

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



DOTTORATO DI RICERCA IN
MEDICINA CLINICA E SPERIMENTALE
CURRICULUM IN SCIENZE ODONTOSTOMATOLOGICHE

XXXVI Ciclo
(Anni 2020-2023)

Coordinatore: Prof. Francesco Beguinot

TESI DI DOTTORATO

TITOLO

Valutazione in vitro della citotossicità dei compositi a base di
ceramica organicamente modificata

TUTOR/RELATORE

Chiar.mo Prof. Sandro Rengo

CANDIDATA

Dott.ssa Marzia Maglitto

CORRELATORE

Chiar.ma Prof.ssa Alessandra Valletta

INTRODUZIONE	3
CAPITOLO 1	5
I MATERIALI COMPOSITI DENTALI	6
COMPOSIZIONE DELLE RESINE COMPOSITE	6
CLASSIFICAZIONE DELLE RESINE COMPOSITE	11
LA NUOVA TECNOLOGIA ORMOCER	13
UTILIZZO DEL COMPOSITO IN ODONTOIATRIA	15
INTERAZIONE FRA COMPOSITI DENTALI E ATTIVITÀ BIOLOGICA: BIOCOMPATIBILITÀ	16
COMPOSITI DENTALI E CELLULE STAMINALI DELLA POLPA	20
CELLULE STAMINALI DELLA POLPA DENTALE	21
CAPITOLO 2	25
SCOPO DEL LAVORO	25
CAPITOLO 3	26
MATERIALI E METODI	26
PREPARAZIONE ELUATI	26
COLTURE CELLULARI	27
CONTEGGIO CELLULARE	28
MTT	29
DIFFERENZIAMENTO OSTEOGENICO	30
VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ CLONOGENICA	31
SAGGIO DI MIGRAZIONE DA ZERO	31
ATTIVITÀ DELLA FOSFATASI ALCALINA INTRACELLULARE (ALP)	32
ANALISI STATISTICA	33
CAPITOLO 4	36
RISULTATI	36
VALUTAZIONE DELLA CITOTOSSICITÀ NEL MEZZO DI CRESCITA	36
VITALITÀ CELLULARE NELL'OSTEOGENESI	36
VALUTAZIONI CLONOGENICITÀ	36
SAGGIO DI MIGRAZIONE DA ZERO	36
DIFFERENZIAMENTO OSTEOGENICO DELLE hDPSC	37
CAPITOLO 5	39
DISCUSSIONI	41
CAPITOLO 6	44
CONCLUSIONI	44
BIBLIOGRAFIA	45

INTRODUZIONE

L'introduzione dei compositi dentali risale agli anni '50 e la loro evoluzione è strettamente legata a quella degli adesivi smaltodentinali. Intorno al 1954, (Miletic V.2018) grazie al contributo di due scienziati, Michael Buonocore e Raphael Bowen furono condotte le prime ricerche che portarono alla scoperta dell'adesione meccanica alla struttura del dente (El Banna A. et al.2019). Applicando acido inorganico (processo di mordenzatura con acido ortofosforico) alla superficie dello smalto, Buonocore constatò che lo smalto stesso veniva disciolto e si creava una superficie microritenta. L'applicazione di un materiale acrilico sulla superficie dello smalto avrebbe creato un'adesione meccanica alla superficie del dente (Buonocore M.G.). D'altra parte, però, negli anni Cinquanta, i materiali acrilici non erano ancora sufficientemente sviluppati e quindi le ricerche in questo senso furono abbandonate. Un nuovo slancio si ebbe agli inizi degli anni Sessanta, quando furono introdotti materiali da ricostruzione nuovi e migliorati.

Raphael Bowen, nel 1962 sviluppò la teoria sulla tecnica dei compositi per uso odontoiatrico con l'utilizzo delle resine diacriliche (El Banna A. et al.2019).

La teoria di Bowen si basava sul migliorare le proprietà fisiche delle resine acriliche, poiché i loro monomeri consentivano solo la formazione di polimeri a catena lineare. Tali resine sviluppate utilizzando brevetti statunitensi (Bowen RL. 1962, 1965) per materiali da otturazione dentale, vengono utilizzate ancora oggi in tutte le formule commerciali e sono state denominate "resine Bis-GMA" conosciute anche, con il nome di "resine Bowen".

Nell'ultimo decennio, i compositi in resina sono diventati dunque i materiali da restauro più utilizzati, sostituendo gradualmente i restauri in amalgama, che hanno rappresentato il materiale da restauro standard per più di cento anni. Tale transizione è dovuta non solo all'estetica, ma anche alla preparazione della cavità altamente conservativa, rispetto a quella dell'amalgama (El Banna A. et al.2019).

Negli ultimi anni, sul mercato sono stati introdotti diversi nuovi materiali per i restauri diretti in composito (Kunzelmann KH. et al.2007). Oltre ai tradizionali compositi ibridi e nanoibridi per uso universale, ora i clinici hanno a disposizione un'ampia gamma di compositi altamente estetici in linea con le crescenti esigenze dei pazienti. La maggior

parte dei compositi dentali da restauro contengono matrici di monomeri organici basati sulla tradizionale chimica dei metacrilati, come il BisGMA e i suoi derivati, UDMA e TEGDMA, che è il monomero diluente più spesso utilizzato (Manhart J. 2006). Le formulazioni chimiche alternative utilizzano i silorani (Weinmann WC. et al.2005) e gli ormocer (Manhart J. et al.1999).

Gli ormocer (organically modified ceramics – ceramiche modificate organicamente) sono materiali compositi inorganici non metallici, (Fig.1) modificati organicamente (Greiwe K. et al.2002). Questo tipo di materiale è stato sviluppato dal *Fraunhofer Institute for Silicate Research ISC, Würzburg*, in collaborazione con partner dell'industria dentale e introdotto come materiale da restauro per la prima volta nel 1998 (Wolter H. et al.1994).

Il nuovo Admira Fusion (Voco) introdotto nel 2015 presenta una chimica ormocer nella matrice e particelle di riempitivo inorganico nanoibrido (84 in peso %).

La tecnologia che combina il componente simile al vetro con il polimero ha dato come risultato la ceramica modificata organicamente con la durezza del vetro e le proprietà della resina. (Erdilek D. et al. 2009, Taher NM. 2002). Questo materiale, disponibile in forma ricostruttiva e fluida presenta una migliore estetica, ottima biocompatibilità, elevata resistenza all'abrasione, contrazione della polimerizzazione ridotta e rugosità superficiale ridotta. (Akgungor G. et al.2005)

La nuova tecnologia Ormocer ha superato, così, le preoccupazioni relative all'estrogenicità e alla citotossicità associate ai compositi a base di bisfenolo A-glicidil metacrilato.



Fig. 1 Restauro posteriore con il nuovo composito nanoibrido ORMOCER.

(<https://online.doctoros.it/articoli-scientifici/restauro-posteriore-un-composito-nanoibrido-ormocer-caso-clinico/>)

CAPITOLO 1

I MATERIALI COMPOSITI DENTALI

Composizione delle resine composite

Il termine “materiali compositi” si riferisce ad un sistema materiale composto da una miscela di due o più macro-costituenti che differiscono nella forma e che sono essenzialmente insolubili, l’uno nell’altro (Glenn JF.1982).

La combinazione così ottenuta vanta proprietà chimico-fisiche non riscontrabili nei singoli elementi che la compongono.

Sebbene i compositi odontoiatrici presentino formulazioni diverse a seconda dell’uso a cui sono destinati, essi sono costituiti principalmente da:

1. una matrice polimerica organica a base di resina;
2. particelle di riempitivo inorganico;
3. agente di accoppiamento silanico, capace di ricoprire le particelle di riempitivo consentendo in tal modo, il legame chimico alla matrice di resina. (Zimmerli B.et al.2010, Cramer NB.et al. 2011).

I compositi dentali contengono altri componenti importanti, come iniziatori per l’innesco della reazione di polimerizzazione, inibitori che impediscono la polimerizzazione spontanea e pigmenti per mimare al meglio la gamma cromatica dei denti (Cramer NB. Et al. 2011).

Matrice polimerica organica

I sistemi monomerici sono considerati la base primaria della formulazione della resina composita. Il Bis-GMA, (bisfenolo-aglicidildimetacrilato) (Fig.2), insieme all’UDMA (uretano di metacrilato), rappresenta uno dei principali componenti della matrice resinosa dei compositi (Peutzfeldt A.1997). È un monomero liquido ad alto peso molecolare ottenuto dalla reazione tra una molecola di bisfenolo A e due molecole di glicidilmetacrilato (Bowen RL.1962,1965).

Tali monomeri sono leggermente viscosi e devono essere miscelati con monomeri diluenti a basso peso molecolare in modo che si possa ottenere una consistenza clinicamente lavorabile.

Il TEGMDA (tri-etilen- glicol-dimetacrilato) ha una maggiore viscosità e permette la copolimerizzazione, ed è pertanto spesso utilizzato come monomero diluente per BisGMA o UDMA (Moszner N. et al.2001).

La formulazione di un materiale che usa Bis-GMA può influire sulle proprietà di modellazione e promette di diminuire la contrazione volumetrica (Peutzfeldt A.1997).

Polimerizzazione della matrice di resina

Lo studio della cinetica di polimerizzazione è di grande interesse, soprattutto nell'ambito dei compositi restaurativi (Fugolin A.P.P et al.2018).

La polimerizzazione di un materiale composito è il risultato di una reazione chimica tra monomeri dimetacrilati che conduce alla produzione un polimero rigido e fortemente reticolato che circonda le particelle di riempitivo inerti.

Si tratta di una reazione innescata dai radicali liberi che vengono generati dall'irradiazione di un iniziatore sensibile alla luce e aprono il doppio legame dei gruppi metacrilato ($C=C$), generando una reazione a catena (J. Leprince et al.2010).

In generale, la polimerizzazione a catena mostra tre fasi: iniziazione, propagazione e terminazione, controllate da alcuni fattori che influenzano direttamente la cinetica di reazione (Fugolin A.P.P et al.2018).

La portata di questa reazione, spesso grado di conversione, risulta essere fondamentale in quanto determina molte delle proprietà fisiche e meccaniche del composito. In generale, maggiore è il grado di conversione, maggiore è il numero di legami tra le catene polimeriche che aumentano la rigidità del polimero (Blackhaman JT.et al.2009).

