

## Evaluation of the effect of nanohydroxyapatite-containing toothpaste and mouthwash on remineralization of early enamel caries and occluding of dentinal tubules

Abdolrahim Davari<sup>1</sup>, Farnaz Farahat<sup>2</sup>, Sepideh Abbasi<sup>3,\*</sup>

1- Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran; Member of Social Determinant of Oral Health Research Center, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Associate Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3- Post-Graduate Student, Department of Operative Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

### Article Info

**Article type:**  
Original Article

**Article History:**  
Received: 12 Oct 2021  
Accepted: 19 Jul 2022  
Published: 22 Jul 2022

**Corresponding Author:**  
Sepideh Abbasi

Department of Operative Dentistry,  
ShahidSadoughi University of  
Medical Sciences, Yazd, Iran

(Email: sepideabbasidnt@gmail.com)

### Abstract

**Background and Aims:** Different factors play a role in causing tooth decay. Modern dentistry is looking for a way to prevent tooth decay and suggests different ways to increase remineralization. The aim of this study was to evaluate the effect of nanohydroxyapatite toothpaste and mouthwash on remineralization of primary enamel lesions and obstruction of tubules.

**Materials and Methods:** In this study, 90 human extracted central teeth were used. Artificial decay was induced by placing the specimens for 72 hrs in a demineralization solution in an incubator at 37 °C. Hardness of the specimens was determined by a microhardness test before any surface treatment. The specimens were then divided randomly into 6 groups of 15. For 1-6 groups, the specimens were subjected to a pH cycling for 14 days, which included 3 hrs of demineralization and 21 hrs of remineralization. At the same time, 1-3 groups were in contact with diluted toothpaste in a ratio of 1:3 with deionized water at a rate of 5 ml twice a day for two min. Eac specimen of 4-6 groups was exposed to 5 ml of three types of mouthwashes for one min. Then, the specimens were cut in the buccolingual direction in order to simultaneously evaluate the dentinal tubules and Vickers microhardness test was performed again and the before and after microhardness values were compared. Then, the percentage of deposition on the surface and tubule obstruction were analyzed using SEM (Scanning electron microscope) (P=0.006). Data were analyzed using SPSS24 software bu the descriptive statistics, ANOVA analysis of variance, and multiple Tukey comparisons.

**Results:** The results of analysis of variance test showed that there was a statistically significant difference in the microhardness changes between study groups (P=0.006). Also, in-group analysis of microhardness changes, there was a significant difference (P<0.0001). Besides, only in the group containing 0.5% nanohydroxyapatite toothpaste, more than 50% tubule deposition and obstruction was observed (P<0.05).

**Conclusion:** According to the present study, nanohydroxyapatite can be one of the treatment strategies to repair incipient lesions of teeth and the addition of nanohydroxyapatite, preferably to toothpaste, increases the dental microhardness.

**Keywords:** Nanohydroxyapatite, Microhardness, Demineralization, Remineralization, Caries

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2022;35:9

Cite this article as: Davari A, Farahat F, Abbasi S. Evaluation of the effect of nanohydroxyapatite-containing toothpaste and mouthwash on remineralization of early enamel caries and occluding of dentinal tubules. J Dent Med-TUMS. 2022;35:9.



## بررسی اثر خمیردندان و دهانشویه نانوهایدروکسی آپاتیت بر رمینرالیزاسیون ضایعات اولیه مینایی و انسداد توبول‌های عاجی

عبدالرحیم داوری<sup>۱</sup>، فرناز فراغت<sup>۲</sup>، سپیده عباسی<sup>۳\*</sup>

- ۱- استاد گروه آموزش دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی مؤثر بر سلامت دهان و دندان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران  
 ۲- دانشیار گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران  
 ۳- دستیار تخصصی گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<p><b>نوع مقاله:</b> مقاله پژوهشی</p> <p>دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۰            پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۲۸            انتشار: ۱۴۰۱/۰۴/۳۱</p> <p><b>نویسنده مسؤول:</b> سپیده عباسی</p> <p>گروه دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران</p> <p>(Email: sepideabbasidnt@gmail.com)</p>	<p><b>زمینه و هدف:</b> عوامل مختلفی در ایجاد پوسیدگی دندان نقش دارند، دندانپزشکی مدرن به دنبال راهی برای بهبود پوسیدگی دندان و راه‌های مختلفی برای افزایش رمینرالیزاسیون است. هدف از این مطالعه بررسی اثر خمیردندان و دهانشویه نانوهایدروکسی آپاتیت بر رمینرالیزاسیون ضایعات اولیه مینایی و انسداد توبول‌ها بود.</p> <p><b>روش بررسی:</b> در این مطالعه تعداد ۹۰ دندان سانترال کشیده شده انسانی استفاده شد. پوسیدگی مصنوعی به وسیله قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در محلول دیمینرالیزاسیون در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد ایجاد گردید. سختی نمونه‌ها قبل از شروع آزمایش توسط تست میکروهاردنس انجام شد. نمونه‌ها با توجه به جدول اعداد تصادفی به ۶ گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند. برای گروه ۶-۱ نمونه‌ها به مدت ۱۴ روز تحت سیکل pH قرار گرفتند که شامل ۳ ساعت دیمینرالیزاسیون و ۲۱ ساعت رمینرالیزاسیون بود. هم‌زمان گروه‌های ۱-۳ دو بار در روز در تماس با خمیردندان رقیق شده به نسبت ۱:۳ با آب دیونیزه به میزان ۵ میلی‌لیتر به مدت دو دقیقه قرار گرفتند. نمونه‌های گروه‌های ۶-۴ به میزان ۵ میلی‌لیتر برای هر نمونه در تماس با سه نوع دهانشویه به مدت یک دقیقه قرار گرفت. سپس نمونه‌ها در جهت باکولینگوال به منظور ارزیابی هم‌زمان توبول‌های عاجی برش خوردند و مجدداً تست میکروهاردنس ویکرز انجام و نتایج قبل و بعد مقایسه و میزان درصد رسوب روی سطح و انسداد توبولی توسط SEM گزارش گردید (<math>P=0/006</math>). سپس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS24 و آمار توصیفی و تحلیل واریانس ANOVA و مقایسه‌های چندگانه Tukey تجزیه و تحلیل گردید.</p> <p><b>یافته‌ها:</b> آزمون آماری نشان داد که بین گروه‌های مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری در تغییرات میکروهاردنس وجود دارد (<math>P=0/006</math>). همچنین آنالیز درون گروهی تغییرات میکروهاردنس در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌داری وجود دارد (<math>P&lt;0/001</math>). همچنین در بررسی میکروسکوپ الکترونی توبول‌های عاجی تنها در گروه حاوی خمیردندان نانوهایدروکسی آپاتیت ۵٪ انسداد و رسوب توبول‌ها بیش از ۵۰٪ مشاهده گردید (<math>P&lt;0/05</math>).</p> <p><b>نتیجه گیری:</b> با توجه به مطالعه حاضر، نانوهایدروکسی آپاتیت می‌تواند یکی از استراتژی‌های درمانی جهت بازسازی ضایعات پوسیدگی اولیه باشد و اضافه شدن نانوهایدروکسی آپاتیت ترجیحاً به خمیردندان سبب افزایش میکروهاردنس دندان می‌گردد.</p> <p><b>کلید واژه‌ها:</b> نانوهایدروکسی آپاتیت، میکروهاردنس، دیمینرالیزاسیون، رمینرالیزاسیون، پوسیدگی</p> <p>مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران            دوره ۳۵ مقاله ۹، ۱۴۰۱</p>

