AJCM
Avicenna Journal of Clinical Medicine

Avicenna J Clin Med, 2022; 29(3): 134-141. Doi: 10.32592/ajcm.29.3.134

https://sjh.umsha.ac.ir

Original Article

Synthesis of Boron Nanocomposites Doped on the Hydroxyapatite-Chitosan Surface and Its Effect on the Microhardness of Demineralized Tooth Enamel

Zahra Khamverdi[1], Ebrahim Yarmohammadi[1], Abbas Farmani[2], Salman Khazaee[3], Zeinab Mohammadi[4,*]

[1] Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Dental Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[2] Dental Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[3] Social Determinants of Health Research Center, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
[4] Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran

Article history:
Received: 03 August 2022
Revised: 05 October 2022
Accepted: 13 November 2022
ePublished: 10 December 2022

***Corresponding author:** Zeinab Mohammadi, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
Email:
z.mohamadi7991@gmail.com

Abstract

Background and Objective: noninvasive treatments are preferred for tooth enamel remineralization, and metal nanocomposites could be used for this purpose. The present study investigated the effect of boron nanocomposites doped on the hydroxyapatite-chitosan surface on the microhardness of demineralized tooth enamel.

Materials and Methods: In this laboratory study, boron nanocomposites doped on the hydroxyapatite-chitosan surface were made by the sol-gel method. A total of 45 healthy human teeth were selected and divided into buccal and lingual halves. The demineralization cycle of the samples was performed for 14 days to demineralize the tooth enamel surface. The samples were randomly divided into three equal groups based on the use of remineralizing materials, G1:hydroxyapatite-chitosan nanocomposites; G2:boron nanocomposites doped on the hydroxyapatite-chitosan surface, and G3:control group without nanocomposite. Nanocomposites were applied on the surface of the teeth for 28 days (twice a day). The microhardness of the samples was performed by the Vickers test at three points. The SPSS software (version 19), one-way analysis of variance, and Tukey's test were used for statistical analysis of the data (α=0.05). The surface morphology of the groups was examined by SEM.

Results: There was a statistically significant difference between the three studied groups ($P<0.001$). The highest mean was first observed in the G2(368.12) and then in the G1(342.62). Moreover, the lowest mean was related to the control group(267.53). Pair-by-pair comparison of groups showed that there was a significant statistical difference between groups 1 and 2, 1 and 3 as well as 2 and 3 ($P<0.05$).

Conclusion: Both HApC and B@HApC compounds improve remineralization and increase the microhardness of tooth enamel; however, this increase was greater in the presence of a boron-containing compound.

Keywords: Boron, Chitosan, Microhardness, Nanohydroxyapatite, Tooth Remineralization..

Please cite this article as follows: Khamverdi Z, Yarmohammadi E, Farmani A, Khazaee S, Mohammadi Z. Synthesis of Boron Nanocomposites Doped on the Hydroxyapatite-Chitosan Surface and Its Effect on the Microhardness of Demineralized Tooth Enamel. *Avicenna J Clin Med*. 2022; 29(3): 134-141. DOI: 10.32592/ajcm.29.3.134

Copyright © 2022 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 ۲۹، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، صفحات: ۱۴۱-۱۳۴
https://sjh.umsha.ac.ir

مقاله پژوهشی

سنتز نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت–کیتوسان و بررسی اثر آن بر ریزسختی مینای دندان دمینرالیزه‌شده

زهرا خاموردی[۱]، ابراهیم یارمحمدی[۱]، عباس فرمانی[۲]، سلمان خزایی[۳]، زینب محمدی[۴،*]

[۱] گروه ترمیمی، دانشکده دندان‌پزشکی، مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۲] مرکز تحقیقات دندان‌پزشکی،دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۳] مرکز تحقیقات تعیین‌کننده‌های اجتماعی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران
[۴] گروه ترمیمی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۱/۰۵/۱۲
ویرایش: ۱۴۰۱/۰۷/۱۳
پذیرش: ۱۴۰۱/۰۸/۲۲
انتشار: ۱۴۰۱/۰۹/۱۹

تمامی حقوق نشر برای دانشگاه علوم پزشکی همدان محفوظ است.

* **نویسنده مسئول**: زینت محمودی، گروه ترمیمی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
ایمیل: z.mohamadi7991@gmail.com

چکیده

سابقه و هدف: درمان‌های غیرتهاجمی برای رمینرالیزاسیون مینای دندان ترجیح داده می‌شوند که برای انجام این کار می‌توان از نانوکامپوزیت‌های فلزی استفاده کرد. هدف این مطالعه بررسی اثر نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان روی ریزسختی مینای دندان دمینرالیزه‌شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه آزمایشگاهی، نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان به روش sol-gel ساخته شد. ۴۵ دندان پرمولر سالم انسانی انتخاب و به دو نیمه باکالی و لینگوالی تقسیم شد. سیکل دمینرالیزاسیون نمونه‌ها برای مدت ۱۴ روز انجام شد تا سطح مینای دندان دمینرالیزه شود. سپس نمونه‌ها به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی بر اساس کاربرد مواد رمینرالیزه‌کننده تقسیم شدند؛ گروه ۱: نانوکامپوزیت‌های هیدروکسی آپاتیت–کیتوسان؛ گروه ۲: نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت–کیتوسان و گروه ۳: گروه کنترل بدون نانوکامپوزیت. نانوکامپوزیت‌ها در طول ۲۸ روز (۲ بار در روز) روی سطح دندان‌ها اعمال شدند. ریزسختی نمونه‌ها با استفاده از تست ویکرز در سه نقطه انجام شد. برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ و آزمون‌های تحلیل واریانس یک‌طرفه و توکی استفاده شد (α=۰/۰۵). مورفولوژی سطحی گروه‌ها با استفاده از SEM بررسی شد.

