

C I E N C I A

ODONTO lógica

Revista arbitrada
de la Facultad de
Odontología
Universidad del Zulia



Vol. 13. No.1
Enero- Junio 2016

Análisis estructural de las resinas dentales expuestas al incremento controlado de la temperatura. Estudio con fines forenses.

Ana Miriam Pérez P.^{1*}, José L. Ferreira P.², Ángela I. Espina-Ferreira², Ana I.

Ortega-Pertuz².

¹ Especialista en Odontología Operatoria y Estética. Cátedra de Rehabilitación Bucal. Departamento de Rehabilitación Estética y Funcional

² Doctor (a) en Odontología. Área de Odontología Forense, Instituto de Investigaciones. Facultad de Odontología, Universidad del Zulia. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. Correo electrónico: anamiriamperezp@hotmail.com, joseluisfereirapaz@gmail.com, aespinafereira@gmail.com, anitaortegav@gmail.com

Resumen

Introducción: Los dientes y biomateriales odontológicos tienen una alta resistencia ante la acción de factores físicos y químicos. Particularmente, las resinas compuestas resisten temperaturas elevadas y presentan estructuras únicas, por lo cual pueden proporcionar información útil como evidencia, en el proceso de identificación de un cadáver. **Objetivo:** Analizar el comportamiento de las resinas microhíbridas, híbridas y de nanopartículas, ante el incremento controlado de la temperatura, mediante el estudio macroscópico, microscópico y submicroscópico. **Materiales y métodos:** A partir de un total de 45 muestras de resina compuesta se conformaron 3 grupos, cada uno con 15 discos de un tipo de resina en estudio. Luego se obtuvieron 3 subgrupos con 5 muestras en cada uno, correspondientes a la temperatura a la que fueron expuestas (ambiente, 250, 500, 700 y 1000°C) y, para su observación con la lupa digital, al microscopio óptico y al microscopio electrónico de barrido ambiental, respectivamente. **Resultados:** Las resinas compuestas presentaron un comportamiento característico ante el efecto de cada temperatura aplicada. **Conclusiones:** La observación de la fase orgánica al microscopio óptico fue posible empleando el reactivo de Schiff y las resinas compuestas pueden ser identificadas a nivel ultraestructural, después de experimentar la acción de altas temperaturas.

Palabras clave: Identificación en Odontología Forense; resinas compuestas; efectos de altas temperaturas; microscopía óptica; análisis ultramorfométrico.

*Autor para correspondencia: Área de Odontología Forense. Instituto de Investigaciones. Facultad de Odontología, Universidad del Zulia. Calle 65, esquina con Av. 19. Apartado postal 526. Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. Teléfono: 00584146230020.

Structural analysis of dental resins exposed to controlled increment of temperature. Study with forensic purposes.

Abstract

Introduction: Teeth and dental materials have a high chemistry and physical resistance. Particularly, dental composites could stand high temperatures and they have specific structural characteristics, through they are able to contribute to victims identification. **Objective:** To analyze the behavior of three dental composites (microhybrid, hybrid and nanoparticles), which have been exposed to high temperature, throughout macroscopic, microscopic and ultramicroscopic analysis. **Methods and materials:** It was used 45 discs of dental composite, 3 groups were formed and each one conformed by 15 discs of one type of composite. After this, it was divided into 3 subgroups, with 5 discs each, according with the temperature that they were exposed: (environmental, 250, 500, 700 y 1000°C), for their observation it was used the digital magnify glass, the optical microscope and environmental scanning electron microscope. **Results:** All of the three dental composite exhibited special characteristics, and their behavior depended on the temperature applied. **Conclusions:** the organic phase of the composite could be seen throughout the optic microscope, because the used of the Schiff reactive and the dental composites could be identified based on their ultrastructure level, even after to be exposure to high temperature.

Keywords: Identification in Forensic Dentistry; dental composite; effects of high temperatures; optical microscopy; ultramorphometric analysis.

Introducción

Actualmente, en el campo de los biomateriales existe una gran variedad de resinas compuestas, las cuales tienen su aplicación particular en las diferentes especialidades de la Odontología¹. Estos materiales están constituidos por una matriz orgánica (polímero sintético), partículas inorgánicas, un agente de acoplamiento (silano) el cual permite la unión de las partículas en el interior de la matriz orgánica y un fotoiniciador (canforquiona). Entre los principales elementos utilizados como relleno inorgánico están el Cuarzo, Sílice coloidal y un Sílice vídrioso que contiene Bario, Estroncio y Zirconio; estas partículas condicionan algunas propiedades físicas del material como la radiopacidad, la resistencia

a la abrasión, el módulo de elasticidad, el coeficiente de expansión térmica, la contracción de polimerización y la sorción acuosa, entre otras².

Las resinas compuestas han sido clasificadas en base al tamaño de las partículas de relleno de la siguiente manera: resinas de macropartículas, micropartículas, híbridas, microhíbridas, minipartículas, midipartículas y de nanopartículas¹, estas últimas se distribuyen de forma individual o agrupadas en nanoclusters, también conocidos como nanoagregados².

La observación a simple vista de las restauraciones dentales puede proporcionar información acerca de sus características físicas y estructurales particulares, lo que permite identificar los diversos materiales

dentales de restauración utilizados en Odontología³⁻⁶. Sin embargo, mediante el uso de estereomicroscopía y microscopía electrónica, es posible realizar un estudio más detallado de estos materiales, así como de las alteraciones provocadas en ellos por agentes físicos, químicos o fallas estructurales propias de los mismos³⁻⁸.

Por otra parte, el microscopio óptico (MO) es utilizado rutinariamente en los laboratorios de Ciencias Forenses y ha sido empleado en la identificación de los tejidos duros dentales^{9,10}, sin embargo, se desconoce si el mismo puede ser útil en el estudio de la microestructura de las resinas compuestas presentes en la cavidad bucal de víctimas sometidas a agentes externos como el calor. En este sentido, la acción de altas temperaturas sobre los tejidos suele dificultar el proceso de identificación de la víctima, no sólo por la fragilidad de los restos, sino también por la necesidad de preservarlos y poder identificar las características propias de los mismos aún después de quemados¹¹.