## مقدمه

خمیردندان و دهانشویه، غلظت F قابل دسترس زیستی را کاهش می‌دهد، که این امر باعث کاهش ریسک فلوروزیس می‌شود (۵). حساسیت عاجی یک وضعیت کلینیکی دردناک است که اغلب در بزرگسالان مشاهده می‌شود. حساسیت عاجی در نتیجه استفاده بیش از حد از غذاهای اسیدی، سایش دندان به دلیل استرس و پارافانکشن، تحلیل لثه به دلیل مسواک زدن خشن و نادرست و بیماری‌های پرپودنتال محتمل است (۶).

یک رویکرد منطقی برای کنترل حساسیت عاجی، انسداد یا کاهش قطر توبول‌ها است. استفاده از عوامل مسدود کننده توبول‌های عاجی می‌تواند یک مانع با رسوب پروتئین (حاوی آرژینین) و یون‌های کلسیم و فسفات روی سطح یا درون اوریفیس توبول‌ها ایجاد کند که در موادی نظیر خمیردندان‌های حاوی پتاسیم نیترات، نیترات نقره، استرانسیوم کلراید و فلوراید موجود هستند. همچنین درمان‌های در مطب شامل (Iontophoresis) انتقال ذرات باردار فلوراید، کاربرد رزین ادهزیوها و لیزر بافت سخت می‌باشد (۷).

تحقیقات جدید در استفاده از مواد معدنی دندان (کلسیم و فسفات) منجر به تولید n-HAP بمنظور بستن توبول‌های عاجی شده است. از آنجایی که n-HAP جز اصلی دندان و استخوان است، به عنوان یک ماده مسدود کننده توبول‌های عاجی مناسب می‌باشد.

در مطالعات گذشته مقایسه اثر خمیردندان و دهانشویه نانو هیدروکسی آپاتیت بر رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی صورت گرفته و نشان داده شده که تأثیر بیشتری نسبت به خمیردندان‌های حاوی آمین فلوراید و سدیم فلوراید دارد و در انسداد توبول‌های عاجی تأثیر بیشتری بر انسداد توبول‌های عاجی نسبت به خمیردندان‌های حاوی فلوراید دارد. با توجه به وجود اختلاف نظر مطالعات قبلی در مورد برتری خمیردندان نانو هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با خمیردندان سدیم فلوراید و مطالعات انگشت شمار در مورد بررسی اثر دهانشویه نانو هیدروکسی آپاتیت، هدف از این تحقیق بررسی اثر خمیردندان و دهانشویه n-HAP بر رمینرالیزاسیون ضایعات اولیه ی مینایی و نیز انسداد توبول‌های عاجی می‌باشد.

## روش بررسی

نوع مطالعه تجربی (Experimental) و به روش آزمایشگاهی

دندانپزشکی مدرن بر روی پیشگیری و مداخله حداقل و نیز جایگزینی سوبسترای دندان از دست رفته با مواد بیواکتیو تمرکز کرده است. پروسه رمینرالیزاسیون توسط درجه اشباع محلول‌های دهانی (بزاقت و پلاک) در رابطه با کریستال‌های آپاتیت کنترل می‌شود. در صورت مساعد بودن شرایط، رمینرالیزاسیون ممکن است پروسه غالب باشد. روش‌های متعددی برای رمینرالیزاسیون ساختار دندان معرفی شده است، واریش‌های فلوراید برای جلوگیری از ایجاد ضایعات اولیه مینا در حضور یون‌های کلسیم و فسفات برای ایجاد فلورواپاتیت مؤثر شناخته شده‌اند (۱).

از آنجایی که استفاده بیش از حد از فلوراید باعث فلوروزیس بخصوص در کودکان پیش دبستانی می‌شود، نیاز به یک راه جایگزین برای رمینرالیزاسیون پوسیدگی‌ها که مثل فلوراید مؤثر باشد ولی اثرات مضر آن را نداشته باشد، وجود دارد (۲). رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی در مفهوم حداقل مداخلات دندانپزشکی منجر به معرفی مواد مختلف زیست سازگار نظیر تری کلسیم فسفات، گلاس‌های بیو اکتیو (کلسیم سدیم فسفوسیلیکات)، محصولات بر پایه کازین و در نهایت Nano-hydroxyapatite (n-HAP) شد (۳).

n-HAP به عنوان یکی از زیست سازگارترین و زیست فعال‌ترین مواد در نظر گرفته می‌شود که در سال‌های اخیر در دندانپزشکی و پزشکی مقبولیت خاصی را به دست آورده است. مورفولوژی و ساختار پارتيكل‌های نانوی هیدروکسی آپاتیت شبیه به کریستال‌های آپاتیت مینا هستند. پژوهش‌های آزمایشگاهی سیکل pH نشان داده‌اند که هیدروکسی آپاتیت بیش از فلوراید پتانسیل رمینرالیزاسیون ضایعات مینایی را دارد و همچنین می‌تواند موجب رمینرالیزاسیون مینا در اطراف مارژین‌های ترمیم شود. مکانسیم دقیق اثر نانو هیدروکسی آپاتیت هنوز واضح نیست، گروهی از محقق بر این باورند که نانو هیدروکسی آپاتیت یک لایه مینایی سنتتیک را در اطراف مینا ایجاد می‌کند، یا نانو پارتيكل‌های آپاتیت را در اطراف ضایعات رسوب می‌دهد و برخی دیگر بیان می‌کنند که نانو هیدروکسی آپاتیت به عنوان ذخیره کننده کلسیم و فسفر عمل می‌کند و یک حالت فوق اشباع را بوجود می‌آورد و اینگونه از دیمینرالیزاسیون جلوگیری کرده و باعث تقویت رمینرالیزاسیون می‌شود (۴). لازم به ذکر است که n-HAP هنگام ترکیب با فلوراید در فرمولاسیون‌های آبی مانند

