

## بررسی چسبندگی کاندیدا آلبیکنس بر پلی متاکریلات در محلول پرو بیوتیک

تاریخ دریافت مقاله: ۹۸/۱۰/۲۵ : تاریخ پذیرش: ۹۹/۲/۲

### چکیده

**مقدمه:** علت شایع استوماتیت ناشی از دندان مصنوعی کاندیدا آلبیکنس موجود در فلور میکروبی دهان افراد سالم می‌باشد. دندان مصنوعی معمولاً از رزین پلی متاکریلات ساخته شده است. عوامل مختلفی باعث کلونیزاسیون کاندیدا در این مواد می‌شود که پروتکل‌های مختلفی برای جلوگیری از این موضوع موجود می‌باشد که پروبیوتیک‌ها امکان دارد از جمله این موارد باشد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه دیسک‌های بیس رزین‌های آکرلیک در گروه‌های مختلف بعد از این که به وسیله سوسپانسیون قارج کاندیدا آلبیکنس آلوده شدند در معرض یکی از محلول‌ها شامل محلول حاوی باکتری پروبیوتیکی *L. rhamnosus* GG، محلول حاوی باکتری پروبیوتیک *Streptococcus salivarius* k12، محلول سدیم هیپوکلریت، محلول نیستاتین و نرمال سالین قرار گرفتند و سپس تعداد کلونی‌های کاندیدا آلبیکنس‌ها شمارش شده و مقایسه آن‌ها بر اساس آزمون آماری ANOVA انجام شده است.

**نتایج:** نتایج نشان‌دهنده کاهش معنی‌دار ( $P < 0.001$ ) تعداد کاندیدا آلبیکنس‌های چسبیده به دیسک‌ها در محلول‌های پروبیوتیک‌ها نسبت به محلول نرمال سالین می‌باشد. همچنین کمترین تعداد کاندیدا آلبیکنس‌های چسبیده به دیسک‌ها در محلول حاوی نیستاتین و سدیم هیپوکلریت دیده شده است.

**نتیجه گیری:** با توجه به نتایج مطالعه حاضر می‌توان از محلول‌های پروبیوتیک برای کاهش تعداد کاندیدا آلبیکنس‌های چسبیده به بیس دندان‌های مصنوعی استفاده کرد.

**کلمات کلیدی:** کاندیدا آلبیکنس، پلی متاکریلات، پروبیوتیک

احمدرضامیرزائی<sup>۱</sup>، آرزو آقاچوک‌زاده<sup>۲</sup>، محبوبه مهربانی نطنزی<sup>۲</sup>، زهره خدایی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup>کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران  
<sup>۲</sup>استادیار گروه پاتولوژی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران  
<sup>۳</sup>مرکز تحقیقات مکمل غذایی و پروبیوتیک‌ها، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

### نویسنده مسئول:

استادیار گروه پاتولوژی دهان و فک و صورت، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران

۰۲۶۳۳۵۳۱۶۱۴

E-mail: a.aghakouchakzadeh@gmail.com

## مقدمه

کاندیدا آلبیکنس از جمله فلور میکروبی دهان در افراد سالم می‌باشد<sup>۱</sup>. کلونیزاسیون کاندیدا آلبیکنس در بیس دندان مصنوعی یک علت شایع استوماتیت ناشی از دندان مصنوعی است<sup>۲</sup>. دنچر استوماتیت تا ۶۷٪ از افراد دارای پروتز کامل گزارش شده و به عنوان زخم و التهاب مخاط دهان، به خصوص در مخاط کام که در ارتباط با بیس دندان مصنوعی شناخته شده است<sup>۳</sup>. مواد بیس دندان مصنوعی معمولاً از رزین پلی متاکریلات ساخته می‌شوند<sup>۴</sup>. عوامل مختلف تحریک تکثیر قارچ کاندیدا آلبیکنس مانند بهداشت پایین دهان، مصرف کربوهیدرات بالا، کاهش جریان بزاق، ترکیبات بزاق، طراحی پروتز و استفاده دائم از دندان مصنوعی می‌تواند باعث افزایش امکان بیماری زایی پلاک‌های موجود بر روی دندان مصنوعی شود<sup>۵</sup>. استفاده همزمان از پروتکل‌های بهداشت مکانیکی و شیمیایی باعث کاهش تجمع بیوفیلم‌های موجود بر روی دندان مصنوعی و حفظ محیط دهان عاری از عوامل بیماری‌زا می‌شود<sup>۸-۱۲</sup>. مواد تمیزکننده نمی‌توانند کاملاً بیوفیلم‌های کاندیدا آلبیکانس را از سطح دندان مصنوعی حذف کنند<sup>۱۳</sup> اما توانایی تشکیل بیوفیلم کاندیدا آلبیکانس را در سطوح اپیتیلیالی و دندان مصنوعی کاهش می‌دهند<sup>۱۴، ۱۵</sup>.

