

**EVALUACION DE LA BIOCOMPATIBILIDAD DE RESINA A BASE DE
MONOMEROS BisGMA VS MONOMEROS DE RESINA TIPO BULK FILL**

INVESTIGADOR PRINCIPAL

JAVIER ENRIQUE MENDEZ SILVA

ODONTOLOGO – UNIVERSIDAD DE CARTAGENA

Msc en Genetica – Universidad Simon Bolivar/ Barranquilla

Docente Rehabilitación Oral – Universidad de Cartagena

CO-INVESTIGADORES ESTUDIANTES

MARTIN DANIEL CASTAÑO MOLINA

LUIS CARLOS SALDARRIAGA CARMONA

Estudiantes de X semestre Universidad de Cartagena

ASESORES

JOSE MARIA BUSTILLO ARRIETA

**UNIVERSIDAD DE CARTAGENA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
CARTAGENA – BOLIVAR
2018**

CONTENIDO	Pagina
INTRODUCCION	6
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
2. JUSTIFICACIÓN	11
3. MARCO TEORICO.....	13
3.1 ASPECTOS GENERALES DE LA GENOTOXICIDAD	13
3.2 CANCER ORAL Y BIOMARCADORES	14
3.3 ENSAYO MICRONUCLEOS	15
3.4 ASPECTOS GENERALES DE LAS RESINAS DENTALES	20
3.4.1 Resinas compuestas.....	21
3.4.2 Resinas mono bloque / bulk fill	22
3.4.2.1 Composición	22
3.4.2.2 Profundidad de curado	23
3.4.2.3 Temperatura	23
3.4.2.4 Estabilidad del color.....	24
3.4.2.5 Integridad marginal.	24
3.4.2.6 Propiedades mecánicas	24
3.5 MONOMEROS RESIDUALES	25
3.6 CITOTOXICIDAD DE LAS RESINAS DENTALES	26
4. OBJETIVOS	28
4.1 OBJETIVO GENERAL.....	28
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	28
5. METODOLOGIA PROPUESTA	29
5.1 TIPO DE ESTUDIO	29
5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	29
5.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	29
5.3.1 Criterios de inclusión:	29
5.3.2 Criterios de exclusión	29
5.4 AGRUPACIÓN	30
5.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	30
5.6 RECOLECCIÓN DE DATOS	31

5.7 CONSIDERACIONES LEGALES Y BIOÉTICAS	32
5.8 ANALISIS ESTADISTICO.....	33
6. RESULTADOS.....	34
7. DISCUSION	37
8. CONCLUSIONES	43
9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	44
10. ANEXOS	47
ANEXO A: Consentimiento informado.....	47

LISTA DE TABLAS

Página

Tabla 1. Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos previo a la exposición a resina compuesta Filtek Z350 (3M Corp.).....	34
Tabla 2 . Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos posterior a la exposición a resina compuesta Filtek Z350 (3M Corp.).....	35
Tabla 3. Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos previo a la exposición a resina compuesta Filtek Bulk Fill (3M Corp.).....	35
Tabla 4. Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos posterior a la exposición a resina compuesta Filtek Bulk Fill (3M Corp.).....	36

AGRADECIMIENTOS

A Dios por las oportunidades que nos has brindado de formarnos como personas y profesionales integrales.

A nuestros padres y demás familiares por el apoyo incondicional que nos han brindado a lo largo de nuestra formación académica.

A el Dr. Javier Enrique Méndez Silva, Dr. José María Bustillo Arrieta y demás docentes por el apoyo incondicional que nos ha brindado en el desarrollo de nuestras actividades académicas y en la realización de nuestro proyecto.

A todos los pacientes que participaron voluntariamente y que nos ayudaron en la realización de nuestro proyecto.

INTRODUCCION

Hoy día debido a la gran demanda estética y funcional por parte del paciente que acude a un servicio de atención odontológica, las resinas compuestas o composites se han transformado en uno de los materiales dentales más utilizados para la confección de restauraciones directas, en su aparición hace aproximadamente 50 años revolucionaron la odontología. Esto coincide con la preocupación de los dentistas a nivel mundial sobre la biocompatibilidad de la amalgama de plata, debido que, los vapores de mercurio liberado por ésta, causan alteraciones en los sistemas nervioso, renal o respiratorio. Por lo tanto, unos de los motivos principales para el cambio de este tipo de obturador dental por resinas compuestas de fotocurado era la seguridad biológica.

Este material fue desarrollado por R. L. Bowen en la década del 60, ha presentado grandes avances tecnológicos desde sus inicios, sin embargo, debido a que su endurecimiento en boca se debe a una reacción de polimerización, el material sufre una disminución volumétrica de su tamaño, conocido como contracción de polimerización. Además de esto existen otros factores, como la falta de adhesión química con el tejido dentario, el coeficiente de variación dimensional térmico diferente al diente, y la sensibilidad y complejidad de la técnica restauradora que no han logrado ser eliminados con estos avances. Sin embargo, la

biocompatibilidad a nivel genético de las resinas compuestas o composites no es clara ya que estudios afirman que la acción genotóxica de éstas es causada por liberación de monómeros residuales al medio oral, los cuales surgen de la polimerización incompleta del material generando consecuencias alterando el metabolismo a nivel cromosomal comparables con las que pueden presentar la amalgama de plata. Consecuentemente, la creciente prevalencia de cáncer en la cavidad oral, genera dudas sobre la inocuidad de varios materiales odontológicos de amplio uso en la población.

En la mayoría de los casos, la etiología de esta patología es desconocida, por lo tanto, es necesario una evaluación del daño cromosomal en células del epitelio bucal en contacto con materiales restaurativos como las resinas compuestas para determinar si pueden dar origen a esta u otras enfermedades.

Este estudio realizó una comparación por medio de ensayo micro núcleos a células exfoliadas de mucosa oral en pacientes expuestos a resina Filtek Z350 de 3M ESPE que utiliza monómeros a base de BisGMA y resina Filtek Bulk Fill de 3M ESPE con sus respectivos monómeros innovadores. El objetivo del presente "trabajo de investigación fue evaluar la genotoxicidad causada por los monómeros dentales liberados de las resinas compuestas a base de BIS-GMA y AUDMA de resinas tipo BULK FILL. Es así como esta investigación permite al clínico obtener un criterio biológico al momento de escoger la resina a utilizar.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las resinas compuestas se han introducido en el campo de la Odontología conservadora para minimizar los defectos de las resinas acrílicas que hacia los años 40 habían reemplazado a los cementos de silicato, hasta entonces los únicos materiales estéticos disponibles. En 1955 Buonocore utilizó el ácido ortofosfórico para incrementar la adhesión de las resinas acrílicas en la superficie adamantina¹. En 1962 Bowen desarrolló el monómero del Bis-GMA, tratando de mejorar las propiedades físicas de las resinas acrílicas, cuyos monómeros permitían solamente la formación de polímeros de cadenas lineales². Estos primeros composites de curado químico exigían mezclar la pasta base con el catalizador con los consiguientes problemas derivados de la proporción, batido y estabilidad de color. A partir de 1970 aparecieron los materiales compuestos polimerizados mediante radiaciones electromagnéticas que obviaban la mezcla y sus inconvenientes, se utilizó en los primeros momentos la energía luminosa de una fuente de luz ultravioleta (365 nm), pero ante sus efectos iatrogénicos y su poca profundidad de polimerización, fue sustituida por la luz visible (427-491 nm), actualmente en uso y desarrollo. El desarrollo de los composites ha sido y es incesante, lo que obliga a una continua actualización. La resina Bis-GMA es un monómero epóxico híbrido, relativamente grande, de tipo resina, en el cual los grupos epóxicos se

¹ Ferracane JL. Resin composite--state of the art. Dental materials : official publication of the Academy of Dental Materials.

