

The effect of thermocycling on the microleakage of a mixture of copper oxide nanoparticles and flowable composite

Alireza Daneshkazemi¹, Abdolrahim Davari¹, Zahra Usefi², Niloofar Fallah³,
Solmaz Ghanbarnejad⁴, Pedram Daneshkazemi⁵

1- Professor, Department of Operative Dentistry, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

2- Dentist, School of Dentistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

3- Assistant Professor, Department of Pediatric Dentistry, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

4- Assistant Professor, Department of Materials engineering, School of Materials engineering, Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

5- Post-Graduate Student, Department of Orthodontics, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

Article Info

Article type:
Original Article

Article History:
Received: 10 Apr 2020
Accepted: 11 Oct 2020
Published: 22 Oct 2020

Corresponding Author:
Pedram Daneshkazemi

Department of Orthodontics, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

(Email: pedram_d_k@yahoo.com)

Abstract

Background and Aims: Adding nanoparticles to dental composite resins, could reduce bacterial adhesion and secondary caries. Thermocycling can resemble in-vitro conditions to the oral environment. The aim of this study was to determine the effect of thermocycling on the microleakage of a mixture of copper oxide nanoparticles and flowable composite.

Materials and Methods: In this in-vitro study, 88 premolar teeth were divided into eight groups based on the application of copper oxide nanoparticles with concentrations of 0.1% and 0.3% w/w and thermocycling by 0, 1000, 5000 and 15,000 cycles. The occlusal grooves of the teeth were sealed with the mixture of flowable composite and copper oxide nanoparticles, and the teeth were thermocycled. Next, the teeth were immersed in methylene blue 2% solution for 24 hrs and were cut and the microleakage was evaluated by a stereomicroscope (hp/USA). Data were analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests at the significance level of 0.05.

Results: In the groups with 0.1% copper oxide nanoparticles, the mean microleakage increased significantly with increasing the number of thermocycling rounds ($P=0.032$). The difference in the microleakage between the groups exposed to 0 and 15,000 thermocycling was significant ($P=0.019$). However, thermocycling had no significant effect on the microleakage of groups with concentration of 0.3% ($P=0.780$). The specimens subjected to the 0, 1000, 5000 and 15000 thermocycling in two concentrations of copper oxide nanoparticles showed no significant difference in the microleakage.

Conclusion: In groups containing copper oxide nanoparticles with a concentration of 0.1%, the microleakage increased by increasing the number of thermocycling up to 15,000 cycles compared to the control group. However, this did not have significant effect for the concentration of 0.3% copper oxide nanoparticles.

Keywords: Thermocycling, Microleakage, Copper oxide nanoparticles, Composite resin

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2020;33(3):126-137

Cite this article as: Daneshkazemi A, Davari A, Usefi Z, Fallah N, Ghanbarnejad S, Daneshkazemi P. The effect of thermocycling on the microleakage of a mixture of copper oxide nanoparticles and flowable composite. J Dent Med-TUMS. 2020;33(3):126-137.



بررسی آزمایشگاهی اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزشست مخلوط نانو ذره اکسید مس و کامپوزیت فلو

علیرضا دانش کاظمی^۱، عبدالرحیم داوری^۱، زهرا یوسفی^۲، نیلوفر فلاح^۳، سولماز قنبرنژاد^۴، پدرام دانش کاظمی^۵

۱- استاد گروه آموزشی دندانپزشکی ترمیمی و زیبایی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۲- دندانپزشک، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران

۳- استادیار گروه آموزشی دندانپزشکی کودکان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار گروه آموزشی مهندسی مواد، دانشکده مهندسی مواد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران، تهران، ایران

۵- دستیار تخصصی گروه آموزشی ارتودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله پژوهشی</p>	<p>زمینه و هدف: افزودن نانو ذرات به رزین کامپوزیت‌های دندان‌سبب کاهش چسبندگی باکتری‌ها و پوسیدگی ثانویه می‌شود. ترموسایکلینگ می‌تواند شرایط آزمایش را به محیط دهان نزدیک کند. هدف از انجام این مطالعه تعیین اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزشست مخلوط نانو ذره اکسید مس و کامپوزیت فلو بود.</p>
<p>وصول: ۹۹/۰۱/۲۲ اصلاح نهایی: ۹۹/۰۷/۲۰ تأیید چاپ: ۹۹/۰۸/۰۱</p>	<p>روش بررسی: در این مطالعه آزمایشگاهی ۸۸ دندان پرمولر برحسب کاربرد نانو ذره اکسید مس با غلظت‌های ۰/۱٪ و ۰/۳٪ وزنی و ترموسایکلینگ به تعداد ۰، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ بار، به هشت گروه تقسیم شدند. شیارهای اکلوزالی دندان‌ها به وسیله مخلوط کامپوزیت فلو و محتوای نانو ذره اکسیدمس سیل و سپس دندان‌ها ترموسایکل شد. در ادامه دندان‌ها به مدت ۲۴ ساعت در متیلن بلوی ۲٪ غوطه‌ور و سپس مورد برش قرار گرفتند. ریزشست توسط استریومیکروسکوپ (hp/USA) بررسی شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری کروسکال والیس و من ویتنی آنالیز و حد معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.</p>
<p>نویسنده مسوول: دکتر پدرام دانش کاظمی</p>	<p>یافته‌ها: در گروه‌های محتوای نانو ذرات اکسید مس با غلظت ۰/۱٪، با افزایش تعداد دوره‌های ترموسایکل، ریزشست به میزان معنی‌داری افزایش یافت ($P=۰/۰۳۲$). اختلاف میزان ریزشست بین گروه‌های در معرض ۰ و ۱۵۰۰۰ ترموسایکل معنی‌دار بود ($P=۰/۰۱۹$). در گروه‌های با غلظت ۰/۳٪، ترموسایکل بر ریزشست اثر معنی‌داری نداشت ($P=۰/۷۸۰$). نمونه‌های در معرض ۰ و ۱۰۰۰ و ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ ترموسایکل در دو غلظت نانو ذره اکسید مس اختلاف معنی‌داری در ریزشست نشان ندادند.</p>
<p>گروه آموزشی ارتودانتیکس، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران (Email: pedram_d_k@yahoo.com)</p>	<p>نتیجه‌گیری: در گروه‌های حاوی نانو ذرات اکسید مس با غلظت ۰/۱٪، میزان ریزشست با افزایش تعداد ترموسایکلینگ به ۱۵۰۰۰ دور ترموسایکل نسبت به گروه کنترل افزایش یافت و در غلظت ۰/۳٪ ترموسایکلینگ تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد.</p>
	<p>کلید واژه‌ها: ترموسایکلینگ، ریزشست، نانو ذره اکسید مس، کامپوزیت رزین</p>
	<p>مجله دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران دوره ۳۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۹، ۱۳۷-۱۲۶</p>

مقدمه

لاکتوباسیل اثر خود را اعمال می‌کنند (۱۷). نانو ذره اکسید مس از اکسید نقره ارزان‌تر است و به راحتی با پلیمرها مخلوط می‌شود (۲۰-۱۸) ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نسبتاً پایداری دارد و نسبت به ذرات بزرگتر قابل کنترل‌تر است (۲۱). این نانو ذرات پتانسیل سطحی پایین‌تری نسبت به سایر فلزات داشته (۹) و دارای خاصیت آنتی باکتریال بوده و اثر به سزایی در جلوگیری از کلونیزه شدن باکتری‌ها و همچنین ممانعت از پوسیدگی ثانویه دارد (۲۳، ۲۲، ۱۸). این دسته از نانو ذرات ترکیب با رزین کامپوزیت‌ها اثرات آنتی میکروبیال قابل توجهی از خود نشان می‌دهند و با افزایش غلظت این نانو ذرات اثر آنتی میکروبیال افزایش می‌یابد (۲۴). در مطالعه‌ای این دسته از نانو ذرات با غلظت‌های ۰/۰۰۰۱ تا ۱ میکروگرم بر میلی لیتر نتوانستند از رشد استرپتوکوک موتانس جلوگیری نمایند اما از رشد بیوفیلم جلوگیری به عمل آوردند (۲۵) و در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۵۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر سمیتی ندارند (۲۶).