Secondo i sistemi di iniziazione o i meccanismi di polimerizzazione, i compositi possono essere suddivisi in:

1. compositi chimicamente iniziati/auto-polimerizzati, attivati dalla luce,
2. termo-polimerizzati o a doppia polimerizzazione (Kwon T.Y. et al.2012).

La maggior parte dei compositi auto-polimerizzanti sono composti da una pasta catalizzatrice contenente BPO (perossido di benzoile) una pasta di base (chiamata anche acceleratore) contenente ammina terziaria.(Fig.3) Il Bpo non è un vero catalizzatore, ma un iniziatore chimico. Due ammine terziarie aromatiche, DMPT e DHPT (idrossietil-p-toluina),(Fig.4) sono comunemente usate nei compositi di auto-

polimerizzazione, come attivatori, al fine di produrre dei radicali liberi ed avviare la reazione di polimerizzazione. (Watts D. et al.2005).

Il DMPT ha una maggiore attività come co-iniziatore con BPO, ma è più sensibile alla temperatura rispetto al DHPT(Mathew L.,et al.1997). È stato inoltre suggerito che il DHPT potrebbe essere preferito per la stabilità di conservazione a lungo termine nei compositi auto-polimerizzati, perché l'invecchiamento tende a ridurre l'attività amminica. Inoltre, il DMPT è stato segnalato per essere altamente tossico e potenzialmente cancerogeno (Sideridou ID. et al.2006).

La resina acrilica auto-polimerizzata di tipo pasta-pasta, presenta un maggiore problema di conservazione poiché il BPO miscelato con il monomero dimetacrilato è particolarmente sensibile alla decomposizione termica (Antonucci JM. Et al.1979). Pertanto, vengono aggiunti inibitori per sopprimere la polimerizzazione dei monomeri e prevenire la polimerizzazione prematura (specialmente termica) durante la spedizione e lo stoccaggio. I composti fenolici, come l'idrossitoluene butilato (BHT) e l'etere monometilico dell'idrochinone (MEHQ), sono gli inibitori più comuni utilizzati in odontoiatria (Van Landuyt Klet al.2007).

La maggior parte delle resine composite invece, reticola grazie all'esposizione alla luce. I compositi fotoattivabili hanno infatti il vantaggio di offrire una polimerizzazione controllata.

I sistemi compositi a foto-polimerizzabili erano basati sul fotoiniziatore UV, l'etere metilico benzoico, senza la presenza di un secondo componente. Successivamente Dart e Nemcek, ricercatori dell'Imperial Chemical Industries (ICI), Inghilterra, nel 1971 (Ikemura K.et al.2008), svilupparono un sistema di fotopolarizzazione visibile. Questi sistemi infatti, erano più sicuri da usare e fornivano una maggiore profondità di polimerizzazione, rispetto ai sistemi di polimerizzazione UV.

Al giorno d'oggi, la maggior parte dei compositi dentali sono sistemi monocomponenti canforochinone (CQ) / amminici, a polimerizzazione della luce visibile (Combe CE.1990).

Il canforochinone (CQ), è una molecola sensibile alla luce blu dello spettro elettromagnetico. La sua reattività è potenziata dall'aggiunta di un'ammina terziaria alifatica riducente, come etil-metacril-dimetilammina (DMAEM) (Watts D.et

al.2005), ammine aromatiche, come il 4,6-dimetil-2-thio-pirimidina (DMTP2), o etil-4-dimetilamminobenzoato (EDMAB) (Musanje L.et al.2009). In generale, le ammine terziarie aromatiche sembrano essere più efficienti di quelle alifatiche come co-iniziatori con CQ in un sistema di resina a polimerizzazione leggera (Cook WD.1992). Sebbene il sistema di fotoionizzazione CQ / ammina sia il più comune nei compositi dentali, il CQ è di colore giallo, il che limita la sua concentrazione e, di conseguenza, limita il grado di conversione e quindi la profondità di polimerizzazione. Pertanto, sono stati sviluppati fotoiniziatori alternativi, come 1-fenil-1,2-propandione [PPD] e il Lucrin TPO (monoacil-fosfin ossido) (Sun GJ et al.2000).

La maggior parte dei cementi a base di resina composita presentano doppie modalità di polimerizzazione che combinano capacità di polimerizzazione sia leggera che chimica per soddisfare diversi requisiti clinici (Lu H. et al.2005).

I compositi a doppia polimerizzazione sono formati da due paste, un catalizzatore e una base (acceleratore), come i compositi auto-polimerizzati, ma la loro pasta di base contiene il sistema di fotoiniziazione CQ/ammina per l'attivazione della luce visibile, oltre a un co-iniziatore amminico per la polimerizzazione chimica (auto) (Feng L. et al.2006).

La reazione di polimerizzazione chimica (auto) inizia non appena i due componenti si mescolano, durante tale reazione il calore attiva il catalizzatore (perossido di benzoile) presente nella pasta, mentre la reazione termica migliora le proprietà dei materiali compositi, aumentando la resistenza all'usura, la resistenza marginale e riducendo l'assorbimento di acqua (Kumbuloglu O.et al.2004).

Nonostante la combinazione di queste due modalità di polimerizzazione, diversi studi hanno dimostrato che la maggior parte dei materiali a doppia polimerizzazione non raggiunge gradi simili di conversione o durezza quando testati in presenza o assenza di attivazione della luce (Braga RR. Et al.2002).

Ciò indica che le due modalità (cioè auto-polimerizzazione e fotopolimerizzazione) nei materiali non sempre contribuiscono in modo efficiente ed equo alla polimerizzazione (Rueggeberg FA. Et al.1993).

Riempitivi inorganici

I riempitivi inorganici o filler, rappresentano la fase dispersa dei compositi a base di resina e sono solitamente costituiti da materiale vetroso radiopaco (Peutzfeldt A.). Essi variano in base alla loro chimica, forma e dimensione e tali variazioni si riflettono sulle proprietà dei compositi.

I riempitivi inorganici vengono generalmente aggiunti per:

1. ridurre la contrazione da polimerizzazione;
2. ridurre il coefficiente di espansione termica; (Söderholm K-JM.1984)
3. migliorare le caratteristiche meccaniche (resistenza, tenacità, modulo elastico, durezza, usura); (Masouras K. Et al.2008)
4. aumentare la radioopacità ;(Van Dijken JWV. Et al.1989)
5. controllare il colore, la traslucenza e l'estetica (Cavalcante LM. Et al.2009).

I materiali utilizzati per riempitivi sono il vetro (come il vetro di bario o borosilicato), ossido di zirconio, ossido di alluminio o biossido di silicio. Il biossido di silicio è stato il primo riempitivo utilizzato nelle resine dentali, ma viene anche considerato la base per altri tipi di riempitivi di vetro formati da diversi compositi di silicato (Zandinejad A., et al. 2006). Il vantaggio principale di questo materiale è dato dall'inclusione di elementi più pesanti nel riempitivo che sono in grado di conferire radiopacità al materiale. Inoltre, tali particelle presentano proprietà ottiche superiori, consentendo in tal modo la produzione di compositi più trasparenti.

Generalmente, più grande è la percentuale di riempitivo aggiunto (in volume o in peso), migliori sono le proprietà meccaniche del composito.

Tuttavia, la percentuale di composizione del riempitivo ha un limite oltre il quale il materiale diventa troppo viscoso per poter essere usato clinicamente (Ferracane JL. 1995).

Agente di accoppiamento silanico

La creazione di un valido materiale composito dipende dalla creazione di un legame forte e duraturo tra la massa polimerica e le particelle di riempitivo inorganico. Il silano è l'agente accoppiante solitamente utilizzato per i compositi dentali. È una molecola caratterizzata da due gruppi funzionali:

1. gruppo polare –OH attratto dai gruppi –OH presenti sulla superficie del riempitivo;
2. gruppo non polare (metacrilato) capace di reagire con la resina attraverso il legame C=C; (Antonucci JM. Et al.).

Tali molecole sono in grado di formare legami covalenti sia con i gruppi silanolo (Si-O) dei riempitivi a base di silice che con i gruppi metacrilati della matrice resinosa.

Infatti, il ruolo del silano sembra essere proprio quello di legare tra di loro due materiali non affini, come il riempitivo idrofilo e la matrice idrofoba (Fig.5).

Il più utilizzato è il metacrilossipropiltrimetossilossano (Zimmerli B. et al.2010).

Classificazione delle resine composite

La classificazione delle resine composite utilizzate in Odontoiatria più diffusa è quella che utilizza come metro di valutazione la granulometria del filler, ovvero le dimensioni delle particelle di riempitivo. Questa ci permette di distinguere diverse generazioni di materiali compositi (Bayne SC. Et al.1998) (Fig.6).

1. Macroriempiti
2. Microriempiti
3. Nanoriempiti
4. Ibridi

I primi compositi sviluppati contenevano particelle di riempitivo nella gamma di 1-50 μm e sono stati etichettati come compositi macroriempiti.

Essi conferivano al composito una buona resistenza all'usura, ma uno scarso risultato estetico (Pratap B. et al.2019).

Per questo motivo intorno agli anni '70 sono stati introdotti sul mercato i compositi microriempiti. È probabile che questo termine “microriempitivo” sia stato coniato per implicare una gamma di particelle sostanzialmente più piccola rispetto ai macroriempitivi utilizzati in precedenza (Dennison JB. Et al.1981).

Tali compositi erano in grado di offrire una maggiore lucidabilità e una migliore stabilità del colore (Anusavice, K. J.2003), rispetto a quelle macro, conferendo quindi, una maggiore estetica richiesta per i restauri anteriori. Tuttavia, le particelle di micro-

riempitivo esercitavano un'area superficiale estremamente elevata limitando il carico di riempimento.

Un carico di riempimento inferiore comportava, però, proprietà meccaniche inferiori e una più bassa resistenza all'usura (Ferracane, JL.1995).

Successivamente, intorno agli anni '80 sono stati introdotti i compositi cosiddetti ibridi, una combinazione ottimale dei predecessori macro e micro-riempiti, per proprietà meccaniche e ottiche favorevoli e una migliore resistenza all'usura.

