AJCM
Avicenna Journal of Clinical Medicine
Avicenna J Clin Med, 2023; 30(2): 106-113. Doi: 10.32592/ajcm.30.2.106
https://sjh.umsha.ac.ir

Original Article

Assessment of the Effect of 10% Trypsin and 25% Bromelain on the Micro-Shear Bond Strength of Etch-and-Rinse Adhesive Systems

Ebrahim Yarmohammadi[1], Shahin Kasraei[2], Mohammad Hasan Danesh[3], Fatemeh Zarei[1,*]

[1] Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[2] Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[3] Dentist

Article history:
Received: 17 May 2023
Revised: 19 July 2023
Accepted: 09 August 2023
ePublished: 17 September 2023

***Corresponding author:**
Fatemeh Zarei, Department of Restorative Dentistry, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
Email: zareifateme75@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: The removal of collagen by chemical methods can increase the micro-shear band strength of composite restorations. The present study aimed to investigate the effect of bromelain 25% and trypsin 10% on the micro-shear bond strength of Etch-and-rinse adhesives.

Materials and Methods: After cutting the chewing surface and exposing the dentin to a diameter of 5mm, the samples were randomly assigned to three equal groups (n=45): in the control group, after etching the adhesive surface, a Single Bond was used. In the other group, after etching, the surface was prepared with bromelain enzyme. In the last group, the trypsin enzyme was used to prepare the surface before applying the adhesive. Thereafter, the cylinders of ES Flow composite were placed on the bond surface. Following that, the micro-shear strength of the samples was calculated in megapascals.

Results: There was a significant difference between the mean of the trypsin group and that of the control group (P=0.001), as well as the bromelain group and the control group (P<0.001).

Conclusion: The preparation of etched dentin by trypsin and bromelain enzyme solutions increased the micro-shear bond strength between composite materials and dental dentin in Etch-and-rinse adhesives.

Keywords: Bromelain, Dentin Bonding System, Micro-Shear Bond Strength, Trypsin

Please cite this article as follows: Yarmohammadi E, Kasraei Sh, Danesh M H, Zarei F. Assessment of the Effect of 10% Trypsin and 25% Bromelain on the Micro-Shear Bond Strength of Etch-and-Rinse Adhesive Systems. *Avicenna J Clin Med*. 2023; 30(2): 106-113. DOI: 10.32592/ajcm.30.2.106

Copyright © 2023 Avicenna Journal of Nursing and Midwifery Care. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cite

AJCM
مجله پزشکی بالینی ابن سینا
دوره ۳۰، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۲، صفحات: ۱۱۳-۱۰۶
https://sjh.umsha.ac.ir

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر تریپسین ۱۰درصد و بروملین ۲۵درصد در میزان استحکام باند ریزبرشی سیستم‌های چسبنده‌ی Etch & Rinse

ابراهیم یارمحمدی[۱]، شاهین کسرایی[۲]، محمد حسن دانش[۳]، فاطمه زارعی[۱،*]

[۱] بخش دندان‌پزشکی ترمیمی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۲] بخش دندان‌پزشکی ترمیمی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
[۳] دندان‌پزشک

تاریخچه‌ی مقاله:
دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۷
ویرایش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۸
پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۸
انتشار: ۱۴۰۲/۰۶/۲۶

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

* **نویسنده‌ی مسئول:** فاطمه زارعی، بخش دندان‌پزشکی ترمیمی، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
ایمیل: zareifateme75@yahoo.com

چکیده

سابقه و هدف: حذف کلاژن با روش‌های شیمیایی می‌تواند باعث افزایش استحکام باند ریزبرشی ترمیم‌های کامپوزیتی شود. این مطالعه با هدف تاثیر بروملین ۲۵درصد و تریپسین ۱۰ درصد بر استحکام باند ریزبرشی ادهزیوهای Etch & Rinse انجام شد.

مواد و روش‌ها: پس از تراش سطح جونده و اکسپوز عاج به قطر 5mm، نمونه‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی تقسیم شدند (n=۴۵). درگروه کنترل بعد از اچ، سطح ادهزیو Single Bond به کار رفت. در گروه دیگر بعد از اچ، سطح با آنزیم بروملین آماده‌سازی شد. در گروه آخر از آنزیم تریپسین قبل از کاربرد ادهزیو برای آماده‌سازی سطح استفاده شد. سپس سیلندرهایی از کامپوزیت ES Flow روی سطح باند قرار گرفت. در ادامه، استحکام ریزبرشی نمونه‌ها برحسب مگاپاسکال محاسبه شد.

یافته‌ها: اختلاف معنی‌داری بین میانگین گروه تریپسین و کنترل (P=۰/۰۰۱) و همچنین گروه بروملین و کنترل (P<۰/۰۰۱) وجود داشت.

نتیجه‌گیری: آماده‌سازی عاج اچ‌شده توسط محلول‌های آنزیمی تریپسین و بروملین موجب افزایش استحکام باند ریزبرشی بین مواد کامپوزیتی و عاج دندان در سیستم‌های چسبنده‌ی Etch & Rinse می‌شود.

واژگان کلیدی: استحکام باند ریزبرشی، بروملین، تریپسین، سیستم باندینگ عاجی

استناد: یارمحمدی، ابراهیم؛ کسرایی، شاهین؛ دانش، محمد حسن؛ زارعی، فاطمه. بررسی تأثیر تریپسین ۱۰درصد و بروملین ۲۵درصد در میزان استحکام باند ریزبرشی سیستم‌های چسبنده‌ی Etch & Rinse. مجله پزشکی بالینی ابن‌سینا، تابستان ۱۴۰۲؛۳۰(۲): ۱۱۳-۱۰۶.

