



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
ESCUELA DE GRADUADOS
MAGISTER EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
MENCIÓN CARIOLOGÍA**

**“SÍNTESIS DE RESINAS COMPUESTAS A BASE DE NANOPARTÍCULAS
CERÁMICAS CON PROPIEDADES REMINERALIZANTE Y DE LIBERACIÓN
DE FLUORURO”.**

Verónica Tapia Monardes

**TRABAJO DE INVESTIGACION
REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE
MAGISTER EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

**TUTOR PRINCIPAL:
Prof. Dr. Cristian Covarrubias Gallardo**

**TUTOR ASOCIADO:
Prof. Dr. Mario Díaz Dosque**

FINANCIAMIENTO: Proyecto U-Redes Nanotecnología para Aplicaciones Biomédicas.

**Santiago – Chile
2017**

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
ESCUELA DE GRADUADOS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS MENCIÓN CARIOLOGÍA

Se informa al Consejo de Posgrado de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, que la Tesis de Magíster en Ciencias Odontológicas presentada por la candidata:

Verónica Tapia Monardes

ha sido aprobada por la Comisión Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Odontológicas, mención Cariología, en examen rendido en Julio de 2017

COMISIÓN INFORMANTE DE TESIS

Nombre Evaluador

Nombre Evaluador

Nombre Evaluador

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos que con su apoyo lo hicieron posible.

Gracias

INDICE

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
ASPECTOS TEÓRICOS.....	5
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVOS.....	14
METODOLOGÍA.....	15
• Síntesis de nanopartículas.....	15
- Síntesis de nanopartículas de vidrio bioactivo fluorado.....	15
- Síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita fluorada.....	16
• Caracterización de las nanopartículas.....	17
• Preparación de la resina nanocompuesta.....	17
• Ensayo de mineralización en fluido corporal simulado.....	18
• Liberación de fluoruro.....	19
• Evaluación de las propiedades mecánicas.....	20
• Restauraciones con resinas nanocompuestas en dientes naturales.....	20
RESULTADOS.....	23
• Caracterización de las nanopartículas.....	23
- Difracción de Rayos X.....	23
- Análisis TEM.....	24
- Análisis FTIR-ATR.....	25

• Caracterización estructural de las resinas nanocompuestas.....	26
- Análisis SEM-EDS.....	27
- Análisis FTIR-ATR.....	28
• Evaluación de las propiedades mecánicas.....	29
• Ensayo de bioactividad en SBF.....	31
- Análisis SEM.....	31
- Análisis DRX.....	32
- Análisis FTIR-ATR.....	34
• Liberación de fluoruro.....	36
• Ensayo de bioactividad mediante un modelo <i>ex vivo</i> en diente.....	37
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES.....	50
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	51

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue sintetizar nanopartículas de hidroxiapatita y vidrio bioactivo, para utilizarlas como relleno inorgánico en resinas nanocompositas y probar su capacidad de inducir mineralización de apatita en el margen de las restauraciones, la capacidad de liberar fluoruro y sus propiedades mecánicas.

Mediante técnica sol-gel se sintetizaron nanopartículas de vidrio bioactivo (nFBG) y nanopartículas de hidroxiapatita (nFHA) con fluoruro en su estructura. Las partículas se caracterizaron mediante difracción de rayos-X (DRX), microscopía electrónica de transmisión (TEM), espectroscopía infrarrojo (FTIR-ATR). Las nanopartículas se utilizaron como relleno inorgánico en la síntesis de resinas nanocompositas ftopolimerizables a partir de los monómeros Bis-GMA y TEGDMA. En una primera etapa, la bioactividad de las resinas nanocompósitas se evaluó por su capacidad de inducir la formación de apatita en fluido corporal simulado (SBF). La capacidad de liberar fluoruro de las resinas se midió en solución tamponada a pH 5,5 y sus propiedades mecánicas fueron evaluados mediante medición de la resistencia compresiva en una Maquina Universal de Ensayos. En la segunda etapa se prepararon restauraciones utilizando las resinas nanocompuestas en dientes naturales

extraídos y se comprobó la capacidad de los materiales de inducir mineralización de apatita a través de inmersión en saliva artificial y posterior análisis de la interfase mediante microscopia electrónica de barrido (SEM).

Se logró obtener mineralización de apatita con las nanoresinas sintetizadas con ambos tipos de nanopartículas, observándose que la resina con nFBG es la que produce una mayor formación de apatita y en menor tiempo que la resina cargada con nFHA. Se observó que ambas partículas mejoran las propiedades mecánicas de la resina respecto al control de resina in carga inorgánica. Cuando las resinas nanocompositas fueron aplicadas en una cavidad dental *in vitro* y luego sometidas a inmersión en saliva artificial, se encontró que ambas producen mineralización en el margen de la restauración, y que la resina con nFBG produce una capa mineral más densa y compacta que la formada por la resina cargada con nFHA.

Las nanopartículas utilizadas en este estudio le otorgan a una resina dental propiedades bioactivas para inducir la formación de apatita, similar a la del tejido dental, en el margen diente-restauración; lo cual podría mejorar la longevidad de la restauración, disminuir la colonización bacteriana en la interfase y con ello reducir la posibilidad de formación de caries secundarias.

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de lesiones de caries secundarias, especialmente en el margen cervical, es una de las razones más frecuente de remplazo de las restauraciones (Jokstad, 2016). Esto ha llevado a centrar los esfuerzos en desarrollar materiales restauradores con propiedades de liberación de fluoruro para mejorar la resistencia del esmalte al ataque ácido producto del metabolismo bacteriano. Entre estos materiales se encuentran el cemento de vidrio ionómero por su capacidad de liberar flúor y últimamente resinas compuestas con la misma propiedad (Wiegand, Buchalla, & Attin, 2007). Por otro lado, el estudio de cerámicas bioactivas en odontología, capaces de inducir mineralización, hacen pensar en la idea de lograr el sellado de la brecha diente–restauración mediante la precipitación de minerales consiguiendo la unión química de la restauración al diente; lo cual disminuiría la probabilidad del desarrollo de lesiones de caries secundarias. El vidrio bioactivo (BG) y la hidroxiapatita (HA) son biocerámicas de comprobada capacidad para estimular la formación de tejido mineralizado (Sauro et al., 2013).

La mayoría de los estudios con BG y HA han sido realizados con partículas de tamaño micrométrico. Actualmente los avances en las técnicas de nanomateriales, permite la síntesis de partículas de BG y HA con tamaño

nanométrico; las cuales se espera que presenten mejorada bioactividad con respecto a su contraparte micrométrica (Pathak & Preuss, 2013). Adicionalmente, la incorporación de iones fluoruro a las nanopartículas le podría otorgar propiedades de liberación de este elemento, permitiendo que puedan presentar cierta capacidad para controlar la formación de caries; por ejemplo, al ser usado como nanorrelleno en la síntesis de resinas dentales compuestas.

El objetivo de esta investigación es sintetizar nanopartículas de nFBG y nFHA para ser utilizadas como relleno inorgánico en la preparación de una resina nanocompuesta con propiedades bioactivas de inducir mineralización de apatita y liberar fluoruro. La síntesis de las nanopartículas se realizó por medio de la técnica sol-gel incorporando ion flúor en el proceso. Luego de caracterizar estas nanopartículas, se utilizaron como relleno inorgánico en la síntesis de una resina nanocompuesta de fotocurado, a partir de los monómeros Bisfenol-A-glicidil metacrilato (Bis-GMA) y Trietilen glicol dimetacrilato (TEGDMA). La capacidad de las resinas sintetizadas para inducir mineralización y liberar fluoruro fue evaluada en ensayos de mineralización en SBF y Saliva artificial y en una solución a pH 5,5, respectivamente. Los materiales y la mineralización fueron caracterizados mediante DRX y microscopía SEM y TEM. Mientras que las propiedades mecánicas de las resinas se determinaron mediante un instrumento de ensayos mecánicos.

2. ASPECTOS TEÓRICOS

Los materiales dentales de restauración cumplen el objetivo de reemplazar la estructura dentaria perdida, ya sea por lesión de caries o traumatismo, de este modo el diente recupera su morfología y función. Una característica deseable de los materiales de restauración, además de biocompatibilidad y resistencia, es que posea alguna propiedad orientada a prevenir el desarrollo de nuevas lesiones de caries en el margen de las restauraciones (Nedeljkovic, Teughels, De Munck, Van Meerbeek, & Van Landuyt, 2015). El desarrollo de caries secundaria es uno de los problemas más comunes que enfrenta la odontología restauradora, denominadas de esta forma debido a que su desarrollo ocurre en el margen de una restauración. En la actualidad se invierte una gran cantidad de recursos y tiempo clínico en el recambio de estas restauraciones (Burke, Wilson, Cheung, & Mjör, 2002).

La etiología de la caries secundaria es la misma de la lesión primaria, ambas se deben al desbalance entre la pérdida y ganancia de minerales por parte del esmalte; es decir los factores que lideran la desmineralización son mayores que los factores protectores que lideran la remineralización de los tejidos duros del diente, por lo tanto, ocurre una disolución lenta y progresiva del esmalte dental (González-Cabezas, 2010)(Sciences & Francisco, 2004).

Esta pérdida de minerales de la superficie del esmalte es consecuencia del cambio en el pH del medio ambiente bucal producto del metabolismo bacteriano, la ingesta de carbohidratos fermentables provoca que las bacterias acidógenas mantengan bajo el pH, lo que inhibe el crecimiento de bacterias asociadas a esmalte sano, favoreciendo la proliferación de bacterias acidógenas, lo que prolonga el tiempo que se mantiene el pH cariogénico, determinando la desmineralización del esmalte (Marsh, 2010)(Nedeljkovic et al., 2015).

Con el propósito de reducir la formación de caries secundarias, se utiliza fluoruro en algunos materiales restauradores como el cemento de vidrio ionómero y resinas compuestas. La acción del fluoruro como agente anticariogénico es conocida; se puede incorporar a la estructura mineral del esmalte dental, pues en presencia de este ion se favorece la formación de hidroxiapatita enriquecida con flúor (FHA) debido al intercambio del grupo Hidroxilo (OH) por ion Flúor, reduciendo la solubilidad del esmalte, pues la FHA es más resistente al ácido del medio ambiente bucal ya que su pH crítico es 4,5 y el de la HA es 5,5 (Wiegand et al., 2007). El fluoruro presenta también la capacidad de interferir en la formación de la película adquirida del esmalte y placa bacteriana por diferencia de carga eléctrica, además inhibe el crecimiento y metabolismo microbiano al interferir con la vía glucolítica de las bacterias por

lo que contribuye a que el pH no descienda a valores cariogénicos (ten Cate, 2013).

El cemento de vidrio ionómero es un biomaterial de restauración que libera fluoruro, el cual además se comporta como un reservorio de este ion y tiene la característica de unirse químicamente a la estructura dentaria, pero sus propiedades mecánicas y ópticas son deficientes limitando su uso, por lo que se ha buscado mejorar estas propiedades modificándolos con resinas compuestas (Sidhu, 2010). Las resinas compuestas en cambio presentan mejores propiedades mecánicas y ópticas, pero la mayoría de ellas no liberan fluoruro; y la cantidad de ion liberado por estos materiales dependerá del tipo y tamaño de la partícula fluorada de relleno y también del tipo de monómero que formará el polímero. Si se compara la cantidad de ion liberado por las resinas compuestas con la del cemento de vidrio ionómero, éstos últimos liberan una mayor cantidad (Wiegand et al., 2007).