Tali materiali sono quindi considerati compositi universali, utilizzabili per il restauro dei denti sia anteriori che posteriori.

Intorno al 2000, la nanotecnologia ha consentito un ulteriore miglioramento dei compositi dentali e il lancio di compositi nanoriempiti e nanoibridi (Sideridou ID.et al.2011). I compositi nanoibridi contengono nano particelle di silice/ossido di zirconio e particelle di vetro/ossido di zirconio/silice più grandi di 0,6-1 μm .

La maggior parte delle attuali proposte commerciali offre compositi nanoibridi che contengono anche riempitivi di resina polimerizzata e nanocluster.

Un elevato contenuto di nanoriempitivo, maggiore rispetto ai tradizionali compositi microriempiti, è responsabile di eccellenti proprietà ottiche, lucidabilità e brillantezza sebbene le proprietà meccaniche, la durezza, la resistenza e la resistenza all'usura non abbiano superato i compositi microriempiti. (Chen M-H.2010).

Una seconda distinzione fra le varie tipologie di compositi odontoiatrici può essere fatta sulla base della loro consistenza. Infatti, è possibile distinguere:

1. Compositi universali.
2. Compositi fluidi (flowable).
3. Compositi compattabili (packable) (Frédéric C et al.2021).

I compositi universali hanno una consistenza tale da poter essere utilizzati per il rivestimento di cavità o la riparazione di restauri e grazie alla loro consistenza possono essere applicati e modellati con una spatolina.

I compositi fluidi o "flowable" sono stati progettati per un migliore adattamento nelle aree profonde della cavità; infatti, essendo abbastanza fluidi possono essere iniettati negli spazi più angusti delle cavità tramite apposite siringhe (Baraudi K, et al.2015).

La loro bassa viscosità si ottiene abbassando il contenuto di riempitivo o aggiungendo tensioattivi per ridurre la viscosità ma mantenere il contenuto di riempitivo, con conseguente riduzione delle proprietà meccaniche.

I compositi “packable”, più compatti presentano invece una minore lavorabilità, ma grande resistenza, grazie ad una maggiore consistenza, dovuta a modificazioni nella distribuzione delle dimensioni dei filler o all’aggiunta di altri tipi di riempitivo, come fibre (Lee IB. Et al.2008).

Per le loro proprietà meccaniche tali materiali sono particolarmente adatti ai restauri nei settori posteriori.

Alcuni anni fa sono stati introdotti gli ormoceri, polimeri organici-inorganici ibridi.

La nuova tecnologia ormocer

Nel tentativo di superare alcune delle limitazioni associate ai tradizionali materiali di riempimento, nel 1997 è stato sviluppato un nuovo tipo di materiale composito ibrido, inorganico – organico, fotopolimerizzante e radiopaco chiamato ormocer (Moszner N.et al.2001).

L’acronimo “ormocer” è l’abbreviazione di “ceramica organicamente modificata”. Questo materiale sviluppato presso l’Istituto Fraunhofer di Würzburg, in Germania (Nicholson J.et al.2016), venne commercializzato per la prima volta come materiale da restauro dentale nel 1998 in collaborazione con partner dell’industria dentale (Wolter H.,et al.1994). Da allora, i compositi a base di ormocer sono stati ulteriormente migliorati per soddisfare una vasta gamma di applicazioni. Questi materiali, infatti, sono stati utilizzati con successo per anni nei campi dell’elettronica, della tecnologia dei microsistemi, della rifinitura della plastica, la conservazione, dei rivestimenti anticorrosione, dei rivestimenti funzionali per superfici in vetro ed essendo altamente resistenti, per i rivestimenti protettivi a prova di graffio, fino a diventare materiali particolarmente promettenti in ambito odontoiatrico (Moszner N., et al.2002).

Fondamentalmente gli ormocers sono caratterizzati da tre costituenti: componenti organici, inorganici e i polisilossani. Un cambiamento in una frazione di questi componenti può alterare le caratteristiche ottiche, meccaniche e termiche della materia.

1. I polimeri organici (gruppi multifunzionali di uretano e tioetere(meta)acrilato che contengono doppi legami carbonio-carbonio), sono responsabili della polarità, della capacità di reticolare, della durezza e delle caratteristiche ottiche.
2. La frazione di vetro e ceramica (componenti inorganici) influenza la stabilità chimica e l'espansione termica.
3. I polisilossani dirigono le caratteristiche dell'interfaccia, l'elasticità e l'elaborazione (Bauer C.M., et al.2016).

I copolimeri organici, definiti come polimeri derivati da più di una specie di monomero, hanno trovato applicazioni diffuse come materiali polimerici. L'idea alla base della formazione dei copolimeri è che si possono ottenere proprietà superiori agli omopolimeri (Mahmoud S.H.et al.2008).

Infatti, la principale novità degli ormocer rispetto ai compositi convenzionali è che i loro sistemi polimerici sono preparati da alcosossisilani.

È stato dimostrato che tali materiali presentano un'ottima estetica e ottime proprietà di resistenza all'usura. Infatti, le loro prestazioni cliniche complessive sono segnalate per essere performanti quanto quelle dei compositi convenzionali. Tuttavia, sono difficili da maneggiare a causa di un'alta viscosità e questo le rende difficili da rifinire. (Nicholson J.et al.).

I compositi dentali da restauro a base di ormocer attualmente sono commercializzati da due aziende dentali (linea di prodotti Admira, VOCO, Cuxhaven; CeramX, Dentsply, Constance). Negli attuali prodotti ormocer sono stati aggiunti ulteriori metacrilati alla pura chimica ormocer (oltre a iniziatori, stabilizzatori, pigmenti e riempitivi inorganici) al fine di migliorarne la lavorabilità (Ilie N., et al.2008).

Quindi è più corretto parlare di compositi a base di ormocer.

Secondo il produttore, il nuovo ormocer bulk-fill Admira Fusion x-tra (VOCO, Cuxhaven), lanciato nel 2015, non contiene alcun monomero convenzionale nella matrice. Rispetto agli ormocer. Si caratterizza per una tecnologia nanoibrida di riempitivo con un contenuto di riempitivo inorganico dell'84% in peso. È disponibile in un colore universale e mostra una contrazione da polimerizzazione di appena 1,2% in volume e contemporaneamente un basso stress da contrazione. Admira Fusion x-tra può essere applicato in strati fino a 4 mm, con ciascun incremento polimerizzato per 20 secondi (potenza della lampada polimerizzante >800 mW/cm).

La consistenza malleabile e le caratteristiche del materiale Admira Fusion x-tra permettono al clinico di restaurare cavità con la tecnica bulk con un solo materiale. (Wolter H., et al.1994).

Utilizzo del composito in odontoiatria

L'odontoiatria conservativa è una branca dell'odontoiatria restaurativa che si occupa della cura dei denti interessati da processi cariosi, delle procedure per l'eliminazione della carie e di quelle relative al ripristino delle cavità risultanti dall'eliminazione dello smalto e della dentina cariata, tramite l'utilizzo di appositi materiali.(Selwitz RH. Et al.2007).

I materiali compositi a base resinosa hanno gradualmente sostituito altri materiali da restauro, fra cui l'amalgama, imponendosi quali riferimenti per la restaurativa grazie alle loro caratteristiche di facilità d'impiego e alle ottime prestazioni meccaniche ed estetiche (Ferracane JL.et al 2011). Le procedure adesive che sono alla base dell'impiego di questi materiali hanno rivoluzionato l'operatività stessa del trattamento restaurativo, rendendo per esempio necessario il corretto isolamento del campo operatorio e imponendo nuovi standard alla realizzazione delle cavità.

Le otturazioni, effettuate attraverso l'utilizzo dei materiali compositi, sono costituite da paste, da scegliere nell'esatto colore dei denti, che vengono indurite attraverso l'applicazione di una luce ultravioletta e aderiscono al dente tramite un trattamento adesivo. L'impressione che il paziente ne trae fin da subito è quella di non aver mai avuto una carie, grazie alla loro estetica colorazione. L'aspetto positivo di questi materiali è che la loro elasticità equivale a quella della sostanza dentale persa. Così, applicando sulla superficie della cavità (opportunamente mordenzata) un sottile film a dispetto di altri materiali da otturazione (per esempio l'amalgama), i compositi possono essere usati indipendentemente dalla forma della cavità da otturare. Ciò significa che utilizzando i compositi non vi è bisogno di rimuovere sostanza dentale sana, il composito diventa un tutt'uno con il dente stesso. Ad oggi i professionisti hanno a disposizione materiali per la restaurativa diretta, le resine composite metacrilate, che se usati correttamente consentono di ottenere ottimi risultati estetici e funzionali. Tuttavia, tali materiali non sono esenti da difetti; primo fra questi la contrazione che avviene durante la polimerizzazione e il conseguente stress che ne può

derivare. Al fine di realizzare delle ricostruzioni soddisfacenti è difatti opportuno rispettare quelle che sono le indicazioni delle case produttrici per quanto concerne le tecniche di applicazione del sistema adesivo, così come opportune strategie di stratificazione e di fotopolimerizzazione delle resine composite (Giachetti L. et al 2007, Walls AW, et al. 1988). Un mancato rispetto di queste si traduce sistematicamente in una perdita di predicibilità della sopravvivenza del restauro oppure in un immediato insuccesso clinico. Allo stato attuale non esistono materiali da restauro che siano esenti da difetti, ma l'introduzione sul mercato avvenuta nel 2007 di una nuova classe di compositi, gli ormocer, potrebbe aver segnato un punto di svolta. Questi materiali promettono prestazioni paragonabili a quelle dei compositi convenzionali associati a una più bassa contrazione da polimerizzazione. Le proprietà meccaniche delle nuove resine composite sono sovrapponibili a quelle dei compositi convenzionali per quanto concerne durezza, modulo di elasticità, creep resistance (abilità di un polimero di resistere a un qualsiasi tipo di distorsione per un arco di tempo prolungato), resistenza alla flessione e all'usura. Gli ormocer hanno dimostrato anche stabilità nei fluidi biologici (*Palin WM. Et al.2008, Guggenberger R. et al.2005*) risultando idrofobi: ciò consente, assieme alle buone proprietà meccaniche sopraelencate, il mantenimento delle caratteristiche fisico-chimiche nel lungo periodo traducendosi in una predicibilità dei restauri.

