

## Evaluation of Epithelial Cells of Oral Mucosae in Patients with Fixed Orthodontic Appliance

A. Shiva (DDS, MS)<sup>1</sup>, F. Moaddabi (DDS)<sup>2</sup>, S. Arab (PhD)<sup>3</sup>, M. Khatami (DDS, MS)<sup>4</sup>,  
M. Zamanzadeh (DDS, MS)<sup>1</sup>, M. Koochek Dezfouli (DDS, MS)<sup>1</sup>,  
A. Hossein Nataj (PhD)<sup>2</sup>, P. Namdar (DDS, MS)<sup>\*5</sup>

1. Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran.

2. Dental Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran.

3. Clinical Biochemist, Mazandaran, Sari, I.R.Iran.

4. Periodontist, Mazandaran, Sari, I.R.Iran.

5. Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran.

\*Corresponding Author: P. Namdar (DDS, MS)

Address: Department of Orthodontics, Faculty of Dentistry, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, I.R.Iran.

Tel: +98 (11) 33241314. E-mail: dds.pnamdar@gmail.com

### Article Type ABSTRACT

#### Research Paper

**Background and Objective:** Orthodontic appliances are usually in contact with the oral mucosa for a long time due to the length of the long-term treatment and are associated with problems due to the continuous contact and friction created. This study was conducted to investigate the epithelial cells of the mucosa of patients with fixed orthodontic appliances.

**Methods:** In this cross-sectional study, smears were collected from three separate areas in 150 patients referred to the dental clinic of Mazandaran University: Area A (slide A): oral mucosa exposed to friction caused by orthodontic brackets, area B (slide B): oral mucosa exposed to friction with the tube on the orthodontic tape and Area C (slide C): oral mucosa without friction, i.e., the lower area of the oral cavity (control area). For histomorphometric analysis, each slide was evaluated with Papanicolaou staining using a light microscope, and the nuclear area (NA), cytoplasmic area (CA), and the ratio of nuclear area to cytoplasmic area (NA/CA) were recorded in square micrometers.

**Findings:** The mean NA was  $65.66 \pm 22.11$ , CA was  $717.37 \pm 1846.53$ , and NA/CA was  $0.037 \pm 0.010$  square meters. The difference in NA and CA between slides was significant ( $p < 0.001$ ) (slide A < slide B < slide C) and NA/CA in slide A was significantly higher than the others. The only normal smear (class 1) and normal smear with inflammatory cells (class 2) were observed, and in terms of both NA and CA, slide C (control) had the highest amount. In terms of NA/CA in a normal smear, slide number 1 had the highest value.

**Conclusion:** The findings of the study indicate that fixed orthodontic treatment has a significant impact on the nuclear and cytoplasmic area of affected areas compared to non-affected areas. Only some degree of inflammation may be seen in the areas exposed to the orthodontic appliance.

**Keywords:** Epithelial Cells, Oral Mucosa, Fixed Orthodontics, Histomorphometry, Papanicolaou Staining, Orthodontic Appliances, Cytotoxicity.

#### Received:

Jun 2<sup>nd</sup> 2023

#### Revised:

Jul 7<sup>th</sup> 2023

#### Accepted:

Sep 17<sup>th</sup> 2023

**Cite this article:** Shiva A, Moaddabi F, Arab S, Khatami M, Zamanzadeh M, Koochek Dezfouli M, et al. Evaluation of Epithelial Cells of Oral Mucosae in Patients with Fixed Orthodontic Appliance. *Journal of Babol University of Medical Sciences*. 2024; 26: e44.

## بررسی سلول‌های اپیتلیال مخاط دهان در بیماران دارای دستگاه ارتودنسی ثابت

آتنا شیوا<sup>۱</sup>(DDS, MS)، فاطمه مودبی<sup>۲</sup>(DDS)، شهین عرب<sup>۳</sup>(PhD)،  
مازیار خاتمی<sup>۴</sup>(DDS, MS)، مریم زمان زاده<sup>۱</sup>(DDS, MS)، محمد کوچک دزفولی<sup>۱</sup>(DDS, MS)،  
ابوالفضل حسین نتاج<sup>۲</sup>(PhD)، پرستو نامدار<sup>۵</sup>(DDS, MS)

۱. گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. متخصص بیوشیمی بالینی، مازندران، ساری، ایران

۴. متخصص پروتنتولوژی، مازندران، ساری، ایران

۵. گروه ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

### نوع مقاله

### چکیده

#### مقاله پژوهشی

**سابقه و هدف:** اپالینس‌های ارتودنسی معمولاً با توجه به طول درمان طولانی، مدت زمان زیادی در تماس با مخاط دهان هستند و به دنبال تماس مداوم و اصطکاک ایجاد شده، با مشکلاتی همراه هستند. این مطالعه با هدف بررسی سلول‌های اپیتلیال مخاط بیماران با اپالینس ارتودنسی ثابت، انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه مقطعی، اسمیر از سه منطقه مجزا ۱۵۰ نفر از بیماران مراجعه کننده به کلینیک دندانپزشکی دانشگاه مازندران جمع آوری شد: منطقه A (لام A): مخاط دهان در معرض اصطکاک ناشی از براکت‌های ارتودنسی، منطقه B (لام B): مخاط دهان در معرض اصطکاک با لوله بر روی نوار ارتودنسی و منطقه C (لام C): مخاط دهان بدون اصطکاک، در واقع ناحیه پایین حفره دهان (ناحیه کنترل). جهت آنالیز هیستومورفومتری هر لام با رنگ آمیزی پاپانیکولاو با استفاده از میکروسکوپ نوری مورد ارزیابی قرار گرفت و ناحیه هسته‌ای (NA)، سیتوپلاسمی (CA) و نسبت ناحیه هسته‌ای به سیتوپلاسمی (NA/CA) بر حسب میکرومتر مربع ثبت گردید.

**یافته‌ها:** میانگین NA برابر  $65/66 \pm 22/11$  و میانگین CA برابر  $717/37 \pm 1846/53$  و میانگین NA/CA برابر  $0/037 \pm 0/010$  میکرومتر مربع بود. اختلاف NA و CA بین لام‌ها معنی‌دار بود ( $p < 0/001$ ) (لام  $A > B > C$ ) و NA/CA در لام A به طور معنی‌داری از بقیه بیشتر بود. در لام‌های مورد بررسی، فقط اسمیر نرمال (کلاس ۱) و اسمیر نرمال به همراه سلول‌های التهابی (کلاس ۲) مشاهده شد که در هر دو، از نظر NA و CA لام شماره C (کنترل) بیشترین مقدار را داشت. از نظر NA/CA در اسمیر نرمال، لام شماره A دارای بیشترین مقدار بود.