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده غیر پاتوژن هستند که با مصرف به میزان کافی در میزبان‌شان تاثیرات مفید می‌گذارند<sup>۱۶</sup>. این مزایا ممکن است شامل مهار میکروارگانیسم‌های بالقوه بیماری‌زا، با تولید مواد ضد میکروبی باشد<sup>۱۷</sup>. علاوه بر این، برخی از گونه‌های پروبیوتیک *Lactobacillus* از ایجاد بیوفیلم‌های کاندیدا آلبیکنس از طریق تولید باکتریوسین جلوگیری می‌کنند و حتی اثرات ایمن‌سازی در برابر چسبندگی کاندیدا آلبیکنس با مهار مکانیکی گیرنده‌های آن دارند<sup>۱۸-۲۱</sup>. مکانیسم‌های چسبندگی و کلونیزاسیون باکتری‌های پروبیوتیک روی بیس دندان مصنوعی باعث دخالت در کلونیزاسیون پاتوژن‌ها از طریق رقابت برای سایت‌های چسبندگی، مواد مغذی و محصولات حاصل از تغییر محیطی حاصل از آن‌ها می‌شود. با این حال، درک محدودی از رابطه بین مواد دندانی و پروبیوتیک‌ها وجود دارد<sup>۲۲، ۲۳</sup>. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط باکتری‌های پروبیوتیکی با توانایی چسبندگی *C. albicans* در سطح بیس دندان مصنوعی انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مقطعی، بر روی تعداد ۱۰۰ نمونه انجام شد. ابتدا مجوزهای لازم از کمیته اخلاق دانشگاه اخذ شد (IR.ABZUMS.REC 1396.172) و هماهنگی‌های لازم انجام شد. در این مطالعه ۵ گروه ۲۰ تایی از نمونه‌های بیس آکرلیک دندان مصنوعی مورد استفاده قرار گرفت؛ که هر گروه بعد از آلوده شدن به کاندیدا آلبیکنس در معرض مواد مختلفی شامل محلول حاوی باکتری پروبیوتیکی نظیر *L. rhamnosus GG*، محلول حاوی باکتری پروبیوتیک *Streptococcus salivarius k12*، محلول سدیم هیپوکلریت، محلول نیستاتین و نرمال سالین قرار گرفتند.

## کشت قارچ کاندیدا آلبیکنس و باکتری‌های پروبیوتیک

در این مطالعه نمونه‌های کاندیدا آلبیکنس A3153 به مدت ۴۸ ساعت در پلیت‌ها سابزر دکستروز آگار (SDA) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباسیون قرار گرفته اند. باکتری سالیاریوس k12 به شکل پودر فریز شده در آگار CABK12، آگار blood columbia، ۵/۰٪ عصاره مخمر، ۲۵/۰٪ گلوکز و ۱/۰٪ کلسیم کربنات نگهداری شده است و باکتری *L. rhamnosus GG* (ATCC 53103) در محیط کشت *de Man Rogosa Sharpe broth* (MRS) کشت داده شده است.