Interazione fra compositi dentali e attività biologica: biocompatibilità

Negli ultimi decenni si è assistito allo sviluppo esponenziale di materiali per applicazioni biomediche, o biomateriali, che hanno contribuito ad un sostanziale aumento della qualità e dell'efficienza della ricerca scientifica.

Alla base di tali applicazioni risiede il concetto di biocompatibilità, esplicitamente introdotto negli anni '70 dello scorso secolo nel contesto dell'utilizzo degli impianti medici e delle proprietà che un materiale utilizzato per la realizzazione di questi impianti dovrebbe possedere.

Una definizione di biocompatibilità ampiamente citata è stata formulata nel 1986 a una conferenza sui biomateriali (*Consensus conference on biomaterials*, Chester, UK – 1986) come: “l'abilità di un materiale utilizzato per una data applicazione di agire determinando una risposta appropriata nell'ospite” (Williams D.F., 1987).

Ricorrendo a una definizione più recente e maggiormente articolata, che pone l'accento sulle reazioni biologiche indotte dall'impianto, *la biocompatibilità è data “dalla capacità di un biomateriale di compiere la sua funzione rispetto a una terapia medica, senza provocare effetti indesiderati nell'individuo sottoposto alla terapia, ma piuttosto generando le risposte cellulari o tissutali più appropriate nella situazione specifica e ottimizzando le prestazioni clinicamente rilevanti”* (Williams D.F,2008).

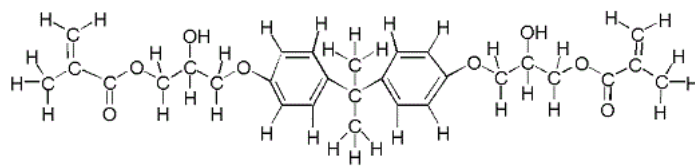


Figura 2. Formazione del BisGMA (Dental Composite Mat.for Direct Restoration,2018)

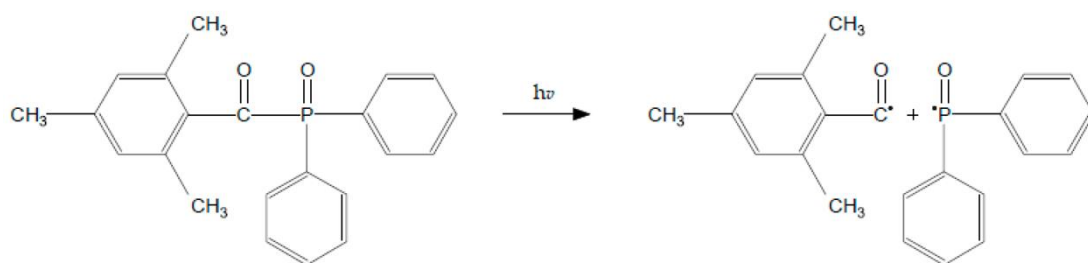


Figura 3. Meccanismo di reazione redox da parte del perossido di benzoile (BPO)/ammina terziaria (Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry, 2019)

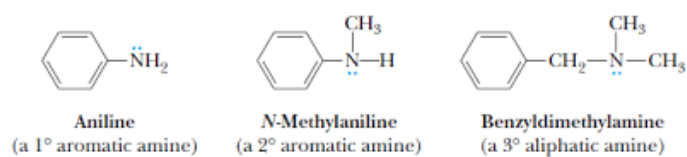


Figura 4. Struttura chimica di diverse ammine terziarie aromatiche e alifatiche utilizzate in odontoiatria (Dental Composite Mat.for Direct Restoration,2018).

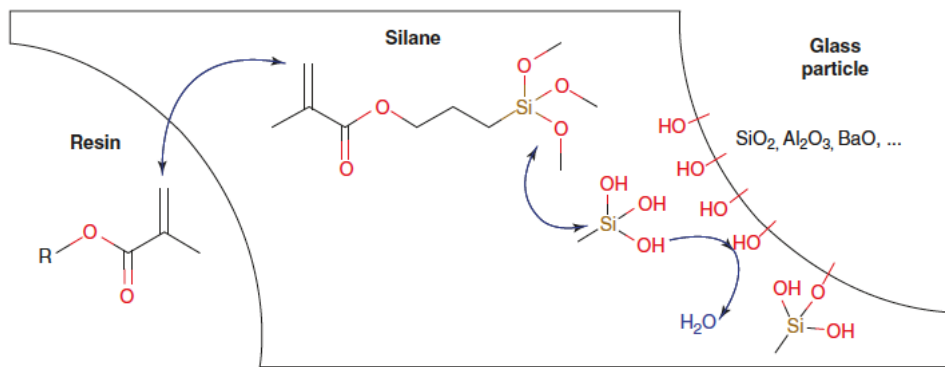


Figura 5. Legame silano filler e silano matrice resinosa (Dental Composite Mat.for Direct Restoration,2018)

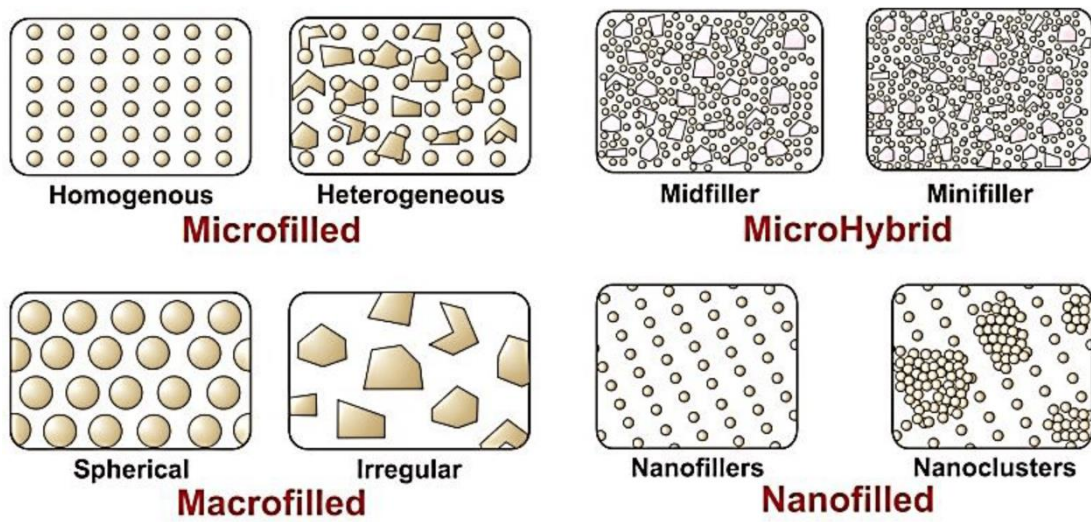


Figura 6. Vari tipi di riempitivi utilizzati. (Review Advances in Nanotechnology for Restorative Dentistry,2015).



Figura 7. Esempio di restauro in ormocer.

COMPOSITI DENTALI E CELLULE STAMINALI DELLA POLPA

I denti sono organi unici e complessi, di origine ectomesenchimale, contenenti sia tessuti molli (polpa) che duri (dentina e smalto) (Lee J. et al 2016, Miura M. et al.2003). In particolare, il tessuto pulpare dentale è molto importante per garantire la vitalità o per riparare/rigenerare il complesso dentale e contiene vasi sanguigni, nervi, tessuto connettivo e cellule staminali (Mead B. et al.2003). Tra questi componenti, le cellule staminali della polpa dentale sono evidenziate come una componente chiave, in grado cioè, di rigenerare la maggior parte del tessuto della polpa dentale in modelli animali e umani come cellule staminali postnatali (Xuan K. et al.2018, Luo L. et al.2018). Occasionalmente, le cellule staminali della polpa dentale vengono danneggiate prima, durante o dopo eventuali cure odontoiatriche a causa di infezioni batteriche (principalmente da carie dentale), fattori iatrogeni (calore o forza meccanica) o componenti citotossici di materiali dentali depositati sopra il tessuto pulpare. (Kim D.-A. et al.2017). Pertanto, tutti gli effetti avversi della vitalità e dell'odontogenesi, la capacità di differenziare le cellule staminali della polpa dentale per la riparazione/rigenerazione del tessuto pulpare, sono stati attentamente studiati durante lo sviluppo e l'utilizzo di materiali da restauro dentale.

Le resine composite sono materiali da restauro popolari in odontoiatria grazie alla loro resistenza adeguata, alle caratteristiche di adesione ai denti e alle proprietà ottiche (Salgado V. E. et al.2017, Ferracane J. et al.2010). Assomigliano al colore dei denti e sono disponibili in diverse tonalità, il che conferisce loro un vantaggio estetico (Fonseca A. S. Q. et al.2017, Huang B. et al.2018).

Tuttavia, hanno ancora diversi inconvenienti; in particolare, le resine composite si contraggono durante la polimerizzazione e possono verificarsi problemi come una maggiore sensibilità e microinfiltrazioni a causa degli spazi vuoti generati tra i denti e il materiale (Tantbirojn D. et al.2011, Politi I. et al.2018). Inoltre, la profondità di polimerizzazione delle resine composite convenzionali è limitata a 2 mm; pertanto, nel riempimento sono consigliate tecniche incrementali (Leprince J. G. et al.2013).

Molti studi in vitro hanno dimostrato che la reazione di polimerizzazione che produce la matrice polimerica reticolata dal monomero di resina dimetacrilato non è mai completa e le reazioni avverse sono dovute al rilascio di monomeri non polimerizzati come il trietilenglicole metacrilato (TEGDMA) o il 2-idrossi- etil-metacrilato

(HEMA). I monomeri liberi non legati sembrano essere direttamente responsabili della citotossicità dei compositi in resina sulla polpa e sulle cellule gengivali e sono probabilmente anche implicati nel potenziale allergico del materiale [19].

Sebbene i monomeri liberi non legati rilasciati dalle resine dentali durante la polimerizzazione e successivamente siano considerati dalla maggior parte degli autori responsabili degli effetti citotossici, sono stati proposti anche meccanismi aggiuntivi. I monomeri non legati e/o gli additivi vengono eluiti dai solventi o dalla degradazione del polimero entro le prime ore dopo la polimerizzazione iniziale. Il rilascio è dovuto a fotopolimerizzazione inadeguata, fattori termici, meccanici o chimici. Grazie agli sforzi dell'industria, la percentuale di monomeri non legati è diminuita negli ultimi dieci anni, ma il problema non è ancora stato sradicato.

