

## تعیین تاثیر ترکیب Silicone oil و پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان بر تغییرات ریزسختی و

### ساختار سطحی دندان شیری ناشی از مصرف قطره آهن

دکتر میترا طبری\*، دکتر همایون علاقه‌مند\*\*، دکتر محمود ربیعی\*\*\*، دکتر ثریا خفری\*\*\*\*، دکتر سید مسعود سید احدی\*\*\*\*\*، مهندس محمدرضا نیک‌پور\*\*\*\*\*

#### چکیده

**سابقه و هدف:** برای پیشگیری از کم خونی فقر آهن، قطره آهن خوراکی از جمله ترکیبات ضروری است که در کودکان ۲۴-۶ ماهه توصیه می‌شود. از اشکالات این قطره‌ها، خطر بالقوه اروژن و کاهش ریزسختی مینای دندان شیری به علت اسیدیتته بالای آن می‌باشد. به نظر می‌رسد ترکیب پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان و silicone oil با توجه به ویژگی‌های ساختاری اجزای آن، بتواند در تغییر ریزسختی و ساختار سطحی مینای دندان شیری موثر باشد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف اعمال ترکیب نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان و silicone oil پس از مواجهه با قطره آهن و تعیین تأثیر آن بر تغییرات ریزسختی و ساختار سطحی دندان شیری ناشی از مصرف قطره آهن صورت پذیرفت.

**مواد و روشها:** در این مطالعه آزمایشگاهی، ۳۰ دندان شیری قدامی جمع‌آوری و به صورت تصادفی به سه گروه تقسیم شدند. در گروه اول پس از ۵ دقیقه مواجهه با قطره آهن، ترکیب پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان و silicone oil به مدت ۱۰ دقیقه روی دندان اثر داده شد و در گروه دوم پس از تأثیر ترکیب پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان و silicone oil دندان‌ها تحت تأثیر قطره آهن قرار گرفتند. تغییرات ریزسختی در هر گروه با آزمون Wilcoxon one sample or Sign test و بین دو گروه با آزمون Mann Whitney U آنالیز شد. گروه سوم هم به منظور بررسی کیفی سطح نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی (SEM) مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** در گروه اول مواجهه با قطره آهن ریزسختی مینای دندان را در گروه اول تا ۴۴٪ میزان اولیه کاهش داد ( $P < 0/001$ ). استفاده از ترکیب مورد مطالعه بعد از مواجهه با قطره آهن به طور معناداری ریزسختی مینا را تا ۳٪ میزان اولیه افزایش داد ( $P = 0/006$ ). استفاده از ترکیب مورد مطالعه قبل از مواجهه با قطره آهن به طور معناداری ریزسختی مینا را تا ۲٪ میزان اولیه افزایش داد ( $P = 0/023$ ). بین دو روش از نظر آماری تفاوت معناداری گزارش نشد ( $P = 0/74$ ).

**نتیجه‌گیری:** مواجهه با قطره آهن ریزسختی مینای دندان را به شدت کاهش می‌دهد. استفاده از ترکیب Silicone oil و پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان در گروه اول ۳٪ و در گروه دوم ۲٪ در جلوگیری از کاهش ریزسختی مینای دندان شیری موثر می‌باشد. مقادیر تعیین شده در مقایسه با مقادیر مربوط به قطره آهن به تنهایی از نظر بالینی ارزشمند می‌باشند.

**کلید واژگان:** Silicone oil، نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان، اروژن دندان، ریزسختی، مینای دندان شیری، قطره آهن

تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۹۲/۳/۱۱

تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۹۲/۲/۲۴

اریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۳/۸

Please cite this article as follows:

Tabari M, Alaghemand H, Rabiee M, Khefri S, Seyyed Ahadi SM, Nikpour MR. Effect of silicon oil and nanohydroxy apatite/chitosan powder on microhardness and surface structure changes of primary teeth enamel after iron drop consumption. J Dent Sch 2013; 31(2): 65-74.

#### مقدمه

شدن وضعیت رشد و تکامل فیزیکی عصبی و هوشی در شیرخواران منجر شده، در درازمدت یکی از سرمایه گذاری‌های پرسود کشورها به شمار می‌رود (۲). قطره آهن

کم خونی فقر آهن شایعترین کم خونی دوران کودکی است که برای مقابله با آن قطره‌های آهن تجویز می‌شوند (۱). پیشگیری از بروز فقر آهن به افزایش ظرفیت یادگیری، بهتر

\*استادیار گروه دندانپزشکی کودکان، مرکز تحقیقات مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل

\*\*دانشیار گروه دندانپزشکی ترمیمی، مرکز تحقیقات مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل.

\*\*\*استادیار گروه مهندسی مواد، دانشکده مکانیک، دانشگاه صنعتی بابل.

\*\*\*\*استادیار گروه آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بابل.

\*\*\*\*\*نویسنده مسئول: استادیار گروه دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل.

گزارش شده است که کیتوزان توانایی بهبود و اصلاح سطح نانوهیدروکسی آپاتیت را نیز داراست (۲۹).

از آنجا که هیدروکسی آپاتیت زیست فعال خوبی است و کیتوزان نیز ویژگی‌های انعطاف‌پذیری خوبی دارد، مناسبی با هیدروکسی آپاتیت هم‌وزن می‌شود و استحکام و چسبندگی بیشتری را به هیدروکسی آپاتیت خالص می‌بخشد. بنابراین ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوزان، بعنوان یک ترکیب خوب شناخته شده است (۳۰ و ۳۱).

Silicon oil انرژئ سطحی بالای فضاهای بین کریستالی مینا را کم می‌کند که این امر عامل مهمی در انتقال یون‌ها به درون یا بیرون مینا خصوصاً در ضایعات پوسیدگی اولیه است، همچنین اگر روی مینای دندان قرار گیرد، میزان جذب پروتئینی و سرعت تشکیل پلیکل روی آن را کاهش می‌دهد (۳۲-۳۴). بنابراین مطالعه حاضر با هدف اعمال ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت/ کیتوزان و silicon oil پس از مواجهه با قطره آهن، همچنین تعیین تاثیر این ترکیب بر تغییرات ریزسختی و ساختار سطحی دندان شیری ناشی از مصرف قطره آهن صورت پذیرفت.