Es importante destacar que ante la necesidad de establecer la identidad del cadáver que ha estado expuesto a elevadas temperaturas, el trabajo forense se convierte en un desafío, pues los métodos rutinarios de identificación como el análisis de huellas dactilares o la comparación de fragmentos de restricción de ADN, resultan difíciles o imposibles de aplicar⁸. Se conoce que alrededor de los 500°C se producen cambios en las características físicas de los tejidos dentarios, los cuales se deshidratan, contraen y subsecuentemente se fragmentan, complicando su manejo como evidencia^{3-6,8,10}. Sin embargo, las elevadas temperaturas no destruyen por completo la mayoría de los materiales de restauración odontológica, como en las resinas compuestas, las cuales pueden ser evidentes en casos de explosiones, cremaciones, cuerpos quemados o en avanzado estado de descomposición^{8,12}.

En este sentido, Merlati^{3,4} y Moreno^{5,6} han estudiado el comportamiento de las resinas compuestas utilizadas como material de obturación en dientes humanos

expuestos al incremento controlado de la temperatura, mediante un análisis macroscópico y microscopía electrónica de barrido (MEB), encontrando relación entre los cambios físicos experimentados por el material y el rango de temperatura aplicado. Por su parte, Bush y col.¹² caracterizaron química y estructuralmente resinas dentales mediante el uso de MEB y espectroscopia por difracción de rayos X en especímenes expuestos a 900 °C por 30 min; mientras que en 2008, Bush y col.⁸ en un estudio posterior emplearon la fluorescencia por rayos X para la identificación de resinas utilizadas en la restauración de dientes pertenecientes a cadáveres sometidos a un proceso de cremación rutinaria, con la finalidad de construir una base de datos útil para propósitos forenses.

Considerando lo anteriormente expuesto, esta investigación tuvo como propósito describir los cambios estructurales y ultraestructurales que experimentan las resinas microhíbridas, híbridas y de nanopartículas, después de ser sometidas al incremento controlado de la temperatura, con el fin de establecer la correspondencia entre ésta última y las modificaciones que experimenta el material en estudio, con fines de identificación forense.

Materiales y métodos

Muestra

Se evaluaron tres tipos de resinas compuestas: microhíbrida (Amelogen® Plus. Ultradent Products Inc., South Jordan, UT, USA), híbrida (Filtek™ Z250, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) y nanopartícula (Filtek™ Z350, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) de las cuales fueron confeccionados especímenes en forma de discos, mediante la utilización de moldes de silicona con cavidades en forma circular de 3 mm de profundidad x 3 mm de diámetro, para obtener muestras que presentaran la misma configuración

geométrica, tamaño, diámetro, peso y volumen. Las resinas fueron colocadas, condensadas y polimerizadas en capas incrementales de 1 mm aproximadamente, siguiendo las indicaciones del fabricante. Estos discos se distribuyeron en tres grupos: A) constituido por 15 discos de resina microhíbrida, B) el cual estuvo representado por 15 discos de resina

híbrida y el C) consistente en 15 discos de resina de nanopartículas. A partir de estos grupos se conformaron cinco subgrupos (Tabla 1), integrado cada uno por tres discos, pertenecientes a cada tipo de resina en estudio. Los subgrupos fueron sometidos a un tratamiento térmico (temperatura ambiente o grupo control, 250, 500, 750, 1000 °C) descrito en estudio previo¹³.

Tabla 1. Distribución de la muestra.

Tipo de resina	Temperatura (°C)	Observación lupa digital	Observación al MO	Observación al MEBA
Grupo A	Ambiente	1	1	1
	250	1	1	1
	500	1	1	1
	750	1	1	1
	1000	1	1	1
Grupo B	Ambiente	1	1	1
	250	1	1	1
	500	1	1	1
	750	1	1	1
	1000	1	1	1
Grupo C	Ambiente	1	1	1
	250	1	1	1
	500	1	1	1
	750	1	1	1
	1000	1	1	1
Total		15	15	15

Procedimientos y técnicas

Análisis macroscópico

Los especímenes de los diferentes subgrupos fueron observados con una lupa digital (*Handheld Digital Microscope*, modelo 44300, Celeston, Torrence, CA, USA) y las imágenes obtenidas se analizaron mediante la herramienta Adobe Photoshop versión CS6

para Windows (Adobe System Incorporated, San José, CA, USA). Con la finalidad de realizar el estudio del color, cada imagen fue transformada del sistema RGB original (por su siglas en inglés correspondientes a *red, green, blue*) al sistema CMYK (por sus siglas en inglés que corresponden a los canales *cyan, magenta, yellow, black*). Para ello se seleccionó un área cuadrangular de 130.000 píxeles y con la herramienta Histograma

se obtuvieron las medias de cada canal expresadas en valores de intensidad del pixel, donde 0 expresa el negro y el 255 el blanco, de manera que un tono cuyo valor se aproxime al 0 tendría una mayor saturación. Adicionalmente, se registró la presencia o ausencia de fracturas y el tipo de patrón reticular o longitudinal.

Microscopia Óptica

Un espécimen de cada subgrupo de las muestras sometidas a los diferentes tratamientos térmicos fue procesado siguiendo el método para obtener secciones finas mediante el desgaste progresivo reportado por Ferreira y col.¹³. Una vez obtenidas las láminas, con sus muestras adheridas, las mismas fueron colocadas en un limpiador ultrasónico (Digital Ultrasonic Cleaner, Mod. VGT-2000, Utah, USA) con la finalidad de eliminar restos de polvo, abrasivos y otros contaminantes. Posteriormente, todas las preparaciones fueron teñidas empleando reactivo de Schiff, luego se colocó un cubreobjeto y medio de montaje (sintético) para la protección del corte. Dichas secciones teñidas fueron observadas al MO (DM 1000, Leica Microsystems AG, Wetzlar, Germany), utilizando el objetivo de inmersión (magnificación de 1000 X). Se obtuvieron imágenes digitales a través de una cámara Leica (DFC295, Microsystems AG, Wetzlar, Germany) acoplada al MO, las cuales fueron evaluadas utilizando el programa Leica Application Suite versión 3.3.0 (Leica Microsystems AG, Wetzlar, Germany) con la finalidad de estudiar la distribución y organización estructural de las partículas de relleno de cada resina.

Microscopia Electrónica de Barrido de Tecnología Ambiental (MEBA)

Otro espécimen de cada subgrupo se estudió al MEBA (Quanta™ FEG, FEI Company, Hillsboro, OR, USA). Las imágenes obtenidas se analizaron empleando el programa Image J (National Institute of Health, Bethesda, MD, USA), mediante el

cual se realizó un estudio ultramorfométrico considerando los siguientes indicadores: tamaño de partículas, distancia entre partículas, cantidad de partículas y número de fracturas en el material, los cuales fueron obtenidos a partir de áreas seleccionadas aleatoriamente de una matriz generada a través de la herramienta Cuadrícula.

