

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

COMPARACIÓN DEL EFECTO DEL MÉTODO DE
POLIMERIZACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS DE UN
MATERIAL DENTAL RESTAURATIVO RESINOSO CON
RELLENO ALKASITE

Trabajo final de investigación aplicada sometido a la consideración
de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en
Odontología para optar al grado y título de
Maestría Profesional en Odontología con Énfasis en Prostodoncia

JOSE PABLO VARGAS ULATE

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2022

Dedicatoria

A mis mentores y guías Dr. Daniel Chavarría, Dr. Fabián Murillo y Dr. Mauricio Montero, porque sin ellos este trabajo no hubiera visto la luz.

Agradecimientos

Al Dr. Marco Álvarez por su invaluable ayuda y habernos abierto las puertas de su laboratorio.

Al Dr. Jose Vega por su colaboración clave y poner a nuestra disposición el Laboratorio de Nanotecnología del Centro Nacional de Alta Tecnología.

Al Sr. Reinaldo Pereira por su valioso aporte en microscopía electrónica y camaradería en jornadas de trabajo.

Al Sr. Josué Hoch y a la compañía Cosmodent S.A, con su representación de Ivoclar Vivodent, por su amable colaboración y apoyo a estudios científicos como el presente, con la donación de materiales.

Este trabajo final de investigación aplicada fue aceptado por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Odontología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría Profesional en Odontología con Énfasis en Prosthodontia.

Dra. Tatiana Vargas Koudriavtsev
Representante de la Decana Sistema de Estudios de Posgrado

Dr. Daniel Chavarría Bolaños
Profesor Guía

Dr. Fabián Murillo Gómez
Lector

Dr. Mauricio Montero Aguilar
Lector

Dr. Jose David Lafuente Marín
Director del Programa de Posgrado en Odontología

Jose Pablo Vargas Ulate
Sustentante

Tabla de Contenido

Portada	i
Dedicatoria y agradecimientos	ii
Hoja de aprobación.	iii
1. Resumen.....	vi
2. Introducción	1
3. Marco Teórico.....	3
4. Marco metodológico	7
4.1 Planteamiento del problema y justificación	7
4.2 Pregunta de investigación	7
4.3 Objetivo general.....	8
4.4 Objetivos específicos	8
4.5 Hipótesis nula.....	8
4.6 Diseño del estudio	8
4.7 Lugares donde se desarrolla la investigación.....	9
5. Metodología. Materiales y Métodos	13
5.1. Caracterización nanométrica del material	13
5.2. Evaluación del grado de conversión	14
5.3. Pruebas mecánicas	16
5.4 Evaluación de resistencia adhesiva	17
5.5 Actividad celular y biocompatibilidad	19
6. Resultados	23
6.1. Caracterización Nanométrica del material	23
6.2 Grado de conversión según método de polimerización.....	27
6.3. Pruebas mecánicas	28
6.4. Resistencia adhesiva	30
6.5 Biocompatibilidad.....	32

7. Discusión.....	33
7.1 Caracterización nanométrica del material	33
7.2. Grado de conversión según método de polimerización.....	35
7.3. Pruebas Mecánicas	37
7.4. Resistencia Adhesiva	38
7.5 Biocompatibilidad.....	38
8. Conclusiones	40
9. Referencias bibliográficas.....	41

1. Resumen

Introducción:

Después de la eliminación gradual de la amalgama acordada en la Convención de Minamata sobre Mercurio de 2013, la odontología restauradora tiene el desafío de encontrar un reemplazo para la amalgama, material que aún se usa en varias zonas alrededor del mundo.

Objetivo:

Evaluar el efecto del método de polimerización (polimerización dual o autopolimerización) en las características físicas y químicas del material Cention N.

Metodología:

El material Cention N (CN), en ambas modalidades de polimerización (auto y dual) fue sometido a 5 etapas de pruebas de distinta naturaleza. La primera parte constó de la caracterización nanométrica mediante, calorimetría diferencial de barrido (DSC), termogravimetría (TGA), microscopia electrónica de barrido (MEB) y espectroscopía de energía de dispersión de rayos x (EDS). En segundo lugar, a través de espectroscopía infrarroja Transformada de Fourier (FTIR) se evaluó el Grado de Conversión (%GC) de las muestras del material. A la vez, como tercer y cuarta etapa se ejecutaron pruebas mecánicas de Resistencia Flexural y Resistencia Adhesiva, respectivamente. En la quinta y última etapa, se evaluó la biocompatibilidad celular del CN mediante la prueba de metabolismo celular de WST-1. Los resultados obtenidos fueron tabulados y analizados por un análisis descriptivo, la normalidad de la distribución de los datos se evaluó con las pruebas de Anderson-Darling y Box-Cox (resistencia flexural) y ANOVA de una vía.

Resultados:

Para la prueba de TGA el punto de inicio (Onset Point, T_0) para el polvo sin mezclar fue 289,58°C, mezclado autopolimerizado (AP) 279,77°C y mezclado polimerizado dual (PD) de 284,21°C. La pérdida porcentual de masa de la muestra del polvo sin mezclar fue menor (8.64%) comparada con la variación del mismo material AP (20.93%) y PD (22.55%). Para la prueba de DSC el material AP, la energía de la reacción (ΔH) en el tiempo 0 es de 14,65 J/g, 6,099 J/g a los 30 minutos, y a los 60 minutos 7,196 J/g. Para el método PD en el tiempo 0, $\Delta H = 10.17$ J/g, a los 30 minutos 6,498 J/g y 8,991 J/g a los 60 minutos.

El análisis con espectrometría FTIR registró un %GC del 47,62% para el método PD y de 36,03% para el método de AP, con una diferencia estadísticamente significativa.

En la prueba de resistencia flexural sobre tres puntos, el valor promedio para el grupo de PD fue 104,38 (21,98) MPa. y de 75,92 (21,85) MPa para el grupo AP, con diferencia estadísticamente significativa entre sí.

Para la prueba de resistencia adhesiva, el valor promedio para el grupo PD fue 17,86 (4,58) MPa y un promedio de 10,98(1,94) MPa para el grupo AP, siendo la diferencia entre estos estadísticamente significativa.

En la prueba de biocompatibilidad hubo proliferación celular con crecimiento lineal con respecto al tiempo de medición, reportando valores más altos de actividad celular en el grupo de PD a las 48 y 72 horas. A partir de los datos obtenidos se confirma la actividad metabólica celular a lo largo del tiempo de medición.

Conclusiones

Al exponer el material a polimerización dual, se reduce el tiempo necesario para alcanzar un mayor porcentaje de grado de conversión, se obtiene mayor resistencia flexural, se alcanzan mayores niveles de adhesión a la capa adhesiva y se registra mayor actividad celular en periodos de 48 y 72 horas de incubación. El método de polimerización dual no debe ser opcional.



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

SEP Sistema de
Estudios de Posgrado

Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Jose Pablo Vargas Ulate, con cédula de identidad 1142307005, en mi condición de autor del TFG titulado EFFECTO DEL MÉTODO DE POLIMERIZACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS DE UN MATERIAL DENTAL RESTAURATIVO RESINOSO CON RELLENO ALKASITE

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

2. Introducción

La innovación de la industria de materiales dentales restauradores amplía la gama de opciones para las necesidades clínicas cada vez más específicas en odontología restaurativa. Después de la eliminación gradual de la amalgama acordada en la Convención de Minamata sobre Mercurio de 2013, la odontología restauradora tiene el desafío de encontrar un reemplazo para la amalgama, que todavía se usa ampliamente en varias áreas alrededor del mundo³.

Un material que surgió recientemente después de esta Convención como una opción de restauración sin mercurio es Cention N® (CN, Ivoclar Vivadent, Liechtenstein). Según el fabricante, el CN es una resina compuesta con un relleno alcalino que libera iones neutralizantes de ácido¹. Se presenta como un material de autopolimerización, pero con capacidad de polimerización dual opcional en un rango de onda de luz de 400-500 nm. Clínicamente, el fabricante afirma que el CN se puede utilizar como composite “Bulk-fill” (técnica de un solo incremento), debido a su capacidad de autopolimerización.

La presentación del material es polvo/líquido. Ambas fases se mezclan manualmente antes de la restauración. El líquido compone la matriz orgánica con cuatro dimetacrilatos (UDMA, DCP, UDMA-aromático alifático y PEG-400 DMA). No contiene Bis-GMA, HEMA ni TEGDMA¹⁸. El polvo suministra los rellenos inorgánicos: Trifluoruro de iterbio y tres vidrios diferentes (vidrio de silicato de aluminio y bario, vidrio de fluorosilicato de aluminio y bario de calcio y vidrio de silicato de fluoro de calcio).

Los materiales dentales que presentan varias opciones de polimerización como auto y dual deben ser evaluados mediante pruebas mecánicas y fisicoquímicas para comparar el desempeño del material bajo cada opción de polimerización, con el fin de asegurar que sus propiedades no se modifiquen en función del método de polimerización utilizado. Aquí es donde se puede encontrar un vacío de conocimiento en la literatura científica disponible, que carece de datos revisados por pares sobre el comportamiento mecánico y químico del material CN.

El propósito de este estudio es evaluar el efecto del método de polimerización (dual o auto) sobre las características físicas y químicas del material CN. Se completará una comparación de ambos métodos de polimerización mediante ensayos nanométricos y mecánicos.

3. Marco Teórico

3.1 Resina compuesta con relleno alkasite

El material Cention N es clasificado por el fabricante como un *alkasite*. Este término, en palabras del fabricante es una categoría de materiales restauradores, un subgrupo dentro de los composites. La principal característica de este subgrupo de alkasites es la presencia de un relleno alcalino, capaz de liberar iones neutralizadores de ácido.¹

Hecho para uso en restauraciones directas clase I, II o V en piezas temporales y permanentes, es presentado como un material de autopolimerizado. Posee también capacidad de polimerizado dual (fotopolimerizado) con luz azul en rango de onda de 400-500 nm¹, designada como opcional por el fabricante.

Respecto a su uso clínico, se incluye dentro de los materiales Bulk-Fill o de un solo incremento^{20,21}, por su capacidad de autocurado.

La presentación del material, similar al ionómero de vidrio es polvo/líquido. Ambas fases se mezclan previo a la elaboración de la restauración clínica y se colocan en la cavidad. El líquido contiene la parte orgánica del material, con cuatro dimetacrilatos (UDMA, DCP, UDMA-aromático alifático y PEG-400 DMA). No contiene Bis-GMA, HEMA ni TEGDMA¹⁹. El UDMA, hidrofóbico y de viscosidad moderada, es el principal componente de la matriz del monómero. El DCP hace posible el mezclado manual de Cention N, es un monómero bifuncional de baja viscosidad de estructura cíclica alifática. El UDMA-aromático alifático es un uretano de dimetacrilato parcialmente aromático, hidrofóbico y agente de enlaces cruzados de alta viscosidad. Su propiedad alifática conlleva como ventaja baja tendencia a descolorarse. PEG-400 DMA es un monómero líquido que mejora la fluidez del material. Es hidrofílico y promueve la habilidad de impregnar la superficie del sustrato dental¹.