مقدمه

امروزه، کاربرد کامپوزیت‌ها و مواد هم‌رنگ دندان، به‌علت زیبایی و سازگاری زیستی بیشتر و همچنین ایجاد باند شیمیایی و میکرومکانیکال با دندان در بازسازی ساختمان ازدست‌رفته‌ی دندان‌ها و اصلاح تغییر رنگ آن‌ها، نسبت به آمالگام و دیگر مواد فلزی به‌طور گسترده‌ای رو به افزایش است [۱].

چسبندگی به دندان در دو نسج مینا و عاج صورت می‌گیرد؛ اما همواره یکی از موضوعات مهم و چالش‌برانگیز دندان‌پزشکی ترمیمی، به‌خصوص دندان‌پزشکی محافظه‌کارانه، تأمین گیرایی و چسبندگی محکم و پایدار مواد به عاج دندان بوده است؛ زیرا عاج نسبت به مینا بستری مرطوب و پویا دارد [۲].

لایه‌ی اسمیر از بافت دندانی هنگام تراش دندان به‌منظور انجام درمان‌های ترمیمی یا زیبایی، در اثر چرخش و اصطکاک فرز، به حالت له‌شده و نیمه‌گسیخته بر روی سطوح تراش‌خورده باقی می‌ماند و از بافت کاملاً جدا نمی‌شود. قسمتی نیز به داخل توبول‌های عاجی فرستاده می‌شود که به آن اسمیر پلاگ می‌گویند [۳،۴]. لایه‌ی اسمیری معمولاً ضخامتی در حدود ۰/۵ الی ۵ میکرومتر دارد؛ اما این ضخامت گاه به ۱۰ تا ۱۵ میکرومتر نیز می‌رسد [۵]. استحکام باند لایه‌ی اسمیر نسبت به عاج

زیرین، ضعیف (۴ تا ۶ مگا پاسکال) است [۳].

در سیستم ادهزیو نسل ۴ و ۵، لایه‌ی اسمیر را اسید حذف می‌کند [۶]. از طرفی، لایه‌ی اسمیر علاوه بر مواد معدنی، حاوی مواد آلی شامل کلاژن و پروتئین‌های بزاقی است؛ لذا با حذف لایه‌ی اسمیر توسط اسید، ژلی بی‌شکل و به‌نسبت نفوذناپذیر بر سطح کلاژن‌های عریان ایجاد می‌شود که به آن «اسمیر کلاژنی» می‌گویند. علل ایجاد اسمیر کلاژنی خشکی بیش‌ازحد ناشی از پوآر هوا و دناتوره‌شدن توسط اسید است. اسمیر کلاژنی می‌تواند مانع نفوذ کامل رزین به داخل عاج دمینرالیزه شود [۸، ۷، ۵] و بر دوام و استحکام باند لایه‌ی هیبریدی اثر منفی بگذارد [۹].

در سال‌های اخیر، علی‌رغم پیشرفت‌هایی که در ادهیژن‌های دندانی شده است، لایه‌ی هیبریدی همچنان شکننده‌ترین ناحیه از نظر استحکام باند است. ادهزیو اچ و شست‌وشو لایه‌ی هیبریدی ساخته‌شده را در گذر زمان تخریب می‌کنند. این تخریب با ازبین‌رفتن الیاف کلاژن و تخریب لایه‌ی هیبریدی و به‌دنبال آن، جذب آب مشخص می‌شود. تشکیل ناقص لایه‌ی هیبریدی و ریزنشت ناشی از آن، باعث ایجاد مشکلات مختلفی می‌شود [۱۰].

باند مؤثر بیشتر به توانایی عامل باندینگ برای نفوذ کامل به داربست کلاژنِ درمعرض بستگی دارد و به‌طور ایدئال، آن را در برابر انواع مسیرهای تخریب آب‌بندی و محافظت می‌کند. به همین ترتیب، ثابت کرده‌اند که اثربخشی باندینگ به تعداد یا طول رزین تگ‌ها بستگی ندارد [۱۱].

در برخی از مطالعات به‌منظور برداشتن این ژل آلی از ماتریکس عاج اچ‌شده، محلول پروتئولیتیک ضعیف هیپوکلریت سدیم (NaOCL) را پیشنهاد کرده‌اند [۱۲-۱۵]. این محلول در کوتاه‌مدت برای بهبود استحکام باند مفید است [۱۶،۱۷]؛ اما خاصیت اکسیدکنندگی ذاتی آن ممکن است در بلندمدت بر پلیمریزاسیون لایه‌ی هیبریدی اثر منفی بگذارد [۱۸].

در برخی از مطالعات، برای برداشتن کامل پروتئوگلیکان‌های سطح عاج اچ‌شده از آنزیم تریپسین استفاده شده است [۱۶، ۷]. به نظر می‌رسد بعد از آماده‌سازی با تریپسین، اجزای آلی در لومن توبول‌ها ناپدید و توبول‌ها گشاد می‌شوند؛ در نتیجه با برداشتن پروتئوگلیکان‌ها، نفوذ مونومرهای ادهزیو به عاج دمینرالیزه و توبول‌های عاجی افزایش می‌یابد و این امر به سطح بینابینی باثبات در طول زمان منجر می‌شود [۲۰، ۱۹].

روشی دیگر برای برداشتن شبکه‌ی کلاژن استفاده از آنزیم‌های پروتئین‌زدا مثل کلاژناز یا آنزیم بروملین است. بروملین پروتئینی است که به‌عنوان آنزیم پروتئاز عمل می‌کند و از میوه و عصاره‌ی آناناس استخراج می‌شود. این آنزیم به‌دلیل محلولیت بالا در آب، سمی‌نبودن و اثر آنتی‌باکتریال به‌طور گسترده در دندان‌پزشکی استفاده می‌شود [۲۰، ۱۹]. نقش آن تسریع هیدرولیز پروتئین‌ها به آمینو اسید است و باعث کاهش محتوای پروتئینی بازشدن توبول‌های عاجی و افزایش انرژی سطح می‌شود که متعاقباً به نفوذ بهتر ادهزیو در دندان منجر می‌شود [۱۵].