دریافت:

۱۴۰۲/۳/۱۲

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه، درمان ارتودنسی ثابت تأثیر قابل توجهی بر ناحیه هسته‌ای و سیتوپلاسمی نواحی آسیب دیده نسبت به نواحی غیر مبتلا دارد و همچنین درجاتی از التهاب در نواحی در معرض دستگاه ارتودنسی احتمالاً دیده می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** سلول‌های اپیتلیالی مخاط دهان، ارتودنسی ثابت، هیستومورفومتری، رنگ‌آمیزی پاپانیکولاو، اپالینس ارتودنسی، سیتوتوکسیسیته.

اصلاح:

۱۴۰۲/۴/۱۶

پذیرش:

۱۴۰۲/۶/۲۶

**استناد:** آتنا شیوا، فاطمه مودبی، شهین عرب، مازیار خاتمی، مریم زمان زاده، محمد کوچک دزفولی و همکاران. بررسی سلول‌های اپیتلیال مخاط دهان در بیماران دارای دستگاه ارتودنسی ثابت. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بابل. ۱۴۰۳؛ ۲۶: ۴۴.

## مقدمه

ناهنجاری دندانی در واقع یک انحراف از رشد و تکامل طبیعی و خروج از استانداردهای طبیعی زیبایی در یک جامعه می باشد که بر روی عضلات و استخوان ها در سنین نوجوانی و جوانی تأثیر می گذارد. دندان های نامنظم می توانند به دلیل اثراتی که روی زیبایی فرد می گذارند سبب مشکلات روحی اجتماعی فرد گردند و به طور قابل توجهی کیفیت زندگی فرد را تحت تأثیر قرار دهند (۱و۲). اختلالات عملکردی دندان ها مثل جویدن و صحبت کردن و نیز بالا بردن احتمال ضربه در تصادف ها و مشکلات پریدنتال از دیگر مسایلی است که با وجود مال اکلوژن ایجاد می گردد (۳). حفره دهان با یک غشای مخاطی پوشیده شده است که تمام ساختارهای داخل دهان به جز دندان ها را می پوشاند. سلول های اپیتلیال حفره دهان ممکن است به دلیل بیماری ها، عفونت ها، آسیب ها و شرایط متابولیک یا سیستمیک دچار تغییراتی شده و در نتیجه ضایعات مخاطی ایجاد شود (۴). گاهی اوقات، این ضایعات می تواند نشانه ای از شرایط خطرناکی مانند نئوپلاسم بدخیم و یا آسیب های تروماتیک حاد باشد. اما بیشتر آن ها به دنبال تحریک موضعی ایجاد می شوند. اما محرک های طولانی مدت با شدت کم معمولاً مقدم بر شرایط مزمن هستند که به آن ها ضایعات واکنشی می گویند (۵). یکپارچگی غشای مخاطی برای حفظ سلامت دهان و دندان ضروری است. با این حال، سلول های اپیتلیال ممکن است به دلیل بیماری های دهان، عفونت ها، عوامل آسیب زا یا متابولیک تغییر کنند (۶و۷).

دستگاه های ثابت ارتودنسی که امروزه در سطح وسیعی جهت درمان ناهنجاری دندانی مورد استفاده قرار می گیرند، شامل براکت ها، بندها و آرچ وایرها هستند که از فلزات نیکل، کروم و کبالت که با درصد های مختلف ساخته می شوند (۸-۱۰).

مطالعات نشان می دهد که استفاده از اپلایس های ثابت ارتودنسی منجر به آزادسازی یون های فلزی به واسطه وجود جریان های الکتروگالوانیک در نتیجه وجود بزاق (به عنوان محیط حد واسطه) و یا به واسطه خوردگی (Corrosion) فلزات می شوند. محیط دهان خصوصاً به دلیل حرارت، میکروبیولوژی و خواص آنزیمی، محیط مناسبی برای تجزیه فلزات می باشد (۱۱). دستگاه های ثابت ارتودنسی ممکن است شرایطی را فراهم کنند که منجر به تغییرات بالینی و نئوپلاسم در غشای مخاطی و سلول های اپیتلیال حفره دهان گردند. وسایل ارتودنسی (لیگاتور، بريس، سیم و ...) یکی از منابع اصلی تروما در حفره دهان هستند (۱۲). اصطکاک بین براکت ها و مخاط نوعی ضربه مزمن است و همچنین می تواند منجر به ایجاد زخم مخاط باکال شود که یکی از شایع ترین شکایات بیماران در طول درمان ارتودنسی است. از سوی دیگر، وجود وسایل ارتودنسی در دهان سالم باعث افزایش تجمع پلاک و تغییر فلور میکروبی حفره دهان می شود که ممکن است بیولوژی طبیعی پریدنتال و مخاط را بدتر کند (۱۳).

بیشتر ضایعات دهانی واکنش به تحریک موضعی هستند و جای نگرانی ندارند. ضایعات دهانی ایجاد شده به ندرت، می توانند نشانه اولیه بیماری های جدی دهانی باشند. به طور کلی، شایع ترین ضایعات دهانی با تروما همراه هستند. بیمارانی که تحت درمان ارتودنسی قرار می گیرند اغلب با عوارض دهانی مختلفی از جمله التهاب زبان یا گلوستیت، فلز ارتودنسی، التهاب لثه، هیپرپلازی لثه و غیره همراه هستند (۱۴و۱۵). در طول درمان ارتودنسی، وسایل ارتودنسی به طور متوسط به مدت یک و نیم تا دو سال در دهان بیمار باقی می ماند و در نتیجه محیط بالقوه مناسبی را برای آزاد شدن یون های فلزی فراهم می کنند، که با ادغام مستقیم این یون ها با DNA، این فلزات سنگین می توانند باعث آسیب DNA شوند (۱۶). یک دستگاه ارتودنسی نامناسب، زبر یا شکسته، یک پروتز متحرک دندان، یا سطح دندان شکسته یا نامنظم می تواند بر روی بافت های نرم مجاور تأثیر بگذارد. همچنین ضربه حاد یا شدید به بافت های دهان می تواند تغییراتی را با درگیری عمیق تر ایجاد کند و در نتیجه سبب ایجاد هماتوم، فرسایش یا زخم گردد (۱۷).