De acuerdo con recomendaciones explícitas del fabricante, si el material se utilizará sin adhesivo la cavidad no necesita ser grabada con ácido fosfórico, pero debe prepararse con paredes

retentivas. Si se utiliza adhesivo, se siguen los lineamientos de la técnica adhesiva y no importa la retención de las paredes de la cavidad.

El relleno del material se encuentra en el polvo de Cention N. Todos los materiales de relleno (excepto el trifluoruro de iterbio) se modifican en la superficie para mejorar la humectabilidad del líquido y la incorporación a la matriz polimérica¹. Los rellenos inorgánicos comprenden un relleno de vidrio de silicato de aluminio y bario, trifluoruro de iterbio, un “Isofiller” (tecnología Tetric N-Ceram), un relleno de vidrio de fluorosilicato de aluminio y bario de calcio y uno de vidrio de fluorosilicato de calcio (alcalino), con un tamaño de partícula entre 0.1 μm y 35 μm .

3.2 Alivio del Estrés por Contracción

Debido a que Cention N presenta la opción de autocurado, el fabricante aduce que la profundidad de curado es teóricamente ilimitada¹. Ya que el material se promueve como una opción para restauraciones Bulk-fill, es importante que el material exhiba baja contracción por polimerización y baja fuerza de contracción¹⁶. Los problemas asociados con la contracción de la polimerización pueden incluir decoloración marginal, brechas marginales, grietas e hipersensibilidad.

Cention N incluye un relleno patentado del fabricante que disminuye el estrés por contracción, el Isofiller, se usa también en las resinas compuestas Tetric N-Ceram Bulk-Fill.

Un alto módulo de elasticidad denota inelasticidad y un bajo módulo de elasticidad denota mayor elasticidad. Debido a su módulo elástico (10 GPa), el alivio del estrés por contracción dentro del Cention N actúa como un resorte, expandiéndose ligeramente a medida que las fuerzas entre los rellenos crecen durante la polimerización¹, entre los rellenos de vidrio estándar que tienen un módulo elástico más alto de 71 GPa.

3.3 Método de Polimerización

3.3.1 Autopolimerización

Cuando el material se utiliza en el modo de autopolimerizado, el material mezclado se coloca en la cavidad, se condensa, esculpe y luego se deja polimerizar durante 4 minutos, según las indicaciones del fabricante¹.

El método de autopolimerizado se basa en un sistema iniciador que consiste en una sal de cobre, peróxido y una tiocarbamida. El líquido de Cention N contiene el hidropéroxido y el relleno estándar en la parte en polvo del producto está recubierto con los otros componentes iniciadores. La sal de cobre acelera la reacción de polimerización¹.

Este sistema iniciador tiene ciertas ventajas sobre los sistemas iniciadores de autopolimerizado convencionales, como peróxido de benzoilo/amina. La incorporación de un hidropéroxido que es más estable que el peróxido de benzoilo (BPO) da al material una mayor resistencia a la temperatura, un factor importante con respecto a la estabilidad durante el almacenamiento. El uso de tiocarbamida en lugar de amina también mejora la estabilidad del color del producto¹. En general, se acepta que la estabilidad del color de un material aumenta al disminuir el contenido de amina.

3.3.2 Polimerización dual

Después de mezclar las partes polvo/líquido del material, se iniciarán los procesos de autopolimerizado. Adicional a esta modalidad, Cention N contiene el foto iniciador Ivocerin® y un iniciador de óxido de acilfosfina para el polimerizado dual o fotopolimerizado presentado como opcional por el fabricante, con una lámpara de polimerización dental.

Ivocerin, un derivado de dibenzoil germanio es un iniciador Norrish Tipo I libre de amina. El iniciador Norrish Tipo I se refiere al hecho de que solo un componente es responsable de la formación de radicales¹. Un iniciador Norrish Tipo II como la camforoquinona requiere dos componentes para que tenga lugar la formación de radicales inducidos por la luz. Ivocerin presenta

un rango espectral de aproximadamente 370 a 460 nm, con una sensibilidad máxima de alrededor de 410 nm.

La polimerización sucede a través de polimerización por radicales libres. Los fotones provenientes de la luz de curado son absorbidos por el iniciador Ivocerin®, se produce la ruptura de un enlace químico dentro de la molécula iniciadora y se forman dos radicales, que posteriormente reaccionan con el monómero para producir una red de polímeros¹.

En general, cuanto más oscuro y más opaco es un material, menor es la profundidad de curado porque menos luz puede llegar a los iniciadores dentro del material. El fabricante de Cention N agrega que al ser un material de curado dual con iniciadores auto- y fotopolimerizables, se puede aplicar como material de reemplazo de volumen completo, es decir, bulk-fill, sin sacrificar la calidad de polimerizado^{1,4,20}.

4. Marco metodológico

4.1 Planteamiento del problema y justificación

Siendo el Cention N un material de lanzamiento reciente al mercado (2016), es necesario evaluar el efecto del método elegido de polimerizado en sus propiedades mecánicas. El fabricante promueve el material principalmente como un material restaurativo dental a base de resina autopolimerizable con opción de polimerizado dual. Este material es lanzado al mercado como sustituto de la amalgama, como respuesta comercial del fabricante a la situación de retirar los materiales dentales con contenido de mercurio del mercado, según acuerdos internacionales como la Convención de Minamata firmada en el año 2013. La intención de colocar este material en el mercado dental como sustituto de un material restaurador que se ha utilizado por décadas y en condiciones técnicas distintas a los materiales resinosos, hace de especial importancia evaluar las propiedades del material Cention N, según el método de polimerizado utilizado.

Al presentarse como un material de polimerizado dual, es de especial importancia contar con estudios científicos que evalúen las propiedades del material en diversos escenarios, comparando resultados según el método usado para la polimerización del material (autopolimerizado o dual).

A lo anterior, es adecuado agregar pruebas biológicas que evalúen la compatibilidad celular del material, en función del método de polimerizado empleado.

En el presente estudio se caracterizan algunas propiedades físico-químicas del material, así como su adhesión al tejido dental y compatibilidad con fibroblastos a través de pruebas de metabolismo celular, enfocándose en la comparación de los dos métodos posibles para la polimerización del material restaurador CN.

4.2 Pregunta de investigación

¿Qué efecto tiene el método de polimerización en las propiedades fisicoquímicas y biocompatibilidad del material restaurador Cention N?

4.3 Objetivo general

Evaluar el efecto del método de polimerización en las propiedades fisicoquímicas y biocompatibilidad del material Cention N.

4.4 Objetivos específicos

1. Caracterizar el perfil termodinámico del material Cention N mediante TGA y DSC al utilizar 2 protocolos de polimerización.
2. Analizar las características microscopias del material Cention N, mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) al utilizar 2 protocolos de polimerización.
3. Analizar la composición elemental del material Cention N, mediante espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS) al utilizar 2 protocolos de polimerización.
4. Comparar el grado de conversión del material Cention N mediante espectrometría infrarroja transformada de Fourier (FTIR) al utilizar 2 protocolos de polimerización.
5. Evaluar mecánicamente el material Cention N a través de prueba de resistencia flexural en tres puntos y módulo de elasticidad, al utilizar 2 protocolos de polimerización.
6. Evaluar la resistencia adhesiva de Cention N al sustrato dental, mediante prueba de microcizalla al utilizar 2 protocolos de polimerización.
7. Comparar la biocompatibilidad del material Cention N mediante prueba de metabolismo celular con WST-1 al utilizar 2 protocolos de polimerización.

4.5 Hipótesis nula

Las propiedades fisicoquímicas y la biocompatibilidad del material no se verán afectadas por el método de polimerización que se elija.

4.6 Diseño del estudio

Estudio experimental In Vitro.

4.7 Lugares donde se desarrolla la investigación

La metodología del presente estudio se realizó en los siguientes lugares:

- a. Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC), Centro Nacional de Alta Tecnología, San José, Costa Rica.
- b. Laboratorio de materiales dentales, Facultad de Odontología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- c. Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos, Departamento de Estudios de Posgrado e Investigación, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

4.8 Operacionalización de Variables

Cuadro N. 1 Operacionalización de variables

Dominio	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Instrumento de Medición	Unidades de Medición	Método de Agregación o Resumen	Grupos
Grado de conversión	Dependiente	Valor porcentual que representa la conversión de dobles enlaces monoméricos carbono-carbono en enlaces sencillos poliméricos carbono-carbono. (Ferracane, 1984)	FTIR – Lanotec	Longitud de onda/%DC	Media	Grupos Autopolimerizado (AP) y Polimerizado dual (PD). Tiempo = 0, 5,15, 20, 25, 30 min
Energía de reacción	Dependiente	Energía liberada durante la polimerización del material, vista como el área de pico normalizada en J/g de muestra. (Benzler B., 2000)	DSC – Lanotec	ΔH	Media	AP y PD. Basal y cambio en el tiempo
Pérdida de masa	Dependiente	Cambio de masa que ocurre cuando una muestra se calienta a una velocidad constante. (Rajisha, 2011)	TGA – Lanotec	%m/°C	Media	AP y PD. Basal y cambio en el tiempo
Composición elemental superficial	Independiente	Análisis de superficie mediante haz de electrones que determina los elementos presentes en la muestra. (Polini A, 2017).	MEB/EDS – Lanotec	KeV	Medía	AP y PD.

Continúa Cuadro N. 1 Operacionalización de variables

Dominio	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Instrumento de Medición	Unidades de Medición	Método de Agregación o Resumen	Grupos
Características superficiales	Dependiente	Morfología microscópica de la superficie de la muestra que se origina a partir de la naturaleza química y proceso de producción del material. (Popelka A., 2020)	MEB – Lanotec	Descriptiva	Descriptiva	Polvo del material sin mezclar, AP, PD
Resistencia Adhesiva	Dependiente	Fuerza resultante del establecimiento de interacciones moleculares entre el sustrato y un adhesivo puesto en estrecho contacto. (Sakaguchi R., 2012)	Instron E3000 – UCR	MPa	Media	AP y PD
Resistencia Flexural	Dependiente	Capacidad del material para soportar fuerzas de flexión aplicadas perpendicularmente a su eje longitudinal. (Campo E.A., 2008)	Instron E3000 – UCR	MPa	Media	AP y PD
Módulo de elasticidad	Dependiente	Relación entre la fuerza aplicada y la deformación que sufre un material. Se determina a partir de la pendiente inicial de la curva de fuerza-deformación. (Albert D., 2015)	Instron E3000 – UCR	MPa	Media	AP y PD

Continúa Cuadro N. 1 Operacionalización de variables

Dominio	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Instrumento de Medición	Unidades de Medición	Método de Agregación o Resumen	Grupos
Actividad celular	Dependiente	Funciones metabólicas celulares medibles mediante la cuantificación de absorción de longitud de onda de formazan (Riss T., 2016)	Espectrometría UV-Vis - UNAM	Absorción de longitud de onda de formazan	Media	AP y PD 24, 48, 72 de incubación.
Método de polimerización	Independiente	Forma elegida de activación de reacción de polimerización del material. Para efectos de este trabajo puede ser autopolimérico al mezclar ambas fases del material o polimerizado dual al mezclar las partes y exponer la mezcla a una fuente de luz para activación de fotoiniciadores de polimerización.	No aplica	No aplica	Descriptiva	Autopolimerizado, Polimerizado dual

5. Metodología. Materiales y Métodos

5.1. Caracterización nanométrica del material

5.1.1 Perfil Termodinámico

La caracterización del perfil termodinámico en este trabajo consiste específicamente en dos pruebas: Análisis de termogravimetría (TGA) y Calorimetría diferencial de barrido (DSC). Ambas pruebas fueron llevadas a cabo con el equipo de laboratorio específico ubicado en LANOTEC.