En el grupo control se determinó el tamaño de las partículas, expresado en unidades de área (μm^2) con la finalidad de obtener un valor de referencia para comparaciones posteriores. En el grupo A, las partículas mostraron un tamaño uniforme de $1,02\mu\text{m}^2$. En el caso de los grupos B y C, se evidenció la presencia de tres tamaños diferentes de partículas a saber: pequeñas, medianas y grandes. En el grupo B las partículas pequeñas presentaron un valor medio $<0,320\mu\text{m}^2$, las medianas $0,320 - 1,50\mu\text{m}^2$ y las grandes $>1,50\text{mm}^2$. Los valores para el grupo C fueron: pequeñas $<2,791\mu\text{m}^2$, medianas $2,791 - 16,593\mu\text{m}^2$ y grandes $>16,593\mu\text{m}^2$.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron procesados mediante el software SPSS versión 15 para Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). Se obtuvo la media de los valores de los tonos del sistema CMYK en las muestras estudiadas. Se realizó un ANOVA con la finalidad de obtener las diferencias de medias entre los valores de las variables ultraestructurales obtenidos para el grupo control de cada resina y los especímenes expuestos a las diferentes temperaturas. El nivel de significancia asumido fue de $p \leq 0,05$.

Resultados

Observaciones macroscópicas

Con relación a la integridad estructural, se observó un patrón de fractura longitudinal en los especímenes del grupo A desde los $250\text{ }^\circ\text{C}$ (Figura 1. a1-

a5). En las muestras sometidas a 500 °C se evidenció la destrucción de las mismas con pérdida del material (Figura 1. a3). A los 750 y 1000 °C se observaron en la superficie de los discos líneas de fracturas similares a las evidenciadas a los 250 °C (Figura 1. a4 y a5). En el grupo B, no fue evidente la presencia de fracturas a los 250 °C (Figura 1. b2), mientras que a los 500, 750 y 1000 °C se observaron fracturas longitudinales (Figura 1. a3-a5). Con respecto al grupo C, se observaron líneas de fractura en forma de arco desde los 250 °C (Figura 1. c2) a los 500 °C donde se pudo constatar la pérdida de material (Figura 1. c3), mientras que a los 750 y 1000 °C las fracturas no fueron evidentes (Figura 1. c4, c5).

tratamientos térmicos mostraron cambios evidentes en el color. En el grupo A, los discos expuestos a 250 °C mostraron un color rosa coral (Figura 1. a2), mientras que entre los 500 y 1000 °C todos los discos presentaron un color blanco tiza (Figura 1. a3, a4 y a5). En el grupo B se observó un color amarillo intenso a los 250 °C (Figura 1. b2), los discos expuestos a 500 °C mostraron un color gris azulado (Figura 1. b3) y entre los 750 y 1000 °C los especímenes presentaron un color blanco tiza (Figura 1. b4 y b5). En el grupo C, las muestras sometidas a los 250 °C adquirieron un color marrón pálido con vetas blancas (Figura 1. c2), a los 500 °C un color azul plomo (Figura 1. c3), en tanto que a los 750 y 1000 °C los discos presentaron un color blanco tiza (Figura 1. c4 y c5).

Los especímenes de las resinas compuestas sometidas a los diferentes

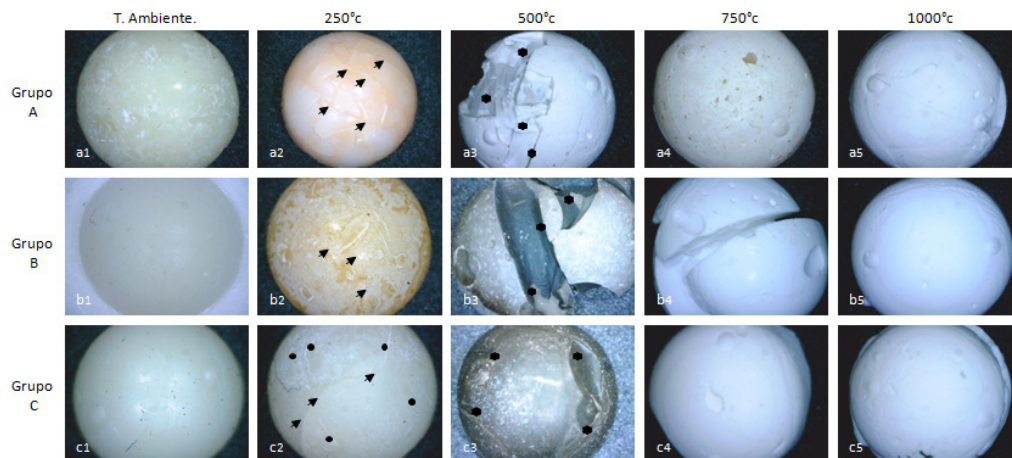


Fig 1. Imagen de baja magnificación de tres tipos de resinas compuestas expuestas al incremento controlado de la temperatura: (a) microhíbridas, (b) híbrida, (c) nanopartículas. A los 250 °C se observaron fisuras y grietas en todas las muestras (puntas de flecha), a los 500 °C se encontraron fracturas con pérdida de material (estrella de seis puntas); a partir de los 750 a 1000 °C las muestras alcanzaron el estadio de calcinación. También fueron notables cambios de color en los especímenes: a los 250 °C la resina microhíbrida mostró un color rosa coral (a2) y desde los 500 a los 1000 °C (a3-a5) adquirió un color blanco tiza. La resina híbrida mostró un color amarillo intenso a los 250 °C (b2), a los 500 °C (b3) un color gris y desde los 750 a los 1000 °C (b4-b5) un color blanco tiza. Las muestras de resina de nanopartículas se tornaron marrón claro con vetas blancas a los 250 °C (c2) (círculos negros), a los 500 °C (c3) se observó un color azul plomo, y de los 750 a los 1000 °C (c4-c5) adquirió un color blanco tiza.

El análisis del color mediante el sistema CMYK, permitió conocer la media del valor de cada una de las tonalidades en los especímenes sometidos al incremento controlado de la temperatura. En relación al grupo A (Figura 2a), pudo observarse que a temperatura ambiente, el tono cian tuvo un predominio, lo que fue evidente al presentar un valor medio en la escala, mientras que los demás canales mostraron valores en el extremo de la misma; a los 250 °C los canales del cian, magenta y amarillo presentaron valores semejantes y estuvieron localizados en el extremo superior de la escala, mientras que a los 500 y 1000 °C se observó un predominio del tono cian.