#### مواد و روشها:

در این مطالعه آزمایشگاهی، تعداد ۳۰ عدد دندان شیری قدیمی (A, B, C) فاقد پوسیدگی، ترک و هیپوکلسیفیکاسیون که به دلیل طرح درمان‌های ارتودنسی یا کمبود فضا یا لقی کشیده شده بودند و بیشتر از ۳ ماه از تاریخ کشیدن آنها نگذشته بود، به روش نمونه‌گیری آسان انتخاب شدند. دندان‌ها تا زمان انجام مطالعه در محلول سرم فیزیولوژی ۰/۹٪ (داروسازی شهید قاضی، تبریز) که به طور روزانه تعویض می‌شد در دمای اتاق، نگهداری شدند. در این مطالعه، هیچ ماده ضدعفونی‌کننده‌ای بر سطح آنها اثر داده نشد، زیرا مواد شیمیایی بر میکروهاردنس مینا تاثیر می‌گذارند. پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/ کیتوزان به روش هیبریداسیون در جا در محدوده ۲۰۰-۴۲ نانومتر در دانشکده فنی بابل و توسط مرکز پژوهش‌کننده نانو ساخته شد. بدین صورت که ابتدا ۴ گرم کیتوزان (Fluka، مونیخ، آلمان) در ۱۰۰ سی‌سی آب شامل اسید استیک ۲ درصد (Merk، دارمشتات، آلمان) مخلوط و برای ۲۴ ساعت با یک همزن برقی هم‌زده شد. سپس ۱۰۰ سی‌سی محلول ۲ مولار کلسیم نیترات چهارآبه (Merk، دارمشتات، آلمان) به آن

حاوی سیترات بوده، اسیدیته بالایی دارد (۳). اسیدیته بالا می‌تواند سبب اروژن، کاهش استحکام مینای دندان و تسریع روند پوسیدگی شود (۴). هنگامی که محتوای اسیدی یک دوز دارو در نظر گرفته می‌شود ممکن است مقدار اسید ناچیز بنظر برسد، اما مصرف دارو طی هفته‌ها و ماه‌ها تهدیدی برای سلامت دندان محسوب می‌گردد (۵). در زمینه جلوگیری از اثرات نامطلوب اروزیو قطره آهن بر مینای دندان شیری تا به امروز مطالعات محدودی صورت گرفته‌اند.

مینای دندان شیری نسبت به دندان دائمی ضخامت کمتری دارد و چقرمگی شکست آن نسبت به دندان دائمی کمتر است، در نتیجه نرم‌تر بوده، نسبت به شکستگی مستعدتر می‌باشد. در مینای شیری محتوای مواد الی بالاتر است. ریزسختی دندان شیری کمتر از دندان دائمی بوده، ساختار منشوری معمول در خارجی‌ترین لایه مینای شیری وجود ندارد (۶).

ذرات نانوهیدروکسی آپاتیت با دارا بودن بیشترین شباهت از نظر خواص فیزیوشیمیایی، مکانیکی و بیولوژیکی به مینای دندان، می‌توانند نواحی دکلسیفیه را رمینرالیزه کرده، مینای معیوب را ترمیم نمایند (۷). ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت به دلیل اثرات منحصر به فرد رمینرالیزه‌کننده‌شان در سال‌های اخیر به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. ثابت شده که این مواد، مینا را در برابر از دست رفتن مواد معدنی مقاوم ساخته، مینای از دست رفته را دوباره بازسازی می‌نمایند (۸-۱۱).

نانوهیدروکسی آپاتیت دارای خاصیت هیدروفیلی بوده، ناحیه سطحی بزرگتری دارد، از این رو این کریستال‌ها خاصیت مرطوب‌کنندگی سطحی داشته، هنگامی که بر روی سطح دندانی استفاده می‌شوند، لایه‌ای نازک اما قوی روی سطح مینا تولید می‌کنند که با تاج دندانی باند می‌گردد (۱۲).

کیتوزان، بیوپلیمری مشتق از پوست سخت پوستان است که خواص ضد میکروبی، ضد پلاک، تحریک‌کننده ترشح بزاق، همچنین اثرات رمینرالیزه‌کننده بر مینا دارد (۱۳). برای کیتوزان کاربردهای پزشکی بسیاری از جمله ترمیم زخم (۱۴)، سیستم‌های رهایش و انتقال دارو (۱۷-۱۵)، پوشش‌های زیست فعال (۱۸) و پوشش ایمپلنت‌ها (۱۹)، مهندسی بافت برای استخوان (۲۰ و ۲۱)، ترمیم رگ‌های خونی (۲۲) و ترمیم عصب (۲۳ و ۲۴) پیشنهاد شده‌اند. کیتوزان خواص باکتریواستاتیک و باکتروسید دارد (۲۵ و ۲۶)، غیرسمی است و قابلیت تجزیه‌پذیری زیستی دارد (۲۷ و ۲۸).

سیستم در محدوده ۱۱-۱۲ ثابت نگه داشته شود. بعد از آن یک شبانه روز فرصت داده شد تا محلول نهایی خوب بهم زده شود تا سوسپانسیونی یکنواخت حاصل گردد. در انتها محصول بدست آمده بوسیله سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ صاف شده، با فریز درایر در دمای منفی ۵۰ درجه سانتیگراد به پوردی سفید رنگ تبدیل شد. از قطره آهن فروس سولفات (خوارزمی، ساخت ایران) با مشخصات زیر استفاده شد.