ایده‌آل‌ترین روش برای ارزیابی مواد دندانی، اجرای مطالعات کارآزمایی بالینی می‌باشد که نیازمند صرف هزینه و زمان زیادی است، بنابراین میزان موفقیت کلینیکی مواد دندانی با شبیه سازی شرایط محیط دهان از جمله تغییرات دمایی و نیروهای جوشی، در محیط آزمایشگاه (in-vitro) انجام می‌شود (۲۷). در مطالعات آزمایشگاهی هدف شبیه سازی شرایط پرچالش دمایی محیط دهان در محیط آزمایشگاه با ترموسایکلینگ است تا اثرات aging بر روی مواد ترمیمی در محیط دهان را بازسازی شود. استفاده از ابزارهای شبیه سازی اعتبار بررسی ریزش را ارتقا می‌دهند (۲۸). مطالعات اندکی به بررسی حضور و یا عدم حضور ترموسایکلینگ بر روی مواد ترمیمی پرداخته‌اند (۲۹). در مطالعه حاضر از ترموسایکلینگ استفاده شد زیرا ریزش در زمانی روی می‌دهد که دندان‌ها به طور متناوب تحت تأثیر سرما و گرما قرار بگیرند. گفته می‌شود دندان‌ها تحت تأثیر مواد غذایی با درجه حرارت ۹-۴ سانتی‌گراد الی ۶۰-۵۲ سانتی‌گراد قرار گیرند (۳۰) که می‌تواند سبب ایجاد تغییر دمای دهان به میزان ۱/۲ سانتی‌گراد به مدت ۲۵-۱۵ دقیقه شود (۳۱).

Morales-Quiroga و همکاران (۳۲) در مطالعه‌ای

مطالعات نشان داده‌اند در دندان‌های تازه رویش یافته دائمی کودکان حدود ۹۰٪ از پوسیدگی‌ها در پیت و فیشورهای سطح اکلوزال ایجاد می‌شوند (۱). فیشور سیلانت یک روش مناسب جهت پیشگیری از بروز پوسیدگی و بهداشت دهان کودکان و نوجوانان به شمار می‌رود (۳). نانو ذرات چند سالی است که در دندانپزشکی کاربرد یافته‌اند. نانو ذراتی همچون نانو ذره مس، روی، نقره، هیدروکسی آپاتیت، کیتوزان و اکسیدهای نقره، مس، تیتانیوم و روی در تحقیقات به رزین کامپوزیت‌ها افزوده و مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۸-۳). نانو ذرات می‌توانند خصوصیات مکانیکی مواد دندانپزشکی از قبیل مقاومت به سایش و stiffness را افزایش (۸، ۹) و سختی سطحی را ارتقاء دهند (۱۰). در برخی از مطالعات، این مواد از خاصیت چسبندگی باکتری‌ها بر روی سطوح کاسته و در نتیجه ایجاد پوسیدگی ثانویه در لبه‌های ترمیم را به حداقل می‌رسانند (۱۲، ۱۱). همچنین نشان داده شده است که باکتری، ویروس و قارچ ظرف چند دقیقه پس از تماس با نانو ذرات فلزی از بین می‌روند و این در حالی است که گونه‌های مقاوم میکروارگانیسم‌ها، در صورت افزودن نانو ذرات به محیط کشت به وجود نخواهند آمد (۱۳). ابعاد نانوی نانو ذرات فلزی یا اکسیدهای فلزی باعث می‌گردد سطح تماس بزرگی با باکتری‌ها ایجاد شود برای مثال با کاهش اندازه ذرات کروی از میکرو به نانومتر سطح تماس به میزان ۱۰۹ برابر افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد سطح تماس وسیع باعث ظهور خواص ضد میکروبی می‌شود یا خواص ضد میکروبی را افزایش می‌دهد (۱۴). در حقیقت رابطه معکوسی میان سایز ذرات با اثرات ضد باکتریایی آن‌ها وجود دارد. نانو ذرات با اندازه ۱۰-۱ نانومتر بیشترین اثرات ضد میکروبی را دارند (۱۵). همچنین به علت انرژی آزاد سطحی زیاد، نانو ذرات تمایل بالایی به اتصال به یکدیگر و یا سایر مواد دارند (۱۶).

نانو ذرات مس که به صورت آمیختن (incorporated) با مواد دیگر استفاده می‌شوند (۱۱)، دارای خواص فیزیکی قابل توجهی هستند و در مقایسه با نانو ذرات نقره ماده آنتی باکتریال مؤثرتری می‌باشند و بر روی باکتری‌های آکتینومایسز و

کامپوزیت فلو انجام شد و فرضیه مطالعه این بود که متوسط ریزش در گروه‌ها متفاوت است.

روش بررسی

این مطالعه به روش تجربی و به صورت آزمایشگاهی بوده و برای انجام مطالعه ابتدا مجوز کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد به شماره IR.SSU.REC.1397.170 اخذ شد.

تعداد ۱۰۱ دندان پرمولر ماگزایلی انسانی که به منظور درمان ارتودنسی کشیده شده بودند به مدت ۳ ماه جمع آوری شدند و از بین آن‌ها ۸۸ دندان سالم و فاقد پوسیدگی، ترک، شکستگی، ترمیم و نقایص تکاملی انتخاب شدند. حجم نمونه با در نظر گرفتن سطح معنی داری ۵٪ و توان آزمون ۹۰٪ و باتوجه به برآورد مقدار انحراف معیار ریزش برابر ۱/۲ از مطالعه قبلی (۳۵) و مقادیر میانگین تقریبی در گروه‌ها و با استفاده از نرم افزار Gpower.3 و منوی تعیین حجم نمونه برای تحلیل واریانس تعداد ۱۰ تکرار برآورد گردید که برای اطمینان بیشتر تعداد ۱۱ تکرار در نظر گرفته شد. نمونه‌ها پس از حذف نسوج اضافی و شستشو در آب مقطر و در دمای ۴ درجه سانتی گراد (۳۶) نگهداری شدند. دندان‌ها به منظور ضد عفونی شدن از ۲۴ ساعت قبل از آزمایش، در محلول کلرامین T ۱٪ (Merck, Darmstadt, Germany) قرار گرفتند (۳۱) و در ادامه تا قبل از آزمایش در دمای اتاق و در آب مقطر نگهداری شدند (۳۷،۳۸). با استفاده از نرم افزار Version 1 Random Allocation (۳۹) و جدول اعداد تصادفی، دندان‌ها به ۸ گروه ۱۱ تایی تقسیم شدند و سطح آن‌ها آماده سازی و تمیز شد (۲۸). در مطالعه حاضر از رزین کامپوزیت نانو هیبرید فلو با رنگ A2 و نانو ذرات اکسید مس استفاده شد، که مشخصات مواد مورد استفاده در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- مشخصات مواد مورد ارزیابی در مطالعه حاضر

US Research Nanomaterials, Inc.	کارخانه سازنده	مشخصات پودر نانو ذره اکسید مس
۹۹٪	خلوص	
قهوه‌ای مایل به سیاه	رنگ	
۴۰ نانومتر	متوسط اندازه ذرات	
تقریباً کروی	مرفولوژی ذرات	
۶/۴ گرم بر متر مکعب	دانسیته	
3M/USA	کارخانه سازنده	مشخصات کامپوزیت فلو Z350
BisGMA/TEGDMA/Procrilat Resins	ماتریکس	
Silica/Zirconia/Ytterbium	نوع فیلر	
۴۶٪	درصد حجمی فیلر	
٪	درصد وزنی فیلر	