یافته‌ها: بین سه گروه مطالعه‌شده تفاوت آماری معناداری وجود داشت (P<۰/۰۰۱). بیشترین میانگین در گروه نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان (۳۶۸/۱۲) و سپس در گروه نانوکامپوزیت‌های هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان (۳۴۲/۶۲) مشاهده شد. کمترین میانگین نیز مربوط به گروه کنترل (۲۶۷/۵۳) بود. مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد بین گروه‌های ۱ و ۲، ۱ و ۳ و گروه ۲ و ۳ تفاوت آماری معناداری وجود دارد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: هر دو ترکیب HApC و B@HApC باعث بهبود رمینرالیزاسیون و افزایش ریزسختی مینای دندان می‌شود، اما این افزایش در حضور ترکیب حاوی بور بیشتر بود.

واژگان کلیدی: بور، رمینرالیزاسیون دندان، ریزسختی، کیتوسان، نانوهیدروکسی آپاتیت

استناد: خاموردی، زهرا؛ یارمحمدی، ابراهیم؛ فرمانی، عباس؛ خزایی، سلمان؛ محمدی، زینب. سنتز نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان و بررسی اثر آن بر ریزسختی مینای دندان دمینرالیزه‌شده. مجله پزشکی بالینی ابن سینا، تابستان ۱۴۰۱؛۲۹(۳): ۱۴۱-۱۳۴.

مقدمه

پوسیدگی دندان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های مزمن در جهان است. این بیماری عفونی ناشی از کلونیزاسیون باکتری‌هاست که با

دکلسیفیکاسیون بخش غیرآلی دندان شروع و با تخریب ماتریکس آلی دنبال می‌شود (۱). در مراحل اولیه پوسیدگی، ضایعه‌ای تشکیل می‌شود که در معاینات کلینیکی قابل‌تشخیص نیست و گسترش آن باعث تشکیل حفره می‌شود. به‌منظور جلوگیری از تشکیل حفره، تشخیص ضایعات در مراحل اولیه ضروری است (۲). ازآنجاکه ترمیم این ضایعات باعث ایجاد مشکلاتی ازقبیل ریزنشت لبه‌ای و پوسیدگی ثانویه می‌شود، درمان‌های غیرتهاجمی با هدف جلوگیری از دمینرالیزاسیون نسج دندانی ترجیح داده می‌شوند (۳). مطالعات روش‌های گوناگونی چون استفاده از عوامل رمینرالیزه‌کننده را معرفی کرده‌اند.

هیدروکسی آپاتیت ماده زیست‌سازگاری است که به‌طور گسترده در پزشکی، داروسازی و دندان‌پزشکی استفاده می‌شود. در دندان‌پزشکی این ترکیب در تهیه ایمپلنت‌ها و سمان‌های حاوی آپاتیت کاربرد دارد (۴). استفاده از ترکیبات نانوساختار از قبیل نانوهیدروکسی آپاتیت و نانو بایوگلاس در خمیردندان‌ها و دهان‌شویه‌ها به بهبود روند رمینرالیزاسیون مینای دندان کمک می‌کند. هیدروکسی آپاتیت برای اولین بار در سال ۱۹۸۰ در ترکیب خمیردندان استفاده شد و اثر ضدپوسیدگی آن در سال ۱۹۹۳ تأیید شد (۵). ذرات میکروکریستالین هیدروکسی آپاتیت برای پیشگیری از دمینرالیزاسیون یا رمینرالیزاسیون مینا و عاج دندانی دمینرالیزه‌شده مناسب است. کلسیم و فسفات موجود در این ترکیبات مشابه بافت سخت دندانی است و خواص ضدباکتریایی دارد. غلظت‌های ۱۰ درصد کریستال‌های نانوهیدروکسی آپاتیت با قطر ۱۰ تا ۲۰ نانومتر و طول ۶۰ تا ۸۰ نانومتر با نفوذ در فضای بین منشورهای مینای دندان و همچنین برهم‌کنش با پروتئین‌های موجود در آن ناحیه باعث القای رمینرالیزاسیون مینای دندان می‌شوند (۶).

کیتوسان نوعی پلی‌ساکارید مشتق‌شده از کیتین است و به صورت یک پلیمر طبیعی در اسکلت خارجی بندپایان، صدف سخت‌پوستان و پوست حشرات یافت می‌شود. کیتوسان و نانوذرات کیتوسان به دلیل سازگاری زیستی ذاتی و زیست تخریب‌پذیری و عدم سمیت توجه زیادی را در پزشکی، داروسازی و مهندسی بافت به خود جلب کرده است. برخی از اثرات دارویی کیتوسان عبارت‌اند از: ایمن‌سازی، ضد افزایش فشار خون و پایین‌آورنده کلسترول خون. کیتوسان خاصیت ضدتومور، بهبود زخم، اتصال به موکوس و فعالیت ضدباکتریایی دارد (۷).

بور داپ‌شده به بایوگلاس‌ها به دلیل داشتن خواص بیولوژیکی مانند آزادسازی فاکتورهای رشدی و سایتوکاین‌ها و افزایش تکثیر ماتریکس خارج سلولی، امروزه در داربست‌های مهندسی بافت مورد استقبال قرار گرفته است (۸). مطالعات اخیر نشان داده‌اند نبود بور در رژیم غذایی به‌طور قابل توجهی روی رشد استخوان و دندان تأثیرگذار است (۹) و ضخامت مینای دندانی بالغ در رت‌ها به دلیل نبود بور کاهش می‌یابد (۱۰).

به دلیل نبود اطلاعات کافی درباره اثرات بور در ترکیب با داربست‌های هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان بر تشکیل ضایعات مینایی، این مطالعه با هدف سنتز نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان و بررسی اثرات آن بر ریزسختی مینای دندانی دمینرالیزه‌شده طراحی شد.