اضافه گردید (برای کنترل رشد ذرات نیز از پلی اتیلن گلیکول (Merk، دارمشتات، آلمان) استفاده شد (محلول A). پس از ۴ ساعت هم‌زدن با دور زیاد، ۱۰۰ سی سی محلول ۲ مولار دی آمونیوم هیدروژن فسفات (Merk، دارمشتات، آلمان) به همراه ۱ گرم سنیل‌تری متیل بروماید (Merk، دارمشتات، آلمان) قطره قطره به محلول A در حال چرخیدن اضافه و هم‌زمان تیتیر کردن نیز با استفاده از سدیم هیدروکسید (Merk، دارمشتات، آلمان) انجام گرفت تا PH

جدول ۱- مشخصات قطره آهن مورد استفاده

نام قطره آهن	کشور سازنده	pH	TA to pH 7	PO4 mmol/l	Ca mmol/l	Floride Ppm	شیرین کننده	میزان ماده موثر در (میلی گرم دارو)	Citrate ppm
فروس سولفات هفت آبه ۱۲۵ میلی‌گرم	ایران	۲/۱	۲/۳۷	۱۱۹/۸۷	۰/۳۷۵	۰/۰۱	ساخارین	۲۵ میلی‌گرم یون آهن	۱۰۲

برابر حجمی بزاق مصنوعی به آن اضافه و محلول به اندازه‌ای آماده شد که نمونه‌ها بتوانند داخل آن غوطه‌ور بمانند. مخلوط پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/کیتوزان (ساخت دانشکده فنی بابل- ایران) با حامل روغنی سیلیکون به نحوی که به صورت قابل کاربرد و چسبنده روی سطح دندان باشد، به طور تجربی (نسبت ۱ به ۳ پودر به مایع) آماده شد. هر ۳۰ دندان به مدت ۱ ساعت قبل از شروع آزمایش به منظور شبیه‌سازی محیط دهان داخل بزاق مصنوعی (Kin laboratories، بارسلون، اسپانیا) در shaker انکوباتور دار (Heidolph Unimax 1010, Germany) در دمای ۳۷ درجه قرار گرفتند و آزمون سختی‌سنجی ویکرز از آنها گرفته شد. برای محاسبه ریزسختی نمونه‌ها به روش ویکرز، از دستگاه سختی‌سنج کویا مدل MH1 (ساخت شرکت کویا پژوهش، ساری، ایران) استفاده شد. نیرو توسط دستگاه به صورت اتوماتیک و با دقت یک گرم وارد شد. محل سختی‌سنجی تعیین شده، سپس با چرخش هد میکروسکوپ و قرار دادن سیستم اعمال نیرو بر روی قطعه کار، نیروی لازم متناسب با روش انتخاب شده روی دستگاه، به صورت اتوماتیک و با فیدبک با دقت یک گرم از طریق Indenter به نقطه مورد نظر وارد می‌گردید. در مطالعه حاضر، برای محاسبه ریزسختی نمونه‌ها از نیروی ۵۰ گرم به مدت ۱۰ ثانیه استفاده شد. پس از اعمال نیرو با چرخش هد میکروسکوپ، قطر اثر خوانده، به دستگاه کنترل وارد می‌شد تا سختی محاسبه گردد. برای هر آزمون علاوه

بر روی سطح باکال دندان‌ها پنجره‌ای به ابعاد ۴×۴ میلی‌متر با برچسب کاغذی گذاشته و اطراف آن با لاک ناخن بی رنگ پوشانده شد. سپس برچسب برداشته و اضافات چسب با آب مقطر شسته شد. این عمل بدین منظور صورت گرفت که سطحی از دندان‌ها که تحت اثر مواد قرار خواهد گرفت، مساوی باشد. به منظور افزایش چسبندگی ماده ادهزیو، سطح لام توسط دستگاه سندبلاست، خش‌دار شد. سپس دندان‌ها بوسیله ماده ادهزیو روی لام میکروسکوپ چسبانده شدند. مانع کردن دندان‌ها به منظور ثابت کردن آنها جهت مراحل پالیش و مشاهده زیر میکروسکوپ صورت گرفت. برای اعمال اثر قطره آهن، ناحیه اپکس دندان‌ها بوسیله موم چسب پوشانده شد. از آنجا که مینای دست نخورده سطحی میزان فلوراید بالاتری دارد و نسبت به لایه‌های زیرین خود به اسید مقاوم‌تر است (۳۵) سعی شد که حداقل پالیش سطوح لبیال با silicon carbide papers شماره ۶۰۰۰ زیر آب جاری انجام شود. در مطالعه حاضر حداقل پالیش بر روی سطوح مینایی انجام گرفت. چرا که هدف مطالعه حاضر حفظ سطحیترین لایه خارجی مینا و مشابهت شرایط با محیط دهان بود. این سطح تنها تا حدی صاف شد که امکان ایجاد indentation به صورت سیمتریک وجود داشته باشد. جهت مشابه‌سازی با شرایط استفاده از قطره آهن، دمای قطره آهن مورد استفاده در آزمایش در زمان بررسی ۹ درجه سانتی‌گراد (حدود دمای یخچال) در نظر گرفته شد. جهت رقیق‌سازی قطره آهن، ۱/۵

آنها در محدوده ۲۳۹ تا ۴۷۸ (hardness Vickers) HV بود، جهت کار انتخاب شدند. دندان‌هایی که از مطالعه خارج شده بودند با دندان‌هایی در همین محدوده سختی جایگزین شدند. ۲۰ دندان از این ۳۰ دندان به صورت تصادفی انتخاب و به صورت تصادفی به دو گروه ۱ و ۲ تقسیم شدند.

بر سختی، قطر اثر و عمق نفوذ نیز اعلام می‌گردید. ریزسختی بر اساس اندازه‌های ۳ نقطه Indentation دستگاه در سطح صاف مورد بررسی برای هر نمونه محاسبه و میانگین سه عدد حاصل به عنوان ریزسختی هر نمونه بر حسب VHN گزارش گردید. دندان‌هایی که سختی

### دیاگرام ۱- گروه بندی و دو روش مورد بررسی



(Tec, Swiss) با لایه‌ای بسیار نازک از طلا پوشانده شدند و توسط (SEMKYKY- EM3200-2011, Beijing, China) مورد مطالعه قرار گرفتند.

