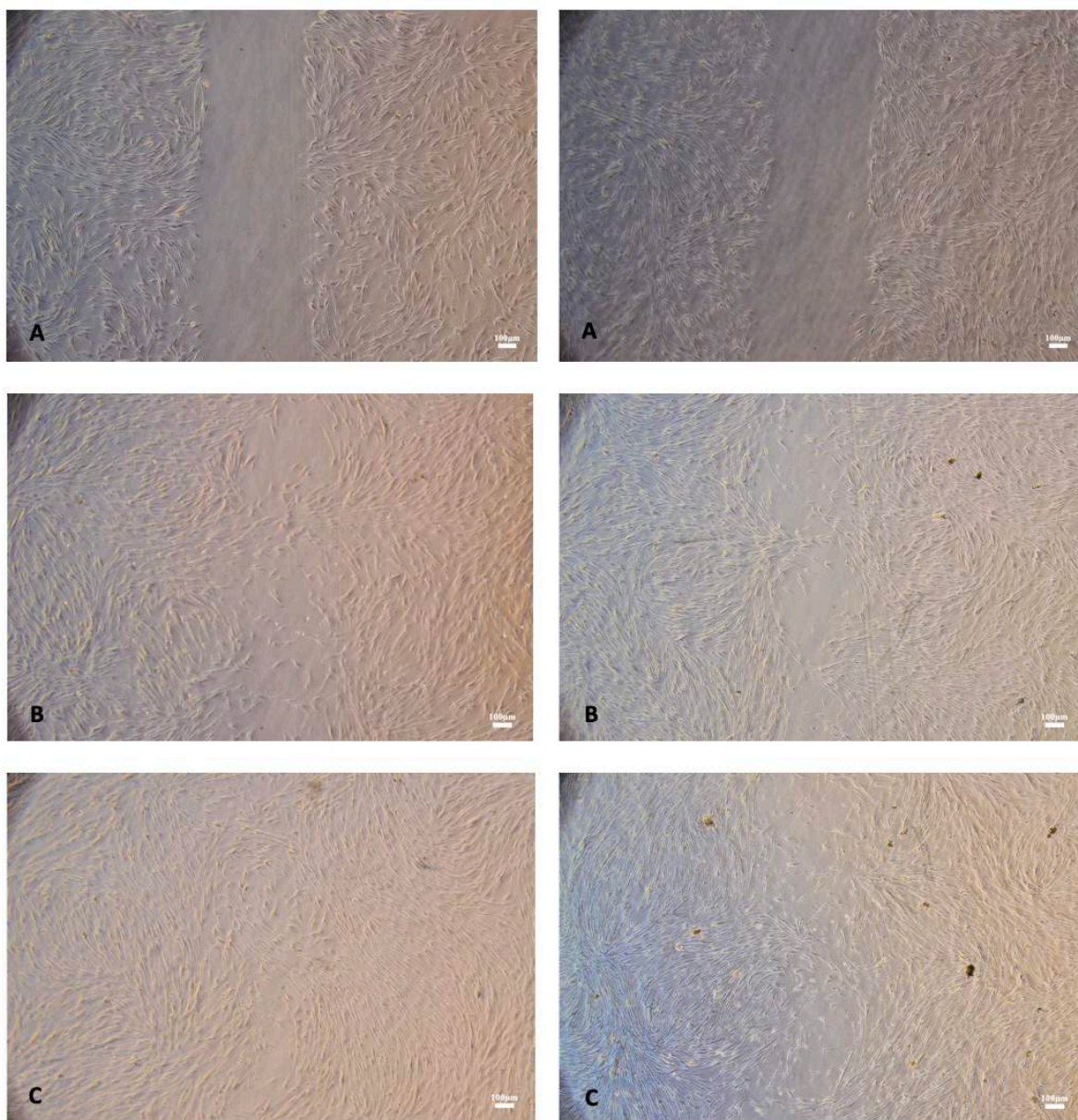
Biểu đồ 3.2 So sánh tăng sinh tế bào giữa các nhóm ở ngày 9

(* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

3.1.2 Tác động của laser lên sự di cư tế bào

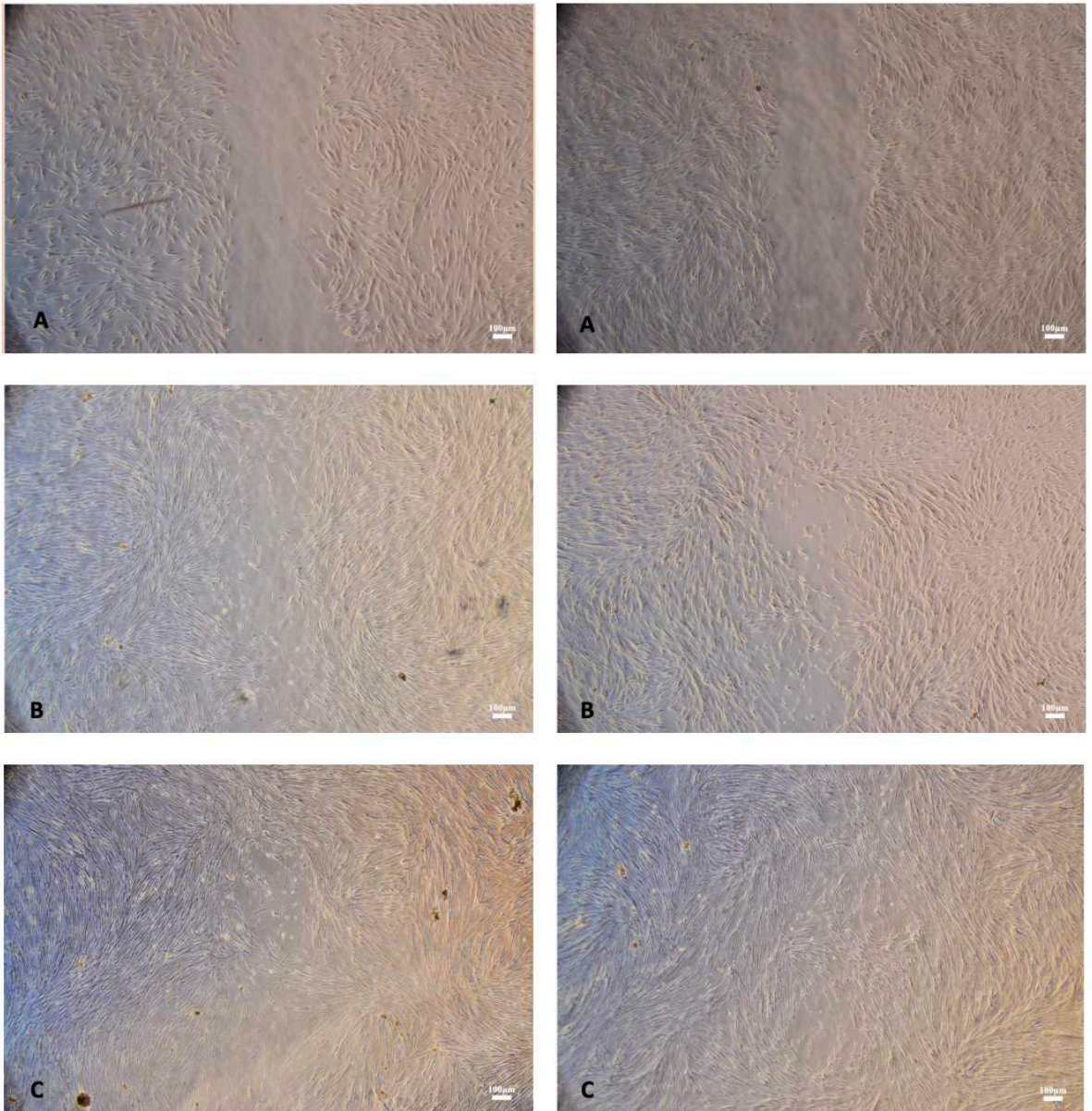
Kết quả định tính

Sau 24 giờ nuôi cấy, quan sát thấy ở tất cả các nhóm đều có sự di cư của tế bào vào khoảng trống đường rạch (Hình 3.18 và 3.19).



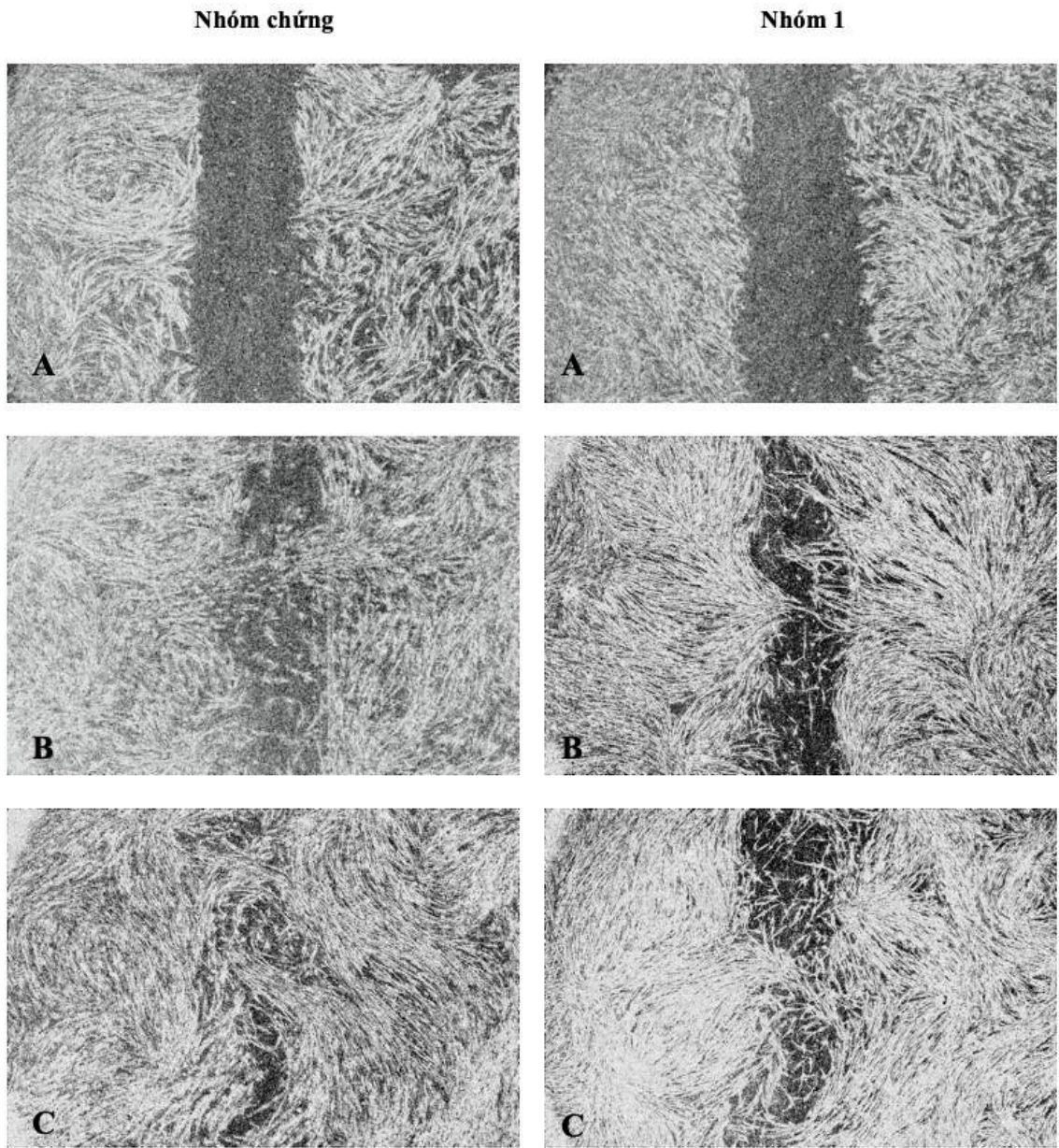
Hình 3.18 Vết thương *in vitro* và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm chứng và nhóm 1 ghi nhận bằng máy ảnh

A. Trước chiếu laser, B. Sau chiếu 24 giờ, C. Sau chiếu 48 giờ



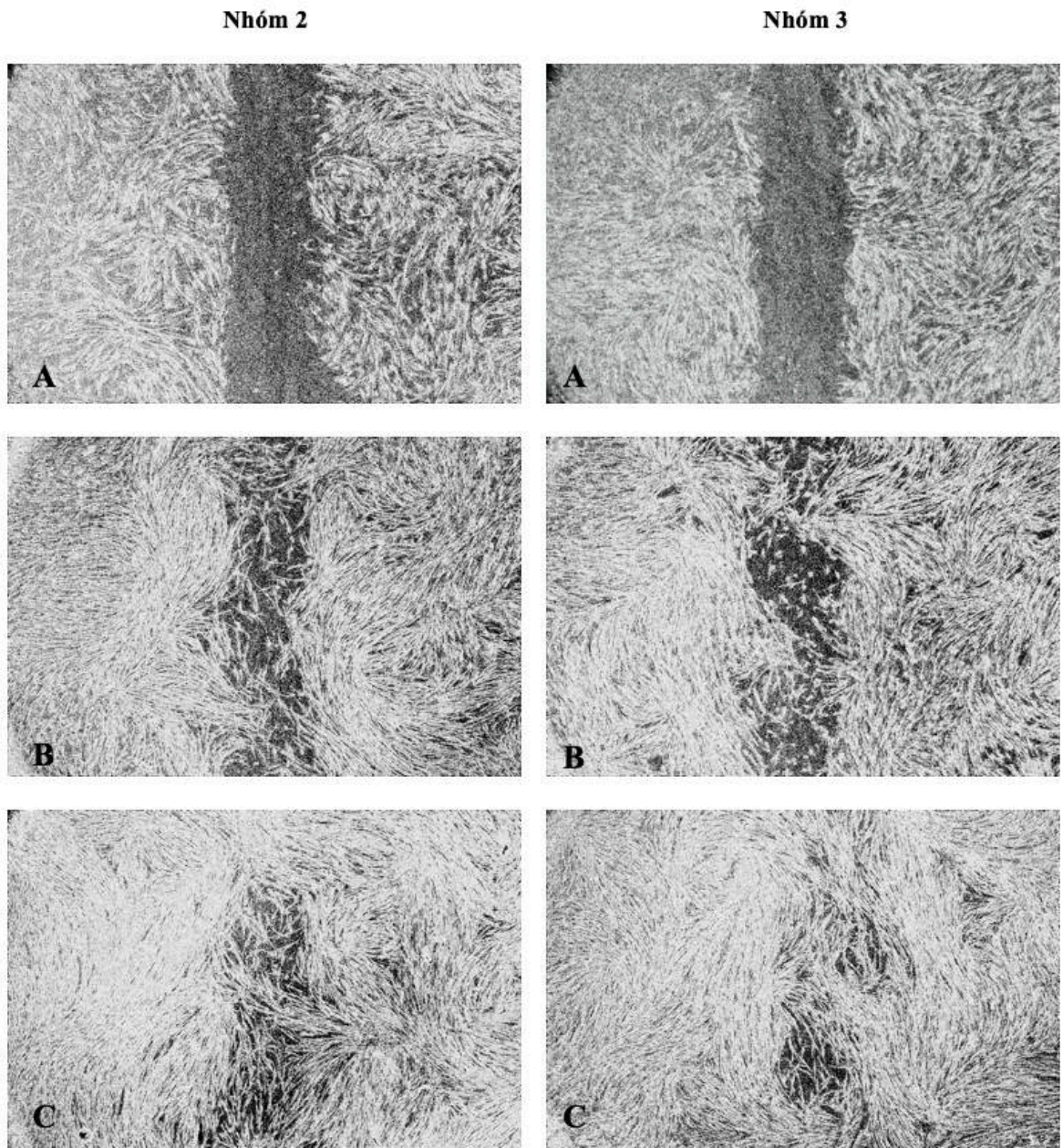
Hình 3.19 Vết thương *in vitro* và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm 2 và nhóm 3 ghi nhận bằng máy ảnh

A. Trước chiếu laser, B. Sau chiếu 24 giờ, C. Sau chiếu 48 giờ



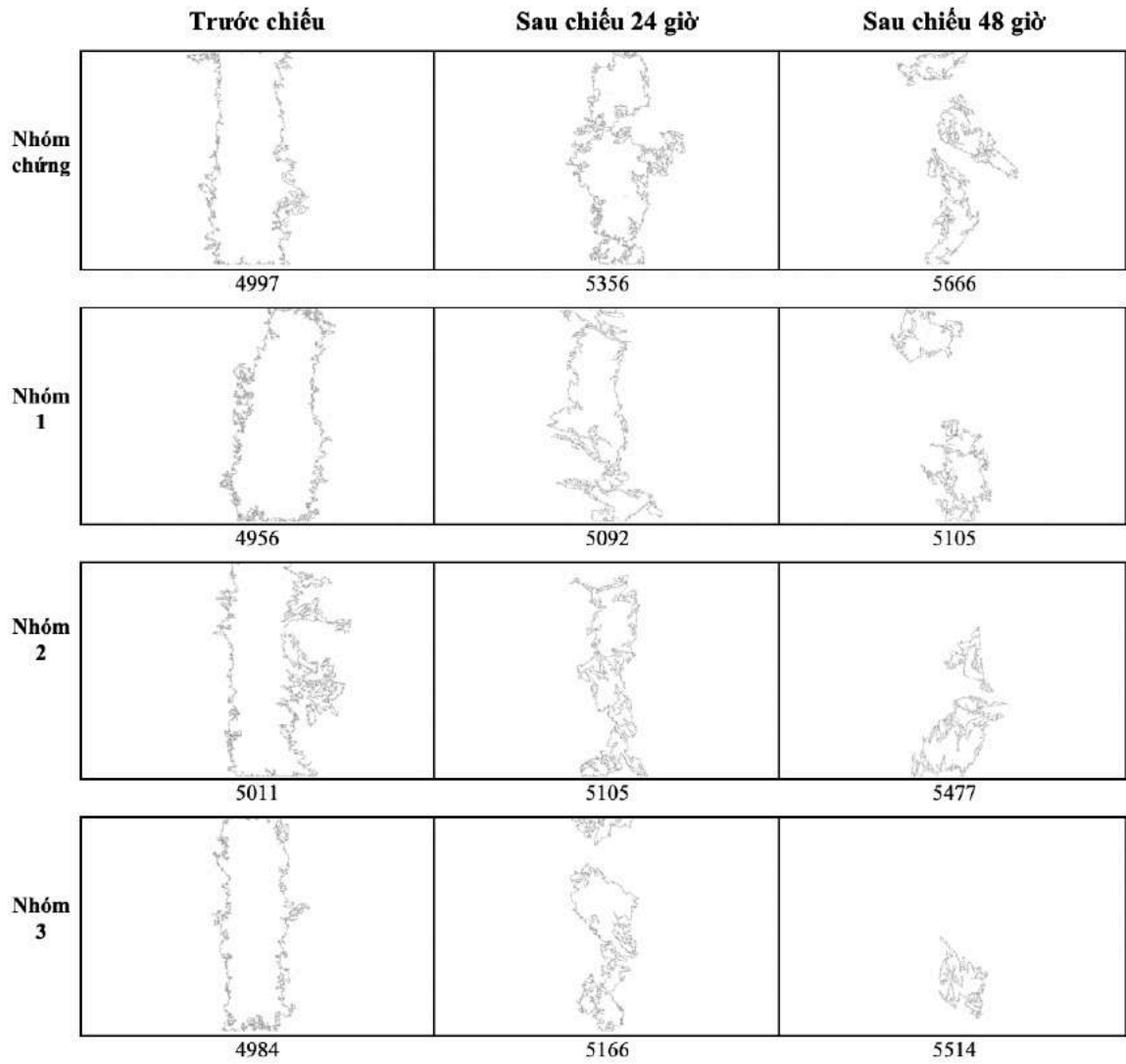
Hình 3.20 Vết thương *in vitro* và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm chứng và nhóm 1 phân tích với phần mềm Image J 1.50i

A. Trước chiếu laser, B. Sau chiếu 24 giờ, C. Sau chiếu 48 giờ



Hình 3.21 Vết thương *in vitro* và sự di cư tế bào vào vết thương ở nhóm 2 và nhóm 3 phân tích với phần mềm Image J 1.50i

A. Trước chiếu laser, B. Sau chiếu 24 giờ, C. Sau chiếu 48 giờ



Hình 3.22 Vùng vô bào ở các nhóm qua các mốc thời gian
phân tích với phần mềm Image J 1.50i

Kết quả định lượng**Bảng 3.9 Tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào ở mỗi nhóm tại các thời điểm trước chiếu và sau chiếu 24, 48 giờ**

Nhóm \ Thời điểm	Nhóm 1	Nhóm 2	Nhóm 3	Nhóm chứng	p
Trước chiếu	100 (0)	100 (0)	100 (0)	100 (0)	
24 giờ sau chiếu	77,03 (10,20)	62,47 (11,98)	60,10 (11,87)	68,42 (7,82)	0,009*
48 giờ sau chiếu	50,21 (10,61)	38,67 (10,96)	14,87 (8,75)	35,10 (8,25)	0,000**

Số liệu trình bày: Trung bình (độ lệch chuẩn).

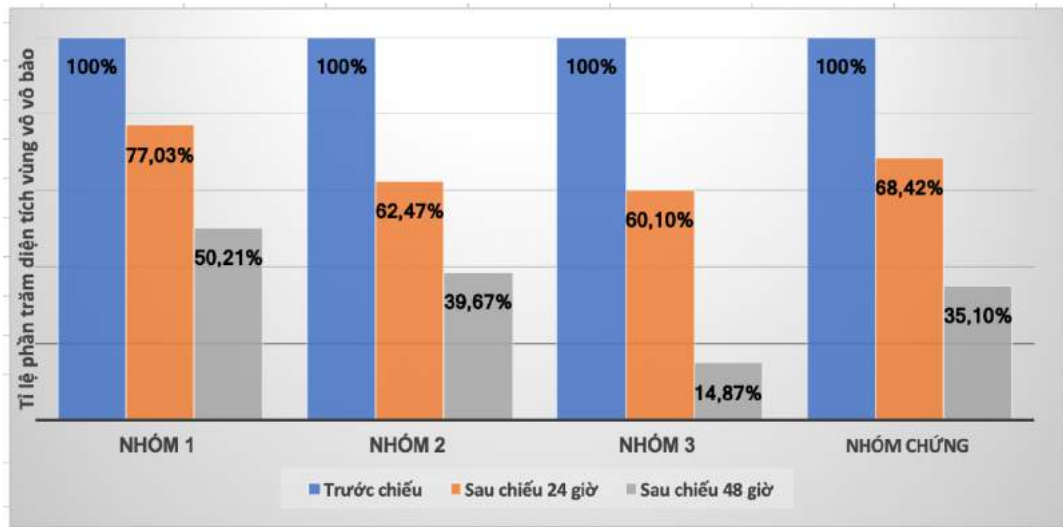
* $p < 0,01$, ** $p < 0,001$: khác biệt có ý nghĩa thống kê (Kiểm định One way Anova)

Bảng 3.10 So sánh tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào giữa từng cặp nhóm

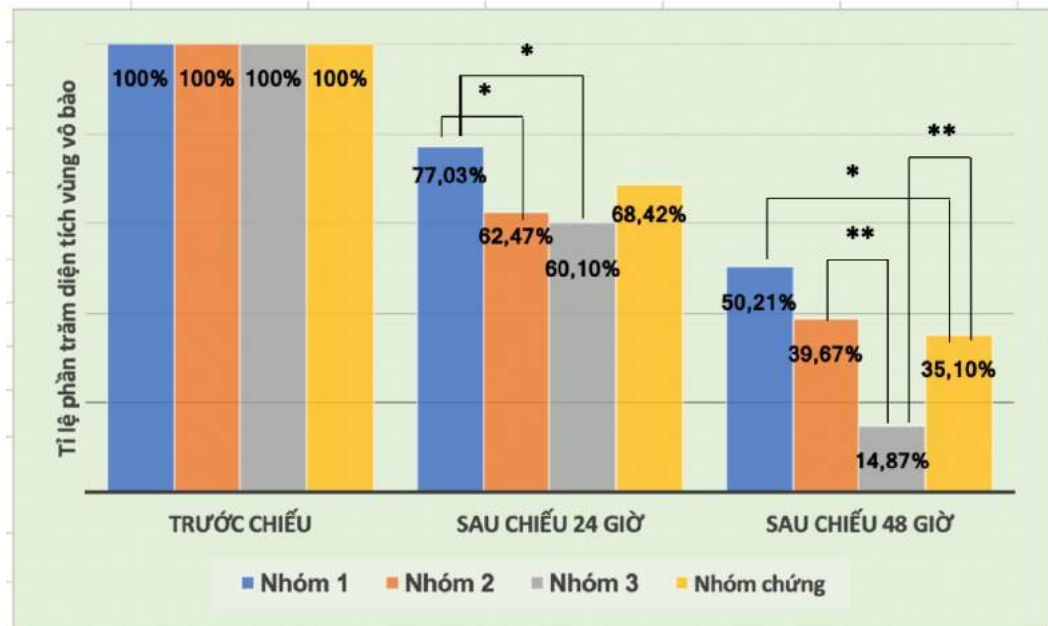
Cặp nhóm \ Thời điểm	24 giờ sau chiếu	48 giờ sau chiếu
Nhóm 1 so với nhóm 2	0,031*	0,012*
Nhóm 1 so với nhóm 3	0,010*	0,000***
Nhóm 1 so với nhóm chứng	0,329	0,012*
Nhóm 2 so với nhóm 3	0,964	0,000***
Nhóm 2 so với nhóm chứng	0,638	0,863
Nhóm 3 so với nhóm chứng	0,359	0,001**

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$: khác biệt có ý nghĩa thống kê

Kiểm định One way Anova (Post Hoc Tests Turkey HSD)



Biểu đồ 3.3 Tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào ở mỗi nhóm qua các mốc thời gian



Biểu đồ 3.4 So sánh tỷ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào giữa các nhóm qua các mốc thời gian

(* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$)

Nhận xét:

Sau chiếu laser, tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào ở các nhóm đều giảm qua các mốc thời gian (Biểu đồ 3.3).