معمولاً عامل تروما به آرامی عمل کرده و با شدت کم روی بافت ها سبب ایجاد یک ضایعه واکنشی در حفره دهان می شود. در طول درمان ارتودنسی، درد و ناراحتی در مخاط دهان در نتیجه تروما ناشی از دستگاه ها و افزایش اصطکاک بین بافت مخاطی و سطح براکت ها و لوله ها ایجاد می گردد (۱۸). اگرچه چنین ضایعاتی موقتی هستند و ممکن است برای ارتودنتیست ها بی اهمیت باشند، اما می توانند روند درمان و همکاری بیمار را کاهش دهند. ضایعات دهانی، هر کدام دارای خصوصیات و شاخصه های بالینی و تاریخی هستند که احاطه به این مشخصات تشخیص بالینی، این ضایعات را برای کلینیسین و ارتودنتیست ممکن می سازد (۱۹). از آنجائیکه یافته های بالینی و رادیوگرافی ضایعات ادنتوژنیک منحصر به فرد نیستند در نتیجه این علائم تشخیص دقیق را دشوار می کند و ممکن است سبب تاخیر در روند درمان این بیماران شود (۲۰).

با این حال مطالعات اپیدمیولوژیک و بافت شناسی در مورد این موضوع در بیماران ارتودنسی بسیار کمیاب است. برخی از مطالعات انجام شده وجود اثر ژنوتوکسیک آلیاژ های ارتودنسی را گزارش کرده اند، همچنین کاهش اندازه هسته سلول های مخاط باکال در پاسخ به قرار دادن براکت ارتودنسی نشان داده شده است (۱۴). علاوه بر این، دستگاه های ارتودنسی تأثیر قابل توجهی بر بافت پاردنتال، محیط دهان و میکروفیلیم دهان دارند (۲۱). با توجه به تعداد اندک تحقیقات در این زمینه و همچنین عدم اطلاع دقیق از تأثیر دستگاه های ثابت و متحرک ارتودنسی بر روی سلول های مخاط و اپیتلیالی دهان، این مطالعه با هدف بررسی سلول های اپیتلیالی مخاط دهان در بیماران با ارتودنسی ثابت انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این بررسی مقطعی، پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران با کد IR.MAZUMS.REC.1401.255، جامعه مورد مطالعه از بین بیماران مراجعه کننده به کلینیک دندانپزشکی دانشگاه مازندران با استفاده از روش نمونه‌گیری تصادفی ساده در سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۲ انتخاب شد. در مراحل اولیه این مطالعه، هدف اولیه تحقیق و مراحل فردی آن به طور کامل برای تک تک شرکت کنندگان درگیر در مطالعه توضیح داده شد و پس از کسب رضایت نامه کتبی وارد مطالعه شدند. برای ارزیابی اهداف مطالعه با استفاده از فرمول زیر و همچنین میزان بروز ضایعات مخاطی دهان مطابق با مطالعات قبلی (۲۲) ( $p=0/15$ ) و با فاصله اطمینان ۰/۹۵، علاوه بر مقدار خطا ۱۰٪ (d)، تعداد ۵۰ نمونه اختصاص داده شده برای هر یک از گروه‌های مورد و شاهد تعیین شد که در مجموع ۱۵۰ نمونه برای حجم نمونه تعیین شد.

بیمارانی که دارای دستگاه ارتودنسی ثابت در حداقل یک فک بوده و حداقل یک ماه از نصب آن گذشته بود و مدت زمان استفاده از دستگاه حداکثر سه ماه بود، وارد مطالعه شدند. علاوه بر این، وضعیت سلامت پریدونتال قبل از شروع درمان ارتودنسی ارزیابی شد. بیمارانی که تمایل به سیگار کشیدن، مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها در سه ماه گذشته و ابتلا به بیماری‌های سیستمیک داشتند، از مطالعه حذف شدند. علاوه بر این، همگنی از نظر نوع و برند همه براکت‌ها برای مطالعه الزامی شد و موارد با برندهای غیرهمسان، حذف شدند.

در ابتدای معاینه، مشخصات دموگرافیک بیماران شامل سن و جنسیت آن‌ها یادداشت شد. پس از آن، برای بررسی دقیق سلول‌های اپیتلیال، لایه برداری سلول‌های دهان غشای مخاطی باکال انجام شد. ابتدا دهان بیمار با آب شسته شد تا مواد خارجی و باکتری‌های داخل دهان از بین برود. سپس اسمیر از سه ناحیه مجزا به دست آمد:

منطقه ۱ (لام ۱): مخاط دهان در معرض اصطکاک ناشی از براکت‌های ارتودنسی

منطقه ۲ (لام ۲): مخاط دهان در معرض اصطکاک با لوله روی نوار ارتودنسی

منطقه ۳ (لام ۳): مخاط دهان غیر اصطکاکی، در واقع ناحیه تحتانی حفره دهان (منطقه کنترل).

سلول‌های اپیتلیال سنگفرشی با استفاده از سیتوبراش (۱۴) به دست آمد و با استفاده از محیط جمع‌آوری از طریق فیلترهای غشایی پلی کربنات فیلتره‌شده با اندازه منافذ ۵ میکرومتر و قطر ۲۵ میلی‌متر که به طور محکم به لام‌های شیشه‌ای چسبیده بودند، فیلتر شدند. اسلایدهای شیشه‌ای مذکور بلافاصله به مدت ۲۰ دقیقه با الکل مطلق تحت درمان قرار گرفتند و پس از آن اسمیرها در معرض رنگ طبیعی پاپانیکولا قرار گرفتند. به منظور فعال کردن آنالیز هیستومورفومتری، هر اسلاید توسط سه آسیب شناس با استفاده از میکروسکوپ نوری Olympus BX41 (میکروسکوپ ترسیمی Camerolucida) که به نوبه خود به رایانه متصل بود، ارزیابی شد.