جهت آنالیز آماری داده‌ها از نرم افزار آماری SPSS version 15 استفاده شد. تغییرات ریز سختی در هر گروه با آزمون Wilcoxon one sample or Sign و بین دو گروه با آزمون Mann Whitney U مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقادیر p.value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

### یافته‌ها:

در روش اول پس از ۵ دقیقه مواجهه با قطره آهن، ترکیب پودر نانوهیدروکسی آپاتیت/ کیتوزان و silicone oil به مدت ۱۰ دقیقه روی دندان اثر داده شد و در روش دوم پس از تأثیر ترکیب پودر نانوهیدروکسی آپاتیت/ کیتوزان و silicone oil دندان‌ها تحت تاثیر قطره آهن قرار گرفتند.

### روش اول:

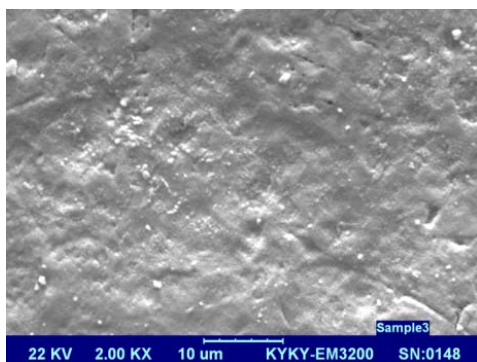
مواجهه با قطره آهن خوارزمی ریزسختی مینای دندان شیری را تا ۴۴٪ میزان اولیه کاهش داد. میانگین ریزسختی از ۳۵۱±۵۵/۹۴ به ۶۴/۱۶±۱۹۵ کاهش پیدا کرد. میزان تغییر ۲۲/۸۹ ± ۱۵۵/۲۹ بود که از نظر آماری معنادار بود ( $P < ۰/۰۰۱$ ).

استفاده از ترکیب مورد مطالعه بعد از مواجهه با قطره آهن، سختی مینا را تا ۳٪ میزان اولیه افزایش داد. میانگین

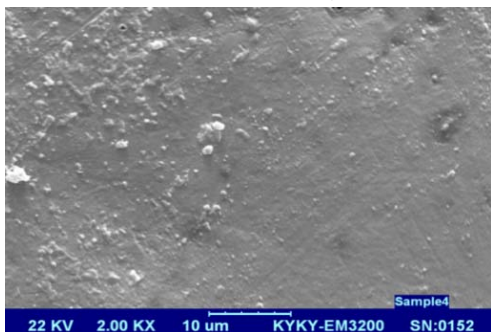
در گروه ۱ ابتدا دندان‌ها به مدت ۵ دقیقه داخل قطره آهن در shaker انکوباتوردار (Heidolph Unimax 1010, Schwabach, Germany) غوطه‌ور شده، سپس با آب مقطر شسته و بلافاصله سختی‌سنجی شدند. سپس ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوزان و silicone oil به مدت ۱۰ دقیقه توسط اپلیکاتور روی دندان اعمال و دوباره سختی‌سنجی شدند.

در گروه ۲ ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوزان و silicone oil توسط اپلیکاتور به مدت ۱۰ دقیقه روی دندان‌ها اعمال شد. پس از آن دندان‌ها سختی‌سنجی شدند. سپس دندان‌ها به مدت ۵ دقیقه در قطره آهن قرار گرفته، دوباره سختی‌سنجی شدند. میکروهاردنس دندان‌ها توسط فردی که از تقسیم‌بندی آگاه نبود، اندازه‌گیری شد.

تعداد ۱۰ دندان باقیمانده به منظور بررسی کیفی سطوح مینا در مراحل مختلف استفاده شدند. دو دندان دست نخورده، ۲ دندان پس از اعمال قطره آهن، ۲ دندان پس از اعمال ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوزان و silicone oil و سپس قطره آهن و ۲ دندان پس از اعمال قطره آهن و سپس ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوزان و silicone oil به همان روش توضیح داده شده، آماده و برای بررسی زیر میکروسکوپ الکترونی به لابراتوار ارسال شدند. بدین علت دو نمونه از هر گروه در نظر گرفته شد که در صورت عدم موفقیت در تهیه تصویر میکروسکوپ الکترونی، نمونه دیگر جایگزین شود. در لابراتوار، دندان‌ها ابتدا vacuum و دهیدراته شدند. سپس توسط دستگاه لایه نشان طلا (Bal-



شکل ۲- نمای میکروسکوپ الکترونی مینا پس از اعمال ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت/کیتوزان و silicon oil پس از مواجهه با قطره آهن که نواحی خلل و فرج توسط ترکیب مورد مطالعه پوشانده شده است.



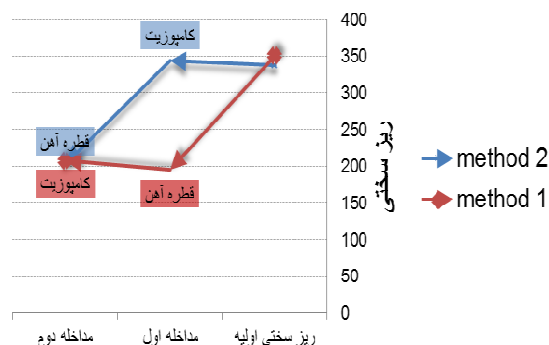
شکل ۳: نمای میکروسکوپ الکترونی مینا پس از اعمال ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت/کیتوزان و silicon oil و سپس قطره آهن، ترکیب مورد مطالعه مانع از اثرات تخریبی قطره آهن شده است.

#### بحث:

مواجهه با قطره آهن ریزسختی مینای دندان را به شدت کاهش می‌دهد. استفاده از ترکیب Silicon oil و پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/ کیتوزان در گروه اول ۳٪ و در گروه دوم ۲٪ در جلوگیری از کاهش ریزسختی مینای دندان شیری موثر بود. مقادیر تعیین شده در مقایسه با مقادیر مربوط به قطره آهن به تنهایی از نظر بالینی ارزشمند می‌باشد.

در مورد اثرات بالقوه قطره آهن بر مینای دندان شیری مطالعات محدودی صورت گرفته‌اند (۳۸-۳۶). مطالعه‌ای که در طرح مساله، به آن استناد شد، مطالعه James و Parfitt (۱۹۵۳) بود که اثرات بالقوه اروزو قطره آهن (ایرانی و خارجی) را ثابت کردند. آنها نشان دادند که پتانسیل اروزو

ریزسختی از  $195 \pm 64/16$  به  $61/07 \pm 207$  افزایش یافت. میزان تغییر  $10/22 \pm 11/50$  بود. این تغییر از نظر آماری معنادار بود ( $P=0/006$ ).