گروه ۳: خمیردندان سدیم فلوراید آرپی (گروه کنترل)، (شرکت تک کاج، EXOFY، ایران)

گروه ۴: دهانشویه میکروهیدروکسی آپاتیت ۰/۰۱ درصد ایرشا (لابراتوار داروسازی شفا)

گروه ۵: دهانشویه نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۰۱ درصد ایرشا (لابراتوار داروسازی شفا)

گروه ۶: دهانشویه سدیم فلوراید ایرشا ۰/۰۵ درصد (گروه کنترل)، (لابراتوار داروسازی شفا)

برای گروه ۶-۱ نمونه‌ها به مدت ۱۴ روز تحت سیکل pH شامل ۳ ساعت دمنیرالیزاسیون و ۲۱ ساعت رمینرالیزاسیون قرار گرفتند. به این ترتیب که از محلول ایجاد کننده پوسیدگی مصنوعی به عنوان محلول دمنیرالیزاسیون و از محلول بزاق مصنوعی به عنوان محلول رمینرالیزاسیون استفاده شد. هم زمان با انجام سیکل pH در گروه‌های ۱-۳ نمونه‌ها دو بار در روز به مدت دو دقیقه در تماس با خمیردندان رقیق شده به نسبت ۱:۳ با آب دیونیزه به میزان ۵ میلی لیتر قرار گرفتند. نمونه‌های گروه‌های ۴-۶ به مدت یک دقیقه به میزان ۵ میلی لیتر برای هر نمونه در تماس با سه نوع دهانشویه قرار گرفتند.

پس از پایان سیکل pH مجدداً تست میکروهاردنس ویکرز روی تمامی نمونه‌ها انجام و نتایج قبل و بعد مقایسه و درصد رسوب روی سطح و انسداد توبول‌ها (percentage of surface micro hardness recovery) تعیین شد.

سپس از هر گروه یک نمونه جهت بررسی زیر میکروسکوپ الکترونی انتخاب و نمونه‌ها در جهت باکولینگوال به منظور ارزیابی هم زمان توبول‌های عاجی برش خوردند، سپس نمونه‌ها با لایه نازک آلیاژ طلا- پالادیوم (sputter- gold) پوشانده و با SEM (JSM-IT200, Jeol, Japan) در ولتاژ پرتو 15Kv و با بزرگنمایی 1000X مشاهده و چهار حالت در نظر گرفته شد.

۱- Completely occluded tubules (COT %): حالتی که بیش از نصف توبول‌ها مسدود شده باشند.

۲- Partially-occluded tubules (POT %): حالتی که کمتر از نصف توبول‌ها مسدود شده باشند.

۳- Fully-open tubules (FOT %): حالتی که هیچ گونه ته نشینی و انسدادی صورت نگرفته است.

(Invitro) بود. در این مطالعه تعداد ۹۰ دندان سانترال کشیده شده انسانی بدون ترمیم و پوسیدگی استفاده شد. تاج دندان‌ها توسط دیسک الماسی coarse از ۲ میلی متر زیر CEJ قطع و برای مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند.

برای مسطح کردن مینای سطح، نمونه‌ها توسط دیسک‌های الماسی سیلیکون کارباید با خشونت ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ گریت پالیش شدند، به طوری که هر دیسک ۵ مرتبه در جهت عقربه‌های ساعت بروی سطح استفاده شد. سپس برای برداشت اسمیر لایر از اسید سیتریک ۱۰٪ (pH=۲) برای دو دقیقه استفاده و نمونه‌ها در آب مقطر (pH=۷) قرار گرفتند (۸).

دندان‌ها با اپوکسی رزین مانع شده به نحویکه سطح باکال آن‌ها قابل دسترسی باشد و تمامی سطح باکال نمونه به جز ناحیه‌ای به ابعاد ۲×۴ میلی متر با لاک ناخن مقاوم به اسید (Jetset, Loral, Karlsruhe, Germany) پوشانده شدند. سپس نمونه‌ها شماره گذاری و با توجه به انجام آزمایشات مداخله‌ای روی سطح دندان، قبل از شروع آزمایش جهت ارزیابی تاثیر عوامل مداخله‌گر، سختی سطح، توسط تست میکروهاردنس ویکرز (SCTMC, MHV10002, China) با نیروی ۲۰۰ گرم در طی ۱۰ ثانیه تحت آزمایش قرار گرفتند. هاردنس در سه نقطه از سطح اندازه گیری و میانگین آن به عنوان عدد سختی ویکرز در نظر گرفته شد (Kg/mm<sup>2</sup>).

ترکیبات محلول دمنیرالیزاسیون شامل:

CaCl<sub>2</sub>=2.2Mm, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>=2.2Mm, Lactic acid=0.05mM که توسط ۵۰٪ (NaOH) pH 4.5، تنظیم و سپس پوسیدگی مصنوعی به وسیله قرار دادن نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت در این محلول در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد ایجاد گردید (۹).

پس از خارج کردن نمونه‌ها از انکوباتور، به مدت ۲۰ ثانیه با نرمال سالین شسته و مجدداً نمونه‌ها مورد تست ویکرز قرار گرفتند. نمونه‌ها به صورت رندوم با توجه به جدول اعداد تصادفی به ۶ گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند.

گروه ۱: خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۵ درصد آرپی (شرکت تک کاج، EXOFY، ایران)

گروه ۲: خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۱ درصد آرپی (شرکت تک کاج، EXOFY، ایران)

از ایجاد پوسیدگی (مرحله دوم) و بعد از فرآیند درمان (مرحله سوم) به وسیله غوطه ورسازی در خمیردندان در جدول ۱ قابل مشاهده است. نتایج نشان داد که میانگین میکروهاردنس در هر سه گروه پس از درمان با خمیردندان افزایش یافت ( $P=0/006$ ). میانگین و انحراف معیار میکروهاردنس اندازه گیری شده در گروه‌های استفاده شده از دهانشویه در ابتدای مطالعه، پس از ایجاد پوسیدگی و بعد از فرآیند درمان بوسیله غوطه ورسازی در هر یک از مواد مورد مطالعه نیز در جدول ۲ قابل مشاهده است ( $P<0/0001$ ).