Ở cả hai thời điểm 24 và 48 giờ sau chiếu, tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào nhóm 1 luôn luôn cao nhất, tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào nhóm 3 là thấp nhất (Biểu đồ 3.4).

So sánh giữa các nhóm ở 24 giờ sau chiếu: khác biệt về tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào giữa các nhóm tìm thấy có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Trong khi, ở 48 giờ sau chiếu: khác biệt về tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào giữa các nhóm tìm thấy rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) (Bảng 3.9).

Ở 24 giờ sau chiếu, tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào nhóm 1 lớn hơn có ý nghĩa so với nhóm 2 và nhóm 3 ($p < 0,05$) (Bảng 3.10).

Ở 48 giờ sau chiếu, tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào nhóm 3 nhỏ hơn rất có ý nghĩa so với tất cả các nhóm còn lại ($p < 0,01$ và $p < 0,001$). Tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào của nhóm 1 lớn hơn có ý nghĩa so với cả ba nhóm còn lại (Bảng 3.10).

Tỉ lệ phần trăm diện tích vùng vô bào của nhóm 2 khác biệt không ý nghĩa so với nhóm chứng ở cả mốc thời gian 24 giờ và 48 giờ sau chiếu (Bảng 3.10).

Như vậy, thông số dùng loại bỏ mô viêm và biểu mô túi (nhóm 1) cho khả năng sinh và di cư kém hơn các nhóm khác. Thông số kích thích sinh học (nhóm 3) cho khả năng sinh và di cư tốt hơn các nhóm chiếu khác. So sánh giữa các nhóm tìm thấy khác biệt có ý nghĩa về tăng sinh giữa các nhóm thông số chỉ ở ngày 9. Khác biệt có ý nghĩa về di cư tế bào tìm thấy ở 24 và 48 giờ giữa nhóm 1 với nhóm chứng và các nhóm chiếu, ở 48 giờ giữa nhóm 3 với nhóm 2 và nhóm chứng.

3.2 SO SÁNH HIỆU QUẢ LÂM SÀNG GIỮA HAI PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ PHẪU THUẬT VẬT CÓ VÀ KHÔNG KẾT HỢP VỚI LASER SAU 3, 6, VÀ 9 THÁNG.

3.2.1 Đặc điểm mẫu bệnh nhân nghiên cứu

Nghiên cứu ban đầu có 22 bệnh nhân tham gia, 20 người hoàn tất quy trình nghiên cứu. 100% đối tượng trong nghiên cứu này đã qua giai đoạn điều trị không phẫu thuật ít nhất là 4 tuần. Mẫu có 7 bệnh nhân nam hiện đang hút thuốc, số điều hút 5 -10 điếu trong ngày, thời gian hút ≥ 10 năm.

Bảng 3.11 Đặc điểm mẫu trong nghiên cứu lâm sàng

Giới tính
Nữ: 7 người (35%)
Nam: 13 người, gồm: 6 không hút thuốc (30% và 7 có hút thuốc (35%)
Tuổi
Trung bình: 46,8
Nhỏ nhất: 30
Lớn nhất: 63
Số răng còn
Trung bình: 25
Ít nhất: 20
Nhiều nhất: 28
Thời gian đã điều trị không phẫu thuật
1 tháng: 16 (80%)
3 tháng: 2 (10%)
>3 tháng: 2 (10%)
Số lần chải răng/ ngày
≥ 2 lần: 20 người (100%)

Nhận xét:

Đơn vị nghiên cứu là vị trí túi nha chu hay túi nha chu. Tổng cộng số răng nghiên cứu là 200 gồm 91 răng chứng và 109 răng thử nghiệm. Tổng số túi nha chu ở nhóm chứng là 546 túi và ở nhóm thử nghiệm là 654 túi. Bảng 3.11 trình bày các đặc điểm mẫu nghiên cứu trước phẫu thuật.

Bảng 3.12 Đặc điểm lâm sàng của mẫu nghiên cứu trước phẫu thuật

Đặc điểm	Chứng (n=546)	Laser (n=654)	p¹
Chỉ số mảng bám (PII)[§]	1,00 (0,00-1,00)	1,00 (1,00-1,00)	0,206
Chỉ số nướu (GI)[§]	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,152
Chảy máu khi thăm khám (BOP)[§]	0,00 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-1,00)	0,050
Độ sâu túi nha chu (PD)[§]	5,00 (2,00-5,00)	4,00 (2,00-5,00)	0,942
Mất bám dính lâm sàng (CAL)[§]	5,00 (3,00-6,00)	5,00 (3,00-6,00)	0,928
Mức độ túi[¶]			p²
1-4 mm	267 (48,9%)	336 (51,4%)	0,690
5-6 mm	223 (40,8%)	253 (38,7%)	
≥7 mm	56 (10,3%)	65 (9,9%)	

Số liệu trình bày: [§]Trung vị (Khoảng tứ vị); [¶] n (%)

p¹: Kiểm định Mann-Whitney U

p²: Kiểm định Chi bình phương

Nhận xét:

Trước điều trị, tất cả các chỉ số lâm sàng PII, GI, BOP, PD, CAL và tỉ lệ phần trăm các mức độ túi ở 2 nhóm đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.11).

3.2.2 So sánh hiệu quả lâm sàng giữa hai phương pháp điều trị phẫu thuật có và không kết hợp với laser sau 3, 6, và 9 tháng

3.2.2.1 Thay đổi các chỉ số nha chu lâm sàng trước và sau điều trị

Bảng 3.13 Thay đổi các chỉ số nha chu lâm sàng trước và sau điều trị ở mỗi nhóm

Chỉ số	Nhóm	T0	T3	p	T6	p	T9	p
Chỉ số mảng bám	Chứng	1,00(0,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00(0,00-1,00)	0,001
	Laser	1,00(1,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001
Chỉ số nướu GI	Chứng	1,00 (0,00-2,00)	0,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00 (0,00-1,00)	<0,001	0,00 (0,00-1,00)	<0,001
	Laser	1,00(1,00-2,00)	0,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001
Chảy máu khi thăm khám BOP	Chứng	0,00(0,00-1,00)	0,00(0,00-0,00)	<0,001	0,00(0,00-0,00)	<0,001	0,00(0,00-0,00)	<0,001
	Laser	0,00(0,00-1,00)	0,00(0,00-0,00)	<0,001	0,00(0,00-0,00)	<0,001	0,00(0,00-0,00)	<0,001
Độ sâu túi PD	Chứng	5,00(2,00-5,00)	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-3,00)	<0,001
	Laser	4,00(2,00-5,00)	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-4,00)	<0,001
Mất bám dính lâm sàng CAL	Chứng	5,00(3,00-6,00)	3,00(2,00-4,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001
	Laser	5,00(3,00-6,00)	3,00(2,00-4,00)	<0,001	3,00(2,00-5,00)	<0,001	3,00(2,00-5,00)	<0,001

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị)

p: Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks.

Nhận xét:

So sánh trong cùng nhóm:

- Tại cả 3 thời điểm sau điều trị, tất cả các chỉ số PII, GI, BOP, PD, CAL ở cả 2 nhóm hầu hết đều giảm rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

- Hầu hết các chỉ số có khuynh hướng hơi tăng ở T9 nhưng vẫn giữ thấp hơn rất có ý nghĩa so với T0 ($p < 0,001$) (Bảng 3.13).

So sánh giữa hai nhóm:

- Chỉ số PII, GI ở nhóm chứng thấp hơn nhóm laser ở thời điểm T9.

- Khác biệt giữa hai nhóm về các chỉ số lâm sàng hầu hết là không có ý nghĩa thống kê. Ngoại trừ, khác biệt về chỉ số GI và CAL. GI ở nhóm chứng thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm laser ở T9 ($p < 0,001$). CAL ở nhóm chứng thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm laser ở T6 và T9 ($p < 0,05$) (Bảng 3.14).

Phân tích chung trên toàn mẫu cho thấy 2 phương pháp điều trị cho kết quả tương đương về cải thiện các chỉ số lâm sàng. Ngoại trừ, chỉ số GI và CAL ở nhóm chứng cải thiện tốt hơn nhóm laser ở T6 ($p < 0,001$) và T9 ($p < 0,05$).

Bảng 3.14 Các chỉ số nha chu lâm sàng của hai nhóm sau 3, 6, 9 tháng điều trị

Chỉ số	T3			T6			T9		
	Chứng	Laser	p	Chứng	Laser	p	Chứng	Laser	p
Chỉ số mảng bám PI	1,00(0,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	0,069	1,00(0,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	0,450	0,00(0,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	0,328
Chỉ số nước GI	0,0 (0,00-1,00)	0,00(0,00-1,00)	0,628	0,00 (0,00-1,00)	0,00(0,00-1,00)	0,957	0,00 (0,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	<0,001
Chảy máu khi thăm khám BOP	0,00(0,00-0,00)	0,00(0,00-0,00)	0,730	0,00(0,00-0,00)	0,00(0,00-0,00)	0,777	0,00(0,00-0,00)	0,00(0,00-0,00)	0,448
Độ sâu túi PD	2,00(2,00-3,00)	2,00(2,00-3,00)	0,990	2,00(2,00-3,00)	2,00(2,00-3,00)	0,097	2,00(2,00-3,00)	2,00(2,00-4,00)	0,820
Mát bám dính lâm sàng CAL	3,00(2,00-4,00)	3,00(2,00-4,00)	0,127	3,00(2,00-4,00)	3,00(2,00-5,00)	0,015	3,00(2,00-4,00)	3,00(2,00-5,00)	0,043

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị)

p: Kiểm định Mann-Whitney U

3.2.2.2 Thay đổi các chỉ số nha chu lâm sàng ở các túi 5-6 mm và túi ≥ 7 mm

Trước điều trị, tổng cộng có 476 túi 5-6 mm, 121 túi ≥ 7 mm. Khác biệt về tỉ lệ phần trăm các mức độ túi trước điều trị so sánh giữa hai nhóm chứng và laser không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.12).

Bảng 3.15 Các chỉ số GI, PD, GR, CAL trước và sau điều trị ở các túi 5-6 mm

Chỉ số	T0	T3	p ¹	T6	p ¹	T9	p ¹
Chứng	2,00(1,00-2,00)	0,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	0,002
GI Laser	2,00(1,00-2,00)	0,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00(0,00-1,00)	0,008	1,00(0,00-1,00)	0,005
p²	0,546	0,632		0,335		0,016	
Chứng	5,00(5,00-6,00)	3,00(2,00-3,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001
PD Laser	5,00(5,00-6,00)	3,00(2,00-4,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001
p²	0,217	0,662		0,064		0,012	
Chứng	0,00(0,00-0,00)	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00(0,00-1,00)	<0,001
GR Laser	0,00(0,00-0,50)	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-2,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001
p²	0,540	0,346		0,005		0,016	
Chứng	5,00(5,00-6,00)	3,00(3,00-5,00)	<0,001	3,00(3,00-5,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001
CAL Laser	6,00(5,00-6,00)	4,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(3,00-5,00)	<0,001
p²	0,063	0,527		0,019		<0,001	

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị);

p¹: Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks

p²: Kiểm định Mann-Whitney U

Nhận xét:

Phân tích ở các túi có độ sâu ban đầu từ 5-6 mm ở Bảng 3.15 cho thấy:

- Chỉ số GI cả hai nhóm cùng giảm ở T3 và T6 sau đó hơi tăng ở T9 nhưng vẫn giữ mức có ý nghĩa so với trước điều trị. Khác biệt giữa hai nhóm tìm thấy có ý nghĩa ở T9 ($p<0,05$).

- Chỉ số PD cả hai nhóm cùng giảm rất có ý nghĩa so với trước điều trị ($p<0,001$). Khác biệt giữa hai nhóm tìm thấy có ý nghĩa ở T9 ($p<0,05$).

- Chỉ số GR cả hai nhóm cùng tăng rất có ý nghĩa so với trước điều trị ($p<0,001$). Tụt nướu ở nhóm laser là nhiều hơn so với nhóm chứng, khác biệt giữa hai nhóm sau điều trị tìm thấy có ý nghĩa ở T6 và T9 ($p<0,05$).

- Chỉ số CAL cả hai nhóm cùng giảm rất có ý nghĩa so với trước điều trị ($p<0,001$). CAL nhóm chứng thấp hơn nhóm laser, khác biệt giữa hai nhóm sau điều trị tìm thấy có ý nghĩa ở T6 ($p<0,05$) và T9 ($p<0,001$).

Bảng 3.16 Các chỉ số GI, PD, GR, CAL trước và sau điều trị ở các túi ≥ 7 mm

Chỉ số	T0	T3	p ¹	T6	p ¹	T9	p ¹
Chúng	2,00(1,00-2,00)	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001
GI Laser	2,00(1,50-2,00)	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001
p²	0,050	0,995		0,842		0,172	
Chúng	7,00(7,00-8,00)	4,00(3,00-5,75)	<0,001	4,00(2,25-5,00)	<0,001	5,00(3,25-6,00)	<0,001
PD Laser	7,00(7,00-8,00)	4,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(3,00-5,00)	<0,001	3,00(2,00-5,00)	<0,001
p²	0,737	0,590		0,939		0,009	
Chúng	0,00(0,00-2,00)	1,00(0,00-2,75)	0,001	1,00(0,00-2,00)	0,007	1,00(0,00-2,00)	0,017
GR Laser	0,00(0,00-0,00)	1,00(1,00-2,00)	<0,001	1,00(0,00-2,00)	<0,001	1,00(0,00-2,00)	<0,001
p²	0,049	0,496		0,696		0,852	
Chúng	8,00(7,00-10,00)	6,00(4,00-7,75)	<0,001	5,00(4,00-8,00)	<0,001	6,00(4,00-8,00)	<0,001
CAL Laser	7,00(7,00-9,00)	6,00(4,00-7,00)	<0,001	3500(4,00-7,00)	<0,001	5,00(3,00-6,50)	<0,001
p²	0,080	0,585		0,763		0,056	

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị)

p¹: Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks

p²: Kiểm định Mann-Whitney U

Nhận xét:

Phân tích ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 7 mm ở Bảng 3.16 cho thấy:

- Chỉ số GI cả hai nhóm cùng giảm rất có ý nghĩa so với trước điều trị ($p < 0,001$). Khác biệt giữa hai nhóm tìm thấy không có ý nghĩa thống kê.

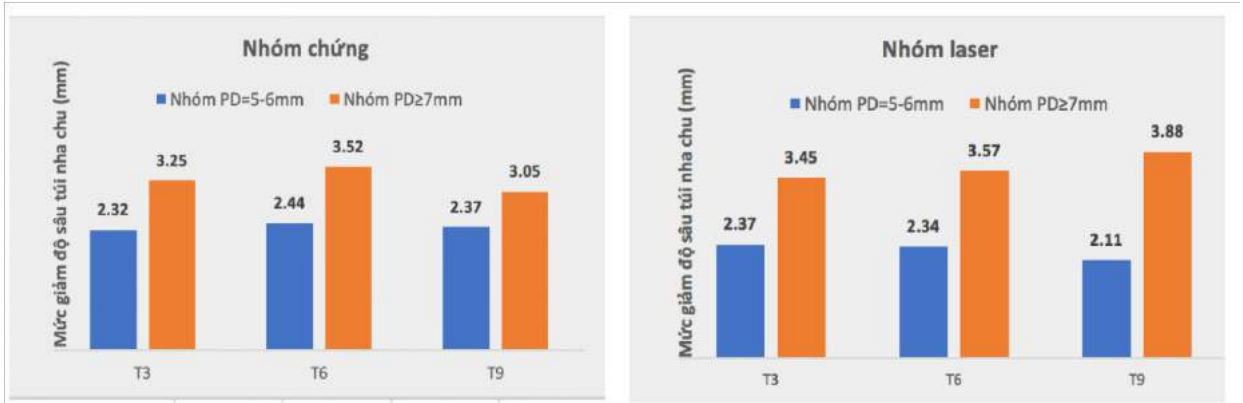
- Chỉ số PD cả hai nhóm cùng giảm rất có ý nghĩa so với trước điều trị ($p < 0,001$). Ở T9 PD nhóm laser giảm nhiều hơn nhóm chứng có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- Chỉ số GR cả hai nhóm cùng tăng có ý nghĩa so với trước điều trị. Khác biệt giữa hai nhóm ở cả 3 thời điểm sau điều trị là không có ý nghĩa thống kê.

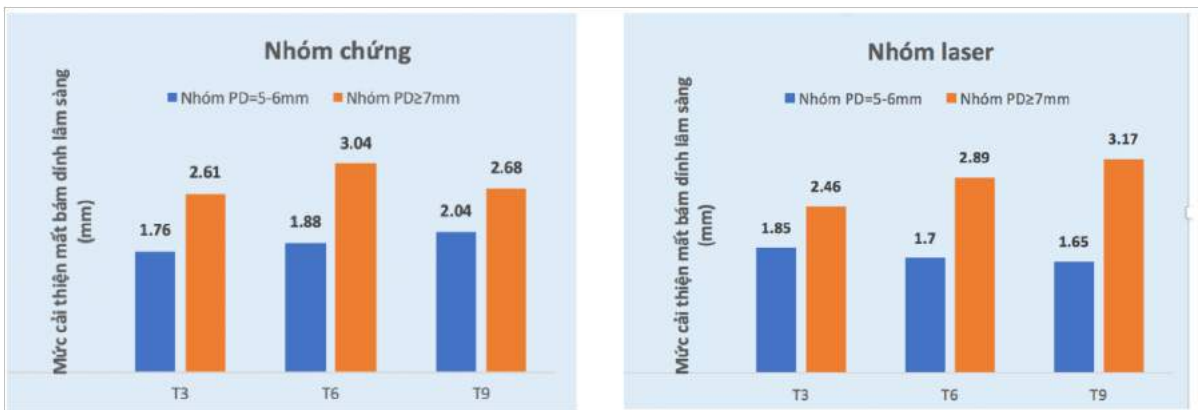
- Chỉ số CAL cả hai nhóm cùng giảm rất có ý nghĩa so với trước điều trị ($p < 0,001$). CAL nhóm chứng cao hơn nhóm laser ở T9 và khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê.

Như vậy, đối với các túi 5-6 mm, điều trị chỉ phẫu thuật cho kết quả cải thiện về CAL tốt hơn ở T6 ($p < 0,05$) và T9 ($p < 0,001$), giảm PD nhiều hơn ở T9 ($p < 0,05$), ít tụt nướu hơn ở T6 ($p < 0,01$) và T9 ($p < 0,05$) so với điều trị có kết hợp laser. Đối với các túi ≥ 7 mm điều trị có kết hợp laser cho kết quả giảm PD nhiều hơn, ít tụt nướu hơn và cải thiện về CAL tốt hơn. Tuy nhiên, chỉ có khác biệt về PD là có ý nghĩa ở T9 ($p < 0,01$).

Biểu đồ 3.4 và 3.5 cho thấy mức giảm PD, CAL ở các túi 5-6 mm và túi ≥ 7 mm ở hai nhóm điều trị có và không kết hợp laser.



Biểu đồ 3.5 Mức giảm độ sâu túi ở các túi 5-6 mm và túi \geq 7 mm



Biểu đồ 3.6 Mức cải thiện mắt bám dính lâm sàng ở các túi 5-6 mm và túi \geq 7 mm

Nhận xét:

Ở cả hai nhóm chứng và nhóm laser, mức giảm độ sâu túi và mức cải thiện mắt bám dính lâm sàng ở các túi nha chu có độ sâu ban đầu 5-6 mm đều thấp hơn ở các túi có độ sâu ban đầu \geq 7 mm.

3.2.2.3 Tỷ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị

Phân tích ở các túi có độ sâu túi ban đầu ≥ 5 mm: kết quả sau điều trị số lượng các túi ở mỗi thời điểm được trình bày trong Bảng 3.17.

Bảng 3.17 Số lượng các túi nha chu ở các thời điểm trước và sau điều trị

PD (mm)	Nhóm chứng (n=279 túi ≥ 5 mm)				Nhóm laser (n=318 túi ≥ 5 mm)			
	T0	T3	T6	T9	T0	T3	T6	T9
1	0	15	23	23	0	15	30	27
2	0	83	98	89	0	97	75	92
3	0	94	68	65	0	91	97	63
4	0	42	45	40	0	69	59	57
5	164	21	28	39	173	29	39	58
6	59	11	8	14	80	8	13	13
7	34	7	6	8	41	8	5	7
8	12	4	2	0	15	1	0	1
9	7	2	0	0	5	0	0	0
10	3		1	1	3		0	0
11	0				1			

Nhận xét:

Kết quả điều trị ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 5 mm cho thấy nhóm laser không còn túi ≥ 9 mm ở cả 3 thời điểm sau điều trị trong khi nhóm chứng vẫn còn hiện diện túi 9 mm ở T3, túi 10 mm ở T6 và T9.

Bảng 3.18 Tỷ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 7 mm

Thời điểm	Nhóm chứng	Nhóm laser	Tổng	p
T3				
Túi 1-3 mm	20 (46,5)	23 (53,5)	43 (100)	0,488
Túi 4-5 mm	22 (43,1)	31 (56,9)	53 (100)	
Túi ≥ 6 mm	14 (56,0)	11 (44,0)	25 (100)	
Tổng	56	65	121	
T6				
Túi 1-3 mm	22 (44,0)	28 (56,0)	50 (100)	0,881
Túi 4-5 mm	24 (48,9)	25 (51,1)	49 (100)	
Túi ≥ 6 mm	10 (45,4)	12 (54,6)	22 (100)	
Tổng	56	65	121	
T9				
Túi 1-3 mm	14 (29,7)	33 (70,3)	47 (100)	0,012
Túi 4-5 mm	26 (54,1)	22 (45,9)	48 (100)	
Túi ≥ 6 mm	16 (61,5)	10 (38,5)	26 (100)	
Tổng	56	65	121	

Số liệu trình bày: n (%)

p: Kiểm định Chi bình phương

Nhận xét:

Kết quả điều trị các túi ≥ 7 mm cho thấy: nhóm chứng có tỷ lệ phần trăm túi đóng cao nhất ở T6 và thấp nhất ở T9, nhóm laser có tỷ lệ phần trăm túi đóng cao nhất ở T9. Ở T9, nhóm chứng có tỷ lệ phần trăm túi 4-5mm và túi ≥ 6 mm cao nhất trong khi nhóm laser cả hai loại túi này có tỷ lệ phần trăm thấp nhất. Khác biệt về tỷ lệ phần trăm túi đóng và túi tồn tại sâu khi so sánh giữa hai nhóm là có ý nghĩa ở T9 ($p < 0,05$) (Bảng 3.18).

Như vậy, đối với các túi có độ sâu ban đầu ≥ 7 mm, nhóm phẫu thuật kết hợp với laser chứng tỏ làm giảm PD nhiều hơn, cho tỉ lệ phần trăm túi đóng nhiều hơn và tỉ lệ phần trăm túi tồn tại sâu ít hơn.

3.2.3 So sánh hiệu quả lâm sàng giữa hai phương pháp điều trị phẫu thuật có và không kết hợp với laser sau 3, 6, và 9 tháng trên đối tượng bệnh nhân hút thuốc

3.2.3.1 Đặc điểm mẫu bệnh nhân nam hút thuốc lá

Bảng 3.19 Đặc điểm lâm sàng của nam hút thuốc lá trước phẫu thuật

Đặc điểm	Chứng (n=198)	Laser (n=282)	p ¹
Chỉ số mảng bám (PII) [§]	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (1,00-1,00)	0,797
Chỉ số nước (GI) [§]	1,00 (0,00-2,00)	1,00 (1,00-2,00)	0,365
Chảy máu khi thăm khám (BOP) [§]	0,00 (0,00-1,00)	0,00 (0,00-1,00)	0,256
Độ sâu túi nha chu (PD)mm [§]	5,00 (2,00-5,00)	4,00 (2,00-5,00)	0,092
Mất bám dính lâm sàng (CAL)mm [§]	5,00 (3,00-7,00)	5,00 (3,00-6,00)	0,050
Mức độ túi [¢]			p ²
1- 4 mm	93 (47,0)	147 (52,1)	0,266
≥ 5 mm	105 (53,0)	135 (47,9)	

Số liệu trình bày: [§]Trung vị (Khoảng tứ vị); [¢] n (%)

p¹: Kiểm định Mann-Whitney U

p²: Kiểm định Chi bình phương

Nhận xét:

Trước điều trị, các đối tượng nam có hút thuốc lá có tổng cộng 240 túi 1-4 mm, 240 túi ≥ 5 mm. Khác biệt giữa hai nhóm về các chỉ số lâm sàng và mức độ túi đều không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.19).

3.2.3.2 Thay đổi các chỉ số nha chu lâm sàng trước và sau điều trị trên đối tượng bệnh nhân nam có hút thuốc lá

Bảng 3.20 Thay đổi các chỉ số nha chu lâm sàng trước và sau điều trị trên đối tượng nam có hút thuốc lá

Chỉ số		T0	T3	p	T6	p	T9	p
Chỉ số mảng bám PII	Chứng	1,00(0,00-2,00)	0,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00(0,00-2,00)	0,069	0,00(0,00-2,00)	0,217
	Laser	1,00(1,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	0,092	1,00(0,00-2,00)	0,006	1,00(1,00-2,00)	0,008
Chỉ số nướu GI	Chứng	1,00 (0,00-2,00)	0,00 (0,00-1,00)	<0,001	1,00 (0,00-1,00)	<0,001	1,00 (0,00-1,00)	<0,001
	Laser	1,00(0,00-2,00)	0,00(0,00-1,00)	<0,001	0,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001
Chảy máu khi thăm khám BOP	Chứng	0,00(0,00-1,00)	0,00(0,00-0,00)	<0,001	0,00(0,00-0,00)	0,101	0,00(0,00-0,00)	0,004
	Laser	0,00(0,00-1,00)	0,00(0,00-0,00)	<0,001	0,00(0,00-0,00)	<0,001	0,00(0,00-0,00)	<0,001
Độ sâu túi PD	Chứng	5,00(2,00-5,00)	2,00(2,00-4,00)	<0,001	2,00(2,00-4,00)	<0,001	3,00(2,00-4,00)	<0,001
	Laser	4,00(2,00-5,00)	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-4,00)	<0,001
Mất bám dính lâm sàng CAL	Chứng	5,00(3,00-7,00)	3,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(2,00-6,00)	<0,001	4,00(3,00-6,00)	<0,001
	Laser	5,00(3,00-6,00)	4,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(3,00-5,00)	<0,001

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị)

p: Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks

Nhận xét

So sánh trong cùng nhóm:

- So với T0, chỉ số PII nhóm chứng giảm có ý nghĩa chỉ ở T3 ($p < 0,001$), PII nhóm laser tăng có ý nghĩa ở T6 và T9 ($p < 0,05$).