En este enfoque preventivo, se busca desarrollar materiales de restauración terapéuticos que sean altamente bioactivos. Un material bioactivo es aquel capaz de inducir una respuesta biológica específica en un tejido vivo, que resulta en la unión entre el tejido y el material; esta unión se forma porque el material es capaz de generar una capa de HA al estar en contacto con fluidos biológicos (Marghussian, 2015). Hench et al., definieron las biocerámicas, como

un tipo de cerámicas sintéticas capaces de unirse a tejido óseo, las cuales están compuestas de óxido de sílice, óxido de calcio y fosfato, donde el sílice tendría el rol de iniciar el proceso de mineralización (Jones, 2015).

La presencia de iones calcio (Ca) y fosfato (P) en el medio ambiente bucal puede inducir la formación de apatita, lo que favorece la remineralización del esmalte dental (Pathak & Preuss, 2013), es por esta razón que se están desarrollando resinas compuestas experimentales con relleno inorgánico bioactivo, utilizando partículas de HA, BG y fosfato de calcio amorfo (TCP), con el fin de producir liberación de Ca, P y sílice (Si), de modo de promover los procesos de remineralización de esmalte y dentina (Osorio & Toledano, 2015).

El BG es la biocerámica más estudiada y utilizada para aplicaciones biomédicas, es biocompatible y bioactivo capaz de inducir remineralización de esmalte y dentina, pues en contacto con fluidos biológicos libera iones Si, P y Ca, los cuales quedan disponibles para promover los procesos de remineralización (Jones, 2015)(Madan, Madan, Sharma, Gulati, & Pardal, 2011). Es un material sintético, amorfo, constituido por Si, formando una red tridimensional mediante enlaces de oxígeno (Si-O-Si), además contiene Ca, P y sodio (Na), que son elementos que estimulan la formación de hidroxiapatita ósea y dental, por esta razón tiene la característica de ser osteoinductor y su

capacidad de promover la neoformación ósea está clínicamente probada (Jones, 2015) .

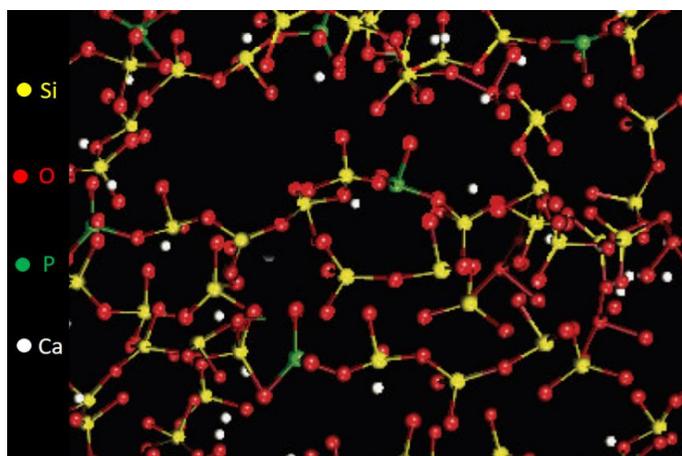


Figura 1: Esquema de la estructura química del BG

De acuerdo a algunos estudios las partículas de BG también presentan actividad antimicrobiana contra patógenos presentes en enfermedad periodontal y caries (Khvostenko, Hilton, Ferracane, Mitchell, & Kruzic, 2016). La pasta dental Sensodyne repara y protege contiene NovaMin®, que son partículas finas de BG (~18 μm), capaces de adherirse a la superficie de la dentina y formar una capa de HA similar a la natural; este dentífrico es utilizado para el tratamiento de la sensibilidad dentinaria (Jones, 2015).

La síntesis de nanopartículas de BG (nBG) se realiza mediante la técnica sol-gel, la cual utiliza precursores de sílice en una suspensión coloidal que

gelifica para formar las nanopartículas, esta reacción ocurre a temperaturas menores que el proceso tradicional de síntesis de BG (fusión). Por este método se obtienen partículas de tamaño nanométrico (1 – 100 nm), éstas son partículas más reactivas que las de tamaño micrométrico (Nabian, Jahanshahi, & Rabiee, 2011).

Por otra parte, la HA también es una biocerámica sintética, su fórmula general es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; es similar en estructura y composición a la HA del esmalte humano y tejido óseo, por lo que es altamente biocompatible, no tóxica, bioactiva y logra unión química con los tejidos duros; a pesar de sus evidentes ventajas es poco reactiva por su alta cristalinidad (Okada & Matsumoto, 2015) (Zhou & Lee, 2011).

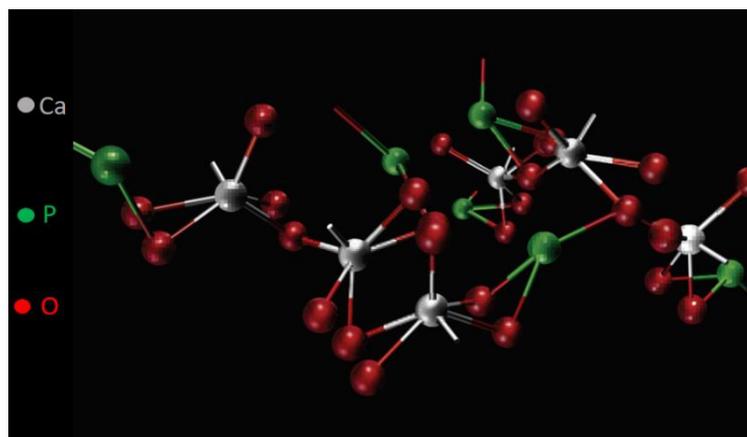


Figura 2: Esquema de la estructura química de HA

Esta biocerámica presenta efecto remineralizante de esmalte y dentina, un estudio *in vitro* realizado en dientes de bovino, utilizando nanopartículas de HA (nHA) en una pasta dental logró una marcada remineralización de la dentina y el esmalte (Tschoppe, Zandim, Martus, & Kielbassa, 2011).

La investigación en el último tiempo se ha enfocado en desarrollar materiales nanoestructurados y estudiar sus propiedades biológicas y mecánicas. Las nanopartículas optimizan las propiedades mecánicas del biomaterial, por su menor tamaño es posible incorporar una mayor cantidad de relleno a la resina compuesta y de acuerdo a la teoría del efecto de reforzamiento de polímeros con nanorellenos, un mayor contenido de nanopartícula reduce la movilidad de las cadenas de polímero, lo que aumenta la temperatura de transición vítrea (T_g), mejorando así las propiedades mecánicas y su estabilidad en la cavidad bucal (Sauro et al., 2013). Otra ventaja de las nanopartículas bioactivas sobre las de tamaño micrométrico de igual composición química, es principalmente su mayor reactividad debido a que presentan una mayor área de superficie para la reacción y una elevada energía superficial (Sheng, Gong, Hu, Chen, & Dong, 2016). Además de lo anterior se mejora el pulido de estos materiales al incorporar partículas de relleno inorgánico de tamaño nanométrico, pues se obtiene una superficie menos rugosa dificultando la adhesión de placa bacteriana a la superficie de la

restauración, lo que, sumado a la optimización de sus propiedades mecánicas, aumentaría el tiempo de vida útil de las restauraciones (Pathak & Preuss, 2013).

Respecto a la incorporación de BG en resinas compuestas, Sauro et al., probaron las propiedades remineralizantes de resinas compuestas experimentales fotopolimerizables con microrrelleno bioactivo, encontrando un importante precipitado mineral en la superficie de la dentina después de la inmersión en SBF y al análisis de DRX se comprobó la remineralización de la dentina por formación de apatita (Sauro et al., 2013). También se ha investigado su capacidad de remineralizar lesiones incipientes del esmalte, al aplicar partículas de tamaño micrométrico como pasta sobre el esmalte desmineralizado, obteniéndose una capa de HA resistente a la abrasión (Bakry, Takahashi, Otsuki, & Tagami, 2013). Tauböck et al. comprobó que es posible incorporar nBG a un sistema adhesivo comercial basado en una matriz polimérica a base de Bis-GMA y TEGDMA (Heliobond, Ivoclar Vivadent®), transformándolo en un material bioactivo (Tauböck et al., 2014). Sin embargo, no se han encontrado reportes acerca de la incorporación de nBG en resinas compuestas para restauración. En cuanto a la HA, se ha probado la capacidad de mejorar las propiedades mecánicas de un vidrio ionómero (Barandehfard et al., 2016). También se ha estudiado la incorporación de nanopartículas de TCP

a resinas compuestas de restauración experimentales, encontrándose menor pérdida de mineral en el esmalte adyacente a la restauración con la resina compuesta experimental que en el esmalte adyacente a la restauración control (Melo, Weir, Rodrigues, & Xu, 2013) debido a la liberación de iones Ca y P al ambiente bucal, postulando que sería efectivo para reducir la formación de lesiones de caries secundaria. Buscando mantener por mayor tiempo esta liberación de iones, Zhang et al., desarrollaron una resina compuesta experimental utilizando nanopartículas de TCP con la propiedad de recargar y volver a liberar iones Ca y P (Zhang, Weir, Hack, Fouad, & Xu, 2015).

De acuerdo a lo expuesto anteriormente, la incorporación de nanopartículas de nBG como relleno a una resina compuesta de restauración, podría lograr un material con propiedades bioactivas para inducir la formación de apatita similar a la del tejido dental en el margen diente-restauración, lo cual podría mejorar la longevidad de la restauración, disminuir la colonización bacteriana en la interfase y con ello reducir la posibilidad de formación de caries secundarias.

3. HIPÓTESIS

Resinas dentales nanocompuestas preparadas utilizando como relleno nanopartículas de vidrio bioactivo fluorado, presentan propiedades de promover mineralización de apatita y de liberación de iones fluoruro.

4. OBJETIVOS

Objetivo general:

Sintetizar resinas dentales nanocompuestas utilizando como relleno nanopartículas de vidrio bioactivo fluorado para generar una resina con propiedades mineralizante y de liberación de fluoruro.

Objetivos específicos:

- Sintetizar y caracterizar la estructura de nanopartículas de nFBG y nFHA.
- Sintetizar y caracterizar resinas nanocompuestas utilizando como relleno inorgánico nanopartículas de nFBG y nFHA.
- Evaluar las propiedades *in vitro* de inducir mineralización de apatita de la resina nanocompuesta preparada con partículas de nFBG y nFHA.
- Evaluar la bioactividad de las resinas nanocompuestas aplicadas como restauración en un modelo *ex – vivo*.

5. METODOLOGÍA

5.1. Síntesis de nanopartículas

5.1.1 Síntesis de nanopartículas de vidrio bioactivo fluorado

El procedimiento para la síntesis de nanopartículas de BG se basó en el método descrito por Hong y cols. (Hong, Reis, & Mano, 2009), modificado para la incorporación de fluoruro en la partícula. Se preparó una solución por técnica sol-gel, diluyendo tetraetilortosilicato (TEOS) como precursor de sílice y fluoruro de sodio como precursor de flúor, luego esta solución se agregó a una solución de nitrato de calcio preparada en agua destilada a temperatura ambiente en agitación, el pH se ajustó entre 1 – 2 agregando ácido cítrico.