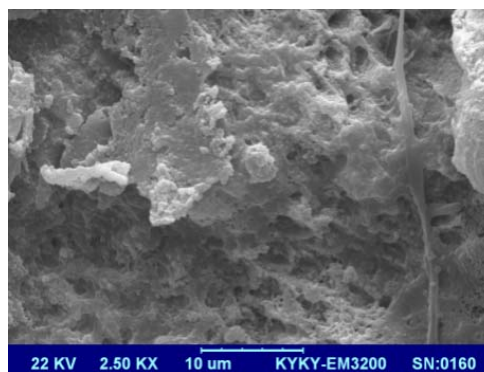
نمودار ۱- مقایسه تغییرات ریزسختی مینای دندان شیری بین دو روش

#### روش دوم:

استفاده از ترکیب مورد مطالعه قبل از مواجهه با قطره آهن ریزسختی مینا را تا ۲٪ میزان اولیه افزایش داد. میانگین ریزسختی از  $337 \pm 60/68$  به  $344 \pm 57/27$  افزایش پیدا کرد که میزان افزایش  $6/80 \pm 7/88$  و از نظر آماری معنادار بود ( $P=0/023$ ). مواجهه با قطره آهن خوارزمی پس از اعمال ترکیب مورد مطالعه ریزسختی مینای دندان شیری را تا ۴۰٪ میزان اولیه کاهش داد. میانگین ریزسختی از  $344 \pm 57/27$  به  $202 \pm 55/81$  کاهش پیدا کرد. میزان تغییر  $12/86 \pm 141/50$  بود که از نظر آماری معنادار بود ( $P<0/001$ ).

#### مقایسه روش اول و دوم:

اختلاف بین تأثیر روش اول و دوم روی ریزسختی مینای دندان شیری معنادار نبود ( $P=0/74$ ).



شکل ۱- نمای میکروسکوپ الکترونی سطح مینا نشان دهنده ایجاد خلل و فرج در مینا در اثر حل شدن منشورهای مینایی پس از اعمال قطره آهن

قطره آهن خوارزمی از قطره آهن خارجی ironorm بیشتر است (۳).

در مطالعه حاضر اثرات منفی اثر قطره آهن بر مینای دندان شیری به صورت کاهش معنادار ریزسختی مشاهده شد. میزان کاهش ریزسختی در مورد قطره آهن در مطالعه حاضر مشابه مطالعه James و Parfitt (۱۹۵۳) بود که به نظر می‌رسد به دلیل مشابه بودن مدت زمان مواجهه دندان‌ها با قطره آهن باشد که در هر دو مطالعه ۵ دقیقه در نظر گرفته شده بود (۳).

pH قطره مورد استفاده در این مطالعه ۲/۱ بود که زیر حد pH بحرانی مینا می‌باشد. همانطور که در تصاویر میکروسکوپ الکترونی نیز مشاهده می‌شود، تخریب وسیع ساختار منشورهای مینایی که در اثر مواجهه با قطره آهن صورت گرفته از ماهیت اروزیو اسید موجود در آن حکایت دارد. البته زمان مواجهه با قطره آهن و نحوه مواجهه با آن نیاز به مطالعات بیشتری دارد و به منظور بازسازی شرایط دهان کودک می‌توان به صورت متناوب با مدت زمان کمتر و در دوره زمانی طولانی‌تری دندان را با قطره آهن مواجه نمود. این مطالعه قطره آهن با بزاق مصنوعی رقیق شد تا به شرایط واقعی نزدیک‌تر باشد. البته توانایی ایجاد اروژن توسط نوشیدنی‌های اسیدی تنها وابسته به میزان pH آنها نیست، بلکه به میزان زیادی تحت تأثیر محتوای معدنی، قابلیت بافرینگ و خصوصیات برداشت کلسیم آنها نیز می‌باشد (۳۹). Lussi و Jaeggi در سال ۲۰۰۶ مطرح نمودند که ماست با  $pH=1/4$  به علت محتوای معدنی زیاد کلسیم و فسفات هیچ ظرفیت اروزیوی ندارد (۴۰). طبق بررسی‌های انجام شده قطره آهن خوارزمی میزان کلسیم و فسفات بسیار پایینی دارد و این در حالی است که pH آن نیز بسیار پایین است و این امر نشان‌دهنده آن است که قدرت تخریبی بالایی دارد.

نحوه باقی ماندن مایعات اسیدی در دهان نیز در کاهش pH و افزایش دمنیرالیزاسیون دخالت دارند و هر چه مایع سریع‌تر از دهان پاک شود اثر تخریبی کمتری دارد (۴۱).

طبق مطالعات گذشته ثابت شده است که اندازه کریستال‌های کلسیم فسفات نقش مهمی در شکل‌گیری بافت سخت دارد و تأثیر معناداری بر ویژگی‌های ذاتی نظیر حلالیت و biocompatibility آن می‌گذارد (۴۲ و ۴۳) و ذرات-Well sized نانو هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با کریستال‌های متداول هیدروکسی آپاتیت که صدها نانومتر طول دارند

پتانسیل بیشتری برای رمینرالیزه کردن ضایعات اروزیو اولیه مینا دارند (۱۰). اندازه کریستال‌های نانو هیدروکسی آپاتیت در مطالعه حاضر در حد ۲۰۰-۴۲ نانومتر بود (۴۴). تفاوت در سطح pH محیط منجر به بروز ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی متفاوتی در ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت می‌گردد (۴۵). بر اساس مطالعات، اثرات رمینرالیزه‌کننده نانو هیدروکسی آپاتیت هنگامی که pH کمتر از ۷ باشد، به طور معناداری افزایش پیدا می‌کند. به دلایل متعددی هر چه محیط اسیدی‌تر باشد، ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت بیشتر می‌توانند سطح دندان را رمینرالیزه کنند (۴۶). برخی از این دلایل عبارتند از:

۱- شرایط اسیدی حلالیت پارسیکل‌های نانو هیدروکسی آپاتیت بیشتر شده، محلول نانو هیدروکسی آپاتیت اشباع شده، رسوب آن روی نواحی دمنیرالیزه بیشتر می‌گردد (۴۶).  
۲- نیروی دافعه الکترواستاتیک بین ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت و مینای دندان کاهش می‌یابد و رسوب ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت روی مینای دندان بیشتر می‌شود (۴۹-۴۷).