² Tiba, A laboratory evaluation of bulk-fill versus traditional multi-increment-fill resin-based composites. American Dental Association. The Journal of the American Dental Association

sustituyen con otros metacrilatos. Este compuesto incluye la polimerización rápida, característica del metacrilato y la mínima contracción de polimerización propia de las resinas epóxicas. Casi todos los materiales restaurativos de la resina se basan en la fórmula del Bis-GMA y se diferencian de los selladores en que los materiales restaurativos incluyen partículas de relleno como cuarzo, vidrio, porcelana y algunos partículas de zirconio, para mejorar su resistencia y biocompatibilidad. Con la evolución de los materiales dentales, se han creado diversos tipos de resinas con diferentes características, dentro de ella se creó una resina llamada BULK FILL, que rompe con los métodos tradicionales de aplicación de este material, ya que su aplicación no es en capas delgadas o con la técnica de incrementos, sino en bloques de hasta 4 milímetros provocando con esto una mayor rapidez de aplicación, la mayoría de los fabricantes recomiendan llenar las cavidades a profundidades de hasta 4 mm, aunque algunos sugieren 5 mm es aceptable³. La introducción de un material compuesto con esta profundidad de fotocurado se realiza típicamente mediante la mejora de su translucidez para permitir una penetración más profunda de los fotones de luz suficiente para la activación del sistema de fotoiniciador. Además es importante para las resinas bulk-fill la reducción contracción de polimerización, mayor del material compuesto a incrementos de 4 o 5 mm dentro de la preparación del diente. Varios métodos de estudio como deflexión cuspidea, resistencia a la fractura, módulo de flexión han sido utilizados por los

³ Kim, R. J. Comparison of photopolymerization temperature increases in internal and external positions of composite and tooth cavities in real time: Incremental fillings of microhybrid composite vs. bulk filling of bulk fill composite.

fabricantes para demostrar sus cualidades clínicas. La exposición a los monómeros residuales liberados por las resinas compuestas después del proceso de polimerización como los son BisGMA que contiene Bisfenol A, causa gran preocupación por lo tanto, estudios anteriores advierten de su potencial genotóxico. El principal mecanismo es atribuido al estrés oxidativo que se genera libre y disminución de los niveles de glutatión, agente responsable del balance redox en la célula. Estas alteraciones conllevan a la activación de varias vías de apoptosis celular y retrasos en las fases G1 y G2 del ciclo celular.

Los fabricantes de resinas compuestas de tipo Bulk FILL referencian un cambio en el monómero base de la resina el cual no tiene la misma característica genotoxica que el BisGMA.

¿Teniendo en cuenta las propiedades de los monómeros BisGMA y monómeros AUDMA y AFM de Resinas Bulk Fill, cuál de los dos presenta mayor biocompatibilidad?

2. JUSTIFICACIÓN

Las resinas dentales utilizadas como materiales restauradores en cavitaciones dentales pueden generar daño en el material genético de las células, provocando alteraciones en los tejidos cercanos, como lo es la mucosa oral. Por lo tanto es necesario evaluar sus características genotóxicas para determinar el costo beneficio del uso de estas, aunque en la actualidad no sea claro su riesgo biológico, debido al bajo recurso bibliográfico, que referencia la biocompatibilidad de estos materiales.

En esta investigación se realizaron estudios a través de muestras tomadas a pacientes expuestos a las resinas comparadas, para evaluar aberraciones cromosómicas en los tejidos adyacentes a su ubicación por medio de ensayos micronúcleos, lo cual permite evaluar su biocompatibilidad con el fin de tener un criterio biológico cuando se requiera su uso.

Por lo tanto, en este estudio donde se analizan de manera detallada los componentes de la resina convencional a base de monómero BisGMA, específicamente la Z350 de 3M ESPE obtendremos un criterio para su aplicación clínica y determinar un uso adecuado de ella comparado con otros materiales restaurativos.

Debido al carácter moderno de las resinas de tipo Bulk Fill y los monómeros que utilizan en ellas, las cuales aparecieron en el 2010, lo moderno de sus componentes como lo son fotoiniciadores potencializados que permiten fotocurado de hasta 5 mm de espesor, matriz de relleno con mejoras en traslucidez, se hace necesario evaluar de manera individual y correlacionar su capacidad genotóxica con otro material en el mercado de igual aplicabilidad clínica pero de diferente técnica de manejo y protocolo.

3. MARCO TEORICO

3.1 ASPECTOS GENERALES DE LA GENOTOXICIDAD

La genotoxicidad es la capacidad relativa de un agente de ocasionar daño en el material genético, originando efectos biológicos adversos. El daño inducido en el "material genético" incluye no sólo al ADN, sino también a todos aquellos componentes celulares que se encuentran relacionados con la funcionalidad y comportamiento de los cromosomas dentro de la célula. Ejemplos de esto último son las proteínas que intervienen en la reparación, condensación y descondensación del ADN en los cromosomas u otras estructuras como el huso mitótico, responsable de la distribución de los cromosomas durante la división celular.

Para evaluar el daño causado por los potenciales agentes genotóxicos se hace imprescindible el reconocimiento, caracterización y seguimiento de ese efecto y en distintos niveles de análisis, tarea que le compete a una rama de la ciencia interdisciplinaria, la Genética Toxicológica, que se encarga del monitoreo ambiental y humano en general, por distintos tipos de exposición.

Por lo tanto, la Genética Toxicológica, una rama de la ciencia interdisciplinaria, se encarga de evaluar el daño causado por los potenciales agentes genotóxicos a partir del monitoreo ambiental y humano en general por distintos tipos de exposición

Existen varias formas de evaluar tanto citotoxicidad como genotoxicidad de los materiales dentales, las cuales pueden diferir en metodología, sensibilidad, efectividad y costos, tales como el análisis de intercambio de cromátides hermanas, ensayo de aberración cromosómica y ensayo de micronúcleos, así como la prueba en gel de electroforesis de células individuales o ensayo cometa^{10,12}. En el presente estudio se utilizan dos de estas pruebas: El ensayo de micronúcleos y el gel de electroforesis de células individuales, como se describe más adelante.

3.2 CANCER ORAL Y BIOMARCADORES

El cáncer es una de las enfermedades crónico-degenerativas prevalentes a nivel mundial. La incidencia en el año 2008 fue de 12.7 millones, con una mortalidad de 7.6 millones; de estas cifras, 56% de los casos nuevos de cáncer y 63% de las muertes por esta enfermedad ocurrieron en las regiones menos desarrolladas del mundo ¹¹ y el 30% pudieron prevenirse ¹². Acorde a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el cáncer es la primera causa de mortalidad a nivel mundial, y se reporta que el cáncer de mama ocupa el primer lugar en mujeres, mientras que en hombres es el cáncer de pulmón. Se espera que las muertes por neoplasias malignas alcancen 12 millones de casos para 2030 ¹².