La reacción de mezcla se mantuvo en agitación hasta obtener una solución homogénea y transparente. Luego se agregó a una solución preparada con fosfato de amonio y fluoruro de amonio en agua destilada, esto se realizó en agitación y el pH se ajustó entre 10 – 11 con amoníaco. La solución resultante se mantuvo en agitación por 48 horas y posteriormente se dejó en reposo por 24 horas para obtener el precipitado. Las partículas se separaron por centrifugado, se lavaron mediante 3 ciclos dispersión – centrifugado con

agua destilada y finalmente se dispersaron en solución de agua – polietilenglicol. Las nanopartículas fueron obtenidas por liofilización seguida de calcinación a 700°C por 3 horas.

5.1.2 Síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita fluorada

La síntesis de estas nanopartículas se basó en el método descrito por A. Moshaverinia et al. (Moshaverinia et al., 2008), el cual se adaptó para la incorporación de fluoruro en la partícula. Se prepara una solución de nitrato de calcio 1 M, esta solución se incorpora bajo agitación a una solución de monofosfato de amonio 0,6 M, con fluoruro de amonio (NH₄F) adicionado.

La solución resultante se ajusta a pH 11 con amoníaco, se mantiene en agitación por 1 hora, luego se deja reposar por 24 horas a temperatura ambiente, para obtener el precipitado. Las partículas son separadas por centrifugado, se lavaron mediante 3 ciclos dispersión – centrifugado con agua destilada, luego se secó el material obtenido a 40°C por 24 horas y se calcinó a 700°C por 3 horas.

5.2 Caracterización de las nanopartículas.

Las partículas obtenidas fueron identificadas y analizadas por DRX y FTIR-ATR. El tamaño de las nanopartículas se estimó mediante microscopía TEM.

5.3 Síntesis de la resina nanocompuesta.

La matriz orgánica está constituida por los monómeros Bis-GMA y TEGDMA, ambos monómeros se mezclan en proporciones iguales en baño ultrasónico a 40°C, por 10 minutos. Como relleno inorgánico se incorporan las nanopartículas nFHA y nFBG, en una relación en peso de 20%, 40% y 60%. Las partículas se incorporan a los monómeros en porciones pequeñas mezclando con una espátula y para homogenizar la mezcla se deja en el baño ultrasónico por 5 minutos. Posteriormente se agrega canforquinona (CQ) y 4-EDMAB (4-N, N-(dimetilamino) benzoato) como fotoiniciador. Se llenan moldes cilíndricos de 3 mm de diámetro por 6 mm de alto, preparados en una tableta de teflón y se fotopolimeriza por 40 segundos, utilizando una lámpara halógena de fotopolimerización ($\lambda 470\text{nm}$) (**Figura 3**)

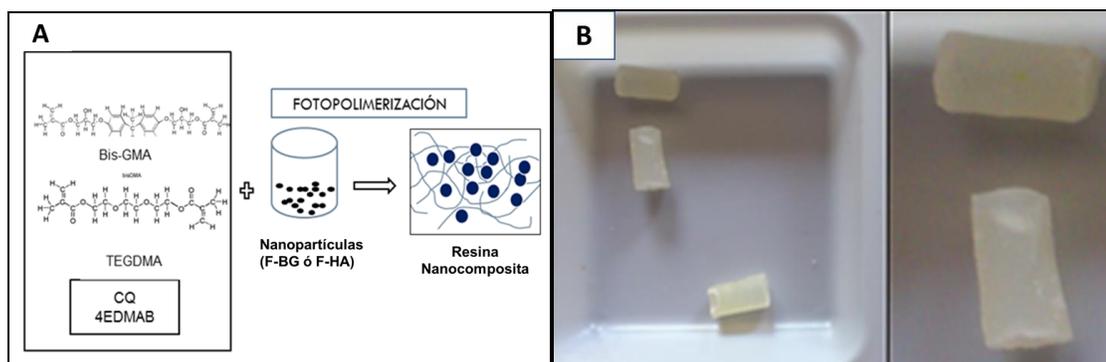


Figura 3: Esquema de la síntesis de la resina nanocompuesta (A). Imagen de los cilindros de resina nanocompuesta polimerizada (B).

5.4. Ensayo de mineralización en fluido corporal simulado

Se realizó un ensayo en SBF, el cual es acelular y tiene la misma concentración de iones que el fluido extracelular humano (Sanosh et al., 2009). Se escogió este método por ser un método válido para este tipo de prueba (Kokubo & Takadama, 2006). La solución de SBF se preparó de acuerdo a la composición expresada en la **Tabla 1**. Los cilindros de resina nanocompuesta fueron sumergidos en SBF a 37 °C por 3 y 7 días. Para los ensayos se utilizó un triplicado de cada muestra de material, en donde cada muestra fue posteriormente analizada por microscopía SEM, espectroscopia FTIR y DRX para identificar la mineralización de apatita.

Tabla 1: Cantidad de reactivos utilizados en la preparación de SBF (1000 mL)

REACTIVO	CANTIDAD
Agua destilada	750 mL
NaCl	7,996 g
NaHCO ₃	0,350 g
KCl	0,224 g
K ₂ HPO ₄	0,179 g
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,305 g
HCl 1M	40 mL
CaCl ₂	0,278 g
Na ₂ SO ₄	0,071 g
(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6,057 g
HCl para ajustar a pH 7,4	

5.5 Liberación de fluoruro.

Los cilindros de resina nanocompuesta, en duplicado, fueron sumergidos en solución buffer preparada con ácido acético a pH 5,5. En estas condiciones se mide la concentración de flúor liberado por el material en tiempos 0, 7, 14, 21 y 28 días; esta concentración se mide por medio de un electrodo selectivo para este ion en un rango de 0,1 a 10 mg/L. (H H K Xu, Moreau, Sun, & Chow, 2010). Se utilizó para el análisis el promedio de las concentraciones obtenidas.

5.6 Evaluación de las propiedades mecánicas.

La medición de la resistencia compresiva de los cilindros de resina compuesta se realizó en una Máquina Universal de Ensayos en donde se calibran y se miden las probetas y son montadas para aplicar sobre ellas una fuerza compresiva a una velocidad de 1 mm/min, hasta obtener la fractura del espécimen ("ISO 4049_1988 - Dentistry -- Resin-based filling materials," n.d.).

El momento de la fractura es detectado por la máquina arrojando instantáneamente el valor de la fuerza soportada por el material (Gajewski, Pfeifer, Fróes-Salgado, Boaro, & Braga, 2012). Este ensayo se realizó en triplicado, utilizando el promedio del valor obtenido para realizar el análisis estadístico.

5.7 Restauraciones con resinas nanocompuestas en dientes naturales

Una vez probada la capacidad de las nanoresinas de inducir mineralización en SBF, se realizó un ensayo utilizando saliva artificial para verificar la capacidad del material restaurador para inducir mineralización de apatita en esmalte humano (Ionta et al., 2014). Los dientes restaurados fueron

sumergidos en 50 ml. de saliva artificial a pH 6,5 y cuya formulación se detalla en la **Tabla 2**.

Para estos experimentos se utilizó la resina nanocompuesta con 40% de relleno inorgánico en peso, puesto que con este contenido se obtuvo una mezcla más homogénea para la preparación de la resina nanocompuesta.

Tabla 2: Cantidad de reactivos utilizados en la preparación de saliva artificial (1000 mL)

REACTIVO	CANTIDAD
Agua destilada	1000 mL
KCl	0,4 g
NaCl	0,4 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,906 g
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	0,69 g
Na ₂ S.9H ₂ O	0,005 g
Urea	1 g
KOH para ajustar a pH 6,5	

Se utilizaron premolares extraídos por indicación de ortodoncia y terceros molares sanos extraídos, mantenidos en suero fisiológico. Se talló una cavidad en la superficie vestibular de cada diente, de 2 mm de profundidad y 3 mm por lado; la raíz fue eliminada con disco de carborundum y posteriormente las coronas fueron incluidas en acrílico dejando la superficie vestibular expuesta. La técnica adhesiva utilizada fue con grabado ácido previo y Sistema adhesivo

de 5ª generación (Scotch bond multipropósito[®], 3M ESPE). Se realizó grabado ácido selectivo de esmalte y dentina; 30 segundos en esmalte y 15 segundos en dentina, lavando por 1 minuto y secado de la cavidad con jeringa triple y papel absorbente en la dentina para no deshidratarla. Se aplicó sistema adhesivo en 2 capas polimerizando por 40 segundos. Posteriormente se procedió a restaurar las cavidades con resina nanocompuesta utilizando técnica incremental fotopolimerizando por 40 segundos con lámpara halógena, luego fueron pulidos con Sistema Enhance[®]

Se realizaron dos restauraciones con cada material:

- Resina comercial (Z350, 3M ESPE[®])
- Resina sin nanopartículas
- Resina con nanopartículas nFBG (40%)
- Resina con nanopartículas nFHA (40%)

6. RESULTADOS

6.1 Caracterización de las nanopartículas

Una vez sintetizadas las nanopartículas de acuerdo a la metodología explicada anteriormente fueron sometidas a análisis DRX, microscopía TEM y FTIR-ATR para su caracterización.

6.1.1 Difracción de Rayos X.

La **Figura 4** muestra el análisis DRX para las nanopartículas sintetizadas. Ambos patrones corresponden a estructuras cristalinas, esto es concordante con la que posee la hidroxiapatita. Aunque es conocido que el vidrio bioactivo es amorfo, estas nanopartículas presentaron cierto orden en su estructura, observado en el peak alrededor de $31,9^\circ$, esto podría atribuirse a la incorporación de fluoruro que aumentaría la cristalinidad a la estructura del vidrio bioactivo.

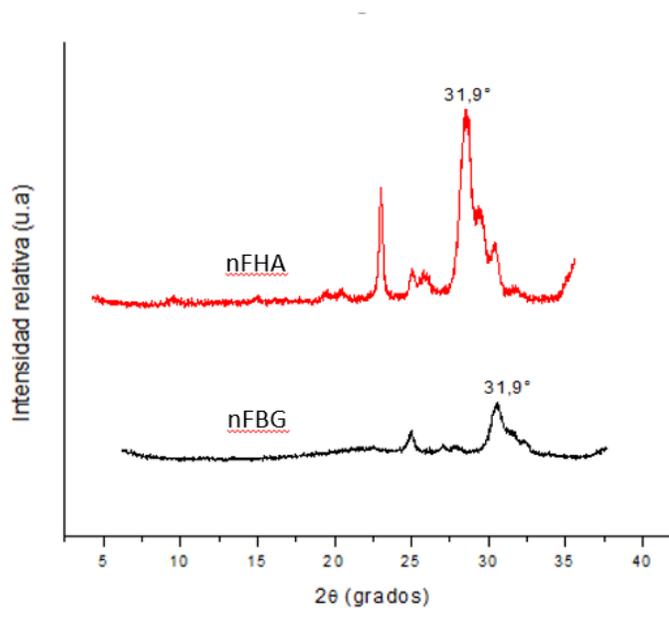


Figura 4: Patrón de DRX de nanopartículas (nFHA) y (nFBG).

6.1.2 Análisis microscopía TEM

Mediante observación TEM se corroboró que las partículas sintetizadas cumplen con la condición de que su dimensión sea inferior a los 100 nm, para ser clasificadas como nanopartículas. El tamaño de las nanopartículas de nFHA fue alrededor de 40 nm (**Figura 5A**), mientras que las de nFBG presentaron un tamaño aproximado a los 70 nm (**Figura 5B**).