En el grupo B (Figura 2b), los especímenes del grupo control mostraron un predominio del tono cian, a los 250 °C las muestras presentaron un predominio de los tonos amarillo y cian; en los discos expuestos a 500 °C se observó una mayor intensidad de los tonos cian y magenta, mientras que a los 750 y 1000 °C los especímenes evidenciaron principalmente un predominio del tono cian. En el grupo C (Figura 2c), las muestras del grupo control presentaron un predominio del tono cian, cuando se aplicaron los 250 °C, los especímenes mostraron mayor saturación de los tonos cian y magenta, en tanto que entre los 500 y 1000 °C los discos mostraron un predominio del tono cian.

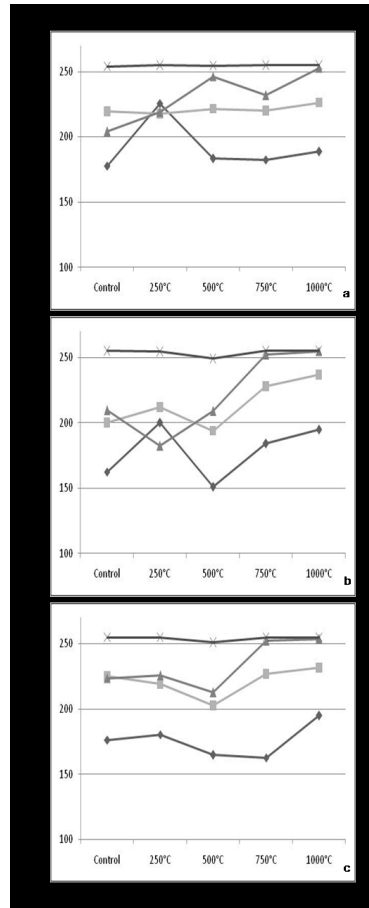


Fig 2. Valores de intensidad del pixel en el sistema CMYK, de las imágenes correspondientes a las tres resinas compuestas expuestas al incremento controlado de la temperatura. 2a) Resina microhíbrida, 2b) Resina híbrida, 2c) Resina de nanopartículas. ◇ Cian; □ Magenta; Δ Amarillo; X Negro

Observaciones al MO

La observación al MO permitió evaluar la estructura cristalina de las resinas compuestas aún después de ser sometidas a las altas temperaturas. Las mismas conservaron su aspecto característico es decir, las partículas inorgánicas en el interior de una matriz orgánica. Asimismo, fue posible evidenciar el daño estructural del material, el cual varió de acuerdo al tratamiento térmico aplicado. A partir de los 250 °C, se observaron cambios

estructurales en las resinas evaluadas, siendo que por encima de los 500 °C fue notable la presencia de fracturas y pérdida de la integridad del material, en cuanto que a los 750 y 1000 °C tales fracturas no fueron evidentes en las tres resinas estudiadas debido a la limitación de la resolución del microscopio de luz. La tinción empleada en la preparación de los especímenes permitió distinguir la fase orgánica de la inorgánica y de esta manera, identificar el tipo de resina a lo largo de la curva de temperatura (Figura 3).

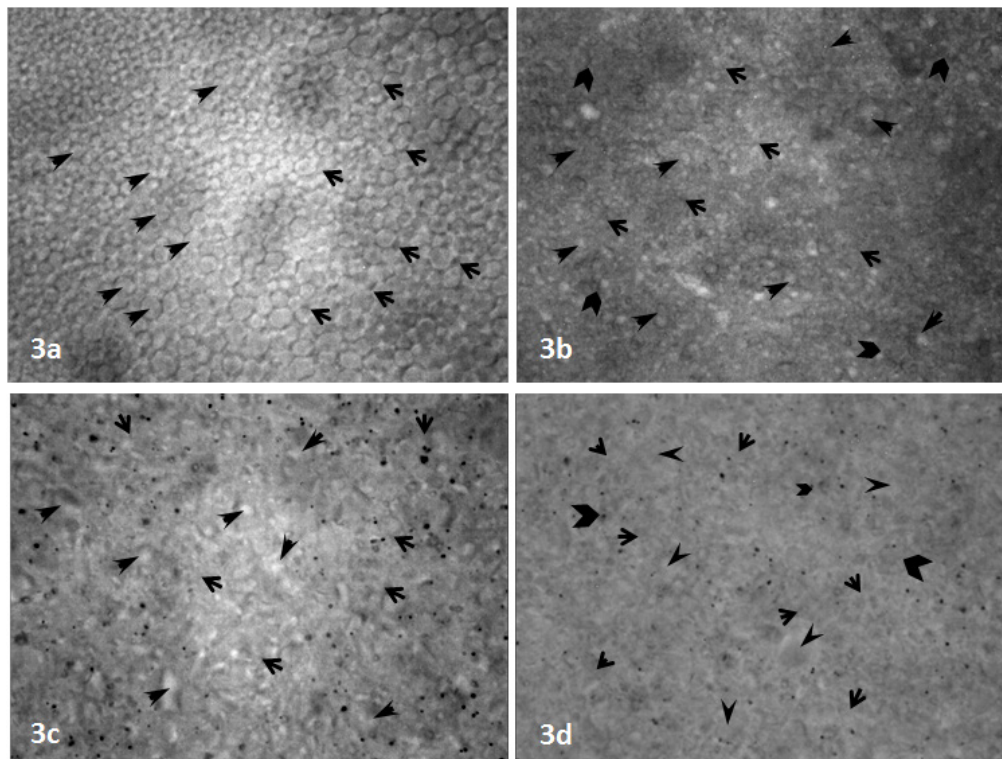


Fig 3. Microfotografías de muestras de resinas compuestas sometidas al incremento controlado de la temperatura. 3a) Resina híbrida a temperatura ambiente, donde se observa la matriz orgánica y la fase inorgánica. 3b) Resina híbrida después del tratamiento térmico a 750 °C, donde es notable la conservación de su microestructura. 3c) Resina de nanopartículas a temperatura ambiente con su estructura característica. 3d) Resina de nanopartículas sometida a 1000 °C donde aún es posible observar los clusters que la conforman. Matriz orgánica (flecha), Fase inorgánica (punta de flecha), Fallas estructurales (cheurón). Tinción con Ácido Peryódico de Schiff. (1000X).

