


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

Zahra Khamverdi¹ , Ebrahim Yarmohammadi¹, Abbas Farmani², Salman Khazaei³,
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

Abstract

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

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 ($\alpha=0.05$). 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, Khazaei 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

سنتر نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان و بررسی اثر آن بر ریزسختی مینای دندان دمیترالیزه‌شده

زهرا خاموردی^۱، ابراهیم یارمحمدی^۱، عباس فرمانی^۲، سلمان خزایی^۳، زینب محمدی^{۴*} 

^۱ گروه ترمیمی، دانشکده دندان پزشکی، مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۲ مرکز تحقیقات دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۳ مرکز تحقیقات تعیین‌کننده‌های اجتماعی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

^۴ گروه ترمیمی، دانشکده دندان پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

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 دمیترالیزه‌شده 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 دمیترالیزاسیون نمونه‌ها برای مدت ۱۴ روز انجام شد تا سطح مینای دندان دمیترالیزه 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 ($\alpha=0/05$). مورفولوژی سطحی گروه‌ها با استفاده از SEM بررسی شد.

یافته‌ها: بین سه گروه مطالعه‌شده تفاوت آماری معناداری وجود داشت ($P<0/001$). بیشترین میانگین در گروه نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان ($368/12$) و سپس در گروه نانوکامپوزیت‌های هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان ($342/62$) مشاهده شد. کمترین میانگین نیز مربوط به گروه کنترل ($267/53$) بود. مقایسه دوبه‌دوی گروه‌ها نشان داد بین گروه‌های ۱ و ۲، ۱ و ۳ و ۲ و ۳ تفاوت آماری معناداری وجود دارد ($P<0/05$).

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. سنتر نانوکامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان و بررسی اثر آن بر ریزسختی مینای دندان دمیترالیزه‌شده. 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

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

روش کار

سنتر ترکیب نانوکامپوزیت بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان

به منظور 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 مدت زمان 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 آن قدر هم زده شد که ترکیب ژله‌مانندی تشکیل شد. ژل تشکیل شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد (۱۱).

انجام تست‌های مشخصه یابی

به منظور بررسی تشکیل ترکیب نانوساختار از طیف‌سنجی FTIR استفاده شد. ساختار نانوکامپوزیت سنترشده با استفاده از XRD مشخصه یابی شد. همچنین مورفولوژی سطح و سایز نانوذرات با استفاده از TEM و SEM بررسی شد. به منظور 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 با طول موج 1.5405 \AA و قدرت ۴۰ کیلووات / ۳۰ میلی‌آمپر برای بررسی ساختار و فاز کریستالی نانوذرات با اسکن در محدوده ۶ تا ۸۰ درجه (2 θ) استفاده شد. به منظور شناسایی حضور گروه‌های مختلف عملکردی در نمونه از روش FTIR (Fourier-Transform Infrared spectroscopy) استفاده شد. طیف‌های FTIR هیدروکسی آپاتیت سنترشده در محدوده فرکانس ۴۰۰ تا 4000 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

دکلسیفیکاسیون بخش غیرآلی دندان شروع و با تخریب ماتریکس آلی دنبال می‌شود (۱). در مراحل اولیه پوسیدگی، ضایعاتی تشکیل می‌شود که در معاینات کلینیکی قابل تشخیص نیست و گسترش آن باعث تشکیل حفره می‌شود. به منظور جلوگیری از تشکیل حفره، تشخیص ضایعات در مراحل اولیه ضروری است (۲). از آنجاکه ترمیم این ضایعات باعث ایجاد مشکلاتی از قبیل ریزش لبه‌ای و پوسیدگی ثانویه می‌شود، درمان‌های غیرتهاجمی با هدف جلوگیری از دمیترالیزاسیون نسج دندان‌های ترجیح داده می‌شوند (۳). مطالعات روش‌های گوناگونی چون استفاده از عوامل رزمینرالیزه‌کننده را معرفی کرده‌اند.

هیدروکسی آپاتیت ماده زیست‌سازگاری است که به طور گسترده در پزشکی، داروسازی و دندان پزشکی استفاده می‌شود. در دندان پزشکی 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 رزمینرالیزاسیون 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 دمیترالیزاسیون یا رزمینرالیزاسیون مینا و عاج دندان‌های دمیترالیزه شده مناسب است. کلسیم و فسفات موجود در این ترکیبات مشابه بافت سخت دندان‌ها است و خواص ضدباکتریایی دارد. غلظت‌های 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 رزمینرالیزاسیون مینای دندان می‌شوند (۶).