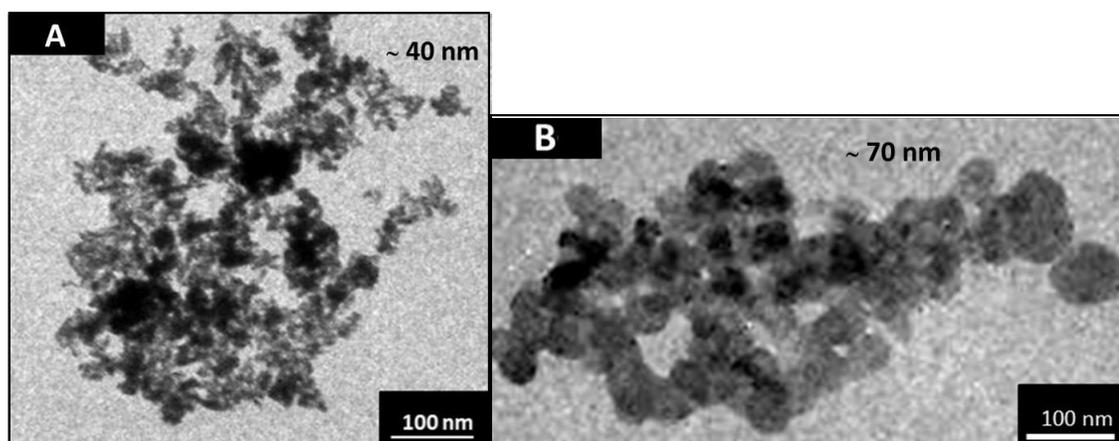


Figura 5. Imagen TEM de nanopartículas de nFHA (A) y de nanopartículas de nFBG (B)

6.1.3 Análisis FTIR-ATR.

En la **Figura 6** se observan los espectros de infrarrojo correspondientes a las nanopartículas de nFBG y nFHA. Ambos presentan espectros similares, observándose una banda ancha entre 950 cm^{-1} y 1100 cm^{-1} , 1037 cm^{-1} y 1032 cm^{-1} para nFHA y nFBG respectivamente; correspondiente a la vibración de PO_4 de la estructura de HA y BG. Los peaks en 571 cm^{-1} y 605 cm^{-1} en las nanopartículas de nFHA y 570 cm^{-1} y 600 cm^{-1} , también se asocian a vibraciones de enlaces de PO_4 .

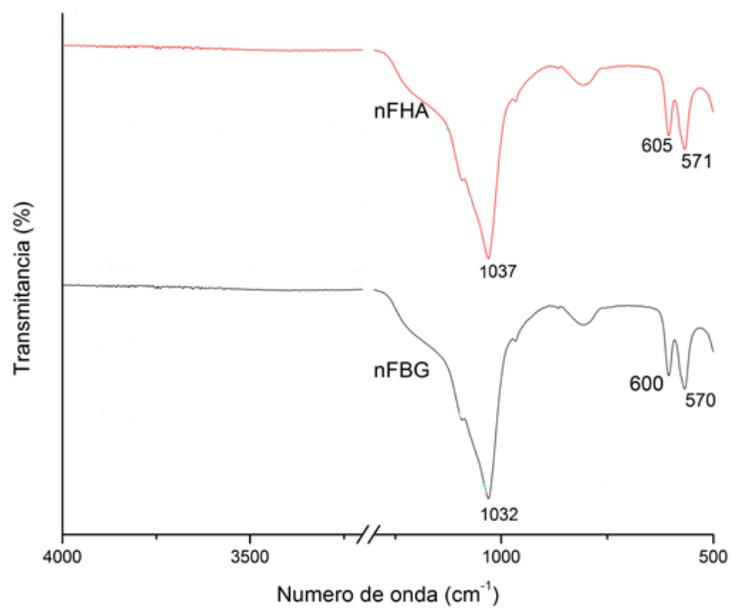


Figura 6. Espectros FTIR-ATR de las nanopartículas.

6.2 Caracterización estructural de las resinas nanocompuestas.

Las resinas nanocompuestas sintetizadas fueron caracterizadas por SEM-EDS y FTIR-ATR.

6.2.1 Análisis SEM-EDS

En la **Figura 7** mediante análisis SEM se puede observar las nanopartículas incorporadas en la matriz polimérica. Se aprecia cierto grado de aglomeración de las partículas en el cuerpo de las resinas nanocompuestas, dados por la presencia de aglomerados micrométricos de aproximadamente $0,2 - 1 \mu\text{m}$.

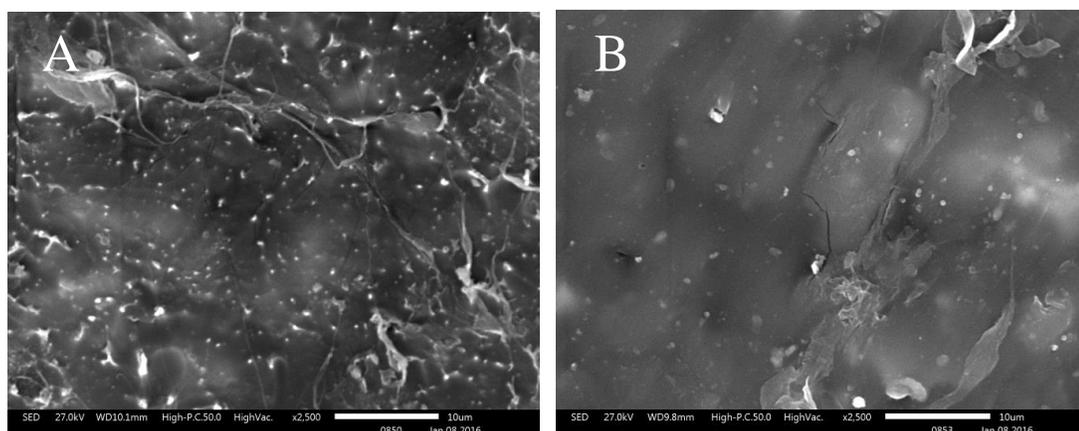


Figura 7: Imágenes SEM de nFBG/Res (A) y nFHA/Res (B)

En la **Figura 8** se muestra el espectro EDS de las resinas nanocompuestas, observándose la presencia de Ca, P, O, C de acuerdo a lo esperado para la composición química del polímero acrílico y de la partícula cerámica.

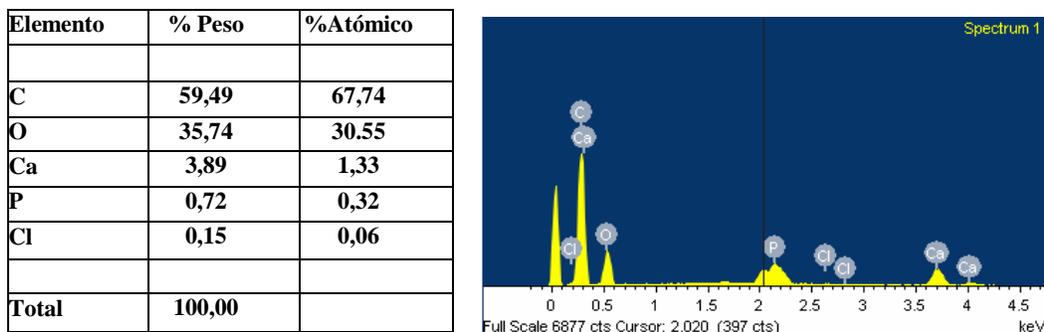


Figura 8: Microanálisis elemental EDS de las resinas nanocompuestas.

6.2.2 Análisis FTIR-ATR.

En la **Figura 9** se presentan los espectros FTIR de la resina sin relleno inorgánico y de los nanocompuestos preparados. En el compuesto nFHA/Res se observan las bandas alrededor de 1100 cm^{-1} y un doble peak a 571 cm^{-1} y 603 cm^{-1} , correspondientes a las vibraciones del grupo PO_4 de la estructura de la hidroxiapatita. En los preparados de nFBG/Res se observa una banda a 1039 cm^{-1} de PO_4 y un peak cercano a 450 cm^{-1} atribuible al enlace Si-O-Si de la estructura del vidrio bioactivo. En cambio, el preparado Res no se observan estas bandas, debido a que es sólo polímero sin carga inorgánica.

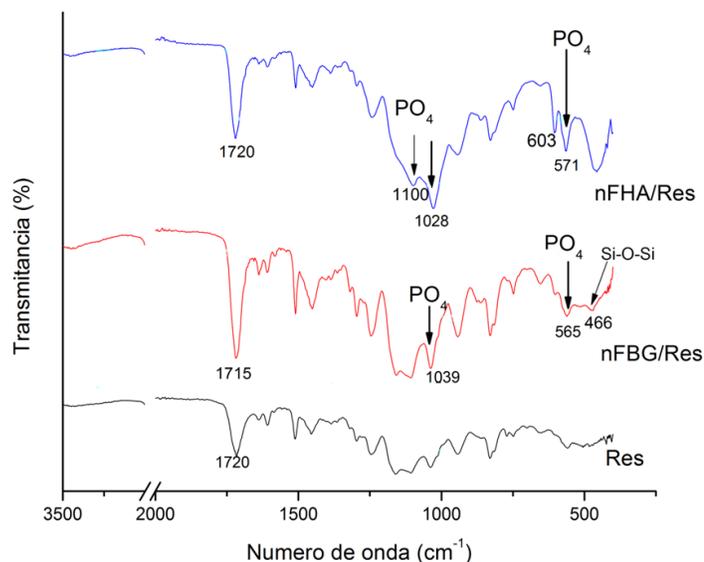


Figura 9: Espectros FTIR-ATR de los preparados Res, nFHA/Res y nFBG/Res

6.3 Evaluación de las propiedades mecánicas

Luego de la síntesis de las resinas compuestas utilizando las nanopartículas como relleno inorgánico, se sometieron a pruebas de compresión, para determinar si existe diferencia en la resistencia entre los especímenes sintetizados con diferentes proporciones en peso de nanopartículas. En la **Figura 10** se puede observar diferencias en la resistencia a la compresión entre los grupos, presentando mayor

resistencia las resinas sintetizadas con nFHA 60% y la menor resistencia la mostró el grupo control que corresponde a resina sin relleno inorgánico. El análisis estadístico, muestra un F (5,08) mayor al $F_{\text{crítico}}$ (2,84), por lo que podemos asumir que al menos uno de los grupos presenta diferencia significativa en la resistencia compresiva para un $\alpha=0,05$ y $P=0,005$.

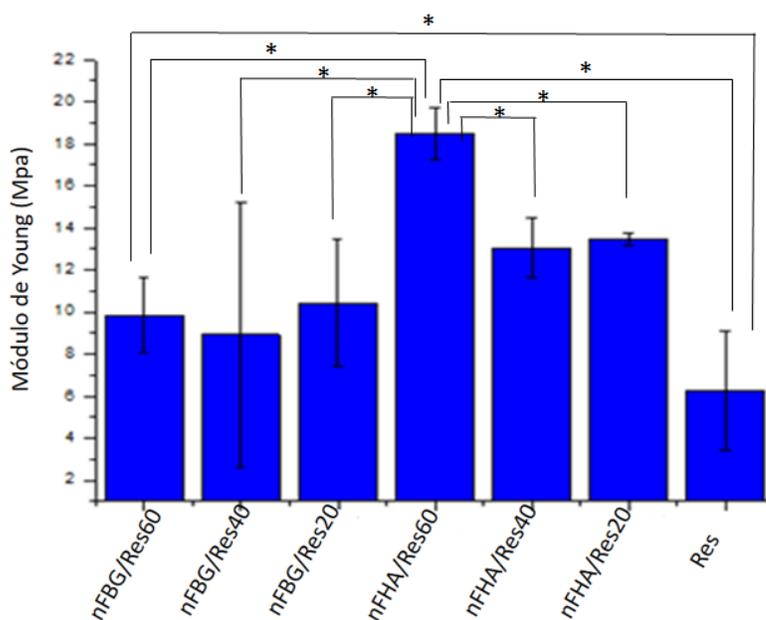


Figura 10: Comparación del módulo elástico de los materiales preparados.