روش کار

سنتز ترکیب نانوکامپوزیت بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان

به‌منظور تهیه ترکیب، از روش sol-gel در محیط قلیایی استفاده شد. ۲۰ میلی‌لیتر TEOS با ۲/۸ میلی‌لیتر اسید نیتریک و ۹/۹ میلی‌لیتر آب مقطر برای مدت‌زمان ۱ ساعت تحت هیدرولیز اسیدی قرار گرفت. در این مرحله مقدار مشخصی اسید بوریک به ترکیب افزوده شد و به مدت ۳۰ دقیقه تحت شرایط هم زدن قرار گرفت. سپس ۲/۱۵ میلی‌لیتر TEP به محلول اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه دیگر در شرایط stirring قرار گرفت. در مرحله بعد مقدار مشخصی $Ca(NO_3)_2$ به محلول اضافه شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از کیتوسان ۰/۵ درصد به اسید استیک ۱ درصد تحت stirring افزوده شد. پس از افزودن آمونیاک و کیتوسان، مخلوط مدنظر آن‌قدر هم زده شد که ترکیب ژله‌مانندی تشکیل شد. ژل تشکیل‌شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد (۱۱).

انجام تست‌های مشخصه‌یابی

به‌منظور بررسی تشکیل ترکیب نانوساختار از طیف‌سنجی FTIR استفاده شد. ساختار نانوکامپوزیت سنتزشده با استفاده از XRD مشخصه‌یابی شد. همچنین مورفولوژی سطح و سایز نانوذرات با استفاده از TEM و SEM بررسی شد. به‌منظور بررسی ساختار کریستالی نانوذرات از روش XRD (X-Ray Diffraction) استفاده شد. در این روش از دستگاه Panalytical Xpert PRO X Ray Diffractometer(Panalytical, Netherlands) مدل Xpert Pro MPD با طول موج Å1.5405 و قدرت ۴۰ کیلووات/ ۳۰ میلی‌آمپر برای بررسی ساختار و فاز کریستالی نانوذرات با اسکن در محدوده ۶ تا ۸۰ درجه (2θ) استفاده شد. به‌منظور شناسایی حضور گروه‌های مختلف عملکردی در نمونه از روش FTIR (Fourier-Transform Infrared spectroscopy) استفاده شد. طیف‌های FTIR هیدروکسی آپاتیت سنتزشده در محدوده فرکانس ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1} با استفاده از Perkin Elmer Frontier FTIR ثبت شد. طیف حاصل، گروه‌های عاملی، ساختار شیمیایی، ساختار پیوندهای شیمیایی یون‌ها و ارتعاشات پیوند را نشان می‌دهد.

در این روش از دستگاه FT-IR Spectrometer(PerkinElmer, USA) مدل Spectrum400 استفاده شد. مورفولوژی، توزیع، شکل، اندازه و فعل و انفعالات ذرات در مقیاس نانو با استفاده از میکروسکوپ الکترونی TEM (Transmittance Electron Microscope) مدل

philips XL30 ESEM(Netherlands) بررسی شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها

در این مطالعه آزمایشگاهی ۴۵ دندان پرمولر سالم انسانی انتخاب شد که در ۳ ماه گذشته خارج شده و در کلرامین ۰/۵ درصد غوطه‌ور شده بودند. تاج دندان‌ها با اره الماسی جدا و به قسمت‌های فاسیال و پالاتال برش زده شد و در رزین آکریلی مانت شد، به‌گونه‌ای که سطح ۴×۴ میلی‌متر اکسپوز باشد. سپس برای جلوگیری از دهیدراته شدن مجدداً در آب مقطر قرار داده شدند. به‌منظور ایجاد ضایعات دکلسیفیه روی مینا، نمونه‌ها در محلول دمینرالیزه‌کننده (۲/۲ میلی‌مول NaH_2PO_4، ۰/۵ میلی‌مول $CaCl_2$، ۵۰ میلی‌مول اسید استیک) با pH=4.6 به مدت ۸ ساعت و سپس به مدت ۱ ساعت در بزاق مصنوعی (۰/۴ گرم بر لیتر NaCl، ۰/۴ گرم بر لیتر KCl، ۰/۷۹۵ گرم بر لیتر $CaCl_2.2H_2O$، ۰/۷۸ گرم بر لیتر $NaHPO_4.2H_2O$، ۰/۰۰۵گرم بر لیتر $Na_2S.2H_2O$، آب و اوره به مقدار کافی) و پس از آن در محلول رمینرالیزه‌کننده (۱/۵ میلی‌مول Ca^{2+}($CaCl_2$)، ۰/۹ میلی‌مول phosphate (KH_2PO_4)، ۱ ppm فلوراید (NaF)) با pH=7 به مدت ۱۵ساعت قرار گرفتند. این سیکل برای مدت ۱۴ روز انجام شد تا سطح مینا دمینرالیزه شود. مواد دمینرالیزه‌کننده، رمینرالیزه‌کننده و بزاق مصنوعی هر ۲ روز تعویض شدند. تمام نمونه‌ها به صورت تصادفی به ۳ گروه مساوی تقسیم شدند (تعداد هر گروه: ۱۵)؛ گروه ۱: نانوکامپوزیت‌های هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان؛ گروه ۲: نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان؛ گروه ۳: کنترل بدون اعمال نانوکامپوزیت.

نانوکامپوزیت‌های مدنظر به نسبت مساوی با آب مقطر مخلوط شد تا مخلوط یکنواختی به‌دست آید. سپس با استفاده از میکروبراش به صورت مستقیم روی سطوح مینایی دمینرالیزه‌شده دو بار در روز در ساعت ۸ صبح و ۴ بعدازظهر اعمال شدند. به این صورت که بعد از خشک کردن دندان‌ها، به صورت مستقیم روی سطح مینای دندانی دمینرالیزه‌شده برای مدت ۴ دقیقه قرار گرفتند. سپس مواد به‌کاررفته به مدت ۲ دقیقه با آب جاری شسته و در بزاق مصنوعی نگهداری شدند. این فرایند به مدت ۲۸ روز انجام شد. درنهایت نمونه‌ها برای مدت ۲۴ ساعت قبل از تست سختی‌سنجی در آب مقطر نگهداری شدند (۱۲).