Cellule staminali della polpa dentale

Quando si parla di cellule staminali ci si riferisce a cellule non specializzate presenti in tutti gli organismi viventi. Tali cellule sono caratterizzate da ampie potenzialità differenziative e di autorinnovamento, essendo in grado sia di differenziarsi in vari altri tipi cellulari, sia di generare una cellula esattamente uguale alla cellula madre (Baksh D. et al.2004). (Fig.8)

Queste caratteristiche e la possibilità di manipolarle a livello genetico le ha rese oggetto di grande interesse in diversi ambiti di ricerca e di medicina rigenerativa.

Si distinguono due diversi tipi di cellule staminali: le cellule staminali embrionali (ESCs-Embryonic Stem Cells) e le cellule staminali adulte (ASCs-Adult Stem Cell).

Le ESCs vengono ottenute direttamente da embrioni umani, mentre le ASCs sono cellule indifferenziate, che si dividono per ricostituire le cellule morenti e rigenerare i tessuti danneggiati (Anderson DJ et al. 2001).

Le cellule staminali adulte risiedono in molti organi già completamente sviluppati e sono anche conosciute come cellule staminali postnatali.

Nell'ambito delle ASCs, ritroviamo le cellule staminali mesenchimali (MSCs-Mesenchymal Stem Cells).

Dopo la loro scoperta e dopo la loro caratterizzazione, la ricerca di MSCs in specifici tessuti ha portato negli scorsi decenni all'isolamento di una varietà di cellule staminali in ogni organo e tessuto del corpo umano (Baksh D. et al.2007), tra i quali il midollo

osseo, il tessuto adiposo, il cordone ombelicale e la polpa dentale (Kolf C. et al.2004), tuttavia, ci sono differenze significative nelle loro capacità di proliferazione, differenziazione e nelle loro procedure di raccolta.

Infatti, uno dei maggiori ostacoli nella ricerca sulle cellule staminali mesenchimali è la difficoltà di isolarle a causa della mancanza di marcatori universalmente accettati (Guilak et al. 2004).

Alla luce di tali problemi, i ricercatori hanno investigato tessuti alternativi come fonte più abbondante e accessibile di MSCs.

Tra i diversi tessuti presi in esame, un ruolo significativo sembra essere rivestito dalla polpa dentale, un tessuto connettivo lasso, contenuto all'interno della camera pulpare della corona e dei canali radicolari, composto da cellule immerse in una matrice intercellulare caratterizzata da una sostanza fondamentale e da fibre (Smith AJ et al.1995). (Fig.9)

La matrice organica rappresenta circa il 25%, il restante 75% è costituito da acqua.

La possibilità che la polpa potesse contenere cellule staminali fu all'inizio suggerita dall'osservazione che lesioni dentali severe, interessanti anche gli strati profondi della dentina e la polpa, stimolassero un processo riparativo naturale, grazie al quale venivano formati nuovi odontoblasti e veniva prodotta nuova dentina, detta terziaria o di riparazione (Smith CE et al.2009). La polpa dentale, infatti, gioca un ruolo principale nella rigenerazione del dente dopo un insulto, partecipando al processo conosciuto come dentinogenesi. Quando si parla di cellule staminali della polpa dentale (*DPSCs-Postnatal Dental Pulp Stem Cells*), ci si riferisce, infatti, alla tipologia di cellule staminali mesenchimali multipotenti, (Gronthos S. et al.2000) capaci di rigenerare molteplici tessuti dentali e parodontali in vitro e in vivo.

Esse possono essere criopreservate e conservate per un lungo periodo senza perdere la loro multipotenzialità di differenziazione (Laino G. et al.2016). Le DPSCs furono identificate e isolate per la prima volta da Gronthos e collaboratori nel 2000 da terzi molari permanenti (Gronthos S. et al.2000).

Esse sono considerate cellule indifferenziate che possono, se poste in condizioni di coltura specifiche, generare diversi lignaggi cellulari, tra cui cellule simili agli osteoblasti. Sono cellule staminali che esibiscono caratteristiche simili a quelle

derivate dal midollo osseo, inclusa la clonogenicità e la capacità di auto-rinnovamento (Aghajani F. et al.2016).

La scoperta della differenziazione multilineare delle DPSC ha spinto i ricercatori a caratterizzarle come una fonte emergente di cellule multipotenti rispetto alle cellule staminali mesenchimali derivate dal midollo osseo (BMMSC).

Infatti, grazie alla loro elevata proliferazione e frequenza di sviluppare colonie che producevano sporadici, ma densi noduli calcificati, i collaboratori di Gronthos dimostrarono che le DPSCs potevano differenziarsi in odontoblasti, con corpo polarizzato e processo citoplasmatico incluso in tubuli dentinali (Batouli S. et al.2003).

Ci sono numerose aree di ricerca per le quali le DPSCs offrono nuove prospettive per la rigenerazione tissutale. Queste includono l'uso delle cellule per riparare tessuti dentali, come dentina, legamento parodontale e polpa dentale. Ha avuto successo anche l'ingegneria tissutale dello smalto (Honda MJ. et al.2009) così come l'uso delle cellule staminali dentali come fonte di cellule per facilitare la riparazione di tessuti non dentali come osso e tessuto nervoso (Volponi AA. et al.2010).

Un altro campo di applicazione delle cellule staminali del dente risulta essere la gestione di difetti parodontali, per velocizzare i processi di guarigione ossea e gengivale. Oltre alle potenzialità dentinogeniche, sottopopolazioni di DPSCs possiedono anche potenzialità adipogeniche e neurogeniche, evidenti a livello morfologico e genetico, grazie ai relativi marker espressi.

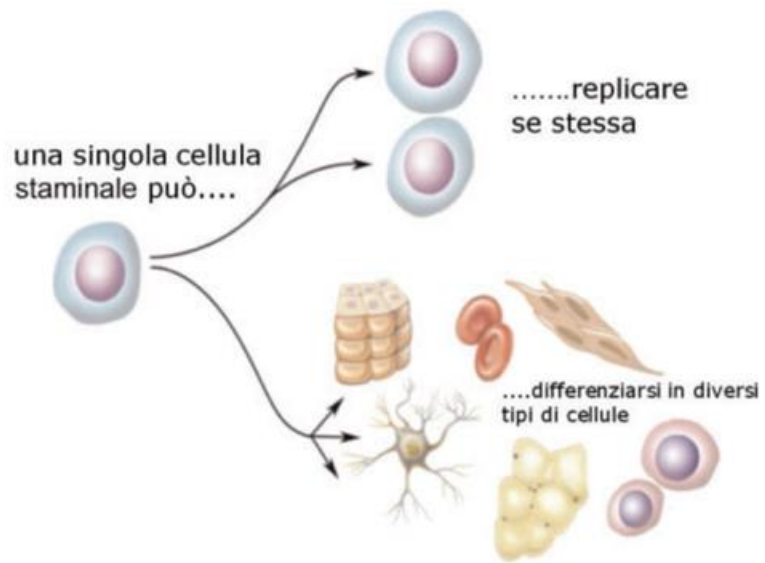


Figura 8. Cellule staminali (<http://www.adoces.it/cosasono.html>)

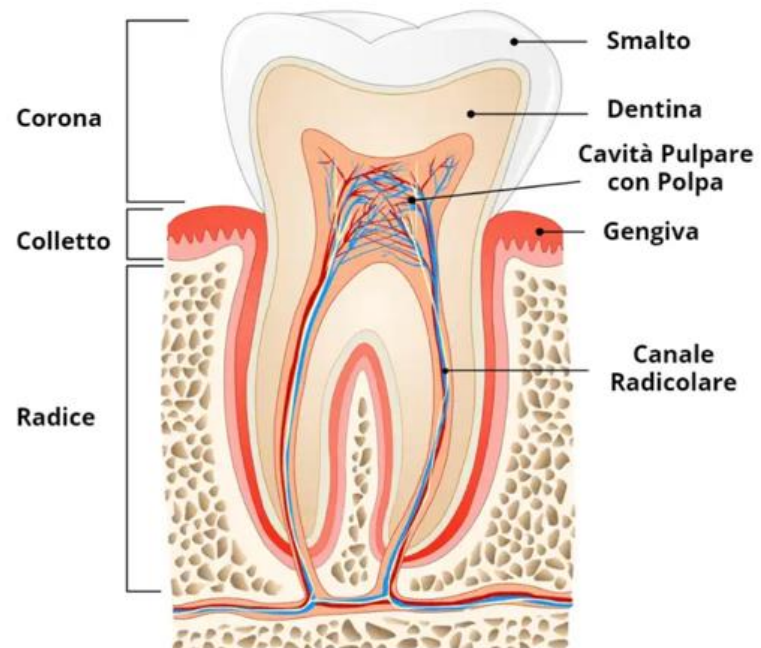


Figura 9. Struttura anatomica dente

CAPITOLO 2

SCOPO DEL LAVORO

I compositi dentali sono materiali da restauro frequentemente utilizzati in odontoiatria grazie alla loro resistenza, alla loro capacità di aderire al dente e alle loro proprietà estetiche. (Goldberg M. 2008, Manojlovic D. et al. 2011). Diversi studi affermano che i monomeri di cui sono costituiti, possono essere rilasciati in cavità orale, a causa dell'incompleta polimerizzazione del materiale, causando problemi come la creazione di crack tra il dente e il composito, con conseguente aumento di sensibilità e microlesioni. (Tantbirojn D. et al. 2011, I. Politi et al. 2018). La percentuale di monomero rilasciato dipende dal grado di polimerizzazione, (Ferracane JL. 1994) che a sua volta può variare a seconda della viscosità del monomero (Lovell LG. et al. 1999), della concentrazione di fotoiniziatore presente (Pfeifer CS. et al. 2009) e del riempitivo utilizzato (Koin PJ. et al. 2008). Il rilascio di queste sostanze chimiche può comportare importanti conseguenze biologiche negative, come effetti citotossici e genotossici (Moharamzadeh K. et al. 2007). Infatti, i monomeri sembrerebbero essere in grado di attraversare la dentina per entrare in contatto con le cellule pulpari, sebbene il composito non instauri un contatto diretto con queste cellule (Cetingüç A. et al. 2006). Le cellule della polpa dentale rivestono un ruolo chiave nella rigenerazione e riparazione del dente (Luo L. et al. 2018), per questo motivo è importante comprendere se possono esserci effetti negativi sulla vitalità cellulare o il differenziamento osteogenico durante l'utilizzo dei materiali da restauro. Poiché i compositi convenzionali presentano la problematica della polimerizzazione con possibile rilascio di monomeri, recentemente è stata sviluppata la nuova tecnologia ormocer. OrMoCer è l'acronimo di Ceramica Modificata Organicamente. Infatti, l'idea di base è quella di costruire una struttura inorganica in cui il metacrilato sia parzialmente sostituito da una componente inorganica, come le nanoparticelle di ceramica, in modo da ridurre il rilascio durante la polimerizzazione. Ad oggi in letteratura non sono riportati dati circa la biocompatibilità di questi compositi con le cellule della polpa dentale, un importante requisito per comprendere le conseguenze dell'utilizzo clinico del materiale nel tempo. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di confrontare due tipologie di composito

dentale valutandone la citotossicità sulle cellule della polpa dentale, e in che modo essi potrebbero influenzare il differenziamento osteogenico.