این مطالعه تأثیر غلظت ۲۵درصد بروملین و ۱۰درصد تریپسین در استحکام ریزبرشی ادهزیو نسل پنج را بررسی می‌کند. براساس فرضیه‌ی صفر مطالعه‌ی آماده‌سازی سطح اچ‌شده قبل از باند با استفاده از محلول بروملین ۲۵درصد و تریپسین ۱۰درصد تأثیری در استحکام باند ریزبرشی ندارد.

روش کار

تعداد ۲۲۵ دندان پرِمولر سالم انسانی که حداکثر طی سه ماه گذشته با هدف درمان ارتودنسی یا full denture کشیده شده و پوسیدگی، شکستگی، ترمیم و آنومالی مادرزادی نداشتند، جمع‌آوری و طی این مدت در محلول فرمالین ۱۰درصد نگهداری شدند. این دندان‌ها قبل از تقسیم تصادفی به گروه‌های مطالعه، از هرگونه آلودگی و بقایای نسج نرم و جرم دندانی نیز پاک‌سازی شدند. سپس دندان‌ها از ناحیه‌ی ریشه و زیر CEG توسط آکریل معمولی خودسخت‌شونده به‌طول ۱/۵ سانتی‌متر مانت شدند.

در مرحله‌ی بعد، تاج دندان‌ها از ناحیه‌ی ۱/۳ کرونالی با استفاده از دستگاه تریمر (DENTAURUM, Ispringen, Germany) در جهت عمود بر محور طولی دندان تراشیده شدند تا سطحی از عاج به قطر حداقل ۵ میلی‌متر آشکار شود، اما پالپ اکسپوز نشده باشد. برای استاندارد و یکنواخت‌کردن لایه‌ی اسمیر، سطح عاج به‌دست‌آمده با کاغذ سنباده‌ی سیلیکون کارباید (Sof Lex St. Paul, MN, USA) ابتدا با Gritt-p400 و سپس با Grit-p600 که کمی نرم‌تر است، زیر جریان آب صیقل داده شدند. برای ۲۴ ساعت دندان‌ها در آب مقطر ۲۴ درجه‌ی سانتیگراد (دمای اتاق) قرار داده شدند و سپس به‌صورت تصادفی، در سه گروه قرار گرفتند:

۱) آماده‌سازی سطح با محلول آنزیم تریپسین؛
۲) آماده‌سازی سطح با محلول آنزیم بروملین؛
۳) روش رایج Etch & Rinse (گروه کنترل).

در این مرحله هر گروه تحت درمان‌های زیر قرار گرفتند:

الف) گروه کنترل

ابتدا گروه کنترل مطابق روش معمول Etch & Rinse آماده شد. به این صورت که پس از اچ‌کردن سطح عاج با اسید فسفوریک ۳۷درصد (Gel etchant, Kerr Italia SPA, Salerno, Italy) به‌مدت ۱۵ ثانیه و شست‌وشو و گرفتن آب اضافه‌ی سطح آن توسط دستمال کاغذی (به‌روش Blot drying)، عامل باندینگ عاجی(Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, USA در دو لایه به فاصله‌ی ۵ ثانیه توسط برس نایلونی بر سطح عاج اچ‌شده

مالیده شد (rubbing). سپس ۵ ثانیه با پوار ملایم هوا اضافات باندینگ گرفته شد و به‌مدت ۱۰ ثانیه با شدت نور ۱۸۰۰ میلی‌وات بر ثانیه توسط دستگاه لایت‌کیور (Blue- phase, Ivoclar Vivadent, Australia) کیورینگ سیستم باندینگ انجام شد.

بر روی هر نمونه‌ی آماده‌شده، با توجه به وسعت سطح عاجی، دو یا چند استوانه‌ی لاستیکی (Tygon tube) با قطر داخلی ۰/۷۵ و ارتفاع ۱ میلی‌متر قرار داده شد و کامپوزیت ES flow (SPIDENT, Namdong-gu, Incheon, Republic of Korea) با استفاده از پنس معمولی و دستگاه گیره‌ی رومیزی به‌دقت در داخل میکروتیوب‌ها قرار داده شد و با دستگاه لایت‌کیور به‌مدت ۴۰ ثانیه، کیور شد و سپس میکروتیوب‌های لاستیکی به‌دقت جدا شدند. درنهایت، دندان‌ها در ظرف جداگانه‌ای در آب مقطر و در دمای ۲۴ درجه‌ی سانتیگراد (دمای اتاق) نگهداری شدند.

ب) گروه برواملین

ابتدا از انحلال ۲/۵ گرم پودر برواملین (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) در ۱۰ سی‌سی آب مقطر، محلول ۲۵درصد برواملین تهیه شد. سپس روش کار همانند گروه کنترل انجام شد. با این تفاوت که بعد از اِچینگ و قبل از باندینگ، با هدف برداشتن اسمیر کلازنی، مرحله‌ی آماده‌سازی با برواملین انجام شد. به این صورت که بعد از خشک‌کردن عاج اچ‌شده، برواملین ۲۵درصد به‌مدت ۱۵ ثانیه روی عاج، به‌صورت زدن ضربه‌های ریز نوک برس پلاستیکی قرار داده شد. سپس بعد از گذشت ۱۵ ثانیه، سطح به‌مدت ۳۰ الی ۴۵ ثانیه شست‌وشو داده شد و دوباره به‌روش Blot drying توسط دستمال کاغذی خشک شد. بقیه‌ی مراحل همانند گروه کنترل انجام شد.

ج) گروه تریپسین

ابتدا از انحلال یک گرم پودر تریپسین (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) در ۱۰ سی‌سی آب مقطر، محلول ۱۰درصد تریپسین تهیه شد. روش کار و تعداد نمونه‌ها دقیقاً همانند گروه برواملین انجام شد.