## آماده‌سازی بیس دندان مصنوعی

۱۰۰ بیس آکرلیک مطابق با دستورالعمل مرکز سازنده، در ابعاد ۱۰×۱۰×۲mm ساخته شدند. سپس نمونه‌های ساخته شده، به مدت ۳ روز در آب استریل قرار گرفتند تا منومرهای اضافه از آن‌ها خارج شود. همچنین برای اطمینان از حذف اثر سمی منومرهای به کار رفته نمونه‌ها را به مدت ۷ روز در معرض ddH<sub>2</sub>O قرار داده ایم. سپس قبل از انجام مطالعه میکروبیولوژی نمونه‌ها فوراً به مدت ۱۰ دقیقه در معرض اشعه فرا بنفش قرار گرفته‌اند.

در انتها بیس‌های رزینی از نظر ابعاد مورد اندازه‌گیری قرار گرفته‌اند و آن‌هایی که دارای ابعاد مناسب نباشند از مطالعه حذف می‌شوند و نمونه بیس رزین مناسب جایگزین شده است.

جدول ۱: تعداد کلونی کاندیدا آلبیکنس در بیس آکرلیک دندان مصنوعی

شماره گروه ها	نام محلول	میانگین تعداد کلونی در ۱ سی سی از محلول
۱	نرمال سالین	$10^4 \times 6$
۲	Streptococcus salivarius k12	$10^4 \times 3$
۳	L. rhamnosus GG	$10^4 \times 3$
۴	۵.۲۵٪ سدیم هیپوکلریت	$10^4 \times 2$
۵	نیستاتین	$10^4 \times 2$

### روش اجرا مطالعه میکروبیولوژی

سوسپانسیون قارچ کاندیدا آلبیکنس با غلظت  $1 \times 10^8$  Cfu/ml به مدت ۴۸ ساعت در محیط کشت SDA با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شده. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون روی دیسک‌های بیس رزین آکرلیک قرار گرفتند و ۱۰۰ عدد دیسک به ۵ گروه شامل ۲۰ دیسک تقسیم شدند. سپس هر یک از گروه‌ها به مدت یک هفته شامل ۸ ساعت در هر رو در یکی از محلول‌های زیر قرار می‌گیرند. گروه اول در محلول  $1 \times 10^9$  Cfu/ml استرپتوکوکوس سالیواربوس k12، گروه دوم در محلول  $1 \times 10^9$  Cfu/ml L.rhamnosus GG (ATCC 53103)، گروه سوم در نیستاتین  $22720$  mg/ml، گروه چهارم در سدیم هیپوکلریت ۲/۵٪ و گروه پنجم در نرمال سالین قرار گرفتند. بعد از اتمام این مرحله تمام دیسک‌ها با PBS شسته شدند. سپس سلول‌های چسبیده به دیسک‌های آکرلیک با استفاده از دستگاه سونیک با ۳۵ کیلوهرتز به مدت ۱۰ دقیقه جدا شده‌اند. سپس سلول‌های چسبیده به دیسک‌های آکرلیک با استفاده از دستگاه سونیک با ۳۵ کیلوهرتز به مدت ۱۰ دقیقه جدا شده‌اند. سپس شمارش تعداد کلونی‌ها انجام شده و آنالیز دیتا به روش ANOVA در نرم افزار spss آنالیز شده است. شمارش تعداد کلونی‌ها انجام شده و دیتا به روش ANOVA در نرم افزار spss آنالیز شده است.

