



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROPIEDADES FÍSICO – QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DE UNA RESINA  
SINTETIZADA CON NANOPIGMENTOS Y REFORZADA CON FIBRAS DE  
POLIETILENO

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

P R E S E N T A:

MTRO. VÍCTOR MORENO MALDONADO

**TUTOR PRINCIPAL:**

DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**COMITÉ TUTORIAL**

DRA. ELBA ROSA LEYVA HUERTA  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DR. HIGINIO ARZATE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

MÉXICO, D. F. AGOSTO 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



## AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Apoyos a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de la UNAM (PAPIIT-IN 119411) por el financiamiento otorgado para la realización de este proyecto.

Al Dr. Federico H. Barceló Santana por la excelente asesoría y dirección, además de propiciar la libertad de trabajo en el Laboratorio de Materiales de la DEP e I de la Facultad de Odontología de la UNAM.

Al Dr. Víctor Manuel Castaño Meneses por la excelente asesoría y por propiciar la libertad de trabajo en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada UNAM Campus Juriquilla.

A la Dra. Laura S. Acosta Torres por su excelente apoyo y dirección en esta investigación. Escuela Nacional de Estudios Superiores UNAM Unidad León Guanajuato.

Al Mtro. Salvador López Morales por su asesoría y apoyo técnico en la realización de la prueba de cromatografía de gases en el Laboratorio de Cromatografía del Instituto de Investigaciones en Materiales de la UNAM.

Al Mtro. Rogelio Danovan Venegas Lancón por su excelente apoyo en la realización de esta investigación. Escuela Nacional de Estudios Superiores UNAM Unidad León Guanajuato.

Por el excelente apoyo técnico a: Dra. Genoveva Hernández-Padrón, Dra. Marina Vega-González, Quím. Concepción Arredondo y Mtro, Francisco-Fernández en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada UNAM Campus Juriquilla.

A la C.D. María Elizabeth Plata Rodríguez, la C.D. Mirelle Trenado Mendoza y la C.D. Kenya Gutiérrez Estradapor su apoyo en la síntesis del poli (metilmetacrilato).

Al T.P.D. Ricardo Rodríguez Arredondo por su excelente apoyo técnico en la realización de muestras en el Laboratorio 2 "Honorato Villa y Acosta" de la Facultad de Odontología de la UNAM.

Al Dr. Carlos A. Álvarez Gayosso por su excelente asesoría y apoyo en la realización de esta investigación. Laboratorio de Materiales Dentales DEP e I Facultad de Odontología UNAM.

Al Mtro. Jorge Guerrero Ibarra por su excelente apoyo en las pruebas de comportamiento en flexión. Laboratorio de Materiales Dentales DEP e I Facultad de Odontología UNAM.

A la C.D. Teresa Baeza Kingston por su excelente apoyo en la prueba de rugosidad de superficie. Laboratorio de Materiales Dentales DEP e I Facultad de Odontología UNAM.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>2</b>
<b>ANTECEDENTES</b>	<b>4</b>

### CAPÍTULO I. Marco Teórico

<b>1.1 Biomateriales</b>	<b>6</b>
<b>1.2 Biomateriales Poliméricos</b>	<b>7</b>
<b>1.3 Prótesis Totales</b>	<b>7</b>
<b>1.4 Reacciones Alérgicas de las Prótesis Totales</b>	<b>12</b>
<b>1.5 Polimerización y Mecanismos de Polimerización</b>	<b>14</b>
<b>1.5.1 Polimerización por Adición o en Cadena</b>	<b>15</b>
<b>1.5.1.1 Etapas de la polimerización por Adición</b>	<b>17</b>
<b>1.5.1.1.1 Inducción o Iniciación</b>	<b>17</b>
<b>1.5.1.1.2 Propagación</b>	<b>21</b>
<b>1.5.1.1.3 Terminación por Acoplamiento</b>	<b>22</b>
<b>1.5.1.1.4 Terminación por Transferencia de Cadena</b>	<b>23</b>
<b>1.6 Polimerización por Condensación o Crecimiento por Pasos</b>	<b>26</b>
<b>1.7 Inhibición de la Polimerización</b>	<b>28</b>
<b>1.8 Copolimerización</b>	<b>29</b>
<b>1.9 Resinas Acrílicas</b>	<b>31</b>
<b>1.10 Metil metacrilato</b>	<b>32</b>
<b>1.11 Poli (metil metacrilato)</b>	<b>34</b>
<b>1.12 Interacción monómero-polímero</b>	<b>35</b>
<b>1.13 Relación monómero-polímero</b>	<b>35</b>
<b>1.14 Resinas para Base de Prótesis Totales</b>	<b>36</b>
<b>1.14.1 Composición</b>	<b>36</b>
<b>1.15 PMMA Reforzado con Fibras de Uso Dental</b>	<b>37</b>
<b>1.16 Fibras de Polietileno</b>	<b>38</b>
<b>1.17 Técnica de Termopolimerización (baño de agua)</b>	<b>40</b>
<b>1.18 Propiedades de las Resinas Acrílicas Termopolimerizables</b>	<b>41</b>
<b>1.18.1 Contracción de Polimerización</b>	<b>41</b>
<b>1.18.2 Rigidez y Resistencia</b>	<b>41</b>
<b>1.18.3 Estética</b>	<b>41</b>
<b>1.19 Especificaciones de la norma ISO 1567 y la norma ISO 10993-5</b>	<b>42</b>
<b>1.19.1 Sorción de agua y Solubilidad</b>	<b>42</b>
<b>1.19.2 Deflexión Transversa</b>	<b>44</b>
<b>1.19.3 Módulo Elástico</b>	<b>44</b>
<b>1.19.4 Resistencia a la Flexión</b>	<b>45</b>
<b>1.19.5 Contenido de MMA Residual</b>	<b>45</b>
<b>1.19.6 Citotoxicidad <i>in vitro</i></b>	<b>46</b>
<b>1.20 Síntesis de PMMA</b>	<b>47</b>

<b>1.21 <i>Candida albicans</i></b>	
1.21.1 Taxonomía	48
1.21.2 Morfología	49
1.21.2.1 Blastoconidio	49
1.21.2.2 Hifas	49
1.21.2.3 Clamidioconidio	50
1.21.3 Factores de Patogenicidad	51
1.21.3.1 Componentes Estructurales	51
1.21.3.1.1 Pared Celular	51
1.21.3.1.2 Manoproteínas	53
1.21.3.1.3 Citoplasma	53
1.21.3.1.4 Membrana Citoplasmática	53
1.21.4 Mecanismos de Adherencia	54
1.21.4.1 Adherencia	54
1.21.4.2 Coagregación	55
1.21.4.3 Formación de Biopelícula	56
1.21.5 Mecanismos de Invasión a los Tejidos	57
1.21.5.1 Dimorfismo	57
1.21.5.2 Tigmotrismo	58
1.21.5.3 Enzimas	58
1.21.6 Estomatitis Protésica	58

## CAPÍTULO II

<b>2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>60</b>
<b>2.2 JUSTIFICACIÓN</b>	<b>61</b>
<b>2.3 HIPÓTESIS</b>	<b>63</b>
<b>2.4 OBJETIVOS</b>	<b>64</b>
<b>2.5 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN</b>	<b>65</b>
2.5.1 Tipo de estudio	65
2.5.2 Población de estudio	65
2.5.3 Variables Dependientes	66
2.5.4 Variables Independientes	66
2.5.5 Criterios de Inclusión	67
2.5.6 Criterios de Exclusión	67
2.5.7 Criterios de Eliminación	67
<b>2.6 DISEÑO EXPERIMENTAL</b>	<b>68</b>
2.6.1 Grupos de Estudio	68
<b>2.7 MATERIALES</b>	<b>69</b>
2.7.1 Polímeros Experimentales	69
2.7.2 Nanopigmentos	69
2.7.3 Líneas celulares	69
2.7.4 Insumos	69
2.7.5 Equipo	70
2.7.6 Reactivos	70
2.7.7 Infraestructura	71

### CAPÍTULO III

<b>3.1 MÉTODO</b>	<b>72</b>
<b>3.1.1 Síntesis de PMMA</b>	<b>72</b>
<b>3.1.1.1 Caracterización de Fibras de Refuerzo y PMMA</b>	<b>72</b>
<b>3.1.2 Técnica de Procesado</b>	<b>75</b>
<b>3.1.3 Contenido de Monómero Residual</b>	<b>77</b>
<b>3.1.3.1 Prueba de Cromatografía de Gases</b>	<b>77</b>
<b>3.1.3.2 Cálculo y expresión de resultados del cromatograma</b>	<b>81</b>
<b>3.1.4 PRUEBAS FÍSICAS</b>	<b>82</b>
<b>3.1.4.1 Sorción de Agua</b>	<b>82</b>
<b>3.1.4.1.1 Saturación de las Muestras</b>	<b>82</b>
<b>3.1.4.1.2 Muestras Reacondicionadas</b>	<b>83</b>
<b>3.1.4.2 Solubilidad</b>	<b>85</b>
<b>3.1.4.3 Resistencia a la Flexión</b>	<b>86</b>
<b>3.1.4.4 Módulo Elástico</b>	<b>88</b>
<b>3.1.4.5 Porosidad</b>	<b>89</b>
<b>3.1.4.6 Rugosidad de Superficie</b>	<b>90</b>
<b>3.1.5 PRUEBAS BIOLÓGICAS</b>	<b>91</b>
<b>3.1.5.1 Ensayo de Citotoxicidad</b>	<b>91</b>
<b>3.1.5.2 Ensayo de Genotoxicidad</b>	<b>95</b>
<b>3.1.6 Cultivo e Incubación de <i>Candida albicans</i></b>	<b>96</b>
<b>3.1.6.1 Adherencia de <i>Candida albicans</i> por Ensayo de Luminometría</b>	<b>97</b>
<b>3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	<b>98</b>

### CAPÍTULO IV. Resultados

<b>4.1 Microscopía Electrónica de Barrido</b>	<b>99</b>
<b>4.2 Espectroscopía Infrarrojo</b>	<b>100</b>
<b>4.3 Contenido de Monómero Residual</b>	<b>101</b>
<b>4.4 Sorción de Agua</b>	<b>102</b>
<b>4.5 Solubilidad</b>	<b>103</b>
<b>4.6 Porosidad</b>	<b>104</b>
<b>4.7 Resistencia a la Flexión</b>	<b>105</b>
<b>4.8 Módulo Elástico</b>	<b>106</b>
<b>4.9 Rugosidad de Superficie</b>	<b>107</b>
<b>4.10 Citotoxicidad</b>	<b>108</b>
<b>4.11 Genotoxicidad</b>	<b>109</b>
<b>4.12 Adherencia de <i>Candida albicans</i></b>	<b>110</b>
<b>CAPÍTULO V. Discusión</b>	<b>111</b>
<b>CAPÍTULO VI. Conclusiones</b>	<b>116</b>
<b>REFERENCIAS</b>	<b>117</b>

## RESUMEN

Modificar tiempo y temperatura de termopolimerización de las resinas acrílicas para dentaduras afecta el desempeño del material en la práctica clínica.