ریزشت و تطابق لبه‌ای یک سیلانت مخلوط شده با نانو ذرات نقره در دندان‌های مولر شیری را پس از ترمیم و ترموسایکل بررسی کردند. نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری در میزان ریزشت و تطابق لبه‌ای بین سیلانت حاوی نانو ذرات نقره و سیلانت متداول وجود ندارد. Teymoornezhad و همکاران (۳۳) در مطالعه‌ای به بررسی ریزشت کامپوزیت فلو حاوی نانو ذرات اکسید روی پرداختند. دو نوع کامپوزیت فلو با نانو ذرات اکسید روی با درصد وزنی ۱ و ۳ درصد مخلوط شده و پس از ترمیم دندان‌ها به میزان ۱۵۰۰ دور در محدوده دمایی ۵ و ۵۵ درجه سانتی گراد ترموسایکل شدند. نتایج نشان داد در یکی از انواع رزین کامپوزیت‌ها با افزایش غلظت نانو ذرات میزان ریزشت به طور معنی داری کاهش یافت و در رزین کامپوزیت دیگر تفاوت معنی داری در میزان ریزشت مشاهده نشد. Salas-Lopez و همکاران (۳۴) مطالعه‌ای با هدف بررسی اثرات پیت و فیشور سیلانت‌های مخلوط شده با نانو ذرات نقره بر روی پوسیدگی دندان به روش ارزیابی فلئورسانس با Diagnodent به صورت ماهانه، طی ۶ ماه طرح ریزی نمودند. سیلانت معمولی میزان ریزشت ۳۰/۶٪ و سیلانت حاوی نانو ذرات نقره ۳۳/۶٪ ریزشت نشان داد و میزان پوسیدگی در گروه با فیشور سیلانت ترکیب شده با نانو ذرات نقره، به طور معنی داری کمتر از سیلانت‌های معمولی بود.

با توجه به اینکه تناقضاتی در مورد افزودن نانو ذرات به رزین کامپوزیت‌ها وجود دارد که نیاز به مطالعات بیشتر در این زمینه را الزام آور می‌کند، لذا این مطالعه با هدف تعیین اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزشت مخلوط نانو ذره اکسید مس و

سپس دندان‌ها شسته و خشک شده و ناحیه شیارهای سطح اکلوزال طبق دستور کارخانه سازنده توسط اسید فسفریک ۳۴٪ (Scotchbond Universal Etchant/3M-USA) و با pH حدود ۰/۱ اچ شدند. پس از شستشو، رطوبت اضافه گرفته شد و از باندینگ (3M/USA) SingleBond2 طبق دستور کارخانه سازنده بر روی سطوح دندان‌های اعمال و کیورینگ انجام شد. برای کیور رزین کامپوزیت‌ها در تمام گروه‌ها از دستگاه لایت کیور (Kerr/USA) LED با شدت نور ۹۰۰ میلی وات بر سانتی متر مربع استفاده شد. برای تأیید شدت نور قبل از هر بار کیورینگ، شدت نور به وسیله دستگاه لایت متر Demetron (Kerr/USA) اندازه گیری شد. تمام نمونه‌ها به وسیله دیسک پرداخت خورشیدی (3M/USA) SoflexDiamondSpiral و به ترتیب خشونت و به مدت یکسان پالیش شدند تا خشونت سطحی تمام نمونه‌ها یکسان شود.

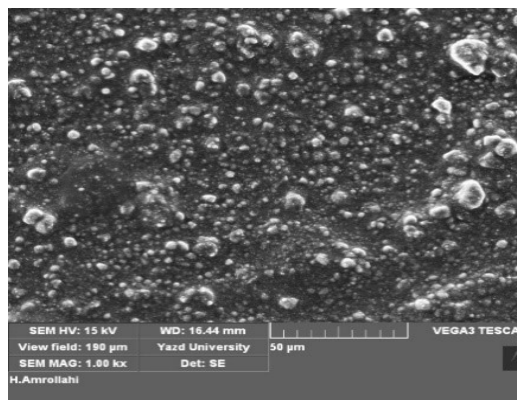
کامپوزیت فلوی مورد استفاده جهت فیشور سیلانت، در اختلاط با نانو ذرات اکسید مس در گروه‌های ۱ تا ۴ با غلظت ۰/۱٪ و در گروه‌های ۵ تا ۸ با غلظت ۰/۳٪ بود. روش کار در هر یک از گروه‌ها بر اساس استفاده یا عدم استفاده از ترموسایکلینگ به شرح زیر بود:

گروه ۱: فیشور سیلانت بدون ترموسایکلینگ. گروه ۲: فیشور سیلانت و ۱۰۰۰ بار ترموسایکلینگ، گروه ۳: فیشور سیلانت و ۵۰۰۰ بار ترموسایکلینگ، گروه ۴: فیشور سیلانت و ۱۵۰۰۰ بار ترموسایکلینگ.

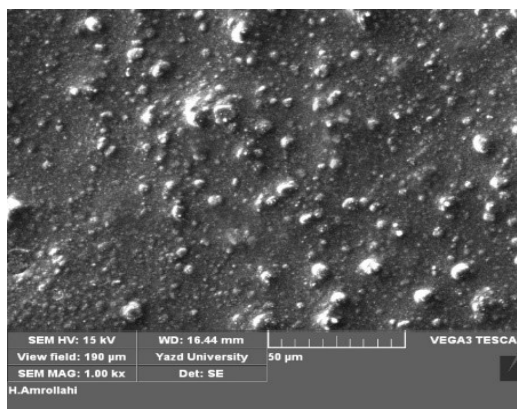
گروه ۵: فیشور سیلانت بدون ترموسایکلینگ، گروه ۶: فیشور سیلانت و ۱۰۰۰ بار ترموسایکلینگ، گروه ۷: فیشور سیلانت و ۵۰۰۰ بار ترموسایکلینگ، گروه ۸: فیشور سیلانت و ۱۵۰۰۰ بار ترموسایکلینگ. لازم به ذکر است که ترموسایکلینگ (وفایی، ایران) با دمای ۵ و ۵۵ درجه سانتی گراد و مدت ماندگاری ۶۰ ثانیه در هر دما (۲۱) و زمان بینابینی ۳۰ ثانیه (۲۸) انجام شد.

دندان‌ها پس از سیل آپکس و ۰/۵ میلی متر بیرونی‌تر از مارجین ترمیم، به مدت ۲۴ ساعت و در دمای اتاق در محلول متیلن بلوی (Merck/Germany) ۲٪ (۲۱،۲۹،۳۰) غوطه ور

به منظور اختلاط نانو ذرات اکسید مس با غلظت وزنی ۰/۱٪، ۰/۳٪ به کامپوزیت فلو، ابتدا نانو ذرات اکسید مس به وسیله یک ترازوی دیجیتال Sartorius/Germany با دقت چهار رقم اعشار، ۰/۰۱۰ میلی گرم و ۰/۰۳۰ میلی گرم نانو ذرات اکسید مس (US Research Nanomaterials, Inc.) با اندازه ذرات ۴۰ نانومتر و کروی شکل دوظرفیتی و فرمول CuO, Cu_2+ (۳۹) اندازه گیری و با کامپوزیت فلوی Z350 (3M/USA) با رنگ A2 مخلوط شد. سپس در هر دو غلظت به منظور ایجاد هموژنیسیته، با استفاده از دستگاه Shaker Vortex (Wiggenhauser/Malaysia) به مدت ۱۵ دقیقه در محیط کاملاً تاریک shake (۲۴) و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی SEM هموژنیسیته‌اش تأیید شد (اشکال ۱ و ۲).