یک رویکرد سیستماتیک برای انتخاب و اندازه‌گیری تصادفی سه منطقه و پنجاه سلول در هر بیمار در یک گروه متشکل از ۵۰ نفر استفاده شد. تصاویر سلولی با استفاده از دوربین فیلمبرداری رنگی دیجیتال به ترتیب با بزرگنمایی ۴۰ و ۱۰۰ گرفته شد. نواحی هسته (NA) و سیتوپلاسم (CA) با ترسیم مناطق مرزی هسته و سلول در میکرومتر مربع اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل با استفاده از مکان‌نمای دیجیتالی حالت تصویر سیستم انجام شد و پس از آن نسبت NA/CA بدست آمد. در لنز ۴: عدد به دست آمده  $25 \times$ ، در لنز ۱۰: عدد به دست آمده  $10 \times$ ، در لنز ۴۰: عدد به دست آمده  $2/5 \times$  و در عدسی ۱۰۰: عدد به دست آمده در عددی ضرب نمی‌شود زیرا در بزرگنمایی  $100 \times$  است (شکل ۱).



شکل ۱. سلول اپیتلیال دهان با بزرگنمایی ۱۰۰ و با رنگ آمیزی پاپانیکولا و اندازه‌گیری بر اساس میکرومتر

**بررسی سیتومورفولوژیکی:** به منظور بررسی سیتومورفولوژیکی هر لام با استفاده از میکروسکوپ نوری، تمام ویژگی‌های سلولی بر اساس طبقه بندی سیستم پاپانیکولاو طبقه بندی شدند که شامل شرایط طبیعی، التهابی، واکنشی، دژنراتیو و نئوپلاستیک سلول‌های اپیتلیال دهان می‌شود. علاوه بر این، نوع سلولی یا سلولی رایج در هر نمونه از طریق شمارش ارزیابی شد. سپس یافته‌ها به شرح: کلاس صفر: مواد ناکافی است، کلاس ۱: اسمیر نرمال، کلاس ۲: اسمیر نرمال + تغییر دهنده التهابی، کلاس ۳: تغییرات دیسپلاستیک، کلاس ۴: کاملاً نشان دهنده نیست و کلاس ۵: اسمیر بدخیم طبقه بندی شدند (۱۴). برای توصیف نمونه پژوهش از شاخص‌های میانگین، انحراف معیار، میانه، حداقل و حداکثر، برای بررسی میانگین متغیرها در گروه‌ها از آزمون تی مستقل، تحلیل واریانس و مقایسه‌های چندگانه توکی و برای بررسی فرضیه نرمال بودن از آزمون کلموگرو- اسمیرنوف و برابری واریانس‌ها با آزمون لون استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده گردید و  $p < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته ها

در مجموع، اطلاعات توصیفی مربوط به متغیرها ثبت شد که میانگین NA  $65/66 \pm 22/11$  میانگین CA  $717/37 \pm 1846/53$  و میانگین NA/CA  $0/0.37 \pm 0/0.10$  را نشان داد. مقادیر میانگین متغیرها به طور جداگانه با توجه به تعداد اسلایدها، همانطور که در جدول ۱ ارائه شده است، مستند سازی و تجزیه و تحلیل شدند. به طور مشخص، میانگین NA با تعداد اسلایدها همبستگی معنی‌داری نشان داد، اسلاید شماره C بالاترین مقدار و اسلاید شماره A نشان دهنده کمترین مقدار علاوه بر این، میانگین CA اختلافات قابل توجهی را در بین سه اسلاید نشان می‌دهد، اسلاید شماره C بالاترین مقدار و اسلاید شماره A کمترین مقدار را نشان می‌دهد. در نهایت، میانگین NA/CA نیز همبستگی معنی‌داری با تعداد اسلاید نشان داد، با اسلاید شماره A بالاترین مقدار را نشان داد.

| جدول ۱. مقایسه متغیرها بر اساس تعداد اسلاید، طبقه، گروه سنی و جنسیت |                     |                           |                          |             |
|---------------------------------------------------------------------|---------------------|---------------------------|--------------------------|-------------|
| متغیر                                                               | NA ***<br>Mean±SD   | CA ***<br>Mean±SD         | NA/CA ***<br>Mean±SD     | تعداد(درصد) |
| شماره اسلاید                                                        |                     |                           |                          |             |
| A                                                                   | $47/91 \pm 9/79^a$  | $1238/37 \pm 265/43^a$    | $0/0.40 \pm 0/0.11^a$    | ۵۰ (۳۳/۳)   |
| B                                                                   | $60/07 \pm 8/98^b$  | $1718/03 \pm 375/47^b$    | $0/0.36 \pm 0/0.08^b$    | ۵۰ (۳۳/۳)   |
| C                                                                   | $89/01 \pm 19/99^c$ | $2583/21 \pm 635/63^c$    | $0/0.36 \pm 0/0.10^c$    | ۵۰ (۳۳/۳)   |
| p-value*                                                            | $<0/0.01$           | $<0/0.01$                 | $<0/0.01$                | -           |
| کلاس                                                                |                     |                           |                          |             |
| ۱                                                                   | $66/00 \pm 22/24$   | $1853/59 \pm 723/54$      | $0/0.37 \pm 0/0.09$      | ۱۳۸ (۹۲)    |
| ۲                                                                   | $61/68 \pm 20/51$   | $1765/36 \pm 645/81$      | $0/0.38 \pm 0/0.19$      | ۱۲ (۸)      |
| p-value**                                                           | $0/260$             | $0/480$                   | $0/694$                  | -           |
| جنسیت                                                               |                     |                           |                          |             |
| زن                                                                  | $67/33 \pm 24/02$   | $1903/70 \pm 735/40$      | $0/0.37 \pm 0/0.11$      | ۳۱ (۶۲)     |
| مرد                                                                 | $62/93 \pm 18/33$   | $1753/27 \pm 678/74$      | $0/0.38 \pm 0/0.08$      | ۱۹ (۳۸)     |
| p-value**                                                           | $0/040$             | $0/031$                   | $0/485$                  | -           |
| سن (سال)                                                            |                     |                           |                          |             |
| <۱۵                                                                 | $67/22 \pm 20/90$   | $1852/89 \pm 679/27^{ab}$ | $0/0.38 \pm 0/0.12^{ab}$ | ۲۱ (۴۴)     |
| ۱۵-۲۰                                                               | $63/33 \pm 24/21$   | $1691/62 \pm 264/51^a$    | $0/0.39 \pm 0/0.08^a$    | ۱۷ (۳۴)     |
| >۲۰                                                                 | $66/22 \pm 20/96$   | $2054/86 \pm 822/68^b$    | $0/0.34 \pm 0/0.09^b$    | ۱۲ (۲۴)     |
| p-value**                                                           | $0/259$             | $<0/0.01$                 | $<0/0.01$                | -           |

\*Analysis of variance, \*\*Independent T-test

\*\*\*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت‌های قابل توجه در اسلایدها یا گروه‌های سنی است.