نتایج مقایسه میانگین و انحراف معیار میکروهاردنس در تمام گروه‌های مورد مطالعه در مراحل سه گانه در جدول ۳ آورده شده است.

Surface area covered by deposit precipitate layer -4 (% DPL): حالتی که یک لایه نازک روی توبول‌ها هست ولی درون توبول‌ها مسدود نشده است. بعد از جمع آوری اطلاعات نمونه‌ها را شماره گذاری و سپس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS24 و آمار توصیفی و تحلیل واریانس ANOVA و مقایسه‌های چنگانه Tukey تجزیه و تحلیل گردید.

### یافته‌ها

میانگین و انحراف معیار میکروهاردنس اندازه گیری شده در گروه‌های استفاده شده از خمیردندان در ابتدای مطالعه (مرحله اول)، پس

جدول ۱- داده‌های مقادیر ریزسختی نمونه‌ها در گروه‌های استفاده شده از خمیردندان

P-value	مرحله سوم (درمان)	مرحله دوم (دمینرالیزاسیون)	مرحله اول (ابتدای مطالعه)	تعداد نمونه‌ها	گروه
$P<0/001$	$227/79 \pm 34/78$	$174/97 \pm 33/98$	$273/53 \pm 24/17$	۱۵	گروه ۱
$P<0/001$	$194/79 \pm 31/26$	$171/21 \pm 30/58$	$273/56 \pm 26/77$	۱۵	گروه ۲
$P<0/001$	$153/31 \pm 40/86$	$148/57 \pm 40/62$	$236/33 \pm 36/75$	۱۵	گروه ۳

$P=0/006$

جدول ۲- داده‌های مقادیر ریزسختی نمونه‌ها در گروه‌های استفاده شده از دهانشویه

P-value	مرحله سوم	مرحله دوم (دمینرالیزاسیون)	مرحله اول	تعداد نمونه‌ها	گروه
$P<0/0001$	$199/13 \pm 46/24$	$176/91 \pm 44/37$	$274/29 \pm 29/50$	۱۵	گروه ۱
$P<0/0001$	$200/18 \pm 49/08$	$155/39 \pm 41/67$	$254/00 \pm 32/87$	۱۵	گروه ۲
$P<0/0001$	$176/50 \pm 50/99$	$155/92 \pm 50/68$	$253/01 \pm 51/21$	۱۵	گروه ۳

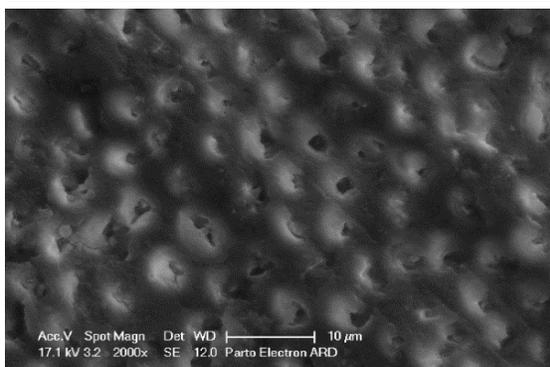
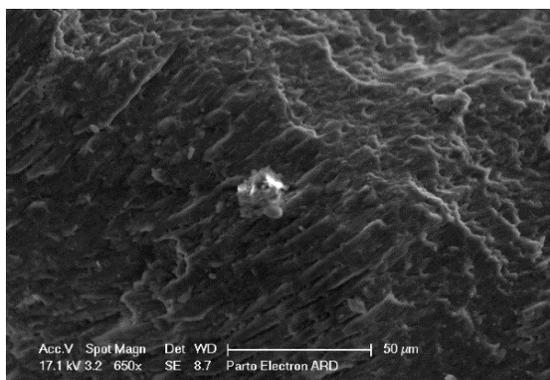
$P<0/0001$

جدول ۳- داده‌های مقادیر ریزسختی نمونه‌ها در گروه‌های مختلف در مراحل سه گانه

P-value	مرحله سوم	مرحله دوم (دمینرالیزاسیون)	مرحله اول	گروه‌ها
$P=0/000$	$227/79 \pm 34/78$	$174/97 \pm 33/98$	$273/53 \pm 24/17$	خمیردندان نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۵٪
$P=0/000$	$194/79 \pm 31/26$	$171/21 \pm 30/58$	$273/56 \pm 26/77$	خمیردندان نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۱٪
$P=0/000$	$153/31 \pm 40/86$	$148/57 \pm 40/62$	$236/33 \pm 36/75$	خمیردندان سدیم فلوراید
$P=0/000$	$199/13 \pm 46/24$	$176/91 \pm 44/37$	$274/29 \pm 29/50$	دهانشویه میکرو هیدروکسی آپاتیت ۰/۰۱٪
$P=0/000$	$200/18 \pm 49/08$	$155/39 \pm 41/67$	$254/00 \pm 32/87$	دهانشویه نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۰۱٪
$P=0/000$	$176/50 \pm 50/99$	$155/92 \pm 50/68$	$253/01 \pm 51/21$	دهانشویه سدیم فلوراید ۰/۰۵٪

$P<0/0001$

ریمینرالیزاسیون، نتایج زیر مشاهده گردید. در گروه خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۱٪ انسداد توبول‌ها به میزان کمتر از ۵۰٪ مشاهده گردید ولی ته نشینی در سطح توبول‌ها مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱- رسوب خمیردندان ۰/۱٪ نانوهیدروکسی آپاتیت روی سطح

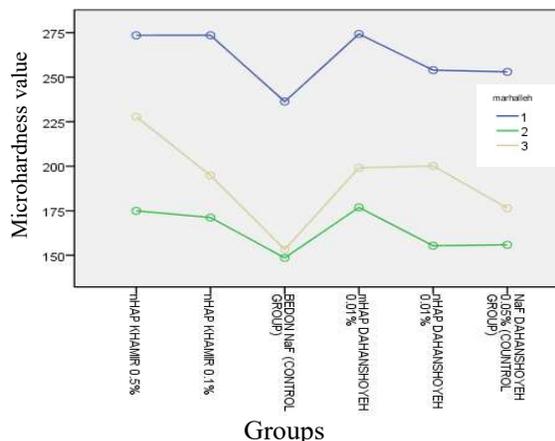
در گروه دهانشویه میکروهیدروکسی آپاتیت ۰/۰۱٪ هیچ گونه انسدادی در توبول‌ها مشاهده نشد ولی رسوب پارتیکل‌ها در سطح مشهود است.