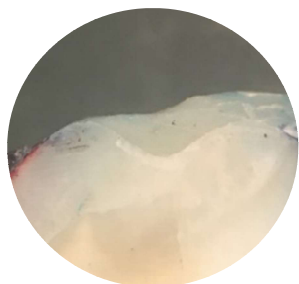
شکل ۱- مخلوط کامپوزیت فلو و نانو ذره اکسید مس در SEM با غلظت ۰/۳ درصد با بزرگنمایی ۱۰۰۰



شکل ۲- مخلوط کامپوزیت فلو و نانو ذره اکسید مس در SEM با غلظت ۰/۱ درصد با بزرگنمایی ۱۰۰۰

تصاویر استریومیکروسکوپ در درجات مختلف ریزش با بزرگنمایی

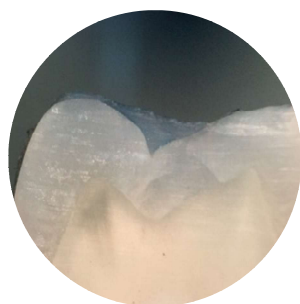
۲۰ برابر



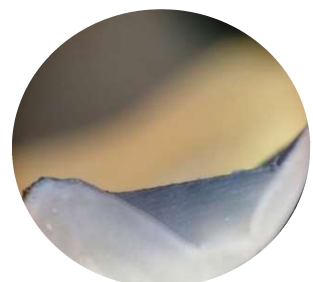
شکل ۳- ریزش درجه صفر



شکل ۴- ریزش درجه ۱



شکل ۵- ریزش درجه ۲



شکل ۶- ریزش درجه ۳

گشتند. سپس با استفاده از تیغه ای به ضخامت ۰/۳ میلی متر و توسط دستگاه برش (نموفناوران پارس / ایران، مشهد) در جهت باکولینگوالی برش داده شدند و به دو نیمه میزالی و دیستالی تبدیل شدند. هر دو نیمه میزالی و دیستالی جهت بررسی ریزش مورد بررسی قرار گرفتند و بیشترین میزان نفوذ رنگ در دیواره میزال و دیستال هر دندان به عنوان نمره ریزش آن دندان در نظر گرفته شد (۲۱). ریزش در زیر استریومیکروسکوپ (Olympus/Japan) به صورت کیفی و با بزرگنمایی ۲۰ مورد بررسی قرار گرفت. عمق نفوذ رنگ بر اساس سیستم درجه بندی Koyuturk و همکاران (۲۷) و Morales-Quiroga و همکاران (۳۲) و به این صورت بود که بدون نفوذ رنگ: صفر، نفوذ رنگ به میزان یک سوم اکلوزالی سطح مشترک سیلانت-مینا: ۱، نفوذ رنگ به میزان یک سوم میانی سطح مشترک سیلانت-مینا: ۲، نفوذ رنگ به میزان یک سوم اپیکالی سطح مشترک سیلانت-مینا: ۳ (اشکال ۳-۶).

بررسی عمق نفوذ رنگ توسط دو نفر انجام شد و در مواردی که اختلاف نظر وجود داشت، توافق بین دو فرد انجام گرفت (۴۰). داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS18 و آزمون‌های آماری کروسکالوالیس و من ویتنی تست آنالیز شدند و حد معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در پژوهش حاضر به منظور بررسی و مقایسه میزان ریزش در گروه‌های ۱ تا ۴ و نیز ۵ تا ۸ از آزمون کروسکالوالیس استفاده شد. به منظور بررسی و مقایسه میزان ریزش در گروه‌های ترموسایکل شده به میزان برابر و با غلظت متفاوت، از آزمون من ویتنی استفاده شد.

درصد فراوانی و تعداد نمره‌های ریزش در گروه‌های نانو ذرات اکسیدمس با غلظت ۰/۱٪ و ۰/۳٪ وزنی در جدول ۲ آمده است. یافته‌ها نشان داد در گروه‌های ۱ تا ۴ با غلظت ۰/۱٪ وزنی نانو ذرات اکسیدمس با افزایش تعداد دوره‌های ترموسایکل، ریزش به طور معنی‌داری افزایش یافت (P=۰/۰۳۲).

جدول ۲- تعداد و درصد فراوانی نمره‌های ریزش در گروه‌های ۸ گانه

گروه درجه ریزش	کامپوزیت فلو و نانو ذرات ۰/۳٪ و بر اساس ترموسایکلینگ				کامپوزیت فلو و نانو ذرات ۰/۱٪ و بر اساس ترموسایکلینگ			
	بدون	۱۰۰۰	۵۰۰۰	۱۵۰۰۰	بدون	۱۰۰۰	۵۰۰۰	۱۵۰۰۰
صفر	۵۴٪/۵	۱۸٪/۲	۱۸٪/۲	۹٪/۱	۶	۲	۲	۱
یک	۲۷٪/۳	۴۵٪/۵	۴۵٪/۵	۹٪/۱	۳	۵	۵	۱
دو	۹٪/۱	۳۶٪/۴	۱۸٪/۲	۶۳٪/۶	۱	۲	۴	۷
سه	۹٪/۱	۰٪	۱۸٪/۲	۱۸٪/۲	۱	۰	۲	۲
کل	۱۰۰٪	۱۰۰٪	۱۰۰٪	۱۰۰٪	۱۱	۱۱	۱۱	۱۱

ریزشت دیده نشد که با مطالعه Wahab و همکاران (۴۱) و Zanjani و همکاران (۲۹) همسو بود. در مطالعه اول با هدف بررسی اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزشت رزین کامپوزیت‌های متداول بود که ترموسایکلینگ اثر معنی‌داری بر افزایش میزان ریزشت رزین کامپوزیت‌ها، صرف نظر از نوع رزین کامپوزیت مورد استفاده داشت. و مطالعه دوم با هدف بررسی اثر ترموسایکلینگ و نوع مواد ترمیمی بر میزان ریزشت ترمیم‌های کلاس ۲ بود که یافته‌ها نشان داد که در گروه ترمیم شده با کامپومر در مارچین سرویکال، میزان ریزشت بالاتر از سایر گروه‌ها به ویژه بعد از ترموسایکلینگ بود (۲۹،۴۱).

مطالعه کنونی نشان داد که در گروه‌های دارای نانو ذره اکسید مس با غلظت ۰/۳٪ وزنی، با افزایش تعداد دوره‌های ترموسایکلینگ (حتی تا اندازه ۱۵۰۰۰ سیکل) تغییر معنی‌داری در میزان ریزشت دیده نشد. این یافته از مطالعه حاضر همسو با مطالعه Atash و همکاران (۴۲) است که با هدف بررسی اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزشت سیستم‌های آدهزیو جدید بر روی دندان‌های شیری انجام شده بود که نشان داد اختلاف معنی‌داری در میزان ریزشت در بین سیستم‌های آدهزیو مختلف و بین زیر گروه‌های صفر و ۲۵۰۰ سیکل ترموسایکلینگ، وجود نداشت. ممکن است علت یافته ذکر شده در رابطه با غلظت ۰/۳٪، این مسئله باشد که با افزایش درصد نانو ذره اکسید مس تراکم ساختاری افزایش یافته و میزان تخلخل یا Porosity ساختاری متعاقباً کاهش یافته باشد (۴۱).

در گروه‌های ۵ تا ۸ با غلظت ۰/۳ درصد نانو ذره اکسید مس با افزایش تعداد دور ترموسایکل، اختلاف معنی‌داری در میزان ریزشت دیده نشد ($P=0/78$).