انجام تست سختی‌سنجی

به‌منظور بررسی ریز سختی سطح نمونه‌ها از تست ویکرز استفاده شد. ریز سختی با استفاده از microhardness tester (Micrometer 1, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) microscope برای سنجش میزان indentation ایجادشده با نیروی ۱۰۰ گرم برای مدت ۱۰ ثانیه در سه نقطه اندازه‌گیری شد. سپس میانگین میکروهاردنس برای سه نقطه محاسبه شد.

بررسی میکروسکوپ الکترونی

از میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM (Hitachi S-450, 20 kV, Japan) برای بررسی مورفولوژی سطح مینای دندان استفاده شد. داده‌های مطالعه با توجه به اهداف مطالعه جمع‌آوری و با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ در سطح خطای ۵ درصد تجزیه‌وتحلیل شد. با استفاده از روش‌های آمار توصیفی شامل میانگین و انحراف معیار و همچنین فراوانی و درصد فراوانی نمونه‌های مطالعه توصیف شد. آمار توصیفی مربوط به گروه‌های سه‌گانه ریزسختی با آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی و نرمالیتی داده‌ها تأیید شد (P> ۰/۰۵). از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. همچنین مقایسه زوجی گروه‌های مطالعه با استفاده از آزمون‌های تعقیبی توکی انجام شد.

نتایج

به‌منظور مشخصه‌یابی نانوذرات، پروفایل XRD مربوط به نانوذرات سنتزشده در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد پیک‌های XRD حاصل از نانوذره کلسینه‌شده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد ساختار کریستالی دارد.

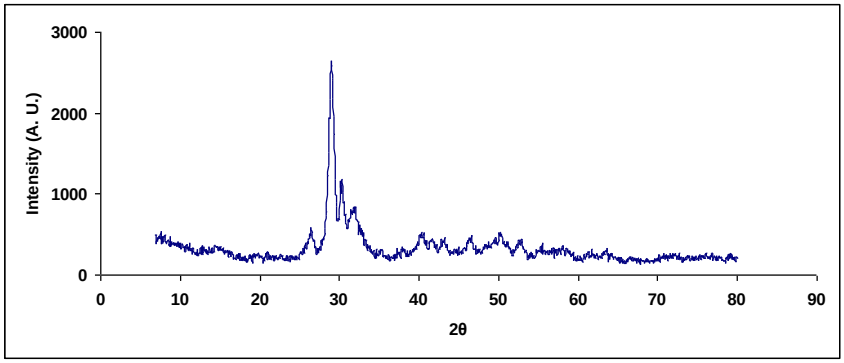
بررسی تصاویر TEM مربوط به نانوذرات سنتزشده میکروسکوپی الکترونی عبوری، وجود مورفولوژی میله‌ای‌شکل نانوذرات هیدروکسی آپاتیت با اندازه ذره حدود ۱۰۰ نانومتر و قطر حدود ۴۰ نانومتر را تأیید می‌کند.

طیف FTIR نمونه HA در شکل ۲ نشان داده شده است. برای مرجع PO_4^{-3} و همچنین CO_3^{-2} در ترکیب هیدروکسی آپاتیت، خطوط طیفی در ۵۵۹، ۱۰۶۸، ۱۴۱۳ cm^{-1} نمایان هستند. آب موجود در ساختار هیدروکسی آپاتیت به صورت هیدروکسیل در ۳۳۹۶ و ۱۶۱۷ cm^{-1} نشان داده شده است. ارتعاش کششی OH– در ۳۳۶۷ cm^{-1} در شکل ۲ مشاهده می‌شود (۱۳).

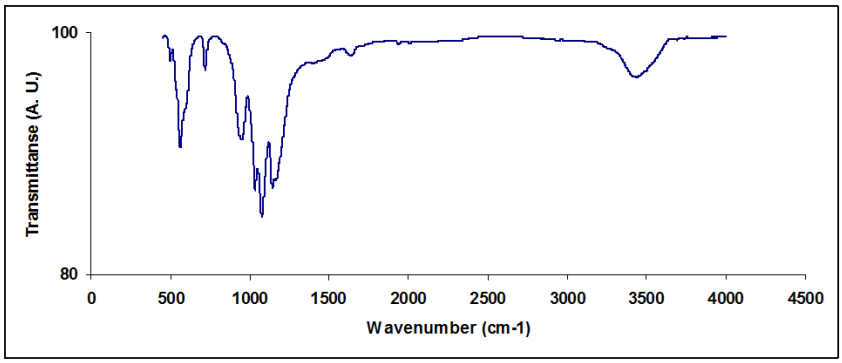
آمار توصیفی مربوط به گروه‌های سه‌گانه ریزسختی نشان داد بیشترین میانگین مربوط به گروه ۲ با میانگین و انحراف معیار ۳۶۸/۱۵±۱۲/۴۴ کیلوگرم بر میلی‌متر مربع و کمترین مربوط به گروه ۳ با میانگین و انحراف معیار ۲۶۷/۵۳±۵/۵۰ کیلوگرم بر میلی‌متر مربع است.

همچنین نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد اختلاف معناداری بین سه گروه از نظر میانگین میکروهاردنس وجود دارد (P <۰/۰۰۱) (جدول ۱).