در جدول ۱، میانگین متغیرها بر اساس شماره کلاس گزارش شده است. تفاوت معنی‌داری در میانگین متغیرها در دو کلاس وجود نداشت. ۶۲٪ از بیماران زن بودند. جدول ۱ نشان می‌دهد که میانگین NA و CA در زنان به طور قابل توجهی بالاتر بود. با این حال، هیچ تفاوتی بین دو جنس در مورد NA/CA مشاهده نشد. تفاوت معنی‌داری بین میانگین CA و NA/CA در سه گروه سنی مورد مطالعه وجود داشت ( $p < 0.05$ ). با توجه به اهمیت هر سه متغیر NA، CA و نسبت NA/CA و از مقایسه جفت به جفت مشخص شد که در هر نمونه از سه متغیر، تمایز معنی‌داری بین اسلایدها وجود داشت، به استثنای میانگین NA/CA اسلایدهای شماره B و C که تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند. علاوه بر این، میانگین هر سه متغیر در کلاس ۱ به طور قابل توجهی در اسلایدهای مختلف، متفاوت است (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه متغیرها بر اساس اسلایدهای مختلف بر اساس طبقه، جنسیت و گروه سنی

| متغیر                       | NA**<br>Mean±SD          | CA**<br>Mean±SD             | NA/CA**<br>Mean±SD       | تعداد (درصد) |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------|
| <b>کلاس ۱</b>               |                          |                             |                          |              |
| اسلاید A                    | ۴۷/۲۸±۸/۵۴ <sup>a</sup>  | ۱۲۱۲/۳۱±۲۲۴/۶۵ <sup>a</sup> | ۰/۰۴۰±۰/۰۰۸ <sup>a</sup> | ۴۳(۳۱/۲)     |
| اسلاید B                    | ۵۹/۴۰±۸/۵۴ <sup>b</sup>  | ۱۶۸۶/۵۶±۳۶۴/۶۱ <sup>b</sup> | ۰/۰۳۶±۰/۰۰۸ <sup>b</sup> | ۴۶(۳۳/۳)     |
| اسلاید C                    | ۸۸/۶۴±۱۹/۹۸ <sup>c</sup> | ۲۵۷۳/۱۵±۶۳۳/۱۳ <sup>c</sup> | ۰/۰۳۶±۰/۰۱۰ <sup>b</sup> | ۴۹(۳۵/۵)     |
| p-value*                    | <۰/۰۰۱                   | <۰/۰۰۱                      | <۰/۰۰۱                   | —            |
| <b>کلاس ۲</b>               |                          |                             |                          |              |
| اسلاید A                    | ۳۵۱/۸۰±۱۵/۱ <sup>a</sup> | ۱۳۹۸/۴۲±۴۱۳/۰۲ <sup>a</sup> | ۰/۰۴۱±۰/۰۲۴              | ۷(۵۸/۳)      |
| اسلاید B                    | ۶۷/۶۱±۱۰/۷۸ <sup>b</sup> | ۲۰۷۹/۸۶±۳۱۴/۱۷ <sup>b</sup> | ۰/۰۳۳±۰/۰۰۸              | ۴(۳۳/۳)      |
| اسلاید C                    | ۱۰۷/۰۸±۱/۴۳ <sup>c</sup> | ۳۰۷۵/۸۸±۶۸۳/۱۳ <sup>c</sup> | ۰/۰۳۶±۰/۰۱۰              | ۱(۸/۴)       |
| p-value*                    | <۰/۰۰۱                   | <۰/۰۰۱                      | ۰/۵۶۴                    | —            |
| <b>زن</b>                   |                          |                             |                          |              |
| اسلاید A                    | ۴۹/۰۶±۱۰/۸۴              | ۱۲۴۶/۷۵±۲۸۲/۶۹              | ۰/۰۴۰±۰/۰۱۳              | ۳۱(۳۳/۳)     |
| اسلاید B                    | ۶۰/۳۶±۹/۰۷               | ۱۷۸۰/۷۸±۳۴۷/۴۳              | ۰/۰۳۵±۰/۰۰۷              | ۳۱(۳۳/۳)     |
| اسلاید C                    | ۹۲/۵۸±۲۲/۶۴              | ۲۶۶۵/۵۶±۶۷۴/۲۰              | ۰/۰۳۶±۰/۰۱۱              | ۳۱(۳۳/۳)     |
| p-value*                    | <۰/۰۰۲                   | <۰/۰۰۱                      | <۰/۰۰۱                   | —            |
| <b>مرد</b>                  |                          |                             |                          |              |
| اسلاید A                    | ۴۶/۰۳±۷/۵۱               | ۱۱۹۵/۳۲±۲۳۰/۴۹              | ۰/۰۴۰±۰/۰۰۸              | ۴(۳۳/۳)      |
| اسلاید B                    | ۵۹/۵۷±۸/۸۹               | ۱۶۱۵/۶۵±۳۹۹/۴۹              | ۰/۰۳۸±۰/۰۰۹              | ۴(۳۳/۳)      |
| اسلاید C                    | ۸۳/۱۸±۱۲/۸۴              | ۲۴۴۸/۸۳±۹۵۷/۶۸              | ۰/۰۳۵±۰/۰۰۸              | ۴(۳۳/۳)      |
| p-value*                    | ۰/۰۳۰                    | <۰/۰۰۱                      | <۰/۰۰۱                   | —            |
| <b>گروه سنی &gt; ۱۵ سال</b> |                          |                             |                          |              |
| اسلاید A                    | ۰/۰۴۲±۰/۰۱۵              | ۱۲۲۸/۶۱±۲۲۰/۳۷              | ۴۹/۶۹±۱۱/۸۳              | ۲۱(۳۳/۳)     |
| اسلاید B                    | ۰/۰۳۶±۰/۰۰۸              | ۱۷۳۹/۵۹±۳۴۸/۷۲              | ۶۲/۰۳±۱۰/۱۷              | ۲۱(۳۳/۳)     |
| اسلاید C                    | ۰/۰۳۶±۰/۰۱۰              | ۲۵۹۰/۴۷±۵۱۶/۸۳              | ۸۹/۹۳±۱۴/۷۵              | ۲۱(۳۳/۳)     |
| p-value*                    | <۰/۰۰۱                   | <۰/۰۰۱                      | ۰/۰۰۹                    | —            |
| <b>گروه سنی ۱۵-۲۰ سال</b>   |                          |                             |                          |              |
| اسلاید A                    | ۰/۰۴۰±۰/۰۰۷              | ۱۱۳۶/۲۱±۱۴۱/۹۰              | ۴۵/۰۱±۶/۹۵               | ۱۷(۳۳/۳)     |
| اسلاید B                    | ۰/۰۳۸±۰/۰۰۷              | ۱۵۶۷/۰۸±۲۸۴/۷۰              | ۵۸/۴۱±۷/۱۹               | ۱۷(۳۳/۳)     |
| اسلاید C                    | ۰/۰۳۸±۰/۰۰۸              | ۲۳۷۱/۵۸±۶۰۶/۱۴              | ۸۶/۵۶±۲۷/۶۵              | ۱۷(۳۳/۳)     |
| p-value*                    | <۰/۰۰۱                   | <۰/۰۰۱                      | ۰/۳۸۲                    | —            |
| <b>گروه سنی &lt; ۲۰ سال</b> |                          |                             |                          |              |
| اسلاید A                    | ۰/۰۳۷±۰/۰۰۹              | ۱۴۰۰/۱۷±۳۷۷/۹۲              | ۴۸/۸۹±۸/۵۰               | ۱۲(۳۳/۳)     |
| اسلاید B                    | ۰/۰۳۳±۰/۰۰۸              | ۱۸۹۴/۱۲±۴۵۰/۵۹              | ۵۸/۹۳±۸/۶۲               | ۱۲(۳۳/۳)     |
| اسلاید C                    | ۰/۰۳۳±۰/۰۰۸              | ۲۸۷۰/۳۰±۷۵۶/۲۱              | ۹۰/۸۴±۱۴/۴۶              | ۱۲(۳۳/۳)     |
| p-value*                    | ۰/۰۸۱                    | <۰/۰۰۱                      | <۰/۰۰۱                   | —            |