- Các chỉ số GI, BOP, PD và CAL tại các thời điểm sau điều trị ở cả hai nhóm hầu hết đều giảm rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$)

- Chỉ số GI của 2 nhóm cùng hơi tăng ở T9 (Bảng 3.20).

So sánh giữa hai nhóm:

- Chỉ số PII nhóm laser cao hơn nhóm chứng ở cả 3 thời điểm, khác biệt giữa 2 nhóm tìm thấy ở T3 và T6.

- Khác biệt về GI và BOP giữa hai nhóm tìm thấy ở T3 ($p < 0,05$).

- Chỉ số PD ở nhóm laser thấp hơn nhóm chứng ở cả 3 thời điểm. Khác biệt về PD giữa hai nhóm tìm thấy có ý nghĩa thống kê ở T3 ($p < 0,05$)

- Khác biệt về CAL giữa hai nhóm là không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.21)

Bảng 3.21 Các chỉ số nha chu lâm sàng của hai nhóm sau 3, 6, 9 tháng điều trị đối tượng nam hút thuốc lá

Chỉ số	T3			T6			T9		
	Chứng	Laser	p	Chứng	Laser	p	Chứng	Laser	p
Chỉ số mảng bám PI	0,00(0,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	< 0,001	0,00(0,00-2,00)	1,00(0,00-2,00)	< 0,001	0,00(0,00-2,00)	1,00(0,00-2,00)	0,217
Chỉ số nước GI	0,00 (0,00-1,00)	0,00(0,00-1,00)	0,039	1,00 (0,00-1,00)	0,00(0,00-1,00)	0,061	1,00 (0,00-1,00)	1,00(0,00-1,00)	0,479
Chảy máu khi thăm khám BOP	0,00(0,00-0,00)	0,00(0,00-0,00)	0,038	0,00(0,00-0,00)	0,00(0,00-0,00)	0,002	0,00(0,00-0,00)	0,00(0,00-0,00)	0,836
Độ sâu túi PD	2,00(2,00-4,00)	2,00(2,00-3,00)	0,037	2,00(2,00-4,00)	2,00(2,00-3,00)	0,842	3,00(2,00-4,00)	2,00(2,00-4,00)	0,063
Mất bám dính lâm sàng CAL	3,00(3,00-5,00)	4,00(3,00-5,00)	0,344	4,00(2,00-6,00)	4,00(3,00-5,00)	0,778	4,00(3,00-6,00)	4,00(3,00-5,00)	0,556

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị)

p: Kiểm định Mann-Whitney U

3.2.3.3 Tỷ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị trên đối tượng nam hút thuốc lá

Phân tích ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 5 mm, kết quả sau điều trị số lượng các túi ở mỗi thời điểm được trình bày trong Bảng 3.22.

Bảng 3.22 Số lượng các túi nha chu ở các thời điểm trước và sau điều trị ở nam hút thuốc lá

PD (mm)	Nhóm chứng (n=105 túi ≥ 5 mm)				Nhóm laser (n=135 túi ≥ 5 mm)			
	T0	T3	T6	T9	T0	T3	T6	T9
1	0	6	5	5	0	13	12	5
2	0	32	33	26	0	42	28	26
3	0	28	22	21	0	32	45	21
4	0	18	18	17	0	27	20	27
5	59	4	15	19	87	14	24	32
6	15	7	4	12	29	1	5	10
7	19	4	5	4	13	5	1	3
8	8	4	2	0	3	1	0	0
9	3	2	0	0	1	0	0	0
10	1		1	1	2	0	0	0
11	0		0		0		0	

Nhận xét:

Các túi ≥ 5 mm ở nam hút thuốc lá sau điều trị cho kết quả: nhóm laser không còn túi ≥ 9 mm ở cả 3 thời điểm trong khi nhóm chứng vẫn còn hiện diện túi 9 mm ở T3, túi 10 mm ở T6 và T9.

Bảng 3.23 Tỷ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 5 mm

Thời điểm	Nhóm chứng	Nhóm laser	Tổng	p
T3				
Túi 1-3 mm	66 (43,1)	87 (56,9)	153 (100)	0,036
Túi 4-5 mm	22 (34,9)	41 (65,1)	63 (100)	
Túi ≥ 6 mm	17 (70,8)	7 (29,2)	24 (100)	
Tổng	105	135	240	
T6				
Túi 1-3 mm	60 (41,3)	85 (58,7)	145 (100)	0,123
Túi 4-5 mm	33 (42,8)	44 (57,2)	77 (100)	
Túi ≥ 6 mm	12 (66,6)	6 (33,4)	18 (100)	
Tổng	105	135	240	
T9				
Túi 1-3 mm	52 (45,2)	63 (54,8)	115 (100)	0,177
Túi 4-5 mm	36 (38,7)	59 (62,2)	95 (100)	
Túi ≥ 6 mm	17 (56,6)	13 (43,4)	30 (100)	
Tổng	105	135	240	

Số liệu trình bày: n (%).

p: Kiểm định Chi bình phương

Nhận xét:

Kết quả phân tích ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 5 mm trên đối tượng nam hút ghi nhận: ở cả 3 thời điểm sau điều trị, nhóm laser có tỷ lệ phần trăm túi 1-3 mm nhiều hơn so với nhóm chứng. Tỷ lệ túi ≥ 6 mm của nhóm chứng cao nhất ở T3 trong khi của nhóm laser cao nhất ở T9. Khác biệt về tỷ lệ các loại túi giữa hai nhóm có ý nghĩa thống kê ở T3 ($p < 0,05$).

3.2.3.4 So sánh với bệnh nhân không hút thuốc lá

Bảng 3.24 Đặc điểm lâm sàng ở nhóm nam điều trị có kết hợp laser tại thời điểm trước phẫu thuật

Đặc điểm	Không hút (n=138)	Có hút (n=282)	p ¹
Chỉ số mảng bám (PII) [§]	1,00(1,00-2,00)	1,00(1,00-1,00)	<0,001
Chỉ số nướu (GI) [§]	1,00 (1,00-2,00)	1,00(0,00-2,00)	0,011
Chảy máu khi thăm khám (BOP) [§]	0,00(0,00-1,00)	0,00(0,00-1,00)	0,097
Độ sâu túi nha chu (PD)mm [§]	4,00(2,00-5,600)	4,00(2,00-5,00)	0,243
Độ tụt nướu (GR) mm [§]	0,00(0,00-0,00)	0,00(0,00-2,00)	<0,001
Mất bám dính lâm sàng (CAL)mm [§]	4,00(3,00-6,00)	5,00(3,00-6,00)	0,154
Mức độ túi [¢]			p ²
1-4 mm	78 (56,5)	147(52,1)	0,396
≥5 mm	60 (43,5)	135 (47,9)	

Số liệu trình bày: [§]Trung vị (Khoảng tứ vị); [¢] n (%)

p¹: Kiểm định Mann-Whitney U

p²: Kiểm định Chi bình phương

Nhận xét:

Trước điều trị, khác biệt giữa 2 nhóm hút và không hút thuốc lá tìm thấy có ý nghĩa thống kê ở chỉ số mảng bám PII (p<0,001), chỉ số nướu GI (p<0,05) và chỉ số tụt nướu GR (p<0,001) trong đó giá trị PII và GI cao hơn ở nhóm không hút, GR cao hơn ở nhóm hút. Còn lại khác biệt ở các chỉ số khác đều không có ý nghĩa (Bảng 3.23).

Bảng 3.25 Các chỉ số PD, GR, CAL trước và sau điều trị ở nhóm nam hút và không hút thuốc lá

Chỉ số	T0	T3	p ¹	T6	p ¹	T9	p ¹
PD							
Không hút	4,00(2,00-6,00)	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-3,00)	<0,001
Hút	4,00(2,00-5,00)	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-3,00)	<0,001	2,00(2,00-4,00)	<0,001
p²	0,243	0,504		0,101		0,301	
GR							
Không hút	0,00(0,00-0,00)	1,00(0,00-1,00)	<0,001	1,00(0,00-1,00)	<0,001	0,50(0,00-2,00)	<0,001
Hút	0,00(0,00-2,00)	1,00(0,00-2,00)	<0,001	1,00(0,00-2,00)	<0,001	1,00(0,00-2,00)	<0,001
p²	<0,001	0,006		0,003		0,019	
CAL							
Không hút	4,00(3,00-6,00)	3,00(2,00-5,00)	<0,001	3,00(2,00-5,00)	<0,001	3,00(2,00-5,00)	<0,001
Hút	5,00(3,00-6,00)	4,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(3,00-5,00)	<0,001	4,00(3,00-5,00)	<0,001
p²	0,154	0,055		0,001		0,007	

Số liệu trình bày: Trung vị (Khoảng tứ vị)

p¹: Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks test.

p²: Kiểm định Mann-Whitney U test

Nhận xét:

So sánh trong cùng nhóm:

- So với T0, các chỉ số PD và CAL tại các thời điểm sau điều trị ở cả 2 nhóm hầu hết đều giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) và duy trì mức có ý nghĩa thống kê đến T9. Riêng biệt chỉ số GR cả hai nhóm đều tăng có ý nghĩa thống kê sau điều trị.

So sánh giữa 2 nhóm:

- Khác biệt về PD giữa 2 nhóm không có ý nghĩa thống kê ở cả 3 thời điểm. Tụt nướu và mất bám dính ở nhóm hút nhiều hơn nhóm không hút ở cả 3 thời điểm. Khác biệt giữa hai nhóm về GR có ý nghĩa ở cả 3 thời điểm, về CAL có ý nghĩa ở T6 và T9 ($p < 0,01$).

Như vậy, trên bệnh nhân hút thuốc lá, phương pháp phẫu thuật có kết hợp laser đã cải thiện tốt hơn về PD ở T3 và ít để lại túi sâu hơn ($p < 0,05$) so với phương pháp chỉ phẫu thuật. Tuy vậy, so với nhóm không hút, đáp ứng với điều trị phẫu thuật có kết hợp laser ở nhóm hút kém hơn về các chỉ số GR và CAL.

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN

4.1 TÁC ĐỘNG CỦA LASER LÊN SỰ TĂNG SINH VÀ DI CƯ CỦA NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC NGƯỜI

4.1.1 Loại tế bào và các đáp ứng tế bào chọn nghiên cứu

Về loại tế bào

Lành thương ở mô nha chu bao gồm tương tác phức tạp giữa các tế bào trong mô nha chu gồm NBS nước, nguyên bào xê măng, NBS dây chằng nha chu và tạo cốt bào. Nhiều sự kiện tế bào và phân tử trong lành thương ở mô nha chu cũng tương tự như trong lành thương ở những nơi khác trong cơ thể. Ngoại trừ, trong lành thương ở mô nha chu, có một giao diện mà ở đó mô khoáng hóa có sự kết nối với biểu mô và mô liên kết [17].

Lựa chọn loại tế bào để nghiên cứu tác động của laser lên quá trình lành thương là tùy thuộc vào đặc điểm hay sự kiện lành thương cần khảo sát. Chẳng hạn, NBS dùng nghiên cứu lành thương và tái tạo mô mềm, đại thực bào dùng nghiên cứu sự tạo mô hạt, tế bào nội mô và tế bào cơ trơn dùng nghiên cứu sự tạo mạch máu, tế bào sừng dùng nghiên cứu sự tái biểu mô hóa ở da, tế bào mỡ dùng nghiên cứu lành thương ở mô dưới da và tạo cốt bào dùng nghiên cứu tái tạo mô xương [96]. Gần đây hơn, các loại tế bào gốc từ răng và từ mô nha chu cũng được quan tâm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, NBS nước được chọn vì tác dụng điều trị của laser 810 nm chủ yếu là can thiệp trên mô nước và mục đích nghiên cứu là khảo sát ảnh hưởng của laser lên lành thương mô liên kết nước.

Ở mô nha chu, NBS nước là loại tế bào có vai trò quan trọng trong lành thương, duy trì và sửa chữa mô liên kết nước. Cùng với tủy răng, nhú chóp răng, dây chằng nha chu, nước là nguồn để phân lập NBS cho mục đích nghiên cứu và điều trị. Phân lập tế bào từ nước có nhiều thuận lợi vì cất và thu nhận mô nước rất thường gặp trong điều trị lâm sàng, qui trình đơn giản, lành thương nhanh, ít để lại di chứng hoặc sẹo.

Các ưu điểm dễ phân lập, nuôi cấy và tăng sinh trong điều kiện *in vitro* làm cho NBS nướu trở thành một nguồn tế bào hấp dẫn cho các nghiên cứu cơ bản và cho các phương thức điều trị dựa trên tế bào [54]. Ở các nước, nguồn tế bào này đã đang được quan tâm nghiên cứu và ứng dụng điều trị các bệnh răng miệng và các bệnh khác. Mô hình NBS nướu hiện vẫn là phương tiện giúp tìm hiểu cơ chế tác động và cung cấp bằng chứng có lợi hay có hại cho tiến trình lành thương của nhiều tác nhân và nhiều phương thức điều trị mới trong đó có laser [11], [73], [124].

Nghiên cứu này đã sử dụng nguồn tế bào tự phân lập từ mô nướu để làm đối tượng nghiên cứu như cách làm của nhiều các tác giả [12], [35], [55], [70], [73]. Bản chất trung mô của nguồn tế bào thu nhận cũng đã được xác định thông qua quan sát hình thái tế bào và đánh giá sự biểu hiện marker đặc trưng bằng phương pháp nhuộm hóa tế bào miễn dịch [2]. Cách nhận diện này là gần giống với nghiên cứu của Damant, 2009 [35].

Nghiên cứu này sử dụng tế bào thuộc thể hệ P4 vì các lý do: tế bào P4 đã đồng nhất về mặt hình thái, số lượng tế bào đủ cho các thí nghiệm, tế bào đã thích nghi với điều kiện *in vitro*, nhiều nghiên cứu khác cũng sử dụng tế bào P4 [22], [55]

Theo Yu, 2016 [125] quần thể NBS thu nhận từ mô nướu có khả năng chứa tế bào gốc đa tiềm năng. Vì các yêu cầu về tăng trưởng *in vitro* tương tự nhau nên hai loại tế bào này có thể được phân lập theo cùng một phương pháp từ cùng một mẫu mô. Việc thêm vào kết quả nhận dạng và xác định tỉ lệ tế bào gốc đa tiềm năng trong quần thể tế bào thu nhận từ nướu răng như nghiên cứu này sẽ giúp mở rộng khả năng ứng dụng cho nguồn tế bào đã phân lập.

Về các đáp ứng tế bào

Đánh giá chức năng tế bào giúp tìm hiểu cơ chế tác động có lợi hay gây hại của một tác nhân lên tế bào tham gia vào lành thương. Các sự kiện tế bào và phân tử liên quan với tác động của laser lên NBS nướu đã được khảo sát bao gồm tăng sinh, di cư, khả năng tổng hợp collagen, khả năng tiết các yếu tố tăng trưởng, tiết các cytokine tiền viêm (Bảng 1.2).

Trong số các đáp ứng tế bào chúng tôi chọn tăng sinh và di cư vì các lý do: (i) Trong tiến trình lành thương tăng sinh và di cư tế bào trước tiên có ý nghĩa cải thiện và tăng tốc lành thương. Giảm tăng sinh và giảm di cư tế bào liên quan với chậm lành thương khi đó có thể làm tăng nguy cơ nhiễm khuẩn. (ii) Cùng với tác động của việc loại bỏ biểu mô, việc tăng khả năng tăng sinh và di cư của NBS nướu còn có ý nghĩa hay có tiềm năng kích thích tạo kiểu lành thương bám dính mô liên kết. (iii) Còn ít bằng chứng về tác động của laser lên di cư tế bào (2/14 nghiên cứu).

4.1.2 Thiết bị và các thông số

Về thiết bị

Thiết bị laser diode 810 nm được lựa chọn dựa làm phương tiện nghiên cứu dựa trên các đặc điểm: (i) Khả năng cắt mô mềm và diệt khuẩn trong túi nha chu: do đặc điểm được hấp thu cao trong các mô có sắc tố, hemoglobin và oxihemoglobin nên laser diode 810nm phù hợp để loại bỏ các mô viêm, mô có nhiều mạch máu trong túi nha chu cũng như các vi khuẩn tạo sắc tố dưới nướu như *P. gingivalis* và *P. intermedia* [31]. Các tác động cắt, cầm máu, đông mô cùng với diệt vi khuẩn gây bệnh nha chu bổ sung của laser có thể tạo ảnh hưởng tích cực lên lành thương hơn so với chỉ điều trị Lấy cao- Xử lý mặt chân răng (LC-XLMCR) bằng dụng cụ cơ học [16], [71]. So với các loại laser khác, laser diode 810 nm cũng chứng tỏ lợi thế trong xử lý vách mềm túi. Các lợi thế bao gồm: (i) co mạch làm khô vùng can thiệp cung cấp lối vào và tầm nhìn tốt cho XLMCR, (ii) giảm yếu tố giảm hoạt hóa nội mạch, giảm sự xuyên mạch của bạch cầu vào mô liên kết và bất hoạt các cytokine tiền viêm nên có thể tạo tác dụng kháng viêm nổi bật. Trong khi laser Er:YAG gây dẫn mạch và gián đoạn vi mạch, laser CO₂ gây tổn hại lắng đọng hyaline, đông khung ngoại bào do nhiệt trong mô liên kết sau chiếu (Giannelli, 2012b) [47]. Về ứng dụng lâm sàng, laser diode 810 nm có bước sóng thuộc dãy hồng ngoại cũng được quan tâm trong phương thức điều trị ở mức năng lượng thấp để kích thích lành thương, tăng tái tạo mô và giảm tác dụng phụ sau điều trị nha chu [9], [18], [108]. So với các thiết bị laser dùng trong nha khoa khác laser diode có ưu điểm thiết bị nhỏ gọn, giá thành thấp.

Về các thông số

Nghiên cứu này chọn thử nghiệm với 3 công suất cho 3 nhóm thông số tương ứng với 3 tác dụng điều trị khác nhau (Bảng 2.4). Trong đó có 2 nhóm thông số do nhà sản xuất đề nghị gồm: nhóm 1 cài đặt công suất 0,8 W, chế độ chiếu liên tục, có kích hoạt đầu chiếu, chiếu trong 20 giây, tác dụng loại bỏ mô bệnh và biểu mô vách mềm túi và nhóm 2 cài đặt công suất 1,5 W chế độ chiếu xung, không kích hoạt đầu chiếu, chiếu trong 5 giây, tác dụng khử nhiễm túi nha chu trước can thiệp dụng cụ cơ học.

Các công suất 0,8 W và 1,5 W trong nhóm 1 và 2 này đã được ứng dụng trong một số nghiên cứu lâm sàng điều trị túi nha chu không phẫu thuật dùng laser để nạo hay xử lý vách mềm của túi [89], [105], [126]. Có thể tìm thấy trong y văn cách lý giải chọn công suất <1 W với chế độ chiếu liên tục hay 1,5 W chế độ chiếu xung như đề xuất của nhà sản xuất là để an toàn cho mô mềm dựa trên kết quả nghiên cứu của Giannelli, 2012 [47], an toàn cho mặt chân răng dựa theo kết quả nghiên cứu của Kreisler, 2002 [70], Happey, 2006 [56] và còn dựa trên khả năng diệt khuẩn cao của công suất 0,8W dựa theo kết quả nghiên cứu của Fontana, 2004 [42].

Cùng với các tiêu chí an toàn như vừa kể thì hiệu quả diệt khuẩn là quan trọng trong xem xét thiết lập thông số làm việc lâm sàng. Dù vậy, chưa có nhiều bằng chứng thuyết phục về hiệu quả diệt vi khuẩn gây bệnh nha chu của công suất 0,8 W này. Kết quả nuôi cấy vi khuẩn từ mẫu mảng bám dưới nướu ở túi nha chu của chuột Wista ngay sau chiếu laser của Fontana, 2004 [42] ghi nhận: công suất 0,8 W có khả năng diệt hoàn toàn các vi khuẩn *Prevotella* và *Fusobacterium* vốn là các vi khuẩn chiếm đa số trong các sang thương VNC ở người. Và khả năng diệt khuẩn của 0,8 W (>70%) là cao hơn so với các giá trị công suất khác như 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 và 1,2 W. Trong khi nghiên cứu trên mẫu mảng bám dưới nướu của các bệnh nhân VNC mạn toàn thể, Song, 2013 [116] lại ghi nhận tỉ lệ phần trăm vi khuẩn còn sống theo phương pháp đếm khuẩn định lượng vi khuẩn yếm khí tại các

thời điểm của nhóm laser đều thấp hơn nhóm thuốc kháng khuẩn tại chỗ Minocycline. Khả năng diệt khuẩn tối đa của laser đã không vượt quá 54% trong khi khả năng diệt khuẩn của Minocyclin có thể đến 100%. Vậy theo Song, 2013 [116] tác động diệt khuẩn của laser là không chọn lọc theo phân tích thành phần vi khuẩn và không được mong đợi để diệt các vi khuẩn như *P. gingivalis*, *P. nigrescences*, *P. intermedia*, *P. melaninogenica*.

Trong nghiên cứu này, theo đặc điểm kỹ thuật của thiết bị, khi công suất cài đặt là 0,8 W thì công suất đầu ra thật sự là 0,6 W. Dựa trên kinh nghiệm cá nhân, Giannelli, 2013 [48] cho rằng công suất <0,6 W là không đủ hiệu quả cho tác dụng cắt hay quang bốc bay mô bệnh và biểu mô vách mềm túi nha chu. Kachapilly, 2016 [65] xem 0,5W trong nghiên cứu của chính mình là diệt khuẩn hơn là cắt mô. Vậy công suất 0,6W ở đây là công suất nhỏ nhất ở thiết bị đủ cho tác dụng cắt mô và vì có kích hoạt đầu chiếu nên không có sự trùng lặp với thông số trong nghiên cứu của Kreisler, 2001 [69].

Các công suất 1,5 W dùng chế độ chiếu xung như nhóm 2 cũng đã được sử dụng để khử nhiễm trong túi nha chu trước điều trị cơ học [16]. Laser ở chế độ chiếu xung có công suất đỉnh cao hơn công suất của laser chiếu liên tục nhiều lần nhưng mỗi xung kéo dài trong một khoảng thời gian ngắn (tính bằng miligiây). Công suất cực cao trong thời gian cực ngắn làm cho mô bị bốc bay tức thì nên sự dẫn nhiệt đến mô xung quanh là tối thiểu. Ngoài ra, khoảng nghỉ giữa hai xung cho phép mô đích có thời gian làm nguội trước khi xung kế tiếp truyền đến. Trong nghiên cứu này chiều dài mỗi xung là 30 mili giây và khoảng cách giữa 2 xung là 30 mili giây.

Liều điều trị cho tác dụng kích thích sinh học

Liều chiếu là thông số quan trọng do có những qui luật tương tác liên quan với tác dụng kích thích sinh học. Quy luật Schulz cho rằng: Kích thích yếu sinh tác dụng, kích thích vừa tăng cường tác dụng, kích thích mạnh kìm hãm tác dụng, còn kích thích quá mạnh làm tê liệt hệ thống sống [33].

Liên quan với liều là công suất, thời gian chiếu, diện tích vùng chiếu, mật độ công suất và mật độ năng lượng. Mật độ năng lượng là thông số được sử dụng phổ biến trong nghiên cứu dùng laser với tác động kích thích sinh học. Nhiều giá trị mật độ năng lượng khác nhau được sử dụng và gợi ý sử dụng để tạo tác dụng kích thích sinh học.

Sun và Tuner, 2004 [118] gợi ý 2-3 J/cm² chiếu 2-3 lần trong 1 tuần trên mô nước, 4-6 J/cm² chiếu 2-3 lần trong 1 tuần trên cơ, 6-10 J/cm² chiếu 1-2 lần trong 1 tuần trên khớp thái dương hàm, 2-4 J/cm² chiếu trực tiếp trên răng hay gián tiếp trên vùng chóp hoặc cấu trúc xương. Tổng quan các nghiên cứu đánh giá tác động của laser lên NBS thuộc mô nha chu của Ren, 2016 [100] ghi nhận mật độ năng lượng 2-10 J/cm² là thích hợp cho kích thích sinh học với NBS dây chằng nha chu trong khi khoảng rộng hơn từ 0,5-16 J/cm² là thích hợp cho NBS nước.

Một mật độ năng lượng có thể tạo ra từ nhiều cách kết hợp công suất thời gian chiếu và diện tích vùng chiếu khác nhau. Convissar, 2011 [33] lưu ý các cách kết hợp khác nhau giữa công suất, thời gian chiếu và diện tích vùng chiếu khác nhau có thể tạo ra các tác dụng điều trị khác nhau. Công suất <100 mW được khuyến dùng cho tác dụng kích thích tái tạo trong khi công suất 500 mW được khuyến dùng tác dụng giảm đau.

Thông số dùng kích thích lành thương 0,1 W trong nghiên cứu này là công suất thấp nhất có thể cài đặt trên thiết bị. Công suất đầu ra theo đặc điểm của thiết bị cho tác dụng kích thích sinh học là 80 mW. Công suất này là không trùng lặp với các công suất trong các nghiên cứu *in vitro* trên tế bào như đã tổng kết trong Bảng 1.2.

Liều sử dụng cho tác dụng kích thích sinh học trong nghiên cứu này cũng xấp xỉ 4 J/cm² và tổng liều cho mỗi răng là 16 J/cm². Giá trị mật độ năng lượng 4 J/cm² đã được dùng trong các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng và tìm thấy bằng chứng có lợi [9], [18], [108] (Bảng 1.3).