مرحله‌ی سیکل‌های حرارتی

هر سه گروه مطالعه‌شده در توری‌های پلاستیکی جداگانه‌ای به شماره‌های ۱ و ۲ و ۳ در دستگاه حمام ترموسیکل، تحت ۳۰۰۰ سیکل حرارتی به شرح زیر قرار گرفتند:

کل مدت انجام کار: ۶ روز

در هر روز: ۵۰۰ سیکل حرارتی

هر سیکل حرارتی: به‌مدت ۹۰ ثانیه به‌صورت ۳۰ ثانیه در حمام آب با دمای (۵±۱) درجه‌ی سانتیگراد و ۳۰ ثانیه در دمای ۲۴ درجه‌ی سانتیگراد و ۳۰ ثانیه در حمام آب با دمای (۵۵±۱) درجه‌ی سانتیگراد

مرحله‌ی انجام تست ریزبرشی

به‌منظور بررسی استحکام باند ریزبرشی از دستگاه Micro Shear Tester ساخت ایران استفاده شد. نمونه‌ها از ناحیه‌ی آکریل مانت‌شده بر روی بازوی دستگاه نصب شدند. سپس یک سیم ارتودنسی نازک و نرم (ligature wire) به قطر یک میلی‌متر به‌صورت حلقه، دور هر سیلندر کامپوزیتی قرار داده شد، به‌طوری که لوپ فلزی نیمه‌تحتانی محیط سیلندر را در برگرفت و در تماس با سطح عاجی دندان (به‌صورتی که لوپ فلزی در امتداد مسیر حرکت Load cell قرار داشت) نصب شد.

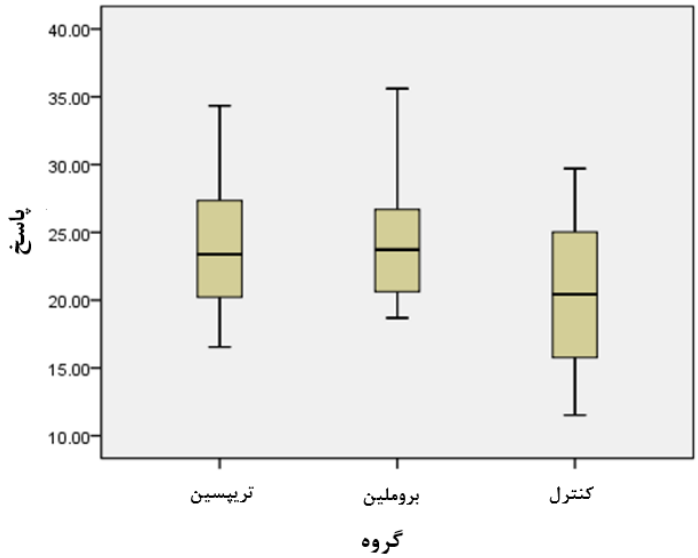
نمونه‌ها تحت نیروی ریزبرشی با سرعت یک میلی‌متر در دقیقه تا زمان جدایی یا شکست باندینگ از سطح دندان قرار گرفتند. نیروی واردشده برحسب نیوتن در زمان شکست برای هر دندان ثبت و میزان استرس واردشده با تقسیم نیرو بر سطح مقطع سیلندرهای رزینی برحسب مگاپاسکال محاسبه شدند. درنهایت از تعداد ۲۲۵ نمونه، تعداد ۱۳۵ (هر گروه ۴۵) تست صحیح به دست آمد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با به‌کارگیری روش‌های آمار توصیفی و استنباطی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ انجام شده است. به‌منظور مقایسه‌ی میانگین اندازه‌ی استحکام باند ریزبرشی سه گروه مطالعه‌شده، روش‌های تحلیل آنالیز یک‌طرفه و آزمون‌های تعقیبی همانند LSD استفاده شدند. شایان ذکر است که قبل از انجام تحلیل‌های آماری، فرض برقراری توزیع نرمال متغیر اندازه‌های استحکام باند در هر یک از سه گروه مطالعه آزموده شد.

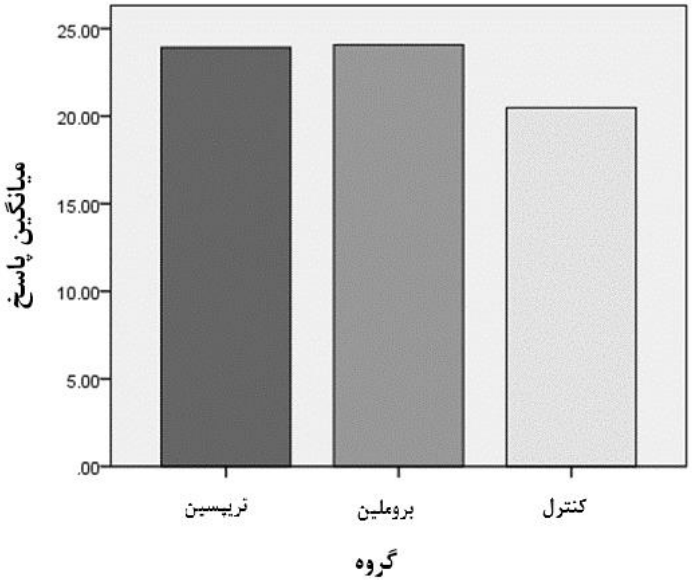
نتایج

داده‌های این پژوهش شامل اندازه‌ی استحکام ریزبرش باندینگ Etch & Rinse در سه گروه تریپسین، برواملین و گروه کنترل است. تعداد واحدهای آزمایش در هر سه گروه یکسان و به‌اندازه‌ی ۴۵ واحد است.