۳- در این شرایط غلظت کلسیم و فسفات بالاتری آزاد می‌شود که تأثیرات مطلوبی بر نواحی دمنیرالیزه می‌گذارد. در ضمن یون‌های معدنی نسبت به محیط خنثی قدرت نفوذ بیشتری پیدا می‌کنند (۵۰).

کیتوزان هم در محیط اسیدی بهتر عمل می‌کند. زیرا گروه‌های آمینوی کیتوزان یون‌های هیدروژن را جذب کرده، بار مثبت پیدا می‌کنند و توانایی چسبندگی به سطوح با بار منفی مانند مینای دندان، بافت نرم و غشای سلولی را پیدا می‌کنند (۵۱ و ۵۲). بنابراین به نظر می‌آید کاربرد پودر نانو هیدروکسی آپاتیت- کیتوزان / silicone oil بعد از اعمال قطره آهن به دلیل وجود شرایط اسیدی، در افزایش اثر آن نسبت به اعمال ترکیب ماده فوق قبل از مواجهه با قطره آهن موثرتر باشد که البته در این مطالعه چنین نتیجه‌ای حاصل نشد.

نتایج مطالعات مشابه نشان داده‌اند که نانو هیدروکسی آپاتیت در دهانشویه، خمیردندان و آدامس توانایی رمینرالیزاسیون دارد، اما در تمامی این مطالعات مواد دیگری همراه نانو هیدروکسی آپاتیت بوده‌اند که می‌توانند همچون فلوراید استفاده شده در مطالعه Huang در سال ۲۰۰۹ اثر سینرژیستیکی در کنار هیدروکسی آپاتیت داشته باشند (۷).

در نهایت باید توجه داشت که در پدیده اروژن حمله اسیدی بر دندان بسیار قوی است، بنابراین از دست رفتن مواد معدنی توسط اسید بسیار بیشتر از چیزی است که در روند پوسیدگی دندان رخ می‌دهد و این بدان معنی است که مکانیسم‌های رمینرالیزاسیون، ممکن است در پدیده اروژن به اندازه روند پوسیدگی موثر نباشد (۵۸).

با توجه به نتایج مطالعه ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوران و silicone oil می‌تواند تا حد اندکی در رمینرالیزه کردن مینای دندان شیری قبل و بعد از مواجهه با قطره آهن موثر باشد گرچه پتانسیل روزیو قطره آهن خیلی بیشتر از اثرات رمینرالیزه کننده ترکیب مورد مطالعه است. برای رسیدن به نتایج واقعی پیشنهاد می‌شود مطالعاتی به صورت *in vivo* نیز صورت گیرند. همچنین با توجه به اینکه در ترکیب مورد استفاده، کیتوران در ساختار پودر نانوهیدروکسی آپاتیت وارد شده است، انجام بررسی‌های بیشتری در خصوص مدت زمان بهترین اثرگذاری ترکیب مورد مطالعه توصیه می‌شود.

#### نتیجه‌گیری:

مواجهه با قطره آهن ریزسختی مینای دندان را به شدت کاهش می‌دهد. استفاده از ترکیب Silicone oil و پودر نانو هیدروکسی آپاتیت/ کیتوران در گروه اول ۳٪ و در گروه دوم ۲٪، در جلوگیری از کاهش ریزسختی مینای دندان شیری موثر می‌باشد. مقادیر تعیین شده در مقایسه با مقادیر مربوط به قطره آهن به تنهایی از نظر بالینی ارزشمند می‌باشند.

#### تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از تمام اساتید دانشگاه علوم پزشکی بابل و پرسنل مرکز تحقیقات مواد دندان‌دانشگاه دندانپزشکی بابل تشکر و قدردانی می‌شود.

در مطالعه حاضر ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوران با silicon oil به صورت تجربی به نحوی که بتواند به حالت چسبیده روی دندان قرار گیرد، با نسبت‌های مختلف امتحان گردید و در نهایت نسبت حجمی ۲ به ۱ ترکیبی قابل کاربرد روی مینا پیدا کرد. در این خصوص انجام مطالعات بیشتر و کاربردی‌تر توصیه می‌شود.

در مطالعه حاضر میزان میکروهاردنس مینای دندان شیری پس از اعمال ترکیب نانوهیدروکسی آپاتیت کیتوران و silicon oil در روش اول یعنی پس از مواجهه با قطره آهن ۳٪ نسبت به میکروهاردنس اولیه و در روش دوم یعنی قبل از مواجهه با قطره آهن ۲٪ افزایش پیدا کرد که از نتیجه مطالعه Haghgoo و همکاران در سال ۲۰۱۱ که تنها از نانوهیدروکسی آپاتیت خالص استفاده کرده، افزایش ۱/۵٪ را گزارش کردند، بیشتر بود. با توجه به شرایط مشابه انجام هر دو مطالعه، علت احتمالی برای توجیه این اختلاف، می‌تواند حضور کیتوران در ترکیب به عنوان ماده موثر در رمینرالیزاسیون باشد (۵۳).

در مطالعات مختلفی که در این زمینه انجام گرفته‌اند، زمان‌های مختلفی برای کاربرد این ماده ذکر شده‌اند (۷، ۳۱ و ۵۶-۵۴). نشان داده شده که مدت زمان ۱۰ دقیقه در نتایج حاصل از تأثیر نانوهیدروکسی آپاتیت بر رمینرالیزاسیون مینا تفاوتی با اعمال مدت زمان‌های طولانی ندارد. Roveri و همکاران (۲۰۰۸) و Haghgoo و همکاران (۲۰۱۱) نیز از مدت زمان ۱۰ دقیقه استفاده کردند (۹۵۳). بنابراین در مطالعه حاضر به بررسی تأثیرات این ماده در مدت زمان ۱۰ دقیقه پرداخته شده تا بتوان نتایج حاصل از مطالعه را با کاربرد کلینیکی تطبیق داد. این مطالعه با فرض اینکه اکثر بیماران توانایی نگهداری این ماده را به مدت ۱۰ دقیقه خواهند داشت، پیش برده شد.