**Objetivos:** Sintetizar PMMA/nanopigmentado *in situ* y reforzarlo con fibras de polietileno. Termopolimerizar el PMMA reforzado con fibras de polietileno con tres diferentes ciclos. Evaluar las propiedades fisicoquímicas y biológicas del PMMA reforzado.

**Métodos:** Se sintetizó PMMA-nanopigmentos ( $\text{TiO}_2$  y  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ); se agregó 1% de fibras de polietileno. El PMMA y las fibras fueron analizados mediante SEM y FT-IR. El PMMA reforzado fue sometido a tres diferentes ciclos de polimerización [MD-2h, 42min y 9h] para evaluar módulo elástico, resistencia a la flexión, porosidad, monómero residual, adherencia de *Candida albicans*, citotoxicidad y genotoxicidad. Como grupo control se utilizó el acrílico comercial Lucitone-199. Para el análisis estadístico se realizó ANOVA de Una Vía.

**Resultados:** Las partículas de PMMA fueron obtenidas con forma esférica. Las fibras de polietileno y de Lucitone-199 son haces de fibras delgadas que presentaron picos característicos de polietileno. Los PMMA termopolimerizados a 9h y MD-2h presentaron menor monómero residual en comparación con Lucitone-199 ( $p < 0.05$ ). El PMMA-42min obtuvo el menor módulo elástico, resistencia a la flexión, sorción de agua y solubilidad, mientras que el grupo PMMA-9h presentó el mayor valor de porosidad, seguido de Lucitone-199 y el menor valor lo presentó el PMMA-2h (MD). Se obtuvo el mayor valor por adherencia de *C. albicans* en el grupo que se estudió con PMMA-42 min y la menor adherencia fue en PMMA-2hr.

**Conclusiones:** El PMMA reforzado con polietileno presentó menor monómero residual, porosidad y adherencia de *Candida albicans* al termopolimerizarlo durante 2horas (MD), mientras que el PMMA 42min presentó deficientes propiedades. La alteración del tiempo y temperatura de procesado repercute directamente en propiedades fisicoquímicas del material pero no en su desempeño biológico ya que el aparato protésico cumple la función del mismo una vez colocado en boca.

## INTRODUCCIÓN

Las prótesis totales tienen como finalidad reemplazar los órganos perdidos de la dentición natural, así como las estructuras asociadas al maxilar y a la mandíbula con el objetivo de recuperar la estética y conservar la salud emocional del paciente. Para el Cirujano Dentista es primordial elegir un material con propiedades físico-químicas y biológicas adecuadas para restituir la funcionalidad del aparato estomatognático. Hoy en día el material de primera elección para la elaboración de prótesis totales es el poli(metil metacrilato) (PMMA); éste material forma una superficie sólida que se encuentra en contacto con la mucosa del paciente portador.<sup>1,2</sup>

Son de gran importancia las propiedades físico-químicas y biológicas del PMMA; principalmente la rugosidad de superficie, monómero residual, resistencia a la flexión, porosidad, sorción de agua y solubilidad. Estas propiedades a pesar de ser muy diferentes entre sí están en estrecha relación y contribuyen significativamente a la adherencia y retención microbiana en la superficie de las prótesis.<sup>3-6</sup>

La superficie de las prótesis puede presentar defectos, lo cual aunado a diferentes factores locales y sistémicos contribuyen significativamente a la adherencia de microorganismos como *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *Staphylococcus aureus*, principales causantes de procesos infecciosos en la cavidad bucal.<sup>7-13</sup>

Uno de los inconvenientes de las propiedades químicas de las resinas acrílicas de PMMA es el contenido de monómero residual, valor que indica el porcentaje en fracción de masa del monómero que no reaccionó durante la polimerización, quedando entre las moléculas del polímero. Gran parte del contenido de monómero residual presente en las dentaduras es causado por el ciclo de polimerización utilizado durante el procesado. Cuando las prótesis poliméricas entran en contacto con el agua, el monómero residual se transporta al exterior de la prótesis y en su lugar se absorbe agua; provocando la inestabilidad dimensional del polímero, la formación de grietas y la eventual fractura de la prótesis. Por lo tanto se supone que esta formación de grietas también puede potenciar la adherencia de microorganismos.<sup>14-16</sup>

Es necesario considerar que la alteración en el ciclo de polimerización repercute también en los valores de sorción de agua y solubilidad, lo que también permite la adherencia de microorganismos.<sup>17</sup>

Es por esto que el propósito de esta investigación fue evaluar la rugosidad de superficie, contenido de monómero residual, comportamiento en flexión, porosidad, sorción de agua, solubilidad, además de adherencia de *Candida albicans* y citotoxicidad de la resina acrílica de PMMA reforzada con fibras de polietileno que se sintetizó en el Laboratorio de Materiales Dentales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM; la cual fue sometida al ciclo de polimerización estipulado por el Laboratorio y a dos diferentes ciclos de polimerización, estos siendo diferentes al primer ciclo de polimerización citado anteriormente.

## ANTECEDENTES

La polimerización del PMMA requiere de la presencia de calor y un activador; actualmente la técnica de procesado en baño de agua es la más utilizada para la polimerización de bases de dentaduras<sup>18</sup> sin embargo, dichas prótesis requieren de múltiples mejoras. Se ha estipulado que es deseable la mínima rugosidad ( $0.2 \mu\text{m}$ ) en la superficie de las prótesis para evitar la adherencia y colonización de microorganismos, además de evitar y prevenir la pigmentación.<sup>19</sup> En estudios previos se han reportado que los defectos de superficie no sólo pueden ser causados por la modificación del tiempo y temperatura de polimerización, también se pueden generar durante la manipulación del monómero y el polímero al incorporar aire en la mezcla.<sup>19</sup>

Otro aspecto importante de eliminar en las prótesis a base de acrilatos es el contenido de monómero residual, el cual no solo lleva a posibles reacciones de hipersensibilidad en los pacientes sino a la modificación de las propiedades físicas del material. El grado de conversión es directamente relacionado con la habilidad de absorber agua en los polímeros<sup>18</sup> Si relacionamos lo anterior, a más contenido de monómero residual, mayor será la sorción de agua y mayores los cambios dimensionales que sufrirán las prótesis.

Para superar algunas limitaciones que presenta el PMMA, se han incorporado fibras de refuerzo a su composición, lo cual incrementa sus propiedades mecánicas y evita la propagación de fisuras.<sup>7</sup> En un estudio reciente se demostró que en una resina reforzada con fibras presentó una rugosidad de superficie de  $3.5 \pm 0.5 \mu\text{m}$  al alterar su ciclo de polimerización.<sup>19</sup>

Un estudio comparativo reportó que reforzar las resinas acrílicas para bases de dentaduras con fibras de polietileno presenta mejores valores físicos que al reforzarla con fibras de vidrio o fibras flock.<sup>20</sup>

De estos resultados suponemos que los defectos superficiales de las prótesis, aunados con el ciclo de polimerización inadecuado pueden potenciar la adherencia de microorganismos.

El Laboratorio de Materiales Dentales de la DEPEI de la UNAM tiene el antecedente del desarrollo de resinas acrílicas para bases de dentaduras, así como resinas acrílicas con diferentes fibras de refuerzo, las cuales han sido sometidas a pruebas físico-químicas, sin embargo, es de gran importancia evaluar el efecto citotóxico de dichas resinas con las que se elaboran las prótesis debido a que la toxicidad no solo puede ser causada por el contenido de monómero residual, sino por muchos otros componentes de la formulación como son los derivados del ácido benzóico, monómeros, pigmentos utilizados, entre otros. <sup>21</sup>

# CAPÍTULO I

## 1.1 Biomateriales

Biomateriales, es un término utilizado para los materiales que constituyen parte o la totalidad de implantes médicos, aparatos extracorporales e instrumentos que se utilizan en medicina, cirugía, odontología, medicina veterinaria, así como algunos aspectos del cuidado de los pacientes. Los Institutos de la Salud (NIH) definen un biomaterial, como cualquier sustancia (que no sean drogas) o material o combinación de éstos, de origen natural o sintético, que puede ser utilizado como un todo o como parte de un sistema que trata, aumenta, o sustituye cualquier tejido, órgano o función del cuerpo.<sup>22,23</sup>

Los biomateriales tienen que ser “biológicamente inertes”, no deben provocar reacciones adversas en los tejidos con los que se encuentren en contacto.

En 1987 la Sociedad Europea de Biomateriales definió el término de biocompatibilidad como la habilidad de un material de actuar con una adecuada respuesta al huésped, en una aplicación específica.<sup>6</sup>

Los materiales y dispositivos de fabricación artificial que se encuentren en contacto con los tejidos y los líquidos corporales, como requisito fundamental deben ser compatibles, para que en un procedimiento odontológico se desenvuelva correctamente sin afectar al huésped. La biotecnología desarrolla materiales que funcionan intraoralmente considerando las propiedades físicas, los aspectos estéticos y funcionales del mismo, además de su compatibilidad biológica<sup>24</sup>

## 1.2 Biomateriales poliméricos.

Los polímeros son materiales muy utilizados en aplicaciones biomédicas. Son los materiales de elección en los dispositivos cardiovasculares, en la elaboración de prótesis dentales removibles, así como para la sustitución y el aumento de los diversos tejidos blandos.<sup>22,25</sup>

Dimetacrilatos y monometacrilatos forman parte de numerosos materiales de uso en Odontología restaurativa, incluyendo resinas compuestas, sistemas adhesivos, selladores de fisuras, materiales utilizados para elaborar prótesis provisionales, resinas acrílicas de poli (metil metacrilato) para bases de dentaduras, reparación de prótesis totales, cementos, etc. Los dimetacrilatos han demostrado mínima toxicidad debido a que son insolubles cuando se encuentran polimerizados y la cantidad de material que logra desprenderse después de algunas semanas es mínimo.<sup>26,27-29</sup>

## 1.3 Prótesis Totales.

La pérdida de dientes se debe a diversas causas, las más frecuentes son enfermedades con gran prevalencia como la caries y la enfermedad periodontal. Otras causas son los traumatismos y las tumoraciones. Pueden faltar dientes por no existir su formación (agenesia) o falta de erupción (inclusión dentaria).