با استفاده از آزمون تعقیبی توکی مقایسه دو به دو بین گروه‌ها انجام شد. اختلاف میانگین ریزسختی بین گروه‌های ۱ و ۲، ۲۵/۵۰ کیلوگرم بر میلی‌متر مربع است که از نظر آماری معنادار بود (P ۰/۰۰۱ >). همچنین اختلاف بین گروه‌های ۱ و ۳، ۷۵/۰۹ کیلوگرم بر میلی‌متر مربع و بین گروه‌های ۲ و ۳، ۱۰۰/۵۹ کیلوگرم بر میلی‌متر مربع است



شکل ۱: الگوی XRD نانوذرات هیدروکسی آپاتیت



شکل ۲: طیف FTIR نانوذرات هیدروکسی آپاتیت

که از نظر آماری معنادار هستند (P <۰/۰۰۱).

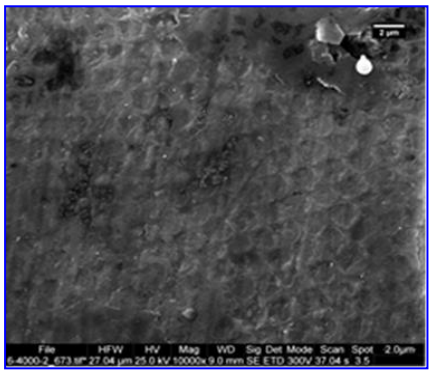
نتایج بررسی میکروسکوپ الکترونی

به‌منظور بررسی مورفولوژی سطحی نمونه‌ها، میکروگراف‌های SEM مربوط به سطح مینای دندان در گروه‌های مختلف مطالعه تهیه شد. نتایج به‌دست‌آمده در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ۳-الف نشان داده شده است، در گروه کنترل روی سطح نمونه‌های دندانی نمای honeycomb دیده می‌شود و در گروه نانوهیدروکسی آپاتیت، نمای honeycomb تقریباً از بین رفته است (شکل ۳-ب).

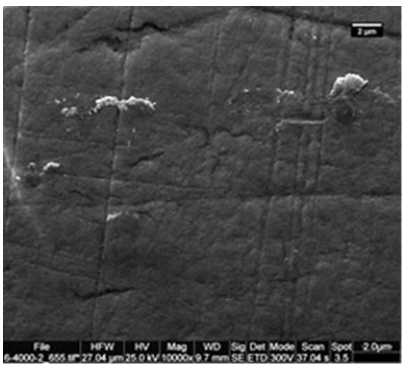
جدول ۱: میانگین ریزسختی گروه‌ها

گروه	تعداد	میانگین (کیلوگرم بر میلی‌متر مربع)	انحراف معیار	خطای استاندارد	فاصله اطمینان ۹۵ درصد		مینیمم	ماکزیمم
					کمترین میزان ریزسختی	بیشترین میزان ریزسختی		
۱	۱۵	۳۴۲/۶۲	۱۴/۴۰	۳/۷۲	۳۳۴/۶۵	۳۵۰/۵۹	۳۱۴/۳	۳۶۱/۶
۲	۱۵	۳۶۸/۱۲	۱۵/۴۴	۳/۹۹	۳۵۹/۵۷	۳۷۶/۶۷	۳۳۰/۰	۳۹۲/۳
۳	۱۵	۲۶۷/۵۳	۵/۵۰	۱/۴۲	۲۶۴/۴۹	۲۷۰/۵۸	۲۵۷/۰	۲۷۵/۶

الف



ب



شکل ۳: نتایج میکروسکوپ الکترونی

الف) گروه کنترل، ب) گروه نانو

بحث

امروزه پیشگیری نسبت به درمان اولویت یافته است (۲). هدف از پیشگیری، رمینرالیزه کردن سطح دندان به‌منظور تشکیل لایه‌ای محافظتی برای جلوگیری از پیشرفت ضایعات است (۱۴). برای رمینرالیزاسیون مینای دندان از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود. یکی از عوامل رمینرالیزه‌کننده، نانوهیدروکسی آپاتیت است. به دلیل زیست‌سازگاری خوب و فعالیت بیولوژیکی آن، به‌طور گسترده در دندان‌پزشکی و ترمیم استخوان کاربرد دارد. همچنین از نانو هیدروکسی آپاتیت به‌عنوان حامل دارو برای ارائه داروهای ضدتومور استفاده می‌شود (۱۵).

ماده کیتوسان مشتقی از گلوکان با واحدهای تکرارشونده کیتین است که به دلیل غیرسمی بودن و سازگاری زیستی، خاصیت جذب زیاد، ضدباکتریایی و امکان تجزیه در طبیعت بسیار مورد توجه است (۱۶). استفاده از کیتوسان به‌عنوان پلیمر با توانایی اتصال با ماندگاری طولانی‌مدت بر روی مخاط دهان پیشنهاد می‌شود (۱۷). بور نیز یکی از عناصر شبه‌فلزی است که به دلیل اثرات مثبت در تشکیل استخوان و اثرات ضدباکتریایی احتمالی برای داپ کردن استفاده می‌شود (۱۸). اخیراً اثر استئواینداکتیو HAps از طریق داپ کردن بور که به‌عنوان یک عنصر کمیاب حیاتی در بدن انسان شناخته شده است و نقش مهمی در متابولیسم استخوان ایفا می‌کند، افزایش یافته است (۱۹).

هدف از مطالعه حاضر سنتز نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان به‌عنوان یک عامل رمینرالیزه‌کننده دندانی و بررسی اثرات آن بر ریزسختی مینای دندان دمینرالیزه شده بود. در این مطالعه از نمونه‌های دندانی انسانی استفاده شد؛ زیرا استفاده از دندان انسان برای مطالعات دمینرالیزاسیون و رمینرالیزاسیون ارجح است (۲۰). همچنین دندان‌های پرمولر شایع‌ترین دندان‌هایی هستند که در درمان ارتودنسی خارج می‌شوند و بدین دلیل در مطالعه حاضر استفاده شدند.

فرایند دمینرالیزاسیون بر اساس محلول‌های استاندارد رمینرالیزاسیون و دمینرالیزاسیون و بر اساس پروتکل pH-cycling در این مطالعه انجام شد (۳). شواهد نشان داد pH-cycling روش مطمئنی برای ایجاد پیشرفت ضایعه و تغییرات معدنی ضایعات مینایی مصنوعی است و شرایطی را شبیه‌سازی می‌کند که در آن پوسیدگی اتفاق می‌افتد (۴).