### نتایج

در این مطالعه ۵ گروه ۲۰ تایی از نمونه‌های بیس آکرلیک دندان مصنوعی مورد استفاده قرار گرفت؛ که هر گروه بعد از آلوده شدن به کاندیدا آلبیکنس در معرض مواد مختلفی شامل محلول

حاوی باکتری پروبیوتیکی نظیر L. rhamnosus GG، محلول حاوی باکتری پروبیوتیک Streptococcus salivarius k12، محلول سدیم هیپوکلریت، محلول نیستاتین و نرمال سالین قرار گرفتند. سپس آنالیز شمارشی کاندیدا آلبیکنس‌های متصل مانده بیس رزین آکرلیک نشان دهنده نتایج معنی داری ( $p < 0.001$ ) بین ۵ گروه مختلف می‌باشد که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

### بحث و نتیجه گیری

همانطور که قبلاً ذکر شد، استوماتیت دندان مصنوعی یک بیماری شایع است که در آن التهاب و قرمز شدن غشای مخاطی دهان، زیر دندان مصنوعی رخ می‌دهد که عمدتاً در زیر دندان مصنوعی ماگزیلاری دیده می‌شود. بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند که پیوستن این میکروارگانیسم به مواد بیس دندان مصنوعی اولین گام در جهت شروع مداوم این بیماری ناشی از دندان مصنوعی است<sup>۲۴</sup>. در مطالعات آزمایشگاهی in-vitro نشان داده شده است که باکتری پروبیوتیکی Streptococcus salivarius k12 و L. rhamnosus GG مانع اتصال قارچ کاندیدا به دیسک‌های رزینی می‌شود. با توجه به این که دنچر استوماتیت معمولاً به دلیل بهداشت ضعیف دندان مصنوعی می‌باشد استفاده از متدهای بهداشتی از موارد مهم برای اطمینان یافتن از تمیز نگه داشتن دندان مصنوعی می‌باشد. نگه داشتن دندان مصنوعی در دهان در هنگام شب مهم‌ترین ریسک فاکتور در ایجاد دنچر استوماتیت می‌باشد<sup>۲۵</sup>. خارج کردن دندان مصنوعی در و شب قرار دادن در مواد بهداشتی مختلف می‌تواند از موارد موثر در کاهش دنچر استوماتیت شود<sup>۲۶</sup>. برای این منظور از مواد شیمیایی مختلفی استفاده می‌شود<sup>۲۷</sup>. در

کاندیدا داشته است<sup>۳۰،۳۱</sup>. داروی ضد قارچ شناخته شده ای که معمولاً در درمان دنچر استوماتیت استفاده می‌شود نیستاتین است که نتایج مطالعات ما مانند مطالعات قبلی نشان دهنده مهار کلونیزاسیون کاندیدا در سطح بیس دندان مصنوعی می‌باشد<sup>۳۰-۳۱</sup>.

نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده امکان استفاده از پروبیوتیک‌ها و مواد شیمیایی مانند سدیم هیپوکلریت برای ضد عفونی کردن دندان مصنوعی و جلوگیری از ایجاد دنچر استوماتیت پیشنهاد می‌شود. هیپوکلریت سدیم و پروبیوتیک‌ها هر دو اثبات شده اند که ایمن، ساده، موثر و ارزان قیمت است که می‌توان برای ضد عفونی کردن دندان مصنوعی استفاده شوند.

### تشکر و سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی البرز می‌باشد که بخشی از منابع مالی آن توسط دانشگاه البرز تامین شده است.