کیتوسان نوعی پلی‌ساکارید مشتق شده از کیتین است و به صورت یک پلیمر طبیعی در اسکلت خارجی بندپایان، صدف سخت پوستان 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 به طور قابل توجهی روی رشد استخوان و دندان تأثیرگذار است (۹) و ضخامت مینای دندان‌های بالغ در رت‌ها به دلیل نبود بور کاهش می‌یابد (۱۰).

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، به گونه‌ای که سطح ۴×۴ میلی‌متر اکسپوز باشد. سپس برای جلوگیری از دهیدراته شدن مجدداً در آب مقطر قرار داده شدند. به منظور ایجاد ضایعات دکلسیفیه روی مینا، نمونه‌ها در محلول دیمینرالیزه‌کننده (۲/۲ میلی‌مول NaH_2PO_4 ، ۰/۵ میلی‌مول CaCl_2 ، ۵۰ میلی‌مول اسید استیک) با $\text{pH}=4.6$ 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 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۷۸ گرم بر لیتر $\text{NaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، ۰/۰۰۵ گرم بر لیتر $\text{Na}_2\text{S} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ، آب و اوره به مقدار کافی) و پس از آن در محلول ریمینرالیزه‌کننده (۱/۵ میلی‌مول $(\text{CaCl}_2)\text{Ca}^{2+}$ ، ۰/۹ میلی‌مول phosphate (KH_2PO_4) ، ۱ ppm فلوراید (NaF)) با $\text{pH}=7$ به مدت ۱۵ ساعت قرار گرفتند. این سیکل برای مدت ۱۴ روز انجام شد تا سطح مینا دیمینرالیزه شود. مواد دیمینرالیزه‌کننده، ریمینرالیزه‌کننده 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 به دست آید. سپس با استفاده از میکروبراش به صورت مستقیم روی سطوح مینایی دیمینرالیزه‌شده 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 دندان‌ها دیمینرالیزه‌شده برای مدت ۴ دقیقه قرار گرفتند. سپس مواد به کاررفته به مدت ۲ دقیقه با آب جاری شسته و در بزاق مصنوعی نگهداری شدند. این فرایند به مدت ۲۸ روز انجام شد. در نهایت نمونه‌ها برای مدت ۲۴ ساعت قبل از تست سختی‌سنجی در آب مقطر نگهداری شدند (۱۲).

انجام تست سختی‌سنجی

به منظور 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

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 تجزیه و تحلیل 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 ($P > 0.05$). 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

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

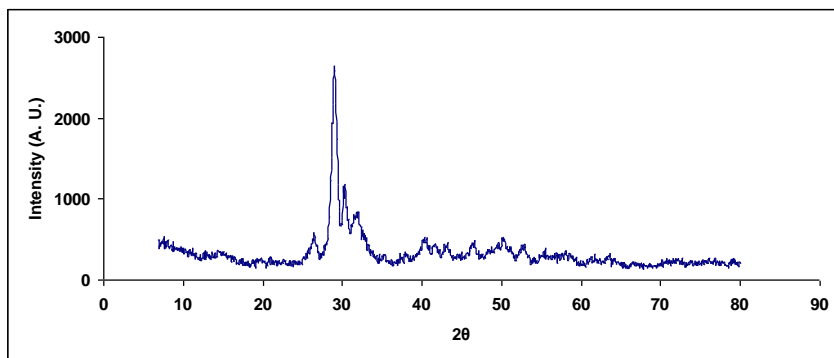
بررسی تصاویر TEM مربوط به نانوذرات سنتز شده میکروسکوپی الکترونی عبوری، وجود مورفولوژی میله‌ای شکل نانوذرات هیدروکسی آپاتیت با اندازه ذره حدود ۱۰۰ نانومتر و قطر حدود ۴۰ نانومتر را تأیید می‌کند.

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).

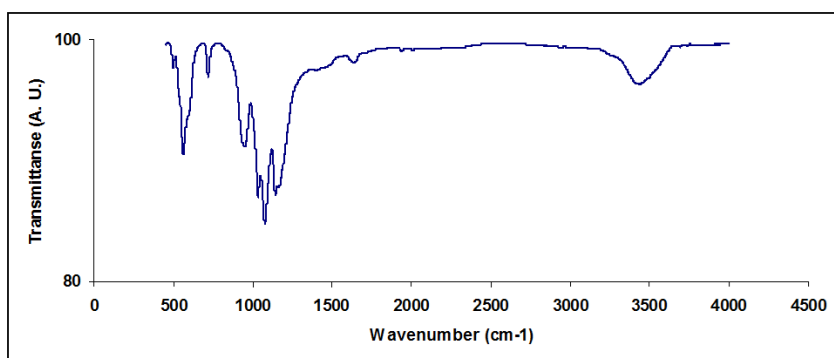
آمار توصیفی مربوط به گروه‌های سه‌گانه ریزسختی نشان داد بیشترین میانگین مربوط به گروه ۲ با میانگین و انحراف معیار ۳۶۸/۱۵±۱۲/۴۴ کیلوگرم بر میلی‌متر مربع و کمترین مربوط به گروه ۳ با میانگین و انحراف معیار ۲۶۷/۵۳±۵/۵۰ کیلوگرم بر میلی‌متر مربع است.