5.1.1.1 Análisis termogravimétrico (TGA)

Esta prueba se llevó a cabo en el equipo de análisis termogravimétrico (TA Instruments, TGA Q500, Delaware, EEUU) para determinar el punto de inicio de la pérdida de masa u onset point (T_o) y la variación del porcentaje de pérdida de masa con respecto al aumento de temperatura. Además, mediante el cálculo de la primera derivada de la curva de pérdida de masa, se determinó su punto de inflexión (T_p) para conocer la máxima tasa de pérdida de masa en función del aumento de temperatura. Se analizó el material en tres presentaciones distintas, Cention N Polvo, Cention N mezclado y autopolimerizado (50 minutos post-mezclado), y Cention N mezclado y polimerizado dual. Se utilizaron muestras de 2mg. Los valores de aumento de temperatura para el análisis se fijaron en: aumento de 10°C por minuto, iniciando a 25°C y hasta llegar a 1000°C. Los especímenes se colocaron en una rejilla de paladio, la cual automáticamente fue tarada y llevada al tambor de calor, el cual se mantuvo al vacío en atmosfera controlada durante el análisis. Las mediciones se analizaron con el software TA Universal Analysis (TA Instruments, Delaware, EEUU).

5.1.1.2 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El equipo utilizado para llevar a cabo esta prueba fue el calorímetro diferencial de barrido (TA Instruments, TA Q200, Delaware, EEUU). Al igual que para la prueba de TGA, se analizó el material Cention N en tres presentaciones: polvo, polimerizado dual y autopolimerizado. Se hizo una medición para el polvo; tres para el polimerizado dual, una recién mezclado o Tiempo 0, una a los 30 minutos de la mezcla y foto exposición y otra a 60 minutos de la mezcla y foto exposición;

tres para el autopolimerizado, según el mismo esquema de Tiempo 0, 30 y 60 minutos después de mezclar. Los parámetros de temperatura elegidos para las pruebas fueron, temperatura inicial de 20°C, aumento de 10°C por minuto hasta llegar a 250°C, y luego enfriamiento de 10°C por minuto hasta finalizar en 20°C. Se utilizaron 5mg de muestra para cada medición, colocados en capsulas de aluminio de 10mm x 10mm. Los datos obtenidos fueron analizados con el software TA Universal Analysis (TA Instruments, Delaware, EEUU).

5.1.2 Análisis de espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDS)

Se prepararon 3 especímenes representativos para análisis de composición de superficie mediante espectroscopía por dispersión de energía de rayos-x (EDS). Un espécimen solamente del polvo de Cention N, uno del material mezclado y polimerizado dual, y el tercero de Cention N mezclado y autopolimerizado por 24 horas. Las muestras se analizaron en EDS vinculado al equipo de microscopía electrónica de barrido (Jeol, JSM 6390LV, EEUU). Las muestras analizadas por EDS, no fueron recubiertas para evitar distorsión de los resultados

5.1.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las muestras seleccionadas para el análisis MEB, fueron recubiertas con oro (*Gold Sputtering*) a 20mA por 3 minutos, en atmosfera negativa controlada. Se tomaron imágenes de los especímenes a aumentos de x100, x1000 y x5000. El análisis se realizó con el microscopio electrónico de barrido (Jeol, JSM 6390LV, EEUU) en las instalaciones del Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC-CeNAT)

5.2. Evaluación del grado de conversión

5.2.1 Grado de conversión - Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)

Se utilizó el espectrómetro FTIR (Nicolet iS50, Thermo Fisher, Madison, USA) ubicado en el Laboratorio Nacional de Nanotecnología (LANOTEC-CeNAT) para medir el grado de conversión del Cention N, tanto en su modalidad de autopolimerización como polimerización dual. Se mezclaron 3 muestras de 2mm de alto y 2mm de diámetro para cada una de las dos modalidades de polimerización. Se hicieron mediciones de las muestras de material mezclado en ambas

modalidades de polimerización (n=3) a los 0, 1, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos después de la mezcla del material. En el caso de autopolimerización las muestras se fabricaron mezclando el material sobre una loseta desechable de papel y luego el material mezclado fue colocado en un molde plástico con el tamaño predeterminado deseado. En las muestras de polimerizado dual, la fabricación fue la misma ya descrita, con el agregado de exposición a luz de polimerización por 20 segundos. Esta polimerización dual fue efectuada inmediatamente después de finalizada la mezcla del material. Justo después de los 20 segundos de foto exposición, se hizo la primera medición en tiempo 0. Los especímenes se colocaron directamente en el cristal de diamante del accesorio ATR (Attenuated Total Reflectance) del espectrómetro para hacer las mediciones de la cantidad de enlaces dobles y simples carbono-carbono en los diferentes tiempos medidos. Para obtener el porcentaje de grado de conversión a partir del espectro FTIR, se utilizó el software OMNIC Spectra. Con ayuda del software se determinó la altura del pico ubicado en la longitud de onda de 1650 a 1620 cm^{-1} . Este pico en el espectro (1634 cm^{-1}) corresponde a la presencia de enlaces dobles carbono-carbono (C=C). Se toma como referencia la cantidad inicial y se calcula el grado de conversión según la tasa de cambio en la intensidad del pico correspondiente a este enlace a lo largo del tiempo de reacción. Normalmente este cálculo es comparativo e involucra la comparación del pico de interés con un pico de referencia de un enlace que permanece invariable a lo largo de la reacción. Para efectos particulares de este trabajo, la medición de la reacción fue dinámica, lo que quiere decir que se hicieron las mediciones usando un mismo espécimen para cada punto de medición en el tiempo, sin removerlo del equipo FTIR, lo que permite hacer el cálculo sin necesidad de incluir un pico de referencia, y trabajar solamente con el pico de interés²⁹. Las mediciones en este estudio se hicieron desde los 0 hasta los 30 minutos, con una medición al minuto y luego una cada 5 minutos.

Para el cálculo del porcentaje del grado de conversión (%GC) se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%GC = \left[1 - \frac{(1650 - 1620 \text{ cm}^{-1}), \text{después de } x \text{ min. de polimerización}}{(1650 - 1620 \text{ cm}^{-1}), \text{antes de polimerizar}} \right] \times 100$$

Donde $(1650 - 1620 \text{ cm}^{-1})$ es la altura del pico en el espectro FTIR entre las longitudes de onda 1650 y 1620 cm^{-1} .

Para la evaluación estadística del grado de conversión, se comprobó la normalidad positiva de la distribución de los datos según el análisis Anderson-Darling, con una confianza de 95%. Mediante la prueba de Levene se confirmó la homocedasticidad positiva de los datos. Para determinar si existió diferencia significativa entre los resultados de las variables Tiempo y la variable Método de Polimerización, se hizo un análisis de variancias de un solo factor ANOVA para cada variable. La comparación entre grupos dentro de la misma variable se hizo a través del método de Tukey con intervalo de confianza de 95%.

5.3. Pruebas mecánicas

5.3.1 Evaluación de resistencia flexural en 3 puntos

Se fabricaron 60 barras de 6mm de largo, 2mm de ancho y 1mm de alto a partir de una matriz de silicona (Coltene Whaledent) y se dividieron en 2 grupos según su método de polimerización ($n=30$). 30 de estas muestras se expusieron a 20 segundos de polimerización dual. Todas las muestras fabricadas fueron almacenadas a 35°C en un ambiente seco durante 24 horas antes de ser sometidas a la prueba de flexión. La prueba de flexión sobre 3 puntos se llevó a cabo en una máquina de pruebas universal (Instron E300, Instron. Buckinghamshire, RU). Los valores de la fuerza al momento de la falla se registraron con el software Bluehill Universal. El valor de la resistencia a la flexión (σ) se calculó en MPa según la fórmula incluida en la norma ISO 4049:2019:

$$\sigma = 3Fl/2bh^2$$

Donde F es la carga máxima en Newtons ejercida sobre la muestra; l , la distancia en mm entre los soportes; b y h son el ancho y la altura respectivamente, en el centro de la muestra en mm medidos inmediatamente antes del ensayo.

Para la evaluación estadística de la prueba de resistencia flexural, se comprobó la normalidad de la distribución de los datos según el análisis Anderson-Darling, con una confianza de 95%. La igualdad de variancias se comprobó según la prueba de Barlett con una confianza de 95%. Para determinar si existió diferencia significativa entre los resultados de los grupos se hizo un análisis de variancias de un solo factor ANOVA y la comparación entre grupos se hizo a través del método de Tukey con intervalo de confianza de 95%.

5.3.2 Evaluación del módulo de elasticidad (E)

A partir de los datos obtenidos en la prueba de resistencia flexural, se calculó el módulo de elasticidad del material para ambos métodos de polimerización.

Se calculó para ambos grupos, según la fórmula:

$$E = \sigma / \epsilon$$

Donde σ es la resistencia flexural y ϵ es deformación de la muestra.

En el análisis estadístico de la determinación del módulo de elasticidad, se comprobó la normalidad negativa de la distribución de los datos según el análisis Anderson-Darling, con una confianza de 95%, por esta razón fue necesaria la transformación de los datos para su ajuste a una distribución normal mediante la transformación Box-Cox. La igualdad de variancias se comprobó según la prueba de Barlett con una confianza de 95%. Mediante la prueba ANOVA de 1 factor se analizó la significancia de la diferencia entre los resultados de los grupos.

5.4 Evaluación de resistencia adhesiva

5.4.1 Resistencia adhesiva - Microcizalla

Se usaron 20 terceras molares humanas extraídas en la Clínica de Exodoncia y Cirugía de la Facultad de Odontología de Universidad de Costa Rica. Según el reglamento de la Universidad, el uso de piezas dentales extraídas en la clínica dental universitaria no requiere la aprobación de un comité ético, al ser donadas con consentimiento informado por pacientes luego de los procedimientos de exodoncia El total de piezas se dividió en 2 grupos (n=10) uno donde el material

se polimerizó de manera dual mediante luz de curado (PD) y el otro en el cual el material polimerizó de forma química o autopolimerizado (AP).