همچنین مقایسه درصد فراوانی و تعداد نمره‌های ریزشت در گروه‌های ۵ و ۱ که ترموسایکل در مورد آن‌ها انجام نشده بود نشان داد که تعداد دندان‌های دارای ریزشت صفر در این دو گروه از سایر گروه‌ها بیشتر بود. در مقایسه دو به دو در گروه‌های با غلظت ۰/۱٪ نانو ذرات اکسید مس، تنها بین دو گروه ۱ و ۴ اختلاف معنی‌دار دیده شد ($P=0/19$). مقایسه دو به دوی گروه‌های ۰/۱٪ و ۰/۳٪ پس از معنی‌دار شدن آزمون کروسکال والیس تفاوت معنی‌داری را بین سایر گروه‌ها نشان نداد (جدول ۳).

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه با هدف بررسی اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزشت مخلوط نانو ذره اکسید مس و کامپوزیت فلو به صورت فیشور سیلانت، در دو غلظت مختلف انجام گرفت. نتایج مطالعه نشان داد که افزایش تعداد دور ترموسایکل به ۱۵۰۰۰ دور، در گروه‌های فیشور سیلانت شده همراه با کامپوزیت فلوی دارای غلظت ۰/۱ درصد نانو ذره اکسید مس، به طور معنی‌داری باعث افزایش میزان ریزشت نسبت به گروه کنترل شد، که فرضیه مطالعه را تأیید کرد. اما در بین گروه‌های دیگر با ترموسایکل به میزان متفاوت و با همین غلظت، اختلاف معنی‌داری در میزان

جدول ۳- مقایسه دو به دوی ریزنشست در گروه‌ها در غلظت ۱٪ و ۳٪ وزنی نانو اکسید مس

گروه (I)	گروه (J)	تفاوت میانگین‌ها	خطای معیار	P-value
۱	۲	-۰/۴۵۵	۰/۴۰۹	۱
	۳	-۰/۶۳۶	۰/۴۰۹	۰/۷۷۹
	۴	-۱/۱۸۲	۰/۴۰۹	*۰/۰۱۹
	۵	-۰/۰۹۱	۰/۴۰۹	۰/۷۹۷
	۶	-۰/۴۵۵	۰/۴۰۹	-
	۷	-۰/۳۶۴	۰/۴۰۹	-
	۸	-۱/۳۷۳	۰/۴۰۹	-
۲	۳	-۰/۱۸۲	۰/۴۰۹	۱
	۴	-۰/۷۲۷	۰/۴۰۹	۰/۴۷۳
	۵	۰/۳۶۴	۰/۴۰۹	-
	۶	۰/۰۰۰	۰/۴۰۹	۰/۹۴۹
	۷	۰/۰۹۱	۰/۴۰۹	۰/۵۱۹
	۸	-۰/۸۱۸	۰/۴۰۹	-
	۴	-۰/۵۴۵	۰/۴۰۹	۰/۹۱۹
۳	۵	۰/۵۴۵	۰/۴۰۹	-
	۶	-۱/۱۸۲	۰/۴۰۹	-
	۷	-۰/۲۷۳	۰/۴۰۹	۰/۵۱۹
	۸	-۰/۶۳۶	۰/۴۰۹	-
	۵	۱/۰۹۱	۰/۴۰۹	-
	۶	۰/۷۲۷	۰/۴۰۹	-
	۷	۰/۸۱۸	۰/۴۰۹	-
۴	۸	-۰/۰۹۱	۰/۴۰۹	۰/۰۶۵
	۶	-۰/۳۶۴	۰/۴۰۹	۰/۷۹۷
	۷	-۰/۳۷۳	۰/۴۰۹	-
	۸	-۱/۱۸۲	۰/۴۰۹	-
	۷	۰/۰۹۱	۰/۴۰۹	-
	۸	-۰/۸۱۸	۰/۴۰۹	-
	۱	-۰/۹۰۹	۰/۴۰۹	۱
۵	۶	-۰/۳۶۴	۰/۴۰۹	-
	۷	-۰/۳۷۳	۰/۴۰۹	-
	۸	-۱/۱۸۲	۰/۴۰۹	-
	۷	۰/۰۹۱	۰/۴۰۹	-
	۸	-۰/۸۱۸	۰/۴۰۹	-
	۶	-۰/۳۶۴	۰/۴۰۹	-
	۷	-۰/۳۷۳	۰/۴۰۹	-
۶	۸	-۰/۸۱۸	۰/۴۰۹	-
	۶	-۰/۳۶۴	۰/۴۰۹	-
	۷	-۰/۳۷۳	۰/۴۰۹	-
	۸	-۱/۱۸۲	۰/۴۰۹	-
	۷	۰/۰۹۱	۰/۴۰۹	-
	۸	-۰/۸۱۸	۰/۴۰۹	-
	۱	-۰/۹۰۹	۰/۴۰۹	۱
۷	۸	-۰/۹۰۹	۰/۴۰۹	۱
	۶	-۰/۳۶۴	۰/۴۰۹	-
	۷	-۰/۳۷۳	۰/۴۰۹	-
	۸	-۱/۱۸۲	۰/۴۰۹	-
	۷	۰/۰۹۱	۰/۴۰۹	-
	۸	-۰/۸۱۸	۰/۴۰۹	-
	۱	-۰/۹۰۹	۰/۴۰۹	۱

مارجین سرویکال، میزان ریزنشست بالاتر از سایر گروه‌ها به ویژه بعد از ترموسایکلینگ بود (۲۹، ۴۱).

مطالعه کنونی نشان داد که در گروه‌های دارای نانو ذره اکسید مس با غلظت ۳٪ وزنی، با افزایش تعداد دورهای ترموسایکلینگ (حتی تا اندازه ۱۵۰۰۰ سیکل) تغییر معنی‌داری در میزان ریزنشست دیده نشد. این یافته از مطالعه حاضر همسو با مطالعه Atash و همکاران (۴۲) است که با هدف بررسی اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزنشست سیستم‌های آدهزیو جدید بر روی دندان‌های شیری انجام شده بود که نشان داد اختلاف معنی‌داری در میزان ریزنشست در بین سیستم‌های آدهزیو مختلف

اما در بین گروه‌های دیگر با ترموسایکل به میزان متفاوت و با همین غلظت، اختلاف معنی‌داری در میزان ریزنشست دیده نشد که با مطالعه Wahab و همکاران (۴۱) و Zanjani و همکاران (۲۹) همسو بود. در مطالعه اول با هدف بررسی اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزنشست رزین کامپوزیت‌های متداول بود که ترموسایکلینگ اثر معنی‌داری بر افزایش میزان ریزنشست رزین کامپوزیت‌ها، صرف نظر از نوع رزین کامپوزیت مورد استفاده داشت. و مطالعه دوم با هدف بررسی اثر ترموسایکلینگ و نوع مواد ترمیمی بر میزان ریزنشست ترمیم‌های کلاس ۲ بود که یافته‌ها نشان داد که در گروه ترمیم شده با کامپومر در

و بین زیر گروه‌های صفر و ۲۵۰۰ سیکل ترموسایکلینگ، وجود نداشت. ممکن است علت یافته ذکر شده در رابطه با غلظت ۰/۳٪، این مسئله باشد که با افزایش درصد نانو ذره اکسید مس تراکم ساختاری افزایش یافته و میزان تخلخل یا Porosity ساختاری متعاقباً کاهش یافته باشد (۴۱). از آنجایی که انسجام فاز تقویت کننده در ماتریکس رزینی هیچگاه پیوسته نبوده و جدا شدگی ذرات تقویت کننده وجود دارد، بنابراین با افزایش غلظت نانو ذرات اکسید مس میزان ریزش تحت تأثیر افزایش تعداد دورهای ترموسایکل اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