Se postula que el desarrollo del cáncer es el resultado de la acumulación de errores genéticos en un mismo tejido ^{13,14}, donde también se encuentran implicadas la activación de oncogenes y la inactivación de genes supresores de tumores ¹⁵. Estudios estadísticos de aspectos moleculares sugieren que hacen falta entre 6 y 10 alteraciones genéticas, para que se produzca una transformación maligna de la mucosa oral. Existen diferentes tipos de marcadores celulares y tisulares que, desde una perspectiva molecular, pueden proporcionar información adicional a la recopilada en el examen clínico y en el estudio histopatológico.

La determinación de la frecuencia de MN en células exfoliadas de mucosa bucal puede ser de gran utilidad en la prevención y detección oportuna de riesgo de algunos tipos de cáncer. Este biomarcador puede tener gran impacto como un pretamizaje en poblaciones con factores de riesgo para desarrollar cáncer. Esto contribuiría a los programas sociales dirigidos a disminuir la incidencia y mortalidad por cáncer, lo cual impactaría en una reducción del gasto económico en instituciones de salud y en mejorar la calidad y expectativas de vida de las personas con riesgo de desarrollar esta enfermedad.

3.3 ENSAYO MICRONUCLEOS

Los micronúcleos son cuerpos citoplasmáticos de naturaleza nuclear, se corresponden con material genético no incorporado correctamente a las células hijas durante la división celular, reflejan aberraciones cromosómicas y se originan por roturas cromosómicas, por errores durante la replicación y posterior división

celular del ADN y/o por la exposición a agentes genotóxicos. Existen factores capaces de influir o modificar el número de micronúcleos presentes en una célula (edad, género, vitaminas, tratamientos médicos, exposición diaria a agentes genotóxicos, entre otros.)⁹.

La mucosa bucal provee una barrera contra los potenciales carcinógenos que son metabolizados productos reactivos. Cerca del 90% de los cánceres son de origen epitelial, la mucosa bucal puede ser usada para monitorear eventos genotóxicos tempranos como resultado de carcinógenos potenciales que entran al cuerpo por ingestión o inhalación. Células bucales exfoliadas son usadas exitosamente mostrando efectos genotóxicos del tabaco, tratamientos médicos como radioterapia, exposición ocupacional a potenciales mutagénicos y/o químicos carcinogénicos y para estudios de quimio-prevención del cáncer¹⁶.

El origen de un micronúcleo se basa en el hecho de que cualquier fragmento cromosómico que alcance la anafase sin tener un centrómero, no quedara integrado en el núcleo en formación, razón por la cual se condensara como una estructura aparte de este.

Chatterjee *et al* 2009 firman que el test de micronúcleos es un indicador de exposición genotóxica y lo asocian a aberraciones cromosómicas, ya que un incremento en la tasa de mutación en las células escamosas orales está

determinado por un incremento en la frecuencia de micronúcleos relacionado con el desarrollo del carcinoma oral ¹⁰.

El ensayo de micronúcleos se ha usado para las poblaciones de bajo riesgo de detección de agentes mutagénicos que causan neoplasias orales, especialmente para la identificación de los pasos de pre-clínicos del proceso carcinogénico.

El valor del test de micronúcleos como biomarcador radica en su sensibilidad pues su capacidad para detectar daño genético en los primeros estadios del ciclo celular, como la anafase, le confiere un carácter más confiable que el ensayo cometa o la medición de aductos de ADN, los cuales solo nos muestran el daño como tal sin tener en cuenta la capacidad de reproducción del daño de forma hereditaria^{4 5 10, 16}.

El monitoreo del daño genético en las poblaciones expuestas utilizando biomarcadores se vislumbra como una herramienta útil en la prevención de los tumores. Los micronúcleos constituyen uno de los biomarcadores de efecto utilizados para monitorear el daño genético de poblaciones expuestas, ya sea de células epiteliales o de linfocitos. Son núcleos pequeños que se ubican al lado del

⁴ Stang A. Performance of the comet assay in a high-throughput version. *Mutation research*. 2009 Apr 30;675(1-2):5-10.

⁵ Chatterjee S. Cytogenetic monitoring in human oral cancers and other oral pathology: the micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Toxicology mechanisms and methods*. 2009 Sep;19(6-7):427-33.

núcleo celular que indican algún tipo de aberración cromosómica que pudo producirse como efecto de la exposición a agentes ambientales⁶. Las mayores limitaciones que tienen como marcadores de efecto son que no caracterizan la naturaleza del daño nuclear inducido y que existe una considerable variación intra e interindividual ¹⁸.

Mediante el proyecto internacional de micronúcleos en humanos (HUMN_{XL}) se logró realizar un estudio colaborativo en el cual intervinieron varios laboratorios especializados en prueba de micronúcleos, para calibrar y estandarizar el protocolo del ensayo, teniendo en cuenta las múltiples variables ambientales que pueden influir en sus resultados. Con esto se logró estandarizar el protocolo con las técnicas más confiables, lo que le confiere el carácter de biomarcador.

Además, es importante definir los criterios de selección con el propósito de unificar los conceptos al momento de realizar la lectura al microscopio. Estos criterios están destinados para clasificar las células bucales en categorías que distinguen entre las células "normales" y las células que se consideran "anormal" sobre la base de características citológicas y nucleares, que son indicativos de daño en el ADN⁷, insuficiencia o la muerte celular ¹⁹.

⁶ Bonassi S. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. Mutation research. 2002 Mar;511(1):73-86.

⁷ Tolbert PE. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. Mutation research. 1992 Feb;271(1):69-77.

Son definidos con el fin de evitar confundir cuerpos no nucleares., bacterias y gránulos queratohialinos con micronúcleos

- Diámetro entre $1/16$ y $1/3$ del diámetro del núcleo principal.
- No refractarios.
- Intensidad de tinción similar o superior.
- Forma similar
- No conectados ni apareados a los núcleos.
- Igual grado de tinción, tamaño y forma.
- Pueden estar unidos por puentes de cromatina.
- Pueden tocarse pero no solaparse.

3.4 ASPECTOS GENERALES DE LAS RESINAS DENTALES

El desarrollo de las resinas dentales está ligado con la necesidad más que imperiosa de buscar estética a partir de un material polimérico llamado acrílico de uso generalizado en la elaboración de prótesis totales el cual al poseer elevado módulo de elasticidad y alta exotérmica en su reacción química, producía al ser usado como material de obturación, gran percolación marginal así como trauma al paquete vascular y nervioso por elevado calor, lo que llevo a los investigadores a unirlos con materiales inorgánicos como tierras de diatomeas, cuarzo y/o vidrio finamente pulverizados con el fin de bajarles las propiedades anteriormente descritas y que eran a todas luces contraproducentes para la biocompatibilidad del material.

El desarrollo de una molécula de xilano como agente de unión entre el material orgánico (mezcla de resinas acrílicas y epoxicas) y el inorgánico constituidos por vidrios molidos, tierras de diatomea, cuarzo, etc. permitió que este último no se saliera de la matriz orgánica (dejando poros que se rellenaban fácilmente con saliva, haciendo perder rápidamente el color y tomando olor desagradable) dando paso a la primera resina compuesta como material obturador.

Bowen *et al.*¹ utiliza la molécula BIS GMA (bisfenol glicidil metacrilato) como monómero aprovechando su característica bipolar (hidrofílico por un polo e hidrofóbico por el otro) para causar adhesión en sustratos como la dentina que en

su interior tienen agua y de esta manera salen al mercado los sistemas de adhesión.