Bajo irrigación constante con agua en una recortadora de modelos (WhipMix, Louisville, KY) todas las piezas fueron desprovistas de sus cúspides y esmalte oclusal, dejando una superficie plana de dentina expuesta.

Los 20 especímenes ya recortados fueron embebidos en resina acrílica transparente, teniendo la precaución de mantener la cara oclusal libre. Después de la polimerización de la resina acrílica, todos los especímenes fueron sometidos a pulido con una serie de papel de lija bajo irrigación con agua. Haciendo movimientos en forma de 8, se lijó cada espécimen durante 1 minuto con una lija grano 600, 1000, 1500 y 2000. Al finalizar con el pulido, todos los especímenes recibieron tratamiento adhesivo con el sistema adhesivo Scotchbond Universal (3M. St. Paul, MN). Se frotó una capa del adhesivo durante 20 segundos, se sopló y posteriormente se foto polimerizó por 20 segundos (según recomendaciones del fabricante). Al completar el tratamiento adhesivo, se mezcló Cention N y con ayuda de una matriz de polivinil siloxano consistencia “putty” (3M. St. Paul, MN) se confeccionó un cilindro de aproximadamente 1.5mm de altura y 1mm de diámetro, sobre la superficie oclusal que recibió el tratamiento adhesivo. El grupo PD (n=10) recibió 20 segundos de polimerización dual en cada cilindro de Cention N sobre la superficie oclusal. Los especímenes del grupo AP no recibieron luz de polimerización. Todos los especímenes se almacenaron en un recipiente en el laboratorio a temperatura ambiente y opaco para protegerlos de la luz. Una semana después de la preparación de las muestras, fueron llevadas a una máquina de pruebas universal Instron E300 (Instron. Buckinghamshire, RU) para la evaluación de resistencia adhesiva (RA_d) mediante la prueba de cizalla con el software Bluehill Universal. Se colocó un alambre de 0.5mm de diámetro haciendo un asa que rodeaba la parte móvil en el pistón de la máquina y el cilindro de Cention N de cada espécimen. Al iniciar la prueba de cizalla el movimiento longitudinal del pistón de la máquina hace que la parte móvil se aleje del espécimen y

se aplique fuerza en cizalla por tracción sobre el cilindro del espécimen. Los valores de la fuerza al momento de la falla se registraron con el software Bluehill Universal.

El valor de la resistencia adhesiva (RA) se calculó en MPa según la fórmula de presión:

$$RA = F/A$$

Donde F es la carga máxima en Newtons ejercida sobre la muestra; A , el área del material en contacto con el sustrato dental, medida en mm inmediatamente antes de la prueba.

Para la evaluación estadística de la prueba de resistencia adhesiva, se comprobó la normalidad de la distribución de los datos según el análisis Anderson-Darling, con una confianza de 95%. La igualdad de variancias se comprobó según la prueba de Levene con una confianza de 95%. Para determinar si existió diferencia significativa entre los resultados de los grupos se hizo un análisis de variancias de un solo factor (ANOVA 1 factor) y la comparación entre grupos se hizo a través del método de Tukey con intervalo de confianza de 95%.

5.5 Actividad celular y biocompatibilidad

5.5.1 Análisis de Proliferación Celular y Viabilidad por ensayo de WST-1

El principio de esta prueba de proliferación celular se basa en la ruptura de sales de tetrazolio agregadas al medio de cultivo celular. Las sales de tetrazolio, en este caso el WST-1, son descompuestas a formazan, por actividad enzimática celular. De manera lineal, si hay un aumento en el número de células viables, se espera también un aumento en la actividad mitocondrial de estas, lo que incrementa la cantidad de formazan producido por las deshidrogenasas mitocondriales.

El análisis estadístico de los datos se hizo por medio de ANOVA y una evaluación post-hoc de Bonferroni.

5.5.1.1 Esterilización de especímenes

La fase inicial de esterilización de especímenes fue llevada a cabo en ambiente estéril dentro de campana de flujo de aire laminar. Se colocaron 5 mililitros de solución Etanol 70% y Penicilina/estreptomicina/fungizone a todos los especímenes. Se mantuvieron en la solución esterilizante durante 1 hora.

Luego de transcurrida 1 hora, se removió la solución, y se esterilizaron los especímenes bajo luz UV durante 10 min.

Como último paso de la esterilización, los especímenes se dejaron para la evaporación completa de la solución durante toda la noche.

5.5.1.2 Sembrado celular en especímenes

Se tomaron las bandejas de la incubadora, previamente preparadas con cultivos celulares (fibroblastos de pulpa dental). Se retiró el medio de cultivo de las células a sembrar y se lavaron 2 veces con PBS (Phosphate-buffered saline).

Para separar los fibroblastos se adicionaron 2 mililitros de Tripsina y se incubaron por un máximo de 5 min.

Transcurridos los 5 minutos se monitorearon en el microscopio, buscando que tengan una forma más esférica y no ahusada, que implica la separación de los fibroblastos de la superficie de la bandeja. Se golpeó ligeramente la bandeja con la palma de la mano propiciando desprendimiento mecánico de las células.

Se adicionaron 5 mililitros de Medio Completo (10%SFB+Anti-anti) y se centrifugaron 5 minutos a 5000 rpm. Luego de centrifugar se decantó el medio y se suspendieron las células en 1 mililitro de medio.

Para el conteo celular se utilizó el protocolo de la cámara de Neubauer¹⁰.

Se preparó una solución de 10 000 células/ mililitro y se sembraron (colocación de una gota sobre la superficie del espécimen) sobre muestras de Cention N polimerizado dual y Cention N autopolimerizado. Se sembraron 6 especímenes del material (n=3) en cada una de las tres bandejas para cultivo, para un total de 18 muestras. Se incubaron a 37°C con una concentración del 5% de CO₂ por 1 hora. Como control, se depositaron células en 3 pozos de cada bandeja, donde no se habían colocado muestras del material.

Al pasar 1 hora, se colocaron 600µl de medio de cultivo en todos los pozos. Se llevaron las bandejas de cultivo con las muestras a incubación y se recuperó la primera bandeja a las 24 horas de incubación. Las otras dos bandejas restantes se recuperaron 48 y 72 horas después, respectivamente.

5.5.1.3 Preparación de especímenes para prueba de metabolismo celular por WST-1

Después de 24, 48 o 72 horas según el tiempo de medición, se tomó la bandeja de cultivo celular y las muestras que habían recibido antes el sembrado celular se trasladaron a un nuevo pozo para cada muestra dentro de la misma bandeja de cultivo. Esto para evitar que células no adheridas a las muestras del material den un falso positivo en el conteo.

Con ayuda de una pipeta se tomaron 400µl de cada pozo y se depositaron en el nuevo pozo donde se colocó la muestra del material. En 3 pozos sin muestras, se mantuvieron 600µL como grupo control.

Se usó WST-1 en proporción de 1:10 con respecto al medio de cultivo (40µl para sitios con especímenes y 60µl para sitios control). Se llevó la caja de cultivo a la incubadora a 37°C con una concentración del 5% de CO₂ por 4 horas.

Transcurridas las 4 horas, se recuperó la bandeja y se tomaron 200µl de cada uno de los pozos y se colocaron en una nueva bandeja. Únicamente esta nueva bandeja se llevó al lector de espectrometría. En esta misma bandeja se colocaron los medios de cultivo que se recuperaron en los tiempos de 48, 72.

Al transcurrir el periodo respectivo de incubación, a todas las muestras de cada bandeja se les retiró el medio de cultivo restante, se lavaron con agua bidestilada con ayuda de una pipeta y se fijaron sumergiéndolos en glutaraldehído al 2%.

5.5.1.4 Desecado de los especímenes

Se lavaron con PBS las muestras que habían sido fijadas previamente. Después del PBS, se lavaron de manera seriada, 1 vez durante 5 minutos con etanol al 25%, 50%, 75% y 90%. Finalmente se trataron 2 veces con etanol 100%, 5 minutos cada una de las dos veces.

Al finalizar con la serie de alcoholes, se usó un marcador para señalar el lado donde no hubo células sembradas.

Se colocó cinta adhesiva de doble extremo en una caja de cultivo celular nueva y limpia, y se adhirieron los especímenes listos a ser recubiertos para su análisis en MEB.

Para el análisis estadístico se realizó la evaluación de variancias de un solo factor ANOVA. La comparación entre grupos se hizo a través del método de Bonferroni.

6. Resultados

6.1. Caracterización Nanométrica del material

6.1.1 TGA

El T_0 para el polvo sin mezclar del material Cention N fue $289,58^{\circ}\text{C}$, el del material mezclado autopolimérico $279,77^{\circ}\text{C}$ y mezclado polimerizado dual de $284,21^{\circ}\text{C}$.

Según el análisis del Gráfico 1, se observa diferencia en la variación del porcentaje de la masa perdida de las muestras con respecto al aumento en la temperatura, dependiendo del estado del material. La pérdida porcentual de masa de la muestra del polvo sin mezclar del material restaurador fue menor (8.64%) comparada con la variación del mismo material mezclado auto (20.93%) y polimerizado dual (22.55%). La variación en el porcentaje de masa se comportó de manera similar para ambos métodos de polimerización utilizados. En ausencia de la parte resinosa del material (líquido Cention N) el relleno inorgánico del material (Polvo Cention N) muestra menor pérdida de masa frente al aumento de temperatura.