مقایسه دو به دو در زیرگروه‌های ترموسایکل شده به میزان یکسان اما با غلظت‌های متفاوت ۰/۱ و ۰/۳ درصد نانو ذره اکسید مس، نشان داد که میزان ریزش حتی در ۱۵۰۰۰ سیکل اختلاف معنی‌داری نشان نداد. این یافته از مطالعه حاضر با مطالعه‌ای که توسط Teymoornezhad و همکاران (۳۳) به منظور بررسی میزان ریزش و استحکام باند ریزشکشی کامپوزیت فلو حاوی نانو ذرات اکسید روی انجام دادند، غیر همسو می باشد. نتایج مطالعه Teymoornezhad و همکاران (۳۳) نشان داد که در گروه ترمیم شده با کامپوزیت Z350 با افزایش غلظت نانو ذرات، میزان ریزش به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی در مطالعه ایشان از نانو ذرات اکسید روی با درصد وزنی ۱ و ۳ درصد استفاده شده بود. بنابراین تفاوت در نوع نانو ذره و همچنین غلظت آن ممکن است بر روی یافته‌ها اثر گذاشته باشد. از طرفی تعداد دور ترموسایکلینگ به کار رفته در مطالعه حاضر صفر، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ بود، اما در مطالعه Teymoornezhad و همکاران (۳۳) ۱۵۰۰ سیکل بود که تعداد دور بالاتر در مطالعه حاضر شرایط را در استفاده طولانی مدت تر مواد به محیط دهان نزدیک تر کرد. همچنین نوع رنگ مورد استفاده در مطالعه Teymoortnezhad و همکاران (۳۳) فوشین ۵ درصد با مدت زمان غوطه‌وری ۲۴ ساعت و روش مورد استفاده در عمق نفوذ رنگ بر اساس سیستم درجه بندی Koyuturk و همکاران (۲۷) و Morales-Quiroga و همکاران (۳۲) بود. نوع دندان‌های مورد استفاده و شرایط نگهداری دندان‌ها قبل از شروع آزمایش

نیز می توانند عوامل اختلاف نتایج در این مطالعات باشد. همچنین این یافته از مطالعه حاضر غیرهمسو با مطالعه Haghgoo و همکاران (۴۳)، درباره بررسی اثر افزودن مقادیر مختلف نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت بر خواص مکانیکی فیشر سیلانت و ریمینالیزاسیون مینایی دندان دائمی، می باشد. نتایج مطالعه ایشان حاکی از آن بود که فیشر سیلانت حاوی نانو ذرات هیدروکسی آپاتیت می تواند با تأثیر بر ایجاد ریمینالیزاسیون در سطح مینای دندان باعث کاهش ریزش و جلوگیری از پوسیدگی ثانویه شود. اما اثر احتمالی افزایش تعداد دورهای ترموسایکلینگ بر میزان ریزش در نظر گرفته نشده بود. همچنین نوع نانو ذره به کار رفته در مطالعه Haghgoo و همکاران (۴۳) با مطالعه کنونی متفاوت بود. در مطالعه حاضر افزایش غلظت نانو ذره اکسید مس، مانع از افزایش ریزش تحت تأثیر افزایش تعداد دورهای ترموسایکلینگ شد.

عدم وجود اختلاف معنی‌دار در زیرگروه‌های ترموسایکل شده به میزان یکسان و با غلظت متفاوت نانو ذرات مس در مطالعه حاضر، همسو با مطالعه Morales-Quiroga و همکاران (۳۲) بود که مطالعه‌ای با هدف بررسی آزمایشگاهی میزان ریزش و درزگیری لبه‌ای (marginal seal) یک سیلانت (conventional) ترکیب شده با نانو ذرات نقره در دندان‌های مولر شیری انجام دادند. گروه‌های کنترل و گروه ترمیم شده با سیلانت حاوی نانو ذرات نقره، به میزان ۵۰۰ سیکل ترموسایکل شدند. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان ریزش بین گروه کنترل نسبت به گروه حاوی نانو ذرات نقره وجود نداشت. در مطالعه Morales-Quiroga و همکاران (۳۲) از ۵۰۰ بار ترموسایکل استفاده شد، اما در مطالعه حاضر تعداد دورهای صفر، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ سیکل حرارتی استفاده گردید.

تعداد دورهای ترموسایکل به کار رفته در مطالعه کنونی، ۱۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۱۵۰۰۰ سیکل بود که همسو با مطالعه Gönülol و همکاران (۲۸) بود که با عنوان اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزش کامپوزیت رزین‌های قابل سیلان متداول انجام گرفت که نشان داد کامپوزیت‌های فلوی جدید خود باند

به بررسی اثر سمیت سلولی و ژنی ذرات نانو و میکرو اکسید مس پرداختند. آن‌ها این ذرات را روی سلول‌های Hella انسانی آزمایش کردند و به این نتیجه رسیدند که این ماده تا غلظت ۵۰ میکرو گرم بر میلی لیتر، هیچ ضرری برای سلول‌های انسانی ندارد. به منظور یکنواخت شدن مخلوط نانو ذره اکسید مس و کامپوزیت فلو در مطالعه حاضر، از دستگاه Shaker Vortex استفاده شد که همسو با مطالعه Toodehzaeim و همکاران (۲۴) بود. ضمناً هموزن بودن مخلوط ایجاد شده در مطالعه حاضر توسط میکروسکوپ الکترونی بررسی شد که تا از پخش یکسان ذرات در کامپوزیت فلو اطمینان حاصل شود که در مطالعات مشابه بررسی نشده است.

روش‌های مختلفی برای بررسی ریزنشست در مطالعات invitro وجود دارد و رایج‌ترین آن‌ها روش نفوذ رنگ می‌باشد (۴۶). در مطالعه حاضر از محلول متیلن بلو با غلظت ۲٪ و مدت غوطه‌وری ۲۴ ساعت استفاده شد که همسو با مطالعه Zhao و Xie (۹) و Shahabi و همکاران (۳۸) بود. لازم به ذکر است که در مطالعات با استفاده از رنگ از غلظت‌های ۱۰-۵٪ و مدت زمان غوطه‌وری ۷۲-۴ ساعت استفاده می‌شود (۳۳،۴۷،۴۸) البته باید در نظر داشته باشیم که بین وسعت ریزنشست به دست آمده در مطالعات آزمایشگاهی و وضعیت ماده در کلینیک ارتباط صد درصدی وجود ندارد و لیکن در صورتی که ماده در مطالعات آزمایشگاهی ریزنشست کمی داشته باشد، احتمالاً موفقیت آن بالاتر خواهد بود. موضوع مهم درباره استفاده از رنگ‌ها در تعیین ریزنشست این است که رنگ‌هایی مانند فوشین که با ساختمان دندان یا مواد ترمیمی باند می‌شوند (۴۷،۴۸)، بیش از آنچه فاصله وجود دارد در حد فاصل ترمیم و دندان نفوذ می‌کنند. ضمناً در مطالعات نفوذ رنگ چون نمونه جهت تفسیر کار تخریب می‌شود، ارزیابی کمی به طور کامل امکان پذیر نیست (۴۸).

در مطالعه حاضر، درجه بندی ریزنشست به صورت کیفی رتبه‌ای انجام شد که با مطالعات Morales-Quiroga و همکاران (۳۲) و Koyuturk و همکاران (۲۷) و Al-Dlaigan و Al-Homaidhi (۲۱) همسو بود.