El inicio de la odontología adhesiva genera en la profesión toda una serie de cambios de gran importancia, promoviendo recambio de amalgamas en boca por 3 razones sustanciales: Conservación del tejido dental pues al tener afinidad a este tejido se evitaba hacer una cavidad más grande con fines de retención mecánica para el antiguo material. Estética por su alta capacidad de mimetización con el color del diente y la supuesta biocompatibilidad del nuevo material.

3.4.1 Resinas compuestas

Las resinas compuestas son usadas para una variedad de aplicaciones en odontología, básicamente están compuestas de una matriz polimérica, que típicamente es un metacrilato, un relleno de refuerzo hecho de vidrio radio opaco, un agente de unión Silano que une la matriz con el relleno y promotores o moduladores de polimerización. El monómero predominante usado en las resinas compuestas comerciales es el bis-GMA el cual posee una alta viscosidad, por lo tanto es mezclado con otros monómeros como TEGDMA y UDMA ¹.

Los monómeros pueden ser considerados el constituyente clave en la resina dental, su grado de conversión es un determinante importante de las fuerzas

físico-mecánicas del polímero resultante. La conversión generalmente no es completa y se acepta que sea baja en las resinas compuestas y en los adhesivos. Aparte de menores fuerzas mecánicas, un bajo grado de conversión resulta en una alta permeabilidad, mayor absorción de agua, mayor microfiltración, mayor liberación de monómeros residuales y por lo tanto menor biocompatibilidad. La polimerización es inhibida por varios factores, tales como la presencia de oxígeno (resultando en la capa inhibida), la presencia de agua proveniente de la dentina, entre otros^{8 17}.

3.4.2 Resinas mono bloque / bulk fill

Es una nueva generación de resinas compuestas que fueron creadas en 2010 con el objetivo de reducir la cantidad de capas colocadas durante el procedimiento de una restauración y el tiempo clínico de trabajo ²⁰.

Su aplicación se indica en una sola capa o mono bloque de 4-5mm para cavidades clase I, II y V de Black; en el mercado se encuentra disponible en: viscosidad baja (fluidas) indicadas para base cavitaria o restauración y viscosidad regular (convencionales) para restauraciones directas ^{21,22}.

3.4.2.1 Composición

⁸ Klaude M. The comet assay: mechanisms and technical considerations. Mutation research. 1996 Jun 12;363(2):89-96.

La composición de las resinas *Bulk Fill* no se diferencia mucho de las resinas compuestas convencionales. La matriz orgánica está compuesta de monómeros como: Bis-GMA, UDMA, TEGDMA, EBPDMA, no obstante en ciertos casos se han adicionado monómeros diferentes o modificados con la finalidad de mejorar sus propiedades ^{20,23,24}.

5.4.2.2 Profundidad de curado

Las modificaciones en la composición del relleno y matriz orgánica ^{20,25,26}, así como la combinación de diferentes foto iniciadores dentro del material como canforoquinonas, óxido de trimetilbenzoil-difenilfosfina(TPO) y el derivado de germanio (Ivocerin) han permitido mejorar la translucidez y profundidad de curado. Al ser estos fotoiniciadores activados a diferentes longitudes de onda se ha modificado las lámparas LED mediante la incorporación de chips con diferentes salidas espectrales para canforoquinonas 430-480nm, TPO 350-435nm e Ivocerin 370-460nm ²⁷.

Esto sugiere que la translucidez podría ser el parámetro principal que controla la eficiencia del curado en profundidad, y a su vez las propiedades mecánicas ^{27,28}.

3.4.2.3 Temperatura

Las resinas *Bulk Fill* muestran valores de temperatura superiores a las resinas convencionales debido a que la reacción exotérmica es proporcional a la cantidad de resina disponible durante la polimerización ²².

3.4.2.4 Estabilidad del color

Factores como la composición y características de las partículas de relleno tienen un impacto significativo en la estabilidad del color. Tornado a las resinas mono bloque más susceptible a cambios en lo color en comparación con las resinas compuestas por presentar una amplia variedad en el relleno ²⁹.

3.4.2.5 Integridad marginal.

La integridad marginal no presenta diferencia en relación a las resinas convencionales; ya que ambas exhiben mayor número de formación de interfaces en esmalte y dentina con respecto a la pulpa ^{23,24}.

La sorción y solubilidad tanto de materiales *Bulk* como convencionales se presenta de manera estable durante el almacenamiento en agua a largo plazo (Biotech Week, 2016).

3.4.2.6 Propiedades mecánicas

Estudios realizados han demostrado que esta nueva generación de resinas presenta una mayor fluidez para una mejor adaptación, mayor resistencia a la

deformación cuspídea debido al reducido estrés de contracción de polimerización lo que permite que presente una mayor resistencia a la fractura 20,24,25.

En cuanto al uso de resinas de relleno fluidas se recomienda la adición de una capa de resina convencional de 2mm en la superficie oclusal con el fin de mejorar las propiedades mecánicas y estéticas ^{20,23,26,28}.

3.5 MONOMEROS RESIDUALES

El Bis-GMA, también llamado la molécula de "Bowen" gracias a quien la diseño, dio cabida a una nueva era de la odontología llamada la era de la adhesión pues esta molécula tiene la particularidad de ser bifuncional, teniendo un polo hidrofóbico con enlaces abiertos para la unión con el material de obturación (resina compuesta) y un polo hidrofílico que le permite interactuar con las estructuras dentales como la dentina en donde se fija a los micro túbulos dentinarios formando adhesión a ellos más allá de que estos contengan agua en su interior. Se utiliza universalmente, no sólo en los adhesivos, sino también en materiales compuesto. Sin curar, el Bis-GMA es muy viscoso. Debido a su alto peso molecular, Bis-GMA proporciona menor contracción de polimerización y endurecimiento rápido y bastante rígido lo cual no es tan bueno desde el punto de vista de la tasa de conversión, favoreciendo la formación de monómero sin polimerizar (monómero residual).

Para contrarrestar este efecto se pueden mezclar con diferentes dimetacrilatos tales como UDMA, EDMA o TEGDMA los cuales pueden ser utilizados como diluyentes, o en caso de presentaciones tipo fluida en el cual la proporción de estos aumenta y disminuye la de BIS GMA. TEGDMA se utiliza generalmente en conjunción con Bis-GMA o UDMA. La mayor flexibilidad de TEGDMA compensa la rigidez de Bis-GMA y la mezcla dará como resultado resinas con más alta tasa de conversión. Además, esto también se demostró que resulta en una mayor resistencia a la tracción, pero reducida resistencia a la flexión del polímero resultante.

3.6 CITOTOXICIDAD DE LAS RESINAS DENTALES

En la operatoria dental la motivación primordial además de la estética que cambió los paradigmas de la práctica clínica en la odontología mundial, fue la falta de seguridad biológica en el uso de la amalgama de plata, fundamentada en los estudios que advertían intoxicación por vapores de mercurio liberados de este material ³, por lo tanto al encontrar en las resinas compuestas la respuesta estética tan anhelada y la supuesta biocompatibilidad requerida se desató una ola mundial que aún hoy sigue en moda, cual es cambiar las obturaciones de amalgamas por resinas compuestas, permitiendo ofrecer seguridad biológica ⁴ y estética, las cuales cada vez tenían mayor auge conforme se desarrollaban mejores propiedades ópticas para estos materiales resinosos ¹.