\*Analysis of variance

\*\*حروف کوچک متفاوت نشان دهنده تفاوت‌های قابل توجه در اسلایدها است.

در مورد NA و CA، اسلاید شماره C بالاترین مقدار را در کلاس ۱ داشت، در حالی که اسلاید شماره A بالاترین مقدار را از نظر NA/CA داشت. در مورد کلاس ۲، میانگین متغیرهای NA و CA در اسلایدهای مختلف به طور قابل توجهی متفاوت بود، اسلاید شماره C بالاترین مقدار را نشان داد. در هر دو آزمودنی مرد و زن، تفاوت معنی داری در مقادیر میانگین هر سه متغیر در اسلایدهای مختلف وجود داشت ( $p < 0.05$ ). علاوه بر این، هنگام در نظر گرفتن اسلایدهای مختلف، اختلاف قابل توجهی در مقادیر میانگین NA و CA در هر سه گروه سنی وجود داشت. قابل ذکر است، در گروه سنی زیر ۱۵ سال، تفاوت قابل توجهی در میانگین NA/CA در سه اسلاید وجود داشت ( $p < 0.001$ )، در حالی که این تفاوت در سایر گروه‌های سنی مشاهده نشد.

## بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، سه لام با توجه به سه منطقه مختلف از دهان بیماران بررسی شد؛ لام A مربوط به منطقه A (مخاط دهان در معرض اصطکاک ناشی از براکت‌های ارتودنسی)، لام B مربوط به منطقه B (مخاط دهان در معرض اصطکاک با لوله بر روی نوار ارتودنسی) و لام C مربوط به منطقه C (مخاط دهان بدون اصطکاک، در واقع ناحیه پایین حفره دهان (ناحیه کنترل) بود. نتایج نشان داد که میانگین نواحی هسته‌ای (NA) با شماره لام ارتباط معنی داری دارد؛ به طوری که لام شماره C دارای بیشترین مقدار و لام شماره A دارای کمترین مقدار بود. به بیان دیگر، اندازه هسته در نواحی در معرض لوله، کوچکتر، آن‌هایی که در معرض براکت بودند، بزرگتر و بزرگترین اندازه در گروه کنترل بود که می‌توان گفت، اندازه طبیعی است (۲۱). در مطالعه Rafighi و همکاران که به تغییرات سلول‌های اپیتلیال لب تحتانی پس از برداشتن دستگاه‌های ثابت ارتودنسی پرداخته شد، مشاهده شد که مقادیر NA پس از حذف اصطکاک و تحریک دستگاه‌های ارتودنسی در ۳۰ و ۶۰ روز بعد از جداسازی دستگاه ارتودنسی به طور معنی داری افزایش یافته است و در ۶۰ روز بعد از جداسازی به بالاترین حد خود رسیده است (۲۲). نتایج مطالعه Rafighi و همکاران، تایید کننده نتایج مشاهده شده در مطالعه حاضر است و تایید می‌کند که تماس بیشتر با دستگاه‌های ارتودنسی در دهان، موجب کاهش مساحت هسته‌ای سلول‌های اپیتلیالی مخاط دهان می‌شود. در مطالعه Francis و همکاران تأثیر دستگاه‌های ثابت ارتودنسی بر سلول‌های اپیتلیال مخاط باکال در بیماران تحت درمان ارتودنسی مورد مطالعه قرار گرفت و مشاهده شد که تعداد micronuclei در طی مراحل مختلف درمان در طی زمان، افزایش می‌یابد (۲۳). این مشاهده نیز تایید کننده کاهش مساحت هسته‌ای مشاهده شده در مطالعه ما می‌باشد.

در مطالعه حاضر، میانگین نواحی سیتوپلاسمی (CA) نیز اختلاف معنی داری در سه منطقه مختلف بررسی شده داشت؛ لام شماره C دارای بیشترین مقدار و لام شماره A دارای کمترین مقدار CA بود. به بیان دیگر، اندازه سیتوپلاسم در نواحی در معرض لوله، کوچکتر، آن‌هایی که در معرض براکت بودند، بزرگتر و بزرگترین اندازه در گروه کنترل بود که می‌توان گفت، اندازه طبیعی است. نتایج مطالعه‌های Rafighi و همکاران، Francis و همکاران، همسو با نتایج مطالعه حاضر بود و آن‌ها نیز کاهش مساحت سیتوپلاسمی را در نواحی در تماس با اپلاینس‌های ارتودنسی تایید کردند که بعد از گذشت ۶۰ روز از برداشت دستگاه‌ها، به سمت نرمال، افزایش یافت (۲۲ و ۲۳).