Observaciones al MEBA

En la Tabla 2 se presentan las medias de las variables ultraestructurales obtenidas de los materiales estudiados sometidos al incremento controlado de la temperatura

y los resultados de un ANOVA, donde se expresan las diferencias de estos valores con los observados en el grupo control. En la Figura 4, se muestran imágenes del MEBA de tres resinas compuestas sometidas a la acción de las altas temperaturas.

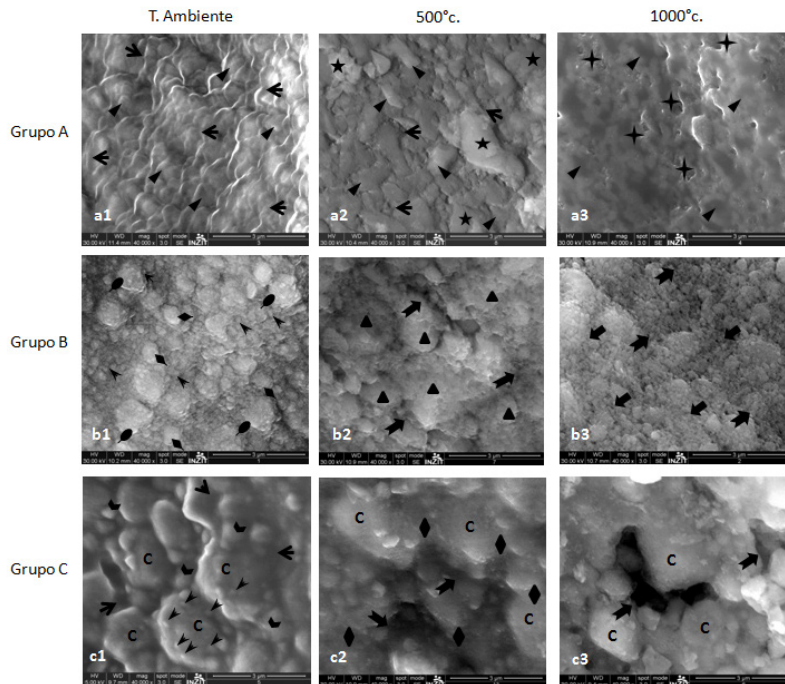


Fig 4. Micrografías de tres resinas compuestas: Grupo A (Microhíbrida), Grupo B (Híbrida) y Grupo C (Nanopartícula) sometidas a elevadas temperaturas. a1) Temperatura ambiente: se observa matriz orgánica (flecha) e inorgánica (punta de flecha). Las partículas inorgánicas están envueltas por la matriz orgánica. Se observa que estas partículas presentan forma y distribución uniforme. a2) 500 OC: se nota la presencia de las partículas inorgánicas de diferente forma y tamaño en relación con el control. Muestra un estadio inicial de redistribución de la matriz inorgánica. En los intersticios entre partículas se observan restos de la matriz orgánica (flecha). a3) 1000 °C: la resina perdió la conformación estructural original mostrando una apariencia de masa, formada por la fusión de las partículas inorgánicas (punta de flecha) con espacios (estrella de cuatro puntas) repartidos aleatoriamente. b1) Temperatura ambiente: se observa la conformación estructural característica de la resina híbrida, donde se muestran los tres tamaños de partículas: pequeñas (punta de flecha), mediana (rombo) y grande (óvalo), de formas y bordes redondeados y lisos, embebidas en una pequeña cantidad de material orgánico. b2) 500 OC: las partículas inorgánicas pierden su forma redondeada característica (triángulo). Es notable la ausencia de la matriz orgánica en gran proporción. Se forman fallas estructurales con forma de grietas (flecha con muesca). b3) 1000 OC: se observa la consolidación de todas las partículas inorgánicas grandes, medianas y pequeñas (flecha). No se observa la matriz orgánica. En general, se visualizan más compactas las fallas estructurales (flecha con muesca) que a los 500 OC. c1) Temperatura ambiente: se observa la matriz inorgánica constituida por los clusters (C) característicos de este material, así como partículas medianas (cheurón) y nanométricas (punta de flecha). Es posible apreciar que las partículas inorgánicas están embebidas en la matriz orgánica (flecha). c2) 500 OC: se visualiza la unión de los clusters (C) entre sí (rombo), aunque mantienen su forma y tamaño. Hay presencia de fallas estructurales (flecha con muesca). c3) 1000 OC: los clusters (C) están fusionados formando grandes masas de material inorgánico. Fallas estructurales (flecha con muesca). (40.000 X)

Tabla 2. Medias y desviaciones estándar (DE) de las variables ultraestructurales de las resinas compuestas estudiadas sometidas al incremento controlado de la temperatura.

Resina	Temperatura (°C)	Tamaño de partícula (µm ³)						Cantidad de Partículas Por área (10 µm ²)						Distancia entre partículas (µm)		Fallas estructurales (10 µm ²)	
		Pequeña		Mediana		Grande		Pequeñas		Mediana		Grande		Media	DE	Media	DE
		Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE				
Grupo A Microhíbrida	Control	-	-	1,027	0,221	-	-	-	-	11,667	1,861	-	-	0,248	0,038	2,338	1,866
	250	-	-	0,687	0,182	-	-	-	-	15,838	2,065	-	-	0,202	0,061	4,000	0,894
	500	-	-	1,088	1,082	-	-	-	-	42,00*	8,224	-	-	0,267*	0,328	39,333*	7,229
	750	-	-	0,256*	0,170	-	-	-	-	82,667*	7,284	-	-	0,118*	0,057	29,333*	4,501
	1000	-	-	0,282*	0,066	-	-	-	-	12,667	1,032	-	-	0,147	0,035	6,000	3,224
Grupo B Híbrida	Control	0,101	0,012	0,796*	0,587	3,254	0,69641	21,667	11,2526	7,00	8,57	0,838	0,2582	0,261	0,057	1,167	0,688
	250	0,081*	0,005	0,603*	0,106	1,066*	0,09476	70,000*	5,8652	2,00*	0,894	0,500	0,000	0,084*	0,010	10,00*	4,980
	500	0,051*	0,007	0,686*	0,028	2,197*	0,28437	70,333*	12,011	9,00	2,866	0,667	0,2582	0,089*	0,022	17,66*	5,465
	750	0,028*	0,008	0,894*	0,056	1,936*	0,4800	74,000*	18,482	9,67	2,875	1,167	0,6881	0,165*	0,018	10,00*	4,038
	1000	0,038*	0,005	0,681*	0,117	2,421*	0,4069	56,333*	6,3456	7,67	2,875	1,333*	0,5164	0,143*	0,032	6,000	1,788
Grupo C Nanopartículas	Control	1,125	0,862	8,428	2,217	28,471	5,9254	5,667	1,0328	0,888	0,258	0,667	0,258	0,338	0,068	0,838	0,258
	250	0,824*	0,112	5,384*	2,078	16,656*	0,0000	5,338	1,0328	1,000	0,000	0,500	0,000	0,270	0,069	0,500	0,000
	500	1,878	0,128	4,218*	0,179	25,526	8,1656	8,333*	0,5164	1,500*	0,774	0,667	0,258	0,339	0,064	1,000	0,000
	750	1,058	0,278	6,195*	1,199	27,000	0,0000	2,333*	1,8668	1,000	0,000	0,500	0,000	0,295	0,080	1,338	0,516
	1000	1,428*	0,349	5,157*	0,938	25,487	4,8508	3,333*	2,0656	1,000	0,000	0,838	0,248	0,417*	0,065	2,000*	1,549