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	[REDACTED]

[REDACTED]

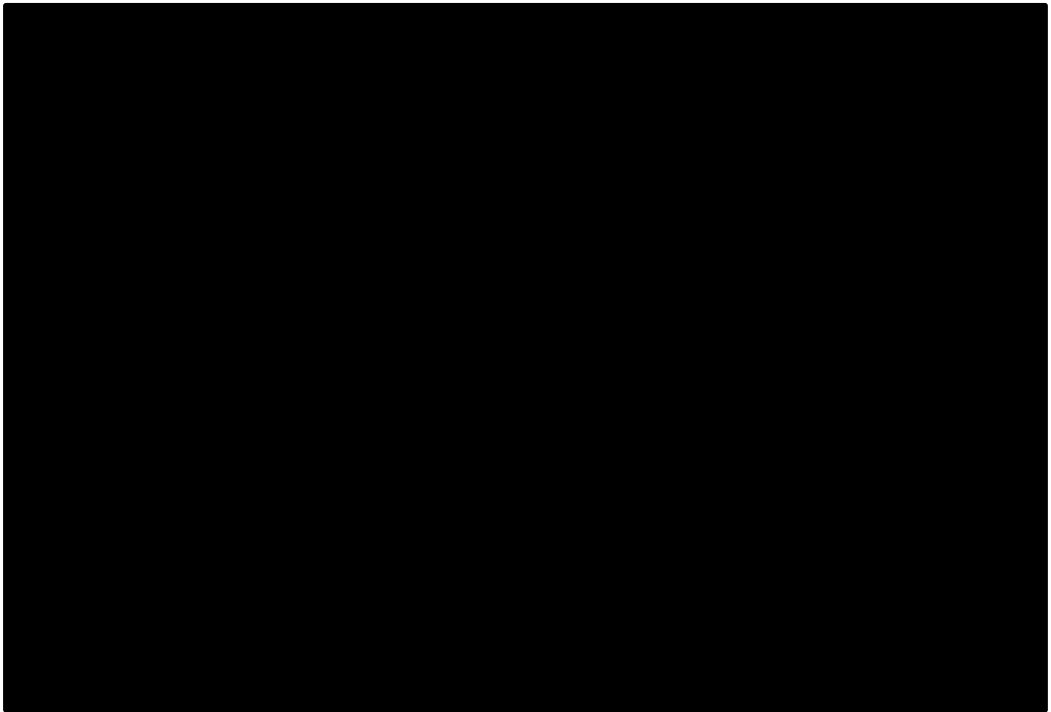
[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	[REDACTED]

[REDACTED]



[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

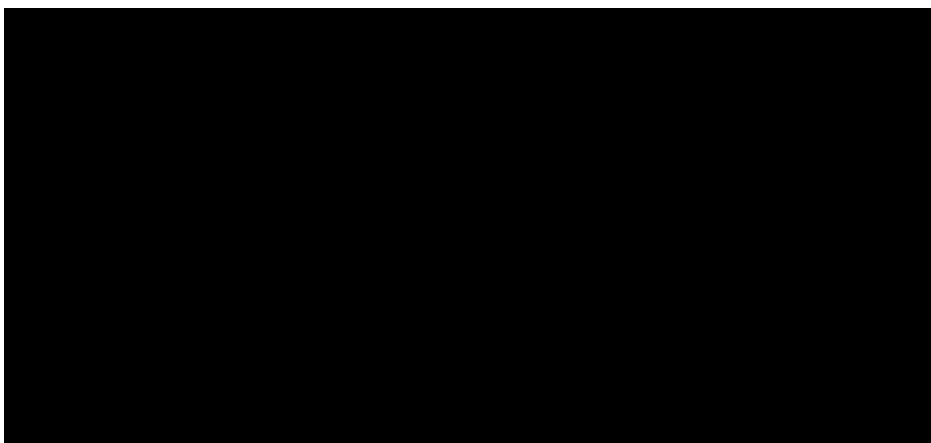
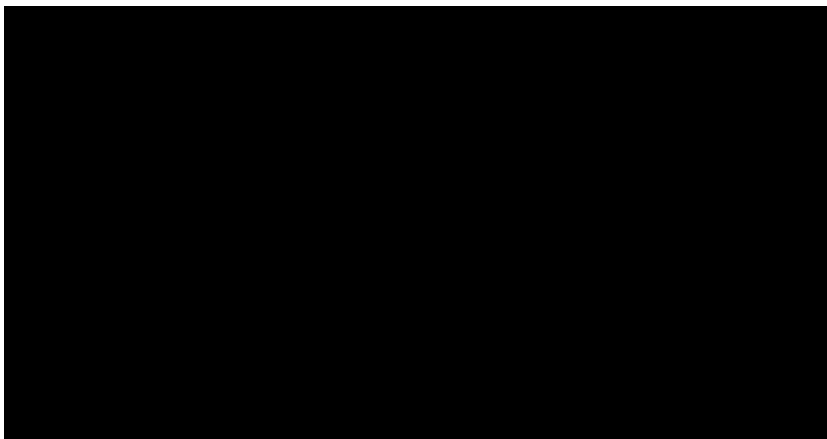
[REDACTED]

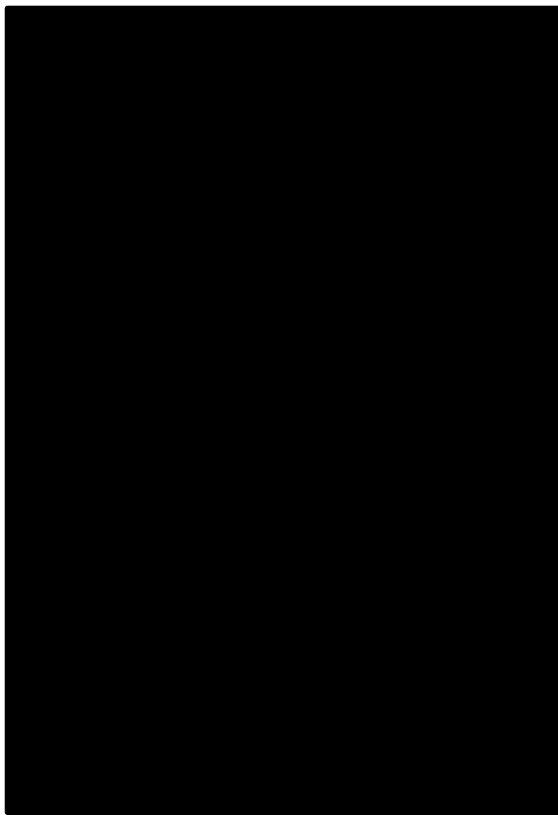
[REDACTED]

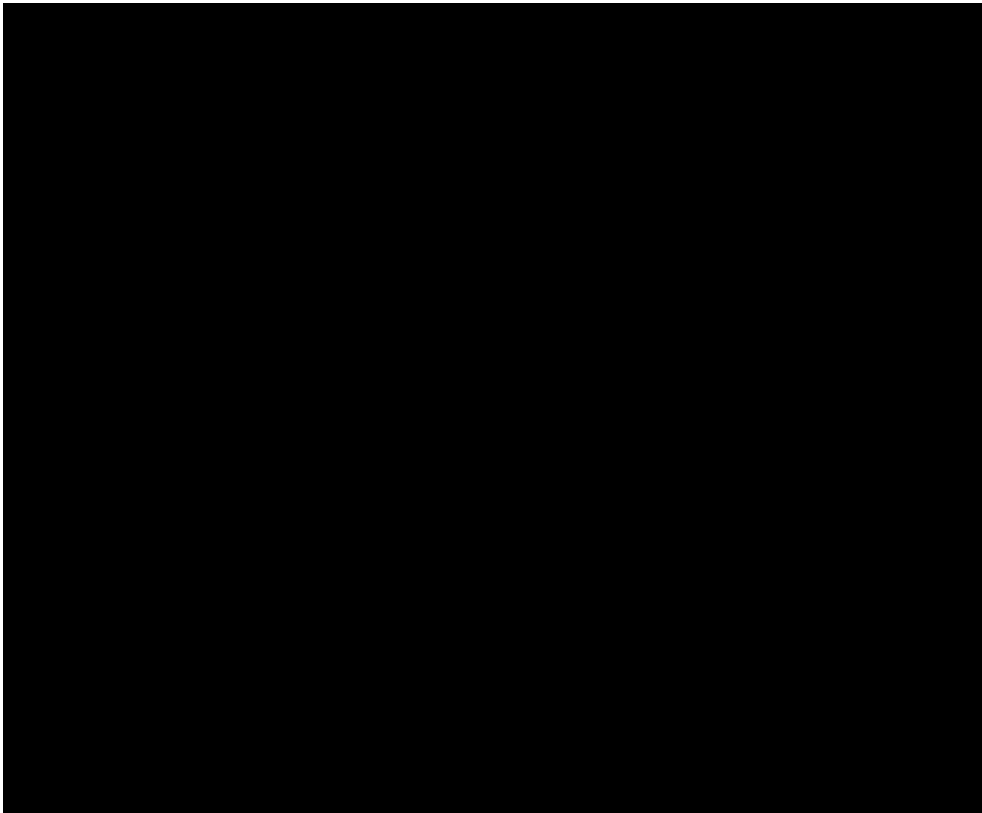
[REDACTED]