بررسی شهودی میانگین اندازه‌ی استحکام باند حاکی از نزدیکی سه میانگین به یکدیگر است (شکل ۱ و ۲). اندازه‌ی میانگین استحکام باند در گروه تریپسین و برواملین به یکدیگر نزدیک‌تر و بالاتر از اندازه‌ی میانگین در گروه کنترل است. اندازه‌ی فاصله‌ی اطمینان ۹۵درصد برای اندازه‌ی میانگین استحکام باند در سه گروه در جدول ۱ مشاهده می‌شود. برای بررسی بیشتر با استفاده از آزمون آنالیز واریانس به مقایسه‌ی اندازه‌ی میانگین سه گروه پرداخته شد. لازم است ذکر کنیم که ابتدا به بررسی فرض برقراری توزیع نرمال پاسخ استحکام باند در سه گروه با استفاده از آزمون کولموگروف اسمیرنوف پرداخته شده است. نتایج آزمون کولموگروف اسمیرنوف بیانگر برقراری توزیع نرمال در سه گروه است. اندازه مقداراحتمال برای هر سه گروه به اندازه‌ی ۰/۲ است.



شکل ۱: نمودار جعبه‌ای برای اندازه‌ی استحکام باند درسه گروه مطالعه‌شده



شکل ۲: نمودار ستونی اندازه‌ی میانگین استحکام باند در سه گروه مطالعه‌شده

براساس نتایج آزمون آنالیز واریانس، فرض برابری میانگین‌های سه گروه در سطح معنی‌داری پنج‌درصد برقرار نیست ($P < ۰/۰۰۱$). برای بررسی اختلاف میانگین‌ها به‌وسیله‌ی آزمون‌های تعقیبی به مقایسه‌ی دوبه‌دو میانگین‌های سه گروه پرداخته شد. نتایج آزمون‌های تعقیبی LSD حاکی از وجود اختلاف در سطح معنی‌داری پنج‌درصد بین دو گروه تریپسین و بروملین با گروه کنترل است (جدول ۲). به این ترتیب، اختلاف معنی‌داری بین اندازه‌ی میانگین گروه تریپسین ($P=۰/۰۰۱$) و گروه کنترل و همچنین گروه بروملین و گروه کنترل ($P<۰/۰۰۱$) وجود دارد.

جدول ۱: اندازه‌ی میانگین استحکام باند در سه گروه مطالعه‌شده

گروه	میانگین (انحراف معیار)	فاصله‌ی اطمینان		آماره‌ی F	مقداراحتمال
		حد پایین	حد بالا		
تریپسین	۲۳/۹۳ (۰/۷۱)	۲۲/۹۴	۲۵/۳۶	۸/۳۸	* P<۰/۰۰۱
بروملین	۲۴/۰۶ (۰/۵۶)	۲۲/۹۴	۲۵/۱۹		
کنترل	۲۰/۴۸ (۰/۸۱)	۱۸/۸۴	۲۲/۱۲		

(*) نتیجه‌ی آزمون آنالیز واریانس در سطح معنی‌داری پنج‌درصد معنی‌دار است.

جدول ۲: نتایج آزمون تعقیبی LSD

گروه		میانگین اختلاف (انحراف معیار)	مقداراحتمال
تریپسین	برواملین	(۰/۹۹) -۰/۱۴	۰/۸۹
کنترل	تریپسین	(۰/۹۹)۳/۴۵	۰/۰۰۱ *
کنترل	برواملین	(۰/۹۹)۳/۵۸	P<۰/۰۰۰۱ *

(*) اختلاف معنی‌دار در سطح پنج‌درصد بین میانگین‌های دو گروه.

بحث

یکی از اصول اساسی برای ایجاد چسبندگی خوب، تمیزی سطوح باند برای برقراری تماس مناسب بین این سطوح و مواد ادهزیو است [۱۲, ۳, ۲].به عبارت دیگر، برای ایجاد چسبندگی بهتر بین ماده‌ی ترمیم‌کننده و عاج، باید لایه‌ی شل اسمیر و مواد آلی از سطح عاج جدا شوند.

عاج حاوی متالوپروتئینازهای ماتریکس (MMPs) و سیستئین کاتپسین است. این پروتئین‌ها پس از استفاده از اسید فسفریک روی سطح عاج فعال می‌شوند که با ایجاد اختلال در شبکه‌ی کلاژن، پیوند بین رزین و عاج را به خطر می‌اندازند [۲۱].

امروزه، تقاضای بیماران برای ترمیم‌های کامپوزیت هم‌رنگ دندان، به‌دلیل زیبایی ظاهری، در حال افزایش است [۲۲]. با این حال، چسبندگی مناسب به عاج هنوز موضوعی بحث‌برانگیز است [۱۹].

استفاده از عوامل پروتئولیتیک با کاهش محتوای پروتئین عاج اچ‌شده می‌تواند عمق نفوذ مونومرها را به ماتریکس کلاژن دمینرالیزه‌شده افزایش دهد و لایه‌ی هیبریدی پایدارتری تشکیل دهد [۱۵].

اسید اچ نوعی ژل آمورف متشکل از کلاژن دناتوره‌شده و شکننده بر روی عاج اچ‌شده ایجاد می‌کند. این فیبرهای کلاژن که توسط کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت و رزین احاطه نشده‌اند، در معرض هیدرولیز هستند. برای جلوگیری از این تخریب‌های بیولوژیکی، راه‌های مختلفی مانند حذف کلاژن غیرمعدنی و استفاده از مهارکننده‌هایMMP پیشنهاد شده است [۲۱, ۲۰].