Debido a este resultado se realizó el análisis de las muestras por grupos. En las muestras que se sintetizaron con partículas de nFHA, el F (22,83) es mayor que el $F_{\text{crítico}}$ (5,14) para $\alpha=0,05$ y $P=0,001$. Por lo tanto, existe

diferencia significativa entre las muestras, siendo las sintetizadas con nFHA 60% las que presentaron mayor resistencia a la compresión.

En las resinas sintetizadas con nFBG el análisis resultó que $F (0,098)$ fue menor al $F_{\text{crítico}} (5,14)$ para $\alpha=0,05$ y $P=0,9$; por lo tanto, la diferencia en la resistencia compresiva no es significativa.

6.4 Ensayo de bioactividad en SBF.

Para este ensayo se escogieron los nanocompuestos nFHA/Res y nFBG/Res con 40% en peso de relleno inorgánico, debido a que con este contenido de nanopartícula se consigue una mezcla más homogénea con los componentes de la resina.

6.4.1 Análisis microscopía SEM

A los tres días de incubación en SBF se observa en la superficie de las resinas nanocompuestas depósitos minerales, en mayor cantidad en nFBG/Res que en nFHA/Res. A los siete días de incubación aumentó la cantidad de depósitos minerales en la superficie de las muestras, pero al igual que a los tres días, la mineralización fue más abundante sobre la superficie de nFBG/Res que en nFHA/Res.

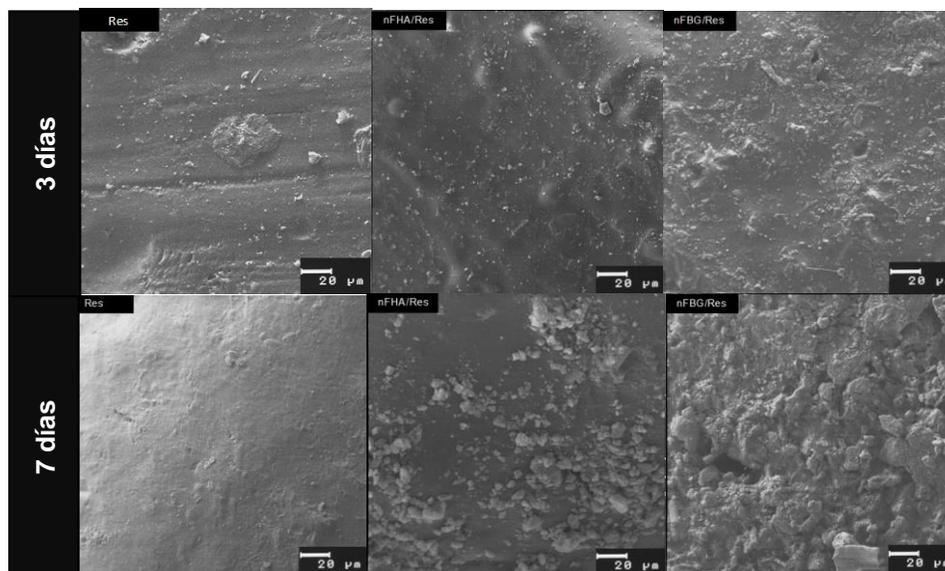


Figura 11: Imagen SEM de la superficie de los cilindros luego de tres y siete días de incubación en SBF.

Es importante destacar que en ambos tiempos de incubación no se presentaron cambios importantes en la superficie de la resina sin carga inorgánica. **(Figura 11)**.

6.4.2. Análisis DRX

La **Figura 12** muestra los análisis DRX de las resinas nanocompuestas antes y después de ser inmersas en SBF.

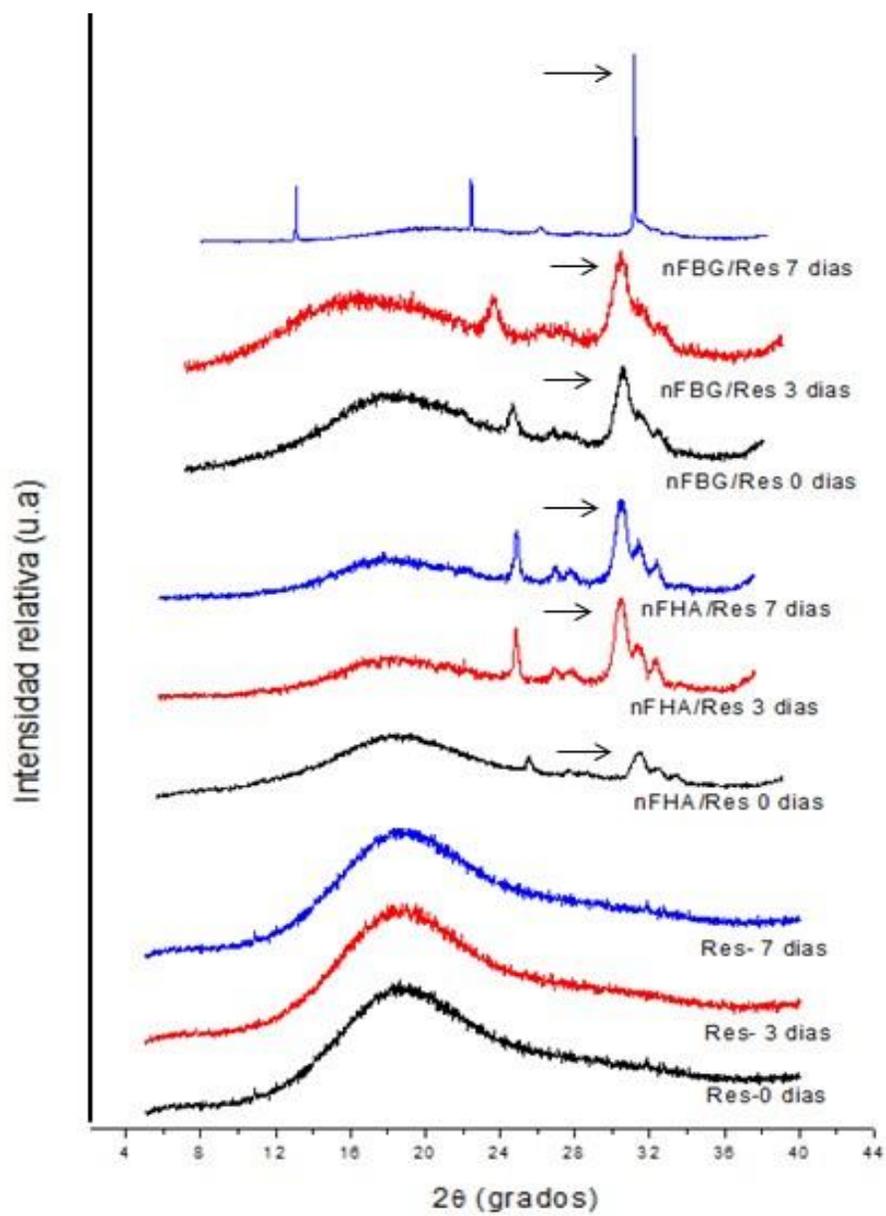


Figura 12: Patrón de DRX de Res, nFHA/Res, nFBG/Res después del ensayo de SBF

Se puede observar un peak aproximadamente a $31,7^\circ$, que corresponde al peak más característico de la hidroxiapatita. Por lo tanto, estos resultados demuestran que los depósitos minerales observados mediante microscopía SEM, efectivamente corresponden a la formación de apatita cristalina. A los tres días la intensidad de los peak de apatita en nFHA/Res y nFBG/Res es similar, en cambio a los siete días se observa en nFBG/Res un peak más intenso evidenciando un aumento importante en la cristalización de apatita, a diferencia de nFHA/Res, que presenta peaks similares a los tres y siete días.

La superficie de la muestra control no presentó peaks al análisis DRX, indicando que los escasos depósitos minerales observados sobre la resina control, correspondería a una fase mineral amorfa y no a apatita.

6.4.3. Análisis FTIR-ATR

Con el propósito de complementar el análisis de las fases minerales formadas durante el ensayo SBF, se realizaron análisis de FTIR-ATR. La **Figura 13** presenta los espectros FTIR de los nanocompuestos preparados y de la resina sin carga inorgánica, antes de ser sometidas al ensayo de bioactividad y luego de ser tratadas en SBF.

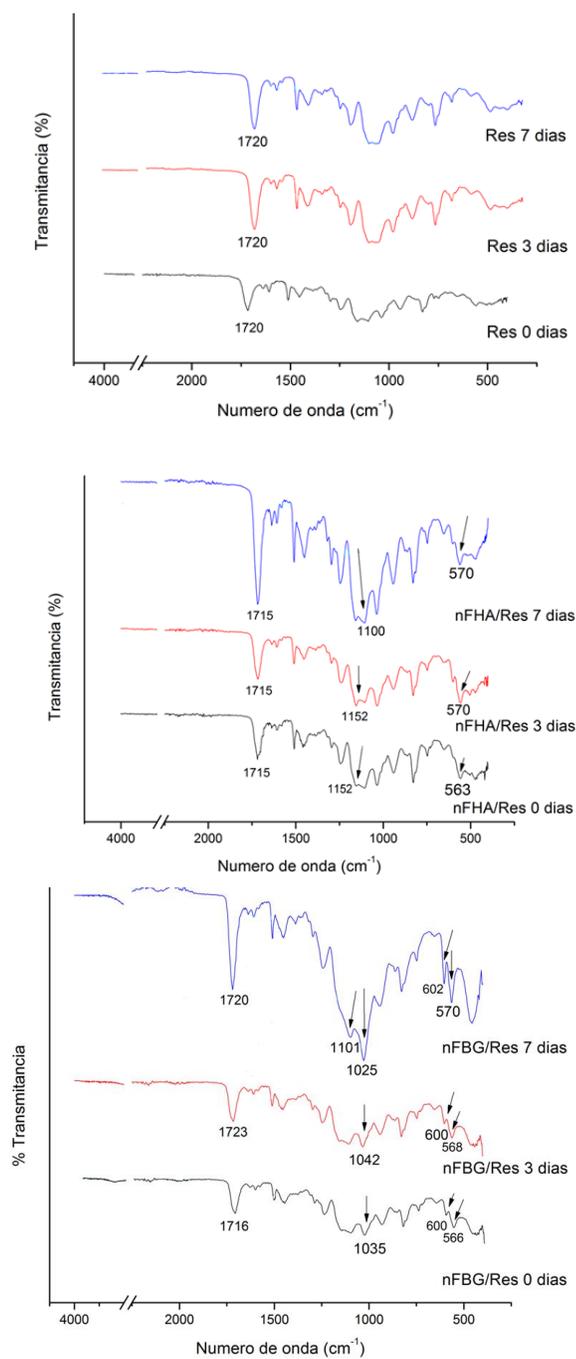


Figura 13: Espectros infrarrojo de Res, nFHA/Res y nFBG/Res antes y después de inmersión en SBF.