La pérdida de dientes lleva como consecuencia un déficit en la eficacia del habla y de la función masticatoria con posibles trastornos de la articulación temporomandibular (ATM), provocando problemas tanto funcionales como orgánicos. Algunas enfermedades digestivas requieren una masticación correcta, por ello, es necesario sustituir los dientes perdidos.<sup>30</sup>

Las prótesis dentales (Fotografía 1), son aparatos, cuya misión es la de sustituir los dientes perdidos, para restablecer la función masticatoria y también contribuyen a mejorar la estética del paciente, ya que la falta de dientes produce hundimientos de partes blandas de la cara y en muchas personas produce un efecto antiestético marcado.



**Fotografía 1.** Prótesis total superior e inferior.

El soporte de las dentaduras se basa en el contacto directo con la mucosa bucal y la retención se logra con la tensión superficial de la saliva, fuerza que sujeta las prótesis.

La estabilidad de la prótesis depende de varios factores, ya que no todos los pacientes consiguen llevar la prótesis de forma confortable y con buen funcionamiento.

1. Forma y morfología de las arcadas dentarias: a mayor estado óseo, mayor soporte de las prótesis.
2. Musculatura e inserciones musculares: muchas veces las fuerzas musculares hacen expulsiva a la prótesis, lo cual resulta en la incomodidad para el paciente de que se desalojen las prótesis con los movimientos del habla y la masticación.
3. Factores psicológicos: algunos pacientes no soportan la idea de llevar prótesis removibles, y a mayor edad, es difícil el hecho de enseñarse a utilizar prótesis.
4. Prótesis mal elaboradas por defectos de construcción: no seguir las instrucciones del fabricante para manipular los materiales lleva a elaborar las prótesis con deficiencias en estabilidad dimensional.
5. Enfermedades de la boca: Algunos factores como síndrome de boca ardiente, sequedad bucal, acumulación bacteriana, proliferación de *Candida albicans*, pueden presentarse en los pacientes portadores de prótesis.

Alergia a los materiales de las prótesis: diversos componentes del polímero o el monómero, técnicas inadecuadas de procesado pueden causar reacciones alérgicas en algunos pacientes. Es recomendable mantener las prótesis en agua durante 17 horas previo a su colocación en el paciente, para eliminar el monómero residual disminuyendo el riesgo de provocar una reacción alérgica.<sup>30</sup>

Se han perfeccionado las técnicas para elaborar prótesis totales, durante años ha prevalecido la técnica de hacer una prótesis bibalanceda, es decir contactos dentarios en ambos lados durante la masticación. Por lo tanto, hasta la aparición de los implantes, ha sido largo el camino para mantener una prótesis total sujeta y estable en la boca.<sup>30</sup>

Las dentaduras ejercen presiones que deben ser biológicamente compatibles con los tejidos blandos de soporte. El uso de dentaduras completas es causa de alteración de la mucosa de soporte, causando inflamación, ésta patología puede acelerar el proceso de resorción.<sup>31</sup> Estos aparatos protésicos deben ser diseñados cumpliendo la extensión y adaptación adecuada a los tejidos de soporte, de manera que cumplan con los factores de funcionalidad protésica: soporte, retención y estabilidad. Así mismo es indispensable que se cumpla con los objetivos fundamentales de un buen tratamiento protésico, como son la función y la estética.<sup>32</sup>

Para la fabricación de la prótesis a lo largo de la historia, se han utilizado un sin número de materiales predominando la resina acrílica a base de poli (metil metacrilato) por sus características físicas, mecánicas y biológicas.<sup>26</sup>

Dichas resinas se inventaron en el siglo XX, usándose por primera vez como base para dentaduras a principios de 1930. El Dr. Walter Wright las introdujo en el campo de la Odontología en 1937 y desde 1940 se ha extendido el uso del poli (metil metacrilato) para la fabricación de bases de prótesis totales, material de restauración provisional directa en dientes anteriores, fabricación de dientes para dentadura, portaimpresiones individuales, férulas y guardas oclusales, además de aparatos ortodóncicos.<sup>26</sup>

La popularidad de las prótesis dentales de poli (metil metacrilato) es debido a que es biocompatible, de bajo costo y a la facilidad de manipulación y simplicidad del equipo que requiere la técnica de procesado por compresión.<sup>33, 34</sup>

Los fabricantes han trabajado para mejorar la calidad de las resinas acrílicas añadiendo pigmentos y fibras de refuerzo para mejorar las propiedades mecánicas y la apariencia de las resinas al estar en contacto con los tejidos bucales.<sup>35,36-48</sup>

Las resinas acrílicas utilizadas para la elaboración de bases de dentaduras deben cumplir ciertos requisitos:

1. Estabilidad de color tanto en el medio externo como dentro de la boca.
2. Dar una apariencia natural de los tejidos bucales.
3. Adecuada estabilidad dimensional.
4. Fácil de limpiar.
5. Biocompatible.
6. Resistencia suficiente para soportar las cargas masticatorias.
7. Insoluble en los fluidos bucales u otras sustancias que puedan encontrarse en la boca.
8. Facilidad de ser reparada.
9. Fácil manipulación para su procesado.

## 1.4 Reacciones alérgicas de las prótesis totales

La selección y uso de los materiales dentales se basa en los supuestos de que los beneficios de su uso superan los riesgos biológicos. Sin embargo, siempre existe la posibilidad de que algún paciente experimente efectos adversos durante el tratamiento dental. Los dos principales efectos biológicos son las reacciones alérgicas y los efectos tóxicos. Las rutas principales por las que los agentes tóxicos entran en el cuerpo son a través del tracto gastrointestinal, los pulmones, la ruta parenteral y la piel.<sup>39</sup>

Desde el punto de vista teórico, la irritación química del poli (metil metacrilato) se presenta por los componentes del polímero, monómero residual, peróxido de benzoílo, hidroquinona, colorante o una reacción o algún componente de la base de la prótesis y su medio.<sup>35,40,41</sup>

Se han reportado algunas reacciones alérgicas al PMMA, debido a la presencia de monómero residual en las prótesis ya que el monómero de metil metacrilato (MMA) que se encuentra en las dentaduras, se difunde a través de los tejidos bucales adyacentes, lo que puede resultar en irritación o provocar reacciones alérgicas (Fotografía 2) incluyendo sensación de “boca ardorosa”.<sup>42</sup>



Fotografía 2. Estomatitis protésica

Sin embargo, la cantidad de monómero residual que se encuentra en una prótesis bien procesada (siguiendo las instrucciones del fabricante) es cercana a 0.5%, lo cual no es causante de alguna reacción de hipersensibilidad.<sup>35,40,41</sup>

Una técnica analítica adecuada es necesaria para la determinación rutinaria de MMA en el PMMA. La valoración de Bromo, espectroscopía de infrarrojo (IR), cromatografía líquida de alta presión (HPLC) y más comúnmente la cromatografía de gases (GC) son las técnicas utilizadas para determinar la cantidad de MMA presente en las resinas acrílicas de poli (metil metacrilato) PMMA.<sup>43</sup>

## 1.5 Polimerización y Mecanismos de Polimerización

Las resinas dentales solidifican cuando polimerizan. La polimerización ocurre a través de una serie de reacciones químicas en las cuales las macromoléculas o el *polímero* es formado por un gran número de moléculas o unidades estructurales conocidas como *monómeros*. Las unidades de monómero están conectadas entre sí por enlaces covalentes, logrando que la polimerización sea una reacción intermolecular repetida funcionalmente capaz de tener un proceso indefinido. Las características más importantes de los polímeros son aquellas que consisten en una gran cadena de moléculas cuya estructura molecular es capaz de tener configuraciones y conformaciones virtualmente sin límite.

Las resinas sintéticas polimerizan al azar desde sitios locales que han sido activados, sin embargo, dependiendo de la capacidad de crecimiento de las cadenas, el grado de polimerización es variable.<sup>39</sup>

### 1.5.1 Polimerización por Adición o en Cadena.

Muchas de las resinas odontológicas son producto de la *polimerización por adición*. Este tipo de reacción es tan común que el término polimerización generalmente se usa para describir este proceso.

Durante la polimerización por adición, las macromoléculas son formadas por monómeros, sin existir cambios en la composición, porque el monómero y el polímero tienen igual forma empírica. En otras palabras, la estructura de los monómeros se repite muchas veces en el polímero, formando cadenas de diversos tamaños o si se tiene un buen control cadenas uniformes, ya sea de tamaño molecular pequeño, mediano o grande, según sea el caso.

El método de adición puede realmente producir moléculas gigantes de tamaños ilimitados. Inician formando un centro activo en el monómero y rápidamente forman una cadena que teóricamente puede expandirse en forma indefinida y ser tan grande como tantas unidades de construcción puedan tener.

Uno de los requisitos de los componentes en la polimerización por adición es la presencia de un grupo no saturado, un *doble enlace* (C=C). El etileno, C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>, es el monómero más simple capaz de polimerizar por adición, y puede usarse un iniciador (I) como centro activo, tal como peróxido de benzoílo, persulfato de amonio, entre otros para generar un radical libre I<sup>\*</sup>, como lo ilustra la Figura 1.<sup>39</sup>

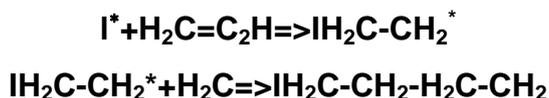


Figura 1. Formación de radicales libres en la reacción de polimerización.

Teóricamente, I\* puede ser siempre cualquier radical libre de una cadena cerrada. Por definición, un radical libre es un átomo o grupo de átomos procesando a un electrón adicional (impar). Por ejemplo, puede ser hidrógeno, y el gas original etileno puede ser polimerizado bajo calor y presión para formar polietileno.