در گروه حاوی خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۵٪ انسداد و رسوب توبول‌ها بیش از ۵۰٪ مشاهده گردید (شکل ۲).

در گروه خمیردندان حاوی فلورید (بدون آپاتیت) عدم انسداد توبول‌ها مشاهده شد اما رسوب پارتیکل‌ها در سطح مشهود است. در گروه دهانشویه سدیم فلوراید ۰/۰۵٪ (شاهد) هیچ گونه انسداد توبولی مشاهده نشد، ولی حضور پارتیکل‌ها در سطح مشهود است (شکل ۳).

در گروه دهانشویه نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۰۱٪، کمتر از نصف توبول‌ها مسدود شده و رسوب پارتیکل‌ها در سطح مشهود است (شکل ۴).

همچنین میانگین میکروهاردنس گروه‌های مختلف، قبل و بعد از دمینرالیزاسیون و پس از اعمال سیکل‌های تغییر pH در نمودار ۱ نشان داده شده است.

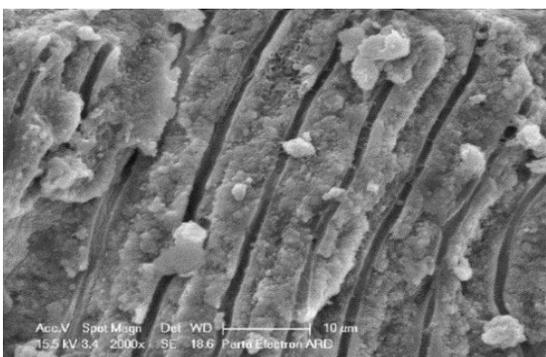
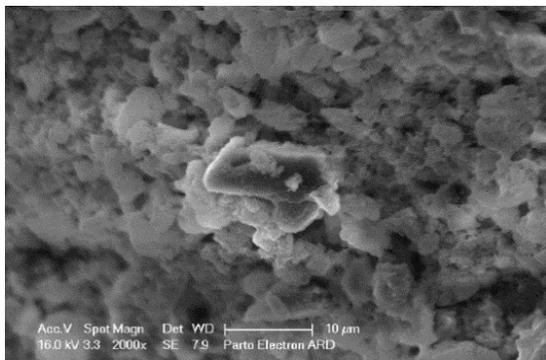


نمودار ۱- میانگین میکروهاردنس گروه‌های مختلف، قبل و بعد از دمینرالیزاسیون و پس از اعمال سیکل‌های تغییر pH

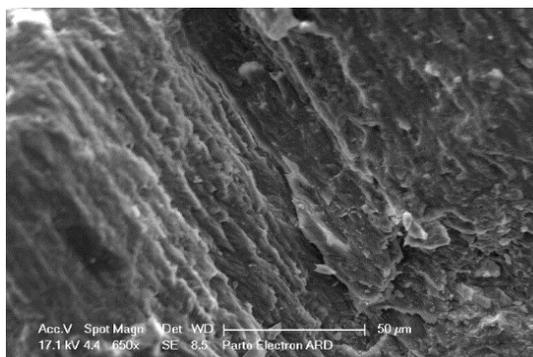
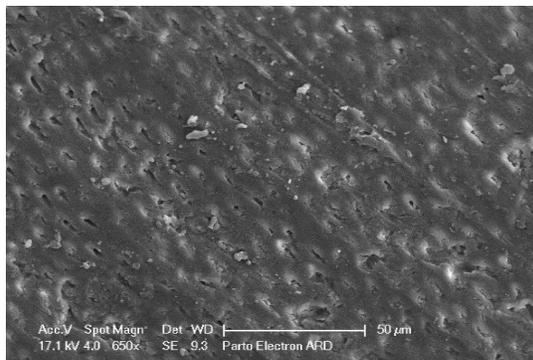
نتایج آزمون آنالیز واریانس اندازه‌های تکراری (Repeated measure) نشان داد که بین گروه‌های مورد مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری در تغییرات میکروهاردنس وجود دارد ( $P=0/006$ ). همچنین آنالیز درون گروهی تغییرات میکروهاردنس در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین این تغییرات وجود دارد ( $P<0/0001$ ).

از طرفی مقایسه تغییرات میکروهاردنس در گروه‌های مورد مطالعه در مراحل سه گانه نشان داد که میزان میکروهاردنس در تمام گروه‌ها در مرحله سوم نسبت به مرحله دمینرالیزاسیون افزایش پیدا کرده بود ( $P<0/0001$ ). با این حال استفاده از خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۵ درصد در مقایسه با استفاده از خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۱٪ میزان میکروهاردنس بالاتری داشت ( $P<0/0001$ ). همچنین مقایسه تغییرات میکروهاردنس پس از مرحله دمینرالیزاسیون بین گروه‌ها نشان داد که استفاده از خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۰/۵٪ در مقایسه با تمامی گروه‌ها میزان میکروهاردنس بالاتری داشت و نسبت به تمام مواد استفاده شده در مرحله سوم به طور مؤثرتری میزان میکروهاردنس را افزایش داده بود ( $P<0/0001$ ).

پس از بررسی تصاویر SEM بعد از انجام مراحل دمینرالیزاسیون و



شکل ۴- تصویر SEM از توبول‌های عاجی پس از تماس با دهانشویه نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۱٪

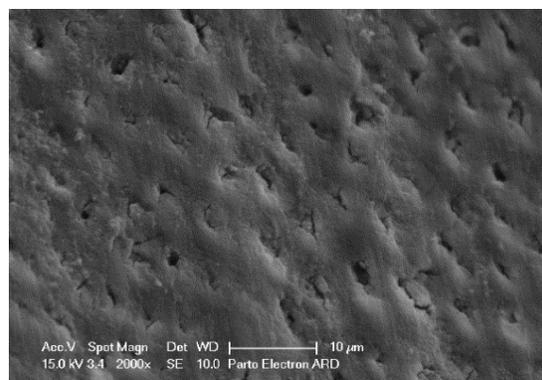
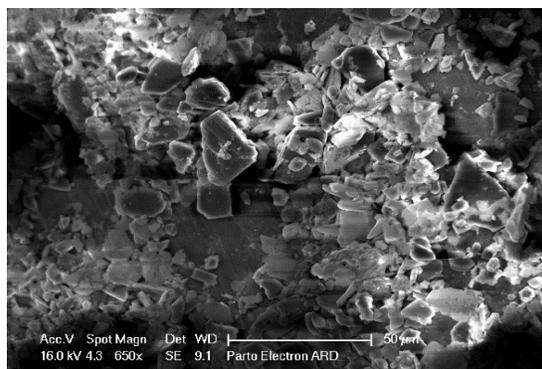