همچنین نتایج تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد اختلاف معناداری بین سه گروه از نظر میانگین میکروهندس وجود دارد ($P < 0.01$) (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 ($P < 0.01$). 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

تهیه شد. نتایج به دست آمده در شکل ۳ نشان داده شده است. همان طور که در شکل ۳-الف نشان داده شده است، در گروه کنترل روی سطح نمونه های دندانی نمای honeycomb دیده می شود و در گروه نانوهیدروکسی آپاتیت، نمای honeycomb تقریباً از بین رفته است (شکل ۳-ب).

که از نظر آماری معنادار هستند ($P < 0.001$).

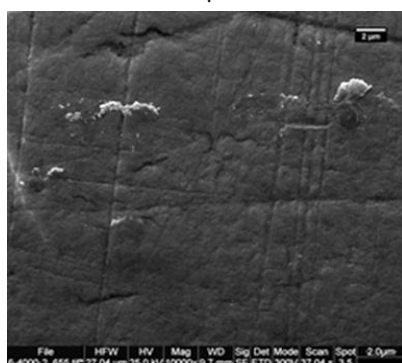
نتایج بررسی میکروسکوپ الکترونی

به منظور بررسی مورفولوژی سطحی نمونه ها، میکروگراف های SEM مربوط به سطح مینای دندان در گروه های مختلف مطالعه

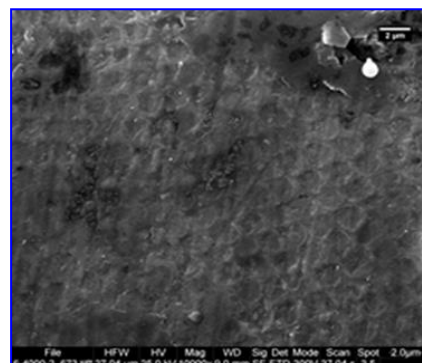
جدول ۱: میانگین ریزسختی گروه ها

گروه	تعداد	میانگین (کیلوگرم بر میلی متر مربع)	انحراف معیار	خطای استاندارد	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	
					بیشترین میزان ریزسختی	کمترین میزان ریزسختی
۱	۱۵	۳۴۲/۶۲	۱۴/۴۰	۳/۷۲	۳۳۴/۶۵	۳۵۰/۵۹
۲	۱۵	۳۶۸/۱۲	۱۵/۴۴	۳/۹۹	۳۵۹/۵۷	۳۷۶/۶۷
۳	۱۵	۲۶۷/۵۳	۵/۵۰	۱/۴۲	۲۶۴/۴۹	۲۷۰/۵۸

ب



الف



شکل ۳: نتایج میکروسکوپ الکترونی

(الف) گروه کنترل، (ب) گروه نانو

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 دمنرالیزه 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 نانو کامپوزیت 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 فیشرسیلانت روش مؤثری برای پر کردن تخلخل‌ها در مینای دمنرالیزه است و رمینرالیزاسیون را در مقایسه با مینای دندان دمنرالیزه 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 استئوبلاستیک 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 تیبیبای رت‌ها بهبود بخشید (۸). Gümüşderelioğlu اثرات بور آنکپسوله‌شده 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 Fe₃O₄@n-HApCS ظرفیت فلوریداسیون عالی نسبت به اجزای جداگانه دارد و جداسازی مغناطیسی کامپوزیت Fe₃O₄@n-HApCS از محیط آبی آسان است (۲۸).

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 استئوینداکتیو 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 نانو کامپوزیت‌های بور داپ‌شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت-کیتوسان به‌عنوان یک عامل رمینرالیزه‌کننده دندان و بررسی اثرات آن بر ریزسختی مینای دندان دمنرالیزه شده بود. در این مطالعه از نمونه‌های دندان‌های انسانی استفاده شد؛ زیرا استفاده از دندان انسان برای مطالعات دمنرالیزاسیون 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 دمنرالیزاسیون بر اساس محلول‌های استاندارد رمینرالیزاسیون و دمنرالیزاسیون 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 شبیبی 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. در نتیجه برای جلوگیری از سوگیری، این تست در سه نقطه انجام شد و از میانگین این سه نقطه برای تحلیل آماری

انجام نشد که می تواند در مطالعات آتی بررسی شود.