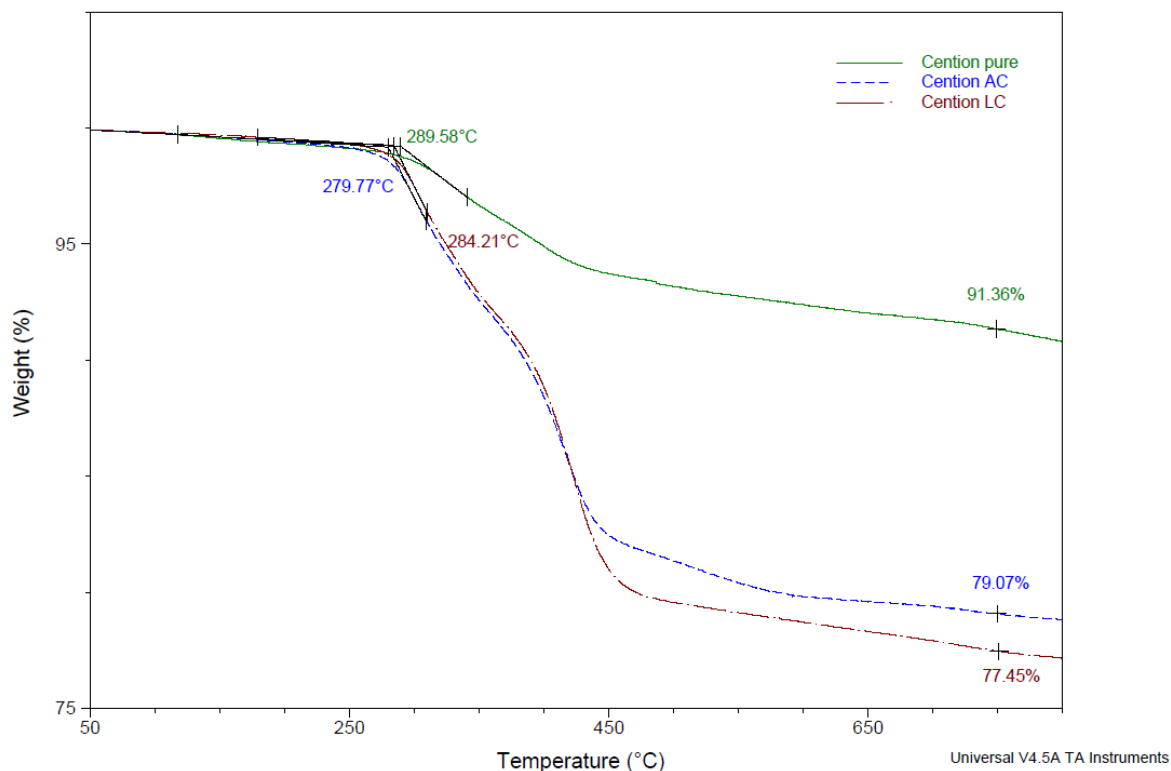


Gráfico 1. Curvas de TGA del material restaurativo puro, mezclado autopolimérico y mezclado polimerizado dual

6.1.2 DSC

Los datos obtenidos del análisis de DSC se reportan en el gráfico 2. Se observa que para ambos métodos de polimerización (Auto y polimerizado dual) el ΔH ; que corresponde al área bajo la curva y a la vez a la energía de la reacción de polimerización, tiende a disminuir con el paso del tiempo desde el momento de la mezcla de los componentes del material.

Para el caso del modo de autopolimerización, la energía de reacción (ΔH) en el tiempo 0 o recién mezclado el material es de 14,65 J/g, con una tendencia a la disminución. En las muestras de autopolimerización con un tiempo de 30 minutos, $\Delta H= 6,099$ J/g y a los 60 minutos $\Delta H = 7,196$ J/g.

En el modo de polimerización dual, la muestra mezclada, polimerizada dual y analizada en el equipo DSC inmediatamente (tiempo 0) el valor de la energía de reacción fue $\Delta H= 10.17$ J/g, valor menor que para la muestra en tiempo 0 en modo de autocurado. En el modo de polimerización dual también se presentó una tendencia a la disminución de ΔH con el paso del tiempo desde el momento de la mezcla de los componentes y su exposición a la luz de polimerización, siendo $\Delta H= 6,498$ J/g a los 30 minutos y $\Delta H=de 8,991$ J/g a los 60 minutos.

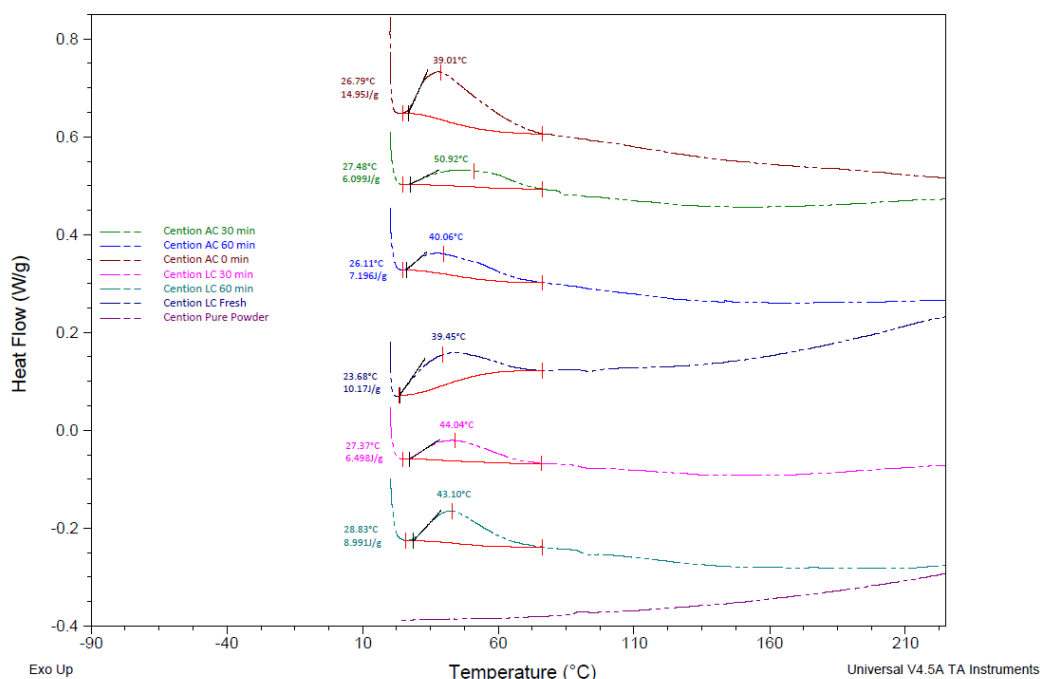


Gráfico 2. Curvas de DSC según método de polimerización a los 0, 30 y 60 min. de la mezcla del material

6.1.3 Microscopía MEB

Las partículas del relleno del material (polvo) observadas a x100, x1000 y x5000 en la Imagen 1, se encuentran entre los valores reportados por el fabricante, 0.1 y 35 μm . Aparecen al análisis cualitativo como una mezcla heterogénea de partículas pseudoesféricas y granos poligonales de mayor tamaño, en disposición de acúmulos o racimos.

Se analizaron muestras de ambos modos, autopolimerizado y polimerizado dual a x100, x1000, x5000, después de 72 horas de mezclados los componentes del material. No se encontraron diferencias en la apariencia general de las muestras según el modo de polimerización. En ambos casos las muestras presentaron apariencia de resina polimerizada de la matriz con presencia de gránulos y partículas de relleno dispersas de manera aleatoria en la fase orgánica del material. Las muestras de autopolimerización mostraron levemente una presencia menor de gránulos de relleno en la superficie.

6.1.4 Análisis EDS

La distribución porcentual del peso relativo de los diferentes elementos presentes en el polvo del material y en el material mezclado y polimerizado por ambos métodos, se muestran en los cuadros N. 2 y N. 3. El elemento presente en el polvo en mayor proporción con respecto al peso de la muestra es el oxígeno con un 41,06%, seguido de bario con 19,74% y silicio con 19.62%. En menores cantidades porcentuales se encontraron en el análisis de EDS carbono con 15,76% y aluminio, en 3.82% del peso porcentual. En el análisis del material mezclado y polimerizado de ambos modos, el elemento presente en mayor proporción es el carbono con un 45,66% para el método de autopolimerizado y de 41,56% para polimerizado dual. En segundo lugar, el oxígeno con 29.65% para autopolimerizado y 37,02% para polimerizado dual. y silicio (19.62%). En menores cantidades porcentuales se registró aluminio con 0.33% en autopolimerizado y níquel con 0.06% en las muestras de polimerizado dual.

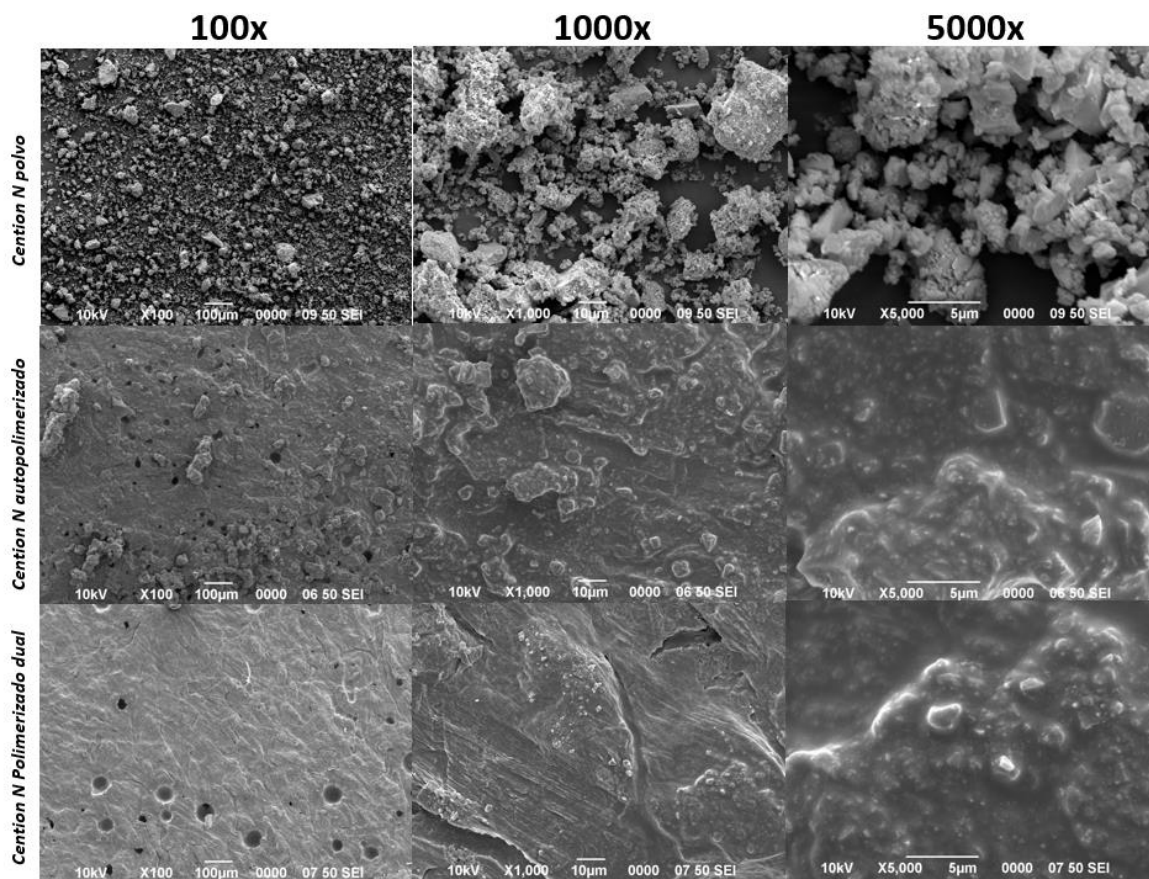


Imagen 1. Imágenes SEM aumentos x100, x1000, x5000 del polvo del material y del material mezclado según el modo de polimerización

Cuadro N. 2: Distribución de peso porcentual por elemento dentro del polvo del material Cention N, según análisis EDS

Elemento	Peso Porcentual (%)
Oxígeno	41,06
Bario	19,74
Silicio	19,62
Carbono	15,76
Aluminio	3,82
Total	100

Cuadro N. 3: Distribución de peso porcentual por elemento según el método de polimerización del material Cention N, según análisis EDS

Elemento	Método de polimerización	
	Autopolimerizado	Polimerizado Dual
	Peso Porcentual (%)	
Carbono	45.56	41.56
Oxígeno	29.65	37.02
Flúor	4.18	7.58
Sodio	0.36	0.16
Silicio	7.967	6.18
Fósforo	0.14	0.06
Calcio	3.46	1.24
Bromo	3.12	3.53
Bario	4.80	2.58
Níquel	0.43	0.06
Aluminio	0.33	0
Total		100

6.2 Grado de conversión según método de polimerización

6.2.1 Análisis de grado de conversión con espectroscopía FTIR

El porcentaje del grado de conversión se calculó partir de los resultados obtenidos de la espectroscopía FTIR y la fórmula descrita en el punto 5.2.1 de la sección de materiales y métodos. Los datos se presentan en el Cuadro N.4, donde se muestra el efecto del tipo de polimerización y del tiempo de reacción en el %GC alcanzado por el material. El valor promedio más alto se registró para el grupo de polimerizado dual, e independientemente, a partir de los 10 minutos transcurridos

de tiempo de reacción.