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که میانگین نسبت ناحیه هسته‌ای به ناحیه سیتوپلاسمی (NA/CA) در لام A به طور معنی داری از دو گروه دیگر بیشتر بود ولی لام B و C اختلاف معنی دار نداشتند. پس تغییرات در ناحیه‌ای که در تماس با اصطکاک ناشی از براکت‌های ارتودنسی بود، معنی دار بود و در این نواحی، کاهش مساحت هسته از کاهش مساحت سیتوپلاسم کمتر بود. در مطالعه Rafighi و همکاران، تغییرات سلولی در سه ناحیه از مخاط دهان (انسایزور پایین، مولر بالا و کانین بالا) پس از برداشت اپلاینس ارتودنسی بررسی شد و مشاهده شد که به جز در ناحیه اینسایزور پایین، سلول‌ها با قطع تماس با دستگاه، به طور معنی داری به سمت افزایش نسبت مساحت هسته به سیتوپلاسم می‌روند (۲۲). این مسئله می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت سلولی پس از برداشت دستگاه ارتودنسی رخ دهد (۲۳) و به دلیل تفاوت در روش دو مطالعه، نتایج را نمی‌توان یک به یک مقایسه کرد. مطالعه Rafighi و همکاران، برخلاف نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مقادیر NA/CA در طی مدت تا ۶۰ روز پس از برداشت دستگاه ارتودنسی، تغییر معنی داری نداشته است (۲۲). دلیل اختلاف در مطالعه حاضر و مطالعه Rafighi و همکاران، ناحیه متفاوت نمونه گرفته شده است؛ در مطالعه Rafighi و همکاران از مخاط دهان در ناحیه لب تحتانی است که این ناحیه در مطالعه حاضر، می‌تواند در لام A یا B، با توجه به محل براکت‌ها و لوله‌های ارتودنسی، پراکنده باشد؛ بنابراین نتایج دو مطالعه را نمی‌توان با هم مقایسه کرد.

در مطالعه کنونی هر لام بر اساس سیستم Papanicolaou کد گذاری شد و تنها کلاس ۱ (Smear normal) و کلاس ۲ (Smear normal + Inflammatory changer) مشاهده شد. در کلاس ۱ یعنی اسمیر نرمال، از نظر NA و CA لام شماره C (کنترل) و از نظر NA/CA لام شماره A دارای بیشترین مقدار بود. در کلاس ۲ یعنی اسمیر نرمال و سلول التهابی، لام شماره C دارای بیشترین NA و CA بود اما از نظر NA/CA تفاوت معنی داری بین لام‌ها مشاهده نشد. بافت‌هایی که در معرض لوله‌ها بودند، التهاب بیشتری از خود نشان دادند و بافت‌هایی که در معرض براکت‌ها بودند، التهاب کمتری نسبت به لوله‌ها داشتند و سپس بافت‌های گروه کنترل که التهاب آن‌ها از لوله و براکت کمتر و نرمال بوده است. در مطالعه de Arruda و همکاران نیز، فقط

کلاس‌های ۱ و ۲ بر اساس سیستم Papanicolaou، مشاهده شد که با توجه به تشابه در نواحی نمونه‌گیری از مخاط، نتایج مشابه قابل توجیه‌تر است (۲۴). در مطالعه Rafighi و همکاران، سلولاریتی غالب در تمام نواحی و زمان‌ها تا ۶۰ روز بعد از تحویل دستگاه، کلاس ۱ مشاهده شده است (۲۲). در تحقیق Omidkhoda و همکاران، مشاهده شد که دستگاه‌های اکریلیک ارتودنسی ممکن است برخی از اثرات سیتومتریک گذرا را افزایش دهند. به نظر می‌رسد در دراز مدت آسیب قابل توجهی به مخاط دهان وارد نمی‌کند (۲۵).

علت تفاوت در مشاهدات می‌تواند مرتبط با تفاوت در زمان بررسی بعد از دریافت دستگاه ارتودنسی باشد؛ در مطالعات ذکر شده، فقط تا ۲ ماه پس از تحویل، بررسی صورت گرفته است اما در مطالعه حاضر معیار ورود شرط استفاده از دستگاه لااقل طی یک ماه گذشته بوده است و بازه زمانی استفاده در شرکت کنندگان ممکن است بیشتر از یک ماه هم بوده باشد. پس ممکن است سلول‌های التهابی بعد از گذشت دو ماه، مشاهده شوند.

نتایج نشان داد که در بیماران دریافت‌کننده درمان ارتودنسی ثابت، در نواحی متأثر از اصطکاک ناشی از براکت‌ها و لوله‌های ارتودنسی نسبت به سایر نواحی، مساحت هسته‌ای و سیتوپلاسمی به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. نسبت مساحت هسته به سیتوپلاسم در ناحیه‌ای که در معرض اصطکاک ناشی از براکت‌های ارتودنسی بود، به طور معنی‌داری بالاتر از سایر لام‌ها بود؛ یعنی در این نواحی، کاهش مساحت هسته از کاهش مساحت سیتوپلاسم کمتر بود. همچنین، در لام‌های مورد بررسی، فقط اسمیر نرمال و اسمیر نرمال به همراه سلول‌های التهابی مشاهده شد که در هر دو، از نظر NA و CA لام شماره C (کنترل) بیشترین مقدار را داشت. از نظر NA/CA در اسمیر نرمال، لام شماره A دارای بیشترین مقدار بود اما در اسمیر نرمال حاوی سلول التهابی، تفاوت معنی‌داری بین لام‌ها مشاهده نشد.

## تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری و کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران به جهت حمایت از تحقیق و همچنین کارکنان آزمایشگاه نور (رمضان غفاری) که ما را در تهیه نمونه بیمار، تهیه اسلایدهای هماتوکسیلین-ائوزین و رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی یاری نمودند، قدردانی می‌گردد.