El radical libre tiene un electrón con capacidad para poseer un electrón simple impar. Cuando el radical libre y su electrón impar se acercan a la molécula del monómero, absorben uno de los electrones  $\pi$  del doble enlace del monómero y forman un enlace  $\sigma$  entre el radical y la molécula del monómero, dejando el otro electrón  $\pi$  en un electrón orbital insaturado. Así, el radical libre original se enlaza a un lado de la molécula del monómero. El electrón remanente del orbital  $\pi$  no saturado actúa como un nuevo centro radical libre cuando el complejo monómero-radical libre se acerca a otra molécula de monómero para formar un dímero, que también se vuelve radical libre. Esta especie reactiva puede, en cambio, agregarse sucesivamente a numerosas moléculas de etileno que continúan con el proceso de polimerización a través de la propagación de un centro de reacción. Este proceso en cadena conduce a largas moléculas de polímero en cuestión de segundos. El proceso continúa para completar la formación del polímero deseado. El crecimiento de la cadena de polímeros se detiene cuando el centro reactivo se elimina por un número de posibles reacciones de terminación. Este proceso ocurre rápido y casi instantáneamente, la reacción es exotérmica y por lo tanto se desprende un calor considerable.<sup>39</sup>

### 1.5.1.1 Etapas de la Polimerización por Adición

La polimerización por adición es un proceso que ocurre en tres etapas principales: inducción o iniciación, propagación y terminación por acoplamiento o transferencia de cadena.<sup>39</sup>

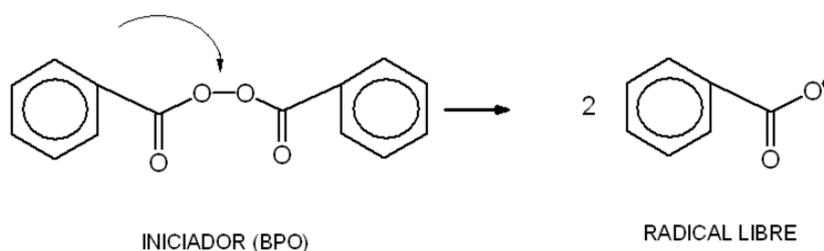
#### 1.5.1.1.1 Inducción o Iniciación.

Para iniciar el proceso de polimerización por adición, deben estar presentes los radicales libres. Los radicales libres pueden ser generados por activación de las moléculas de monómero con luz ultravioleta, luz visible, calor o transferencia de energía a partir de otro tipo de componentes que actúen o generen radicales libres.

La química de los radicales libres usada para iniciar el mecanismo de polimerización no es un catalizador, porque entra dentro de la reacción química y es parte del componente químico final. El término comúnmente usado es el de iniciador (I). Este método de polimerización depende de la formación de un componente con un electrón impar (radical libre), que es un fragmento de una gran molécula que se ha dividido por calentamiento, esto es, el iniciador  $I-I$  genera dos radicales libres  $2I^*$ . El electrón impar hace al radical muy reactivo. El símbolo convencional,  $C=C$ , representa dos partes de electrones (orbital  $\pi$ ). Cuando un radical libre se aproxima a un doble enlace, puede aparearse con un electrón en el enlace extra dejando al otro miembro del par libre, por lo tanto el monómero por sí mismo se convierte en radical libre.<sup>39</sup>

Se han descrito numerosas sustancias capaces de generar radicales libres como potentes iniciadores en la polimerización de la resina de poli (metil metacrilato). El iniciador comúnmente utilizado es el peróxido de benzoílo, que se descompone a temperaturas relativamente bajas y libera dos radicales libres por molécula de peróxido de benzoílo (Figura 2).

La descomposición del peróxido de benzoílo, también llamada activación, ocurre rápidamente entre 50 y 100°C.



**Figura 1.** Activación (por calor o química) del peróxido de benzoílo (BPO). Se rompe el enlace O – O y el par de electrones se divide en los dos fragmentos

El periodo de inducción (o iniciación) es el tiempo durante el cual las moléculas del iniciador son energizadas o activadas, formando radicales libres que interactúan con las moléculas de monómero. Este periodo es altamente influenciado por la purificación del monómero. Cualquier impureza presente puede reaccionar con grupos activados e incrementa la longitud de este periodo por el consumo de inicio de las moléculas activadas; sin embargo, a mayor temperatura es menor el periodo de inducción (Figura 3).<sup>39</sup>

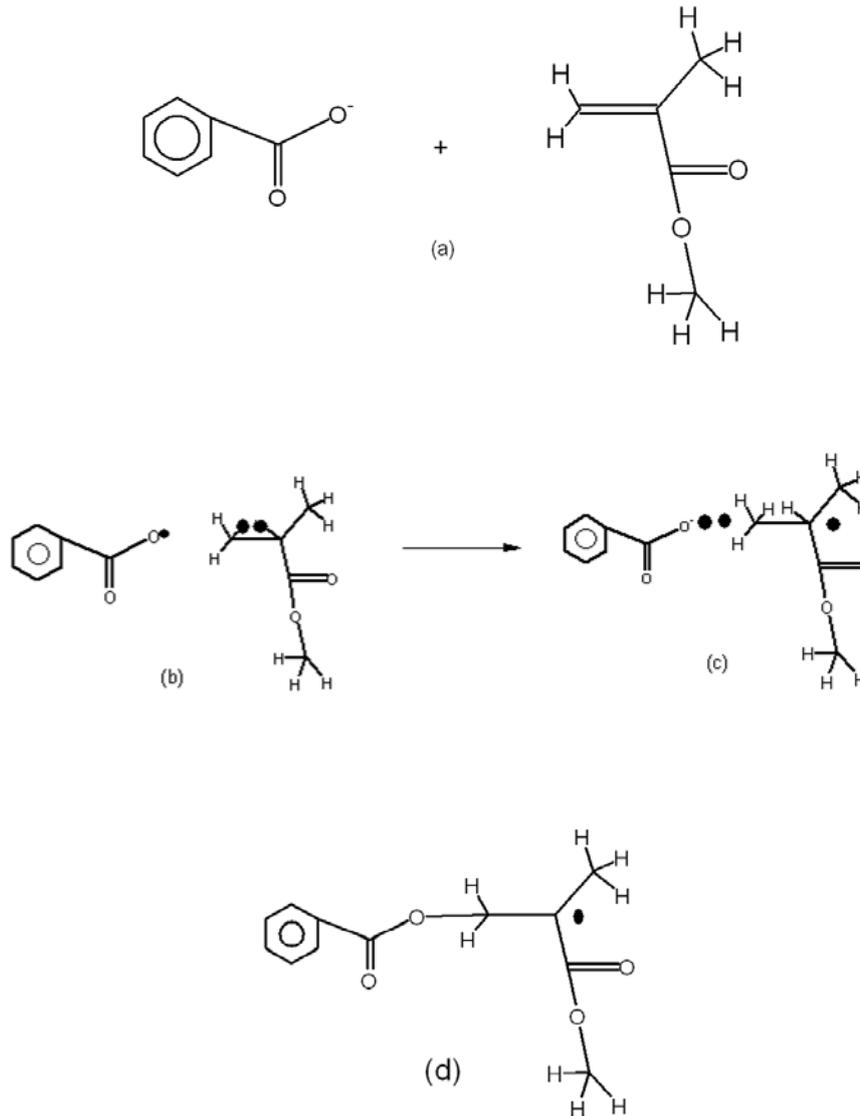


Figura 2. Iniciación o Inducción en la formación de la molécula de poli (metil metacrilato).

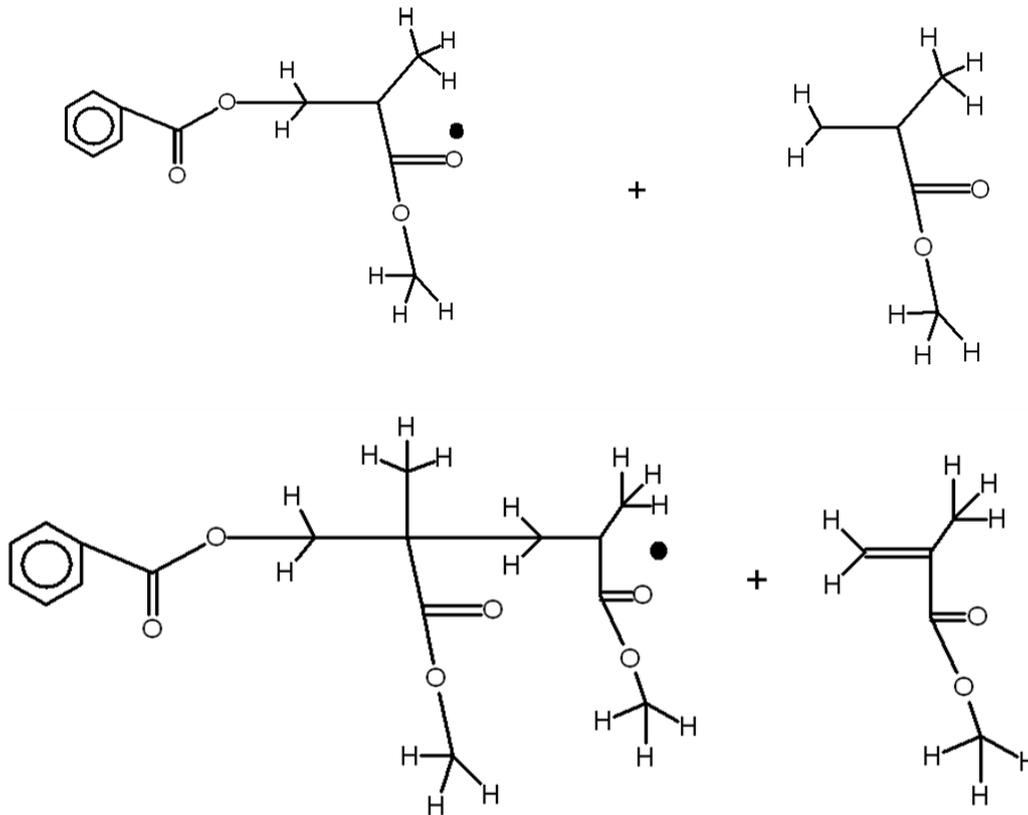
Los procesos de polimerización útiles para las resinas dentales comúnmente son activados por uno de los tres procesos: calor, química y luz. La mayor parte de las resinas para base de prótesis son polimerizadas por activación de calor. Esto es, los radicales libres se generan por el calentamiento del peróxido de benzoílo. Durante el calentamiento, las moléculas del peróxido de benzoílo se fragmentan en dos radicales libres, los cuales inician la polimerización del monómero del metil metacrilato.<sup>39</sup>

Un segundo tipo de inducción es el que se activa en forma química a la temperatura de la boca. Este sistema consiste en dos reactivos que cuando se mezclan juntos se inicia una reacción química que genera radicales libres. Durante el almacenamiento, estos componentes pueden ser separados uno del otro; de aquí que los sistemas químicamente inducidos siempre consistan en dos o más partes. Un ejemplo de estos sistemas es la unión de la amina terciaria y el peróxido de benzoílo, los compuestos se mezclan juntos para iniciar la polimerización de las resinas de autocurado. Cuando estos dos componentes (activador e iniciador) se mezclan, las aminas catalizadoras dividen a la molécula de benzoílo en dos radicales libres.