4.1.3 Đánh giá tác động của laser lên tăng sinh tế bào

Thử nghiệm MTT

Thử nghiệm MTT là phương pháp so màu nhạy, có thể định lượng và định tính với kết quả đáng tin cậy để xác định sự sống và sự tăng sinh tế bào. Sự tăng sinh tế bào được đánh giá thông qua tương quan giữa giá trị mật độ quang (OD) với mật độ tế bào qua các thời điểm đánh giá. Nguyên tắc của thử nghiệm là ở các tế bào sống enzyme reductase có trong ti thể làm chuyển đổi 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) hoà tan trong nước thành tinh thể formazan màu tím. Sau đó, các tinh thể này được hoà tan trong dung môi DSO/ethanol. Giá trị OD của dung dịch chứa các tinh thể hòa tan này tương quan thuận với lượng tế bào sống có trong mỗi giếng. Cụ thể, tại các mốc thời gian trên, tế bào được ủ với dung dịch MTT để hình thành tinh thể tím formazan. Dung dịch đã hoà tan tinh thể formazan trong các giếng của đĩa 96 giếng được đem đo OD ở bước sóng 595 nm (Phụ lục 4). Số lượng tế bào sống càng cao thì lượng tinh thể càng nhiều, mật độ quang OD càng cao.

Hiện có nhiều phương pháp được sử dụng để xác định tính sống hay chết của tế bào. Mỗi phương pháp đã dựa vào đặc điểm khác nhau của một tế bào sống hay chết, thường chọn các đặc tính phổ biến như sự toàn vẹn cấu trúc màng, chức năng màng, sản phẩm được giải phóng từ tế bào sống hay chết (Phan Kim Ngọc, 2010 [8]). Thử nghiệm MTT này đã được sử dụng trong các nghiên cứu của Basso, 2012 [21], Basso, 2016 [22], Frozanfar, 2013 [43]. Ưu điểm của phương pháp là có thể tiến hành nhanh trên đĩa 96 giếng với máy đọc tự động.

Kết quả tác động của laser lên tăng sinh tế bào

Trong số các đáp ứng tế bào thì đáp ứng tăng sinh là đáp ứng được đánh giá nhiều (có 8/14 nghiên cứu với NBS nướu người). Đa số các nghiên cứu ghi nhận đáp ứng tăng sinh tế bào với các thông số có tác dụng kích thích sinh học. Số nghiên cứu đánh giá tác động của các thông số laser dùng diệt khuẩn và loại bỏ mô bệnh lên tế bào còn ít.

Sau chiếu tế bào ở tất cả các nhóm đều thể hiện xu hướng tăng sinh tăng dần theo thời gian. Tế bào nhóm 1 tăng sinh cao nhất vào ngày 7. Tế bào ở các nhóm 2, 3 và nhóm chứng cùng tăng sinh cao nhất ở ngày 9. So sánh trong cùng nhóm từ ngày 7 đến ngày 9, tăng sinh tế bào ở các nhóm 2, 3 và chứng tiếp tục tăng, chỉ có tăng sinh tế bào nhóm 1 giảm (Biểu đồ 3.1). Ở ngày 9, mật độ quang ở nhóm 1 giảm thấp hơn ngày 7 nhưng khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa 2 ngày. Mật độ quang ở cả hai nhóm 2 và 3 cũng tăng cao hơn ngày 7 và cũng khác biệt không có ý nghĩa giữa 2 ngày. Riêng biệt nhóm chứng tăng sinh ở ngày 9 khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,05$) so với ngày 7 (Bảng 3.7).

Trong nghiên cứu này, ở mọi thời điểm, tế bào nhóm 1 đã tăng sinh thấp nhất so với các nhóm khác (Bảng 3.7). Lý giải cho kết quả tăng sinh kém hơn là do cách dùng có kích hoạt đầu chiếu làm tăng tương tác quang nhiệt. Một số tác hại của tương tác quang nhiệt trong đông và bốc bay mô mềm có thể dẫn đến chết tế bào đã được gợi ý như làm khô, biến chất protein, hư hại chuyển hóa tế bào [69]. Giá trị 0,8 W theo hướng dẫn của nhà sản xuất ở đây đã ảnh hưởng không đáng kể đến tăng sinh tế bào ở các thời điểm 1, 3, 5, 7 ngày sau chiếu so với nhóm chứng (Bảng 3.7). Như vậy, kết quả ảnh hưởng lên tăng sinh tế bào đã được giảm thiểu với công suất nhỏ nhất cho tác dụng loại bỏ mô viêm và biểu mô túi như đã đề cập trong phần bàn luận về thông số.

Laser với các thông số sử dụng như ở nhóm 2 cũng ảnh hưởng không đáng kể đến tăng sinh tế bào. So với nhóm 1, công suất dùng ở nhóm 2 cao hơn nhưng tế bào nhóm 2 tăng sinh tốt hơn ở mọi thời điểm. Đặc điểm năng lượng laser theo chế độ chiếu xung ít gây hại hơn chế độ chiếu liên tục như đã bàn trong phần các thông số là lý do cho tăng sinh tốt hơn này. Ở ngày 5 tăng sinh tế bào nhóm 2 là cao hơn cả nhóm chứng và nhóm 3. Tuy nhiên sự khác biệt giữa các nhóm ở ngày 5 này chưa đạt mức ý nghĩa thống kê.

Như vậy, các thông số dùng loại mô bệnh và diệt khuẩn như nhóm 1 và 2 trong nghiên cứu này được gợi ý từ nhà sản xuất là phù hợp với xu hướng giảm tác dụng có hại cho NBS thuộc mô liên kết nước.

Trong số các nhóm có chiếu laser, tế bào ở nhóm 3 có khả năng tăng sinh cao nhất. Kết quả tăng sinh ở nhóm 3 không nhiều hơn so với nhóm chứng ở đây có phản tương đồng với nghiên cứu của Hakki, 2012 [55]. Cách chiếu một lần ở 24 giờ sau cấy tế bào lên đĩa nuôi không lặp lại ở các ngày sau có thể là lý do chưa tìm thấy lợi ích về tăng sinh tế bào ở nhóm này. Theo Ren, 2016 [100] hoạt động tăng sinh của cả hai loại tế bào NBS nước và NBS dây chằng nha chu dưới tác động của laser chỉ kéo dài trong thời hạn 1-2 ngày. Điều này gợi ra rằng cách chiếu lặp lại ở nhiều ngày có thể cho sự tăng sinh tốt hơn cách chiếu không lặp lại.

So sánh giữa các nhóm ở ngày, tăng sinh tế bào nhóm 1 là thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm 2 và 3 ($p < 0,05$) và thấp hơn cả nhóm chứng ($p < 0,01$) (Biểu đồ 3.2). Lý giải về ảnh hưởng các thông số chiếu lên tăng sinh tế bào theo Frozanfar, 2013 [43] là cần có thời gian đủ dài để tác động thể hiện. So với các nghiên cứu *in vitro* khác, thời gian đánh giá tăng sinh trong nghiên cứu này là dài hơn đến 9 ngày trong khi đa số nghiên cứu khác ≤ 7 ngày.

Cùng với gợi ý của Hakki, 2012 [55], nhiều tác giả đã tìm thấy kết quả tác động tích cực của laser lên tăng sinh tế bào của các thông số tác dụng kích thích sinh học với cách chiếu có lặp lại so với nhóm chứng không chiếu. Chẳng hạn, Almeida- Lopes , 2001 [12] và Azevedo, 2006 [19] cùng dùng 2 lần chiếu cách nhau 12 giờ. Các tác giả Basso, 2012 [21], Basso, 2016 [22], Frozanfar, 2013 [43], Kreisler 2002 [70] đều dùng 3 lần chiếu cách nhau 24 giờ. Tác động tích cực khác của việc chiếu lặp lại còn thể hiện ở tăng số các yếu tố tăng trưởng như Saygun, 2008 [109] ghi nhận nhóm chiếu 1 lần cao hơn nhóm chứng về 2 yếu tố tăng trưởng bFGF, IGF-1 ($p < 0,05$), nhóm chiếu lặp lại 2 lần cách nhau 24 giờ cao hơn nhóm chứng về cả 2 yếu tố bFGF, IGF-1 và thụ thể IGFBP3 ($p < 0,01$).

Hiện tại chưa có chuẩn mực rõ ràng về liều chiếu và số lần chiếu cho tác dụng kích thích sinh học ở lâm sàng. Số lượt chiếu tối thiểu để đạt được tác động tích cực của laser năng lượng thấp vẫn chưa rõ. Số lần chiếu được gợi ý là 2-3 lần trong một tuần trên mô nướu (Ren, 2016) [100]. Tuy vậy, các nghiên cứu ứng dụng laser tác dụng kích thích sinh học trong điều trị lâm sàng là đa dạng không chỉ về các thông số cài đặt mà cả cách chiếu (Bảng 1.3). Akyol, 2011 [18] dùng 3 lần chiếu trong 1 tuần ở các ngày 1, 2, 7 sau XLMCR, Makhlof, 2012 [80] sử dụng 10 lần chiếu trong 5 tuần (3 lần trong tuần 1 và tuần 2, 2 lần trong tuần 3, 1 lần trong tuần 4 và tuần 5). Calderin, 2013 [27] sử dụng 5 lần chiếu trong 2 tuần ở các ngày 1, 2, 4, 7 và 11. Sanz-Moliner, 2013 [108] và Aena, 2015 [9] chỉ chiếu trong ngày phẫu thuật và không lặp lại.

Ngoài thiết bị đắt tiền, tốn thời gian cho lặp lại điều trị trong nhiều ngày có thể là trở ngại cho dùng laser kết hợp với điều trị kinh điển. Trong thực hành cần xem xét tính khả thi về chi phí và thời gian cho cả bệnh nhân và bác sĩ [91]. Các xem xét này buộc các nhà thực hành cần nhắc chọn lọc đối tượng bệnh nhân nào và loại điều trị nào sẽ hưởng lợi từ điều trị kích thích sinh học với laser.

4.1.4 Đánh giá tác động của laser lên di cư tế bào

Thử nghiệm lành thương in vitro

Có nhiều mô hình *in vitro*, trong số đó mô hình tế bào lớp đơn và loại thử nghiệm lành thương chọn trong nghiên cứu này là đơn giản nhất. Nguyên tắc của thử nghiệm là tạo một vết rạch trên lớp đơn tế bào, sau đó quan sát sự di cư của các tế bào ở mép vết rạch đi vào trung tâm để lấp đầy khoảng trống. Sự di cư của các tế bào có thể được đánh giá định tính và định lượng. Trong đánh giá định tính, sự di chuyển của các tế bào ở mép vết rạch được theo dõi dưới kính hiển vi theo thời gian. Ảnh chụp ban đầu và ảnh chụp sau các khoảng thời gian cách đều trong quá trình tế bào di chuyển để đóng vết rạch được so sánh cho đến khi tìm thấy vết rạch được đóng kín. Trong đánh giá định lượng, dùng phần mềm phân tích hình ảnh để tính diện tích vùng vô bào theo thời gian trên các ảnh chụp sau các khoảng thời

gian cách đều như vừa kể. Loại mô hình này đã và vẫn còn đang được tiếp tục sử dụng để đánh giá tác động và tìm hiểu cơ chế của các tác nhân lên quá trình lành thương sau điều trị nha chu [129].

Ưu điểm chính của phương pháp là mô phỏng/ bắt chước di chuyển tế bào trong quá trình lành ở vết thương *in vivo*. Các tế bào trên mép khoảng trống vừa được tạo ra sẽ di chuyển vào khoảng trống để đóng khoảng trống. Thử nghiệm này được xem là tiết kiệm, có thể thực hiện ở bất kỳ một phòng thí nghiệm nào thực hiện được nuôi cấy tế bào. Việc bỏ đói tế bào khi nuôi trong môi trường không huyết thanh 24 giờ trước khi tiến hành thí nghiệm nhằm cho thấy vùng vô bào hẹp dần là do các tế bào di cư chứ không phải do tăng sinh. Nhược điểm là phải mất một thời gian tương đối dài để thực hiện, gồm 1-2 ngày cho sự hình thành tế bào đơn lớp và sau đó ít nhất 8-18 giờ cho di chuyển tế bào để đóng khoảng trống và do vậy cần số lượng tế bào và hóa chất dùng cho nuôi cấy tương đối lớn [74].

Kết quả tác động của laser lên di cư tế bào

Trong điều kiện của thử nghiệm này các nhóm tế bào đều di cư tốt sau 24 giờ. Tất cả các nhóm đều có giảm diện tích vùng vô bào (Biểu đồ 3.3).

Tế bào nhóm 3 có xu hướng di cư mạnh hơn các nhóm khác. Kết quả di cư mạnh của tế bào nhóm 3 ở các mốc 24 giờ và 48 giờ sau chiếu laser trong nghiên cứu này có phần tương đồng với kết quả của các tác giả như Basso, 2012 [21] và Basso, 2016 [22]. Các tác giả này cũng ghi nhận các thông số dùng kích thích sinh học làm tăng di cư tế bào.

Nhóm 2 dùng công suất cao $>1W$ với chế độ chiếu xung ở tác dụng diệt khuẩn trong túi trước điều trị cơ học chứng tỏ không gây ảnh hưởng bất lợi về di cư tế bào. Ở 24 giờ, diện tích vùng vô bào nhóm 2 thấp hơn nhóm chứng chứng tỏ tế bào nhóm 2 di cư mạnh hơn so với nhóm chứng. Ngược lại ở mốc 48 giờ, tế bào nhóm 2 di cư yếu hơn so với nhóm chứng. Tuy nhiên, khác biệt giữa 2 nhóm đều không đạt ý nghĩa thống kê ở cả 2 mốc thời gian (Bảng 3.9).

Trong số các nhóm chiếu laser, tế bào nhóm 1 có xu hướng di cư yếu nhất. Ở mốc 24 giờ, diện tích vùng vô bào nhóm 1 cao hơn có ý nghĩa so với nhóm 2 và nhóm 3 ($p < 0,05$) (Biểu đồ 3.4). Ở mốc 48 giờ, diện tích vùng vô bào nhóm 1 cao hơn có ý nghĩa so với cả ba nhóm còn lại (Bảng 3.9).

Tương tự với kết quả tác động lên tăng sinh, tác động lên di cư tế bào cũng cần có đủ thời gian để thể hiện. So với tế bào nhóm chứng, di cư của tế bào nhóm 1 khác biệt không ý nghĩa ở mốc 24 giờ nhưng khác biệt có ý nghĩa ở mốc 48 giờ. Di cư tế bào ở nhóm 3 cũng khác biệt không ý nghĩa so với tế bào nhóm 2 và nhóm chứng ở 24 giờ nhưng khác biệt có ý nghĩa ở 48 giờ.

Thứ tự tăng *dần* về diện tích vùng vô bào ở mốc 24 giờ là nhóm 3 - nhóm 2 - nhóm chứng - nhóm 1. Thứ tự tăng dần về diện tích vùng vô bào ở mốc 48 giờ là nhóm 3 - nhóm chứng - nhóm 2 - nhóm 1. Nghiên cứu này cung cấp bằng chứng laser với thông số chiếu kích thích sinh học có thể góp phần tạo bám dính mô liên kết bằng tăng di cư nguyên bào sợi nước.

Hiện chỉ có nghiên cứu với thông số tác dụng kích thích sinh học lên khả năng di cư tế bào, chưa có nghiên cứu với các thông số loại bỏ mô bệnh và biểu mô túi nha chu hay các thông số diệt khuẩn trong túi nha chu như trong nghiên cứu này. Ý nghĩa lâm sàng của các tác động *in vitro* này như thế nào là câu hỏi dành cho nghiên cứu lâm sàng tiếp theo.

4.2 SO SÁNH HIỆU QUẢ LÂM SÀNG GIỮA HAI PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ PHẪU THUẬT CÓ VÀ KHÔNG KẾT HỢP VỚI LASER SAU 3, 6, VÀ 9 THÁNG

4.2.1 Đối tượng và phương pháp trong nghiên cứu lâm sàng

Laser bắt đầu ứng dụng vào lâm sàng từ những năm 90 tiếp theo sau đó cùng với sự phát triển về thiết bị và các phương thức điều trị thì việc lựa chọn đối tượng sao cho hưởng được lợi ích của laser là mối quan tâm của các nhà lâm sàng.

Về dạng bệnh, các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng dùng laser hỗ trợ điều trị VNC đã chọn các dạng bệnh VNC mạn, VNC tấn công, VNC liên quan bệnh toàn

thân. Riêng với laser bước sóng thuộc ánh sáng hồng ngoại như laser diode 810nm chủ yếu dùng hỗ trợ cho đối tượng VNC mạn. Mức độ bệnh chọn chủ yếu dựa trên độ sâu túi nha chu thay đổi từ nông đến sâu bắt đầu từ ≥ 4 mm.

Hiện nhiều ý kiến đồng thuận với nhận định chưa đủ bằng chứng để chứng tỏ ưu thế của lành thương sau điều trị không phẫu thuật có kết hợp với laser so với chỉ điều trị không phẫu thuật (Chambrone, 2018 [29], Slot, 2014 [113], Smiley, 2015 [114]). Phân tích gộp từ 9 nghiên cứu lâm sàng của Slot, 2014 [113] ghi nhận dùng laser diode kết hợp với LCR-XLMCR không phẫu thuật cho kết quả tương đương với chỉ LCR-XLMCR. Tương tự, còn ít bằng chứng chứng minh lợi ích thêm vào của dùng laser kết hợp so với điều trị phẫu thuật kinh điển. Bên cạnh kết quả cải thiện cao hơn có ý nghĩa ở chỉ số chảy máu khi thăm khám BOP, giá trị hỗ trợ của laser được đánh giá ở mức “trung bình” (< 1 mm) cho kết quả cải thiện độ sâu túi nha chu PD và mất bám dính lâm sàng CAL (Mills, 2018) [83].

Theo Mizutani, 2016 [85]: không nên sử dụng laser rộng rãi cho tất cả các trường hợp bệnh nha chu mà chỉ nên áp dụng cho các túi nha chu có độ sâu từ trung bình đến sâu hoặc các trường hợp VNC phức tạp khó điều trị bằng phương pháp không phẫu thuật hay túi tồn tại kéo dài cũng như tái phát trong giai đoạn điều trị duy trì.

Một đề xuất khác về đối tượng bệnh xuất phát từ kết quả ứng dụng lâm sàng laser với tác dụng kích thích lành thương trong phẫu thuật nha chu. Cơ chế tạo ra các tác động có lợi có thể có từ laser trong phẫu thuật bao gồm tăng tạo mô hạt, tăng tạo mạch máu mới, tăng sinh, tăng trưởng thành, tăng bám dính thành phần NBS, tăng tổng hợp khung ngoại bào, bảo vệ và ổn định cục máu đông dưới vạt. Từ đó dẫn đến kết quả tăng tốc lành thương, dự phòng và giảm tụt mô viền, tăng tái tạo mô, giảm đau. Tuy nhiên, một số nghiên cứu dùng laser trong phẫu thuật cắt nướu, ghép mô liên kết, điều trị tái tạo đã không tìm thấy lợi ích như vậy [90]. Lý giải cho kết quả không tìm thấy lợi ích hỗ trợ của laser là (i) vết thương niêm mạc miệng có thời gian lành thương ngắn, (ii) các đối tượng chọn phẫu thuật vốn trẻ, sức khỏe

toàn thân tốt, tiến trình lành thương bình thường trong khi cơ chế tác động của laser là tác động trên hệ miễn dịch. Do vậy, laser nên được dùng cho các đối tượng có tiến trình lành thương bị ảnh hưởng như hút thuốc lá, đái tháo đường [38].

Hút thuốc lá được xem là yếu tố nguy cơ cho phát triển mức độ bệnh và làm giảm hiệu quả điều trị qua nhiều cơ chế ảnh hưởng đến lành thương. Tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu ứng dụng laser diode 810 nm trong điều trị VNC cả không phẫu thuật và phẫu thuật đã loại các đối tượng có thói quen hút thuốc lá trong chọn mẫu. Về đối tượng bệnh nhân đái tháo đường hiện chỉ tìm thấy nghiên cứu ứng dụng laser với tác dụng diệt khuẩn quang động học trong đó các thiết bị laser thuộc ánh sáng đỏ.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn mẫu bệnh nhân VNC bao gồm cả bệnh nhân có hút thuốc lá, không có bệnh toàn thân liên quan với chống chỉ định của phẫu thuật miệng. Về mức độ bệnh, chúng tôi chọn các túi nha chu có độ sâu ≥ 5 mm, có biểu hiện chảy máu khi thăm khám sau giai đoạn điều trị không phẫu thuật hay trong giai đoạn điều trị duy trì.

Các ảnh hưởng của túi nha chu tồn tại lên tiến triển bệnh, mất răng sau điều trị đã được ghi nhận và chứng tỏ nhu cầu cần được điều trị tiếp tục sau điều trị không phẫu thuật.

Phân tích mối liên quan giữa các yếu tố nguy cơ với tiến triển bệnh và mất răng Matulienet, 2008 [81] ghi nhận: bên cạnh hút thuốc lá, sự hiện diện của ít nhất 1 vị trí túi ≥ 6 mm hay có nhiều hơn 8 vị trí túi ≥ 5 mm là các yếu tố góp phần có ý nghĩa vào tiến triển bệnh. So với túi có độ sâu $\leq 1-3$ mm, các túi ≥ 5 mm chứng tỏ là một yếu tố nguy cơ cho mất răng với OR = 5,8 ở mức độ túi và OR= 7,7 ở mức độ răng.

Tổng quan có hệ thống của Zangrado, 2015 [128] ghi nhận cùng với không điều trị duy trì, hút thuốc lá, túi nha chu tồn tại sau điều trị là tác nhân tạo tác động âm tính cho kết quả dài hạn của cấy ghép Implant.

Sử dụng định nghĩa túi tồn tại là túi có độ sâu ≥ 5 mm kèm biểu hiện chảy máu khi thăm khám sau điều trị VNC, Pjetursson, 2012 [95] nhận thấy trên đối tượng VNC mạn, nhóm viêm quanh Implant mức độ I (độ sâu thăm dò ≥ 5 mm) và nhóm viêm quanh Implant mức độ II (độ sâu thăm dò ≥ 6 mm) có trung bình số túi nha chu ≥ 5 mm lần lượt là 6,4 (chiếm 5,4% số vị trí khám) và 8,2 (chiếm 7,1% số vị trí khám) cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không có viêm Implant có trung bình số túi nha chu ≥ 5 mm là 2,7 (chiếm 2,2% số vị trí khám) ($p < 0,001$).

Nhiều nghiên cứu điều trị phẫu thuật có kết hợp laser cũng chọn mẫu bệnh nhân với mức độ bệnh là túi nha chu ≥ 5 mm tương tự như nghiên cứu này (Aena, 2015 [9], Crespi, 2011 [34], Gokhale, 2012 [51], Jonnalagadda, 2018 [64], Lobo, 2015 [76], Sameera, 2018 [107]). Hơn nữa, theo phân loại bệnh và tình trạng nha chu mới của AAP 2017 [30] các túi nha chu có độ sâu ≥ 5 mm, có biểu hiện chảy máu khi thăm khám được xếp vào tình trạng bệnh không ổn định cần điều trị tiếp theo sau.

Việc chọn đối tượng trong nghiên cứu này còn nhằm hướng đến cách phân tích kết quả phân tầng theo độ sâu túi ban đầu và theo thói quen có hay không hút thuốc lá. Kết quả so sánh đáp ứng với điều trị giữa các mức độ túi và giữa đối tượng hút và không hút có thể cho phép xác định đối tượng được hưởng lợi từ phương pháp phẫu thuật có kết hợp laser.

4.2.2 Lựa chọn điều trị cho túi nha chu ≥ 5 mm sau điều trị không phẫu thuật

Túi nha chu ≥ 5 mm, có biểu hiện chảy máu khi thăm khám sau điều trị không phẫu thuật hay trong điều trị duy trì có thể được xử trí tiếp theo bằng lặp lại điều trị không phẫu thuật (có hay không kèm thêm thuốc kháng khuẩn tại chỗ hoặc kháng sinh toàn thân) hoặc bằng phẫu thuật (Graziani, 2018) [52].

Cơ sở cho quyết định chọn phương pháp phẫu thuật ở đây dựa trên bằng chứng can thiệp phẫu thuật cho hiệu quả cao hơn so với điều trị không phẫu thuật [79], [84], [110].

So với nhóm nhóm điều trị không phẫu thuật, nhóm phẫu thuật vạt Widman biến đổi trong nghiên cứu của Serino, 2001 [110] chứng tỏ (i) giảm độ sâu túi và loại trừ các túi sâu hiệu quả hơn, (ii) số lượng cá thể biểu hiện tiến triển bệnh ít hơn trong thời gian 1-3 năm theo dõi duy trì (14% so với 29%). Một năm sau điều trị, tỉ lệ phần trăm túi sâu ≥ 6 mm ở nhóm phẫu thuật là 8% trong khi nhóm không phẫu thuật là 25%. Tổng quan có hệ thống và phân tích gộp của Mailoa, 2015 [79] cũng cho thấy mức giảm độ sâu túi của điều trị phẫu thuật vạt Widman biến đổi đều cao hơn so với điều trị không phẫu thuật. Ở các túi có độ sâu ban đầu là trung bình 4-6 mm mức giảm độ sâu túi lần lượt là 25,4% so với 18,7% và ở các túi sâu ≥ 7 mm mức giảm độ sâu túi lần lượt là 33,1% so với 21,6%.

Cùng với các kỹ thuật như cắt nướu, phẫu thuật vạt tạo lõi vào và vạt đặt về phía chóp, phẫu thuật vạt Widman biến đổi chọn trong nghiên cứu này thuộc loại phẫu thuật bảo tồn có giá trị tạo lõi vào cho XLMCR, không cắt xương và chỉ cắt mô mềm tối thiểu (Deas, 2016) [36]. Bên cạnh việc cải thiện các các thông số lâm sàng, phẫu thuật cũng làm chậm sự tái nhiễm của vi khuẩn thuộc phức hợp đỏ đến 6 tháng sau điều trị (Kyarizis, 2013) [72].

Trong phẫu thuật điều trị túi nha chu, laser đã được giới thiệu như phương tiện thay thế hay hỗ trợ. Sử dụng laser trong điều trị phẫu thuật túi nha chu được dự kiến sẽ tạo các lợi ích như sau: (i) Tăng hiệu quả xử lý mặt chân răng và xử lý vách mềm của túi nha chu, (ii) Tác dụng kích thích sinh học thúc đẩy lành thương nhanh và tái tạo mô.