نتیجه گیری

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

تشکر و قدردانی

این مقاله از پایان نامه دوره دندان پزشکی تخصصی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان به شماره ۱۴۰۰۲۲۸۱۴۵۶ گرفته شده است. بدین وسیله از زحمات افرادی که در انجام این پروژه همکاری داشتند و از ما حمایت کردند، قدردانی می شود.

تضاد منافع

هیچ گونه تضاد منافی 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 بخش های مختلف طرح، ویرایش علمی مقاله (۳۰ درصد)؛ نویسنده دوم (پژوهشگر اصلی): مشارکت در طراحی پروژه، مشارکت در تدوین بخش های مختلف طرح، نگارش مقاله (۳۰ درصد)؛ نویسنده سوم (پژوهشگر همکار): مشاور علمی طرح (۵ درصد)؛ نویسنده چهارم (پژوهشگر همکار): تحلیلگر آماری طرح، تدوین بخش روش شناسی (۵ درصد)؛ نویسنده پنجم (پژوهشگر اصلی): مسئول مکاتبات، تدوین پروپوزال، جمع آوری نمونه ها، 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.

یافته های Xue نشان داد کربن و بور داپ شده بر نانوماده TiO₂ فعالیت های آنتی باکتریال را در مقایسه با TiO₂ به تنهایی بهبود می بخشند و اثرات آنتی باکتریال به صورت سینرژیک افزایش معناداری داشتند (۲۹). نتایج مطالعه Curzon نشان دهنده تأثیر استرانسیوم و بور در کاهش پوسیدگی ها بود (۳۰). چندین مقاله گزارش کردند وجود اسید بوریک در فرمولاسیون های ضد میکروبی می تواند عملکرد را بهبود بخشد. بر اساس این خواص سینرژیک، اسید بوریک به طور گسترده در کاربردهای مختلف استفاده می شود (۲۶). عنصر بور در مطالعه حاضر نیز استفاده شد. بررسی نمونه های گروه B@HApC نشان داد کریستال های بور داپ شده بر سطح هیدروکسی آپاتیت به شکل آمورف سطح متخلخل منشورهای مینایی را پوشانده اند و به صورت لایه ای رسوب کرده اند که میزان ریزسختی مینای دندان را افزایش می دهد.

نتایج بررسی سطح نمونه ها با میکروسکوپ الکترونی نتایج ریزسختی را تأیید کرد. نمای honey comb مشاهده شده در گروه کنترل که ناشی از دمنیرالیزاسیون سطح مینای دندان طی فرایند دمنیرالیزاسیون 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 به معنادار شدن ریزسختی گروه های تحت مداخله نسبت به گروه کنترل، فرضیه صفر مطالعه تأیید می شود.

با توجه به آزمایشگاهی بودن مطالعه، انجام مطالعات بالینی در خصوص تأثیر این مواد بر ضایعات دمنیرالیزه اولیه مینا توصیه می شود. از آنجاکه در این مطالعه از درصد خاصی از بور استفاده شد، بررسی مقایسه ای درصدهای مختلف بور در رمینرالیزاسیون مینای دندان پیشنهاد می شود. همچنین با توجه به این نکته که در این مطالعه زمان خاصی برای اعمال خمیرهای مدنظر در نظر گرفته شد، بررسی زمان های مختلف اعمال ماده رمینرالیزه کننده در مطالعات بعدی ضروری است. در مطالعه حاضر تست های باکتریال

REFERENCES

- Rezaei-Soufi L, Rafieian N, Jazaeri M, Abdolsamadi H, Kasraei S, Alihani MU, et al. Comparison of the anti-caries effect of polyphenol extract of green tea with 0.05 fluoride, 0.2 chlorhexidine and fluoride-chlorhexidine, an in vitro study. *J Mashhad Dent Sch*. 2012;36(4):301-8. DOI: 10.22038/JMDS.2012.51
- Khamverdi Z, Kordestani M, Panahandeh N, Naderi F, Kasraei S. Influence of CO2 laser irradiation and cpcapc paste application on demineralized enamel microhardness. *J Lasers Med Sci*. 2018;9(2):144-8. PMID: 30026901 DOI: 10.15171/jlms.2018.27
- 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
- Manchery N, John J, Nagappan N, Subbiah GK, Premnath P. Remineralization potential of dentifrice containing nano-hydroxyapatite on artificial carious lesions of enamel: A comparative in vitro study. *Dent Res J*. 2019;16(5):310-7. PMID: 31543937
- 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
- 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
- Dutta PK, Dutta J, Tripathi V. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and applications. *J Sci Indust Res*. 2004;63:20-31
- 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
- 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, Bahrapour 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. Masaelli 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](#)