## References

1. Namdar P, Pourasghar M, Lal Alizadeh F, Shiva A. Anxiety, Depression, and Quality of Life in Caregivers of Children with Cleft Lip and Palate: A Systematic Review. *Iran J Psychiatry Behav Sci.* 2022;16(2):e113591.
2. Macey R, Thiruvengkatachari B, O'Brien K, Batista KBSL. Do malocclusion and orthodontic treatment impact oral health? A systematic review and meta-analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2020;157(6):738-44.e10.
3. Prado LH, Previato K, Delgado RZR, Nelson Filho P, Bezerra Segato RA, Nakane Matsumoto MA, et al. Adolescents' perception of malocclusion, their motivations, and expectations concerning the orthodontic treatment. Is it all about attractiveness? A qualitative study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2022;161(4):e345-52.
4. Salehabadi N, Nasirian Z, Mokhtarpour H, Bamdadian T, Ramezani A, Mousavi SJ, et al. Evaluating the Distance between Parotid Papilla and Occlusal Plane in Dentate Patients. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2022;32(208):102-12. [In Persian]
5. Salehabadi N, Pournasiri N, Bamdadian T, Dadgar K, Mokhtarpour H, Khalilian A, et al. Parallelism of the Occlusal Plane with the Ala-tragus Line in Various Posterior References in Dentate Patients. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2022;31(204):102-10. [In Persian]
6. Yi J, Lu W, Xiao J, Li X, Li Y, Zhao Z. Effect of conventional combined orthodontic-surgical treatment on oral health-related quality of life: A systematic review and meta-analysis. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2019;156(1):29-43.e5.
7. Bourzgui F, Elmoutawakil A, Diouny S, Elquars F. The impact of malocclusion on oral health related quality of life in orthodontic patients. In: Khursheed Alam M, Qamruddin I, Purmal K, editors. *Malocclusion: Causes, Complications and Treatment (Dentistry and Oral Sciences)*, 1<sup>st</sup> ed. Hauppauge, NY, USA: Nova Science Pub Inc; 2018. p. 68-72.
8. Elyashkil M, Shafai NAA, Mokhtar N. Effect of malocclusion severity on oral health related quality of life in Malay adolescents. *Health Qual Life Outcomes.* 2021;19(1):71.
9. Amini F, Farhadi S, Shahbeik S, Mahvash Mohammadi M, Rakhshan V. Effects of fixed orthodontic treatment with and without chlorhexidine mouthwash on vitality of oral mucosal cells reflected by cell nuclear indexes: A preliminary 3-phase before-after clinical trial. *Int Orthod.* 2023;21(1):100722.
10. Yassir YA, McIntyre GT, Bearn DR. Orthodontic treatment and root resorption: an overview of systematic reviews. *Eur J Orthod.* 2021;43(4):442-56.
11. Apiwantanakul N, Chantarawatit PO. Cytotoxicity, genotoxicity, and cellular metal accumulation caused by professionally applied fluoride products in patients with fixed orthodontic appliances: A randomized clinical trial. *J World Fed Orthod.* 2021;10(3):98-104.
12. Primožič J, Poljšak B, Jamnik P, Kovač V, Čanadi Jurešić G, Spalj S. Risk Assessment of Oxidative Stress Induced by Metal Ions Released from Fixed Orthodontic Appliances during Treatment and Indications for Supportive Antioxidant Therapy: A Narrative Review. *Antioxidants (Basel).* 2021;10(9):1359.
13. Chantarawatit PO, Yanisarapan T. Exposure to the oral environment enhances the corrosion of metal orthodontic appliances caused by fluoride-containing products: Cytotoxicity, metal ion release, and surface roughness. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2021;160(1):101-12.
14. Pereira BR, Tanaka OM, Lima AA, Guariza-Filho O, Maruo H, Camargo ES. Metal and ceramic bracket effects on human buccal mucosa epithelial cells. *Angle Orthod.* 2009;79(2):373-9.

15. Shiva A, Sobouti F. Comparative study of histopathological reports and clinical diagnosis of oral biopsies. *J Mazandaran Univ Med Sci.* 2017;26(144):57-64. [In Persian]
16. Piñeda-Zayas A, Menendez Lopez-Mateos L, Palma-Fernández JC, Iglesias-Linares A. Assessment of metal ion accumulation in oral mucosa cells of patients with fixed orthodontic treatment and cellular DNA damage: a systematic review. *Crit Rev Toxicol.* 2021;51(7):622-33.
17. Domínguez A, Velásquez SA, Santamaría JS, Isaza GA. Effect of diode laser removal on traumatic ulcers during orthodontic treatments: a randomized controlled clinical trial. *Laser Dent Sci.* 2021;5:229-37.
18. Cruz JPP, Santos NCND, Pithon MM, de Moraes Marcílio Cerqueira E. Biomonitoring of children and adolescents using orthodontic appliances made of acrylic resins through micronucleus testing of exfoliated buccal and palatal mucosa cells. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2021;160(2):193-9.
19. Shiva A, Pakravan AH. Squamous Cell Carcinomas (SCC) of the Scalp in a Patient with History of Basal Cell Carcinoma (BCC); A Case Report. *J Babol Univ Med Sci.* 2017;19(1):55-60. [In Persian]
20. Shiva A, Nosrati K. A Calcifying Odontogenic Cyst Associated with Complex Odontoma: A Case Report. *J Babol Univ Med Sci.* 2015;17(2):57-61. [In Persian]
21. Mulimani P, Popowics T. Effect of Orthodontic Appliances on the Oral Environment and Microbiome. *Front Dent Med.* 2022;3:924835.
22. Rafighi A, Sohrabi A, Zokaee M, Moghaddam SF, Sharghi R. Evaluation of the epithelial cells of lower lip mucosa after debonding of fixed orthodontic appliances. *Minerva Stomatol.* 2020;69(4):245-50.
23. Francis PG, Thomas M, Antony V, Shaloob M, Hassan KJ, Roshan G. Cytomorphometric Analysis on the Effects of Components of Orthodontic Appliances on the Epithelial Cells of the Buccal Mucosa. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2017;7(3):142-6.
24. de Arruda EP, Trevilatto PC, Camargo ES, Woyceichoski IE, Machado MA, Vieira I, et al. Preclinical alterations of oral epithelial cells in contact with orthodontic appliances. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2011;155(3):299-303.
25. Omidkhoda M, Dehghani M, Mohtasham N, Sadeghian H, Malle E. Cytomorphometric Evaluation of Oral Mucosa among Children undergoing Acrylic Removable Orthodontic Appliances: An in vivo Study. *J Dent Mater Tech.* 2022;11(2):75-83.