شونده (self-adhering) زمانی که تحت شوک حرارتی طولانی مدت قرار بگیرند شبیه به کامپوزیت‌های فلوی قدیمی هستند. در مطالعه حاضر از نانو ذرات اکسید مس به ابعاد ۴۰ نانومتر و غلظت ۰/۱ درصد و ۰/۳ درصد وزنی استفاده شد. درصد نانو ذره اکسید مس به کار رفته، با توجه به مطالعه صورت گرفته در زمینه حداقل غلظت آنتی میکروبیال نانو ذره اکسید مس در عین عدم ایجاد تغییر رنگ کلینیکی بود (۲۲،۲۳). همچنین درصد وزنی نانو ذرات در مطالعه حاضر و نیز محاسبات مربوط به وزن نانو ذره برای هر یک از درصدهای وزنی مشابه مطالعه Eshed و همکاران (۲۵) بود.

با توجه به اینکه هدف مطالعه کنونی تعیین اثر ترموسایکلینگ بر میزان ریزنشست مخلوط نانو ذره اکسید مس و کامپوزیت فلو در دو غلظت متفاوت ۰/۱ و ۰/۳ درصد بود لذا گروه کنترل شامل گروه‌های بدون اعمال ترموسایکلینگ (گروه‌های ۱ و ۵) بود. از طرف دیگر مقایسه‌های مربوط به ریزنشست انجام گرفته نشان داده که میزان ریزنشست بین گروه‌های دارای غلظت صفر نانو ذره و غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۳ درصد نانو ذره اختلاف معنی‌داری دارند. به همین دلیل در مطالعه حاضر گروه دارای غلظت صفر نانو ذرات در نظر گرفته نشد. در مطالعه حاضر براساس اطلاعات کارخانه سازنده (US) (Research Nanomaterials, Inc.) ساین نانو ذرات به کار رفته ۴۰ نانومتر بود (۴۴)، که از نظر نوع نانو ذرات همسو با مطالعه Toodehzaeim و همکاران (۲۴) بود. همچنین انتخاب اندازه نانو ذرات به کار رفته در مطالعه حاضر با توجه به مطالعه Allaker (۲۶) بود که درباره استفاده از ذرات نانو در کنترل تشکیل بیوفیلم‌های دهانی انجام گرفت و به این نتیجه رسیدند که استفاده از نانو ذرات مس و اکسید آن اثر زیادی بر روی کنترل جمعیت‌های باکتریایی دارد. آن‌ها نانو ذرات اکسید مس در اندازه‌های ۲۰ تا ۹۰ نانومتر را روی جمعیت اشرشیاکلی MRSA بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که این ذرات در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۵۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر سمیتی ندارند.

عدم سمیت سلولی در غلظت مواد بکار گرفته شده بر اساس مطالعه صورت گرفته توسط Semisch و همکاران (۴۵) بود که

افزایش غلظت نانو ذرات اکسید مس به ۰/۳ درصد باعث تغییر در میزان ریزش، حتی تا تعداد ۱۵۰۰۰ بار ترموسایکلینگ نشد. در گروه‌های با غلظت متفاوت ۰/۱ درصد و ۰/۳ درصد نانو ذرات و ترموسایکل شده به میزان یکسان، تفاوتی در میزان ریزش مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله ناشی از پایان نامه دکترای دندانپزشکی عمومی مصوب در دانشکده دندانپزشکی یزد و به شماره ۹۷۶ می‌باشد و بدین وسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یزد بابت اختصاص بودجه به آن تشکر می‌شود.

از محدودیت‌های این مطالعه، عدم وجود گروه یا غلظت صفر نانو ذره، عدم بررسی اثر load cycling و عدم بررسی اثر هم‌زمان ترموسایکلینگ و load cycling بر میزان ریزش، عدم بررسی تغییرات شیمیایی ناشی از مواد غذایی بر مخلوط کامپوزیت فلو و نانو ذره، عدم بررسی اثر افزودن نانو ذره اکسید مس بر رنگ کامپوزیت رزین و عدم بررسی خشونت سطحی پس از افزودن نانو ذرات اکسید مس بود. با توجه به محدودیت‌های این مطالعه آزمایشگاهی می‌توان موارد زیر را نتیجه‌گیری نمود: در گروه‌های دارای نانو ذره اکسید مس با غلظت ۰/۱ درصد، میزان ریزش با افزایش تعداد ترموسایکلینگ به ۱۵۰۰۰ نسبت به گروه کنترل افزایش یافت.

منابع:

- 1- Christensen JR, Mabry TR, Townsend JA, Wells MH. Pediatric dentistry infancy through adolescence. 6th ed. Elsevier; 2018. Chap 22.
- 2- Ramamurthy P, Rath A, Sidhu P, Fernandes B, Nettem S, Muttalib K, et al. Sealants for preventing dental caries in primary teeth. Cochrane Database Syst Rev. 2018;2018(3):CD012981.
- 3- Poosti M, Ramazanzadeh B, Zebarjad M, Javadzadeh P, Naderinasab M, Shakeri MT. Shear bond strength and antibacterial effects of orthodontic composite containing TiO2 nanoparticles. Eur J Orthod. 2013;35(5):676-9.
- 4- TavassoliHojati S, Alaghemand H, Hamze F, AhmadianBabaki F, Rajab-Nia R, Rezvani MB, et al. Antibacterial, physical and mechanical properties of flowable resin composites containing zinc oxide nanoparticles. Dent Mater. 2013;29(5):495-505.
- 5- Kasraei S, Sami L, Hendi S, Alikhani MY, Rezaei-Soufi L, Khamverdi Z. Antibacterial properties of composite resins incorporating silver and zinc oxide nanoparticles on Streptococcus mutans and Lactobacillus. Restor Dent Endod. 2014;39(2):109-14.
- 6- Kim JS, Shin DH. Inhibitory effect on Streptococcus mutans and mechanical properties of the chitosan containing composite resin. Restor Dent Endod. 2013;38(1):36-42.
- 7- Ramazanzadeh B, Jahanbin A, Yaghoubi M, Shahtahmassbi N, Ghazvini K, Shakeri M, et al. Comparison of Antibacterial Effects of ZnO and Cu ONanoparticles Coated Brackets against Streptococcus Mutans. J Dent Shiraz Univ Med Sci. 2015;16(3):200-5.
- 8- Hidalgo-Manrique P, Lei X, Xu R, Zhou M, Kinloch IA, Young RJ. Copper/graphene composites: a review. J Mater Sci. 2019;54:12236-89.
- 9- Zhao J, Xie D. Effect of Nanoparticles on Wear Resistance and Surface Hardness of a Dental Glass-ionomer Cement. J Compos Mater. 2009;43(23):2739-52.
- 10- Mohammad Aliha MR, Mousavi A, Khansari Nabi M, Safarabadi M. Effects of alumina and hydroxyapatite nanoparticles on fracture toughness of PMMA based dental composite. J Sci Techno Compos. 2015;2(2):9-15.
- 11- Li Z, Lee D, Sheng X, Cohen RE, Rubner MF. Two-Level Antibacterial Coating with Both Release-Killing and Contact-Killing Capabilities. Langmuir. 2006;22(24):9820-3.
- 12- Monteiro DR, Gorup LF, Takamiya AS, Ruvollo-Filho AC, de Camargo ER, Barbosa DB. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: antimicrobial effect of medical devices containing silver. Int J Antimicrob Agents. 2009;34(2):103-10.
- 13- Rezaei-Zarchi S, Javed A, Javeed Ghani M, Soufian S, Barzegari Firouzabadi F, Bayanduri Moghaddam A, et al. Comparative Study of Antimicrobial Activities of TiO2 and CdO Nanoparticles against the Pathogenic Strain of Escherichia coli. Int J Pediatr. 2010;5(2):83-9.
- 14- Mohamed Hamouda I. Current perspectives of nanoparticles in medical and dental biomaterials. J Biomed Res. 2012;26(3):143-51.
- 15- Verran J, Sandoval G, Allen NS, Edge M, Stratton J. Variables affecting the antibacterial properties of nano and pigmentarytitanium particles in suspension. J Dye Pig. 2007;73(3):298-304.
- 16- Jandt KD, Sigusch BW. Future perspectives of resin-based dental materials. Dent Mater. 2009;25(8):1001-6.
- 17- Linlin Wang, Chen Hu, Longquan Shao. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. Int J Nanomedicine. 2017;12: 1227-49.
- 18- Ren G, Hu D, Cheng EW, Vargas-Reus MA, Reip P, Allaker RP. Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. Int J Antimicrob Agents. 2009;33(6):587-90.
- 19- Cava RJ. Structural chemistry and the local charge picture of copper oxide superconductors. Science. 1990;247(4943):656-62.