از تست ریزسختی ویکرز برای مقایسه میزان رمینرالیزاسیون بین گروه‌های مطالعه استفاده شد؛ زیرا اثری مربعی روی سطح مینای دندان به جا می‌گذارد که به‌راحتی قابل تشخیص است (۱۴). در تست ویکرز وجود هر شیبی می‌تواند باعث ایجاد اثر عمیق و VHN (Vickers Hardness Number) کوچک شود و چون سطح دندان محدب است، باعث اختلاف بین VHN نقاط مختلف در هر نمونه می‌شود. درنتیجه برای جلوگیری از سوگیری، این تست در سه نقطه انجام شد و از میانگین این سه نقطه برای تحلیل آماری استفاده شد (۲۱).

یکی از یافته‌های این مطالعه نشان داد میانگین ریزسختی گروه هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان با گروه کنترل از نظر آماری معنادار است. دلیل احتمالی این نتیجه را می‌توان به توانایی نانوهیدروکسی آپاتیت در رمینرالیزاسیون مینای دندان نسبت داد. نانو هیدروکسی آپاتیت به دلیل داشتن کلسیم و فسفات مشابه ساختار دندان است، در فضای بین منشورهای مینایی نفوذ می‌کند، تخلخل‌های ایجادشده در مینای دمینرالیزه را پر می‌کند و از طریق واکنش با پروتئین‌های آن ناحیه باعث رمینرالیزاسیون مینای دندان و افزایش میزان ریزسختی آن می‌شود (۶، ۲۲).

کامپوزیت n-HApC (نانوهیدروکسی آپاتیت-کیتوسان) ظرفیت فلوریداسیون بیشتری نسبت به n-HAp (نانوهیدروکسی آپاتیت) دارد. مطالعات کارآزمایی میدانی نشان دادند کامپوزیت n-HApC می‌تواند به‌عنوان یک عامل فلوریداسیون مؤثر استفاده شود. این نانوکامپوزیت زیست‌آلی به دلیل کارآمدی، مقرون‌به‌صرفه و زیست‌سازگار بودن پیشرفت فناوری فلوریداسیون را بیشتر نشان می‌دهد (۲۳).

نتایج حاصل از مطالعه Memarpour نشان داد استفاده از نانوهیدروکسی آپاتیت قبل از کاربرد فیشورسیلانت روش مؤثری برای پر کردن تخلخل‌ها در مینای دمینرالیزه است و رمینرالیزاسیون را در مقایسه با مینای دندانی دمینرالیزه بهبود می‌بخشد (۲۲). همچنین در مطالعه‌ای دیگر Masaeli و همکاران نشان دادند افزودن نانوهیدروکسی آپاتیت و کیتوسان باعث افزایش سختی و مقاومت در برابر سایش می‌شود (۲۴). نتایج مطالعه Zhang نشان داد آماده‌سازی کیتوسان با ماده بایو اکتیوگلاس زمانی که مدت زمان حضور پلیکل کوتاه باشد، می‌تواند رمینرالیزاسیون لکه‌های سفید را بهبود بخشد (۲۵). این مطالعات نتایج مطالعه حاضر را تأیید می‌کنند.

یافته دیگر این مطالعه بیان می‌کند ریزسختی گروه بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان بیشترین میزان را داشته و نسبت به گروه‌های دیگر از نظر آماری معنادار است. علت این یافته را می‌توان به اثرات استئو بلاستیک بور نسبت داد که در ترکیب با هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان اثرات آن‌ها به صورت سینرژیک افزایش یافته است (۲۶).

یافته‌های مطالعه Gorustovich نشان داد بایو اکتیوگلاس اصلاح‌شده با بور تشکیل استخوان را در تیبیای رت‌ها بهبود بخشید (۸). Gümüşderelioğlu اثرات بور انکپسوله‌شده را بر تکثیر و تمایز سلول‌های پیش استئوبلاستیک MC3T3-E1 در شرایط آزمایشگاهی بررسی کرد و گزارش داد اثر تحریکی بر استئوبلاست‌ها دارد (۲۷). Pandi و همکاران نشان دادند کامپوزیت Fe_3O_4@n-HApCS ظرفیت فلوریداسیون عالی نسبت به اجزای جداگانه دارد و جداسازی مغناطیسی کامپوزیت Fe_3O_4@n-HApCS از محیط آبی آسان است (۲۸).

یافته‌های Xue نشان داد کربن و بور داپ‌شده بر نانوماده TiO_2 فعالیت‌های آنتی‌باکتریال را در مقایسه با TiO_2 به‌تنهایی بهبود می‌بخشند و اثرات آنتی‌باکتریال به صورت سینرژیک افزایش معناداری داشتند (۲۹). نتایج مطالعه Curzon نشان‌دهنده تأثیر استرانسیوم و بور در کاهش پوسیدگی‌ها بود (۳۰). چندین مقاله گزارش کردند وجود اسید بوریک در فرمولاسیون‌های ضدمیکروبی می‌تواند عملکرد را بهبود ببخشد. بر اساس این خواص سینرژیک، اسید بوریک به‌طور گسترده در کاربردهای مختلف استفاده می‌شود (۲۶). عنصر بور در مطالعه حاضر نیز استفاده شد. بررسی نمونه‌های گروه B@HApC نشان داد کریستال‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت به شکل آمورف سطح متخلخل منشورهای مینایی را پوشانده‌اند و به صورت لایه‌ای رسوب کرده‌اند که میزان ریزسختی مینای دندان را افزایش می‌دهد.