*Test de ANOVA. Nivel de significancia: $p \leq 0,05$

Tamaño de partículas: se observó que la media del área de las partículas del grupo A disminuyó de tamaño, con excepción del subgrupo de 500 °C en donde se evidenció un aumento, la diferencia fue estadísticamente significativa a los 750 y 1000 °C. En las partículas pequeñas, medianas y grandes del grupo B se observó una disminución del tamaño en todas las temperaturas estudiadas, siendo estas diferencias estadísticamente significativas. En el grupo C las partículas pequeñas mostraron resultados variables y se observaron diferencias significativas a los 250 y 1000 °C, en relación a las partículas medianas se observó una tendencia a disminuir de tamaño, siendo esta diferencia estadísticamente significativa en todas las temperaturas, para las partículas grandes se evidenció la misma tendencia de las medianas, pero solo se observó una diferencia significativa a los 250 °C.

Cantidad de partículas por área: en el grupo A hubo un incremento en la cantidad de partículas por área en todas las temperaturas, evidenciándose una diferencia

significativa con los valores observados en el grupo control a los 500 y 750 °C. En el grupo B, las partículas pequeñas mostraron un aumento en todas las temperaturas, siendo esto estadísticamente significativo en relación al grupo control, en las partículas medianas también se evidenció una tendencia al aumento, a excepción del grupo de 250 °C, siendo esto estadísticamente significativo. En las partículas grandes se evidenció un aumento a los 750 y 1000 °C, pero solo fue significativo en esta última temperatura. En el grupo C las partículas pequeñas mostraron una disminución en su cantidad con relación al grupo control, lo que fue significativo para los grupos de 500 a 1000 °C, en las partículas medianas se evidenció una tendencia al aumento y solo fue significativo a los 500 °C, siendo que en las partículas grandes los resultados fueron variables.

Distancia entre partículas: en el grupo A se observó un aumento significativo de dicha distancia a los 500 °C y una disminución significativa en los especímenes

expuestos a 750 °C. En el grupo B se pudo constatar una disminución en todas las temperaturas estudiadas, siendo ésta diferencia estadísticamente significativa al comparar estos valores con los del grupo control. En el grupo C se evidenció un aumento significativo de la distancia entre partículas a los 1000 °C.

Cantidad de fallas estructurales: en los grupos A y B se observó una tendencia al aumento del número de fracturas, en este último grupo se evidenció una diferencia estadísticamente significativa entre los 250 y 750 °C. En el grupo C hubo una tendencia al aumento, siendo esto estadísticamente significativo a los 1000 °C.

Discusión

Cada una de las resinas compuestas evaluadas en esta investigación, presentaron comportamientos característicos de acuerdo a la temperatura aplicada. Con respecto a la integridad del material se evidenció daño estructural a partir de los 250 °C, siendo notoria la presencia de fracturas en todas las resinas a los 500 °C. En concordancia con estos resultados Moreno y col.^{5,6} reportaron en su investigación que la resina estudiada presentó una desadaptación marginal a los 200 °C y grietas a los 600 °C. En relación a los patrones de fractura observados, se pudo constatar que a mayor temperatura el patrón tiende a ser longitudinal, con la fragmentación del espécimen. En particular, los discos del Grupo C mostraron un patrón de fractura combinado (longitudinal y reticular) visible desde los 250 °C, y en este sentido debe considerarse si la composición química de la matriz orgánica y de las partículas inorgánicas, así como la distribución de estas últimas pueden influir sobre la propagación de la fractura en la resina.

Uno de los cambios más evidentes en las resinas compuestas de este estudio, fue la variación del color de acuerdo al tratamiento térmico aplicado, en coincidencia con lo

observado por Merlati y col.^{3,4} y Moreno y col.^{5,6}, lo cual podría estar relacionado con el nivel de carbonización e incineración del material. Asimismo, se observó que los tipos de resina presentaron tonalidades distintas en el mismo rango de temperatura, hecho que pudiera explicarse no sólo por la composición química de la matriz orgánica de cada material, sino también debido a la combinación particular del relleno inorgánico que las hace más o menos susceptibles al efecto del calor. Por otro lado, el estudio de los canales del sistema CMYK permitió una aproximación cuantitativa al análisis del color, que intentó explicar la apariencia del material mediante la valoración del predominio del tono observado. Aquí fue notable que cuando macroscópicamente el aspecto de la resina fue descrito como “blanco” se observara un predominio del cian.

En los estudios al MO, la correcta preparación de la muestra es fundamental para lograr resultados confiables, particularmente, en los casos de materiales no biológicos se debe considerar la dureza del espécimen y su relación con el medio de inclusión. Generalmente, los materiales plásticos para inclusión no son tan duros como las muestras, en especial cuando estas contienen metales o cerámicas y por lo cual, dicha diferencia de dureza puede conllevar a un desgaste y pulido no homogéneo¹⁴. Las muestras de resina de esta investigación, fueron incluidas en polimetilmetacrilato por lo que se logró una correcta visualización de la fase orgánica gracias a la compatibilidad entre los materiales y el uso del reactivo de Schiff, por su afinidad a la matriz orgánica.