Un tercer tipo de sistema de inducción es la activación por luz. En este sistema, los fotones activan al iniciador generando radicales libres que pueden iniciar el proceso de polimerización. Inicialmente, la luz ultravioleta fue usada en este proceso, sin embargo, debido a la preocupación acerca de los efectos de la luz ultravioleta sobre la retina y los tejidos bucales no pigmentados, la fuente de luz ultravioleta fue sustituida por luz halógena, la canforoquinona y el dimetilaminoetilmetacrilato, una amina que genera radicales cuando se irradia por luz visible. Para activar esta reacción, necesita luz de longitud de onda cercana a 470 nm.

### 1.5.1.1.2 Propagación.

En la reacción de propagación, se requiere una pequeña cantidad de energía una vez iniciado el desarrollo, el proceso continúa a una velocidad constante. Teóricamente, las reacciones en cadena continúan con la velocidad del calor hasta que todo el monómero se haya convertido en polímero (Figura 4).

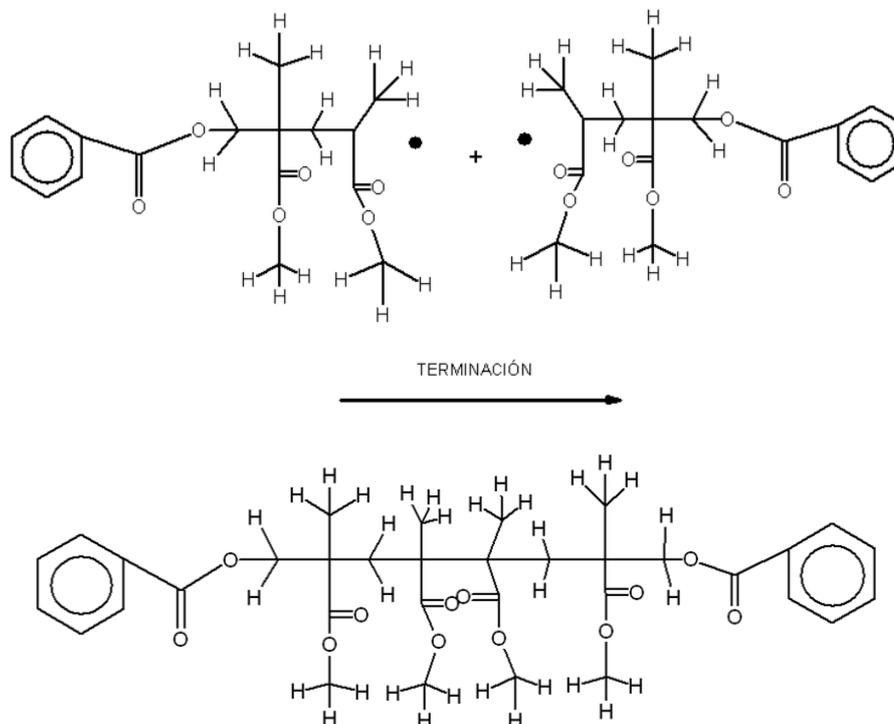


**Figura 3.** Propagación y crecimiento de cadena. Conforme la molécula iniciada se acerca a otras moléculas de metil metacrilato, el electrón libre interactúa con el doble enlace de la molécula de metil metacrilato, y se forma un nuevo radical libre más largo.

### 1.5.1.1.3 Terminación por Acoplamiento.

La reacción en cadena puede terminarse en acoplamiento directo o por intercambio de un átomo de hidrógeno de una cadena de crecimiento a otra, ambas moléculas se combinan y se desactivan por intercambio de energía.

Otra manera de efectuar intercambio de energía puede ocurrir por la transferencia de un átomo de hidrógeno de una cadena de crecimiento a otra, sin embargo, en el último caso una doble unión se produce cuando el átomo de hidrógeno se transfiere de una cadena a otra (Figura 5).

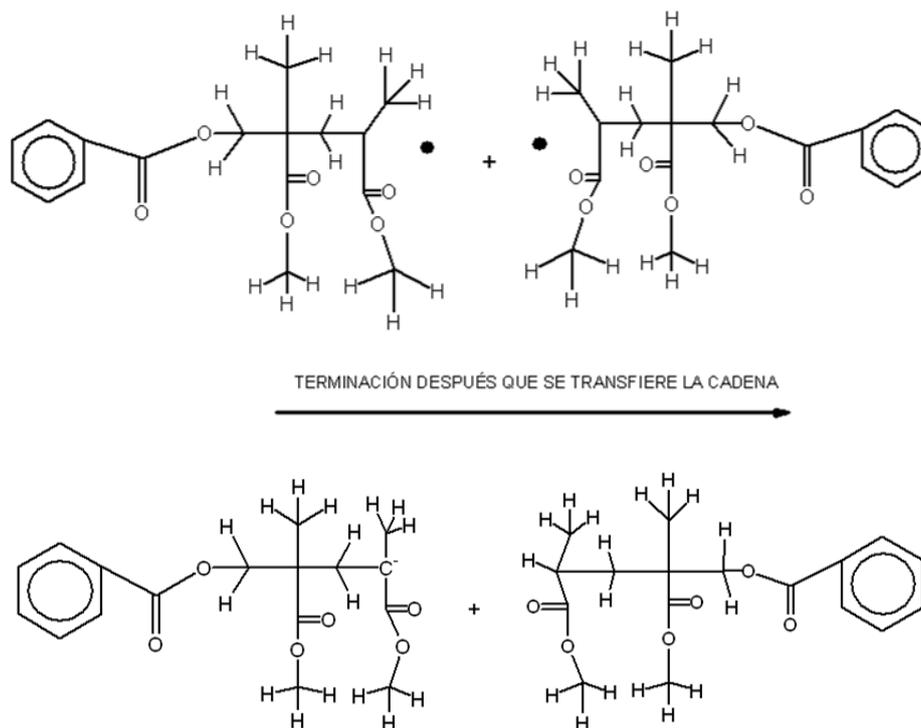


**Figura 4.** La terminación de polimerización ocurre cuando los dos radicales libres interactúan y forman un enlace covalente.

#### 1.5.1.1.4 Terminación por Transferencia de Cadena.

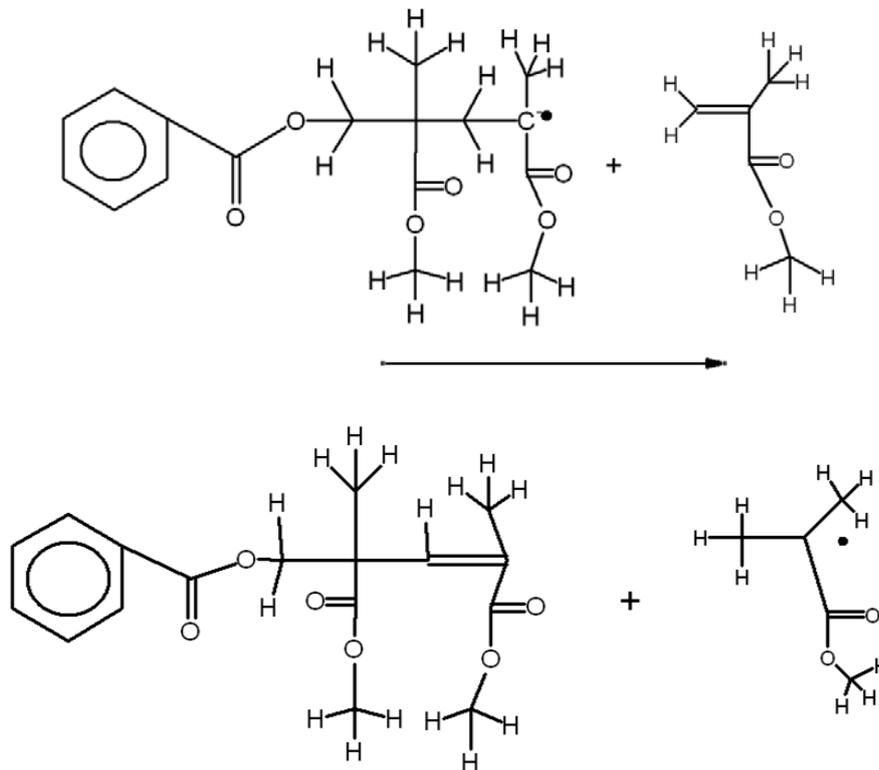
La terminación de la cadena puede derivarse de la transferencia de la cadena, proceso en que el estado activo se transfiere de un radical activo a una molécula inactiva creando un nuevo núcleo de crecimiento. Por ejemplo, una molécula de monómero puede ser inactivada por una macromolécula en crecimiento y de esta manera ocurre una terminación en esta última. Por lo tanto esto produce un nuevo núcleo en crecimiento (Figura 6).

De igual manera, la terminación rápida de la cadena puede reactivarse por la transferencia de una cadena y continuará su crecimiento.