[REDACTED]

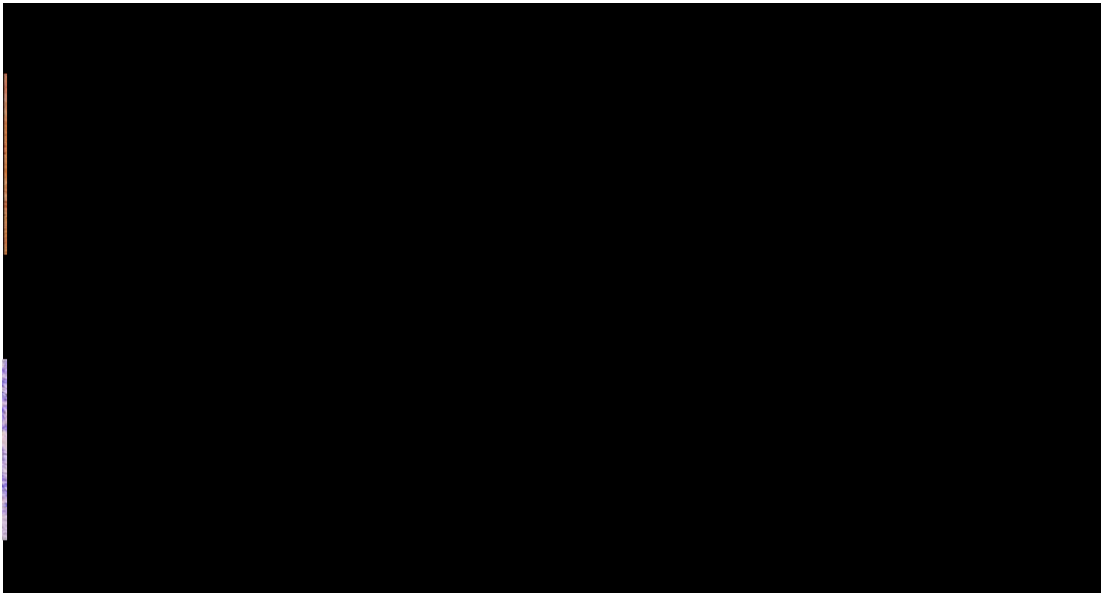
[REDACTED]







[REDACTED]



[REDACTED]

████████████████████

██████████

[REDACTED]

[REDACTED]

Bibliografia

Aghajani F, Hooshmand T, Khanmohammadi M, Khanjani S, Edalatkhah H, Zarnani AH, Kazemnejad S. Comparative immunophenotypic characteristics, proliferative features, and osteogenic differentiation of stem cells isolated from human permanent and deciduous teeth with bone marrow. *Mol Biotechnol*. 2016; 58:415–427.

Akgungor G, Akkayan B, Gaucher H. Influence of ceramic thickness and polymerization mode of a resin luting agent on early bond strength and durability with a lithium disilicate-based ceramic system. *J Prosthet Dent*. 2005; 94:234–41.

Alshali RZ, Salim NA, Sung R, Satterthwaite JD, Silikas N. Qualitative and quantitative characterization of monomers of uncured bulk-fill and conventional resin-composites using liquid chromatography/mass spectrometry. *Dent Mater*. 2015;31:711–20.

Anderson DJ et al (2001) Can stem cells cross lineage boundaries? *Nat Med* 7(4):393–395

Antonucci JM., Dickens SH., Fowler BO., Hockin H. K. Xu., McDonough WG. Chemistry of Silanes: Interfaces in Dental Polymers and Composites. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology* 110, 541-558 (2005).

Antonucci JM., Grams CL., Termini DJ. New initiator systems for dental resins based on ascorbic acid. *Journal Dental Research* 1979; 58: 1887–99.

Anusavice, K. J. 2003. *La scienza dei materiali dentali* di Phillip. WB Saunders Co. Filadelfia.

Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med* 2004 Jul-Sep; 8(3):301–16.

Baroudi K., Rodrigues JC. Flowable Resin Composites: A Systematic Review and Clinical Considerations 2015 DOI: 10.7860/JCDR/2015/12294.612.

Batouli S., Miura M, Brahim J, Tsutsui TW, Fisher LW, Gronthos S, Robey PG, Shi S. Comparison of stem cell-mediated osteogenesis and dentinogenesis. J Dent Res 2003 Dec; 82(12):976–81.

Bauer C.M., Kunzelmann K.H., Hickel Dtsch R. Zahnarztl. Z., Polymer composites for dental fillings. Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry (2016), pp. 335-338.

Bayne SC, Thompson JY, Swift Jr EJ, Stamatiades P, Wilkerson M. A characterization of first-generation flowable composites. J Am Dent Assoc 1998;129(5):567–77.

Blackham JT., Vandewalle KS., Lien W. Properties of hybrid resin composite systems containing prepolymerized filler particles. Oper dent 2009; 34:697-702.

Bowen RL. Adhesive bonding of various material to hard tooth tissues-VI. Forces developing in direct-filling materials during gardening. J Am Dent Assoc 1967;74(3):439-45.

Bowen RL. Dental filling material comprising vinyl silane treated fused silica and a binder consisting of the reaction product of Bis-phenol and glycidyl acrylate. US Patents No. 3066112. 1962.

Bowen RL. Method of preparing a monomer having phenoxy and methacrylate groups linked by hydroxy glyceryl groups. United States Patents No. 3179623. 1965.

Braga RR, Cesar PF, Gonzaga CC. Mechanical properties of resin cements with different activation modes. J Oral rehabilitation 2002; 29: 257–62.

Buonocore M.G. A simple method for increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. J Dent Res 1955; 34:849-853.

Cavalcante LM, Masouras K, Watts DC, Pimenta LA, Silikas N. Effect of nanofillers' size on surface properties after toothbrush abrasion. *American Journal of Dentistry*. 2009;22(1):60–64.

Cetingüç A, Olmez S, Vural N. HEMA diffusion from dentin bonding agents through various dentin thicknesses in primary molars. *Am J Dent* 2006; 19: 231-235

Chen M-H. Update on dental nanocomposites. *Journal Dental Research* 210; 89:549-60.

Combe CE. Dental acrylic polymers. In: Williams D, Cahn RW, Bever MB, eds. *Concise Encyclopedia of Medical and Dental Materials*. Oxford: Pergamon Press, 1990: 8–14.

Cook WD. Photopolymerization kinetics of dimethacrylates using the camphorquinone / amine initiator system. *Polymer* 1992; 33: 600–9. 1992; 33: 600–9.

Cramer NB, Stansbury JW, Bowman CN, Recent advances and developments in composite dental restorative materials, in *J Dent Res*, vol. 90, n° 4, Sage Publications, aprile 2011, pp. 402-416124354.

D.F. Williams Definitions in biomaterials. *Progress in biomedical engineering* 4 (p.72) Elsevier, Amsterdam (1987).

D.F. Williams On the mechanisms of biocompatibility *Biomaterials* 29(20) 2941-2953 (2008).

Dennison JB, Fan PL, Poteri JM. Surface roughness of microfilled composites. *J Am Dent Assoc*. 1981; 102:859–62.

El Banna Ahemed, Sherief Dalia, Fawzy Amr S. Resin-based dental composites for thooth filling. *Advanced dental biomaterials* 2019, pages 127-173.

Erdilek D, Dörter C, Koray F, Kunzelmann KH, Efes BG, Gomec Y. Effect of thermo-mechanical load cycling on microleakage in class II ormocer restorations. *Eur J Dent.* 2009; 3:200–5.

Feng L, Suh BI. The effect of polymerization modes on the polymerization shrinkage stress of a dual-cure composite. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006; 76: 196–202.

Ferracane JL. Current trends in dental composite resins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 1995; 6:302–318.

Ferracane JL. Current trends in dental composite resins. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 6 4:302–318.

Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil* 1994; 21: 441-452.

Ferracane JL. Resin composite: state of the art. *Dent Mater* 2011;27(1): 29-38.
Frédéric C., Faure AC. Dental composites. *Techniques de l'Ingénieur. Technologies Biomédicales*, 2021. hal-03453701.

Fugolin, A.P.P., Bacchi, A., Pfeifer, C.S. (2018). Reazione di polimerizzazione e cinetica. In: Miletic, V. (eds) *Dental Composite Materials for Direct Restorations*. Springer, Cham.

Giachetti L, Bertini F, Bambi C, Scaminaci Russo D. A rational use of dental materials in posterior direct resin restorations in order to control polymerization shrinkage stress. *Minerva Stomatol* 2007; 56:129-38.

Glenn JF. (1982) Composition and properties of unfilled and composite resin restorative materials. In *Biocompatibility of dental materials*, volume III. Eds. Smith DC + Williams DF, CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA, pp 97-130.

Goldberg M (2008) In vitro and in vivo studies on the toxicity of dental resin components: a review. Clin Oral Investig 12:1–8.

Greiwe K, Schottner G. ORMOCER: Eine neue Werkstoffklasse. FhG-Berichte 1990; 2:64-7.

Gronthos S, Mangani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci USA 2000 Dec 5; 97(25):13625-30.

Guggenberger R, Thalacker C, Syrek A, Stippschild A, Weinmann W. Hydrolytical stability of a silorane and three methacrylate composites. IADR 2005, Baltimore (MD, US). Abstract n. 3093.

Guilak F et al (2004) Adipose-derived adult stem cells for cartilage tissue engineering. Biorheology 41(3–4):389–399.

Honda MJ, Shinmura Y, Shinohara Y. Enamel tissue engineering using subcultured enamel organ epithelial cells in combination with dental pulp cells Cells Tissues Organs 2009; 189(1-4):261-7.

Hoseinifar R, Eskandarizadeh A, Lashkarizadeh L, Derakhshani A, Arjmand F. Cytotoxicity effects of nanohybrid, bulk-fill, and ormocer composites on dental pulp stem cells and human gingival fibroblast cells. Dent Res J (Isfahan). 2022 Nov 17;19:101. PMID: 36605150; PMCID: PMC9808008.