Cả bốn loại laser thường dùng trong nha khoa (Bảng 1.1) đều có khả năng xử lý vách mềm của túi nha chu, chỉ có laser Erbium là phù hợp cho XLMCR hay xử lý vách cứng. Về mô bệnh học, vách mềm của túi nha chu thể hiện nhiều đặc điểm khác biệt với khe nướu lành mạnh gồm: (i) biểu mô kết nối trở thành biểu mô túi tách rời hẳn với bề mặt răng với nhiều nhú biểu mô, (ii) các ổ loét vi thể trên bề mặt biểu mô khe nướu và nhú biểu mô lấn sâu vào mô liên kết, (iii) mô liên kết nướu thâm nhiễm nhiều tế bào bạch cầu và tương bào. Tình trạng vách mềm còn có thể

thay đổi tùy thuộc vào mức độ trầm trọng và thời hạn bệnh [23] . Xử lý vách mềm của túi bao gồm loại bỏ mô loét, thâm nhiễm ở vách mềm của túi (mặt trong vạt) và/ hoặc biểu mô mặt ngoài vạt. Giá trị của việc làm này là để có mô liên kết lành áp vào mặt chân răng sạch đồng thời là tác dụng làm chậm sự di chuyển của biểu mô về phía chóp từ đó tạo thuận lợi cho lành thương kiểu bám dính mô liên kết.

Đã có một số bằng chứng cho thấy biểu mô chậm di chuyển sau loại bỏ biểu mô mặt trong và ngoài vạt. Rossmann, 1992 [102] đánh giá mô học trên răng khi, Israel, 1995 [61] đánh giá mô học trên răng người, cả 2 tác giả cùng ghi nhận ở các mẫu chứng (không loại bỏ biểu mô) biểu mô kết nối được thành lập trải dài trên toàn bộ mặt chân răng trong khi ở mẫu có chiếu laser CO₂ tác dụng loại bỏ biểu mô mặt trong và ngoài vạt nhận thấy biểu mô kết nối được thành lập ngắn hơn đồng thời có sự hiện diện của mô liên kết và xê măng sửa chữa.

Kết quả tái tạo mô sau dùng laser Nd: YAG loại bỏ biểu mô mặt trong vách mềm của túi (lần chiếu thứ nhất) và kích thích cục máu đông trong túi (lần chiếu thứ hai chiếu từ viền nướu sau đây vạt) cũng được chứng minh ở người. Phân tích mô học Yukna, 2007 [127] ghi nhận sau 3 tháng điều trị tất cả 6 mẫu mặt chân răng đều có bám dính mới với xê măng mới và dây chằng nha chu thâm nhập vào. Sau 9 tháng điều trị, Nevins, 2012 [87] tìm thấy 6/10 mẫu răng phân tích có bằng chứng của sự tái tạo, gồm 5 mẫu có xê măng, dây chằng nha chu và xương ổ răng mới, 1 mẫu có xê măng mới và dây chằng nha chu thâm nhập vào.

Nghiên cứu này chọn cách loại bỏ biểu mô ở mặt trong và ngoài vạt (kỹ thuật chiếu tiếp xúc) kết hợp với kích thích sinh học (kỹ thuật chiếu không tiếp xúc chiếu). Cách loại bỏ biểu mô thực tế có khác biệt giữa các tác giả. Đa số loại bỏ biểu mô mặt trong vạt (Aena, 2015 [9], Gokhale, 2012 [51], Jonnalagadda, 2018 [64], Lobo, 2015 [76], Sameera, 2018 [107]) cũng có tác giả loại bỏ ở cả hai mặt trong và ngoài vạt (Giannelli, 2015) [49]. Cơ sở lý luận của việc loại bỏ biểu mô mặt ngoài vạt là nguồn gốc xuất phát của biểu mô di chuyển về phía chóp được xem

là từ biểu mô miệng lân cận hơn là từ biểu mô kết nối còn sót ở mặt trong vạt (Braga và cs 1980) [24].

Loại bỏ biểu mô túi trong điều trị còn dựa trên bằng chứng một số vi khuẩn gây bệnh nha chu như *A. actinomycetemcomutans*, *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *T. denticola* có khả năng xâm lấn vào các tế bào biểu mô [63]. Ở các vị trí xâm lấn trong tế bào biểu mô như vậy, vi khuẩn có thể tồn tại dai dẳng, trốn khỏi tác động miễn dịch của ký chủ, các thuốc kháng khuẩn, điều trị cơ học LC-XLMCR và trở thành nguồn dự trữ mở đường cho sự tái nhiễm sau điều trị [122].

4.2.3 Kết quả so sánh giữa hai phương pháp điều trị phẫu thuật có và không kết hợp với laser sau 3, 6, và 9 tháng

Thay đổi các chỉ số lâm sàng trước và sau điều trị

So sánh trong cùng nhóm

Kết quả ở Bảng 3.13 cho thấy tất cả các chỉ số PII, GI, BOP, PD và CAL của mỗi nhóm tại cả 3 thời điểm T3, T6, T9 đều giảm rất có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) so với T0. Kết quả này cho thấy cả hai phương pháp điều trị phẫu thuật có và không kết hợp laser đều cải thiện các chỉ số lâm sàng rất hiệu quả. Các chỉ số sau giảm đều có chung xu hướng hơi tăng ở T9 nhưng ở cả 2 nhóm các chỉ số vẫn giữ thấp hơn rất có ý nghĩa thống kê so với T0 ($p < 0,001$). Điều này chứng tỏ cả hai phương pháp điều trị đã kéo dài hiệu quả đến tháng thứ 9.

Theo Kyarizis, 2013 [72] điều trị phẫu thuật làm giảm đáng kể độ sâu túi và tác động mạnh vào môi trường vi sinh dưới nướu nên hiệu quả điều trị kéo dài. Các yếu tố khác có thể góp phần là kéo dài hiệu quả của điều trị phẫu thuật là: (i) bệnh nhân đã qua điều trị không phẫu thuật nên có ý thức về VSRM tốt, (ii) tác động thêm vào của các thuốc ghi toa sau phẫu thuật (kháng sinh uống, kháng khuẩn tại chỗ, dung dịch súc miệng). Trong nghiên cứu này, chúng tôi chọn tái khám ở mỗi 3 tháng để củng cố VSRM và làm sạch mảng bám trên nướu cho bệnh nhân. Đây có thể là lý do góp phần làm hiệu quả điều trị được kéo dài.

So sánh giữa hai nhóm

Khác biệt giữa hai nhóm về các chỉ số lâm sàng như PII, BOP, PD trong nghiên cứu của chúng tôi đều không có ý nghĩa thống kê ($p \geq 0,05$). Như vậy, xét chung trên toàn mẫu, kết quả nghiên cứu này chứng tỏ hai phương pháp điều trị có hay không kết hợp laser cho kết quả tương đương về cải thiện các chỉ số như PII, BOP và PD. Trong khi khác biệt về CAL giữa 2 nhóm là có ý nghĩa thống kê ở T6 và T9 ($p < 0,05$) (Bảng 3.14). Cải thiện về CAL ở nhóm laser kém hơn nhóm chứng ở đây có thể do cải thiện PD ở nhóm laser kém hơn hoặc do phương pháp phẫu thuật có kết hợp với laser đã gây tụt nướu nhiều hơn hoặc cả hai.

Có thể tìm thấy kết quả kéo dài sự cải thiện các chỉ số lâm sàng và kết quả tương đồng giữa 2 phương pháp điều trị phẫu thuật có hay không kết hợp laser như ở đây trong một số nghiên cứu khác điều trị túi nha chu bằng phương pháp phẫu thuật.

Aena, 2015 [9] ghi nhận hiệu quả cải thiện về PD và CAL kéo dài đến 9 tháng. Sameera, 2018 [107] tìm thấy hiệu quả cải thiện về PD, CAL kéo dài đến 12 tháng. Gokhale, 2012 [51] (980 nm; 2,5 W) ghi nhận hiệu quả cải thiện kéo dài sau 3 tháng về PII, GI, PD, CAL và cả số đơn vị tạo khuẩn vi khuẩn yếm khí bắt buộc. Trong đó, khác biệt về PII, GI, PD, CAL giữa 2 nhóm là không ý nghĩa. Lobo, 2015 [76] (940 nm; 1,5 W) ghi nhận hiệu quả cải thiện về PII, GI, PD, CAL, GR, TM kéo dài đến 6 tháng. Và khác biệt giữa 2 nhóm về tất cả các thông số là không ý nghĩa. Jonnalagadda, 2018 [64] (810 nm; 1,5 W) cũng ghi nhận hiệu quả kéo dài và khác biệt không ý nghĩa giữa hai nhóm về các thông số PI, PD, GI, CAL đến 6 tháng. Điểm tương đồng giữa nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của các tác giả Gokhale, 2012 [51], Lobo, 2015 [76], Jonnalagadda, 2018 [64] là thiết kế nửa miệng và trung bình độ sâu túi ban đầu chỉ ở mức trung bình hay $< 7\text{mm}$ (Bảng 4.26).

Bảng 4.26 Trung bình độ sâu túi trước điều trị ở các nghiên cứu ứng dụng laser trong điều trị phẫu thuật

Tác giả, Năm	Phương pháp điều trị	Độ sâu túi (mm)
Gokhale, 2012 [51]	Phẫu thuật kết hợp laser loại bỏ biểu mô	Nhóm chứng: $5,80 \pm 0,46$ Nhóm laser: $6,03 \pm 1,22$
Lobo, 2015 [76]	Phẫu thuật kết hợp laser loại bỏ biểu mô	Nhóm chứng: $6,08 \pm 0,91$ Nhóm laser: $6,02 \pm 0,81$
Aena, 2015 [9]	Phẫu thuật kết hợp laser loại bỏ biểu mô và kích thích sinh học	Nhóm chứng: $8,02 \pm 0,62$ Nhóm laser: $7,40 \pm 1,41$
Jonnalagadda, 2018 [64]	Phẫu thuật kết hợp laser loại bỏ biểu mô	Nhóm chứng $4,48 \pm 0,81$ Nhóm laser: $4,43 \pm 1,03$
Nghiên cứu này, 2020	Phẫu thuật kết hợp laser loại bỏ biểu mô và kích thích sinh học	Nhóm chứng: $4,12 \pm 1,95$ Nhóm laser: $4,10 \pm 1,91$

Giảm PD dẫn đến sự cải thiện về CAL một phần do giảm viêm làm tăng đề kháng của mô đối với sự thâm nhập của dụng cụ đo túi. Kết quả kỳ vọng trong dùng laser kết hợp với điều trị kinh điển là tạo bám dính mô liên kết mới. Nhiều tác giả đã đưa ra lập luận về kết quả lành thương sau dùng laser loại bỏ biểu mô [76], [107]. Theo Lobo, 2015 [76] dùng laser với các thông số thích hợp để loại bỏ biểu mô túi có tiềm năng tạo "tác động dạng tái tạo mô có hướng dẫn" (guided tissue regeneration-like effect) vì biểu mô được loại bỏ hoàn toàn làm chậm sự di chuyển của biểu mô nướu về phía chóp. Sameera, 2018 [107] cho rằng sự phối hợp giữa chiếu laser loại bỏ biểu mô và kích thích sinh học đã tạo thuận lợi cho lành thương tái tạo bằng cách phân phối năng lượng mạnh và chọn lọc vào vách mềm túi. Từ đó tạo ra hàng rào sinh lý để ngăn chặn sự di chuyển của biểu mô về phía chóp, đồng thời dán kín lối vào túi với cục máu đông và khuyến khích sự lành thương từ đáy túi

đi lên thông qua kích thích sự phóng thích nhiều tế bào đa năng từ dây chằng nha chu và xương ổ răng. Dù vậy, hiện chỉ có bằng chứng mô học của lành thương bám dính mô liên kết và tái tạo từ loại bỏ biểu mô bằng laser CO₂ và Nd:YAG như đã kể ở phần bàn luận về lựa chọn phương pháp điều trị [61], [87], [102], [127]. Đối với các tác nhân hỗ trợ điều trị nha chu, bằng chứng mô học tạo bám dính mô liên kết trên các mô hình *in vivo* vẫn còn là thách thức cho các nghiên cứu trong tương lai.

Liên quan với tác dụng loại bỏ mô viêm và biểu mô túi không phẫu thuật, y văn đã có ghi nhận các laser bước sóng hồng ngoại có thể làm tăng mức độ tụt nướu sau điều trị [29] và kết quả cải thiện về PD và CAL ở nhóm chứng cao hơn nhóm laser có thể do đã sử dụng laser với công suất cao (1,5W chế độ chiếu liên tục trong 20 giây) gây tổn hại cho nguyên bào sợi nướu [97].

Với kết quả không khác biệt giữa hai nhóm có và không chiếu laser với tác dụng kích thích sinh học, ngoài lý do đối tượng nghiên cứu không bệnh lý toàn thân, có tiến trình lành thương bình thường như đã nêu trong phần bàn luận về đối tượng của nghiên cứu lâm sàng, các lý giải khác là: (i) ở nghiên cứu thiết kế mù đôi, sử dụng thiết bị laser có ánh sáng đỏ làm tia dẫn đường, nhóm chứng có sử dụng laser giả được có thể có tác dụng kháng viêm không chủ ý [97], (ii) ở thiết kế nửa miệng, laser được xem là tạo tác động toàn thân nên các yếu tố tăng trưởng và các chất tiết ra ở phía bên có chiếu sẽ vào hệ tuần hoàn có thể di chuyển xa đến các vị trí bên không chiếu khác. Tuy nhiên, ý kiến xem laser tạo tác động toàn thân như vậy còn thiếu bằng chứng [100].

Ngoài ra, có nhiều cơ chế tác động tích cực có thể dự phần vào sự lành thương sau điều trị với laser như diệt khuẩn, giảm viêm, khuyến khích tạo bám dính mô liên kết. Do vậy, lợi ích thu được có thể tùy thuộc vào thông số chọn, mỗi một thông số có thể đã tạo một tác động tích cực riêng biệt. Nghiên cứu của Gokhale, 2012 [51] (980 nm; 2,5 W) ghi nhận sự cải thiện tương đương về các chỉ số PII, GI, PD, CAL giữa 2 nhóm điều trị phẫu thuật có và không kết hợp với laser trong khi về phương diện vi sinh nhóm có kết hợp laser làm giảm số đơn vị tạo khuẩn vi khuẩn yếm khí bắt buộc nhiều hơn có ý nghĩa ($p <$) ở 3 tháng sau điều trị. Ngoài lợi ích về

chỉ số lâm sàng và vi sinh, các giá trị lợi ích khác như cải thiện các chỉ số sinh hóa với những thay đổi về mức độ của các chất trung gian dẫn truyền viêm hay tác động tích cực lên chuyển hóa mô liên kết đang được khuyến khích tìm kiếm với điều trị bằng laser.

Thay đổi các chỉ số lâm sàng theo phân nhóm túi 5-6 mm và túi ≥ 7 mm

Kết quả ở các Bảng 3.15 và 3.16 cho thấy:

Đối với các túi 5-6 mm, điều trị kinh điển cho kết quả cải thiện về mất bám dính lâm sàng tốt hơn ở T6 ($p < 0,05$) và T9 ($p < 0,001$), giảm độ sâu túi nhiều hơn ở T9 ($p < 0,05$), ít tụt nướu hơn ở T6 ($p < 0,01$) và ở T9 ($p < 0,05$) so với điều trị có kết hợp laser. Đối với các túi ≥ 7 mm điều trị có kết hợp laser cho kết quả giảm độ sâu túi nhiều hơn, ít tụt nướu hơn và cải thiện về mất bám dính lâm sàng tốt hơn. Tuy nhiên, chỉ có khác biệt về độ sâu túi là có ý nghĩa ở T9 ($p < 0,01$).

Ở phân nhóm túi có độ sâu ban đầu 5-6 mm, cải thiện về mất bám dính lâm sàng CAL ở nhóm laser kém hơn nhóm chứng là liên quan với độ sâu túi PD ở nhóm laser giảm ít hơn nhóm chứng đồng thời tụt nướu GR ở nhóm laser tăng nhiều hơn nhóm chứng (Bảng 3.15).

Chỉ số nướu GI ở nhóm laser cao hơn có thể là lý do khiến mô vùng đáy túi đề kháng kém hơn với sự thâm nhập của dụng cụ đo túi và như vậy độ sâu túi ở nhóm này cao hơn so với nhóm chứng (Bảng 3.14). Tụt nướu là hệ quả tất yếu sau phẫu thuật lật vạt toàn phần hay bán phần. Cùng với đau, quá cảm ngà, tụt nướu gây mất thẩm mỹ là lý do cân nhắc cho chỉ định phẫu thuật vạt nhất là ở vùng răng trước trên. Tụt nướu có thể do nướu giảm viêm khiến mô nướu co lại. Đã có bằng chứng về hiệu quả ít gây tụt nướu khi sử dụng laser CO₂ so với dao mổ kinh điển là do giảm tạo myofibroblast trong quá trình lành thương [34]. Tụt nướu nhiều hơn ở nhóm laser của chúng tôi có thể do việc loại bỏ biểu mô nướu mặt ngoài vạt làm giảm bề dày của nướu đặc biệt là bờ viền nướu bị làm mỏng.

Ở các túi ≥ 7 mm, khác biệt ở các chỉ số GI, GR, CAL giữa 2 nhóm là không ý nghĩa ($p > 0,05$) chỉ có khác biệt về PD là có ý nghĩa ở T9 ($p < 0,01$) (Bảng 3.16).

Kết quả ở phân nhóm túi ≥ 7 mm của nghiên cứu này có các điểm tương đồng với kết quả của Aena, 2015 [9] gồm: (i) chỉ số PII cùng khác biệt không có ý nghĩa ở T6 và T9, (ii) chỉ số GI cùng khác biệt không có ý nghĩa ở T9 ($p > 0,05$), (iii) PD nhóm laser cải thiện tốt hơn nhóm chứng ở T9 ($p < 0,01$). Kết quả trái ngược thuộc về các chỉ số GI, và CAL. Sự khác biệt về công suất, cách dùng laser, đặc điểm mẫu nghiên cứu có thể lý giải cho khác biệt về kết quả của chúng tôi với kết quả của Aena, 2015 [9]. Aena, 2015 [9] dùng công suất 1 W để loại bỏ mô mặt trong vạt, chúng tôi dùng 0,8 W để loại bỏ cả biểu mô mặt ngoài và trong vạt. Tất cả các chỉ số trong mẫu nghiên cứu của Aena, 2015 [9] ở thời điểm nền đều cao hơn mẫu phân nhóm túi ≥ 7 mm của chúng tôi. Ngoài ra, mẫu của chúng tôi có bao gồm bệnh nhân hút thuốc lá.

Biểu đồ 3.5 và 3.6 cho thấy mức giảm độ sâu túi PD, mức cải thiện mất bám dính lâm sàng CAL ở các túi 5-6 mm và ≥ 7 mm của hai nhóm.

Theo y văn hiệu quả của điều trị túi nha chu bằng phương pháp phẫu thuật hay không phẫu thuật đều có liên quan với độ sâu túi ban đầu. Knowles, 1980 [66] ghi nhận PD và CAL giảm mạnh nhất ở các túi sâu 7-12 mm sau các điều trị không phẫu thuật, phẫu thuật vạt Widman biến đổi, và các phẫu thuật giảm hay loại trừ túi nha chu. Tổng quan có hệ thống các nghiên cứu theo dõi sau hơn 2 năm của Mailoa, 2015 [79] cũng ghi nhận ở các túi sâu sau điều trị phẫu thuật cho kết quả giảm PD và CAL nhiều hơn các túi nông. Cụ thể sau phẫu thuật vạt Widman biến đổi, 2 năm sau điều trị mức giảm ở các phân nhóm túi 4-6 mm và phân nhóm túi ≥ 7 mm về PD lần lượt là 25,4% so với 33,1%, và về CAL lần lượt là 6,5% so với 14,2%. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận ở 9 tháng sau điều trị, các túi có độ sâu ban đầu 7 mm của cả 2 nhóm chứng và laser đều cho thấy mức giảm độ sâu túi và mức cải thiện mất bám dính lâm sàng đều cao hơn so với các túi có độ sâu ban đầu 5-6 mm (Biểu đồ 3.5 và 3.6)

Nghiên cứu này đã chọn cách chia phân nhóm độ sâu túi trong phân tích phân tầng tương tự với nghiên cứu điều trị phẫu thuật có kết hợp laser của Crespi, 2011 [34], gồm 3 phân nhóm: 1-4 mm, 5-6 mm và ≥ 7 mm. Cách chia phân nhóm

này cũng được một số nghiên cứu đánh giá hiệu quả của điều trị phẫu thuật túi nha chu khác sử dụng [34], [110].

Cách phân tích kết quả thay đổi PD và CAL phân tầng theo độ sâu túi nha chu ban đầu đã được quan tâm trong các nghiên cứu dùng laser hỗ trợ cho điều trị không phẫu thuật. Và còn nhiều ý kiến khác nhau về đáp ứng với điều trị theo độ sâu túi ban đầu.

Saglam, 2012 [105] đánh giá thay đổi về lâm sàng và hoá sinh của điều trị không phẫu thuật kết hợp với laser khử nhiễm túi nha chu. Kết quả phân tích cải thiện PD và CAL theo từng phân nhóm túi 4-6 mm và ≥ 7 mm đã không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm laser và nhóm chứng ở cả hai phân nhóm. Dukic, 2013 [39] so sánh giữa 2 nhóm có và không kết hợp laser loại biểu mô ở vách mềm túi với điều trị không phẫu thuật theo hai phân nhóm túi 4-6 mm và túi 7-10 mm. Kết quả tìm thấy chỉ ở phân nhóm túi 4-6 mm, nhóm laser làm giảm PD nhiều hơn rất có ý nghĩa ($p < 0,001$) so với nhóm chứng ở thời điểm giữa 6 đến 18 tuần sau điều trị. Còn lại các khác biệt khác là không ý nghĩa. Roncati, 2016 [102] trong nghiên cứu loạt ca lâm sàng theo dõi 3 năm điều trị không phẫu thuật kết hợp laser ghi nhận kết quả cải thiện mức bám dính lâm sàng ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 6 mm là cao hơn có ý nghĩa so với các túi có độ sâu ban đầu < 6 mm. Nghiên cứu trên mẫu bệnh nhân với các túi nha chu < 7 mm, Pamuk, 2017 [92] không tìm thấy khác biệt có ý nghĩa về nhiều thông số lâm sàng trong đó có PD giữa hai nhóm có và không kết hợp laser cũng như giữa hai nhóm đối tượng có và không hút thuốc lá.

Trong dùng laser hỗ trợ cho điều trị phẫu thuật, so sánh giữa vạt Widmann và vạt di chuyển về phía thân răng kết hợp với laser CO₂ dùng loại bỏ biểu mô mặt trong vạt và XLMCR, Crespi 2011 [34] ghi nhận ở cả 3 phân nhóm túi 1-4 mm, 5-6 mm và ≥ 7 mm, nhóm vạt di chuyển về phía thân răng kết hợp laser đều cho kết quả giảm độ sâu túi và cải thiện mức bám dính lâm sàng tốt hơn có ý nghĩa so với nhóm vạt Widmann. Trong phân nhóm túi có độ sâu ban đầu ≥ 7 mm của chúng tôi, nhóm laser cũng cho kết quả giảm độ sâu túi PD tốt hơn nhóm chứng.

Cách chia phân nhóm trong phân tích kết quả có thể giúp nhận diện đối tượng độ sâu túi nào có thể được hưởng lợi từ phương pháp điều trị có kết hợp laser hay giới hạn của phương pháp điều trị laser. Với kết quả laser chỉ mang lại lợi ích cho túi 4-6 mm, Dukic, 2013 [39] kết luận túi sâu >6 mm vẫn còn là đối tượng của điều trị phẫu thuật. Điều này có nghĩa kỳ vọng dùng laser thay thế cho điều trị phẫu thuật ở các túi nha chu sâu >6 mm là chưa thể đạt được.

Đối với điều trị laser, tương tác hấp thu năng lượng là quyết định cho hiệu quả điều trị. Ngoài thành phần nước, khoáng chất, sắc tố, một số đặc tính quang học khác của mô như mật độ mô, mức độ viêm và sự phân bố mạch máu ở mô, lượng tế bào sẵn có tham gia vào quá trình lành thương, tiến trình dẫn nhiệt, tiềm năng chuyển đổi nhiệt (biến đổi protein, bốc bay nước, chảy mô khoáng) cũng có vai trò trong quyết định mức hấp thu năng lượng của mô đích. Sự khác biệt về đáp ứng với điều trị giữa 2 phân nhóm túi 5-6 mm và ≥ 7 mm có thể do sự khác biệt về đặc điểm mô bệnh học dẫn đến khác biệt về mức thâm nhập của năng lượng laser vào mô. Do vậy để giải thích tường tận kết quả này cần có những nghiên cứu đánh giá mức thâm nhập của năng lượng laser và đáp ứng mô dưới tác động của các thông số laser như đã chọn trên các mô hình *in vivo* thích hợp.

Thay đổi tỉ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng các định nghĩa về túi đóng và túi tồn tại sau điều trị theo Serino, 2001 [110]. Theo đó, sau điều trị nếu độ sâu túi còn ≤ 3 mm gọi là túi đóng, độ sâu túi còn 4-5 mm gọi là túi tồn tại trung bình và độ sâu túi còn ≥ 6 mm gọi là túi tồn tại sâu .

Phân tích trên các túi có độ sâu ban đầu ≥ 7 mm, kết quả Bảng 3.18 cho thấy ở T3 và T6 khác biệt về tỉ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị giữa hai nhóm không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Ở T9 nhóm laser có tỉ lệ phần trăm túi đóng nhiều hơn và tỉ lệ phần trăm túi tồn tại sâu ít hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng ($p < 0,05$).