- 20- Sládková M, Vlcková B, Pavel I, Siskova K, Slouf M. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) from a single molecularly bridged silver nanoparticle aggregate. *J molstruc*. 2009;567-70.
- 21- Al-Homaidhi M, Al-Dlaigan YH. Microleakage of a Pit and Fissure Sealant used with Two Brands of Self-etching Adhesives: An In Vitro Study. *J Int Oral Health*. 2016;8(3):332-7.
- 22- Tabrez Khan S, Ahamed M, Al-Khedhairi A, Musarrat J. Biocidal effect of copper and zinc oxide nanoparticles on human oral microbiome and biofilm formation. *Materials Letters*. 2013;97:67-70.
- 23- Amiri M, Etemadifar Z, Daneshkazemi A, Nateghi M. Antimicrobial Effect of Copper Oxide Nanoparticles on Some Oral Bacteria and Candida Species. *J Dent Biomater*. 2017;4(1):347-52.
- 24- Toodehzaeim MH, Zandi H, Meshkani H, Hosseinzadeh Firouzabadi A. The Effect of CuO Nanoparticles on Antimicrobial Effects and Shear Bond Strength of Orthodontic Adhesives. *J Dent Shiraz Univ Med Sci*. 2018;19 (1):1-5.
- 25- Eshed M, Lellouche J, Matalon S, Gedanken A, Banin E. Sonochemical coatings of ZnO and CuO nanoparticles inhibit *Streptococcus mutans* biofilm formation on teeth model. *Langmuir*. 2012;28(33):12288-95.
- 26- Allaker RP. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. *J Dent Res*. 2010; 89(11):1175-86.
- 27- Koyuturk AE, Kusgoz A, Ulker M, Yesilyurt C. Effects of mechanical and thermal aging on microleakage of different fissure sealants. *Dent Mater J*. 2008; 27:795-801.
- 28- Gönülol N, Ertaş E, Yılmaz A, Çankaya S. Effect of thermal aging on microleakage of current flowable composite resins. *J Dent Sci*. 2015;10(4):376-82.
- 29- Zanjani VA, Moravej-Salehi E, Valian A. Effect of Thermocycling and Type of Restorative Material on Microleakage of Class II Restorations. *J Dent Shahid Beheshti Med Univ Sci*. 2016;34(4):202-13.
- 30- Sakaguchi RL, Powers JM. Craig's restorative dental material. 13th ed. Elsevier 2012. 98-104.
- 31- McGee S. Evidence-Based Physical Diagnosis. 2018. Elsevier Inc. 4th ed. Mouth temperature: an overview. Chapter 18. 135-140.
- 32- Morales-Quiroga E, Martínez-Sumarán A, Hernández-Sierra JF. Evaluation of Marginal Seal and Microleakage of a Sealant Modified with Silver Nanoparticles in Primary Molars: In Vitro Study. *Odovtos-Int. J Dent Sc*. 2014(16):107-13.
- 33- Teymoornezhad K, Alaghehmand H, Daryakenari G, Khafri S, Tabari M. Evaluating the Microshear Bond Strength and Microleakage of Flowable Composites Containing Zinc Oxide Nano-particles. *Electron physician*. 2016;8(11):3289-95.
- 34- Salas-Lopez EK, Pierdant-Perez M, Hernandez-Sierra JF, Ruiz F, Mandeville P, Pozos-Guillen AJ. Effect of Silver Nanoparticle-Added Pit and Fissure Sealant in the Prevention of Dental Caries in Children. *J Clin Pediatr Dent*. 2017;41(1): 48-52.
- 35- Daneshkazemi Ar, Davari Ar, Ghanbarneghad S, Daneshkazemi P, Fallah Cham Assemani N, GhaemiKoushki F. Effect of Mechanical Load Cycling on the Microleakage of the Mixture of Copper Oxide Nanoparticles and Flowable Composite: An in Vitro Study. *J Dent Mashhad Univ Med Sci*. 2020;44(3): 216-27.
- 36- Daneshkazemi A, Davari A, Akbari MJ, Davoudi A, Badrian H. Effects of thermal and mechanical load cycling on the dentin microtensile bond strength of Single Bond-2. *J Int Oral Health*. 2015;7(8):9-13.
- 37- Miranda WG, Placido E, Moura SK, Cardoso PE. Influence of postextraction substrate aging on the microtensile bond strength of a dental adhesive system. *J Adhes Dent*. 2005;7(3):193-6.
- 38- Shahabi S, Ebrahimpour L, Walsh LJ. Microleakage of composite resin restorations in cervical cavities prepared by Er, Cr:YSGG laser radiation. *Aust Dent J*. 2008;53(2):172-5.
- 39- Saghaei M. Random allocation software for parallel group randomized trials. *BMC Med Res Methodol* 4, 26 (2004).
- 40- Daneshkazemi AR, Davari AR, Mousavinasab M, Dastjerdi F, Mehrpartou V. Effect of Thermocycling on Microleakage of Class V Resin Composite Restorations Bonded by Self and Total Etch Bondings. *J Dent Shahid Sadoughi Univ Med Sci*. 2011;19(1):1-12.
- 41- Wahab FK, Shaini FJ, Morgano SM. The effect of thermocycling on microleakage of several commercially available composite Class V restorations in vitro. *J Prosthet Dent*. 2003;90(2):168-74.
- 42- Atash R, Shayegan A, Poureslami H, Sharifi H, Shadman N. Effect of Thermocycling on Microleakage of New Adhesive Systems on Primary Teeth: An In-Vitro Study. *J Dent Mater Tech*. 2013;2(4):109-13.
- 43- Haghgoo R, Ataei M, TavassoliHojjati S, Kameli S, Rahimian Imam S. The effect of various amounts of nanohydroxyapatite on the mechanical properties and remineralization of a fissure sealant. *J Dent SBMU*. 2012;30(3):184-91.
- 44- Copper oxide nanoparticles. In: US Research Nanomaterials Itanp, editor. www.us-nano.com. p. 2.
- 45- Semisch A, Ohle J, Witt B, Hartwig A. Cytotoxicity and genotoxicity of nano - and microparticulate copper oxide: role of solubility and intracellular bioavailability. *Part fibre toxicol*. 2014;11:10.
- 46- Daneshkazemi AR, Davari AR, Modaresi J, Dastjerdi F, Darezereshki M. Effect of flowable composite on Microleakage of packable resin composites in class II cavities. *J Dent Qazvin Univ Med Sci*. 2009;13(3):23-7.
- 47- Asefzadeh F, Jamshidian M, Naser Valaee N. Microleakage of WetBond Self Adhesive Composite in Class V Cavities. *J Dent Mashhad Univ Med Sci*. 2010.34(2):99-108.
- 48- Siyadat H, Mirfazaelian A. Microleakage and its measurement methods. *J Dent Tehran Univ Med Sci*. 2002;15(2):70-81.