### References

- Ishijima SA, Hayama K, Burton JP, Reid G, Okada M, Matsushita Y, et al. Effect of *Streptococcus salivarius* K12 on the In vitro growth of *Candida albicans* and its protective effect in an oral candidiasis model. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78(7):2190-9.
- Naik AV, Pai RC. A study of factors contributing to denture stomatitis in a north Indian community. *International journal of dentistry*. 2011;2011
- Sutula J, Coulthwaite L, Thomas L, Verran J. The effect of a commercial probiotic drink on oral microbiota in healthy complete denture wearers. 2012;1:1-9.
- Arendorf TM, Walker DM. Denture stomatitis: a review. *J Oral Rehabil*. 1987;14(3):217-27.
- Cavalcanti YW, Bertolini MM, Del Bel Cury AA, Da Silva WJ. The effect of poly(methyl methacrylate) surface treatments on the adhesion of silicone-based resilient denture liners. *J Prosthet Dent*. 2014;112(6):1539-44.
- Sahebamee M, S BS, Asadi G, Neishabouri K. Predisposing Factors associated with Denture Induced Stomatitis. 2011;11:35-9.
- Lombardi T, Budtz-Jørgensen E. Treatment of denture-induced stomatitis: a review. *Eur J Prosthodont Restor Dent*. 1993;2(1):17-22.
- Iinuma T, Arai Y, Abe Y, Takayama M, Fukumoto M, Fukui Y, et al. Denture wearing during sleep doubles the risk of pneumonia in the very elderly. *J Dent Res*. 2015;94(3):28S-36S.
- Müller F. Oral hygiene reduces the mortality from aspiration pneumonia in frail elders. *J Dent Res*. 2015;94(3):14S-16S.
- Barrett D. Interventions for cleaning dentures in adults. *International journal of evidence-based healthcare*. 2010 Dec 1;8(4):286-7.
- Srinivasan M, Gulabani M. A microbiological evaluation of the use of denture cleansers in combination with an oral rinse in complete denture patients. *Indian J Dent Res*. 2010;21(3):353.
- Andrade IM de, Andrade KM de, Pisani MX, Silva-Lovato CH, Souza RF de, Paranhos H de FO. Trial of an experimental castor oil solution for cleaning dentures. *Braz Dent J*. 2014;25(1):43-7.
- Ingram DM, Bosse GM, Baldwin R. Ingestion of a denture cleanser: Did it cause gastric perforation?. *Journal of Medical Toxicology* 2008 Mar 1;4(1):21-4.
- Cochis A, Fracchia L, Martinotti MG, Rimondini L.

- Biosurfactants prevent in vitro *Candida albicans* biofilm formation on resins and silicon materials for prosthetic devices. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology* 2012 Jun 1;113(6):755-61.
15. Liu Y, Filler SG. *Candida albicans* Als3, a Multifunctional Adhesin and Invasion. 2011;10(2):168–73.
  16. Nyanzi R, Jooste PJ, Cameron M, Witthuhn C. Comparison of rpoA and pheS gene sequencing to 16S rRNA gene sequencing in identification and phylogenetic analysis of LAB from probiotic food products and supplements. *Food Biotechnol*. 2013;27(4):303–27.
  17. Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J Appl Microbiol*. 2001;90(2):172–9.
  18. Orsi CF, Sabia C, Ardizzoni A, Colombari B, Neglia RG, Peppoloni S, et al. Inhibitory effects of different lactobacilli on *Candida albicans* hyphal formation and biofilm development. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2014;28(4):743–52.
  19. Vilela SFG, Barbosa JO, Rossoni RD, Santos JD, Prata MCA, Anbinder AL, et al. *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 inhibits biofilm formation by *C. albicans* and attenuates the experimental candidiasis in *Galleria mellonella*. *Virulence* 2015;6(1):29–39.
  20. Matsubara VH, Bandara H, Mayer MPA, Samaranyake LP. Probiotics as antifungals in mucosal candidiasis. *Clin Infect Dis*. 2016;62(9):1143–53.
  21. Wannun P, Piwat S, Teanpaisan R. Purification, characterization, and optimum conditions of fermentin SD11, a bacteriocin produced by human orally *Lactobacillus fermentum* SD11. *Appl Biochem Biotechnol*. 2016;179(4):572–82.
  22. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis*. 2005;11(3):131–7.
  23. Ishikawa KH, Mayer MPA, Miyazima TY, Matsubara VH, Silva EG, Paula CR, et al. A multispecies probiotic reduces oral *Candida* colonization in denture wearers. *J Prosthodont*. 2015;24(3):194–9.
  24. Aslanimehr M, Rezvani S, Mahmoudi A, Moosavi N. Comparison of *Candida albicans* adherence to conventional acrylic denture base materials and injection molding acrylic materials. *J Dent*. 2017;18(1):61.
  25. Daniluk T, Fiedoruk K, Sciepek M, Zaremba ML, Rozkiewicz D, Cylwik-Rokicka D, et al. Aerobic bacteria in the oral cavity of patients with removable dentures. *AdvMedSci*. 2006;51 Suppl1:86–90.
  26. O'Donnell LE, Robertson D, Nile CJ, Cross LJ, Riggio M, Sherriff A, et al. The oral microbiome of denture wearers is influenced by levels of natural dentition. *PLoS One*. 2015;10(9):e0137717.
  27. Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH, et al. Probiotics reduce the prevalence of oral *Candida* in the elderly—a randomized controlled trial. *J Dent Res*. 2007;86(2):125–30.
  28. Ghalichebaf M, Graser GN, Zander HA. The efficacy of denture-cleansing agents. *J Prosthet Dent*. 1982;48(5):515–20.
  29. Yılmaz H, Aydın C, Bal BT, Özçelik B. Effects of disinfectants on resilient denture-lining materials contaminated with *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sobrinus*, and *Candida albicans*. *Quintessence Int (Berl)*. 2005;36(5).
  30. Skupien JA, Valentini F, Boscato N, Pereira-cenci T. Prevention and treatment of *Candida* colonization on denture liners: A systematic review. *J Prosthet Dent*. 2012;110(5):356–62.
  31. BERGENDAL TOM, ISACSSON G. Effect of nystatin in the treatment of denture stomatitis. *Eur J Oral Sci*. 1980;88(5):446–54.
  32. Barkvoll P, Attramadal A. Effect of nystatin and chlorhexidine digluconate on *Candida albicans*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 1989;67(3):279–81.
  33. Douglas WH, Walker DM. Nystatin in denture liners--an alternative treatment of denture stomatitis. *Br Dent J*. 1973;135(2):55.
  34. Thomas CJ, Nutt GM. The in vitro fungicidal properties of Visco-gel, alone and combined with nystatin and amphotericin B. *J Oral Rehabil*. 1978;5(2):167–72.
  35. Schneid TR. An in vitro analysis of a sustained release system for the treatment of denture stomatitis. *Spec Care Dent*. 1992;12(6):245–50.