در مطالعات قبلی که در مورد اثر کیتوران بر رمینرالیزاسیون مینا به تنهایی انجام شده‌اند، بین زمان‌های مواجهه ۳۰، ۶۰ و ۹۰ ثانیه، زمان مواجهه ۶۰ ثانیه بیشترین اثر را بر رمینرالیزاسیون داشت (۵۷).

#### References

1. Demayer E, Adiels-Tegman M. The prevalence of anaemia in the world. *World Health Stat Q* 1985; 38: 302-316.
2. FesharakiNia A, SharifZadeh GhR. Effective factors on mothers' performance regarding supplementary iron-drop taking by their children in Birjand [Persian]. *J Birjand Uni Med Sci* 2006; 13: 9-15.
3. James PMC, Parfitt GJ. Local effects of certain medicaments on the teeth. *Br Med J*. 1953; 2: 1252-1253.

4. Gilchrist F, Santini A, Harley K, Deery C. The use of micro-Ramanspectroscopy to differentiate between sound and eroded primary enamel. *Int J Pediatr Dent* 2007; 17: 274-280.
5. Nunn JH, Ng SK, Sharkey I, Coulthard M. The dental implications of chronic use of acidic medicines in medically compromised children. *Pharm World Sci* 2001; 23:118-119.
6. Low I M, Duraman N, Fulton J, Tezuka N, Davies IJ. A comparative study of the microstructure property relationship in human adult and baby teeth. *Ceram Eng Sci Proceed* 2005; 26:145-152
7. Huang SB, Gao SS, Yu HY. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater* 2009; 4: 034104. Doi:10.1088/1746-6041/4/3/034104.
8. Hannig M, Hannig C. Nanomaterials in preventive dentistry. *Nat Nanotechnol* 2010; 5: 565– 569.
9. Roveri N, Battistella E, Foltran I, Foresti, E, Iafisco M, Lelli M, et al. Synthetic biomimetic carbonate-hydroxyapatite nanocrystals for enamel remineralization. *Adv Mater Res* 2008; 47: 821–824.
10. Li L, Pan HH, Tao JH, Xu XR, Mao CY, Gu XH, et al: Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *J Mater Chem* 2008; 18: 4079–4084.
11. Lv KL, Zhang JX, Meng XC, Li XY. Remineralization effect of the nano-HA toothpaste on artificial caries. *Key Eng Mater* 2007; 330-332: 267–270.
12. Porsgaard TK, Gyldenvang L. Chewing gum comprising hydroxyapatite. *Fresh Patents* 2009; 1:424-448
13. Hayashi Y, Ohara N, Ganno T, Yamaguchi K, Ishizaki T, Nakamura T, et al. Chewing chitosan containing gum effectively inhibits the growth of cariogenic bacteria. *Arch Oral Biol* 2007; 52: 290-294.
14. Khor E, Lim LY. Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials* 2003; 24: 232339–49.
15. Han DK, Park KD, Hubbell JA, Kim YH. Surface characteristics and biocompatibility of lactide-based poly (ethylene glycol) scaffolds for tissue engineering. *J Biomater Sci Polym Ed* 1998; 9: 667–680.
16. Vunjak-Novakovic G, Obradovic B, Martin I, Bursac PM, Langer R, Freed LE. Dynamic cell seeding of polymer scaffolds for cartilage tissue engineering. *Biotechnol Prog* 1998; 14: 193–202.
17. Yannas IV. Applications of ECM analogs in surgery. *J Cell Biochem* 1994; 56:188-1 91.
18. Bumgardner JD, Wisner R, Gerard PD, Bergin P, Chestnutt B, Marin M, et al. Chitosan: potential use as a bioactive coating for orthopaedic and craniofacial/dental implants. *J Biomater Sci Polym Ed* 2003;14:423-38.
19. Schakenraad JM, Busscher HJ, Wildevuur CR, Arends J. The influence of substratum surface free energy on growth and spreading of human fibroblasts in the presence and absence of serum proteins. *J Biomed Mater Res* 1986; 20: 773–784
20. Kong L, Gao Y, Cao W, Gong Y, Zhao N, Zhang X. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/ chitosan composite scaffolds. *J Biomed Mater Res* 2005; 75: 275–282.
21. Zhao F, Grayson WL, Ma T, Bunnell B, Lu WW. Effects of hydroxyapatite in 3-D chitosan-gelatin polymer network on human mesenchymal stem cell construct development. *Biomater* 2006; 27: 1859–1867.
22. Zhang L, Ao Q, Wang A, Lu G, Kong L, Gong Y, et al. A sandwich tubular scaffold derived from chitosan for blood vessel tissue engineering. *J Biomed Mater Res* 2006; 77: 277–284.
23. Ao Q, Wang A, Cao W, Zhang L, Kong L, He Q, et al. Manufacture of multimicrotubule chitosan nerve conduits with novel molds and characterization in vitro. *J. Biomed Mater Res A*. 2006, 77, 8–11.
24. Cao W, Cheng M, Ao Q, Gong Y, Zhao N, Zhang X. Physical, mechanical and degradation properties, and Schwann cell affinity of cross-linked chitosan films. *J Biomater Sci Polym Ed* 2005; 16:791-807.