Los preparados de nFHA/Res presentan una banda intensa cercana a 1100 cm^{-1} y otra en 570 cm^{-1} correspondiente ambas al grupo PO_4 , se puede observar que la banda cercana a 1100 cm^{-1} se intensifica a los siete días. En el caso de nFBG/Res, también se muestra la banda cercana a 1100 cm^{-1} del fosfato, además de los peak del fosfato a 565 cm^{-1} y 602 cm^{-1} que se resuelven con mayor claridad respecto al compuesto nFHA/Res. Estos resultados se correlacionan con lo observado en DRX y microscopía SEM para el ensayo de bioactividad.

6.5 Liberación de fluoruro.

La capacidad de liberación de ion fluoruro desde las nanoresina sintetizadas con 40% de relleno de nanopartículas fue evaluada en solución buffer pH 5,5. La resina sintetizada con nanopartículas de nFBG liberó una mayor cantidad de fluoruro respecto preparada con nFHA. Los niveles de fluoruro liberado nFBG/Res se estabilizaron en 22 ug/cm^2 , mientras que en el caso de la resina nFHA/Res ion al día 7 y fue aumentando en menores cantidades hasta el día 28 y las muestras preparadas con nFHA liberaron una pequeña cantidad de ion y se mantuvo constante, es decir no aumentó en el tiempo (**Figura 14**).

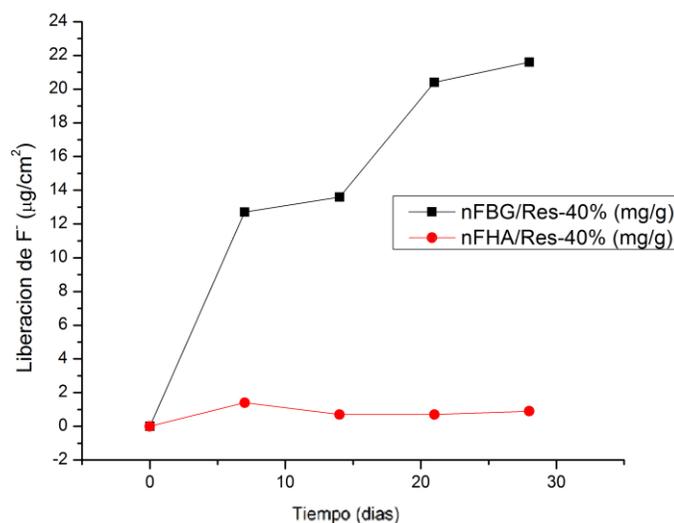


Figura 14: Liberación de Fluoruro a pH 5,5 de las muestras sintetizadas con 40% de relleno inorgánico

6.6 Ensayo de bioactividad mediante un modelo *ex vivo* en diente natural.

Los dientes restaurados con las diferentes resinas compuestas con y sin tratamiento en saliva artificial fueron analizados en microscopía SEM. La **Figura 15** corresponde a la imagen SEM de las restauraciones antes de la inmersión en saliva artificial, se presentan las imágenes a menor aumento donde se observa la superficie total de las restauraciones y a mayor aumento se muestra una zona de la interfase diente – restauración.

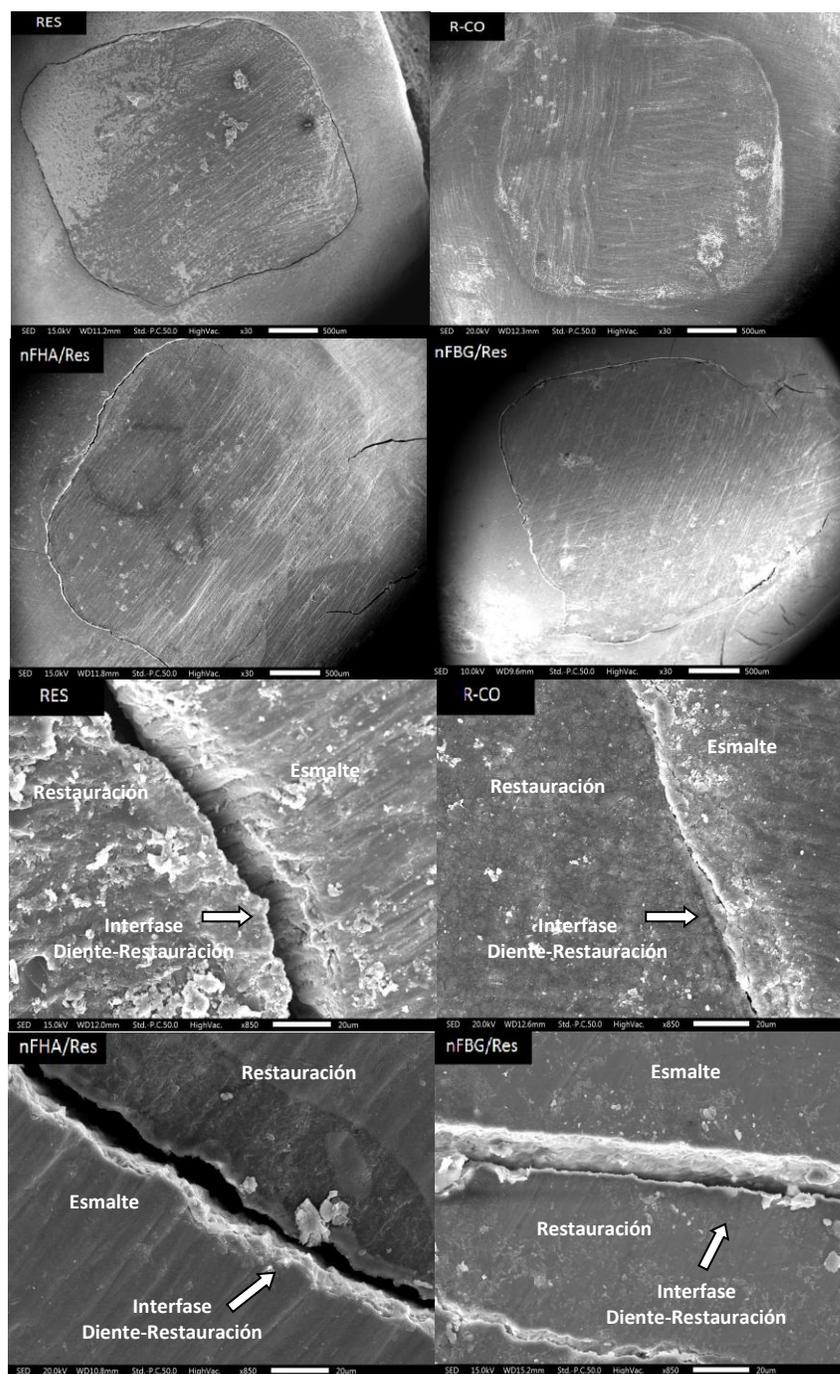


Figura 15: imagen SEM de las restauraciones de resinas antes de la inmersión en saliva artificial

En la **Figura 16** se muestra las imágenes SEM de la superficie de las restauraciones después de siete días sumergida en saliva artificial. Se puede observar que la resina compuesta comercial (R-CO) y la resina sin carga inorgánica no presentan cambios en su superficie, no se observan depósitos minerales. En cambio en las restauraciones de nFBG/Res y nFHA/Res se evidencia presencia de depósito mineral; los que se presentan en mayor cantidad y más compactos en las muestras de nFBG/Res que en nFHA/Res.

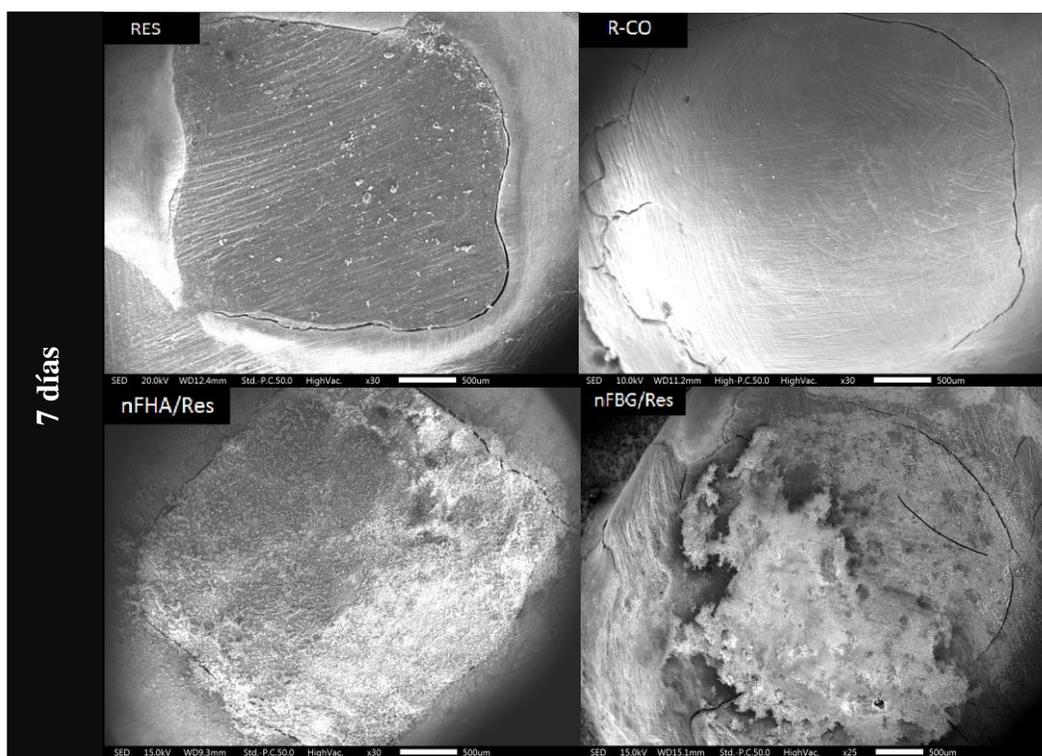


Figura 16: imagen de las restauraciones de resinas después de siete días de incubación en saliva artificial

Al analizar la interfase diente – restauración, se observa la presencia de depósito mineral en las restauraciones de nFHA/Res y nFBG/Res. En la restauración de nFBG/Res, se observa una capa de apatita más compacta y continua, mientras que en nFHA/Res se observan depósitos de cristales de apatita más discretos, luego de permanecer el mismo tiempo en saliva artificial.