Ikemura K, Ichizawa K, Yoshida M, Ito S, Endo T. UV-VIS spectra and photoinitiation behaviors of acylphosphine oxide and bisacylphosphine oxide derivatives in unfilled and light cured dental resins. Dental Material Journal 2008; 27: 765–74.

Ilie N., Hickel R. Resin composite restorative materials. Aust Dent J 2011;56 Suppl 1:59-6642).

Koin PJ, Kilislioglu A, Zhou M, Drummond JL, Hanley L. Analysis of the degradation of a model dental composite. *J Dent Res* 2008; 87: 661-665.

Kolf C, Cho E, Tuan R. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res Ther* 2007; 9(1):204

Kumbuloglu O, Lassila LV, User A, Vallittu PK. Study of the physical and chemical properties of four resin composite lubricating cements. *Int J Prosthodont* 2004; 17: 357–63.

Kunzelmann KH. Komposite – komplexe Wunder moderner Dentaltechnologie. Teil Füllkörpertechnologie. *Ästhetische Zahnmedizin* 2007; 10(3): 14-24.

Kwon T.Y.; Bagheri, R.; Kim,Y. K.; Kim, K.H.; Burrow, M.F. Mechanisms of care in materials for use in cosmetic dentistry *Journal of Investigative Clinical Dentistry*. 2012, 3, 3.

L. Luo, Y. He, X. Wang et al., “Potential roles of dental pulp stem cells in neural regeneration and repair,” *Stem Cells International*, vol. 2018, Article ID 1731289, 15 pages, 2018.

Laino G, D’Aquino R, Graziano A, Lanza V, Carinci F, Naro F, Pirozzi G, Papaccio G. A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). *J Bone Miner Res* 2005 Aug; 20(8):1394-1402.

Lee IB., Son HH., Um CM. Rheologic properties of flowable, conventional hybrid, and condensable composite resins. *Dent Mater* 2008; 24:1501-5.

Leprince J., Palin W.M., Mullier T., Devaux J., Vreven J., Leloup G. Study of the morphology of the filler and of the mechanical properties of new low shrinkage resin composite types. *Journal of Oral Rehabilitation*, 37 (2010), pp. 364-376.

Lovell LG, Newman SM, Bowman CN. The effects of light intensity, temperature, and comonomer composition on the polymerization behavior of dimethacrylate dental resins. *J Dent Res* 1999; 78: 1469-1476.

Lu H, Mehmood A, Chow A, Powers JM. Influence of cure mode on a properties of aesthetic resin lubricants. *J Prosthet Dent* 2005; 94: 549–54.

Mahmoud S.H.; El-Embaby, Abeer E.; Abdallah, Mohamed A.; Hamama H H. Two-year clinical evaluation of ormocer, nanohybrid and nanofill composite restorative systems in posterior teeth. *Journal of Adhesive Dentistry* Volume 10, Issue 4, Pages 315 – 322 2008.

Manhart J. Charakterisierung direkter zahnärztlicher Füllungsmaterialien für den Seitenzahnbereich. Alternativen zum Amalgam? *Quintessenz* 2006; 57(5): 465-81.

Manhart J. et al. Randqualität von Ormocer- und Kompositfüllungen in Klasse-II-Kavitäten nach künstlicher Alterung. *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* 1999; 54: 89-95.

Manojlovic D, Radisic M, Vasiljevic T, Zivkovic S, Lausevic M, Miletic V (2011) Monomer elution from nanohybrid and ormocer- based composites cured with different light sources. *Dent Mater* 27:371–378.

Masouras K, Silikas N, Watts DC. Correlation of filler content and elastic properties of resin-composites. *Dental Materials*. 2008;24(7):932–939.

Mathew L., Joseph R, Krishnan VK. Effect of amine activators on the properties of chemically cured dental composites. *J Biomater Appl* 1997; 11: 349–59.

Miletic, V. (2018). Sviluppo di compositi dentali. *Dental Composite Materials for Direct Restorations*. Springer, Cham. doi.org/10.1007/978-3-319-60961-4_1.

Moharamzadeh K, Van Noort R, Brook IM (2007) HPLC analysis of components released from dental composites with different resin compositions using different extraction media. *J Mater Sci Mater Med* 18:133–137.

Moszner N, Salz U. New developments of polymeric dental composites. *Progress in Polymer Science*. 2001;26(4):535–576.

Moszner N., Salz U. (2001) New developments of polymeric dental composites. *Progress in Polymer Science* 26(4) 535-576.

Moszner N., Völkel T., Cramer von Clausbruch S., Geiter E., Batliner N., Rheinberger V. Sol-Gel Materials, 1. Synthesis and Hydrolytic Condensation of New Cross-Linking Alkoxysilane Methacrylates and Light-Curing Composites Based upon the Condensates. *Macromol Mater Eng* 2002; 287:339-47.

Musanje L, Ferracane JL, Sakaguchi RL. Determination of the optimal concentration of photoinitiators in dental composites based on the essential properties of the material. *Dent Mater* 2009; 25: 994-1000.

Nicholson J., Beata C. Composite resins. *Materials for the Direct Restoration of Teeth* 2016, Pages 37-67.

Palin WM, Fleming GJP, Nathwani H, Burke FJT, Randall RC. In vitro cuspal deflection and microleakage of maxillary premolars restored with novel low-shrink dental composites. *Dent Mat* 2005; 21:324-35.

Peutzfeldt A. Resin composites in dentistry: the monomer systems. *European Journal of Oral Sciences*. 1997;105(2):97–116.

Pfeifer CS, Ferracane JL, Sakaguchi RL, Braga RR. Photoinitiator content in restorative composites: influence on degree of conversion, reaction kinetics, volumetric shrinkage and polymerization stress. *Am J Dent* 2009; 22: 206-210.

Politi, L. E. J. McHugh, R. S. al-Fodeh, and G. J. P. Fleming, “Modification of the restoration protocol for resin-based composite (RBC) restoratives (conventional and bulk fill) on cuspal movement and microleakage score in molar teeth,” *Dental Materials*, vol. 34, no. 9, pp. 1271–1277, 2018

Pratap B., Kant Gupta R., Bhardwaj B., Nagc M., Resin based restorative dental materials: characteristics and future perspectives. *Japanese Dental Science Review* 2019 Nov; 55(1): 126–138.

Rueggeberg FA Caughman WF. The influence of light exposure on the cure of dual-cure resin cements. *Oper Dent* 1993; 18: 48–55.

Schubert A, Ziegler C, Bernhard A, Bürgers R, Miosge N. Cytotoxic effects to mouse and human gingival fibroblasts of a nanohybrid ormocer versus dimethacrylate-based composites. *Clin Oral Investig*. 2019 Jan;23(1):133-139. doi: 10.1007/s00784-018-2419-9. Epub 2018 Mar 30. PMID: 29603022.

Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007;369(9555): 51-9.

Sideridou ID, Achilias DS, Karava O. Reactivity of the benzoyl peroxide / amine system as an initiator for free radical polymerization of dental and orthopedic monomers dimethacrylate: effect of the chemical structure of the amine and monomer. *Macromolecules* 2006; 39: 2072–80.

Sideridou ID, Karabela MM, Vouvoudi E. Physical properties of current nano-curing and nanofill dental photopolide resin composites. *Dent Mater*. 2011; 27: 598–607.

Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Bègue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol* 1995 Feb; 39(1):273-80.

Smith CE, Wazen R, Hu Y, Zalzal SF, Nanci A, Simmer JP, Hu JC. Consequences for enamel development and mineralization resulting from loss of function of ameloblastin or enamelin. *Eur J Oral Sci* 2009 Oct; 117(5): 485-97.

Söderholm K-JM. Influence of silane treatment and filler fraction on thermal expansion of composite resins. *Journal of Dental Research*. 1984;63(11):1321–1326.

Sun GJ, Chae KH. Properties of 2,3-butanedione and 1-phenyl-1,2-propanedione as novel photosensitizers for visible light dental resin composites. *Polymer* 2000; 41: 6205–12.

Taher NM. Comparative study of composite, compomers and ormocer biaxial flexural strength. *Saudi Dent J.* 2002; 14:7–10.

Van Dijken JWV, Wing KR, Ruyter IE. An evaluation of the radiopacity of composite restorative materials used in Class I and Class II cavities. *Acta Odontologica Scandinavica.* 1989;47(6):401–407.

Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J et al. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials* 2007; 28: 3757–85.

Volponi AA, Pang Y, Sharpe PT. Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends Cell Biol* 2010 Dec; 20(12):715-22

Watts D, Silikas N. In situ photopolymerization and polymerization-shrinkage phenomena. In: Eliades G, Watts DC, Eliades T, eds. *Dental hard tissues and interfacial bonding phenomena and related properties*. Berlin: Springer-Verlag, 2005: 123–54.

Watts D., Silikas N. In situ photopolymerization and polymerization-shrinkage phenomena. In: Eliades G, Watts DC, Eliades T, eds. *Dental hard tissues and interfacial bonding phenomena and related properties*. Berlin: Springer-Verlag, 2005: 123–54.

Weinmann WC, Thalacker, Guggenberger R. Siloranes in dental composites. *Dent Mater* 2005;21(1):68-74.

Wolter H, Storch W, Ott H. Dental filling materials (posterior composites) based on inorganic/organic copolymers (ORMOCERs). *MACRO AKRON*, 1994 (35th IUPAC, International Symposium on Macromolecules, Ohio, Proceedings): p. 503.

Wolter H, Storch W, Ott H. Dental filling materials (posterior composites) based on inorganic/organic copolymers (ORMOCERs). *MACRO AKRON* 1994;503.

Wolter H., Storch W, Ott H. New inorganic/organic copolymers (ORMOCERs) for dental applications. Materials Research Society Symposia Proceedings 1994; 346:143-9.

Zandinejad, A., Atai, M. and Pahlevan, A. (2006), "The effect of ceramic and porous fillers on the mechanical properties of experimental dental composites", Dental Materials, 22, 382-387.

Zimmerli B, Strub M, Jeger F, Stadler O, Lussi A, Composite materials: composition, properties and clinical applications. A literature review, in Schweiz Monatsschr Zahnmed, vol. 120, n° 11, Unbound Medicine, 2010, pp. 972-986.