شکل ۲- رسوب خمیردندان ۰/۵٪ نانو هیدروکسی آپاتیت روی سطح

### بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه آزمایشگاهی تاثیر شش روش درمانی در شش گروه دندان کشیده شده انسانی که به صورت مصنوعی در آن‌ها پوسیدگی ایجاد شده بود شامل استفاده از خمیردندان نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۵٪، خمیردندان نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۱٪ و خمیردندان سدیم فلوراید، استفاده از دهانشویه میکرو هیدروکسی آپاتیت ۰/۱٪، دهانشویه نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۱٪ و دهانشویه سدیم فلوراید ۰/۰۵٪ به مدت دو هفته بر میزان رمینرالیزاسیون مینای دندان بررسی شد. اساس استفاده از نانو هیدروکسی آپاتیت بر پایه این حقیقت است که به دلیل شباهت به ساختار معدنی دندان می‌تواند توبول‌های عاجی باز را بسته و با آن‌ها ترکیب شود. همچنین ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت سبب کاهش غلظت F قابل دسترس زیستی می‌گردد و در نتیجه ریسک فلوروزیس را کاهش می‌دهد (۱۰).

بر اساس نتایج آنالیزهای آماری مشخص شد که استفاده از خمیردندان و دهانشویه پس از مرحله دمینرالیزاسیون باعث افزایش میزان میکرو هاردنس و رمینرالیزاسیون سطوح دندانی شد. با این وجود آنالیزهای



شکل ۳- دهانشویه بدون نانو هیدروکسی آپاتیت

انسداد توبول‌های عاجی " چهار خمیردندان حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت ۱۵٪، ۱۰٪، خمیردندان حاوی سدیم مونوفلوروفسفات یا نوامین را در ۸۰ نفر دو بار در روز به مدت ۱۴ روز بررسی کردند، نشان دادند که خمیردندان‌های حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت و نوامین به یک اندازه و بیشتر از خمیردندان حاوی سدیم مونوفلوروفسفات مؤثر هستند. همچنین در مطالعه حاضر استفاده از خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۵/۰٪ در مقایسه با خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۱/۰٪ و خمیردندان حاوی فلوراید، نشان دهنده اهمیت و تأثیرگذاری ذرات نانوهیدروکسی آپاتیت در بازسازی ضایعات پوسیدگی دندان در غلظت‌های پایین‌تر بود.

دهانشویه‌ها یکی از پر مصرف‌ترین مواد جهت مراقبت از دندان در دندانپزشکی می‌باشد این مواد با خواص آنتی میکروبیال وسیع در درمان بیماری‌های پرپودنتال بکار می‌رود. Banihashemrad و همکاران (۱۴) در سال ۲۰۲۱ نشان دادند دهانشویه‌ها به دلیل ترکیبات اختصاصی علاوه بر خواص آنتی میکروبیال، توانایی اتصال به الیاف کلاژن عاج را داشته و به ترمیم دندان‌های پوسیده کمک شایانی می‌کنند. همچنین استفاده از دهانشویه باعث بهبود خواص مکانیکی (میکروهاردنس و مدولوس الاستیسیته) در هر یک از گروه‌های سالم و پرپودنتیت مزمن نسبت به گروه‌های فاقد محلول شده است. اثر متقابل بین دندان‌های مورد مطالعه و دهانشویه در آزمایشات سختی سنجی، تفاوتی در مدولوس الاستیسیته سمتموم و مدولوس الاستیسیته عاج دیده نشد. به این معنی که دهانشویه باعث بهبود خواص مکانیکی در هر دو گروه سالم و پرپودنتیت گردیده است. از طرفی در مطالعه Haghgoo و همکاران (۱۵) در سال ۲۰۱۵ که به بررسی مقایسه‌ای اثرات دهانشویه نانو هیدروکسی آپاتیت و سدیم فلوراید بر رمینرالیزاسیون و میکروهاردنس دندان‌های دائمی انسان پرداختند، چنین عنوان کردند که هر دو سبب افزایش در ریز سختی دندان‌ها شده است.

همچنین نتایج مطالعه Kim و همکاران (۵) در سال ۲۰۰۷ نشان داد که نانوهیدروکسی آپاتیت در دهانشویه توانایی رمینرالیزاسیون ضایعات اولیه پوسیدگی را دارد البته لازم به ذکر هست که در مطالعه آن‌ها اثر هم زمان دهانشویه حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت و سدیم فلوراید بر ضایعات اولیه پوسیدگی بررسی شده بود که وجود فلوراید می‌تواند اثر سینرژیکی در رمینرالیزاسیون این ضایعات داشته باشد. در مطالعه ما مشاهده کردیم که استفاده از دهانشویه حاوی

بیشتر نشان داد که میانگین میکروهاردنس و رمینرالیزاسیون در روش درمانی استفاده از خمیردندان نانوهیدروکسی آپاتیت ۵/۰٪ نسبت به سایر روش‌ها میزان میکروهاردنس بالاتری داشت.

خمیردندان‌های حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت برای اولین بار در سال ۱۹۸۰ در ژاپن معرفی شدند و برای انسداد کارآمد توبول‌ها استفاده شدند. فلوراید موجود در آن می‌تواند روی سطوح دندان تا ساعت‌ها بعد از استفاده باقی بماند و یون فلوراید آزاد کند. فلوراید باعث کاهش دیمینرالیزاسیون می‌شود که این اثر را از طریق اثر ضد باکتری و ایجاد هیدروکسی آپاتیت فلوراید که به اسید مقاوم‌تر است، اعمال می‌کند. برخلاف میکروهیدروکسی آپاتیت، نانوهیدروکسی آپاتیت به راحتی می‌تواند در توبول‌های دندان‌های تجمع یابد و انسداد توبولی و کاهش حساسیت را بهبود ببخشد. به دلیل ناحیه سطحی بیشتر، فعالیت بیولوژیک و فعالیت شیمیایی نانوهیدروکسی آپاتیت، اتصال به آپاتیت عاج و مینای دندان را بهبود می‌بخشد (۱۱).