Con la finalidad de distinguir la fase orgánica de la inorgánica, se empleó el reactivo de Schiff como colorante, el cual permitió observar la estructura de cada resina, así como los cambios ocurridos en ellas ocasionados por el tratamiento térmico. Esto podría explicarse debido a la afinidad del reactivo de Schiff con los grupos aldehídos presentes en las resinas que de esta forma permitió visualizar su estructura¹⁵. El grado

de tinción varió entre los tres grupos de resinas y en las diferentes temperaturas a las que fueron expuestas. Esto pudo estar asociado con dos factores a saber: 1.- el grado de conversión de cada resina, el cual está relacionado a la liberación de formaldehidos y por lo tanto, directamente se modifican los grupos aldehídos presentes en la muestra y 2.- la temperatura a la que fueron sometidos los especímenes, produciéndose disminución del contenido de la matriz orgánica, resultante de la combustión de la misma.

Estudios han reportado la relación entre el tamaño de la partícula y la presencia de espacios vacíos en resinas compuestas¹⁷, así como una mayor resistencia a la fractura en aquellas resinas conformadas por partículas de forma redondeada¹⁸. En la presente investigación se encontró que los patrones de fractura observados en las muestras evaluadas corresponden a la respuesta del material ante la temperatura a la que fueron expuestas. Sin embargo, consideramos que factores como el tipo de resina, el tamaño de la partícula, la presencia de espacios vacíos y la resistencia a la fractura, son determinantes en la presencia y patrón de las mismas.

El estudio ultraestructural permitió conocer el comportamiento de la fase de relleno de los tres tipos de resinas cuando son sometidas al incremento controlado de la temperatura. Al analizar los resultados obtenidos en las variables tamaño de partículas y distancia entre partículas, se observaron fluctuaciones en cuanto a los valores registrados de ambas, teniendo un comportamiento similar en un inicio del tratamiento térmico (250 °C), en donde hubo una disminución del tamaño de las partículas y la distancia entre las mismas, pero a partir de los 500 °C el comportamiento fue opuesto, es decir, aumento del tamaño de las partículas pero una disminución de la distancia entre ellas. Estos resultados podrían explicarse debido a los siguientes motivos: en primer lugar, la naturaleza de las partículas inorgánicas (Cuarzo

principalmente), las cuales al ser sometidas a diferentes temperaturas, pasan por transformaciones de fase, tal como ocurre en el caso del Cuarzo expuesto a 573 °C, quien presenta un cambio de fase de α -cuarzo a β -cuarzo, otra modificación de fase es de β -cuarzo a β -tridimita, la cual ocurre a los 870 °C¹⁹. Estas variaciones coinciden con los resultados evidenciados en este estudio, donde se pudo observar que entre los 750 y 1000 °C hubo un aumento de tamaño de las partículas y una disminución de la distancia entre las mismas. En segundo lugar, debe considerarse que las propiedades mecánicas de las resinas evaluadas tienen una relación directa con el porcentaje de las partículas inorgánicas establecido por el fabricante²⁰⁻²³ y en tercer lugar, la composición de la matriz orgánica de cada una de las resinas²⁰⁻²², lo cual explica las variaciones en la distancias entre partículas y las fallas estructurales observadas en el material.

En cuanto al comportamiento que experimentó la distancia entre las partículas inorgánicas de las resinas debido a la acción del calor, el mismo podría explicarse en base al proceso de incineración de los materiales orgánicos. Para la incineración de un espécimen éste debe ser sometido a un determinado nivel de temperatura como el que proporciona un horno. En el calentamiento hasta los 300 °C ocurre el desprendimiento en forma de gas, de los compuestos más volátiles, a altas temperaturas se produce un fenómeno o proceso de sinterización de los materiales cerámicos presentes en las partículas inorgánicas, en el cual las mismas coalescen por difusión atómica al estado sólido, por debajo del punto de fusión o vitrificación. En el proceso se produce difusión atómica entre las superficies de contacto de tales partículas lo que provoca que resulten químicamente unidas²⁴. En el presente estudio se observó una disminución de la distancia entre partículas a los 250 °C para luego aumentar a los 500 °C y disminuir a partir de los 750 °C, lo que pudiera evidenciar la contracción por pérdida de la matriz orgánica y expansión debido a

la fractura de las partículas inorgánicas en primera instancia, para luego contraerse por la fusión de éstas.

Al analizar la cantidad de partículas y de fallas estructurales por área, se observó que en los grupos A y B hubo un aumento de ambas variables hasta los 500 °C, lo cual se explica por la fractura de las partículas inorgánicas y luego comienzan a disminuir hasta los 1000 °C, posiblemente por la fusión de las mismas. En el grupo C, el aumento es paulatino, progresivo y en menor grado en términos de valor absoluto, lo que pudiera explicarse por ser una resina fabricada con nanotecnología que presenta un elevado grado de conversión, así como un mayor número de partículas inorgánicas en porcentaje²⁵ y por lo tanto, mejor tolerancia en su estabilidad ultraestructural ante las diferentes temperaturas a las que se sometió el material en este trabajo de investigación.

Las resinas compuestas, así como los tejidos dentarios y óseos presentan una fase orgánica e inorgánica, mostrando un comportamiento similar en su ultraestructura al ser sometidos a la acción del calor, debido a que en ellos la matriz orgánica desaparece ante las altas temperaturas^{4,26}. En segundo lugar, se ha planteado que los tejidos dentales y óseos experimentan diferentes etapas progresivas semejantes a los minerales de las cerámicas, cuando están sometidos a elevadas temperaturas como son: deshidratación, oxidación, reducción, inversión, descomposición y fusión^{27,28}, lo cual pudo evidenciarse en los resultados del comportamiento de las partículas inorgánicas presentes en las resinas compuestas aquí estudiadas.

Es importante destacar que los cambios observados en las resinas compuestas evaluadas en la presente investigación pueden variar en condiciones in vivo, debido a que el material de restauración estaría contenido en el tejido dentario y diferencias entre el coeficiente de expansión térmico del diente y de la resina, así como el punto de fusión de la misma tendrían influencia en dichos cambios. También debe considerarse

el efecto de factores extrínsecos como son el tiempo de exposición y la tasa de elevación de la temperatura, naturaleza del fuego, presencia de sustancias combustibles o las utilizadas para extinguirlo. Asimismo, los dientes en los cuales las resinas compuestas servirían de material de restauración no siempre resultan expuestos de manera directa a las altas temperaturas desde el inicio del evento, pues se encuentran protegidos por los tejidos de soporte periodontal, hueso adyacente y mucosa^{3,5}.