هیپوکلریت سدیم (NaOCL) یکی از عوامل پروتئولیتیک شناخته‌شده برای حذف مواد آلی است. سطح عاج تیمارشده با NaOCL سرشار از کریستال‌های هیدروکسی آپاتیت است که در طول زمان، سطحی بینابینی و پایدارتر ایجاد می‌کند. با این حال، استفاده از هیپوکلریت سدیم (NaOCL) برای پروتئین‌زدایی عاج اسید اچ‌شده چندین عیب دارد: علاوه بر سمی‌بودن و داشتن طعم و بوی نامناسب، باعث ایجاد ناحیه‌ی شکننده می‌شود [۲۴, ۲۳]؛ بنابراین، امروزه روش‌های جدیدی برای آماده‌سازی سطح عاج پیشنهاد شده است که از آن جمله می‌توان به استفاده از آنزیم‌های بروملین و تریپسین اشاره کرد [۲۰].

تریپسین پروتئینی است که از سلول‌های پانکراس صورت پروآنزیم ترشح می‌شود و به هضم پروتئین‌ها کمک می‌کند [۲۰].

بروملین ماده‌ی اصلی آناهیل و ترکیبی از آنزیم‌های پروتئولیتیک استخراج‌شده از گیاه آناناس است. بروملین آنزیم کلاژناز را فعال می‌کند و به هیدرولیز کلاژن غیرطبیعی و تغییرشکل‌یافته در بافت منجر می‌شود [۲۴].

مطالعه‌ی حاضر بر Single Bond (3M ESPE, St. Paul, MN, USA)انجام شد. مشخص شد که کاربرد جداگانه‌ی بروملین و تریپسین بر روی سطح عاج اچ‌شده، استحکام باند را نسبت به گروه کنترل افزایش داد و این افزایش در هر دو گروه به هم نزدیک بود.

این مطالعه نشان داد که استفاده از محلول آنزیم‌های پروتئین‌زدای بروملین و تریپسین بر روی عاج اچ‌شده از نظر آماری، تأثیر معنی‌داری بر میانگین استحکام باند ریزبرشی نمونه‌ها دارد؛ بنابراین، فرضیه‌ی صفر پژوهش رد شد.

در مطالعه‌یKirti Chauhan و همکاران، اثر بروملین و هیپوکلریت سدیم بر استحکام باند برشی بررسی شد. نتیجه‌گیری شد که حذف فیبر کلاژن پشتیبانی‌نشده با آنزیم بروملین پس از اسید اچ به بهبود استحکام باند منجر می‌شود که هم‌راستا با نتایج این پژوهش است [۲۲].

مطالعه‌یSharafeddin و همکاران نشان داد که استفاده از آنزیم پاپایین با سیستم باند self-etch باعث افزایش مقدار استحکام باند برشی شد. علاوه بر این، استفاده از آنزیم بروملین بر سطح عاج قبل از سیستم باند self-etch و Total- etch و پاپایین قبل از سیستم ادهزیوTotal- etch تأثیری بر مقدار استحکام باند برشی کامپوزیت به عاج سطحی نداشت [۲۵].

در مطالعه‌یSiqueira نشان داده شد که استفاده از هیپوکلریت سدیم ممکن است پایداری طولانی‌مدت سطح بینابینی عاج فرسایش‌یافته توسط رزین را (توسط ادهزیوهای اچ و شست‌وشو و خود اچ تشکیل شده است) حفظ کند. این مطالعه تأثیر استفاده از مواد پروتئین‌زدا را بر افزایش دوام باند به عاج تأیید می‌کند [۲۶].

در مطالعه‌ی Farina و همکاران، از تریپسین برای هدف قراردادن پروتئوگلیکان‌ها به‌عنوان پروتئین اتصال‌دهنده به آب استفاده شد که نتایج نشان داد تغییر انرژی سطحی عاج با حذف پروتئوگلیکان‌ها چسبندگی رزین را احتمالاً به‌دلیل جابه‌جایی کارآمدتر آب، کمک به بهبود نفوذ رزین و پلیمریزاسیون بهبود می‌بخشد [۲۷].

در مطالعه‌ی Ramsa Khan و همکاران، بروملین ۱۰ و ۵درصد

و هیپوکلریت سدیم بعد از اچ عاج استفاده شد. این مطالعه به این نتیجه رسید که برش بروملین بیشترین مقدار را برای استحکام باند برشی دارد. استحکام باند به‌دلیل حذف فیبر کلاژن پشتیبانی‌نشده با آنزیم بروملین، پس از اچ‌کردن با اسید بهبود یافت [۱۹].

در مطالعه‌ی Dayme و همکارانش، استفاده از بروملین به خارج‌شدن شبکه‌ی کلاژن و کاهش درخور توجه امتیاز نشت جهانی سیستم باندینگ منجر شد [۹]. کاهش چشمگیر نمره‌ی نشت جهانی نشان‌دهنده‌ی افزایش درخور توجه استحکام باند بین ماده‌ی ترمیم‌کننده و دندان است که با نتایج مطالعه‌ی ما درباره‌ی حذف اسمیر کلاژن و افزایش قابل توجهی در میانگین استحکام باند ریزبرشی مطابقت دارد.

در مطالعه‌ی کسرایی و همکاران، اثر بروملین و تریپسین بر ریزنشت ادهزیوهای اچ و شست‌وشو بررسی شد که استفاده از این دو ماده باعث کاهش معنادار ریزنشت در مارجین لثه‌ای شد [۲۰].

در مطالعه‌ی Lisboa و همکارانش، تأثیر پروتئین‌زدایی عاج بر استحکام باند self-adhesive سمان‌های رزینی بررسی شد. نتایج تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های این تحقیق حاکی از استحکام باند قوی‌تر در گروه deprotonization با هیپوکلراید سدیم و سمان BisCemنسبت به سایر گروه‌ها بود [۲۸]. استحکام باند قوی‌تر در گروه deprotonization با هیپوکلریت سدیم، نشان‌دهنده‌ی حذف اسمیر کلاژن از سطح عاج اچ‌شده است که با انتظارات و نتایج مطالعه‌ی ما مطابقت دارد.