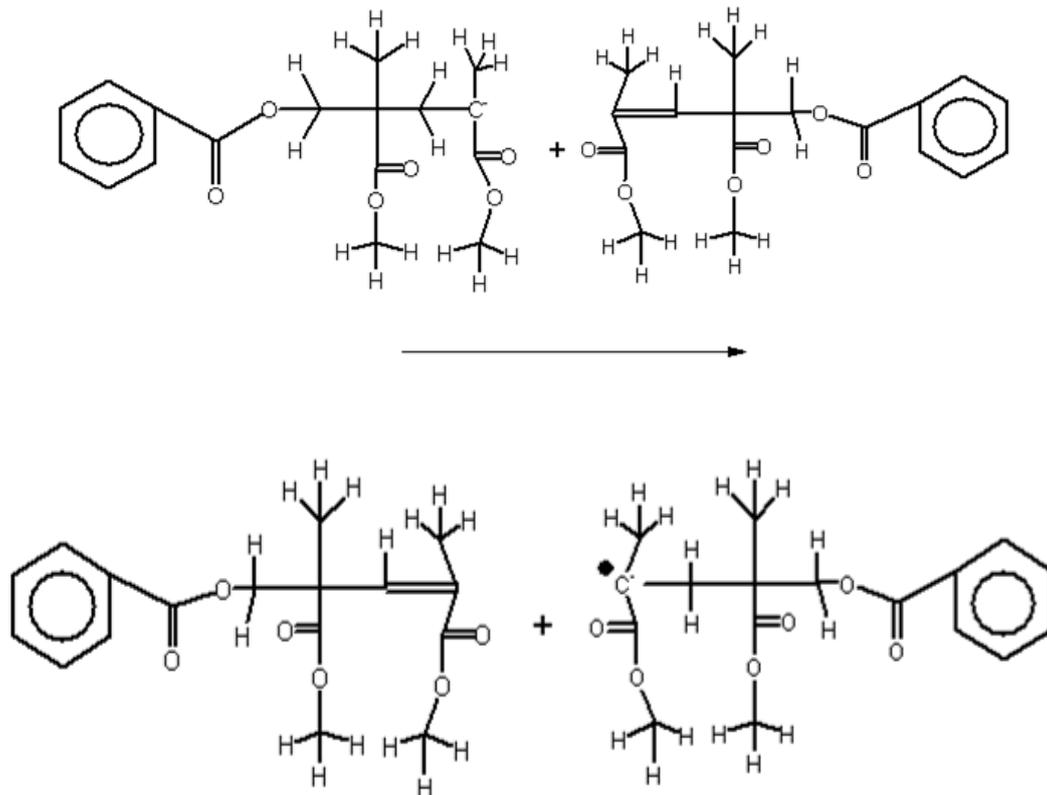
**Figura 5.** Cuando los radicales libres se acercan uno a otro, puede formarse un doble enlace en la molécula que dona un átomo de hidrógeno al otro radical libre.

La transferencia de cadena ocurre cuando un radical libre se acerca a una molécula de metil metacrilato y dona un átomo de hidrógeno a la molécula de metil metacrilato. Cuando esto ocurre, el radical libre recibe un doble enlace y se vuelve pasivo hasta que reacciona de nuevo con un radical libre. La molécula de monómero, por lo tanto, forma un radical libre que participa en la reacción de propagación en cadena. Como se muestra en la **Figura 7**.



**Figura 6.** Terminación por transferencia de cadena en donde una molécula de metil metacrilato se inactiva al recibir un átomo de hidrógeno

Puede ocurrir otro tipo de transferencia de cadena (**Figura 8**) cuando una cadena de propagación interactúa con el segmento pasivo que se formó en la **Figura 7**. Durante la interacción, el segmento pasivo se vuelve activo, en tanto que el segmento activo se vuelve pasivo.<sup>39</sup>



**Figura 7.** Terminación por transferencia de cadena donde la molécula inactiva de metil metacrilato inactiva de la reacción anterior se torna activa cuando dona su átomo de hidrógeno a otra molécula de metil metacrilato.

## 1.6 Polimerización por Condensación o de Crecimiento por Pasos.

Las reacciones producidas por el incremento de pasos en la polimerización progresan por los mismos mecanismos que las reacciones químicas entre dos o más moléculas simples. Los compuestos primarios reaccionan llevando a la formación de subproductos como agua, ácidos, halógenos y amoníaco. La formación de estos subproductos es la razón en la polimerización del crecimiento por pasos que se llama *polimerización por condensación*.

En la polimerización de crecimiento por pasos, se obtiene una cadena lineal de residuos de monómeros por el paso intermolecular adicionado al grupo reactivo de los monómeros bifuncionales. Estas reacciones son análogas a aquellas en las cuales las unidades monofuncionales van por debajo de la reacción de poliestierificación que implica un diol y un ácido dibásico (Figura 9).

Conforme avanza la reacción, se forman cadenas más largas, incluyendo los trímeros y los tetrámeros, a través de otras reacciones de esterificación, todas esencialmente idénticas en velocidad y mecanismo hasta que la última reacción contiene una mezcla de las cadenas de polímero y una gran masa molecular.<sup>39</sup>



## 1.7 Inhibición de la Polimerización

Las reacciones de polimerización no consumen por completo el monómero, ni siempre forman polímeros con alto peso molecular. A menudo las impurezas del monómero inhiben estas reacciones.

Cualquier impureza del monómero que pueda reaccionar con los radicales libres inhibe o retarda la reacción de polimerización. Puede reaccionar con el iniciador activado, con cualquier núcleo activado o con cadenas en crecimiento para evitar crecimiento adicional. La presencia de tales inhibidores influye en la longitud del periodo inicial así como en el grado de polimerización.

Por ejemplo, agregar pequeñas cantidades de hidroquinona al monómero inhibe la polimerización, y retarda la polimerización en presencia de un iniciador. En otras palabras, tanto un iniciador como algún agente inhibidor, pueden afectar las propiedades físicas y mecánicas de una resina dental.

La presencia de oxígeno también causa retardo en la reacción de polimerización porque el oxígeno reacciona con los radicales libres. Esto ha demostrado, por ejemplo, que la velocidad de reacción y el grado de polimerización disminuyen si la polimerización se lleva a cabo en sistema de aire abierto en comparación con un valor elevado obtenido cuando la reacción se efectúa en atmósfera inerte.

La influencia del oxígeno sobre la polimerización es controlada por algunos factores, como la concentración y la temperatura. Esto es importante para distinguir los efectos de inhibición del oxígeno sobre el proceso de polimerización.

En la práctica comercial común se agregan pequeñas cantidades (~0.006 %) de inhibidor, como el éter metilo de hidroxiquinona, al monómero para evitar la polimerización durante su almacenamiento.<sup>39</sup>

## 1.8 Copolimerización

En las reacciones de polimerización que se han descrito, las macromoléculas que se han formado por la polimerización, solamente dependen de un único tipo de unidad estructural. Para mejorar las propiedades físicas de un polímero pueden combinarse dos o más monómeros químicamente diferentes, cada uno con propiedades deseables. El compuesto formado se llama copolímero y su proceso de formación se conoce como copolimerización. En un copolímero, el número relativo y la posición de los diferentes tipos de unidades estructurales (monómeros), pueden variar entre las macromoléculas individuales. La composición de los copolímeros depende de las reactividades relativas de las diferentes moléculas y de las moléculas de igual composición.<sup>39</sup>

Los copolímeros son de tres tipos: al azar, en bloque e injertados. En el tipo al azar, las diferentes unidades de monómeros son distribuidas al azar a lo largo de la cadena (Figura 10).

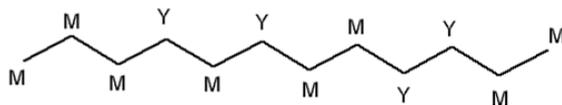


Figura 10. Copolímero al azar.

Sin embargo, si aparecen unidades idénticas en secuencias relativamente largas en la cadena principal de polímero se forma un *copolímero en bloque* (Figura 11).

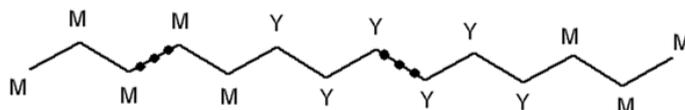


Figura 11. Copolímero en bloque.

Donde  $-M\dots M-$  y  $-Y\dots Y-$  representan los segmentos largos de la moléculas M y Y, respectivamente.

En los copolímeros injertados, las secuencias de uno de los monómeros están injertadas en una columna de la segunda especie de monómero (Figura 12).

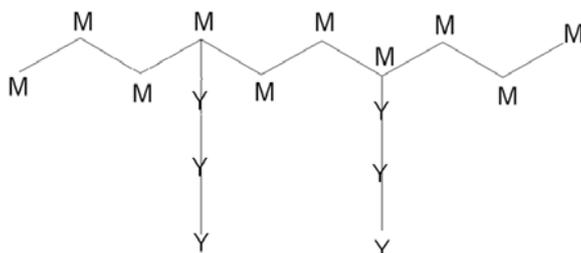


Figura 12. Copolímero injertado.

La copolimerización puede alterar las propiedades físicas de la resina final de manera considerable. Muchas de las resinas útiles son fabricadas por copolimerización. El metil metacrilato y los esteres de metacrilato copolimerizan rápidamente, con pequeña inhibición entre los monómeros pares. Por ejemplo, pequeñas cantidades de etilacrílico pueden copolimerizar con el metil metacrilato modificando la resistencia a la flexión de una dentadura.

El injerto de varios segmentos de polímero dentro de la cadena lineal proporciona un mecanismo importante para modificar o hacer a la medida macromoléculas y obtener las propiedades requeridas para usos específicos. Por ejemplo, los polímeros en bloque e injertos con frecuencia mejoran la resistencia al impacto. En pequeñas cantidades pueden modificar las propiedades adhesivas de las resinas tanto como las características superficiales.<sup>39</sup>

## 1.9 Resinas acrílicas.

Se derivan del etileno y contienen un grupo vinilo en su forma estructural. Hay al menos dos series de resinas acrílicas que son de interés dental. Una se deriva del ácido acrílico,  $\text{CH}_2=\text{CHCOOH}$ , y la otra del ácido metacrílico,  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{COOH}$ . Ambos componentes polimerizan por adición en la forma acostumbrada.

Aunque los poliácidos son duros y transparentes, su polaridad, relacionada con el grupo carboxilo, causa imbibición de agua. El agua tiende a separar la cadena y causa ablandamiento general y pérdida de resistencia.

Las tensiones de estos poliácidos, sin embargo, se consideran importantes desde el punto de vista dental. Por ejemplo, si R representa cualquier radical éster, la fórmula para el polimetacrilato será:

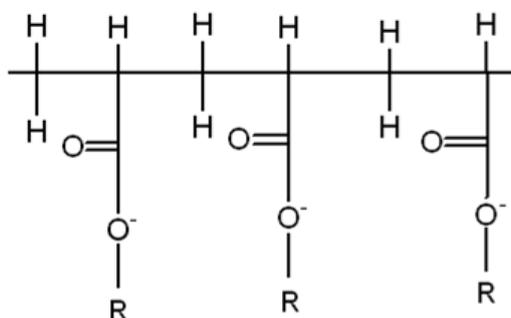


Figura 13. Estructura química del poli (metil metacrilato).

Debido a que R puede ser también cualquier radical orgánico o inorgánico; es evidente que miles de resinas acrílicas diferentes son capaces de formarse.

Además, las consideraciones no incluyen las posibilidades de copolimerización, las cuales incluso son mayores.