استفاده از مسواک و خمیردندان مهم‌ترین روش بکار رفته برای نگهداری دندان در میان جمعیت‌ها در جهان غرب است که هم برای زیبایی و کمک به پاکسازی دندان و تولید تنفس تازه، هم برای جلوگیری از تشکیل پلاک میکروبی مؤثر است.

Sitthisettapong و همکاران (۱۲) نشان دادند در گروهی که از خمیردندان حاوی فلوراید استفاده شده بود پوسیدگی دندان‌های دیگر گروه‌ها بیشتر بود. همچنین در همه گروه‌های مطالعه (خمیردندان حاوی فلوراید، خمیردندان حاوی CPP-ACP و خمیردندان حاوی هر دو ترکیب) مساحت ناحیه رمینرالیزاسیون با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار داشت. اما اختلاف میانگین مساحت ناحیه رمینرالیزاسیون در گروه‌های مختلف از نظر آماری معنی‌دار نبود. توافق نظر وجود دارد که فلوراید از طریق تداخل فیزیکی و شیمیایی باعث کاهش دیمینرالیزاسیون و افزایش رمینرالیزاسیون می‌شود اما اثر آن نسبی است و به طور کامل نمی‌تواند جلوی پوسیدگی را بگیرد.

در سال ۲۰۱۱ Najibfard و همکاران (۱۳) نیز نشان دادند که خمیردندان حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت در مقایسه با فلوراید رمینرالیزاسیون بیشتری را موجب می‌شود و مانع پیشرفت پوسیدگی می‌شود. همچنین Bennett و همکاران (۷) در سال ۲۰۱۵ در مقاله‌ای تحت عنوان "ارزیابی خمیردندان‌های حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت در

در خمیردندان برای پیشگیری از پوسیدگی است که در بالین و آزمایشگاه نشان داده شده است. از طرف دیگر تأثیر فلوراید به عنوان تنها جزء فعال در خمیردندان برای کاهش حساسیت، نتایج متناقض نشان داد.

در مطالعه کارآزمایی بالینی Vano و همکاران (۱۷) خمیردندان فلوراید هیچ کاهشی در حساسیت ایجاد نکرد که همسو با مطالعه دیگری است که هیچ گونه کاهشی در حساسیت با خمیردندان فلوراید را نشان نداده است. در مقابل، در مطالعه Jena و همکاران (۱۰) به این نتیجه رسیدند که خمیردندان نانو هیدروکسی آپاتیت در کاهش حساسیت دندانی نسبت به فلوراید به دلیل ویژگی رمینرالیزاسیون سطحی و تشکیل آپاتیت بیومیمتیک روی سطح مینا و عاج، بهتر عمل می کند.

در مطالعه سیستماتیک Gul و همکاران (۱۸) در سال ۲۰۲۱، پس از بررسی ۱۳۲ مقاله، به این نتیجه رسیدند که در مطالعات آزمایشگاهی محصولات حاوی نانو هیدروکسی آپاتیت باعث افزایش انسداد توبولی و کاهش نفوذپذیری عاجی می شود و در مطالعات بالینی، نانو هیدروکسی آپاتیت باعث کاهش حساسیت عاجی پس از ۲ تا ۸ هفته استفاده می شود که با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه Farooq و همکاران (۱۹)، ۶۰ دیسک عاجی که با EDTA (ethylene-di amine-tetra acetic acid) اچ شده بودند و توسط نانو هیدروکسی آپاتیت، سدیم فلوراید و بیواکتیوگلاس (BG) درمان شده بودند با میکروسکوپ الکترونی برای بررسی انسداد توبولی مشاهده شدند. بررسی ها نشان داد که بالاترین میزان انسداد توبولی توسط نانو هیدروکسی آپاتیت صورت گرفت و سدیم فلوراید پس از چالش اسید سیتریک از سطح شسته می شد که باعث شد بالاترین ظرفیت بافرینگ و رمینرالیزاسیون پس از تماس با بزاق مصنوعی توسط سدیم فلوراید مشاهده شود. در حالی که کاهش اندکی در خمیردندان حاوی نانو هیدروکسی آپاتیت پس از چالش اسیدی دیده می شد و بالاترین میزان انسداد توبولی در تصاویر SEM به ترتیب در خمیردندان حاوی نانو هیدروکسی آپاتیت و سپس بیواکتیوگلاس و نهایتاً در سدیم فلوراید دیده شد. در مطالعه حاضر، خمیردندان و دهانشویه حاوی نانو هیدروکسی آپاتیت انسداد توبولی بیشتری را نسبت به خمیردندان و دهانشویه حاوی سدیم فلوراید نشان دادند که با مطالعه آن ها همخوانی دارد.

با توجه به مطالعه حاضر، نانو هیدروکسی آپاتیت می تواند یکی از استراتژی های درمانی جهت بازسازی ضایعات پوسیده اولیه باشد و اضافه

نانو هیدروکسی آپاتیت در مقایسه با دهانشویه حاوی فلوراید باعث بهبود میکروهااردنس در دندان ها شده و قدرت بازسازی بالاتری بعد از پوسیدگی از خود نشان داد و همسو با سایر مطالعات (۳۶) بود که نشان دهنده اثرات بازسازی ضایعات توسط نانو هیدروکسی آپاتیت می باشد.

هیدروکسی آپاتیت نوعی فسفات کلسیم است که به بخش اصلی Bioactivity معدنی مینا و عاج شباهت داشته و سازگاری زیستی دارد (۱۱). مطالعات نشان می دهد که هیدروکسی آپاتیت پتانسیل رمینرالیزاسیون ضایعات اولیه را نیز دارد (۱۲). همچنین مشخص شده که نانوذرات هیدروکسی آپاتیت خاصیت زیستی بهتری نسبت به کریستال های درشت تر آن دارند. استفاده از خمیردندان نانو هیدروکسی آپاتیت یکی از استراتژی های درمانی جهت رمینرالیزاسیون و بازسازی پوسیدگی اولیه دندان می تواند باشد.

نتایج مطالعه حاضر نیز اثبات کرد که استفاده از خمیردندان دارای نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۵٪ نسبت به سایر روش ها باعث رمینرالیزاسیون بیشتری در دندان دارای پوسیدگی می گردد. به نظر میزان درصد بیشتر مواد رمینرالیزه و توانایی هم زمان ماندگاری بر سطح دندان پس از استفاده می تواند دلیلی بر رمینرالیزاسیون بیشتر گروه خمیردندان دارای نانو هیدروکسی آپاتیت ۰/۵٪ شده باشد.