نتایج بررسی سطح نمونه‌ها با میکروسکوپ الکترونی نتایج ریزسختی را تأیید کرد. نمای honey comb مشاهده‌شده در گروه کنترل که ناشی از دمینرالیزاسیون سطح مینای دندان طی فرایند دمینرالیزاسیون است، در گروه B@HApC تقریباً از بین رفت که ممکن است به دلیل تشکیل یک لایه هیدروکسی آپاتیت بر سطح مینای دندان باشد. بنابراین، با توجه با معنادار شدن ریزسختی گروه‌های تحت مداخله نسبت به گروه کنترل، فرضیه صفر مطالعه تأیید می‌شود.

با توجه به آزمایشگاهی بودن مطالعه، انجام مطالعات بالینی در خصوص تأثیر این مواد بر ضایعات دمینرالیزه اولیه مینا توصیه می‌شود. ازآنجاکه در این مطالعه از درصد خاصی از بور استفاده شد، بررسی مقایسه‌ای درصدهای مختلف بور در رمینرالیزاسیون مینای دندان پیشنهاد می‌شود. همچنین با توجه به این نکته که در این مطالعه زمان خاصی برای اعمال خمیرهای مدنظر در نظر گرفته شد، بررسی زمان‌های مختلف اعمال ماده رمینرالیزه‌کننده در مطالعات بعدی ضروری است. در مطالعه حاضر تست‌های باکتریال انجام نشد که می‌تواند در مطالعات آتی بررسی شود.

نتیجه‌گیری

با وجود محدودیت‌های این مطالعه، نتایج نشان داد هر دو ترکیب B@HApC و HApC باعث افزایش ریزسختی مینای دندان دمینرالیزه شد که نسبت به گروه کنترل معنادار است. همچنین میزان افزایش ریزسختی ترکیب حاوی بور بیشترین مقدار را داشت که نسبت به گروه HApC به‌تنهایی از نظر آماری معنادار است.

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان‌نامه دوره دندان‌پزشکی تخصصی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان به شماره ۱۴۰۰۰۲۲۸۱۴۵۶ گرفته شده است. بدین‌وسیله از زحمات افرادی که در انجام این پروژه همکاری داشتند و از ما حمایت کردند، قدردانی می‌شود.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی گزارش نشده است.

ملاحظات اخلاقی

این طرح از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی همدان با شناسه IR.UMSHA.REC.1399.748 تأییدیه دارد.

سهم نویسندگان

نویسنده اول (پژوهشگر اصلی): طراحی پروژه، تدوین بخش‌های مختلف طرح، ویرایش علمی مقاله (۳۰ درصد)؛ نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی): مشارکت در طراحی پروژه، مشارکت در تدوین بخش‌های مختلف طرح، نگارش مقاله (۳۰ درصد)؛ نویسنده سوم (پژوهشگر همکار): مشاور علمی طرح (۵ درصد)؛ نویسنده چهارم (پژوهشگر همکار): تحلیلگر آماری طرح، تدوین بخش روش‌شناسی (۵ درصد)؛ نویسنده پنجم (پژوهشگر اصلی): مسئول مکاتبات، تدوین پروپوزال، جمع‌آوری نمونه‌ها، بازنگری متون، تدوین مبانی نظری طرح و مشارکت در نگارش مقاله (۳۰ درصد).

حمایت مالی

این پروژه با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی همدان انجام شده است.

REFERENCES

1. Rezaei-Soufi L, Rafieian N, Jazaeri M, Abdolsamadi H, Kasraei S, Alikhani MU, et al. Comparison of the anti-caries effect of polyphenol extract of green tea with 0.05 fluoride, 0.2 cholorhexidine and fluoride-cholorhexidine, an in vitro study. *J Mashhad Dent Sch*. 2012;**36**(4):301-8. DOI: 10.22038/JMDS.2012.51
2. Khamverdi Z, Kordestani M, Panahandeh N, Naderi F, Kasraei S. Influence of CO2 laser irradiation and cppacp paste application on demineralized enamel microhardness. *J lasers Med Sci*. 2018;**9**(2):144-8. PMID: 30026901 DOI: 10.15171/jlms.2018.27
3. Zhang YY, Wong HM, McGrath CPJ, Li QL. In vitro and in vivo evaluation of electrophoresis-aided casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralisation system on pH-cycling and acid-etching demineralised enamel. *Sci Rep*. 2018;**8**(1):1-9. DOI: 10.1038/s41598-018-27304-5
4. Manchery N, John J, Nagappan N, Subbiah GK, Premnath P. Remineralization potential of dentifrice containing nanohydroxyapatite on artificial carious lesions of enamel: A comparative in vitro study. *Dent Res J*. 2019;**16**(5):310-7. PMID: 31543937
5. 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. PMID: 22403978
6. Juntavee N, Juntavee A, Plongniras P. Remineralization potential of nano-hydroxyapatite on enamel and cementum surrounding margin of computer-aided design and computer-aided manufacturing ceramic restoration. *Int J Nanomed*. 2018;**13**:2755-65. PMID: 29780246 DOI: 10.2147/IJN.S165080
7. Dutta PK, Dutta J, Tripathi V. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *J Sci Indust Res*. 2004;**63**:20-31
8. Gorustovich AA, Lopez JM, Guglielmotti MB, Cabrini RL. Biological performance of boron-modified bioactive glass particles implanted in rat tibia bone marrow. *Biomed Mater*. 2006;**1**(3):100-5. PMID: 18458389 DOI: 10.1088/1748-6041/1/3/002
9. Uysal T, Ustdal A, Sonmez MF, Ozturk F. Stimulation of bone formation by dietary boron in an orthopedically