El efecto de la esterificación sobre el punto de ablandamiento de algunos polímeros no cristalinos es considerable. Si la cadena lateral se alarga de manera considerable, cuanto más larga sea, más baja será la temperatura de ablandamiento o de transición vítrea ( $T_g$ ).

### 1.10 Metil metacrilato.

El metil metacrilato es un monómero vinílico (Figura 14) que se mezcla con el polímero y forma una masa plástica. Esta masa es empacada dentro del molde, y el monómero es polimerizado por uno de los métodos descritos. En consecuencia, el monómero de metil metacrilato es de importancia considerable en Odontología.

El metil metacrilato es un líquido claro y transparente a temperatura ambiente con las siguientes propiedades físicas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Propiedades físicas del metil metacrilato.

<b>Punto de fusión</b>	<b>-48 °C</b>
<b>Punto de ebullición</b>	100.8 °C
<b>Densidad</b>	0.945 g/mL a 20 °C
<b>Temperatura de polimerización</b>	12.9 Kcal/mol

Tiene presión de vapor elevada y es un disolvente orgánico excelente. Aunque la polimerización del metil metacrilato puede ser iniciada por luz ultravioleta, luz visible o calor, comúnmente es polimerizada en Odontología por el uso de un iniciador químico.

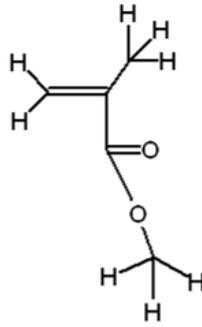


Figura 84. Molécula de metil metacrilato.

Las condiciones para la polimerización del metil metacrilato son críticas y decisivas para que la reacción no se lleve a cabo demasiado rápido. El grado de polimerización varía con las condiciones de polimerizado, como temperatura, método de activación, tipo de iniciador, concentración de iniciador, purificación de los reactivos y factores similares dando como resultado alteración en las propiedades físicas y mecánicas del material.

Por su rápida polimerización en condiciones de uso, el monómero de metacrilato es particularmente usado en odontología. Muchas resinas no polimerizan a la temperatura ambiente en presencia de aire. Una contracción de volumen de 21 % ocurre durante la polimerización del monómero puro de metil metacrilato.<sup>39</sup>

### 1.11 Poli (metil metacrilato).

El poli (metil metacrilato) es una resina de transparencia notable. Transmite la luz en un campo ultravioleta con longitud de onda de 250 nm. Es una resina con número de dureza de 18 a 20 Knoop, Resistencia a la tensión aproximadamente de 60 MPa, densidad de 1.19 g/cm<sup>3</sup>, módulo de elasticidad alrededor de 2.4 GPa.

La resina es muy estable químicamente, no se altera el color con la luz ultravioleta, se ablanda a 125 °C y puede ser modelada como material termoplástico. Entre 125 y 200 °C ocurre despolimerización. A 450 °C el 90 % del polímero se degrada.

Como toda resina acrílica, el poli (metil metacrilato) muestra tendencia a absorber agua mediante el proceso de imbibición. Su estructura no cristalina posee una energía interna elevada; por lo tanto, es posible producir difusión molecular porque requiere menor energía de activación. Además, el grupo polar carboxilo, aunque esterificado, forma un puente de hidrógeno de extensión limitada con el agua.

Las resinas para base de dentadura presentan sorción de agua, la típica resina dental de metacrilato muestra incremento aproximadamente 0.5 % de peso después de una semana en agua. La sorción de agua es marcadamente afectada por la masa molecular del polímero. A mayor masa molecular, menor incremento de peso. La sorción es reversible si la resina se deshidrata.

Debido a que el poli (metil metacrilato) es un polímero lineal, es soluble en numerosos solventes orgánicos, como la acetona y el cloroformo.

## 1.12 Interacción monómero-polímero

La función del monómero en el polímero de bajo peso molecular es producir una disolución parcial del polímero para obtener un material plástico que pueda colocarse en un molde y ser polimerizado para la obtención de las bases de dentaduras. Esta plastificación se efectúa por la disolución del polímero en el monómero. Durante la interacción física del monómero (líquido) y el polímero (polvo) se identifican cuatro periodos:

PERIODO 1: El polímero de bajo peso molecular se ablanda de manera gradual en presencia del monómero (arenosa) y forma una masa sin cohesión.

PERIODO 2: El polímero se dispersa en el monómero. Este periodo se caracteriza por ser una mezcla filamentosa y pegajosa al tacto.

PERIODO 3: A medida que el monómero se difunde, se satura de polímero y la mezcla se torna pastosa. Ya no es pegajosa y no se adhiere a las paredes del frasco que contiene la mezcla. A este periodo se le denomina estado plástico; estado durante el cual la mezcla se empaca en el molde.

PERIODO 4: El monómero desaparece por evaporación y por penetración en el polímero. La masa se hace cohesiva y elástica.<sup>39</sup>

## 1.13 Relación monómero-polímero

La proporción adecuada monómero-polímero es de considerable importancia para la estructura final de la resina acrílica. Cuanto más polímero se utilice, menor será el tiempo de reacción, y la contracción de la resina será menor. Pero se tiene que utilizar monómero suficiente para mojar bien cada partícula del polímero y lograr una mezcla homogénea. Se concluye que los componentes del polvo y líquido se mezclan de tal manera que la masa que se produzca tenga equilibrio apropiado de monómero-polímero. Si no se obtiene la combinación adecuada, la prótesis tendrá menor resistencia a la flexión, mayor cantidad de poros y deficiente estabilidad de color.<sup>39</sup>

## 1.14 Resinas para Base de Prótesis Termocuradas

### 1.14.1 Composición.

Muchas resinas de poli (metil metacrilato) consisten en un polvo y un líquido como componentes. El polvo consta de esferas de poli (metil metacrilato) de bajo peso molecular y una pequeña cantidad de peróxido de benzoílo.

El líquido es predominantemente metil metacrilato no polimerizado con pequeñas cantidades de hidroquinona.

Puede agregarse un *agente de entrecruzamiento* como el dimetacrilato de etilenglicol en las resinas para base de prótesis de poli (metil metacrilato). El dimetacrilato de etilenglicol es química y estructuralmente similar al metil metacrilato, y por tanto puede ser incorporado en una cadena de polímeros en crecimiento. Un polímero con esta formación produce una estructura de red que proporciona mayor resistencia a la deformación. Los agentes de enlace cruzado se incorporan dentro del líquido componente a una concentración de 1 a 2 %v.

### 1.15 PMMA Reforzado con Fibras de Uso Dental.

La fractura de las bases de dentaduras es un problema recurrente en la práctica odontológica. Para superar las limitaciones físicas y mecánicas que presenta el PMMA, se han incorporado a su composición diversas fibras como aramida, carbono, grafito, nylon, polietileno y vidrio.<sup>44, 45, 46,47</sup>

Las fibras de refuerzo se pueden incluir durante el procesamiento o reparación de las prótesis; o dicho de otra forma, pueden ser distribuidas uniformemente en el polímero para las bases de dentaduras o formar una estructura inmersa en la base para dentaduras.<sup>46</sup>

Estudios *in vitro* aseguran que las fibras de refuerzo empleadas en bases de dentaduras permiten un incremento de las propiedades mecánicas,<sup>27,36,43, 46,</sup> además de evitar la propagación de fisuras<sup>45</sup>; por ello algunas marcas comerciales han incorporado fibras de refuerzo, los fabricantes que así lo hacen, nombran a sus productos como de “alto impacto” o de “resistencia al impacto” asegurando que cuentan con mejores propiedades mecánicas,<sup>45</sup> como el caso de Lucitone 199 (Dentsply) que contiene en su formulación fibras plásticas.<sup>48</sup>

## 1.16 Fibras de Polietileno.

El polietileno (PE) fue sintetizado por primera vez por el químico alemán Hans Von Pechmann quien por accidente lo inventó en 1898 mientras calentaba en la estufa diazometano. Cuando sus compañeros Eugen Bamberger y Friedrich Tschirner caracterizaron la sustancia grasosa y blanca que él creó, descubrieron largas cadenas compuestas por  $-CH_2-$  y lo llamaron polimetileno.<sup>49, 50</sup>

El 27 de marzo de 1933 el polietileno fue sintetizado como lo conocemos hoy en día, por Reginald Gibson y Eric Fawcett en Inglaterra, quienes trabajaban para los laboratorios ICI. Esto fue logrado aplicando una presión de aproximadamente 1400 bar y una temperatura de 170 °C, donde en una autoclave fue obtenido el material de alta viscosidad y color blanquecino que hoy en día se conoce.<sup>51, 52</sup>

La presión requerida para lograr la polimerización del etileno era demasiado alta, por ello es que la investigación sobre catalizadores realizada por el alemán Karl Ziegler y el italiano Giulio Natta, que dio origen a los catalizadores Ziegler-Natta valió el reconocimiento del premio Nobel en 1963 por su aporte científico a la Química. Con estos catalizadores se logra la polimerización a presión normal.<sup>52</sup>

El polietileno es químicamente el polímero más simple. Se representa con su unidad repetitiva  $(CH_2-CH_2)_n$ . Por su alta producción mundial (aproximadamente 60 millones de toneladas son producidas anualmente alrededor del mundo) es también muy económico, lo que le ha otorgado popularidad. Es químicamente inerte, se obtiene de la polimerización del etileno  $(CH_2=CH_2)$  del que deriva su nombre.<sup>53,50</sup>

El polietileno puede ser producido por diferentes reacciones de polimerización, y cada una de ellas produce un tipo diferente de polietileno. El polietileno de bajo peso molecular es un polímero de cadena lineal no ramificada, mientras el polietileno de alto peso molecular es un polímero cuya estructura es altamente ramificada, esto le concede características ideales para ser empleado en Odontología como fibra de refuerzo y tiene las siguientes características.<sup>52</sup>

- Buen aislante térmico.
- Alta resistencia al impacto.
- Translucidez.
- Fácil de procesar, incluso por el método de inyección.
- Flexible.
- Baja sorción de agua.

Las fibras de polietileno se han empleado como fibras de refuerzo ya que tienen características estéticas adecuadas, además de una excelente unión con el PMMA.<sup>54</sup>

### 1.17 Técnica de Termopolimerización (baño de agua).

Para elaborar bases de dentaduras de forma convencional, se mezclan el monómero de MMA y el polímero de PMMA de la resina acrílica, cuando la mezcla se encuentre en estado plástico, se coloca en un molde de bronce (mufla) que dentro contiene el espacio suficiente para colocar los modelos protésicos así como la mezcla de la resina acrílica, se cierra la mufla, se prensa y se introduce en una olla de calentamiento con agua para llevar a cabo la polimerización de la resina.