از سوی دیگر اساس استفاده از نانو هیدروکسی آپاتیت بر پایه این حقیقت است که می تواند توبول های عاجی باز را ببندد و با آن ها ترکیب شود که به دلیل شباهت به ساختار معدنی دندان است (۱۴). یک توجیه دیگر برای کارآمدی تحریک سلول های عصبی را کاهش و باعث دپلاریزاسیون اعصاب حسی پالپ می شود که انتقال محرک درد را مخدوش می کند (۱۵).

نتایج مطالعه حاضر با مطالعه Cheng و همکاران (۱۶) در سال ۲۰۰۸ که اثر ترکیبی *Galla Chinensis* و نانو هیدروکسی آپاتیت را بر رمینرالیزاسیون ضایعات اولیه بررسی کرد همخوانی دارد. آن ها در مطالعه خود نتیجه گرفتند که افزودن ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت به محلول مورد بررسی به صورت معنی داری سبب افزایش میکروهااردنس نسبت به گروه کنترل منفی می شود. همچنین آن ها عنوان کردند که غلظت ۱۰۰۰ ppm برای ذرات نانو هیدروکسی آپاتیت به همراه ۴۰۰۰ ppm گالیک اسید سبب رمینرالیزاسیون بیشتر مینا می گردد. خمیردندان فلوراید کاهش واضحی در حساسیت دندانی ایجاد نمی کند. فلوراید یک جز مهم

## تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از طرح تحقیقاتی با شماره ۷۰۷۶ و با شناسه اخلاقی IR.SSU.REC.1399.012 با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد انجام شده است، بدین وسیله سپاسگزاری می‌شود.

## References

- 1- Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent*. 2011;39(6):430-7.
- 2- Itthagaru A, Martyn King N, Man Cheung Y. The effect of nano-hydroxyapatite toothpaste on artificial enamel carious lesion progression: an in-vitro pH-cycling study. *Hong Kong Dent J*. 2010;7(2):61-6.
- 3- Issa D, Sherine B, Essam O. Comparison Between Fluoride and Nano-Hydroxyapatite in Remineralizing Initial Enamel Lesion: In-Vitro Study. *J Contemp Dent Prac*. 2018;19(3):306-12.
- 4- Philip N. State of the art enamel remineralization systems: the next frontier in caries management. *Caries res*. 2019;53(3):284-95.
- 5- Kim M, Kwon H, Choi CH, Kim B. Combined effects of nano-hydroxyapatite and NaF on remineralization of early caries lesion. *Key Engineering Materials*. 2007;330-2 II:1347-50
- 6- Amin M, Mehta R, Duseja S, Desai K. Evaluation of the efficacy of commercially available nano-hydroxyapatite paste as a desensitizing agent. *Adv Oral Biol*. 2015;5(1):34-8.
- 7- Bennett T Amaechi, Sapna M Mathews, K Ramalingam, Poornima K Mensinkai. Evaluation of nanohydroxyapatite-containing toothpaste for occluding dentin tubules. *Am J Dent*. 2015;28(1):33-9.
- 8- Ricardo M, Lucas da Fonseca R, Ulisses X, Antônio de M, Ricardo G, Luiz P. Evaluation of 17% EDTA and 10% citric acid in smear layer removal and tubular dentin sealer penetration. *Microsc Res Tech*. 2018;81(3):275-82.
- 9- Ebaa A, Amira M. Effect of Different Remineralizing Agents on White Spot Lesions. *Open Access Macedonian J Med Sci*. 2021;21(9):14-8.
- 10- Jena A, Kala S, Shashirekha G. Comparing the effectiveness of four desensitizing toothpastes on dentinal tubule occlusion: A scanning electron microscope analysis. *J Conserv Dentist*.

شدن نانوهیدروکسی آپاتیت ترجیحا به خمیردندان می‌تواند میکروهاردنس دندان توسط نانوهیدروکسی آپاتیت را افزایش دهد. تعارض منافع  
بنابر اظهار نویسندگان این پژوهش هیچگونه تعارض منافی نداشته است.

- 2017;20(4):269-72.
- 11- Erlind P, Lait Kostantinos B, Gaspare P, Gianluca T, Guido M. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Ann Stomatol (Roma)*. 2014;5(3):108-14.
- 12- Sitthisettapong P, Phantumvanit C, Huebner T, DeRouen T. Effect of CPP-ACP Paste on Dental Caries in Primary Teeth A Randomized Trial. *J Dent Res*. 2012;91(9): 847-52.
- 13- Najibfard K, Ramalingam K, Chedjieu I, Amaechi BT. Remineralization of early caries by a nano-hydroxyapatite dentifrice. *J Clin Dent*. 2011;22(5):139-43.
- 14- Banihashemrad SA, Moosavi Bandarabadi SH, Mokabberi AR, Banihasherad A, Majidinia S. The effect of Chlorhexidine 12% Mouthwash on Microhardness and Elastic Modulus of Dentin and Cementum of Healthy and Periodontally Involved Extracted Teeth. *J Mashhad Dent Sch*. 2021;45(3):230-6.
- 15- Haghgoo R, Haghgou HR, Abbasi F, Tavakkoli M. The effect of nano-hydroxyapatite solution on the permanent tooth remineralization followin exposure to soft beer (in situ). *J Dent Med*. 2015;27(4):233-40.
- 16- Cheng L, Lie J, Hao Y, Zhou X. Effect of compounds of *Galla chinensis* and their combined effects with fluoride on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *J Dent*. 2008;36(5):369-73.
- 17- Vano M, Derchi G, Barone A, Pinna R, Usai P, Covani U. Reducing dentine hypersensitivity with nano-hydroxyapatite toothpaste: a double-blind randomized controlled trial. *Clin Oral investig*. 2018;22(1):313-20.
- 18- Gul H, Ghaffar MA, Kaleem M, Khan AS. Hydroxyapatite, a potent agent to reduce dentin hypersensitivity; systematic review. *J Pakistan Med. Assoc*. 2021;71(11):2604-10.
- 19- Farooq I, Moheet IA, AlShwaimi E. In vitro dentin tubule occlusion and remineralization competence of various toothpastes. *Arch Oral Biol*. 2015;60(9):1246-53.