Cách so sánh hiệu quả đóng túi đóng và để lại túi giữa hai phương pháp điều trị đã được tìm thấy trong các nghiên cứu điều trị phẫu thuật [84], [110], nghiên cứu

dùng kháng sinh hỗ trợ cho điều trị không phẫu thuật [67] và các nghiên cứu dùng laser hỗ trợ cho điều trị không phẫu thuật [28], [49]. Thông tin kết quả dưới dạng này cho sự diễn giải về hiệu quả lâm sàng của một phương pháp điều trị thích hợp hơn và là công cụ tốt hơn cho nhà lâm sàng trong xem xét những nhu cầu điều trị tiếp theo sau cho các túi nha chu tồn tại so với kết quả độ sâu túi trình bày ở dạng trung bình và độ lệch chuẩn [67]. Cappuyns, 2012 [28] dùng laser loại bỏ biểu mô ở mặt trong túi ghi nhận sau 6 tháng điều trị nhóm có kết hợp laser có nguy cơ để lại túi >4 mm và có chảy máu khi thăm khám cao hơn so với nhóm không kết hợp laser ($p<0,05$). Giannelli, 2015 [49] dùng laser loại bỏ biểu mô ở mặt trong và ngoài túi đồng thời với diệt khuẩn quang động học kết hợp điều trị không phẫu thuật ghi nhận tỉ lệ các túi nông <4 mm, trung bình 4-6 mm và sâu >6 mm ở nhóm laser là thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng ở các thời điểm 1 và 4 năm sau điều trị.

Hiện nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên chọn cách so sánh tỉ lệ các nhóm túi sau điều trị giữa hai nhóm có và không dùng laser hỗ trợ điều trị phẫu thuật túi nha chu.

4.2.3 Kết quả so sánh giữa hai phương pháp điều trị phẫu thuật có và không kết hợp với laser sau 3, 6, và 9 tháng trên đối tượng bệnh nhân hút thuốc lá

Cùng với các bệnh nhân có bệnh toàn thân, đối tượng hút thuốc lá đang dần được quan tâm nhiều hơn trong các nghiên cứu ứng dụng laser trong điều trị nha chu không phẫu thuật nhất là ở tác dụng diệt khuẩn quang động học. Hút thuốc lá tạo ra nhiều tác động tiêu cực cho toàn bộ các loại hình điều trị nha chu từ không phẫu thuật đến phẫu thuật, bao gồm cả các tác nhân kháng khuẩn tại chỗ hay toàn thân, phẫu thuật, tái tạo, tạo hình và cấy ghép Implant. Hiện còn ít nghiên cứu điều trị nha chu có kết hợp laser cho đối tượng có hút thuốc lá. Trong đó, laser tác dụng kích thích sinh học được dùng kết hợp với điều trị không phẫu thuật hay phẫu thuật và các mức độ "hút" là khác nhau (Bảng 4.27).

Bảng 4.27 Tóm tắt các nghiên cứu ứng dụng laser ánh sáng hồng ngoại trên đối tượng bệnh nhân hút thuốc lá

Tác giả, Năm	Phương pháp điều trị	Mức độ hút
Aykol, 2011 [18]	Không phẫu thuật kết hợp laser kích thích sinh học	Hút: ≥ 10 điếu/ngày Không hút: chưa bao giờ hút
Sanz-Moliner, 2013 [108]	Phẫu thuật kết hợp laser loại bỏ biểu mô và kích thích sinh học	Không mô tả
Pamuk, 2017 [92]	Không phẫu thuật kết hợp laser kích thích sinh học	Hút: 15 điếu/ngày trong ít nhất 5 năm Không hút: chưa bao giờ hút
Nghiên cứu này	Phẫu thuật có kết hợp laser loại bỏ biểu mô và kích thích sinh học	Hút: 5-10 điếu/ngày trong vòng 10 năm Không hút: chưa bao giờ hút

Ở người hút thuốc lá, nhiều tế bào và tiến trình quan trọng trong lành thương đã được chứng minh chịu ảnh hưởng bất lợi của khói thuốc. Trong giai đoạn viêm, khói thuốc làm giảm di cư của bạch cầu, kết quả là giảm số lượng của bạch cầu đơn nhân và đại thực bào trong các vết thương, giảm hoạt động diệt khuẩn của bạch cầu đa nhân trung tính. Trong giai đoạn tăng sinh, vết thương tiếp xúc với khói thuốc làm giảm di cư và tăng sinh của nguyên bào sợi dẫn đến giảm co vết thương, cản trở tái tạo biểu mô, giảm sản xuất khung ngoại bào, và mất cân bằng các men protease. Sau điều trị phẫu thuật, ở các bệnh nhân hút thuốc lá cho thấy chậm lành thương và có thể tăng nguy cơ có các biến chứng như nhiễm trùng, vết thương rò rỉ, hoại tử vạt [53]. Hư hại chức năng bạch cầu, giảm sản xuất các kháng thể IgA và IgG, tăng sinh vi khuẩn gây bệnh nha chu, hư hại tăng sinh và chức năng của nguyên bào sợi có thể là cơ chế dẫn đến đáp ứng lành thương kém và tăng nguy cơ tái phát trong giai đoạn điều trị duy trì ở các bệnh nhân hút thuốc lá (Kotsakis, 2015) [68].

Thay đổi các chỉ số lâm sàng trước và sau điều trị

So sánh trong cùng nhóm

Kết quả ở Bảng 3.19 cho thấy tất cả các chỉ số GI, BOP, PD và CAL của mỗi nhóm tại cả 3 thời điểm T3, T6, T9 đều giảm rất có ý nghĩa thống kê so với T0 ($p < 0,001$). Sau giảm ở T3, tất cả các chỉ số có chung xu hướng hơi tăng. Tuy vậy, cả hai nhóm cùng duy trì sự cải thiện có ý nghĩa của các chỉ số này đến thời điểm T9.

Riêng biệt PII của cả hai nhóm sau giảm ở T3 cùng tăng ở T6 và ở T9 (Bảng 3.19). Hút thuốc lá có thể làm tăng thành lập mảng bám hay cao răng trên nướu. Nguyên nhân dễ lắng đọng mảng bám và cao răng ở đây có thể được lý giải bằng tác động toàn thân thông qua nước bọt hay tác động tại chỗ trên bề mặt răng hay cả hai tác động cùng lúc (Sreedevi, 2012) [117].

So với T0, chỉ số PII nhóm chứng giảm không còn ý nghĩa ở T6 và tăng ở T9. PII nhóm laser giảm không có ý nghĩa ở T3, tăng cao hơn có ý nghĩa ở T6 và T9 ($p < 0,05$). Các diễn tiến tăng PII làm mất ý nghĩa của nhóm chứng và tăng PII có ý nghĩa thống kê ở nhóm laser cùng ở T9. Đây chính là lý do cần lặp lại kiểm soát mảng bám chuyên nghiệp và khiến chúng tôi quyết định ngưng nghiên cứu ở T9 (Bảng 3.19).

Sau điều trị, dù chỉ số mảng bám PII ở cả hai nhóm có chung xu hướng tăng ở T6 và T9 nhưng vẫn có sự cải thiện ở chỉ số nướu GI và chảy máu khi thăm khám BOP. Các kết quả này ở nhóm hút có thể được giải thích là ở người hút thuốc lá nicotin làm co mạch ở nướu và do vậy che lấp các dấu chứng viêm kinh điển như sưng đỏ, tiết dịch, chảy máu [117].

Bên cạnh các đặc trưng về lâm sàng bao gồm nhiều vết dính ngoại lai trên răng, nướu sợi hoá, mất vẩy lấm tẩm da cam, túi nha chu sâu, tụt nướu nhiều, mất bám dính nhiều, các đặc trưng về vi sinh, đáp ứng miễn dịch, đặc điểm gen ở bệnh nhân VNC có hút thuốc lá được lưu ý trong chẩn đoán và đưa ra quyết định điều trị [104].

So sánh giữa hai nhóm

Nghiên cứu này tìm thấy một số lợi ích của việc dùng laser ở nhóm bệnh nhân có hút thuốc lá. Chỉ số BOP ở nhóm laser thấp hơn nhóm chứng ở 2 thời điểm T3 và T6 (Bảng 3.20). Độ sâu túi PD và mất bám dính lâm sàng CAL ở nhóm laser cũng thấp hơn nhóm chứng ở cả 3 thời điểm. Khác biệt giữa 2 nhóm về PD có ý nghĩa ở T3 ($p < 0,05$) (Bảng 3.20).

Các kết quả cải thiện tốt hơn này ở nhóm laser có thể liên quan với kết quả laser tác dụng kích thích sinh học làm tăng tăng sinh và tăng di cư tế bào như trong nghiên cứu *in vitro* của chúng tôi khi khói thuốc đã được ghi nhận là ảnh hưởng tiêu cực đến sự tăng sinh và di cư của NBS nướu người.

Hút thuốc lá được xem là yếu tố nguy cơ quan trọng đối với bệnh nha chu. Các cơ chế sinh học *in vitro* liên quan đến tác hại của khói thuốc (tính chung toàn bộ thành phần khói thuốc hay tính riêng với thành phần nicotin) đã được nghiên cứu trên nhiều loại tế bào như NBS nướu, NBS dây chằng nha chu, biểu mô miệng. Nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng *in vitro* của khói thuốc lên tăng sinh và di cư tế bào của Alanazi, 2018 [11] đã sử dụng mẫu NBS nướu nuôi cấy từ mô nướu người khoẻ mạnh không hút thuốc sau phơi nhiễm với khói thuốc 60 phút mỗi ngày trong 3 ngày. Kết quả ghi nhận khói thuốc làm giảm sự tăng sinh NBS nướu rất có ý nghĩa so với nhóm chứng và tác động này tiếp tục duy trì đến ngày 5 và 7 ($p < 0,001$). Ở 48 giờ trong thử nghiệm lành thương *in vitro*, nhóm có phơi nhiễm với khói thuốc cũng làm chậm sự di cư tế bào và sự đóng vết thương so với nhóm chứng (diện tích vùng vô bào lần lượt là $132 \pm 10 \mu\text{m}^2$ với nồng độ khói thuốc là 5%, $287 \pm 12 \mu\text{m}^2$ với nồng độ khói thuốc là 10% so với $4,6 \pm 2 \mu\text{m}^2$ của nhóm chứng, $p < 0,05$). Tương tự, so sánh tăng sinh tế bào giữa các nhóm, Vermehren, 2020 [124] cũng nhận thấy ở 24 giờ sau nuôi cấy số lượng tế bào ở nhóm NBS nướu người có tiếp xúc với khói thuốc cũng ít hơn so với nhóm chứng tiếp xúc với không khí ($p < 0,01$).

Bên cạnh các ảnh hưởng lên NBS, nhiều cơ chế tác động khác của khói thuốc trên mô nha chu cũng được ghi nhận như hư hại ở cung cấp máu ở mô, stress

oxi hoá, tăng viêm và chất dẫn truyền viêm, chuyển hoá collagen, đặc tính gây bệnh của mảng bám vi khuẩn. Việc điều trị VNC ở người bệnh có hút thuốc lá cần có phương tiện hỗ trợ nhắm vào một hay nhiều cơ chế vừa kể nhằm làm giảm tác động có hại và tăng hiệu quả điều trị [44]. Hiện số lượng nghiên cứu hiệu quả điều trị có kết hợp laser có bước sóng thuộc ánh sáng hồng ngoại như laser diode 810nm trên đối tượng người hút thuốc lá còn ít. Tổng cộng có 3 nghiên cứu gồm 2 nghiên cứu điều trị không phẫu thuật và 1 nghiên cứu điều trị phẫu thuật (Bảng 4.27).

Giảm độ sâu túi PD và chảy máu khi thăm khám BOP ở nhóm laser nhiều hơn so với nhóm chứng ở đây là tương đồng với nghiên cứu của Aykol, 2011 [18]. Trên đối tượng hút thuốc lá, so sánh giữa 2 phương pháp điều trị không phẫu thuật có và không kết hợp laser kích thích sinh học, các tác giả này tìm thấy ở nhóm điều trị có kết hợp laser có sự cải thiện tốt hơn về độ sâu túi PD, chỉ số chảy máu khe nước SBI sau 6 tháng ($p < 0,001$), mất bám dính lâm sàng CAL sau 3 tháng ($p < 0,001$) so với nhóm điều trị không kết hợp laser. Theo các tác giả này laser với tác dụng kích thích sinh học tạo ra nhiều tác động tích cực trên hoạt động tế bào như kích thích tăng sinh, tăng di cư tế bào, giảm tiết cytokine tiền viêm có thể góp phần cải thiện các ảnh hưởng của khói thuốc gây tác động tiêu cực lên vi tuần hoàn, sản xuất collagen và tiết các yếu tố tăng trưởng.

Trong khi, Pamuk, 2017 [92] không tìm thấy lợi ích thêm vào nào về tất cả các chỉ số lâm sàng GI, PI, PD, BOP, CAL ở nhóm điều trị không phẫu thuật có kết hợp laser trên đối tượng bệnh nhân có hút thuốc lá so với nhóm chỉ điều trị không phẫu thuật.

Nghiên cứu điều trị phẫu thuật có kết hợp laser của Sanz-Moliner, 2011 [108] hiện là nghiên cứu duy nhất có mẫu bao gồm bệnh nhân hút thuốc lá. Kết quả không tìm thấy ảnh hưởng của hút thuốc lá lên đáp ứng phù nề mô, giảm đau ở 1 tuần sau phẫu thuật. Hạn chế của nghiên cứu được thừa nhận là do cỡ mẫu nhỏ.

Thay đổi tỉ lệ phần trăm các loại túi sau điều trị

Kết quả phân tích theo loại túi sau điều trị trên đối tượng nam có hút thuốc được ghi nhận ở Bảng 3.22. Ở cả 3 thời điểm sau điều trị, trên các túi có độ sâu ban đầu ≥ 5 mm, nhóm laser có kiểu túi ≥ 6 mm chiếm tỉ lệ ít hơn so với nhóm chứng. Dù vậy, khác biệt về tỉ lệ phần trăm loại túi sau điều trị này khi so sánh giữa hai phương pháp điều trị chỉ tìm thấy có ý nghĩa ở thời điểm T3 ($p < 0,05$).

Cả hai kết quả cải thiện tốt hơn độ sâu túi và tỉ lệ phần trăm loại túi ≥ 6 mm sau điều trị ở nhóm laser cũng là ngắn hạn. Tác dụng ngắn hạn có thể là lý do khuyến khích lặp lại điều trị laser. Nghiên cứu này cũng giống như nghiên cứu dùng laser kết hợp với điều trị phẫu thuật của Aena, 2015 [9] và Sanz-Moliner, 2013 [108] chỉ chiếu trong ngày phẫu thuật. Các tác dụng ngắn hạn khác sau điều trị phẫu thuật cũng đã được ghi nhận như giảm đau và phù nề mô [108] hay đáp ứng lành thương sớm ([59], [64]).

Ở các nghiên cứu lâm sàng, sự đa dạng về cách dùng laser không chỉ ở thông số mà còn ở số lần chiếu lặp lại. Cách chiếu lặp lại cho tác dụng kích thích sinh học đã được trình bày trong Bảng 1.3. Lập luận về ưu thế của cách chiếu lặp lại trong nhiều ngày cho tác dụng kích thích sinh học đã được nêu trong phần bàn luận về thông số. Việc chiếu lặp lại trong nhiều ngày cho tác dụng loại biểu mô mặt trong vách mềm của túi cũng tìm thấy ở vài nghiên cứu điều trị không phẫu thuật. De Micheli, 2011 [37] và Euzebio Alves, 2013 [41] lặp lại chiếu lần hai ở ngày 7, Dukic, 2013 [39] chiếu ba lần vào ngày 1, 3 và 7.

So sánh với bệnh nhân không hút thuốc lá

Dù việc ứng dụng laser trên đối tượng có hút thuốc lá tìm thấy có lợi ích nhưng so với người không hút đáp ứng vẫn là thấp hơn.

Kết quả so sánh độ sâu túi PD và mất bám dính lâm sàng CAL giữa 2 nhóm cũng cho thấy kết quả cải thiện ở nhóm hút thuốc lá là kém hơn so với nhóm không hút (Bảng 3.25).

Các kết quả đáp ứng kém hơn với điều trị của nhóm hút trong nghiên cứu của chúng tôi là tương đồng với một số bằng chứng so sánh kết quả điều trị phẫu thuật giữa hai đối tượng hút và không hút thuốc lá trong y văn.

Các tác giả Javed, 2012 [62] và Kotsakis, 2015 [68] cùng tìm thấy xu hướng chung ở các đối tượng có hút thuốc lá là cải thiện PD và CAL kém hơn đối tượng không hút thuốc lá. Xem xét trên đối tượng hút thuốc với thời gian hút trên 5 năm, Javed, 2012 [62] ghi nhận có 16 nghiên cứu chứng tỏ giảm PD và CAL ở nhóm hút thấp hơn so với nhóm không hút. Và 3 nghiên cứu chứng tỏ nhóm hút bị tụt nướu nhiều hơn sau phẫu thuật vạt. Mức độ hút ghi nhận ở các nghiên cứu dao động trong khoảng 10 -20 điếu trong ngày. Phân tích gộp của Kotsakis, 2015 [68] cũng ghi nhận ở nhóm hút mức cải thiện PD và CAL thấp hơn so với nhóm không hút. Ở nhóm hút: mức giảm PD là từ 0,76 đến 2,05 mm, mức giảm CAL là từ 0,09 đến 1,2 mm. Ở nhóm không hút: mức giảm PD là từ 1,27 đến 2,40 mm, mức giảm CAL là từ 0,29 đến 1,6 mm. Kết luận chung của các tác giả là nhóm hút thuốc lá chứng tỏ không có khả năng đạt mức giảm PD vượt quá 3 mm.

Ngoài đáp ứng kém hơn về các chỉ số lâm sàng như trên, nghiên cứu của Bunoos, 2015 [26] còn tìm thấy sau điều trị không phẫu thuật và cả sau phẫu thuật kết quả giảm vi khuẩn thuộc phức hợp đỏ chỉ tìm thấy ở nhóm không hút. Trong nghiên cứu của tác giả này hút được định nghĩa là 10 điếu/ngày trong ít nhất 5 năm và không hút là chưa bao giờ hút hoặc không còn hút trong ít nhất 5 năm. Khói thuốc lá ảnh hưởng đến tăng trưởng vi khuẩn gây bệnh nha chu qua tác động trực tiếp trên môi trường tăng trưởng hay gián tiếp qua đáp ứng bảo vệ của ký chủ. Ảnh hưởng này có thể từ nồng độ cao trong khi hút hay từ nồng độ thấp của các hoá chất lưu giữ trong mô, dịch nướu, dòng máu sau hút.

Trong mẫu nghiên cứu của chúng tôi, các bệnh nhân hút thuốc lá được ghi nhận là hút 5-10 điếu trong ngày trong vòng 10 năm và không hút là chưa bao giờ hút (Bảng 4.26). Mức độ hút này là nhẹ hơn so với các nghiên cứu khác tuy nhiên các bệnh nhân này phù hợp với tiêu chí các răng thuộc phần hàm nghiên cứu có chỉ số mảng bám PII ≤ 1 ở giai đoạn chuẩn bị trước phẫu thuật.

Trong điều trị có kết hợp laser, so sánh giữa đối tượng hút và không hút thuốc lá còn cho kết quả khác nhau. Hiện số lượng nghiên cứu hiệu quả điều trị có kết hợp laser có bước sóng thuộc ánh sáng hồng ngoại như laser diode 810nm trên đối tượng người hút thuốc lá còn ít (Bảng 4.27).

So sánh trên các đối tượng ở 2 phân nhóm không hút và có hút thuốc lá cùng được điều trị với laser, Aykol, 2011 [18] nhận thấy nhóm không hút giảm chỉ số chảy máu khe nướu SBI nhiều hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$).

Kết quả so sánh giữa hai nhóm hút và không hút thuốc lá cùng được điều trị có kết hợp laser của Pamuk, 2017 [92] chỉ tìm thấy tỉ lệ tPA/PAI trong dịch nướu giảm có ý nghĩa sớm hơn ở người có hút (ngày 7) so với người không hút (ngày 14). Kết quả này chứng tỏ việc dùng laser kết hợp với điều trị không phẫu thuật có thể có lợi cho giảm viêm và lành thương mô nha chu ở người hút thuốc lá.

Nghiên cứu điều trị phẫu thuật có kết hợp laser của Sanz-Moliner, 2011 [108] hiện là nghiên cứu duy nhất có mẫu bao gồm bệnh nhân hút thuốc lá. Kết quả không tìm thấy ảnh hưởng của hút thuốc lên đáp ứng phù nề mô, giảm đau ở 1 tuần sau phẫu thuật.

Việc điều trị cho đối tượng bệnh VNC có hút thuốc lá vẫn còn là thách thức cho nhà lâm sàng. Nhiều phương tiện hỗ trợ giúp tăng hiệu quả điều trị trong đó bao gồm cả giải pháp thay đổi hành vi và gần hơn là laser đã và vẫn đang được nghiên cứu. Nhìn chung, can thiệp "nhắm đích" đối với người hút thuốc lá tác động trên những cơ chế gây bất lợi cho đáp ứng lành thương. Giá trị của laser khi ứng dụng điều trị cho đối tượng bệnh này vẫn đang được tìm kiếm ở hai tác động (i) diệt vi khuẩn gây bệnh (ii) điều tiết đáp ứng của ký chủ (giảm hoạt động của các chất gây viêm phá huỷ và khuyến khích các hoạt động tái tạo và bảo vệ).

4.3 Ý NGHĨA ỨNG DỤNG CỦA ĐỀ TÀI

Đề tài được ứng dụng trong nghiên cứu, giảng dạy và điều trị lâm sàng.

Nghiên cứu *in vitro* trước tiên tạo nguồn tế bào NBS như người phục vụ cho các nghiên cứu cơ bản tương lai dùng đánh giá và giải thích cơ chế tác động của một tác nhân điều trị lên quá trình lành thương trong điều trị nha chu. Kết quả của nghiên cứu cung cấp thêm bằng chứng về tác động của các thông số tác dụng điều trị khác nhau lên một loại tế bào tham gia vào quá trình lành thương góp phần làm cơ sở cho chọn và lý giải thông số làm việc lâm sàng. Các tác động tích cực lên tăng sinh và di cư tế bào là cơ sở góp phần thiết lập thông số tiềm năng và lý giải kết quả laser mang lại lợi ích trong lành thương sau điều trị nha chu.

Nghiên cứu lâm sàng là nghiên cứu đầu tiên ứng dụng laser hỗ trợ điều trị Viêm nha chu bằng phương pháp phẫu thuật tại Việt Nam. Kết quả phân tích phân tầng theo độ sâu túi ban đầu và thói quen hút thuốc lá làm cơ sở cho đề xuất hay quyết định lâm sàng nên ứng dụng laser cho đối tượng nào.

4.4 HẠN CHẾ CỦA ĐỀ TÀI

Thử nghiệm *in vitro* trong nghiên cứu này là chỉ thử nghiệm trên một loại tế bào thuộc mô nha chu ở mô hình không có kích thích ngoài và chỉ đánh giá hai chức năng tăng sinh và di cư tế bào. mô hình tế bào đơn lớp ở đây có ưu điểm dễ thực hiện, không quá tốn kém, cho phép phân tích trực tiếp và riêng biệt đáp ứng của một loại tế bào. Tuy nhiên, mô hình này đã bỏ qua bản chất toàn diện của quá trình lành thương bao gồm các tác nhân cơ học và toàn thân, không có tác động của khung ngoại bào và các loại tế bào khác xung quanh.

Nghiên cứu lâm sàng chỉ đánh giá hiệu quả điều trị thông qua các chỉ số nha chu lâm sàng trong khi nhiều cơ chế tác động tích cực khác có thể dự phần vào sự lành thương sau điều trị với laser như diệt khuẩn, sự thay đổi của chỉ số sinh hoá theo chiều hướng giảm hoạt động phá hủy, tăng hoạt động bảo vệ và tái tạo.

KẾT LUẬN

1. Tác động của laser diode 810nm với các thông số chiếu khác nhau lên sự tăng sinh và sự di cư của nguyên bào sợi nướu người

Nghiên cứu *in vitro* thực hiện trên 3 mẫu nguyên bào sợi nướu phân lập và nuôi cấy từ mô nướu người lành mạnh. Laser tác động lên tế bào theo 4 nhóm thông số chiếu:

- Nhóm 1: công suất 0,8 W, chế độ chiếu liên tục, thời gian chiếu 20 giây, tác dụng loại bỏ mô viêm và biểu mô túi.

- Nhóm 2: công suất 1,5 W, chế độ chiếu xung, thời gian chiếu 5 giây, tác dụng khử nhiễm túi nha chu.

- Nhóm 3: công suất 0,1 W, chế độ chiếu liên tục, thời gian chiếu 15 giây, tác dụng kích thích sinh học.

- Nhóm chứng: không chiếu.

Thử nghiệm MTT đánh giá tăng sinh tế bào ở 5 thời điểm ngày 1, 3, 5, 7, 9 sau chiếu. Thử nghiệm lành thương *in vitro* đánh giá di cư ở 3 thời điểm trước chiếu, 24 và 48 giờ sau chiếu. Kết quả từ 2 thử nghiệm cho thấy các thông số có tác dụng điều trị khác nhau ảnh hưởng khác nhau lên sự tăng sinh và sự di cư nguyên bào sợi nướu người. Thông số loại bỏ mô viêm và biểu mô túi cho tăng sinh và di cư tế bào kém hơn so với các nhóm chiếu và nhóm chứng. Khác biệt giữa các nhóm về tăng sinh tế bào chỉ tìm thấy ở ngày 9. Thông số tác dụng khử nhiễm túi nha chu ít làm thay đổi tăng sinh và di cư tế bào so với nhóm chứng không chiếu. Thông số tác dụng kích thích sinh học cho tăng sinh và di cư tế bào mạnh nhất. Kết quả tác động tích cực lên tăng sinh và di cư tế bào này là cơ sở để chọn thông số tiềm năng và lý giải kết quả laser mang lại lợi ích trong lành thương sau điều trị nha chu.