Estudios productos de nuevas tecnologías ponen en duda la biocompatibilidad de las resinas compuestas pues están hablando de su acción toxica la cual es causada por liberación de monómeros residuales al medio oral, los cuales surgen de la polimerización incompleta de los monómeros (monómeros residuales) causando alteraciones metabólicas en la célula y/o ADN comparables con las que pueden presentar la amalgama de plata ^{5,6}. Inicialmente los estudios in vitro evaluaron la capacidad citotóxica y genotóxica de los monómeros dentales, aunque sus mecanismos no estaban totalmente dilucidados. Varios hallazgos identificaron al dimetacrilato de trietilenglicol co-monómero (TEGDMA) y el 2 hidroxietil metacrilato (HEMA), entre otros, como causantes de alteraciones en el ciclo celular, mediante la inhibición de los niveles de glutatión (GSH) el cual funciona como antioxidante natural protegiendo la célula de los daños causado por especies de óxido reactivas (ROS), quienes pueden activar diferentes vías de apoptosis celular ^{2,6,8}. Además la transformación del daño en el ADN a mutación no suele ser inmediata sino a largo plazo y, en determinadas concentraciones estos monómeros dentales tienen un alto potencial carcinogénico ^{6,7,8}.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la genotoxicidad causada por los monómeros dentales liberados de las resinas compuestas a base de BIS-GMA y AUDMA y AFM de las resinas BULK FILL.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

Evaluar la cantidad de micronúcleos en células exfoliadas expuestas a monómeros AUDMA y AFM de resinas tipo BULK FILL.

Evaluar la cantidad de micronúcleos en células exfoliadas expuestas a monómero BIS GMA de resinas convencionales.

Comparar la cantidad de micronucleos presentados en las células expuestas a monómeros BIS GMA y AUDMA.

5. METODOLOGIA PROPUESTA

5.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó estudio tipo descriptivo, comparativo.

5.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

La población fueron sujetos voluntarios que asistan a la clínica restauradora I de la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena. El tamaño de la muestra fue calculado por tendencia histórica; constituida por 12 muestras, evaluando 12 muestras, 6 expuestas a resina Filtek Z350 de 3M ESPE y 6 muestras expuestas a Filtek Bulk Fill de 3M ESPE, están fueron recogidas 14 días después de las primeras 12 muestras a los pacientes previo a la obturación en resina.

5.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

- 5.3.1 **Criterios de inclusión:** Individuos sanos o con cavitaciones dentales que requieran material obturador de tipo resina sin base intermedia.
- 5.3.2 **Criterios de exclusión:** Individuos con presencia de materiales dentales obturadores, endodonticos o protésicos, Individuos con antecedentes de infecciones bacterianas o virales las últimas cuatro semanas. Individuos con radiaciones de cabeza o cuello, con síndromes, peligros mutagénicos y enfermedades relacionadas con cualquier daño genético, diabetes, anemia o cualquier enfermedad debilitante.

5.4 AGRUPACIÓN

La muestra se dividió en 2 grupos de forma no probabilística por criterio:

Grupo A: con 6 sujetos expuestos a resina Filtek Z350 de 3M ESPE.

Grupo B: con 6 sujetos expuestos a Filtek Bulk Fill de 3M ESPE.

5.5 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

La variable principal: se evaluó la presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos voluntarios, la cual se define como una variable tipo cuantitativa asumiendo un valor numérico y tiene lógica aritmética, presentando un nivel de medición de tipo razón ya que se midió plenamente como se obtuvo.

Nombre	Naturaleza	Escala	Nivel de medición	Unidad de medición
Cantidad de MN	Cuantitativa	Discreta	Razón	Número de MN en células de mucosa oral

5.6 RECOLECCIÓN DE DATOS

Se calibraron dos operadores para la realización de recolección de muestras y demás procedimientos de laboratorio necesarios para la determinación de MN.

Se realizó una encuesta para verificar si los individuos cumplen con los criterios de selección para el estudio, teniendo en cuenta los criterios de inclusión y exclusión.

Se aplicó el consentimiento informado a los participantes seleccionados, con su respectiva firma en el Formato de consentimiento informado para participación en la investigación.

Se coleccionaron las muestras con un cepillo citológico, realizando un frotis suave en mucosa yugal derecha e izquierda de cada paciente. Se introducirá cada muestra en un tubo de eppendorf de 1,5mL, que contenía 2/3 de suero fisiológico, para que no se alterara el equilibrio osmótico de las células y se rotularon respectivamente con la identificación de cada paciente, añadiendo la letra "A" para los sujetos expuestos a resina z350 y "B" para los pacientes expuestos a Bulk Fill, organizándolos en una gradilla y almacenándolos en hielo dentro de un recipiente cerrado y aislado(9). Las muestras fueron transportadas a un laboratorio, donde el material obtenido se centrifugo a 1.500 rpm durante 5 minutos con centrifugadora Humax 5000 y con una micropipeta se succiono la muestra centrifugada, obteniendo de esa forma una alta concentración de células.

Se transfirió el líquido obtenido a un portaobjeto rotulado con la identificación de cada paciente, completándolos con la letra “A” para los pacientes expuestos a resina Z350 y “B” para los pacientes expuestos a Bulk Fill. El extendido de la muestra se fijó con calor y se realizó una tinción con la técnica May Grünwald-Giemsa(10). Luego se visualizaron las células en un microscopio óptico con un aumento de 100x, eliminando la desviación de los rayos de luz y aumentando la eficacia del análisis de MN.

5.7 CONSIDERACIONES LEGALES Y BIOÉTICAS

El presente estudio fue respaldado teniendo en cuenta la reglamentación Bioética que rige en nuestro país de acuerdo a la ley 1374 de 2010 del consejo nacional de bioética, el decreto 1543 de 1997 del ministerio de salud, sobre el manejo de VIH y ETS.

La ley 29 de 1990, que dicta disposiciones para el fomento de la investigación científica y el desarrollo tecnológico. La resolución N° 008430 de 1993, que contiene las normas científicas y técnicas para la investigación en salud y que dicta los aspectos éticos de la investigación en seres humanos (Titulo II, Capítulo 1). Cómo se clasifica, la investigación según el riesgo.

El decreto 132 de 21 de Enero de 2004, que promulga el protocolo de Cartagena sobre seguridad de la biotecnología.

La investigación fue supervisada por el comité de investigaciones de la facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena.

5.8 ANALISIS ESTADISTICO

Se proyecto para el análisis estadístico al recoger los datos de la presencia de micronúcleos en el antes y después de los grupos de individuos expuestos a las resinas evaluadas la prueba T-student pareada, la cual no fue ejecutada debido a la ausencia de micronúcleos reflejando datos sin relevancia estadística.

6. RESULTADOS

El análisis de la presencia de micronúcleos se obtuvo mediante la visualización de las células exfoliadas de la mucosa bucal de los participantes, en donde se observó que aquellos sujetos quienes fueron expuestos a resina compuesta Z350 (3M Corp.) (grupo A), no mostraron presencia (0%) de micronúcleos antes ni después de la exposición a la resina (5). (ver Tabla 1 y 2).

Tabla 1. Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos previo a la exposición a resina compuesta Filtek Z350 (3M Corp.)

Códigos sujetos	Número de MN			Total Porcentaje MN (%)	
	Lámina 1	Lámina 2	Lámina 3		
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0

Tabla 2 . Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos posterior a la exposición a resina compuesta Filtek Z350 (3M Corp.)