Conclusiones

La observación de las resinas compuestas al microscopio óptico compuesto fue posible al utilizar la tinción de Schiff debido a la afinidad con los grupos aldehídos de la fase orgánica. Mediante Microscopía Electrónica de Barrido las resinas compuestas pueden ser identificadas de acuerdo a su disposición estructural y tamaño de partículas inorgánicas, aún después de haber estado sometidas al incremento controlado de la temperatura hasta los 1000 °C. Las técnicas desarrolladas para la preparación de las muestras de este estudio, particularmente para su observación al Microscopio Óptico, así como la utilización de software para el análisis cuantitativo de las variables ultraestructurales, pueden constituirse en herramientas útiles durante el proceso de identificación de víctimas, especialmente en casos de catástrofes.

Agradecimiento

Los autores agradecen al Instituto Zuliano de Investigaciones Tecnológicas (INZIT) por su valiosa colaboración para las observaciones realizadas en el Microscopio Electrónico de Barrido de Tecnología Ambiental, perteneciente a dicha institución.

Al Médico Cirujano, Fernando Alonso Barrios, Especialista en Anatomía Patológica y Bioestadística Aplicada a la Investigación, por su apoyo en el tratamiento estadístico realizado en la presente investigación.

Referencias

1. Ferracane J. Resin Composite-state of art. *Dental Mat.* 2011; 27(1): 29-38.
2. Chen MH. Update on dental nanocomposites. *J Dent Res.* 2010; 89(6): 549-60.
3. Merlati G, Danesio P, Savio C, Fassina G, Osculati A, Menghim P. Observation on dental prostheses and restorations subjected to high temperatures: experimental studies to aid identification processes. *J Forensic Odontostomatol.* 2002; 20(2): 17-24.
4. Merlati G, Savio C, Danesio P, Fassina G, Menghini P. Further study of restored an un-restored teeth subjected to high temperatures. *J Forensic Odontostomatol.* 2004; 22(2): 34-9.
5. Moreno S, León M, Marín L, Moreno F. Comportamiento in vitro de los tejidos dentales y de algunos materiales de obturación dental sometidos a altas temperaturas con fines forense. *Colomb Med.* 2008; 39(1): 28-46.
6. Moreno S, Merlati G, Marin L, Savio C, Moreno F. Effects of high temperatures on different dental restorative systems: experimental study to aid identification processes. *J Forensic Dent Sci.* 2009. 1(1): 17-23.
7. Bush MA, Bush PJ, Miller RG. Detection and classification of composite resins in incinerated teeth for forensic purpose. *J Forensic Sci.* 2006; 51(3): 636-42.
8. Bush MA, Miller RG, Norrlander AL, Bush PJ. Analytical survey of restorative resins by SEM/EDS an XRF: database for forensic purpose. *J Forensic Sci.* 2008; 53(2): 1-7.
9. Espina A, Barrios F, Ortega A, Mavárez M, Espina O, Fereira J. Cambios estructurales en los tejidos dentales duros por acción del fuego directo, según edad cronológica. *Cien Odontol.* 2004; 1(1): 38-51.
10. Fereira JL, Ortega AI, Barrios F, Espina-Fereira A. Análisis estructural de los indicadores de edad dental en los tejidos duros del diente que han experimentado la acción de altas temperaturas. *Acta Microsc.* 2010; 19(3): 291-304.
11. Delattre V. Burned beyond recognition: Systematic approach to the dental identification of charred human remains. *J Forensic Sci.* 2000; 43(3): 589-96.
12. Bush MA, Miller RG, Prutsman-Pfeiffer J, Bush PJ. Identification through X-Ray fluorescence analysis of dental restorative resins materials: a comprehensive study of non cremated, cremated and processed-cremated individuals. *J Forensic Sci.* 2007; 52(1): 157-65.
13. Fereira JL, Espina-Fereira A, Ortega AI. Methods for the analysis of hard dental tissues exposed to high temperaturas. A preliminary study. *Forensic Sci Int.* 2009; 178(2): 119-24.
14. Leng Y. "Materials characterization: introduction to microscopic and spectroscopic methods". Second Edition. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. 2013.
15. Wenk PA. A most bodacious stain. *Mikro-Graf.* 2014; 43(2):59-62.
16. Aguilar F, Roberti L, Rodriguez D, Silva A, Panzeri F. Color and opacity of composites protected with surface sealants and submitted to artificial accelerated aging. *Eur J Dent.* 2012;6:24-33.
17. Elbishari H, Silikas N, Satterthwaite J. Filler size of resin-composite, percentage of voids and fracture toughness: is there a correlation? *Dent Mater J.* 2012; 31(4): 523-7.
18. Rodríguez D, Pereira N. Evolución y tendencias actuales en resinas compuestas. *Acta Odontol Venezolana.* 2008, 46(3): 1- 19.
19. Keen D, Dove M. Local structure of amorphous an crystalline phases of silica, SiO₂, by neutron total scattering. *J Phys.* 1999; 11: 9263-73.
20. Ultradent Products Inc. 2013-2014. Products and procedure manual.
21. 3M ESPE. Technical product profile. Filtek Z250 XT. Universal Restorative System. 1998.

22. 3M ESPE. Technical product profile. Filtek Z350 XT. Universal Restorative System. 2010.
23. Rosa RS, Balbinot CE, Blando E, Mota EG, Oshima HM, Hirakata L et al. Evaluation of mechanical properties on three nanofilles composites. *Stomatologija*. 2012; 14(4):126-30.
24. Elías X. Incineración y destrucción térmica. En: *Los residuos como combustibles. tratamiento y valorización energética de residuos*. Diaz de Santos. 2005. p. 1-26.
25. Alsharif S, Arifin Z, Ishak M, Arriffin A. An Overview on dental composite restorative “white filling”. *Annals Int J Eng*. 2010; 8: 95-100.
26. Pope E, O’Brian C. Identification of traumatic injury in burned cranial bone: an experimental approach. *J Forensic Sci*. 2004; 49 (3): 1- 10.
27. Shipman P, Foster G, Schoeninger M. “Burnt bones and teeth: an experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage”. *J Archaeol Sci*. 1984.11:307-325.
28. Uberlaker D. The forensic evaluation of burned skeletal remains: a synthesis. *Forensic Sci Int*. 2009; 183: 1-5.



UNIVERSIDAD
DEL ZULIA

Ciencia Odontológica

Revista arbitrada de la Facultad de Odontología



Vol. 13 N° 1, January - June 2016

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada
en junio de 2016, por el Fondo Editorial Serbiluz,
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
produccioncientifica.luz.edu.ve