2. So sánh hiệu quả lâm sàng giữa hai phương pháp điều trị phẫu thuật có và không kết hợp với laser sau 3, 6, và 9 tháng

So với trước điều trị, tất cả các chỉ số nha chu lâm sàng ở 2 nhóm phẫu thuật có và không kết hợp laser đều cải thiện rất có ý nghĩa và hiệu quả cải thiện kéo dài đến 9 tháng. Sau điều trị, nhóm phẫu thuật có kết hợp laser cho kết quả cải thiện tương đương với nhóm chỉ phẫu thuật về hầu hết các chỉ số lâm sàng như PII, GI, BOP, PD. Riêng với chỉ số mất bám dính lâm sàng CAL, nhóm chỉ phẫu thuật chứng tỏ cải thiện tốt hơn có ý nghĩa thống kê ở 6 tháng và 9 tháng.

Ở các túi có độ sâu ban đầu 5-6 mm, nhóm chỉ phẫu thuật cải thiện tốt hơn về độ sâu túi PD và mất bám dính lâm sàng CAL. Ở các túi có độ sâu ban đầu ≥ 7 mm, nhóm phẫu thuật có kết hợp laser cải thiện tốt hơn độ sâu túi PD, tỉ lệ phần trăm túi đóng sau điều trị.

Trên đối tượng bệnh nhân có hút thuốc lá, ngoại trừ chỉ số mảng bám PII, hầu hết các chỉ số lâm sàng sau điều trị ở hai nhóm có và không kết hợp với laser đều giảm rất có ý nghĩa thống kê. Nhóm phẫu thuật có kết hợp laser cho thấy giảm độ sâu túi PD nhiều hơn và tỉ lệ phần trăm túi tồn tại sâu thấp hơn.

Các kết quả thay đổi theo độ sâu túi ban đầu và theo thói quen hút thuốc này là cơ sở đề xuất với các nhà lâm sàng nên ứng dụng laser kết hợp với phẫu thuật vạt đối với các túi nha chu ≥ 7 mm và cho đối tượng bệnh có hút thuốc lá.

KIẾN NGHỊ

Cần thêm các nghiên cứu với mô hình in vitro có kích thích ngoài và đánh giá thêm các chức năng khác ngoài chức năng tăng sinh và di cư tế bào, đặc biệt là các chức năng điều tiết các cytokin tiền viêm để làm rõ vai trò điều tiết đáp ứng viêm của ký chủ của laser trong điều trị viêm nha chu.

Cần phát triển các mô hình in vivo cho đánh giá sự khác biệt về đặc điểm quang học và mức năng lượng laser thâm nhập vào mô để giải thích cơ chế tạo ra sự khác biệt trong đáp ứng với điều trị laser. Về phương diện lâm sàng, cải thiện mất bám dính lâm sàng là chuẩn vàng trong đánh giá hiệu quả của điều trị viêm nha chu do vậy mô hình in vivo cũng giúp tìm kiếm bằng chứng mô học về hiệu quả tạo bám dính mới của laser.

Các nghiên cứu ứng dụng lâm sàng trong tương lai cần tập trung cho đối tượng có túi nha chu $\geq 7\text{mm}$, có tiến trình lành thương bị ảnh hưởng chuyên biệt hơn như hút thuốc lá nặng, đái tháo đường với cỡ mẫu đủ lớn, thời gian theo dõi đủ dài, đánh giá thêm nhiều phương diện khác ngoài các thông số lâm sàng để có kết luận xác đáng và bằng chứng thuyết phục hơn về đối tượng được hưởng lợi từ điều trị có kết hợp laser và khả năng laser có thể trở thành phương tiện điều trị "nhắm đích".

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Trần Yến Nga, Nguyễn Thị Thu Hảo, Trần Lê Bảo Hà (2017). " Nuôi cấy và nhận diện nguyên bào sợi nướu người" *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, chuyên đề Răng Hàm Mặt, 21 (2), tr 18-24.
2. N.Y Tran, H.T.T Nguyen, H.B.L Tran , "Effect of 810nm diode-laser on human gingival fibroblast proliferation and migration" Poster presentation in 31st International Association for Dental Research, South-East Asia Division 2017. Abstract in Abstract Book of the conference, p. 264.
3. Trần Yến Nga (2020), "Hiệu quả lâm sàng của phẫu thuật vạt Widman biến đổi có kết hợp với laser trong điều trị túi nha chu". *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, chuyên đề Răng Hàm Mặt, 24 (2), tr 166-170.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

Tài liệu tiếng Việt

1. Lê Thái Thanh Hà và Nguyễn Thị Bích Lý (2015), "Ảnh hưởng của laser công suất thấp trên các chỉ số đau, sưng, khít hàm sau phẫu thuật nhổ răng khôn hàm dưới lệch", *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, chuyên đề RHM, Phụ bản Tập 24(2), tr 75-81.
2. Trần Lê Bảo Hà, Nguyễn Thị Thanh Giang, Tô Minh Quân, Phan Kim Ngọc (2009), "Thu nhận khuôn nền ngoại bào từ nguyên bào sợi *in vitro*", *Tạp chí phát triển Khoa học và Công nghệ Y học*, 12(9), tr 5-11.
3. Trịnh Đình Hải (2015), "*Ứng dụng kỹ thuật laser trong điều trị bệnh viêm quanh răng*", Báo cáo tổng hợp Kết quả khoa học công nghệ đề tài Nghiên cứu ứng dụng một số kỹ thuật tiên tiến trong chẩn đoán và điều trị một số bệnh Răng Hàm Mặt, Mã số KC. 10.05/11-15, Hà Nội.
4. Hoàng Tử Hùng, Huỳnh Kim Khang, Ngô Thị Quỳnh Lan, Hoàng Đạo Bảo Trâm (2001), " Cấu trúc mô học của nướu", *Mô Phôi Răng Miệng: Phôi học và Mô học Răng và Nha chu*, Nhà xuất bản Y Học TP.HCM, xuất bản lần thứ 1, tr 274-290.
5. Phạm Văn Khoa (2016), "Ảnh hưởng của laser diode bước sóng 980 nm lên sự hình thành vi kẽ sau trám bít ống tủy (nghiên cứu mô phỏng tiền lâm sàng)", *Y Học Việt Nam*, Tập 439(2), tr 1-4.
6. Vũ Công Lập, Trần Công Duyệt, Đỗ Kiên Cường (2008). '*Đại cương về laser y học và ngoại khoa*, Phần thứ nhất: Laser và thiết bị laser dùng trong y học". Nhà xuất bản Y học, Chi nhánh TP.Hồ Chí Minh, xuất bản lần thứ hai, tr 13-38.
7. Nguyễn Thị Hồng Ngọc, Nguyễn Thị Bích Lý (2017), "Hiệu quả giảm đau của laser công suất thấp đối với bệnh nhân điều trị chỉnh hình cố định ở giai đoạn đặt thun tách kẽ", *Y Học TP. Hồ Chí Minh*, Tập 21, Phụ bản của Số 4, tr 175-182.

8. Phan Kim Ngọc, Phạm Văn Phúc, Trương Đình (2010), Công nghệ Tế bào gốc, Nhà xuất bản Giáo dục, Thành phố Hồ Chí Minh.

Tài liệu tiếng Anh

9. AAP (2015). "American Academy of Periodontology Task Force Report on the Update to the 1999 Classification of Periodontal Diseases and Conditions", *J Periodontol*, May, pp. 835-838.
10. Aena PJ & cs (2015), The clinical efficacy of laser assisted modified Widman flap: A randomized split mouth clinical trial, *Indian J Dent Res* 26(4), pp. 384-389.
11. Alazani H, Park HJ, Chakir J (2018), Comparative study of the effect of cigarette smoke and electronic cigarette on human gingival fibroblast proliferation, migration and apoptosis, *Food and Chemical Toxicology* 118, pp. 390-398.
12. Almeida-Lopes L & cs (2001), Comparison of the low level laser therapy effects on cultured human gingival fibroblasts proliferation using different irradiance and same fluence, *Lasers Surg Med* 29, pp. 179–184.
13. Alves E & cs (2013), Clinical and microbiological evaluation of high density diode laser adjunct to non-surgical periodontal treatment: a 6 -months clinical trial. *Clin Oral Investig* 17, pp. 87-95.
14. Aoki A & cs (2004), Lasers in nonsurgical periodontal therapy, *Periodontol* 2000 36, pp. 59-97.
15. Aoki A & cs (2015), Periodontal and peri-implant wound healing following laser therapy, *Periodontol* 2000 68, pp. 217–269.
16. Assaf M & cs (2007). Effect of the diode laser on bacteremia associated with the dental ultrasonic scaling: A clinical and microbiological study. *Photomed Laser Surg* 25(4), pp. 250–256.
17. Aukhil (2000). Biology of wound healing. *Periodontology* 2000 22, pp. 44-50.

18. Aykol G & cs (2011), The effect of low-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment, *J Periodontol* Mar;82(3), pp.481-8.
19. Azevedo LH & cs (2006), Influence of different power densities of LILT on cultured human fibroblast growth: a pilot study. *Lasers Med Sci* 21, pp. 86–89.
20. Bartold PM & cs (2000), Molecular and cell biology of the gingiva, *Periodontol 2000* 24, pp. 28–55.
21. Basso FG & cs (2012), In vitro wound healing improvement by low-level laser therapy application in cultured gingival fibroblast, *Int J Dent*. Vol 2012, article ID 719452.
22. Basso FG & cs (2016), Proliferation, migration, and expression of oral-mucosal-healing-related genes by oral fibroblasts receiving low-level laser therapy after inflammatory cytokines challenge, *Lasers Surg Med* 48(10), pp. 1006-1014.
23. Birang R & cs (2015), Effects of nonsurgical treatment combined with diode laser or photodynamic therapy on chronic periodontitis: A randomized controlled split-mouth clinical trial, *Lasers Med Sci* Summer 6(3), pp. 112-119.
24. Bosshardt DD (2017), The periodontal pocket: pathogenesis, histopathology and consequences, *Periodontol 2000* 0, pp. 1-8.
25. Braga A & cs (1980). Ultrastructure of regenerating junctional epithelium in the monkey. *J Periodontol* 51, pp. 386-392.
26. Bunoos DF & cs (2015), Site-specific treatment outcome in smokers following non-surgical and surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 42, pp. 933-942.
27. Calderín S & cs (2013), Short-term clinical and osteoimmunological effects of scaling and root planing complemented by simple or repeated laser phototherapy in chronic periodontitis, *Lasers Med Sci* Jan 28(1), pp. 157-66.

28. Cappuyns I & cs (2012), Treatment of residual pockets with photodynamic therapy, diode laser, or deep scaling. A randomized, split-mouth controlled clinical trial, *Lasers Med Sci* 27, pp. 979-986.
29. Chambrone L & cs (2018), Infrared lasers for the treatment of moderate to severe periodontitis: An American Academy of Periodontology best evidence review. *J Periodontol* 89, pp. 743-765.
30. Chapple ILC & cs (2018), Periodontal health and gingival diseases and conditions on intact and reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the classification of periodontal and peri-implant diseases and conditions. *J Clin Periodontol* 45 Suppl 20, pp. 568-577.
31. Cobb CM & cs (2010), Lasers in the treatment of chronic periodontitis, *Dent Clin North Am* 54(1), pp. 35-53.
32. Convinsar RA & cs (2011), "Chapter 2: Laser Fundamentals", *Principle and Practice of Laser Dentistry*, Mosby Elsevier Copyright© 2011, pp. 12-26.
33. Convinsar RA & cs (2011), "Chapter 15: Low-level lasers in dentistry", *Principle and Practice of Laser Dentistry*, Mosby Elsevier Copyright© 2011, pp. 263-286.
34. Crespi R & cs (2011). Comparison of modified Widman and coronally advanced flap surgery combined with CO₂ laser root Irridation in periodontal therapy: A 15 year follow-up. *Int J Periodont Rest* 31(6), pp. 641-651.
35. Damante CA & cs (2009), Effect of laser phototherapy on the release of fibroblast growth factors by human gingival fibroblasts, *Lasers Med Sci* November 24(6), pp. 885-891.
36. Deas DE & cs (2016), Scaling and root planing vs conservative surgery in the treatment of chronic periodontitis. *Periodontol* 2000 71, pp. 128-139.

37. De Micheli & cs (2011), Efficacy of high intensity diode laser as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized controlled trial. *Lasers Med Sci* 26(1), pp. 43–48.
38. Dias F. B. S & cs (2014), Effect of GaAlAs low-level laser therapy on healing of human palate mucosa after connective tissue graft harvesting: randomized clinical trial. *Lasers Med Sci*. Published online: 06 November 2014.
39. Dukic W & cs (2013), Clinical effectiveness of diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a randomized clinical study, *J Periodontol* 84(8), pp. 1111–1117.
40. Eduador CP & cs (2010), Laser phototherapy in the treatment of periodontal disease. A review, *Lasers Med Sci* 25, pp. 781-792.
41. Euzebio Alves & cs (2013), Clinical and microbiological evaluation of high intensity diode laser adjunct to non-surgical periodontal treatment: a 6-month clinical trial. *Clin Oral Investig* 17, pp. 87–95.
42. Fontana CR & cs (2004). Microbial reduction in periodontal pockets under exposition of a medium power diode laser: An experimental study in rats. *Lasers Surg Med* 35, pp. 263–268.
43. Frozanfar A & cs (2013). The effects of low level laser therapy on the expression of collagen type I gene and human gingival fibroblast (Hgf3-Pi 53): in vitro study. *Iranian J Basic Med Sci* 16(10), pp. 1071-1074.
44. Geisinger ML, Geurs Nc, Ogdon D (2017), Targeting underlying biologic mechanisms in selecting adjunctive therapies to improve periodontal treatment in smokers. A comentary, *J Periodontol* DOI: 10.1902/jop.2017.170098.
45. Genco RJ, San M (2020), Clinical and public health implication of periodontal and systemic disease: An overview. *Periodontol 2000* 83(1), pp. 7-13.
46. Giannelli M & cs (2012)a, Combined photoablative and photodynamic diode laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a

- randomized split-mouth clinical trial, *J Clin Periodontol* 39, pp. 962–970.
47. Giannelli M & cs (2012)b, Comparative evaluation of the effects of different photoablative laser irradiation protocols on the gingiva of periodontopathic patients, *Photomed Laser Surg* 30, pp. 222–230.
 48. Giannelli M & cs (2013), A new thermographic and fluorescent method for tuning photoablative laser removal of the gingival epithelium in the patients with chronic periodontitis and hyperpigmentation. *Photomed Laser Surg* 31(5), pp. 212–218.
 49. Giannelli M & cs (2015), Combined photoablative and photodynamic diode laser therapy as an adjunct to scaling and root planing : a randomized split-mouth clinical trial with 4 year follow -up, *Photomed Laser Surg* 33(9), pp. 473–480.
 50. Giannopoulou C & cs (2012), Effect of Photodynamic Therapy, Diode Laser, and Deep Scaling on Cytokine and Acute-Phase Protein Levels in Gingival Crevicular Fluid of Residual Periodontal Pockets, *J Periodontol* 83(8), pp. 1018-1027.
 51. Gokhale SR & cs (2012), A comparative evaluation of the efficacy of diode laser as an adjunct to mechanical debridement versus conventional mechanical debridement in periodontal flap surgery: a clinical and microbiological study, *Photomed Laser Surg* 30, pp. 598–603.
 52. Graziani F & cs (2018), Surgical treatment of the residual periodontal pocket. *Periodontol 2000* 76(1), pp. 150-163.
 53. Guo S & cs (2010), Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res* 89(3), pp. 219-229.
 54. Hakkinen & cs (2014). Distinct phenotype and therapeutic potential of gingival fibroblast. *Cytotherapy* 0, pp. 1-16.

55. Hakki SS & cs (2012), Effect of different setting of diode laser on mRNA expression of growth factors and type collagen of human gingival fibroblast. *Lasers Med Sci* 27, pp. 325-331.
56. Happey P, Zezell DM, Bachmann L et al. (2006), "Interaction between high-power diode laser and dental root surface. Thermal, Morphological and biocompatibility analysis", *J Oral Laser Appl*, 6(2), pp.101-109.
57. Harris DM & cs (2004), Therapeutic ratio quantifies laser antisepsis: ablation of *Porphyromonas gingivalis* with dental laser, *Lasers Surg Med* 35, pp. 206-213.
58. Hararli OT, Hatipoglu M, Erin N (2019), "Effect of photobiomodulation on secretion of IL-6 and IL-8 by human gingival fibroblast *in vitro*". *Photobiomodulation, Photomed Laser Surg* 37(8), pp. 457-464.
59. Heidari M & cs (2018), Evaluating the effect of photobiomodulation with a 940nm diode laser on post-operative pain in periodontal flap surgery, *Lasers Med Sci* 33(8), pp. 1639-1645.
60. Ishikawa I & cs (2009), Application of lasers in periodontics: true innovation or myth?, *Periodontol 2000* 50, pp. 90-126.
61. Israel M & cs (1995), Use of the Carbon Dioxide laser in retarding epithelium migration: A pilot histological human study utilizing case reports, *J Periodontol* 66(3), pp. 197-204.
62. Javed F & cs (2012), Effect of cigarette smoking on the clinical outcomes of periodontal surgical procedures, *American J Med Sci* 343(1), pp. 78-84.
63. Jhonson JD & cs (2008), Persistence of extracrevicular bacterial reservoirs after treatment of aggressive periodontitis, *J Periodontol* 79, pp. 2305-2312.
64. Jonnalagadda BD & cs (2018), Effect of diode laser -assisted flap surgery on posoperative healing and clinical parameters: A randomized controlled clinical trial. *Contemp Clin Dent* 9, pp. 205-212.

65. Kachapilly AJ & cs (2016), Management of Chronic Periodontitis Using Chlorhexidine Chip and Diode Laser-A Clinical Study, *J Clin Diagn Res* Apr 10(4): ZC76-ZC80.
66. Knowles J & cs (1980), Comparison of results following three modalities of periodontal therapy related to tooth type and initial pocket depth, *J Clin Periodontol* 7, pp. 32-47.
67. Kolakovic M et al (2014), An estimate of pocket closure and avoided needs of surgery after Scaling and root planing with systemic antibiotics: a systematic review, *BMC Oral Health* 14: 159 <http://www.biomedcentral.com/1472-6831/14/159>.
68. Kotsakis GA & cs (2015), Impact of Cigarette Smoking on Clinical Outcomes of Periodontal Flap Surgical Procedures: A Systematic Review and Meta-Analysis, *J Periodontol* 86, pp. 254-263.
69. Kreisler M & cs (2001), Effect of diode laser irradiation on the survival rate of gingival fibroblast cell cultures, *Lasers Surg Med* 28, pp. 445-50.
70. Kreisler M & cs (2002), Low level 809nm diode laser induced in vitro stimulation of the proliferation of human gingival fibroblasts, *Lasers Surg Med* 30, pp. 365-369.
71. Kreisler M & cs (2005), Clinical Efficacy of Semiconductor Laser Application as an Adjunct to Conventional Scaling and Root Planing, *Lasers Surg Med* 37, pp. 350-355.
72. Kyarizis T & cs (2013), Immunological and microbiological findings after the application of two periodontal surgical techniques: a randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 40, pp. 1036-1042.
73. Lee Kun Tsung Denzel & cs (2018), The effect of low-level laser irradiation on hyperglycemia-induced inflammation in human gingival fibroblast. *Lasers Med Sci* DOI 10.1007/s10103-018-2675-6. Received: 29 May 2018 /Accepted: 25 October 2018.
74. Liang CC, Park AY, Guan JL (2007), "In vitro scratch assay: a convenient and

inexpensive method for analysis of cell migration in vitro", *Nature Protocol*, 2(2), pp. 329- 333.

75. Lindhe J, Lang NP, Karring T (2008), " Chapter 38: Periodontal Surgery: Access Therapy", *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, Blackwell Munkgaard, Fith Edition, pp. 783-882.
76. Lobo TM & cs (2015), Evaluation of the use of a 940nm diode laser as an adjunct in flap surgery for treatment of chronic periodontitis. *J Indian Soc Periodont* 19(1), pp. 43-48.
77. Loe H, Silness P (1963), Periodontal disease in pregnancy: Prevalence and severity, *Acta Odontol Scand* 21, pp. 533.
78. Loe H, Silness P (1964), Periodontal disease in pregnancy, *Acta Odontol Scand* 22, pp. 123.
79. Mailoa J & cs (2015), Long-term effect of four surgical periodontal therapies and one non -surgical therapy: A systematic review. *J Periodontol* 86, pp. 1150-1158.
80. Makhloup & cs (2012), Effect of adjunctive low level laser therapy (LLLT) on nonsurgical treatment of chronic periodontitis, *Photomed Laser Surg* 30(3), pp. 160-166.
81. Matulienet G & cs (2008), Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol* 35, pp. 685–695.
82. Micheli GD & cs (2011), Effect of Photodynamic Therapy, Diode Laser, and Deep Scaling on Cytokine and Acute-Phase Protein Levels in Gingival Crevicular Fluid of Residual Periodontal Pockets. *J Periodontol* 83(8), pp. 1018-1027.
83. Mills MP & cs (2018), American Academy of Periodontology best evidence consensus statement on the efficacy of laser therapy used alone or as an adjunct to non-surgical and surgical treatment of periodontitis and peri-implant diseases. *J Periodontol* 89, pp. 737-742.

84. Miremadi SR & cs (2015), A randomized controlled trial comparing surgical and non-surgical periodontal therapy: a 3-year clinical and cost-effectiveness analysis. *J Clin Periodontol* 42, pp. 748-755.
85. Mizutani K & cs (2016), Lasers in minimally invasive periodontal and peri-implant therapy, *Periodontol 2000* 71, pp. 185–212.
86. Neild- Gehrig (2013), "Part 3: Patient assesement", *Fundamentals of periodontal instrumentation and advanced root instrument*, 7th edition, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 217-270.
87. Nevins ML & cs (2012), Human clinical and histologic evaluation of laser - assisted new attachment procedure. *Int J Periodontic Rest* 32(5), pp. 496-507.
88. Newman MG, Takei HH, Klockevold PR, Carranza FA (2010), "Chapter 2: Antomy of the periodontium", *Clinical Periodontology*, Elsevier 11th edion, pp. 12-27.
89. Nguyen NT & cs (2015), Adjunctive non-surgical therapy of inflamed periodontal pockets during maintenance therapy utilizing diode laser: A randomized clinical trial. *J Periodontol* 86(10), pp. 1133-40.
90. Nomura K & cs (2001), Inhibition of interleukin-1B production and gene expression in human gingival fibroblasts by low-energy laser irradiation, *Lasers Med Sci* 16, pp. 218-233.
91. Ozturan S & cs (2011). Coronally advanced flap adjunct with low intensity laser therapy: a randomized controlled clinical pilot study. *J Clin Periodontol* 38, pp. 1055-1062.
92. Pamuk F & cs (2017), The effect of loew-level laser therapy as an adjunct to non-surgical periodontal treatment on gingival crevicular fluid levels of transforming growth factor-beta-1, tissue plasminogen activator and plasminogen activator inihition 1 in smomking and non- smoking chronic periodontitis patients: A split-mouth, randomized control study. *J*

Periodont Res: 1-11. wileyonlinelibrary.com/journal/jre Accepted: 4 February 2017 DOI: 10.1111/jre.12457.

93. Passanezi E & cs (2015), Laser in periodontal therapy, *Periodontol 2000*, 67, pp. 268-291.
94. Patricia & cs (2006), Interaction between high-power diode laser and dental root surface. Thermal, Morphological and biocompatibility analysis. *J Oral Laser Appl* 6(2), pp. 101-109.
95. Pjetursson BE & cs (2012), Peri-implantitis susceptibility as it relates to periodontal therapy and supportive care. *Clin Oral Impl Res* Jul; 23(7), pp. 888-94.
96. Peplow & cs (2011), Laser photobiomodulation of gene expression and release of growth factors and cytokines from cells in culture: A review of human and animal studies. *Photomed Laser Surg* 29(5), pp. 285-304.
97. Portous MS & cs (2014), Adjunctive Use of the Diode Laser in Non-Surgical Periodontal Therapy: Exploring the Controversy, *The Journal of Dental Hygiene*. 88(2), pp. 78-86.
98. Prazmo EJ & cs (2016), Photodynamic therapy as a promising methde used in the treatment of oral diseases. *Adv Clin Exp Med* 25(4), pp. 799-807.
99. Ramfjord SP và Nissle RR (1974), The modified Widman flap. *J Clin Periodontol* 45(8), pp. 601–607.
100. Ren C & cs (2016), Effect of diode low-level lasers on fibroblasts derived from human periodontal tissue: a systematic review of in vitro studies, *Lasers Med Sci* DOI 10.1007/s10103-016-2026-4. Received: 21 September 2015 /Accepted: 5 July 2016.
101. Rocanti M & cs (2014), Systematic review of the adjunctive use of diode and Nd:YAG lasers for nonsurgical periodontal instrumentation, *Photomed Laser Surg* 32, pp. 186–197.