25. Kong M, Chen XG, Liu CS, Liu CG, Meng XH, Yu LeJ. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2008; 65: 197–202.
26. Fujiwara M, Hayashi Y, Ohara N. Inhibitory effect of water-soluble chitosan on growth of *Streptococcus mutans*. *New Microbiol* 2004; 27:83–86.
27. Tharanathan RN, Kittur FS. Chitin-the undisputed biomolecule of great potential. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003; 43: 61-87.
28. Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci* 2006; 31:603–632.
29. Wilson OC Jr, Hull JR. Surface modification of nanophase hydroxyapatite with chitosan. *Mater Sci Eng C* 2008; 28:434–437.
30. Thein-Han WW, Misra RD. Biomimetic chitosan–nanohydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering. *Acta Biomater* 2009; 5: 1182–1197.
31. Kim MY, Kwon HK, Choi CH, Kim BI. Combined effects of nano-hydroxyapatite and NaF on remineralization of early caries lesion. *Key Eng Mater* 2007; 330–332: 1347–1350.
32. Boyers CL, Shaw JH, Rosenthal E, Giordano R. Effects of silicone oil on the teeth of caries-susceptible rats when applied by tooth brushing and by inclusion in the diet. *J Dent Res* 1963; 42: 1517-1519.
33. Rølla G, Ellingsen JE, Gaare D. Polydimethylsiloxane as a tooth surface-bound carrier of triclosan: a new concept in chemical plaque inhibition. *Adv Dent Res* 1994; 8: 272-277.
34. Rykke M, Rølla G. Effect of silicone oil on protein adsorption to hydroxyapatite in vitro and on pellicle formation in vivo. *Scand J Dent Res* 1990; 98: 401-411.
35. Eskandarian T, Joshan MJ. Evaluation of the dmft Index and Its relationship to some factors consisting the consumption of Iron supplementary drug in 2-5 years old kingergarden children in Shiraz. *Shiraz Univ Dent J* 2006; 6:1-9.
36. Miguel JC, Bowen WH, Pearson SK. Effects of iron salts in sucrose on dental caries and plaque in rats. *Arch Oral Biol* 1997; 42: 377-383.
37. Miguel JC, Bowen WH, Pearson SK. Effect of frequency of exposure to iron-sucrose on the incidence of dental caries in desalivated rats. *Caries Res* 1997; 31: 238-243.
38. Rosalen PL, Pearson SK, Bowen WH. Effects of copper, iron and fluoride co-crystallized with sugar on caries development and acid formation in desalivated rats. *Arch Oral Biol* 1996; 41: 1003-1010.
39. Donovan T, Swift EJ Jr. Dental erosion. *J Esthet Restor Dent* 2009; 21: 359-364.
40. Lussi A, Jaeggi T. Extrinsic causes of erosion. In Lussi A. *Dental erosion: from diagnosis to therapy*, 1<sup>st</sup> Ed. Switzerland, Basel: Karger; 2006; Chap 7: 77-87.
41. Johansson AK, Lingström P, Imfeld T, Birkhed D. Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. *Eur J Oral Sci* 2004; 112: 484-489.
42. Balasundaram G, Sato M, Webster TJ. Using hydroxyapatite nanoparticles and decreased crystallinity to promote osteoblast adhesion similar to functionalizing with RGD. *Biomaterials* 2006; 27: 2798–2805.
43. Hu Q, Tan Z, Liu Y, Tao J, Cai Y, Zhang M, et al: Effect of crystallinity of calcium phosphate nanoparticles on adhesion, proliferation, and differentiation of bone marrow mesenchymalstem cells. *J Mater Chem* 2007; 17: 4690–4698.
44. Nikpour MR, Rabiee MR, Jahanshahi M. Synthesis and characterization of hydroxyapatite/chitosan

- nanocomposite materials for medical engineering applications. *Composites Part B: Engineering* 2012; 43:1881-1886.
45. Harding IS, Rashid N, Hing KA. Surface charge and the effect of excess calcium ions on the hydroxyapatite surface. *Biomaterials* 2005; 26: 6818–6826.
  46. Huang S, Gao L, Cheng L, Yu H. Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on initial enamel lesions: an in vitro study. *Caries Res* 2011; 45:460–468.
  47. Yin G, Liu Z, Zhan J, Ding F, Yuan N. Impacts of the surface charge property on protein adsorption on hydroxyapatite. *Chem Eng J* 2002; 87: 181–186.
  48. Skartisila K, Spanos N. Surface characterization of hydroxyapatite: potentiometric titrations coupled with solubility measurements. *J Colloid Inter face Sci* 2007; 308: 405–412.
  49. Huang LZ, Tang L, Xu R. [A bio electrochemical theory in pathogenesis of dental caries]. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 1997; 32: 34–36. [Article in Chinese]
  50. Yamazaki H, Margolis HC. Enhanced enamel remineralization under acidic conditions in vitro. *J Dent Res* 2008; 87: 569–574.
  51. Sano H, Shibasaki R, Matsukubo T, Takaesu Y. Effect of chitosan rinsing on reduction of dental plaque formation. *Bull Tokyo Dent Coll* 2003; 44: 9-16.
  52. Sezer AD, Cevher E, Hatipoğlu F, Oğurtan Z, Bas AL, Akbuğa J. Preparation of fucoidan–chitosan hydrogel and its application as burn healing accelerator on rabbits. *Biol Pharm Bull* 2008;31:2326-2333.
  53. Haghgoo R, Abbasi F, Rezvani MB. Evaluation of the effect of nanohydroxyapatite on erosive lesions of the enamel of permanent teeth following exposure to soft beer (in vitro). *J Dent SCh, Shahid Beheshti* 2011; 29: 149-154.
  54. Meng XC, Li XY, Lu KL. Study of Nano- Hydroxyapatite on the remineralization of Dismineralized teeth. *Mater. Sci. Forum* 2005;457: 2423-2426.
  55. Jeong SH, Jang SO, Kim KN, Kwon HK, Park YD, Kim BI. Remineralization potential of new toothpaste containing nanohydroxyapatite. *Key Engin Mat* 2006; 309-311: 537-540.
  56. Arnaud TM, de Barros Neto B, Diniz FB. Chitosan effect on dental enamel de-remineralization .an in vitro evaluation. *J Dent* 2010; 38:848-852.
  57. Chunmuang S, Jitpukdeebodintr S, Chuenarrom C, Benjakul P. Effect of xylitol and fluoride on enamel erosion in vitro. *J Oral Sci* 2007; 49:293-297.