Cuadro N. 4 Promedio del Porcentaje de grado de conversión (%GC) por modo de polimerización, según el tiempo de reacción desde la mezcla.

% Grado de conversión			
Tiempo de reacción (Minutos)	Tipo de Polimerización		Tukey ($p < 0,05$)
	Polimerizado dual	Autopolimerizado	
1	21,60	3,92	12,58% C
5	42,59	25,49	33,88% B
10	50,00	36,60	42,82% A, B
15	51,85	43,14	47,17% A
20	53,70	45,75	49,46% A
25	56,17	48,37	52,02% A
30	58,02	52,29	54,86% A
Tukey ($p < 0,05$)	47,62% a	36,03% b	

Los factores "Tipo de Polimerización" y "Tiempo de reacción" fueron estadísticamente significativos de manera individual, sin interacción entre ellos. Letras diferentes señalan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Tukey).

6.3. Pruebas mecánicas

6.3.1 Resistencia flexural

En el Cuadro N. 5 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de flexión sobre 3 puntos, registrando el valor promedio la resistencia flexural de cada grupo. La mayor resistencia flexural en promedio, fue para el grupo de polimerización dual con 104,38 (21,98) MPa. El grupo de autopolimerización registró un promedio de 75,92 (21,85) MPa.

Al momento de evaluar la resistencia flexural de los especímenes, en el grupo de polimerización dual, 2 muestras fallaron antes de ser evaluadas en la máquina de pruebas universal.

Cuadro N. 5 Promedio de Resistencia Flexural (MPa) en Prueba de Flexión Sobre 3 Puntos Según el Tipo de Polimerización

Tipo de Polimerización	n	Resistencia Flexural (MPa)	Fallas previas a la prueba
Polimerización dual	28	104,38 (21,98) A	2
Autopolimerización	30	75,92 (21,85) B	0

El factor "Tipo de Polimerización" fue estadísticamente significativo ($p < 0,001$). Letras diferentes señalan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Tukey).

En el Cuadro N. 6 se detallan los valores promedio del Módulo de Elasticidad (E) en GPa para ambos grupos.

6.3.2 Módulo de Elasticidad (E)

Cuadro N. 6 Promedio del Módulo de Elasticidad E (GPa) Según el Tipo de Polimerización

Tipo de Polimerización	(E) GPa
Polimerización dual	2,20 (0,96)
Autopolimerización	2,37 (0,85)

Letras diferentes señalan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Según la prueba estadística de ANOVA de un factor, el modo de polimerización no resultó estadísticamente significativo para los valores obtenidos de Módulo de Elasticidad.

6.4. Resistencia adhesiva

6.4.1 Análisis de resistencia adhesiva mediante prueba de microcizalla

En el Cuadro N. 7 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de microcizalla evaluando la resistencia adhesiva de los especímenes. La mayor resistencia adhesiva en promedio, fue para el grupo de polimerización dual con 17,86 (4,58) MPa. El grupo de autopolimerización registró un promedio de 10,98(1,94) MPa, siendo la diferencia entre estos estadísticamente significativa, según los resultados de pruebas simultáneas de Tukey para la diferencia de las medias ($p= 0,019$) con un IC de 95%.

Al momento de evaluar la resistencia adhesiva de los especímenes, en el grupo de polimerización dual, dos muestras fallaron al ser manipuladas y antes de ser evaluadas en la máquina de pruebas universal. Para el grupo de autopolimerización, esto ocurrió en cuatro muestras. Estas muestras con fallas previas a la prueba no se incluyen en el análisis estadístico.

Cuadro N. 7 Promedio de Resistencia Adhesiva en Prueba de Microcizalla Según el Tipo de Polimerización

Tipo de Polimerización	N	Resistencia Adhesiva (MPa)	Fallas previas
Polimerización dual	11	17,68 (4,58) A	2
Autopolimerización	7	10,98 (1,94) B	4

El factor "Método de Polimerización" fue estadísticamente significativo ($p<0,05$). Letras diferentes señalan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (Tukey).

En el Cuadro N. 8 se detalla la distribución del tipo de falla encontrado al revisar los especímenes una vez efectuada la prueba de microcizalla. La evaluación se hizo con microscopio digital de luz. Se definió como falla adhesiva si se observó una superficie limpia sin rastros del material restaurador en el substrato; como falla cohesiva en dentina si se desprendió parte de tejido dental y permaneció adherido al cilindro de Cention N; y como falla mixta, en el escenario de que hubiera fractura parcial cohesiva combinada con falla adhesiva. Los especímenes que fallaron previo a la prueba de microcizalla no fueron incluidos en el análisis estadístico.

Cuadro N. 8 Distribución Del Tipo De Falla en la Prueba de Microcizalla Según Tipo de Polimerización

Tipo de Polimerización	Tipo de falla		
	Adhesiva	Cohesiva	Mixta
Polimerizado dual	4 (50%)	1 (12.5%)	3 (37.5%)
Autopolimerizado	2 (33.3%)	1 (16.7%)	3 (50%)

Para el grupo de polimerización dual, el tipo de falla que apareció con mayor frecuencia fue la falla adhesiva. En el 50% de los casos hubo separación del cilindro de Cention N de la capa de adhesivo. La falla mixta fue la segunda más frecuente, mostrando fractura combinada en la zona de unión entre el cilindro de Cention N y a capa adhesiva. La menos frecuente fue la falla cohesiva, presente en 1 espécimen, a nivel de falla cohesiva en dentina.

En el caso de los especímenes de autocurado, el 50% de los casos mostraron falla mixta con separación combinada de la capa de adhesivo/dentina y del Cention N/capa adhesiva. Una tercera parte (33.3%) mostró falla adhesiva y al igual que en el grupo de polimerización dual, la menos común fue falla cohesiva en dentina.

Independientemente de los fallos post-microcizalla, al revisar los especímenes con falla previa, de los 2 especímenes en el grupo de polimerización dual, una fue de tipo mixta y la otra adhesiva. Para el grupo de autocurado, todos los 4 especímenes que fallaron antes de ser sometidos a la prueba de microcizalla presentaron falla de tipo adhesiva.

6.5 Biocompatibilidad

6.5.1 Análisis de actividad celular con WST-1

Cuadro N. 9 Valores promedio y Desviaciones Estándar (SD) de Espectrometría de Prueba con WST-1, Según Tipo de Polimerización y Tiempo de Incubación

	24	S. D	48	S. D	72	S. D
Control	0.237	0.007	1.138	0.067	1.124	0.094
Cention N polimerizado dual	0.234	0.003	0.904	0.083	1.037	0.035
Cention N Autopolimerizado	0.241	0.004	0.879	0.066	0.944	0.010

En el Cuadro N. 9 se presenta el promedio de los datos obtenidos por espectrometría con longitud de onda de 450nm para el formazan, usando 630nm como medida de referencia, en intervalos de 24 horas.

Según los resultados, se observa proliferación celular con crecimiento lineal con respecto al tiempo de medición, reportando valores más altos para la absorbancia del formazan en los especímenes medidos a las 72 horas. A partir de los datos obtenidos se confirma la actividad metabólica celular a lo largo del tiempo de medición, relacionable con la existencia de células viables en las bandejas de cultivo, después de estar en contacto con el material Cention N.

En el Gráfico N. 3 se presentan los datos obtenidos al realizar el análisis estadístico. La diferencia entre ambos tipos de polimerización fue estadísticamente significativa en los tres tiempos de medición. Se muestra en las primeras 24 horas una mayor viabilidad celular para el tipo de autopolimerización. Luego, a las 48 y 72 horas una mayor viabilidad celular promedio para el tipo de polimerizado dual.

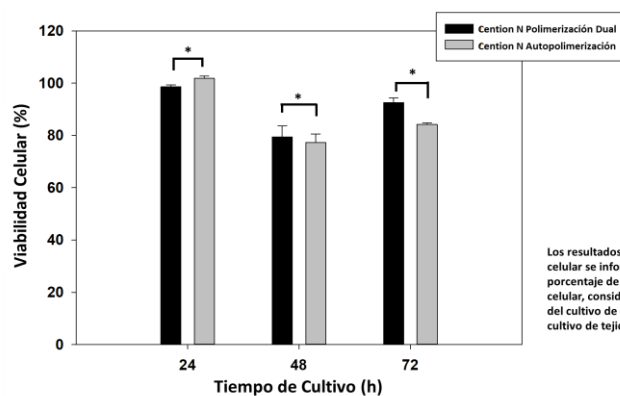


Gráfico N.3 Valores del porcentaje de viabilidad Celular a las 24, 48 y 72 Horas de Cultivo Según el Tipo de Polimerización

Los resultados de la viabilidad celular se informaron como el porcentaje de viabilidad celular, considerando el 100% del cultivo de control (Placa de cultivo de tejidos = TCP)

7. Discusión

7.1 Caracterización nanométrica del material

7.1.1 TGA

El uso de la prueba de TGA permitió analizar el cambio en la masa del material en distintas presentaciones, según el aumento de la temperatura. Además, junto con la caracterización térmica el análisis de TGA permitió descartar la presencia de contaminantes en el material, que aparecerían como variaciones irregulares en la gráfica. El uso de este análisis como medio de detección de impurezas está descrito en la literatura dentro y fuera de la industria de materiales dentales.^{37,38} A partir de los resultados de esta prueba se obtiene que el material polimerizado dual muestra un comportamiento térmico más cercano al comportamiento del material en polvo sin mezclar. Esto permite inferir que el protagonismo de la fase resinosa no polimerizada es menor, puesto que térmicamente se comportó de manera similar al polvo sin componentes resinosos. En cuanto al material autopolimerizado, el *onset point* de esta mezcla se dio a menor temperatura en comparación con el polvo puro, lo que indica que la pérdida de masa a una menor temperatura responde a pérdida de compuestos con menor punto de fusión dentro del material, en este caso a material resinoso no polimerizado. Este comportamiento térmico se puede explicar al tomar en cuenta que, si el material en modo AP muestra un menor grado de polimerización final, los compuestos orgánicos no estabilizados se degradarán y justificarían pérdida de masa en un *onset point* más bajo en comparación con el modo PD. Con respecto a la diferencia de la variación del porcentaje de masa entre las muestras del polvo del material y del material mezclado, se concluye que esta variación es dependiente de la cantidad de monómero resinoso presente en el material mezclado. Al haber mayor polimerización y, por ende, menor cantidad de monómeros resinosos libres en la mezcla, el comportamiento del material mezclado sería más cercano al del polvo del material sin mezclar.