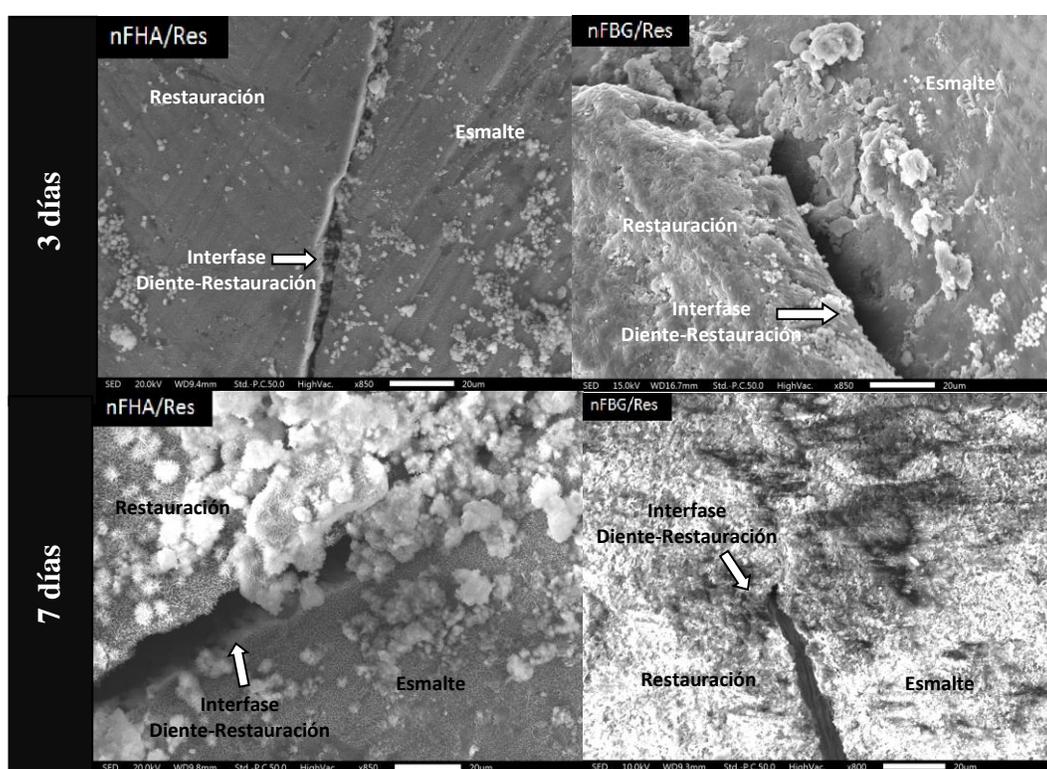


Figura 17: imagen de las restauraciones de resinas después de tres y siete días de incubación en saliva artificial

En la **Figura 17** se puede observar las imágenes SEM de la zona del margen de las restauraciones con las resinas nanocompositas experimentales

donde se puede comparar la cantidad de minerales formados a los tres y siete días de incubación en saliva artificial, evidenciando la mayor cantidad de depósito mineral en los nanocompositos de nFBG/Res que en los de nFHA/Res.

Los depósitos minerales formados sobre las resinas también se diferencian por su morfología (**Figura 18**). En nFHA/Res se puede apreciar con mayor claridad la morfología acicular de los cristales de HA, mientras que en la superficie de nFBG/Res se observa una capa mineral más densa, en donde no es posible distinguir cristales individuales de HA.

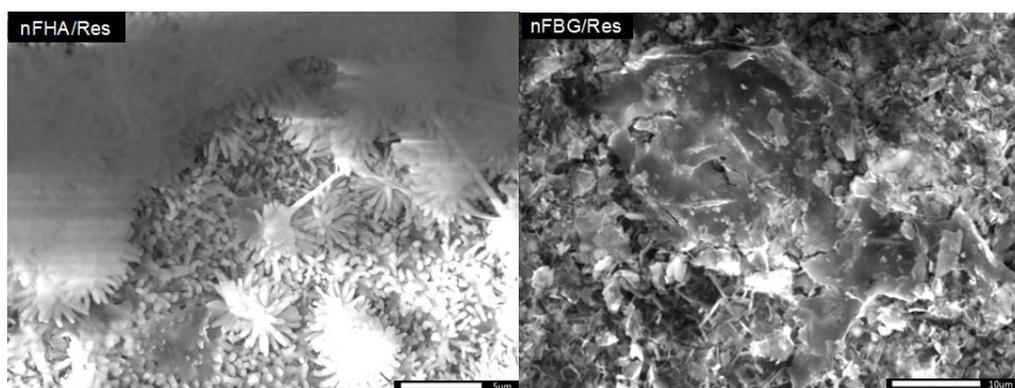


Figura 18: imagen de los depósitos minerales sobre las restauraciones de nFHA/Res y nFBG/Res después de siete días de inmersión en saliva artificial

En la **Tabla 3** se presentan los resultados de análisis elemental EDX de calcio y fósforo en las zonas interfaciales, y los valores calculados de la relación molar Ca/P. Los depósitos minerales formados en nFHA/Res y nFBG/Res

fueron de 1,6 y 1,2, respectivamente; valores que se encuentran relativamente cercanos al valor de la razón estequiométrica Ca/P 1,7 de la Hidroxiapatita.

Tabla 3 Análisis elemental EDX de Calcio y Fósforo

	BG	HA
Ca (%p/p)	8,6	12,47
P (%p/p)	5,7	6,11
Ca (moles)	0,21	0,31
P (moles)	0,18	0,19
Razón molar Ca/P	1,2	1,6

7. DISCUSIÓN

El presente estudio está enfocado en sintetizar un biomaterial de restauración con propiedades bioactivas, de modo de promover la mineralización en su superficie y especialmente en la interfase diente – restauración, y disminuir de este modo la posibilidad de desarrollar nuevas lesiones de caries (Sauro et al., 2013)

Con este fin, se sintetizaron nanopartículas de HA y BG fluoradas y se utilizaron como relleno inorgánico en la síntesis de un nanocomposito bioactivo. Se prepararon nanocompuestos con 20%, 40% y 60% en peso de relleno inorgánico. Con 40 % de carga se logró un preparado más homogéneo que con 60%, especialmente en nFBG/Res; debido a que para el mismo peso el volumen de nanopartícula de nFBG es mayor que el de nFHA. Es por esta razón que se decidió realizar los ensayos de bioactividad utilizando 40% de carga inorgánica.

El análisis SEM de los nanocompósitos evidenció la formación de algunos aglomerados de tamaño micrométrico en el cuerpo de las resinas, esto es común en la preparación de materiales nanocompuestos debido a la alta energía superficial de las partículas nanométricas. El análisis FTIR confirmó que

la incorporación de nanopartículas en el proceso de fotopolimerización no modifica la estructura final del polímero acrílico (Tauböck et al., 2014).

Respecto a las propiedades mecánicas exhibidas por los cilindros de nanocompuestos, se observó que la resistencia a la compresión de todos los nanocompositos sintetizados, fue mayor al control (polímero sin relleno de nanopartículas), mejorando al aumentar el porcentaje de relleno inorgánico. La mayor resistencia a la compresión la presentó la nanoresina sintetizada con nFHA con 60% de carga. Estos resultados indican que las nanopartículas, contribuyen a mejorar la resistencia a la compresión respecto de la resina sin carga inorgánica. Coincidiendo con lo expuesto en un estudio reciente que comparó una resina compuesta experimental con relleno de vidrio bioactivo y una resina comercial (Heliomolar®) donde se observó que las propiedades mecánicas son favorables, atribuyéndose esto al mayor contenido de relleno y al tamaño de las partículas (40nm aprox.) (Khvostenko, Mitchell, Hilton, Ferracane, & Kruzic, 2013). Según la teoría del efecto de reforzamiento de polímeros con nanorellenos un mayor contenido de nanopartícula tiende a reducir la movilidad de las cadenas de polímero, aumenta la temperatura de transición vítrea (T_g), mejorando propiedades mecánicas y su estabilidad en la cavidad bucal (Sauro et al., 2013).

Los cilindros fabricados con las nanoresinas, exhiben bioactividad al estar expuestos a un medio fisiológico, se observan depósitos minerales en mayor cantidad en los nanocompuestos con nanopartículas de BG que en los sintetizados con nanopartículas de HA. Este efecto se debe a que las nanopartículas de BG al ser amorfas son más reactivas y más solubles que las de HA que son cristalinas y por lo tanto más estables. La mayor bioactividad de las nFBG en comparación a las de nFHA ya ha sido demostrada en trabajos anteriores en otros sistemas (Smith et al., 2012)(Covarrubias et al., 2015), pero no en resinas dentales de fotopolimerización.

Mediante análisis DRX y FTIR se corroboró que la fase mineral que se forma en la superficie de las resinas corresponde a apatita. El mecanismo de bioactividad del BG ha sido descrito por Hench et al. (Jones, 2015). En una primera fase se produce un intercambio de Ca^{2+} y/o Na^{+} , desde la superficie del BG con H^{+} proveniente del medio acuoso, esto debido a hidrólisis. Luego se forma en superficie una capa rica en sílice, a través de la cual difunden iones Ca^{2+} y PO_4^{3-} para formar una película de carbonato de calcio amorfo, posteriormente se agregan desde el fluido grupos OH^{-} , CO_3^{2-} , PO_4^{3-} e iones Ca^{2+} ; cristalizando la capa amorfa en HA. Este mismo mecanismo ocurriría para el caso del nFBG contenido en la resina, y que se activaría por la exposición de las partículas al medio, debido a partículas expuestas en la superficie o

producto de la erosión de la matriz polimérica en el medio. Como además las nanopartículas tienen incorporado fluoruro, también se encontrará este ion en la disolución que podría incorporarse a la estructura de la HA en formación, cristalizando fluorapatita que es más estable y resistente al ataque ácido (Wiegand et al., 2007) (**Figura 19**).

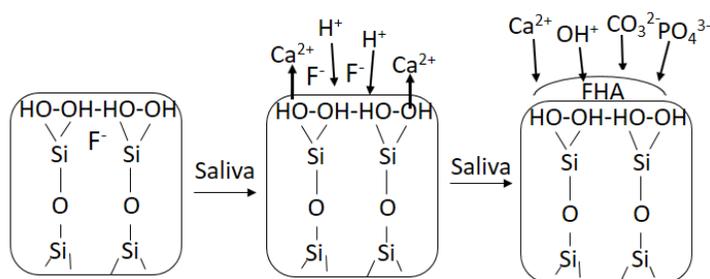


Figura 19. Esquema de la formación de HA en la superficie del nanocomposito

Los nanocompositos sintetizados en este estudio también exhibieron bioactividad al ser utilizados como restauraciones *in vitro* sobre dientes, formando una capa de HA en su superficie y en la interfase diente – restauración. Esta capa mineral es mayor y más compacta en nFBG/Res, dando cuenta de una formación mineral más rápida; a diferencia de la formada nFHA/Res, en la cual se observan cristales discretos; y es concordante con lo observado en este mismo estudio en el ensayo en SBF utilizando cilindros de nanocompósitos. Por lo tanto, se espera que esta brecha generada entre el

diente y la restauración producto de la contracción propia del biomaterial sea cerrada en menor tiempo por la restauración de nFBG/Res que por la resina nFHA/Res.

Se han reportado estudios de resinas de restauración experimentales, utilizando como relleno inorgánico partículas de fosfato de calcio amorfo, logrando inducir un precipitado mineral caracterizado como una capa delgada de HA carbonatada en un periodo 21 días (Hockin H K Xu, Moreau, Sun, & Chow, 2011). Otros autores han estudiado si las propiedades antimicrobianas, ópticas y mecánicas aumentan al utilizar un tipo de partícula con características de bioactividad; coincidiendo que en mayor o menor grado todas contribuyen a optimizar el biomaterial de restauración (Khvostenko et al., 2013). A nuestro mejor conocimiento, no se han encontrado estudios con resultados claros de mineralización de apatita en la superficie de la restauración como se encontró en el presente estudio.