در مطالعه‌ای که اثر هیپوکلریت سدیم بر استحکام باند برشی سیستم Prime&Bond NT بررسی شد، افزایشی در استحکام باند مشاهده نشد که ممکن است به‌دلیل وجود نانوفیلر در سیستم ادهزیو یا تغییرات اکسیداتیو در عاج خالی از کلاژن باشد [۲۱].

در مطالعه‌ی Perreira و همکارانش، کاهش درخور توجهی در استحکام باند ادهزیوها با پایه‌ی استون، پس از حذف (C4S-GAG) کندرویتین۴ سولفات گلیکوز آمینو گلیکان مشاهده شد. از نظر آماری، اگرچه یافته‌های مطالعه‌ی آن‌ها با نتایج این مطالعه هم‌خوانی ندارد، درباره‌ی حذف مواد آلی توسط تریپسین در هر دو مطالعه اتفاق‌نظر وجود دارد [۲۹]. پژوهشی دیگر با هدف تعیین اثر تریپسین بر حذف پروتئوگلیکان‌های کندرویتین سولفات -CS (PGs) در دندان‌های دمینرالیزه‌شده و همچنین اثر آن بر باند عاجی انجام شد. یافته‌های این مطالعه نتایج تحقیقات انجام‌شده توسط Perreira را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که آنزیم تریپسین استحکام باند رزین عاج را در هر دو گروه مرطوب و دوباره مرطوب‌شده کاهش می‌دهد [۳۰]. نتایج این دو مطالعه از نظر آماری با مطالعه‌ی حاضر که تریپسین استحکام باند را به میزان درخور توجهی افزایش داده است، مغایرت دارد. دلیل کاهش استحکام باند در این دو مطالعه اثربخشی بیش‌ازحد تریپسین (۴۸ ساعت) است.

در این مطالعه یک نوع رزین باندینگ عاجی استفاده شد. مقایسه‌ی چند نوع باندینگ عاجی در مطالعات بعدی می‌تواند اطلاعات دقیق‌تری برای استفاده از این رزین‌ها به دست دهد. بهتر است به‌منظور بررسی این آنزیم‌ها در محیط دهان، مطالعات بالینی انجام گیرد. عواملی مانند زمان کاربرد، pH، غلظت و مقدار محلول در عملکرد آنزیم مؤثر است. با ایجاد تغییر در هریک از این عوامل و مقایسه‌ی نتایج حاصل از آن‌ها می‌توان به یک سیستم باندینگ مناسب یا ایدئال رسید.

نتیجه‌گیری

یافته‌ها نشان داد که در مراحل اجرایی این مطالعه، به‌کارگیری محلول آنزیم تریپسین ۱۰درصد و بروملین ۲۵درصد بر روی عاج اچ‌شده، موجب افزایش استحکام باند ریزبرشی سیستم‌های چسبنده Etch & Rinse در مقایسه با کنترل‌کننده می‌شوند.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکتری عمومی دندان‌پزشکی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان گرفته شده است. بدین وسیله نویسندگان از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان تشکر و قدردانی می‌کنند.

تضاد منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

ملاحظات اخلاقی

کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه‌ی IR.UMSHA.REC.1396.810 انجام این مطالعه را تأیید کرده است.

سهم نویسندگان

نویسنده‌ی اول (پژوهشگر اصلی): طراحی پروژه و نظارت بر اجرای طرح، تدوین بخش‌های مختلف طرح، مشارکت در نگارش مقاله (۳۰درصد)؛ نویسنده‌ی دوم (پژوهشگر همکار): مشاور علمی، مشارکت در طراحی پروژه، تفسیر نتایج، ویرایش علمی مقاله (۳۰درصد)؛ نویسنده‌ی سوم (پژوهشگر اصلی): تدوین پروپوزال، جمع‌آوری نمونه‌ها، مشارکت در تدوین بخش‌های مختلف طرح (۲۰درصد)؛ نویسنده‌ی چهارم (پژوهشگر همکار): مسئول مکاتبات، مبانی نظری، تدوین بخش روش‌شناسی ، نگارش مقاله (۲۰درصد).

حمایت مالی

این طرح را معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان حمایت مالی کرده است.

REFERENCES

1. Menon A, Ganapathy DM, Mallikarjuna AV. Factors that influence the colour stability of composite resins. *Drug Invent*. 2019;**11**(3):744-9.
2. Powers JM, Sakagauchi RL, Craig RG. Restorative dental materials. Mosby, Missouri; 2006.
3. Kowsari A, Seraj B, Pasdar N. An evaluation on shear strength of composite resin bonded to primary teeth dentin after Nd: YAG laser radiation. *JDM*. 2002;**15**(1):46-54.
4. Dautel-Morazin A, Vulcain J-M, Bonnaure-Mallet M. An