expanded suture in rabbits. *Angle Orthod.* 2009;**79**(5):984-90. PMID: 19705952 DOI: 10.2319/112708-604.1
10. Haro Durand LA, Mesones RV, Nielsen FH, Gorustovich AA. Histomorphometric and microchemical characterization of maturing dental enamel in rats fed a boron-deficient diet. *Biol Trace Elem Res.* 2010;**135**(1-3):242-52. PMID: 19756402 DOI: 10.1007/s12011-009-8512-9
11. Rad RM, Alshemary AZ, Evis Z, Keskin D, Altunbaş K, Tezcaner A. Structural and biological assessment of boron doped bioactive glass nanoparticles for dental tissue applications. *Ceram Int.* 2018;44(8):9854-64. DOI: 10.1016/j.ceramint.2018.02.230
12. Soltanimehr E, Bahrampour E, Yousefvand Z. Efficacy of diode and CO2 lasers along with calcium and fluoride-containing compounds for the remineralization of primary teeth. *BMC Oral Health*. 2019;**19**(1):1-9. DOI: 10.1186/s12903-019-0813-6
13. Wang F, Li MS, Lu YP, Qi YX, Liu YX. Synthesis and microstructure of hydroxyapatite nanofibers synthesized at 37 C. *Mater Chem Phys.* 2006;**95**(1):145-9.
14. Kamal D, Hassanein H, Elkassas D, Hamza H. Complementary remineralizing effect of self-assembling peptide (P11-4) with CPP-ACPF or fluoride: An in vitro study. *J Clin Exp Dent.* 2020;**12**(2):161-68. PMID: 32071698 DOI: 10.4317/jced.56295
15. AbouAitah K, Stefanek A, Higazy IM, Janczewska M, Swiderska-Sroda A, Chodara A, et al. Effective targeting of colon cancer cells with piperine natural anticancer prodrug using functionalized clusters of hydroxyapatite nanoparticles. *Pharmaceutics*. 2020;**12**(1):1-28. PMID: 31963155 DOI: 10.3390/pharmaceutics12010070
16. Kumar MR, Muzzarelli R, Muzzarelli C, Sashiwa H, Domb A. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chem Rev*. 2004;**104**(12):6017-84. PMID: 15584695 DOI: 10.1021/cr030441b
17. Husain S, Al-Samadani KH, Najeeb S, Zafar MS, Khurshid Z, Zohaib S, et al. Chitosan biomaterials for current and potential dental applications. *Materials*. 2017;**10**(6):1-20. PMID: 28772963 DOI: 10.3390/ma10060602
18. Wang Y, Xue X, Yang H. Preparation and characterization of carbon or/and boron-doped titania nano-materials with antibacterial activity. *Ceram Int.* 2014;**40**(8):12533-7. DOI:10.1016/j.ceramint.2014.03.082
19. Ak G, Yilmaz H, Güneş A, Sanlier SH. In vitro and in vivo evaluation of folate receptor-targeted a novel magnetic drug delivery system for ovarian cancer therapy. *Artific Cells Nanomed Biotechnol*. 2018;**46**(1):926-37. PMID: 29458269 DOI: 10.1080/21691401.2018.1439838
20. Mei H, Chen LY, Zhang D, Zhang P, Liu B, Zhao W, et al. Effects of casein phosphopeptide-stabilized amorphous calcium phosphate solution on enamel remineralization. *J Clin Rehab Tissue Engine Res.* 2009;**13**(25):4825-8.
21. Palaniswamy UK, Prashar N, Kaushik M, Lakkam SR, Arya S, Pebbeti S. A comparative evaluation of remineralizing ability of bioactive glass and amorphous calcium phosphate casein phosphopeptide on early enamel lesion. *Dent Res J.* 2016;**13**(4):297-302. PMID: 27605985 DOI: 10.4103/1735-3327.187872
22. Memarpour M, Shafiei F, Rafiee A, Soltani M, Dashti MH. Effect of hydroxyapatite nanoparticles on enamel remineralization and estimation of fissure sealant bond strength to remineralized tooth surfaces: an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2019;**19**(1):1-14. PMID: 31138191 DOI: 10.1186/s12903-019-0785-6
23. Sundaram CS, Viswanathan N, Meenakshi S. Uptake of fluoride by nano-hydroxyapatite/chitosan, a bioinorganic composite. *Biores Technol*. 2008;**99**(17):8226-30. PMID: 18434136 DOI: 10.1016/j.biortech.2008.03.012
24. Masaeli R, Ketabat F, Zandsalimi K. Microhardness and wear resistance of glass ionomer cements modified by chitosan and nano-hydroxyapatite. *J Dent Gilan Univ Med Sci*. 2019;**8**(3):7-13.
25. Zhang J, Lynch RJ, Watson TF, Banerjee A. Remineralisation of enamel white spot lesions pre-treated with chitosan in the presence of salivary pellicle. *J Dent*. 2018;**72**:21-8. PMID: 29474950 DOI: 10.1016/j.jdent.2018.02.004
26. Borokhov O, Schubert D. Antimicrobial properties of boron derivatives. *New Biocides Development*. 2007:412-35. DOI: 10.1021/bk-2007-0967
27. Gümüşderelioğlu M, Tunçay EÖ, Kaynak G, Demirtaş TT, Aydın ST, Hakkı SS. Encapsulated boron as an osteoinductive agent for bone scaffolds. *J Trace Elem Med Biol.* 2015;**31**:120-8. PMID: 26004902 DOI: 10.1016/j.jtemb.2015.03.008
28. Pandi K, Viswanathan N. Synthesis and applications of eco-magnetic nano-hydroxyapatite chitosan composite for enhanced fluoride sorption. *Carbohydrate Polymers*. 2015;**134**:732-9. PMID: 26428179 DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.003
29. Xue X, Wang Y, Yang H. Preparation and characterization of boron-doped titania nano-materials with antibacterial activity. *Appl Surface Sci*. 2013;**264**:94-9. DOI: 10.1016/j.ceramint.2014.03.082
30. Curzon ME, Adkins BL, Bibby BG, Losee FL. Combined effect of trace elements and fluorine on caries. *J Dent Res.* 1970;**49**(3):526-8. PMID: 4393210 DOI: 10.1177/00220345700490030901