Códigos sujetos	Número de MN			Total Porcentaje MN (%)	
	Lámina 1	Lámina 2	Lámina 3		
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0

Así mismo, en las células obtenidas de los participantes expuestos a resina compuesta Filtek Bulk Fill (3M Corp.) (grupo B), no se observó la presencia (0%) de micronúcleos antes ni después de la exposición a la resina (5).(ver Tabla 3 y 4).

Tabla 3. Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos previo a la exposición a resina compuesta Filtek Bulk Fill (3M Corp.)

Códigos sujetos	Número de MN			Total Porcentaje MN (%)	
	Lámina 1	Lámina 2	Lámina 3		
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0

Tabla 4. Presencia de micronúcleos (MN) en células de mucosa oral en sujetos posterior a la exposición a resina compuesta Filtek Bulk Fill (3M Corp.)

Códigos sujetos <i>Micronúcleos</i>	Número de MN			Total Porcentaje MN (%)	
	Lámina 1	Lámina 2	Lámina 3		
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0

7. DISCUSION

Las resinas son materiales restauradores que han poseído un gran auge en la odontología, sin embargo, a pesar de los reportes en la literatura sobre el éxito de este material restaurador, aún existe preocupación sobre la toxicidad intrínseca de los materiales a base de resina compuesta (6). Uno de los mayores problemas con la polimerización de las resinas, es la persistencia y liberación de monómeros libres hacia la cavidad oral, para reducir este efecto negativo, se introdujeron moléculas de bajo peso denominadas 2-Hidroxiethyl metacrilato (HEMA por sus siglas en inglés) y dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA por sus siglas en inglés) (7). Esos monómeros libres reducen los niveles de glutathione, el cual es un radical natural que protege las estructuras celulares del daño causado por especies reactivas de oxígeno, que pueden causar estrés oxidativo y roturas de las dobles cadenas de ADN (8). En adición a HEMA y TEGDMA, la molécula bisfenol glicidil metacrilato (Bis- GMA) que son usados como base en materiales restauradores compuestos, también han sido demostrados en incrementar el número de micronúcleo y roturas de cadenas de DNA (9).

Algunos estudios donde se han evaluado la presencia de aberraciones celulares han demostrado que si producen cambios a nivel celular aunque sus mecanismos no están totalmente claros pero todo esto va depender de una serie de factores que influyen en la liberación de monómeros residuales como lo es la técnica de adhesión la cual juega un papel importante, además va a tener mucha influencia la susceptibilidad genética de cada individuo. Los daños generados a nivel del

material genético no suelen ser inmediatas sino a largo plazo ya que habría que tener en cuenta que estos monómeros residuales requieren un tiempo de exposición prolongado para estar en sangre, luego de esta exposición es que se dan los signos y cambios en el material genético.

Los micronúcleos son estructuras nucleares anormales que aparecen durante la división celular debido a un rompimiento o falta de segregación cromosómica, por lo que su evaluación en células exfoliadas de la mucosa bucal puede constituirse como un biomarcador no invasivo para el cáncer y otras enfermedades. Estudios han evaluado si diferentes aspectos de la salud bucal pueden inducir a la formación de micronúcleos, incluyendo factores como la presencia de enfermedad periodontal, inflamación o la exposición a resinas compuestas, lo cual constituyó el objetivo de investigación del presente estudio (10). Además de los micronúcleos, tolbert describió en 1991 otras aberraciones nucleares que serían indicadores de daño en el ADN tales como alteraciones en la morfología de las células que se producen en el núcleo como cambios en el tamaño, densidad y distribución de la cromatina (16).

Un nuevo tipo de resina compuesta ha emergido, debido a las óptimas características de polimerización en capas de 4- 5 mm de grosor, denominada resina compuesta Bulk-fill (3M Corp). Además de conferir una optimización de tiempo de trabajo al utilizar este tipo de material, debido que reduce el tiempo de maniobra del clínico al poder colocar porciones de 4-5 mm de grosor de resina en la cavidad dentaria sin afectar el grado de polimerización, atribuido al aumento en

su translucidez y al aumento en la dinámica de sus fotoiniciadores (11), otra característica que hace que este material restaurador sea ideal para su uso, es la presencia de dos monómeros de metacrilato nuevos, dimetacrilato aromático (AUDMA por sus siglas en inglés) y monómeros de adición - fragmentación (AFM por sus siglas en inglés), el primero confiriendo una disminución en el estrés de polimerización, y por consiguiente disminución en la contracción sufrida durante este mismo proceso, y el segundo, ayuda a liberar el estrés de polimerización, al fragmentar y formar enlaces cruzados con la cadena de polímero(12), sin afectar este proceso; sin embargo su potencial genotóxico no es ampliamente conocido(13).

Tauböck T. (2017) realizó un estudio experimental in vitro, donde concluyó que en capas de 4 mm de material de resina Bulk- fill (3M Corp), no inducía a efectos genotóxicos relevantes (14), igual que el presente estudio en donde no se evidenciaron micronúcleos correspondientes a signo de daño cromosomal.

Se ha reportado que compuestos con base en resina como adhesivos dentinales con glutaraldehído pueden provocar efectos biológicos con cambios en los mecanismos genéticos, resultando en mutaciones que se han observado in vitro. Otros compuestos como los monómeros de resina Bis-GMA y UDMA han sido candidatos para su observación de posibles efectos mutagénicos, los cuales pueden causar mutaciones (genéticas y aberraciones cromosomales) en células in vitro bajo condiciones fisiológicas (14). La resina Filtek Z350 (3M corp) contiene

Bis-GMA, UDMA, TEGDMA y Bis-EMA, resinas que, como se ha mencionado anteriormente, han sido objeto de estudio para la identificación de alteraciones genéticas.

Manojlovic D (2017) reportó que la molécula de Bis-GMA presentaba un mayor grado de genotoxicidad comparado con otros monómeros(1), similar a lo reportado por Drozd (2011) quien realizó un estudio de genotoxicidad de la molécula Bis-GMA en linfocitos humanos, afirmando su efecto genotóxico al contribuir al daño genético por la rotura severa de la doble cadena de DNA, la cual puede ser responsable del atraso del ciclo celular, específicamente en la fase S(15); sin embargo los resultados obtenidos mediante el presente análisis de la presencia de micronúcleos en las células de la mucosa oral, mostraron la ausencia de estas alteraciones nucleares antes y después de la exposición a la resina Filtek Z350. Esta ausencia de micronúcleos en la muestra estudiada no puede atribuirse únicamente a la interacción de sus componentes con las células de la mucosa oral como principal factor, sino que se deben tener en cuenta limitaciones del estudio, como el control de otras variables que pueden constituirse factores de confusión, un tamaño muestral pequeño y el tiempo en el que estuvieron expuestos los participantes a estos componentes.

Los hallazgos obtenidos en el presente estudio, pueden servir como una línea base o nivel exploratorio de investigación, que permitan introducir la técnica de análisis de micronúcleos en nuestro medio con el fin de evaluar la presencia de

estas alteraciones nucleares en una muestra mayor, con mayor tiempo de observación. Esto acompañado de un control de factores de confusión que permita realizar un análisis comparativo del efecto intrínseco a nivel celular de la exposición a este tipo de resinas en cavidad bucal.