ultrastructural study of the smear layer: comparative aspects using secondary electron image and backscattered electron image. *J Endod.* 1994;**20** (11):531-4. PMID: 7643035 DOI: 10.1016/S0099-2399(06)80066-X
5. Van Meerbeek B, Perdigao J, Lambrechts P, Vanherle G. The clinical performance of adhesives. *J Dent.* 1998; **26**(1):1-20. PMID: 9479920 DOI: 10.1016/s0300-5712(96)00070-x
6. Motamedi M, Alavi S, Abbasi M. In vitro comparison of the shear bond strength of "Etch & Rinse" vs "Self-Etch" bonding systems on dentin after "Nonvital Tooth Bleaching". *J Mashhad Dental School*. 2010;34(3):237-46. DOI: 10.22038/JMDS.2010.1191
7. Gwinnett A, Yu S. Effect of long-term water storage on dentin bonding. *Am J Dent.* 1995;**8**(2):109-11. PMID: 7546480
8. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, et al. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res.* 2003;**82**(2):136-40. PMID: 12562888 DOI: 10.1177/154405910308200212
9. Dayem RN, Tameesh MA. A new concept in hybridization: Bromelain enzyme for deproteinizing dentin before application of adhesive system. *Contemp Clin Dent*. 2013;**4**(4):421-6. PMID: 24403782 DOI: 10.4103/0976-237X.123015
10. Zheng P, Chen H. Evaluate the effect of different mmps inhibitors on adhesive physical properties of dental adhesives, bond strength and mmp substarte activity. *Sci Rep*. 2017;**7**(1):1-11. DOI: 10.1038/s41598-017-04340-1
11. Matos AB, Trevelin LT, Silva BT, Francisconi-Dos-Rios LF, Siriani LK, Cardoso MV. Bonding efficiency and durability: current possibilities. *Braz Oral Res.* 2017;**31**:e57. PMID: 28902237 DOI: 10.1590/1807-3107BOR-2017.vol31.0057
12. Summitt JB, Robbins JW, Hilton TJ, Schwartz RS. Fundamentals of operative dentistry: a contemporary approach. Quintessence Publishing; 2006.
13. Osorio R, Erhardt MC, Pimenta LA, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin-dentin bonds' resistance to degradation. *J Dent Res.* 2005;**84**(8):736-40. PMID: 16040732 DOI: 10.1177/154405910508400810
14. Cecchin D, Farina AP, Galafassi D, Barbizam JV, Corona SA, Carlini-Júnior B. Influence of sodium hypochlorite and edta on the microtensile bond strength of a self-etching adhesive system. *J Appl Oral Sci*. 2010;**18**(4):385-9. PMID: 20835574 DOI: 10.1590/s1678-77572010000400011
15. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldeli S, et al. Strategies to prevent hydrolytic degradation of the hybrid layer—a review. *Dent Mater.* 2013;**29**(10):999-1011. PMID: 23953737 DOI: 10.1016/j.dental.2013.07.016
16. Reis A, Giannini M, Pereira P. Influence of water-storage time on the sorption and solubility behavior of current adhesives and primer/adhesive mixtures. *Oper Dent.* 2007;**32**(1):53-9. PMID: 17288329 DOI: 10.2341/06-13
17. Moszner N, Salz U, Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel–dentin adhesives: a systematic review. *Dent Mater*. 2005;**21**(10):895-910. PMID: 16038969 DOI: 10.1016/j.dental.2005.05.001
18. Gwinnett A. Altered tissue contribution to interfacial bond strength with acid conditioned dentin. *Am J Dent*. 1994;**7**(5):243-6. PMID: 7986445
19. Khan R, Sharma N, Garg Y, Kumar G, Garg K, Aleemuddin M. Comparison of different dentin deproteinizing agents on the shear bond strength of resin-bonded dentin. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2020;**13**(1):69-77. PMID: 34434017 DOI: 10.5005/jp-journals-10005-1877
20. Kasraie S, Yarmohammadi E, Farhadian M, Malek M. Effect of bromelain and trypsin on microleakage of etch-and-rinse adhesive systems. *J Stomatol*. 2020;**73**(4):183-92.
21. Aguilera FS, Osorio R, Osorio E, Moura P, Toledano M. Bonding efficacy of an acetone/based etch-and-rinse adhesive after dentin deproteinization. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012;**17**(4):649-54. PMID: 22322501 DOI: 10.4317/medoral.17717
22. Chauhan K, Basavanna RS, Shivanna V. Effect of bromelain enzyme for dentin deproteinization on bond strength of adhesive system. *J Conserv Dent*. 2015;**18**(5):360-3. PMID: 26430297 DOI: 10.4103/0972-0707.164029
23. Abuhaimed TS, Abou Neel EA. Sodium hypochlorite irrigation and its effect on bond strength to dentin. BioMed research international. 2017;**2017**:1930360. PMID: 28904947 DOI: 10.1155/2017/1930360
24. Bellenger V, Verdu J, Morel E. Structure-properties relationships for densely cross-linked epoxide-amine systems based on epoxide or amine mixtures. *J Mater Sci.* 1989;**24**(1):63-8. DOI: 10.1007/BF00660933
25. Sharafeddin F, Safari M. Effect of papain and bromelain enzymes on shear bond strength of composite to superficial dentin in different adhesive systems. *J Contemp Dent Pract.* 2019;**20**(9):1077-81. PMID: 31797833
26. Siqueira F, Cardenas A, Gomes G, Chibinski A, Gomes O, Bandeca M, et al. Three-year effects of deproteinization on the in vitro durability of resin/dentin-eroded interfaces. *Oper Dent*. 2018;**43**(1):60-70. PMID: 29284095 DOI: 10.2341/16-308-L
27. Farina AP, Cecchin D, Vidal CM, Leme-Kraus AA, Bedran-Russo AK. Removal of water binding proteins from dentin increases the adhesion strength of low-hydrophilicity dental resins. *Dent Mater.* 2020; **36**(10):302-8. PMID: 32811665 DOI: 10.1016/j.dental.2020.07.004
28. Lisboa DS, Santos SV, Griza S, Rodrigues JL, Faria-e-Silva AL. Dentin deproteinization effect on bond strength of self-adhesive resin cements. *Braz Oral Res*. 2013;**27**(1):73-5. PMID: 23306629 DOI: 10.1590/s1806-83242013000100013
29. Pereira PNR, Bedran-de-Castro A, Duarte WR, Yamauchi M. Removal of noncollagenous components affects dentin bonding. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2007;**80**(1):86-91. PMID: 16680689 DOI: 10.1002/jbm.b.30572
30. Bedran-Russo AK, Pereira PN, Duarte WR, Okuyama K, Yamauchi M. Removal of dentin matrix proteoglycans by trypsin digestion and its effect on dentin bonding. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2008;**85**(1):261-6. DOI: 10.1002/jbm.b.30944