7.1.2 DSC

Para la interpretación de los datos de esta prueba, se parte del hecho que, en sistemas de resinas el pico exotérmico de la gráfica corresponde a la reacción de polimerización del material³². Delta H (ΔH) se obtiene del área bajo este pico normalizado en la gráfica, en valores de Joules por gramo (J/g). Un área menor bajo el pico en la gráfica de un polímero (menor ΔH), representa una menor energía de reacción polimerización, asociada a una mayor polimerización ya sufrida por el material, es decir, al momento del análisis el material tenía menos polimerización por cumplir pues ya presentaba avance de polimerización. Para el caso de este estudio, el análisis de DSC se llevó a cabo con el fin de evaluar la energía de polimerización “restante” después del mezclado del material (autopolimerizado), o después del mezclado y fotopolimerización del material (polimerizado dual). En la primera medición en tiempo 0, se cuantificó un menor ΔH para el caso de polimerización dual (10.17 J/g) comparado con el valor de la muestra de autopolimerizado (14.65J/g). Esto demuestra que el porcentaje de polimerización “restante” en el material mezclado y polimerizado dual es menor que para el caso del material mezclado y autopolimerizado. Este valor es más marcado al inicio de la reacción, con tendencia a la disminución del ΔH para ambos métodos de polimerización con el paso del tiempo. Esta metodología está descrita en la literatura, tanto para la evaluación de la energía de reacción como para la caracterización de materiales dentales resinosos.^{39,30,41}

7.1.3 Microscopía MEB y 7.1.4 Análisis EDS

El análisis cualitativo bajo el microscopio electrónico de barrido (MEB) arrojó imágenes similares para ambos métodos de polimerización del material. Este resultado es esperable después de una espera mayor a 24 horas, antes de que los especímenes fueran llevados al microscopio. Este tiempo permite una mayor polimerización para el modo de autopolimerizado y así una morfología similar para ambos métodos de polimerización. Para futuras investigaciones con MEB se recomienda hacer observaciones en un menor tiempo de polimerización en ambos modos y buscar posibles diferencias en la superficie de las muestras.

En cuanto al análisis EDS del polvo del material, los porcentajes obtenidos de los componentes del material concuerdan con la composición expuesta por el fabricante². El elemento presente en mayor proporción es el oxígeno, en concordancia con su composición principalmente conformada por rellenos minerales para la resistencia y liberación de iones al utilizar el material en la cavidad oral. Al comparar ambos métodos de polimerización en este análisis, se observa que los valores porcentuales de los elementos son muy similares entre sí. Por lo menos con un tiempo de espera de 24 horas antes de llevar los especímenes a ser evaluados, se puede descartar que existan alteraciones elementales dependientes del modo de polimerización. Con respecto a la evidencia disponible en la literatura científica, no existen estudios que evalúen el material mediante EDS, según su modo de polimerización. Existe un trabajo que utiliza el análisis de EDS para evaluar la capacidad de remineralización del material⁴², pero tiene un enfoque distinto al presente trabajo, puesto que no se hace una caracterización del material, sino una evaluación de uno de sus atributos como la remineralización de lesiones cariosas.

7.2. Grado de conversión según método de polimerización

7.2.1 Análisis de grado de conversión con espectroscopía FTIR

Los datos obtenidos del análisis mediante espectroscopía FTIR son similares a los reportados anteriormente por autores con investigaciones en el campo de polimerización de materiales dentales resinosos⁷. Contrario a la convención de utilizar un pico estable invariable como pico de referencia en el cálculo del %DC, en esta investigación se decidió utilizar solamente el pico de interés (1650-1620 cm^{-1}). Esta modalidad de cálculo se encuentra descrita y reportada en otros trabajos⁵. Se justifica no usar un pico de referencia en el espectro FTIR, siempre y cuando la medición del cambio en la polimerización sea hecha en un espécimen de manera dinámica. Es decir, se mide el cambio en la polimerización del material, en determinados tiempos, pero siempre en el mismo espécimen, sin ser retirado del espectrómetro.^{7,31.}

En los resultados obtenidos se puede apreciar como el %GC aumenta con el tiempo de reacción en ambas modalidades de polimerización, así como un mayor %GC final promedio para

los especímenes del tipo de polimerización dual. Se muestra que el modo de polimerización dual alcanzó el 43,08% a los 5 minutos, mientras que el material en modo de autopolimerización llegó a este valor (44.39%) transcurridos 10 minutos. Algunos aspectos únicos de este trabajo que no aparecen en la literatura publicada son la evaluación del %GC en etapas tempranas del proceso de polimerización (0 a 30 minutos desde la mezcla) y la comparación de ambos modos de polimerización en todas las pruebas ejecutadas.

A partir del análisis estadístico en esta sección se determinó que no existía interacción entre las variables "Tipo de Polimerización" y "Tiempo de Reacción". Ambas variables fueron estadísticamente significativas de manera individual, lo que quiere decir que el tipo de polimerización influye en el %GC, siendo este más alto para el tipo de Polimerizado Dual. Además, el otro factor evaluado, Tiempo de Reacción resultó ser también influyente, pues se encontraron diferencias en el % GC del material Cention N dependiente del tiempo de reacción transcurrido en los primeros 15 minutos de reacción. Al no existir interacción significativa entre ambos factores, se descarta que alguna combinación entre tipo de polimerización y tiempo de reacción sea determinante para alcanzar un mayor %GC. Sin embargo, cabe recalcar que el modo de AP requiere de aproximadamente 3 veces el tiempo que requiere el modo PD para alcanzar el 43% de %GC.

Si bien al transcurrir más de 15 minutos desde la mezcla del material no hay diferencia estadística en el %GC según el modo de polimerización, se recomienda que el porcentaje de grado de polimerización no sea tomado como un valor absoluto referente de la resistencia del material, pues según los datos obtenidos en el apartado **3.2 Resistencia Flexural** de este trabajo, los especímenes en modo de autopolimerización, aún 24 horas después de mezclados, presentaron un valor promedio de resistencia flexural estadísticamente menor al valor promedio obtenido por los especímenes de polimerizado dual. Clínicamente si se confía únicamente en el modo de autopolimerización del material, se podría comprometer el éxito de la restauración, pues el material se sometería a cargas funcionales antes de alcanzar el grado de polimerización que se relaciona con una mayor resistencia flexural.

7.3. Pruebas Mecánicas

7.3.1 Resistencia flexural y Módulo de elasticidad

Al analizar los resultados obtenidos en este apartado se concluye que el método de polimerizado dual registra valores más altos de resistencia flexural del material. Esta relación entre el método de polimerización elegido y la resistencia flexural alcanzada por el material es de particular importancia en la práctica clínica. A pesar de las recomendaciones del fabricante¹ de utilizar el material bajo el método de autopolimerizado, los resultados de este trabajo arrojan evidencia clara para concluir que el material bajo el método de polimerizado dual alcanza mayor grado de polimerización y niveles de resistencia flexural significativamente más altos, según la estadística. En términos de práctica clínica, se debe considerar el material Cention N como una resina compuesta, que al ser polimerizado de manera dual alcanza los valores deseables para un tratamiento restaurativo. Al no hacerlo, el material únicamente bajo el método de autopolimerizado alcanza un porcentaje de grado de conversión menor en los primeros 10 minutos, y menor resistencia flexural hasta 24 horas después de mezclado. El módulo de elasticidad no presentó diferencia estadísticamente significativa al ser comparado según el método de polimerización utilizado, por lo que el material presenta una deformación elástica similar sin relación con el modo de polimerización elegido. Los datos obtenidos en esta investigación favorecen el uso del método de polimerizado dual para alcanzar valores más altos en las pruebas mecánicas ejecutadas. Los valores obtenidos en este trabajo se encuentran en el rango de otros reportados en la literatura, con valores desde los 87,27 MPa²² hasta los 172.72 MPa⁵. Sin embargo, en los trabajos encontrados no se evalúa al material bajo la modalidad de auto polimerizado y solamente se les compara con otros materiales restaurativos. Teniendo en cuenta la propuesta del fabricante de este material como sustituto de la amalgama, debe presentar valores de resistencia flexural en el rango de las resinas compuestas, para que su elección como material restaurador tenga justificación desde el punto de vista de beneficio para el paciente. En algunos trabajos reportados en la literatura los valores de resistencia flexural para el material CN se ubican por debajo de la resina compuesta Filtek 350 XT

($248\pm 27\text{MPa}$ vs. $180\pm 20\text{MPa}$)⁹ pero por encima de materiales de presentación polvo-líquido como ionómero de vidrio⁸.

7.4. Resistencia Adhesiva

7.4.1 Análisis de resistencia adhesiva mediante prueba de microcizalla

Al trabajar bajo el método de polimerizado dual, los especímenes reportaron una mayor resistencia adhesiva en la prueba de microcizalla. Es posible que la exposición a la polimerización dual genere un mayor grado de polimerización inmediato del material en la zona de contacto entre este y el adhesivo dental, por lo que se obtiene al final mayor resistencia adhesiva en comparación con la obtenida en el grupo de método de autopolimerizado. En la literatura existen referencias que respalden este principio al evaluar el efecto del método de polimerización en materiales resinosos, como cementos, con modalidades duales de polimerización^{43,44}. Este resultado respalda la recomendación de polimerizar de manera dual el material en condiciones clínicas, puesto que bajo el modo de auto polimerizado la resistencia adhesiva del material podría ser insuficiente durante las primeras horas post operatorias.

Tomando en cuenta el tipo de falla revisado con microscopía digital de luz, la zona con falla más prevalente para ambos métodos de polimerización es entre la capa de adhesivo y el material restaurador, por lo que es de principal importancia trabajar clínicamente con el material en condiciones que favorezcan una adecuada polimerización y aislamiento del campo de trabajo.