Según la investigación realizada la ausencia global de micronucleos podría estar comprometida a la exposición deficiente de las células exfoliadas de mucosa yugal al monómero BIS-GMA, la resina Z350 de 3M ESPE contiene BIS- GMA junto con otros metracrilatos presentándose en porcentaje mínimo, en consecuencia, la exposición al bisfenol A intrínseco en BIS- GMA es deficiente para generar genotoxicidad lo cual es contrario a otros estudios que referencian este tema. La resina BULK FILK de 3M ESPE no contiene el metracrilato BIS-GMA, por lo tanto, la ausencia de micronucleos se debe a que el tejido bucal no se expuso a bisfenol A, sin embargo, no es viable afirmar su biocompatibilidad debido a la escasa información al respecto.

Debemos tener en cuenta que para el presente estudio solo se referencio la primera toma de exposición en el tiempo a los 14 días de colocada la resina, teniendo como marcador el recambio celular del epitelio oral, sin embargo, la bibliografía anota que una exposición prolongada genera efectos nocivos como los esperados, pero los cuales no fueron encontrados.

Es comprobado que una exposición en pequeñas cantidades, pero prolongada longitudinalmente en tiempo al bisfenol A, presente en BisGMA genera genotoxicidad, al igual que altas concentraciones en poco tiempo.

El estudio realizado utilizó una lámpara de fotocurado de primera generación contrario a la indicada por los fabricantes de resinas Bulk Fill, la cual emite una longitud de onda deficiente para un curado total de los polímeros de esta resina, debido a esto se incrementó el tiempo de exposición en diferentes ángulos para lograr una fotopolimerización completa, este protocolo probablemente genere que el inadecuado manejo de la resina comprometa los resultados del presente estudio.

8. CONCLUSIONES

Concluimos que el presente estudio continúa generando duda con respecto a la biocompatibilidad de la resina dental Z350 de 3M ESPE, la cual contiene BisGMA.

La ausencia del metacrilato BisGMA en la resina dental BULK FILL de 3M ESPE, no certifica su biocompatibilidad, debido a otros componentes del composite, factores del estudio como técnica de adhesión, tamaño de muestra, compromiso del individuo expuesto, tiempo de exposición, entre otros, por lo cual existe duda sobre su capacidad genotóxica.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ferracane JL. Resin composite--state of the art. *Dental materials* : official publication of the Academy of Dental Materials. 2011 Jan;27(1):29-38.
2. Schweikl H, Spagnuolo G, Schmalz G. Genetic and cellular toxicology of dental resin monomers. *Journal of dental research*. 2006 Oct;85(10):870-7.
3. Richardson GM, Wilson R, Allard D, Purtill C, Douma S, Graviere J. Mercury exposure and risks from dental amalgam in the US population, post-2000. *The Science of the total environment*. 2011 Sep 15;409(20):4257-68.
4. Mutter J, Naumann J, Sadaghiani C, Walach H, Drasch G. Amalgam studies: disregarding basic principles of mercury toxicity. *International journal of hygiene and environmental health*. 2004 Sep;207(4):391-7.
5. Di Pietro A, Visalli G, La Maestra S, Micale R, Baluce B, Matarese G, et al. Biomonitoring of DNA damage in peripheral blood lymphocytes of subjects with dental restorative fillings. *Mutation research*. 2008 Feb 29;650(2):115-22.
6. Poplawski T, Pawlowska E, Wisniewska-Jarosinska M, Ksiazek D, Wozniak K, Szczepanska J, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of glycidyl methacrylate. *Chemico-biological interactions*. 2009 Jun 15;180(1):69-78.
7. Pawlowska E, Poplawski T, Ksiazek D, Szczepanska J, Blasiak J. Genotoxicity and cytotoxicity of 2-hydroxyethyl methacrylate. *Mutation research*. 2010 Feb;696(2):122-9.
8. Poplawski T, Loba K, Pawlowska E, Szczepanska J, Blasiak J. Genotoxicity of urethane dimethacrylate, a tooth restoration component. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*. 2010 Apr;24(3):854-62
9. Scarparo RK, Grecca FS, Fachin EV. Analysis of tissue reactions to methacrylate resin-based, epoxy resin-based, and zinc oxide-eugenol endodontic sealers. *Journal of endodontics*. 2009 Feb;35(2):229-32.
10. Chatterjee S, Dhar S, Sengupta B, Ghosh A, De M, Roy S, et al. Cytogenetic monitoring in human oral cancers and other oral pathology: the micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Toxicology mechanisms and methods*. 2009 Sep;19(6-7):427-33.
11. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2010 Dec 15;127(12):2893-917.
12. Ades F, Senterre C, de Azambuja E, Sullivan R, Popescu R, Parent F, et al. Discrepancies in cancer incidence and mortality and its relationship to health expenditure in the 27 European Union member states. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2013 Nov;24(11):2897-902.
13. Kim J, Shin DM, El-Naggar A, Lee JS, Corrales C, Lippman SM, et al. Chromosome polysomy and histological characteristics in oral premalignant lesions. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2001 Apr;10(4):319-25.

14. Joseph BK. Oral cancer: prevention and detection. *Medical principles and practice : international journal of the Kuwait University, Health Science Centre*. 2002;11 Suppl 1:32-5.
15. Sudbo J, Bryne M, Johannessen AC, Kildal W, Danielsen HE, Reith A. Comparison of histological grading and large-scale genomic status (DNA ploidy) as prognostic tools in oral dysplasia. *The Journal of pathology*. 2001 Jul;194(3):303-10.
16. Stang A, Witte I. Performance of the comet assay in a high-throughput version. *Mutation research*. 2009 Apr 30;675(1-2):5-10.
17. Klaude M, Eriksson S, Nygren J, Ahnstrom G. The comet assay: mechanisms and technical considerations. *Mutation research*. 1996 Jun 12;363(2):89-96.
18. Bonassi S, Au WW. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutation research*. 2002 Mar;511(1):73-86.
19. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutation research*. 1992 Feb;271(1):69-77.
20. Rosatto, C., Bicalho, A. A., Veríssimo, C., Bragança, G. Mechanical properties, shrinkage stress, cuspal strain and fracture resistance of molars restored with bulk-fill composites and incremental filling technique. *Journal of Dentistry*. 2015 43(12), 1519-1528.
21. Tiba, A., PhD. Zeller, Gregory G, D.D.S., M.S., Estrich, C. G., & Hong, A. A laboratory evaluation of bulk-fill versus traditional multi-increment-fill resin-based composites. *American Dental Association. The Journal of the American Dental Association*, 2013 144(10), 1182.
22. Kim, R. J., Son, S., Hwang, J., Lee, I., & Seo, D. Comparison of photopolymerization temperature increases in internal and external positions of composite and tooth cavities in real time: Incremental fillings of microhybrid composite vs. bulk filling of bulk fill composite. *Journal of Dentistry*, 2015 43(9), 1093- 1098.
23. Furness, A., Tadros, M. Y., Looney, S. W., & Rueggeberg, F. A. Effect of bulk/incremental fill on internal gap formation of bulk-fill composites. *Journal of Dentistry*, 2014 42(4), 439-449
24. Swapna, M., Koshy, S., Kumar, A., Nanjappa, N., Benjamin, S., & Nainan, M. Comparing marginal microleakage of three bulk fill composites in class II cavities using confocal microscope: An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*, 2015 18(5), 409-413
25. Agarwal, R., Hiremath, H., Agarwal, J., & Garg, A. Evaluation of cervical marginal and internal adaptation using newer bulk fill composites: An in vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*, 2015 18(1), 56-61
26. Leprince, J. G., Palin, W. M., van acker, J., Sabbagh, J., Devaux, J., & Leloup, G. Physico-mechanical characteristics of commercially available bulk-fill composites. *Journal of Dentistry*, 2014 42(8), 993-1000.
27. Li, X., Pongprueksa, P., Van Meerbeek, B., & De Munck, J. Curing profile of bulkfill resin-based composites. *Journal of Dentistry*, 2015 43(6), 664-672.