Esta capa de HA podría tener la capacidad de sellar la interfase diente – restauración favoreciendo la prevención de formación de nuevas lesiones de caries, especialmente en el margen cervical, que es una zona de difícil acceso a la higienización por parte del paciente. En un estudio previo se observó que los rellenos de vidrio bioactivo en restauraciones de resinas compuestas reducen la penetración bacteriana en la brecha diente-restauración, aunque el mecanismo

no está claro, se cree que podría deberse al pH local en la brecha producto de la concentración de iones o tal vez alguno de estos iones afecte directamente a las bacterias (Khvostenko et al., 2016). Por lo tanto, las nanoresinas probadas en este estudio, pueden presentar este beneficio al sellar la interfase de la restauración. A pesar de los esfuerzos de los investigadores, comercialmente no se dispone de resinas compuestas que presentan la característica de inducir remineralización del tejido circundante de la restauración. Aunque los resultados de bioactividad de la presente tesis se obtuvieron utilizando una solución de saliva artificial que simula la composición y pH de la saliva humana; en la cavidad oral pueden ocurrir variaciones de pH por consumo de alimentos y/o actividad bacteriana. De la misma forma interesaría conocer la respuesta de la capa mineral formada frente a desafíos de fuerzas del cepillado dental. Por esta razón se requeriría estudios adicionales para confirmar la bioactividad de los materiales considerando las mencionadas variables o la futura realización de estudios clínicos con los materiales.

Comercialmente existen resinas compuestas con la capacidad de liberar fluoruro, como el Heliomolar®, pero esta capacidad es limitada en el tiempo. Por esta razón investigadores desarrollaron un sistema adhesivo para restauraciones de resinas compuestas capaz de recargarse y liberar sostenidamente en el tiempo iones que le otorguen la propiedad de bioactividad

al igual que los cementos de vidrio ionómero (Zhang et al., 2015). En este estudio se espera que el fluoruro liberado al medio favorezca la formación de hidroxiapatita enriquecida con fluoruro, que es más resistente a la disolución ácida producto del metabolismo bacteriano.

Las propiedades presentadas por las resinas modificadas con nanopartículas biocerámicas; podrían contribuir al futuro desarrollo de resinas dentales que mejoren la unión de la restauración al diente; todo esto orientado a mejorar la durabilidad de las restauraciones de resina compuesta.

8. CONCLUSIONES

1. El método desarrollado en este trabajo permitió la síntesis de nanopartículas de nHA y nBG con fluor en su estructura. Estas nanopartículas fueron incorporadas como carga inorgánica en resinas dentales fotopolimerizables basadas en Bis-GMA/ TEGDMA, sin alterar las propiedades mecánicas del polímero dental.
2. Las nanopartículas nFHA y nFBG, le otorgaron a la resina nanocompuesta propiedades para inducir la formación de apatita sobre su superficie cuando están en contacto con saliva artificial, siendo mayor la cantidad de depósitos de apatita en la resina cargada con nFBG.
3. Las resinas nanocompósitas a base de nFHA y nFBG, también presentaron capacidad para formar apatita en el margen diente-restauración *in vitro*, esta propiedad bioactiva fue mayor en la resina a base de nFBG.
4. Las propiedades exhibidas por las resinas cargadas con nFHA y nFBG, podrían ser utilizadas para futuros estudios en el desarrollo de resinas bioactivas con propiedades remineralizante de la interfase diente – restauración.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bakry, A. S., Takahashi, H., Otsuki, M., & Tagami, J. (2013). Evaluation of new treatment for incipient enamel demineralization using 45S5 bioglass. *Dental Materials*, 30(3), 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.12.002>
- Barandehfard, F., Kianpour Rad, M., Hosseinnia, A., Khoshroo, K., Tahriri, M., Jazayeri, H. E., ... Tayebi, L. (2016). The addition of synthesized hydroxyapatite and fluorapatite nanoparticles to a glass-ionomer cement for dental restoration and its effects on mechanical properties. *Ceramics International*, 42(15), 17866–17875. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.08.122>
- Burke, F. J. T., Wilson, N. H. F., Cheung, S. W., & Mjör, I. a. (2002). Influence of the method of funding on the age of failed restorations in general dental practice in the UK. *British Dental Journal*, 192(12), 699–702. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12125795>
- Covarrubias, C., Arroyo, F., Balanda, C., Neira, M., Von Marttens, A., Caviedes, P., ... Urra, C. (2015). The effect of the nanoscale structure of nanobioceramics on their in vitro bioactivity and cell differentiation properties. *Journal of Nanomaterials*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/526230>

- Gajewski, V. E. S., Pfeifer, C. S., Fróes-Salgado, N. R. G., Boaro, L. C. C., & Braga, R. R. (2012). Monomers used in resin composites: Degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Brazilian Dental Journal*, 23(5), 508–514. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402012000500007>
- González-Cabezas, C. (2010). The chemistry of caries: Remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dental Clinics of North America*, 54(3), 469–478. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.03.004>
- Hong, Z., Reis, R. L., & Mano, J. F. (2009). Preparation and in vitro characterization of novel bioactive glass ceramic nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 88(2), 304–313. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31848>
- Ionta, F. Q., Mendonça, F. L., De Oliveira, G. C., De Alencar, C. R. B., Honório, H. M., Magalhães, A. C., & Rios, D. (2014). In vitro assessment of artificial saliva formulations on initial enamel erosion remineralization. *Journal of Dentistry*, 42(2), 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.11.009>
- ISO 4049_1988 - Dentistry -- Resin-based filling materials. (n.d.).
- Jokstad, A. (2016). Secondary caries and microleakage. *Dental Materials*, 32(1), 11–25. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.09.006>
- Jones, J. R. (2015). Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to

hybrids. *Acta Biomaterialia*, 23(S), S53–S82.

<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.07.019>

Khvostenko, D., Hilton, T. J., Ferracane, J. L., Mitchell, J. C., & Kruzic, J. J.

(2016). Bioactive glass fillers reduce bacterial penetration into marginal gaps for composite restorations. *Dental Materials*, 32(1), 73–81.

<https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.10.007>

Khvostenko, D., Mitchell, J. C., Hilton, T. J., Ferracane, J. L., & Kruzic, J. J.

(2013). Mechanical performance of novel bioactive glass containing dental restorative composites. *Dental Materials*, 29(11), 1139–1148.

<https://doi.org/10.1016/j.dental.2013.08.207>

Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo

bone bioactivity? *Biomaterials*, 27(15), 2907–2915.

<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>

Madan, N., Madan, N., Sharma, V., Gulati, M., & Pardal, D. (2011). Tooth

remineralization using Bio-active glass a novel approach. *Baba Farid University Dental Journal*, 2(2), 64–67. Retrieved from

<http://www.indianjournals.com/sci->

[hub.org/ijor.aspx?target=ijor:bfudj&volume=2&issue=2&article=015](http://www.indianjournals.com/sci-hub.org/ijor.aspx?target=ijor:bfudj&volume=2&issue=2&article=015)

Marghussian, V. (2015). *Nano-Glass Ceramics : Processing, Properties and*

Applications. Retrieved from

<http://www.sciencedirect.com/science/book/9780323353861>

Marsh, P. D. (2010). Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. *Dental Clinics of North America*, 54(3), 441–454.

<https://doi.org/10.1016/j.cden.2010.03.002>

Melo, M. A. S., Weir, M. D., Rodrigues, L. K. A., & Xu, H. H. K. (2013). Novel calcium phosphate nanocomposite with caries-inhibition in a human in situ model. *Dental Materials*, 29(2), 231–240.

<https://doi.org/10.1016/j.dental.2012.10.010>

Moshaverinia, A., Ansari, S., Moshaverinia, M., Roohpour, N., Darr, J. A., & Rehman, I. (2008). Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluoroapatite nanobioceramics into conventional glass ionomer cements (GIC). *Acta Biomaterialia*, 4(2), 432–440.

<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2007.07.011>

Nabian, N., Jahanshahi, M., & Rabiee, S. M. (2011). Synthesis of nano-bioactive glass-ceramic powders and its in vitro bioactivity study in bovine serum albumin protein. *Journal of Molecular Structure*, 998(1–3), 37–41.

<https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2011.05.002>

Nedeljkovic, I., Teughels, W., De Munck, J., Van Meerbeek, B., & Van Landuyt, K. L. (2015). Is secondary caries with composites a material-based problem? *Dental Materials*, 31(11), e247–e277.

<https://doi.org/10.1016/j.dental.2015.09.001>

- Okada, M., & Matsumoto, T. (2015). Synthesis and modification of apatite nanoparticles for use in dental and medical applications. *Japanese Dental Science Review*, 51(4), 85–95. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2015.03.004>
- Osorio, R., & Toledano, M. (2015). *Biomaterials for Catalysed Mineralization of Dental Hard Tissues. Biomineralization and Biomaterials: Fundamentals and Applications*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/B978-1-78242-338-6.00013-2>
- Pathak, Y., & Preuss, C. (2013). *Nanobiomaterials in Clinical Dentistry. Nanobiomaterials in Clinical Dentistry*. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-3127-5.00024-6>
- Sanosh, K. P., Chu, M. C., Balakrishnan, A., Lee, Y. J., Kim, T. N., & Cho, S. J. (2009). Synthesis of nano hydroxyapatite powder that simulate teeth particle morphology and composition. *Current Applied Physics*, 9(6), 1459–1462. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2009.03.024>
- Sauro, S., Osorio, R., Fulgencio, R., Watson, T. F., Cama, G., Thompson, I., & Toledano, M. (2013). Remineralisation properties of innovative light-curable resin-based dental materials containing bioactive micro-fillers. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(20), 2624–2638. <https://doi.org/10.1039/C3TB00205E>

- Sciences, R. D., & Francisco, S. (2004). Featherstone JD. The continuum of dental caries--evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res* 2004;83(Spec No C:C39-42), 83(C), 2004.
- Sheng, X. Y., Gong, W. Y., Hu, Q., Chen, X. feng, & Dong, Y. M. (2016). Mineral formation on dentin induced by nano-bioactive glass. *Chinese Chemical Letters*, 27(9), 1509–1514. <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2016.03.030>
- Sidhu, S. K. (2010). Clinical evaluations of resin-modified glass-ionomer restorations. *Dental Materials*, 26(1), 7–12. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2009.08.015>
- Smith, P., Valenzuela, F., Covarrubias, C., Martí, C., Yazdani-pedram, M., & Di, M. (2012). Preparation and bioactive properties of novel bone-repair bionanocomposites based on hydroxyapatite and bioactive glass nanoparticles, 1672–1682. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32736>
- Tauböck, T. T., Zehnder, M., Schweizer, T., Stark, W. J., Attin, T., & Mohn, D. (2014). Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. *Dental Materials*, 4–11. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2014.05.029>
- ten Cate, J. M. (2013). Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *British Dental Journal*, 214(4), 161–167. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.162>
- Tschoppe, P., Zandim, D. L., Martus, P., & Kielbassa, A. M. (2011). Enamel and

- dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal of Dentistry*, 39(6), 430–437. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2011.03.008>
- Wiegand, A., Buchalla, W., & Attin, T. (2007). Review on fluoride-releasing restorative materials-Fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dental Materials*, 23(3), 343–362. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2006.01.022>
- Xu, H. H. K., Moreau, J. L., Sun, L., & Chow, L. C. (2010). Novel CaF₂ nanocomposite with high strength and fluoride ion release. *Journal of Dental Research*, 89(7), 739–45. <https://doi.org/10.1177/0022034510364490>
- Xu, H. H. K., Moreau, J. L., Sun, L., & Chow, L. C. (2011). Nanocomposite containing amorphous calcium phosphate nanoparticles for caries inhibition. *Dental Materials*, 27(8), 762–769. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2011.03.016>
- Zhang, L., Weir, M. D., Hack, G., Fouad, A. F., & Xu, H. H. K. (2015). Rechargeable dental adhesive with calcium phosphate nanoparticles for long-term ion release. *Journal of Dentistry*, 43(12), 1587–1595. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2015.06.009>
- Zhou, H., & Lee, J. (2011). Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 7(7), 2769–2781.

<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.03.019>