7.5 Biocompatibilidad

7.5.1 Análisis de actividad celular con WST-1

Los resultados de la prueba de actividad celular demostraron que en un periodo de 24 a 72 horas los fibroblastos humanos no se vieron afectados al estar en contacto con el material restaurador, bajo ambos tipos de polimerización. Al registrarse actividad celular con el paso del tiempo de incubación se puede descartar que el material presente algún efecto citotóxico directo. Esta prueba es de especial importancia ya que, dependiendo del diseño de la cavidad en una pieza dental, el material podría estar en contacto directo con tejidos gingivales circundantes. De acuerdo

con los resultados de este trabajo, el material no tiene efecto citotóxico, y a las 48 y 72 horas hay mayor actividad celular si el material fue polimerizado de manera dual. Es posible que este resultado se asocie con un mayor grado de polimerización del material que se mantiene estable en el tiempo. Teniendo en cuenta parámetros establecidos en literatura fundamental en evaluación de citotoxicidad,^{11,12} pruebas en los diferentes escalones de la evaluación biológica están aún pendientes para el material Cention N.

8. Conclusiones

Al presentarse el material Cention N como una alternativa a la amalgama, con recomendación opcional de polimerizado dual, surge la necesidad de evaluar comparativamente las propiedades del material bajo ambas modalidades disponibles de polimerización, auto y dual. Puesto que se lanza como un sustituto de la amalgama, se asume que los operadores y operadoras usarán el material en las condiciones más cercanas a en las que se utiliza la amalgama, es decir, sin exposición a polimerización dual. De este análisis surge la pregunta de investigación de este trabajo y se ejecuta una serie de pruebas que sometan a comparación las propiedades del mismo material, bajo ambos métodos de polimerización. De las nueve pruebas ejecutadas en este trabajo, todas arrojaron resultados dependientes del método de polimerización utilizado.

Al exponer el material a polimerización dual, se reduce el tiempo necesario para alcanzar un mayor porcentaje de grado de conversión, se obtiene mayor resistencia flexural, se alcanzan mayores niveles de adhesión a la capa adhesiva y se registra mayor actividad celular en periodos de 48 y 72 horas de incubación.

Por estas razones mencionadas no se debería contemplar el método de polimerización dual como optativo, si no como indicación directa para conseguir un mejor rendimiento del material restaurativo.

9. Referencias bibliográficas

1. Singh J., **Cention N: A Review**, International Journal of Current Research, 2018
2. Todd J., **Cention N Scientific Documentation**, Ivoclar Vivadent Research & Development Scientific Service, 2016
3. Fischer J., Varenne B., Narvaez D., Vickers C., **The Minamata Convention and The Phase Down of Dental Amalgam**, Bull World Health Organ 2018;96:436–438
4. Groenewoud, W. M. **Thermogravimetry**. Characterization of Polymers by Thermal Analysis, 61–76. 2001
5. Ilie N. **Comparative Effect of Self- or Dual-Curing on Polymerization Kinetics and Mechanical Properties in a Novel, Dental-Resin-Based Composite with Alkaline Filler. Running Title: Resin-Composites with Alkaline Fillers**. Materials, 11, 108. 2018
6. Chowdhury D., Guha C., Desai P., **Comparative Evaluation of Fracture Resistance of Dental Amalgam, Z350 Composite Resin and Cention-N Restoration in Class II Cavity** Journal of Dental and Medical Sciences, Volume 17, Issue 4 :52-56, 2018
7. Chole D. **In Vitro Comparison of Flexural Strength of Cention-N, Bulk-Fill Composites, Light-Cure Nanocomposites and Resin-Modified Glass Ionomer Cement**, Journal of Dental and Medical Sciences, 2018
8. Sadananda V., Shetty C., Hegde M., Bhat G.S., **Alkasite Restorative Material: Flexural and Compressive Strength Evaluation**. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences; 9 (5): 2179-2182, 2018
9. Panpisut P., Toneluck A., **Monomer conversion, dimensional stability, biaxial flexural strength, and fluoride release of resin-based restorative material containing alkaline fillers**. Dental Materials, 2020

10. Selvakumaran J., Jell G., **A Guide to Basic Cell Culture and Applications in Biomaterials and Tissue Engineering**, Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering, Woodhead Publishing Series in Biomaterials, 20: 215-226, 2005
11. Vazquez-Vazquez F. **Biocompatibility of Developing 3D-Printed Tubular Scaffold Coated with Nanofibers for Bone Applications**. Journal of Nanomaterials. 2019.
12. Granados-Hernandez M. **In vitro and in vivo biological characterization of poly (lactic acid) fiber scaffolds synthesized by air jet spinning**. Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials. Vol 106B, Issue 6, 2018
13. Hanks C., Wataha J., Sun Z., **In vitro models of biocompatibility: A review**. Dental Materials 12:186-193, 1996
14. Schmalz G., **Concepts in biocompatibility testing of dental restorative materials**. Clinical Oral Investigation 1: 154–162, 1997
15. Murray PE, García-Godoy C, García-Godoy F., **How is the biocompatibility of dental biomaterials evaluated?** Medicina Oral Patologia Oral y Cirugia Bucal; 12: E258-66, 2007
16. Asmussen E., Peutzfeldt A., **Influence of UEDMA, BisGMA and TEGDMA on selected mechanical properties of experimental resin composites**. Dental Materials 14:51–56, 1998
17. Asmussen E., Peutzfeldt A., **Influence of composition on rate of polymerization contraction of lightcuring resin composites** Acta Odontologica Scandinavica 60:146-150, 2002
18. Sadighpour L., Geramipناه F., Raesi B., **In Vitro Mechanical Tests for Modern Dental Ceramics**. Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Vol: 3, No.3, 2006
19. Gonçalves F., Kawano Y., Pfeifer C., Stansbury J., Braga R., **Influence of BisGMA, TEGDMA, and BisEMA contents on viscosity, conversion, and flexural strength of experimental resins and composites** Eur J Oral Sci; 117: 442–446, 2009

20. Al-Ahdala K., Ilie N., Silikasa N, Watts D., **Polymerization kinetics and impact of postpolymerization on the Degree of Conversion of bulk-fill resin-composite at clinically relevant depth.** Dental Materials 31, 1207–1213, 2015
21. Van Ende A., De Munckb J., Lisec D., Van Meerbeek B., **Bulk-Fill Composites: A Review of the Current Literature** Journal of Adhesive Dentistry; 19: 95–109, 2017
22. Hirani R. T, Batra R., Kapoor S., **Comparative Evaluation of Postoperative Sensitivity in Bulk Fill Restoratives: A Randomized Controlled Trial.** Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry, Volume 8, Issue 6, 2018
23. Mazumdar P., Das A., Guha C., **Comparative Evaluation of Hardness of Different Restorative Materials (Restorative Gic, Cention N, Nanohybrid Composite Resin and Silver Amalgam) – An In Vitro Study.** International Journal of Advanced Research. 6(3), 826-832. 2018
24. Mishra A., Singh G., Singh S. K., Agarwal M., Qureshi R., Khurana N., **Comparative Evaluation of Mechanical Properties of Cention N with Conventionally used Restorative Materials—An In Vitro Study** International Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry; 8(4):120-124., 2018
25. Gupta N, Jaiswal S, Nikhil V, Gupta S, Jha P, Bansal P. **Comparison of fluoride ion release and alkalizing potential of a new bulk-fill alkasite.** Journal of Conservative Dentistry; 22:296-9, 2019
26. TiskayaM., Al-eesa N.A., Wong F.S.L, Hill R.G, **Characterization of the bioactivity of two commercial composites.** Dental Materials 35, 1757–1768, 2019
27. Yao C., Ahmed M. H., Zhang F., Mercelis B., Van Landuyt K. L., Huang C., Van Meerbeek B., **Structural/Chemical Characterization and Bond Strength of a New Self-Adhesive Bulk-fill Restorative.** Journal of Adhesive Dentistry; 22: 85–97, 2020
28. Benzler B., **Applications of Differential Scanning Calorimetry to thermosetting materials,** UserCom MetlerToledo; 2: 8-11, 2000

29. Ferracane J.L, Hilton T.J. Stansbury J.W., et al. **Academy of Dental Materials guidance—Resincomposites: Part II—Technique sensitivity (handling, polymerization, dimensional changes)**, Dental Materials; 33: 1171-1191, 2017
30. Rajisha K., Deepa B., Pothan L., Thomas S., **Thermomechanical and Spectroscopic Characterization of Natural Fibre Composites**, Interface Engineering of Natural Fibre Composites for Maximum Performance. Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering, 9: 241-274, 2011
31. Polini A, Yang F., **Physicochemical Characterization of Nanofiber Composites**, Nanofiber Composites for Biomedical Applications, 5: 97-115, 2017
32. Popelka A., Zavahir S., Habib S., **Morphology Analysis**, Polymer Science and Innovative Applications - Materials, Techniques, and Future Developments, 2: 21-68, 2020
33. Sakaguchi R., Powers J., **Restorative Materials—Composites and Polymers**, Craig's Restorative Dental Materials (13va Edición), Mosby, 9: 161-198, 2012
34. Campo A., **Mechanical Properties of Polymeric Materials**, Selection of Polymeric Materials How to Select Design Properties from Different Standards, William Andrew Publishing, 2: 41-101, 2008
35. Albert D., **Methods for Verifying Medical Device Cleanliness**, Developments in Surface Contamination and Cleaning Contamination Sources, Measurement, Validation, and Regulatory Aspects, William Andrew Publishing, 4: 109-128, 2015
36. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, **Cell Viability Assays**. Assay Guidance Manual. Bethesda, 2004
37. Corcione C., Frigione M., **Characterization of Nanocomposites by Thermal Analysis**, Materials, 5, 2960-2980, 2012
38. Acharya A., Greener E., **Thermogravimetric Analysis of Composite Restorative Resins**, Journal of Dental Research. 1363- 1368. 1972

39. Hayakawa T., Takahashi K., Kikutake K., Yokota I., Nemoto K., **Analysis of polymerization behavior of dental dimethacrylate monomers by differential scanning calorimetry**, Journal of Oral Science, Vol. 41, No. 1, 9-13, 1999
40. Lima I., Machado L., Soares J., Rodrigues J., Cabral A., **Thermal behavior of direct resin composites: glass transition temperature and initial degradation analyses**, Rev Odonto Cienc;26(1):50-55, 2011
41. Alarcon R., Gaglieri C., Rossi A., Bannach G., **Use of DSC in degree of conversion of dimethacrylate polymers: easier and faster than MIR technique**, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 132:1423–1427, 2018
42. Theerarath, T., Sriarj, W. **An alkasite restorative material effectively remineralized artificial interproximal enamel caries in vitro**. Clin Oral Invest, 2002.
43. Aguiar TR, de Oliveira M, Arrais CA, Ambrosano GM, Rueggeberg F, Giannini M. **The effect of photopolymerization on the degree of conversion, polymerization kinetic, biaxial flexure strength, and modulus of self-adhesive resin cements**. Journal of Prosthetic Dentistry;113(2):128-34. 2015
44. Di Francescantonio M, Aguiar TR, Arrais CA, Cavalcanti AN, Davanzo CU, Giannini M. **Influence of viscosity and curing mode on degree of conversion of dual-cured resin cements**. European Journal of Dentistry.;7:81-5. 2013