28. Llie, N., & Stark, K. Curing behaviour of high-viscosity bulk-fill composites. *Journal of Dentistry*, 2014 42(8), 977-985.
29. Shamszadeh, S., Seyedeh, M. S., Hasani, E., Ahmad, N. A., & Panahandeh, N. Color stability of the bulk-fill composite resins with different thickness in response to Coffee/Water immersion. *International Journal of Dentistry*. 2016.
30. Manojlovic d, dramićanin md, miletic v, mitić-ćulafić d, jovanović b, nikolić b. Cytotoxicity and genotoxicity of a low-shrinkage monomer and monoacylphosphine oxide photoinitiator: Comparative analyses of individual toxicity and combination effects in mixtures. *Dental materials*. 2017 apr 30;33(4):454-66.
31. Aysegul kurt, Subutay han altintas, Mustafa volkan kiziltas, Serife evrim tekkeli, Eray metin guler, Abdurrahim kocyigit and aslihan. Evaluation of residual monomer release and toxicity of self-adhesive resin cements usumez5, *Dental materials journal* 2018; 37(1): 40–48
32. Chen Mh. Update on dental nanocomposites. *Journal of dental research*. 2010 jun;89(6):549-60
33. Lee Dh, Lim Bs, Lee Yk, Ahn Sj, Yang Hc. Involvement of oxidative stress in mutagenicity and apoptosis caused by dental resin monomers in cell cultures. *Dental materials*. 2006 dec 31;22(12):1086-92
34. Li Yc, Kuan Yh, Huang Fm, Chang Yc. The role of dna damage and caspase activation in cytotoxicity and genotoxicity of macrophages induced by bisphenol-a-glycidyl dimethacrylate. *International endodontic journal*. 2012 jun 1;45(6):499-507.
35. Bastos-aires D, Azevedo á, De Lurdes Pereira M, Pérez-mongiowi D, Teixeira A. Preliminary study of micronuclei levels in oral exfoliated cells from patients with periodontitis. *Journal of dental sciences*. 2013 jun 30;8(2):200-4.
36. Lassila Lv, Nagas E, Vallittu Pk, Garoushi S. Translucency of flowable bulk-filling composites of various thicknesses. *Chinese journal of dental research*. 2012;15(1):31
37. Miletic V, Pongprueksa V, De Munck J, Brooks Nr, Van Meerbeek B. Miletic V, Pongprueksa P, De Munck J, Brooks Nr, Van Meerbeek B. *Clin oral investig*. 2017 may;21(4):1201-1212.
38. Schweikl H, Schmalz G, Spruss T. The induction of micronuclei in vitro by unpolymerized resin monomers. *Journal of dental research*. 2001 jul;80(7):1615-20.
39. Drozd K, Wysokinski D, Krupa R, Wozniak K. Bisphenol a-glycidyl methacrylate induces a broad spectrum of dna damage in human lymphocytes. *Archives of toxicology*. 2011 nov 1;85(11):1453-61.
40. Torres O, Guadalupe M, Florez N., Ramos M. Procedimientos básicos de la prueba de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. *el residente*. 2013; 8 (1): 4-11

10. ANEXOS

ANEXO A: Consentimiento informado



**Universidad de Cartagena de Colombia
Facultad de odontología- MADEFOUC
UNIVERSIDAD DE CARTAGENA-FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**“BIOCOMPATIBILIDAD DE RESINA A BASE DE MONOMEROS BisGMA VS
MONOMEROS DE RESINA TIPO BULK FILL”.**

Consentimiento informado

Lo invitamos a que usted haga parte de un estudio llamado “biocompatibilidad de resina a base de monómeros BisGMA VS monómeros de resina tipo BULK FILL”. Su decisión de tomar parte en el estudio es enteramente voluntaria. Por favor, lea este formulario de consentimiento informado cuidadosamente y haga cuantas preguntas sea necesario, antes de decidir si quiere participar. Si usted decide participar, podrá abandonar el estudio en cualquier momento sin perder lugar a cualquier beneficio que pueda tener.

Objetivo de estudio.

Evaluar la genotoxicidad causada por los monómeros dentales liberados de las resinas compuestas a base de BIS-GMA Y BULK FILL. Es muy importante realizar este estudio ya que no existen muchas investigaciones que estudien el comportamiento biológico de las resinas dentales evaluando su biocompatibilidad, en especial las resinas modernas de tipo Bulk Fill. Se desconoce de manera individual cuales resinas tienen un mejor comportamiento biológico lo cual permite al operador decidir que resina utilizar para beneficio del individuo expuesto a este material.

Procedimiento del estudio.

Se realizara un frotis suave en mucosa yugal de carrillo con un cepillo citológico anterior a la obturación con resina y otro 14 días posterior a la exposición con resina.

Riesgo.

República de Colombia ministerio de salud resolución N° 008430 de 1993 (4 de octubre de 1993) Por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud CAPITULO 1 DE LOS ASPECTOS ETICOS DE LA INVESTIGACION EN SERES HUMANOS, Artículo 11, aparte B, lo establece como Investigación con riesgo mínimo.

Beneficios.

Sus beneficios en este estudio incluyen recibir información acerca de los materiales de uso para obturación dental.

Derechos.

Usted puede preguntar y solicitar la aclaración a cualquier duda que usted pueda tener acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios y demás asuntos relacionados con este estudio. Además, recibirá información actualizada que se obtenga a lo largo del estudio.

Adicionalmente, usted puede abandonar libremente su participación en el estudio, sin que esto le genere algún tipo de perjuicio en su cuidado odontológico y en el tratamiento que se le deba suministrar.

Confidencialidad

Su confidencialidad será mantenida durante el estudio. Su información del estudio será guardada en formularios para la toma de datos clínicos y para ser procesados y analizados.

Toda otra información será anónima. Nadie podrá obtener esta información sin su permiso y solo ser usada para propósitos investigativos. Una copia de este documento me será dada para que sea guardada por mi o por mi familia.

Si tiene preguntas ahora, por favor, háganos saber. Si tiene preguntas adicionales o desea saber los resultados de este estudio, tiene preguntas sobre sus derechos al estar en el estudio, debe contactar al doctor Javier Méndez Silva, investigadora principal.

Si desea participar después de haber leído este consentimiento por favor lea la siguiente página y firme en la sección correspondiente para autorizar su inclusión en el estudio.

Declaración de aceptación del consentimiento informado del paciente

Yo, voluntariamente acepto participar en el estudio "BIOCOMPATIBILIDAD DE RESINA A BASE DE MONOMEROS BisGMA VS MONOMEROS DE RESINA TIPO BULK FILL."

He leído y entendido el contenido del consentimiento informado y los riesgos ahí descritos. Entiendo que recibiré copia de este consentimiento. Entiendo que me puedo retirar del estudio en cualquier momento. Acepto participar en el estudio.

Nombre del participante _____

C.C. _____

Firma

Fecha ____/____/____

Testigo 1 _____

Firma del Testigo _____

Fecha ____/____/____

Se entrega copia del consentimiento al participante Sí ____ No ____

Nombre del recolector de muestra _____

Firma del recolector de muestra _____