Ahmadreza Mirzaei<sup>1</sup>, Arezoo Aghakouchakzadeh<sup>2\*</sup>, Mahboobeh Mehrabani<sup>3</sup>, Zohreh Khodaii<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Student Research Committee, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Alborz University of Medical Science, Karaj, Iran

<sup>3</sup> Dietary Supplements and Probiotics Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

## Evaluation Adherence of Candida Albicans on Polymethacrylate in Probiotics Solouction

Received: 15 Jan. 2020 ; Accepted: 21 Apr. 2020

### Abstract

**Background:** The common cause of stomatitis is the oral dandruff of candida albicans in the Microbial flora of the oral cavity of healthy young people. The base of acrylic dentures is usually made of the polymethacrylate resin. The various factors make it possible for the cavonisation candida to be cooled in to these materials, which there are various protocols to prevent this. The probiotics may be among these factors.

**Methods:** In this study, discs of acrylic resins in different groups after exposure to Candida albicans were exposed to are solution including a probiotic bacteria L-rhamnosus GG ,a solution containing probiotic K12 streptococcus salivarius a sodium hypochlorite , nystatin solution, normal saline, then the number of candida albicans was counted and their comparison was made Statistical analysis was performed using ANOVA.

**Results:** The results showed a significant decrease ( $p < 0/001$ ) in the number of C.adbicans in discriples in probiotic solution to normal saline solations. Also, the lowest number of C.adbicans sticking to discs plates in a solution Containing nystatin and sodium hypochlorite has been

**Conclusion:** According to the results of this study, probiotic Solutions can be used to reduce the number of C.alhicans adhearing to the removable denture base.

**Keywords:** Candida albicans, Polymethacrylate, Probiotics

#### \*Corresponding Author:

Assistant Professor,  
Department of Oral and  
Maxillofacial Pathology,  
School of Dentistry, Alborz  
University of Medical Science,  
Karaj, Iran

Tel: 02633531614  
E-mail: a.aghakouchakzadeh@gmail.com