102. Roncati M et al. (2016), Three years of a nonsurgical periodontal treatment protocol to observe clinical outcomes in ≥ 6 mm pockets: A retrospective case series. *Int J Periodont Rest*, 36(2), pp. 189-197.
103. Rossmann J & cs (1992), Rardiation of epithelial migration in monkeys using a carbon dioxide laser. *J Periodontol* 63, pp. 902-907.
104. Ryder MA et al (2018), Personalized periodontal treatment for the tobacco- and alcohol-using patient, *Periodontol 2000*, 78, pp.30–46.
105. Saglam & cs (2012). Clinical and biochemical effects of diode laser as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a randomized, controlled clinical trial. *Lasers Med Sci* 29, pp. 37–46.
106. Sakurai Y & cs (2000), Inhibition effect of low-level laser irradiation on LPS-stimulated prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 in human gingival fibroblasts, *Eur J Oral Sci* 108, pp. 29-34.
107. Sameera S & cs (2018), ENAP vs LANAP: assessment of revascularization using ultrasound Doppler flowmetry- a split-mouth randomized contrlled clinical trial. *Lasers Med Sci* Published online:01 Februyry 2018.
108. Sanz-Moliner JD & cs (2013), The effect of an 810nm Diode laser on postoperative pain and tissue response after modified Widman flap surgery: A pilot study in humans, *J Periodontol* 84(2), pp. 152-158.
109. Saygun I & cs (2008), Effects of laser irradiation on the release of basic fibroblast growth factor (bFGF), insulin like growth factor-1 (IGF-1), and receptor of IGF-1 (IGFBP3) from gingival fibroblasts, *Lasers Med Sci* Apr;23(2), pp. 211-5.
110. Serino G và cs (2001), Ininitial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 28, pp. 910-916.
111. Schwarz F & cs (2009), The impact of laser application on periodontal and peri-implant wound healing, *Periodontol 2000* 51, pp. 79-108

112. Sgolastra & cs (2013), Adjunctive photodynamic therapy to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 40, pp. 514-526.
113. Slot DE & cs (2014), The effect of the thermal diode laser (wavelength 808-980 nm) in non- surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 41, pp. 681–692
114. Smiley CJ & cs (2015), Systematic review and meta-analysis on the nonsurgical treatment of chronic periodontitis by means of scaling and root planing with or without adjuncts, *JADA* 146(7), pp. 508- 524.
115. Sobouti & cs (2015). The role of low-level laser in periodontal surgeries. *Lasers Med Sci* 6(2), pp. 45-50.
116. Song X & cs (2013). Antimicrobial action of Minocycline Microspheres versus 810nm Diode laser on human dental plaque microcosm biofilms. *J Periodontol* DOI:10.1902/jop.2013.130007.
117. Sreedevi M & cs (2012), Periodontal status in smokers and nonsmokers: A clinical, Microbiological and Histopathological study. *Int J Dent ID* 571590.
118. Sudhakar U, Satyanarayana, Thilagar S, Suresh S (2015), " Clinical efficacy of low-level laser therapy as an adjunct to nonsurgical treatment of chronic periodontitis, *J Dent Lasers* 1(9), pp. 31-37.
119. Sun G & Tuner J (2004). Low-level laser therapy in dentistry. *Dent Clin N Am* 48, pp. 1061-1076.
120. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K & cs (2009), Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontol 2000* 51, pp. 109-140.
121. Tang & cs (2016), Laser-activated transforming growth factor- β 1 induces human β -defensin 2: Implications for laser therapies for periodontitis and peri-implantitis. *J Periodont Res* doi:10.1111/jre.12399.

122. Tribble GD & cs (2010), Bacterial invasion of epithelial cells and spreading in periodontal tissue. *Periodontol 2000* 52, pp. 68-83.
123. Ustun K & cs (2014), Clinical and biochemical effects of 810 nm diode laser as an adjunct to periodontal therapy: a randomized split-mouth clinical trial, *Photomed Laser Surg* 32, pp. 61–66.
124. Vermehren MF, Wiesmann N, Deschner J (2020), Comparative analyse of impact of e-cigarette vapor and cigarette smoke on human gingival fibroblast, *Toxicology in Vitro* doi.org/10.1016/j.tiv.2020.105005.
125. Yu G & cs (2016). Gingival Fibroblasts as Autologous Feeders for Induced Pluripotent Stem Cells. *J Dent Res* 95(1), pp. 110 –118.
126. Zingagle J & cs (2012), Effectiveness of root planing with diode laser curettage for the treatment of periodontitis, *J Calif Dent Assoc* 40, pp. 786–793.
127. Yukna RA & cs (2007), Histologic evaluation of laser -assisted new attachment procedure in human. *Int J Periodont Rest* 27, pp. 577-587.
128. Zangrado MS et al. (2015), Long-Term Evaluation of Periodontal Parameters and Implant Outcomes in Periodontally Compromised Patients: A Systematic Review. *J Periodontol*, 86(2), pp. 201-221.
129. Weinreb M & Nemcovsky CE (2015). In vitro models for evaluation of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontol 2000* 68, pp. 41–54.

PHỤ LỤC 1
TRANG THÔNG TIN CHO NGƯỜI THAM GIA NGHIÊN CỨU

Tên nghiên cứu

“ Tác động của laser lên nguyên bào sợi nướu và ứng dụng lâm sàng”

Người thực hiện: Trần Yên Nga

Đơn vị: Bộ môn Nha Chu - Khoa Răng Hàm Mặt - Đại học Y Dược TP HCM

Điện thoại: 0909 687 385

Thư điện tử: yengna281@yahoo.com

Tên đơn vị chủ trì đề tài: Khoa Răng Hàm Mặt - Đại học Y Dược TP HCM

1. Những qui định cơ bản:

Trước khi quyết định về việc tham gia vào mẫu nghiên cứu, Ông/Bà cần đọc kỹ và thảo luận với Bác sĩ phụ trách về các nội dung liên quan. Việc tham gia nghiên cứu là hoàn toàn tự nguyện, có thể không tham gia hoặc rút khỏi nghiên cứu bất kỳ lúc nào, vì bất kỳ lý do gì. Điều này không ảnh hưởng đến sự chăm sóc y khoa, không bị phạt và cũng không mất bất kỳ lợi ích nào mà Ông/Bà có quyền được hưởng theo qui định.

2. Vấn đề nghiên cứu

Giới thiệu về nghiên cứu

Viêm nha chu là bệnh lý phổ biến gây mất răng ảnh hưởng đến khả năng ăn nhai thẩm mỹ. Các phương pháp điều trị truyền thống có hạn chế với những túi nha chu sâu ≥ 5 mm. Chẳng hạn điều trị không phẫu thuật không đủ kiểm soát sự tái phát và diễn tiến bệnh. Điều trị phẫu thuật gây lo sợ, đau và tụt nướu làm mất thẩm mỹ cho vùng răng trước. Ở các nước, laser được xem là phương tiện hỗ trợ cho điều trị nha chu. Dùng laser khi dùng kết hợp với điều trị không phẫu thuật trong điều trị viêm nha chu có thể giúp kéo dài thời gian tái phát bệnh và giảm nhu cầu điều trị phẫu thuật.

Đây là nghiên cứu được thực hiện tại Đại học Y Dược TP HCM. Sự tham gia của Ông/ Bà góp phần quan trọng vào việc giải thích tác động và đánh giá hiệu quả của laser trong điều trị bệnh viêm nha chu.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: đánh giá tác động và hiệu quả của laser trong điều trị bệnh viêm nha chu.

3. Lựa chọn đối tượng nghiên cứu

- 3 đối tượng có nhu cầu điều trị thẩm mỹ nướu
- 20 đối tượng có nhu cầu điều trị bệnh viêm nha chu.

4. Phương pháp tiến hành

Chọn đối tượng thoả tiêu chuẩn mẫu.

- Tiếp cận đối tượng và giải thích nghiên cứu.
- Tiến hành khám, điều trị nếu đối tượng đồng ý.
- Thu thập mẫu mô nướu đối với bệnh nhân đồng ý cho mô nướu. Thu thập các thông tin lâm sàng với bệnh nhân đồng ý tham gia điều trị.
- Đối tượng không trả thêm bất kỳ khoản chi phí nào.

5. Cơ sở khoa học của phương pháp:

Dựa trên y văn nghiên cứu của các tác giả nước ngoài.

6. Lợi ích khi ông/bà tham gia nghiên cứu này:

Ông/ Bà có lợi ích trực tiếp là được điều trị nha chu có laser hỗ trợ bằng để làm bệnh ít tái phát, ít đau và ít ảnh hưởng thẩm mỹ.

Khi tham gia nghiên cứu, Ông/ Bà đã đóng góp vào việc nghiên cứu đánh giá tác động và hiệu quả của laser trong điều trị nha chu.

Ông/ Bà sẽ không nhận thù lao khi tham gia nghiên cứu.

7. Các nguy cơ Ông/ Bà có thể gặp phải khi tham gia nghiên cứu:

Không có rủi ro về thể chất và tinh thần khi tham gia nghiên cứu..

8. Các quyền lợi của bệnh nhân khi tham gia mẫu nghiên cứu:

Quyền được thông tin: Ông/ Bà sẽ được cung cấp đầy đủ các thông tin có liên quan, được giải đáp rõ ràng những vấn đề Ông/Bà thắc mắc.

Quyền được phục vụ: khi tham gia vào nghiên cứu này, chúng tôi xem Ông/ Bà là đối tượng phục vụ, sẽ được chẩn đoán và điều trị tốt nhất có thể.

Quyền được bảo vệ: Ông/ Bà sẽ được bảo vệ trong suốt quá trình tham gia nghiên cứu, đặc biệt khi có những bất lợi hoặc nguy cơ do điều trị xảy ra.

Quyền được tôn trọng: các thông tin cá nhân của Ông/ Bà sẽ được bảo mật trong quá trình tham gia nghiên cứu, cũng như khi công bố kết quả, không ai nhận biết Ông/ Bà đã tham gia nghiên cứu, không ai được lợi dụng thông tin vì mục đích cá nhân, phi khoa học.

Quyền không tham gia: tham gia nghiên cứu này là tự nguyện, nếu không tham gia hoặc rút khỏi nghiên cứu là quyền của Ông/ Bà.

8. Nghĩa vụ của bệnh nhân khi tham gia mẫu nghiên cứu:

Ông/Bà phải tuân thủ mọi chỉ dẫn trong suốt quá trình tham gia nghiên cứu.

Ông/Bà phải cung cấp những thông tin cần thiết theo qui định.

Chúng tôi có quyền rút Ông/ Bà khỏi danh sách nghiên cứu bất kỳ lúc nào mà không cần sự đồng ý của Ông/ Bà, nếu Ông/ Bà không tuân thủ nghiêm ngặt các hướng dẫn về việc tham gia nghiên cứu.

Nhóm nghiên cứu được quyền sử dụng các thông tin và các dữ liệu thu thập được trước khi Ông/ Bà rút khỏi nghiên cứu cho những mục tiêu nghiên cứu đã mô tả.

Địa chỉ liên hệ khi cần thiết

Ông/ Bà muốn biết thêm thông tin hoặc có câu hỏi gì liên quan có thể liên lạc:

Nghiên cứu viên: Trần Yến Nga, số điện thoại 090. ... 385.

Hội đồng Đạo đức - Đại học Y Dược TP. HCM.

Địa chỉ 217 Hồng Bàng Quận %- TP. HCM. Điện thoại: 083.855841.

Phòng Sau Đại học - Đại học Y Dược TP. HCM.

Địa chỉ 217 Hồng Bàng Quận %- TP. HCM. Điện thoại: 083.8573461

Xin chân thành cảm ơn Ông/ Bà đã tham gia vào nghiên cứu của chúng tôi.

PHỤ LỤC 2. PHIẾU ĐỒNG Ý THAM GIA NGHIÊN CỨU

PHIẾU ĐỒNG Ý THAM GIA NGHIÊN CỨU

**Đề tài: TÁC ĐỘNG CỦA LASER LÊN NGUYÊN BÀO SỢI NƯỚC
VÀ ỨNG DỤNG LÂM SÀNG**

Người thực hiện: ThS. Trần Yến Nga

1. Tôi đã đọc các thông tin và được giải thích về nghiên cứu, các quyền lợi và nghĩa vụ, các thủ tục đăng ký tình nguyện tham gia vào mẫu nghiên cứu.
2. Tôi đã được giải đáp các thắc mắc trong nghiên cứu và tôi hài lòng với các câu trả lời và giải thích.
3. Tôi đã có thời gian cân nhắc trước khi tham gia vào mẫu nghiên cứu.
4. Tôi hiểu rằng việc tham gia của tôi là tự nguyện. Tôi có quyền rút khỏi nghiên cứu vào bất cứ thời điểm nào, vì bất cứ lý do gì.
5. Tôi đồng ý tham gia vào mẫu nghiên cứu này.

Tp Hồ Chí Minh, ngày.....tháng.....Năm.....

Người tham gia

PHỤ LỤC 3. PHIẾU THU THẬP DỮ LIỆU

PHIẾU KHÁM RĂNG

HỌ VÀ TÊN (Viết tắt tên):.....

Năm sinh:..... Tuổi : Giới tính: (1: Nam; 0: Nữ)

Địa chỉ (Tỉnh/ Thành phố):

Hút thuốc lá: (1: Có; 0: Không) Số điều/ngày: Số năm hút:

Số lần chải răng trong ngày: 1 lần ≥ 2 lần

Đã qua điều trị KPT (Tháng):

Sơ đồ răng:

17	16	15	14	13	12	11		21	22	23	24	25	26	27
47	46	45	44	43	42	41		31	32	33	34	35	36	37

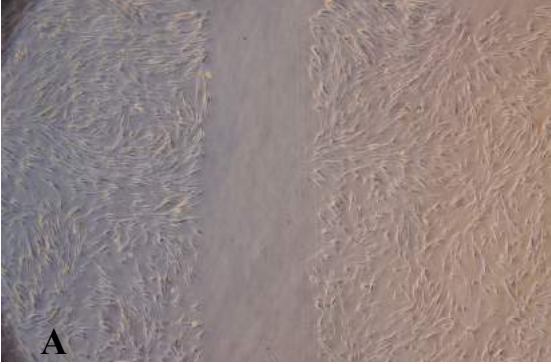

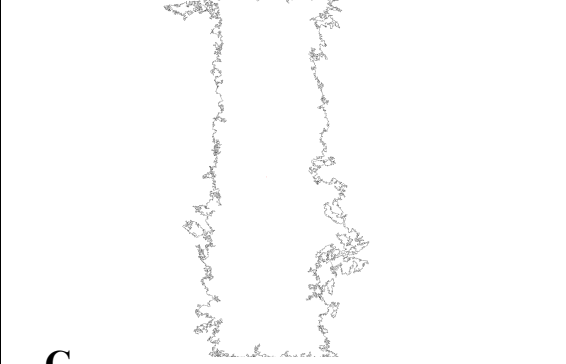
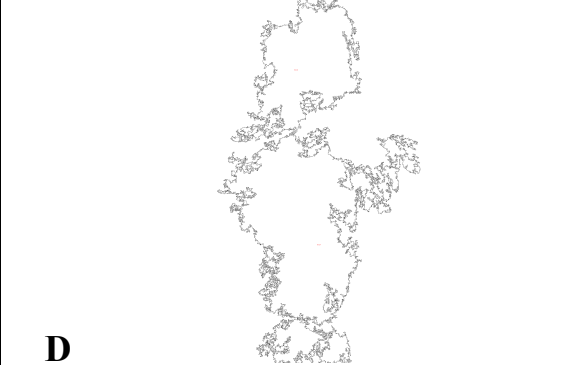
Số răng mất: Số răng khám:

Số răng điều trị:

Ngày điều trị:/...../20

PHỤ LỤC 4. QUI TRÌNH PHÂN TÍCH SỰ DI CƯ TẾ BÀO BẰNG PHẦN MỀM IMAGE J 1.50i

1. File > Open > JPEG
2. Image > Type > 16-bit
3. Process > Find Edges
4. Process > Sharpen
5. Image > Adjust > Threshold. Chọn Black/White; Kéo thanh bên trên về phía 0 (bên trái). Tuỳ chỉnh thanh bên dưới để thấy rõ vùng giới hạn của tế bào
6. Process > Find Edges
7. Image > Adjust > Lookup Tables > Invert LUT
8. Analyze Particles. Size: thường chọn từ 1000- 10000. Circularity: chọn từ 0.00- 1.00. Show: chọn Outlines. Flag: chọn Summarize.

					
					
A		B			
C		D			
E		F			
Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area	Mean
UGI_4997.JP	1	1814403	1814403	11.28	0
Slice	Count	Total Area	Average Size	%Area	Mean
UGI_5356.JP	2	1234869	617434.5	7.677	0

Chú thích: Hình vết thương *in vitro* và tế bào di cư vào vết thương ghi nhận bằng máy ảnh. Vùng vô bào tương ứng phân tích với phần mềm Image J 1.50i. Dữ liệu thu nhận là diện tích vùng vô bào (cột Total Area)

(Nguồn: nhóm chúng trong thí nghiệm đánh giá di cư tế bào của chính nghiên cứu *in vitro* này).

PHỤ LỤC 5. CÁC CHỈ SỐ NHA CHU LÂM SÀNG DÙNG TRONG NGHIÊN CỨU

- **Chỉ số mảng bám (PII)** đánh giá theo thang điểm của Loe và Silness (1967), dùng đánh giá mức độ mảng bám trên mặt răng.

Cách ghi nhận:



Điểm số 0



Điểm số 2



Điểm số 1



Điểm số 3

- **Chỉ số nướu (GI)** đánh giá theo thang điểm của Loe và Silness, (1963), dùng đánh giá mức độ viêm của nướu răng.

Cách ghi nhận:



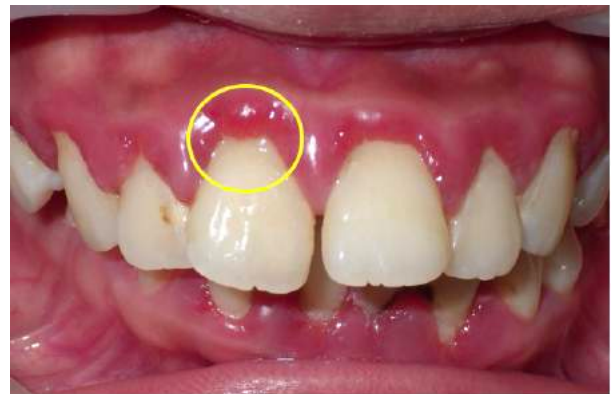
Điểm số 0



Điểm số 1

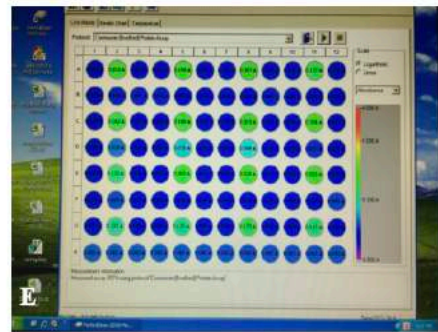
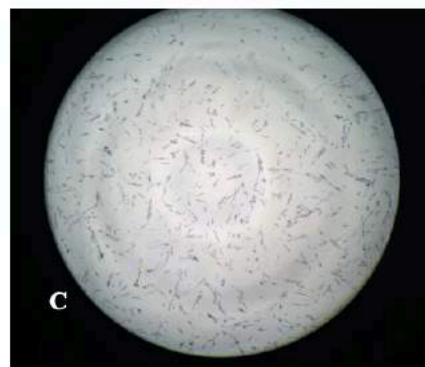
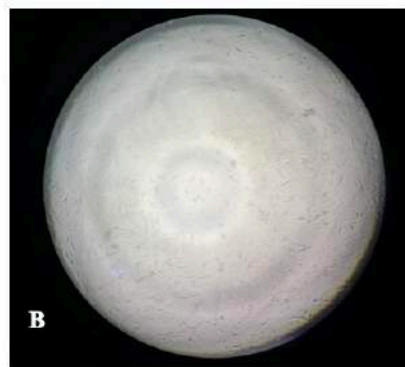
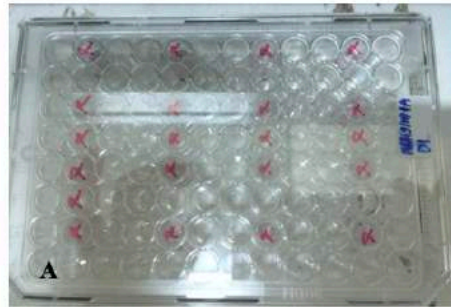


Điểm số 2



Điểm số 3

PHỤ LỤC 6. HÌNH TRONG THỬ NGHIỆM ĐÁNH GIÁ TĂNG SINH TẾ BÀO



Chú thích: (A) Đĩa 96 giếng và vị trí các nhóm thử nghiệm được đánh dấu. (B) Tế bào trong giếng trước ủ và (C) sau ủ MTT với sự hình thành tinh thể formazan màu tím (x40). (D) Máy đo mật độ quang. (E) Hình ảnh hiển thị kết quả đo mật độ quang trên màn hình máy tính.

**PHỤ LỤC 7. ĐỘ THỐNG NHẤT VÀ ĐỘ KIÊN ĐỊNH
TRONG ĐÁNH GIÁ CÁC CHỈ SỐ LÂM SÀNG NHA CHU**

1. Tập huấn khám nha chu

TS. BS Phạm Anh Vũ Thuy, cán bộ giảng Bộ môn Nha chu tập huấn khám và đo các chỉ số nha chu lâm sàng tại Khoa Răng Hàm Mặt ĐHY Dược TP. Hồ Chí Minh.

2. Độ thống nhất giữa Bác sĩ đánh giá với chuyên gia nha chu

$$\text{Tỷ lệ \% nhất trí} = \frac{\text{Số trường hợp nhất trí quan sát được}}{\text{Tổng số trường hợp khám}} \times 100\%$$

Bệnh nhân	Số răng khám	Số vị trí giống nhau giữa 2 lần khám				
		PII	GI	BOP	PD	CAL
1	25	86	93	95	92	92
2	26	85	86	146	145	140
3	27	86	86	144	157	155
4	26	90	88	139	136	134
5	26	91	92	140	128	125
Tổng cộng	130	438	445	664	658	646

Độ kiên định chỉ số PII = $438 \times 100\% / 130 \times 4 = 84,23 \%$

Độ kiên định chỉ số GI = $445 \times 100\% / 130 \times 4 = 85,57 \%$

Độ kiên định chỉ số BOP = $664 \times 100\% / 130 \times 6 = 85,12 \%$

Độ kiên định chỉ số PD = $658 \times 100\% / 130 \times 6 = 84,35 \%$

Độ kiên định chỉ số CAL = $633 \times 100\% / 130 \times 6 = 82,82 \%$

3. Độ kiên định của Bác sĩ đánh giá

$$\text{Tỷ lệ \% nhất trí} = \frac{\text{Số trường hợp nhất trí quan sát được}}{\text{Tổng số trường hợp khám}} \times 100\%$$

Bệnh nhân	Số răng khám	Số vị trí giống nhau giữa 2 lần khám				
		PII	GI	BOP	PD	CAL
1	28	92	93	150	158	155
2	26	82	85	146	120	116
3	27	84	86	162	124	117
4	26	85	84	144	126	122
5	28	91	94	158	127	123
Tổng cộng	135	434	744	750	655	633

Độ kiên định chỉ số PII = $434 \times 100\% / 135 \times 4 = 80,37\%$

Độ kiên định chỉ số GI = $442 \times 100\% / 135 \times 4 = 81,85\%$

Độ kiên định chỉ số BOP = $750 \times 100\% / 135 \times 6 = 92,5\%$

Độ kiên định chỉ số PD = $655 \times 100\% / 135 \times 6 = 80,8\%$

Độ kiên định chỉ số CAL = $633 \times 100\% / 135 \times 6 = 78,1\%$

PHỤ LỤC 8. CHẤP THUẬN CHO PHÉP CỦA HỘI ĐỒNG Y ĐỨC

BỘ Y TẾ
ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP HỒ CHÍ MINH

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM
Độc lập – Tự do – Hạnh phúc

HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NCYSH

Số: 205/ĐHYD-HĐ

V/v chấp thuận các vấn đề đạo đức NCYSH TP Hồ Chí Minh, ngày 08 tháng 7 năm 2016

CHẤP THUẬN (CHO PHÉP) CỦA HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP HỒ CHÍ MINH

Căn cứ quyết định số 1863/QĐ-BYT ngày 27 tháng 5 năm 2009 của Bộ Y tế về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh;

Căn cứ quyết định số 5129/QĐ-BYT ngày 19 tháng 12 năm 2002 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành Quy chế về tổ chức và hoạt động của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học;

Căn cứ Quyết định số 1238/QĐ-DHYD-TC ngày 18 tháng 5 năm 2016 của Hiệu trưởng Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh về việc thành lập Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học;

Trên cơ sở xem xét của thường trực Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Đại học Y Dược ngày 07/7/2016,

Nay Hội đồng đạo đức **chấp thuận (cho phép)** về các khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu đối với đề tài:

- Tên đề tài: *Tác động của laser công suất thấp lên nguyên bào sợi nước và ứng dụng lâm sàng.*
- Mã số: 16157 - ĐHYD
- Chủ nhiệm đề tài: *Trần Yến Nga - Nghiên cứu sinh*
- Đơn vị chủ trì: *Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh.*
- Địa điểm triển khai nghiên cứu: *Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh.*
- Thời gian tiến hành nghiên cứu: *từ tháng 4/2016 đến tháng 4/2017.*
- Phương thức xét duyệt: *Quy trình đầy đủ.*

Ngày chấp thuận (cho phép): Ngày 08/7/2016.

Lưu ý: HĐDD có thể kiểm tra ngẫu nhiên trong thời gian tiến hành nghiên cứu

TM. HỘI ĐỒNG
KT. Chủ tịch Hội đồng
Thường trực Hội đồng
TP. HỒ CHÍ MINH TRƯỞNG
PGS.TS. Đỗ Văn Dũng

PHỤ LỤC 9 . DANH SÁCH BỆNH NHÂN

Khoa Răng Hàm Mặt- ĐHYD TP. Hồ Chí Minh

Người yêu cầu xác nhận: NCS. Trần Yến Nga

DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	HO	TEN	MS HS	Ngày phẫu thuật
1	NGO TRUNG	Q	222216	11/5/2016
2	PHAN	T	538415	7/10/2016
3	ĐO THI	H	653916	18/1/2017
4	NG THI KIEU	T	29717	18/1/2017
5	THAI THI	O	213819	27/3/2018
6	LAM	V	154217	27/3/2017
7	VO CONG	D	251617	22/5/2017
8	PHAM NGOC	S	297616	23/5/2017
9	NGUYEN THANH	D	234612 CH	20/6/2017
10	NGUYEN THI VIET	K	231917	5/8/2017
11	TRAN TIEN	T	452517	16/8/2017
12	PHAM THI BICH	N	580717	30/10/17
13	NGUYEN VU	T	352117	2/10/2017
14	NGUYEN LOC	T	542917	17/10/2017
15	NHAN NGOC	V	11518	8/1/2018
16	VU BA	T	359418	1/8/2018
17	NGUYEN THUY	N	96318	20/5/2019
18	TRAN THI THU	H	362219	24/7/2019
19	HUYNH KE HAI	M	282418	5/7/2019
20	PHAN THANH	H	332419	9/8/2019

TP. HCM, Ngày 6 tháng 6 năm 2020

Trưởng Phòng Khám Chuyên khoa Răng Hàm Mặt



PGS. TS Ngô Thị Quỳnh Lan