Dos ciclos de polimerización de temperatura y tiempo para los materiales de bases de dentaduras de resina acrílica se pueden usar: rápido y lento.

Un ciclo de polimerización rápido es de 90 min a 75 °C seguido de 1 h en ebullición.

Un ciclo de polimerización lento es de 9 h en agua a  $70 \pm 2$  °C. Teóricamente, el ciclo lento produce menos contracción de polimerización, pero las diferencias son tan pequeñas que no tienen importancia clínica, ya que los dos métodos producen dentaduras satisfactorias.

Al término del ciclo de polimerización, las muflas con su prensa se retiran del agua y se dejan enfriar.

Si se siguen las especificaciones de manipulación de cada fabricante, se puede esperar que el material de base muestre un mínimo cambio dimensional y porosidad.<sup>39</sup>

Es necesario que la temperatura se incremente por arriba de 60 °C para que las moléculas de la mezcla de la resina acrílica, formen radicales libres y así la reacción en cadena se propague hasta concluir el proceso de polimerización.<sup>35</sup>

El punto de ebullición del monómero (100.8 °C) es un poco superior al del agua;<sup>35</sup> por lo que el efecto de la elevación de la temperatura a más de 90 °C durante la polimerización de la resina acrílica es provocar porosidad en las partes gruesas de la prótesis que se está procesando, resultando una prótesis menos resistente a la flexión y con mayor riesgo de acumulación microbiana.<sup>35</sup>

## **1.18 Propiedades de las resinas acrílicas termopolimerizables**

### **1.18.1 Contracción de polimerización**

La contracción de polimerización que sufren las bases de dentaduras después de ser polimerizadas es de aproximadamente 21 %. Cuando se mezcla una resina acrílica, termopolimerizable convencional, con la proporción adecuada de polímero-monómero, la contracción por polimerización que se calcula es de cerca del 8 %.<sup>56</sup>

### **1.18.2 Rigidez y resistencia**

Las prótesis no deben distorsionarse de forma significativa bajo las cargas masticatorias. El acrílico tiene un módulo de elasticidad relativamente bajo (2.4 GPa) y por lo tanto la base de la prótesis no debe elaborarse con un espesor inferior a 1 mm, ya que reducir este espesor para favorecer la comodidad del paciente lleva a elaborar prótesis con aumento de flexibilidad, lo cual conduce a la concentración local de cargas y a la resorción localizada y acelerada del reborde residual (hueso de soporte de la prótesis), debido a que las fuerzas de masticación no serían soportadas por la prótesis sino pasarían directamente al hueso residual, por eso las prótesis elaboradas con poliamidas no son adecuadas (Valplast).

La fractura por fatiga, es el resultado de la flexión constante a lo largo de la zona más débil de la prótesis, fenómeno con mayor probabilidad de ocurrir en prótesis con grosores inadecuados.<sup>57</sup>

### **1.18.3 Estética**

Las propiedades estéticas de los polímeros acrílicos para bases de prótesis son buenas. El poli (metacrilato de metilo) es transparente, lo cual facilita la obtención de un color compatible con las estructuras bucales mediante la incorporación de pigmentos rosados, siendo estable esta coloración.<sup>35,58</sup>

## 1.19 Especificaciones de la norma ISO 1567 y la norma ISO 10993-5.

Los materiales consisten en un grupo heterogéneo de sustancias naturales y sintéticas, incluyendo aleaciones, polímeros y cerámicas. Las normas que especifican las pruebas de los materiales dentales en general, se han limitado a evaluaciones de las propiedades físicas y químicas. Los programas de pruebas para los materiales dentales están basados en normas establecidas por las organizaciones internacionales de normas, como el American National Standard's Institute (ANSI) y el International Organization for Standardization (ISO). Hasta ahora, los requerimientos físicos y químicos para los materiales dentales se han especificado en base a las experiencias de su uso en el área clínica. La norma No. 12 de la Asociación Dental Americana (ADA) "Physical properties of acrylics in for denture bases"<sup>59</sup> y la norma 1567 de la Organización Internacional para la Estandarización (ISO) "Denture base polymers"<sup>16</sup> especifican las pruebas a realizar para las resinas acrílicas para bases de dentaduras que se aplicaron en este estudio.

### 1.19.1 Sorción de agua y Solubilidad

Las moléculas de agua tienen la tendencia a penetrar en los sólidos poliméricos,<sup>60</sup> el poli(metacrilato de metilo) absorbe agua con lentitud durante cierto tiempo. Se estima que la resina acrílica se expande de manera lineal al 0.23 % por cada 1 % de aumento de peso por agua absorbida.<sup>39</sup>

Como la difusión de agua dentro de la resina acrílica separa las moléculas, éstas se tornan más móviles liberando tensiones intermoleculares, produciendo relajación molecular y posible cambio en la forma de la prótesis; fenómeno que si se presenta continuamente en el material puede causar deformación permanente en él.<sup>39</sup>

La presencia de esta cantidad de agua en la resina influye en las propiedades mecánicas de la prótesis, debido a que las moléculas de agua pueden actuar como plastificantes y aumentar la flexibilidad de la resina. La sorción de agua es acompañada por una expansión.<sup>61</sup> Cuando las resinas están húmedas son más flexibles y débiles en la resistencia a la flexión que cuando están secas.<sup>62,</sup>  
64

De acuerdo a la norma ISO 1567, el aumento de peso de la resina durante la prueba de sorción de agua no debe ser mayor de  $32 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  para evitar cambios dimensionales en las prótesis, mal olor producido por la sorción de los fluidos bucales y aumento en la acumulación microbiana en el interior de las prótesis. Las resinas acrílicas son virtualmente insolubles en los fluidos bucales, sin embargo, son solubles en muchos solventes orgánicos, de manera que, aunque no se disuelven durante el uso normal hay que evitar el contacto con solventes cuando se limpian o guardan.

Reisbick en 1980 realizó pruebas de sorción de agua y solubilidad; menciona que la presencia de sorción se refleja clínicamente en el grado de expansión de las dentaduras. Sin embargo, como la solubilidad de las resinas es baja, el grado de solubilidad de las resinas acrílicas no parece afectar el rendimiento clínico de las dentaduras ni a los tejidos de los pacientes.

Para la prueba de solubilidad, la norma ISO 1567, señala que ésta pérdida de peso no debe ser mayor de  $1.6 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ , para evitar desajustes posteriores de las prótesis.

### 1.19.2 Deflexión Transversa

La deflexión transversa de un material es obtenida cuando una fuerza es aplicada en el centro de una muestra que se encuentra apoyada en dos soportes, también es llamada prueba de tres puntos y permite calcular el módulo elástico, resistencia a la flexión, así como la deformación que sufre el material. Cuando se aplica una carga, la muestra se flexiona; la deformación resultante se manifiesta en la disminución de las dimensiones verticales (deformación por compresión) y el alargamiento de las dimensiones horizontales (deformación por tracción). La deflexión de las muestras sometidas a esta prueba debe cumplir con los valores que la norma No. 12 de la ADA requiere. La deflexión transversa es una prueba especialmente utilizada en resinas acrílicas para bases de dentaduras en las cuales una carga es aplicada durante los movimientos de la masticación. Esta prueba determina no solo la deflexión, sino también la cantidad de deformación que sufre el material y la norma señala que al aplicarles 34 N las muestras no deben deflexionarse más de 2.5 mm y al aplicarles 49 N el rango de deflexión debe situarse entre los 2 y los 5.5 mm .<sup>39</sup>

### 1.19.3 Módulo Elástico.

Se encuentra especificada en la Norma ISO 1567. En ésta prueba se evalúa la deformación elástica que una tensión dada produce en la resina acrílica; es decir, la relación entre la tensión y la deformación dentro de los límites de la elasticidad. Éste valor debe ser de 2000 MPa como mínimo para evitar deformaciones en la base de la prótesis puesto que es la medida de la rigidez del material.<sup>39</sup>

#### **1.19.4 Resistencia a la Flexión.**

En una base protésica interesan sus propiedades no solo durante su procesamiento sino también durante su funcionamiento en la cavidad bucal,<sup>39</sup> esta prueba, también llamada resistencia transversal o módulo de ruptura, es la manera habitual de evaluar el comportamiento mecánico de las bases de dentaduras y debe ser de 65 MPa como mínimo de acuerdo a la norma ISO 1567.<sup>16</sup>

#### **1.19.5 Contenido de MMA residual**

En las reacciones de polimerización no siempre reacciona por completo el monómero para formar polímeros con alto peso molecular. A menudo las impurezas del monómero inhiben estas reacciones provocando que éste quede atrapado entre las cadenas de polímeros.

Esto influye directamente en el grado de polimerización así como en las propiedades físicas y mecánicas del material; tomando en cuenta también que un contenido elevado de MMA residual puede provocar una reacción alérgica o de irritación en el paciente portador de la prótesis total.

La norma ISO 1567 especifica que las resinas para base de dentadura tipo 1 clasificación 1 deben presentar un contenido de MMA residual máximo de 2.2 % en fracción de masa para no presentar alteración en las propiedades físicas y mecánicas del material y evitar posibles reacciones alérgicas o de irritación.

### 1.19.6 Citotoxicidad *in vitro*.

Debido a la viabilidad de las pruebas de citotoxicidad *in vitro* en la evaluación de un amplio campo de biomateriales la Organización Internacional de Estándares (ISO) desarrolló la norma ISO 10993 la cual especifica una metodología de prueba que describe una serie de pasos que propician la selección más apropiada para el biomaterial a probar.

Existen tres categorías: a) ensayo de extracción, b) ensayo de contacto directo, c) ensayo de contacto indirecto. La elección de una o más de estas categorías depende de la naturaleza de la muestra a ser evaluada y su uso potencial, con el fin de determinar los detalles de la preparación de las muestras, la preparación de los cultivos celulares y la forma en la cual los cultivos serán expuestos a las muestras. Cabe destacar que dentro del apartado 5 de la norma ISO 10993 se especifica que el tipo de células a seleccionar debe ser acorde al tipo de células a las que estaría en contacto el biomaterial en la cavidad bucal en éste caso seleccionamos fibroblastos debido a su importante participación en la producción de la matriz extracelular del tejido epitelial.<sup>63</sup>

Al final de la exposición se debe seleccionar una forma correcta de análisis e interpretación de los resultados y pueden ser categorizados de la siguiente manera:

- Evaluación del daño celular por medios morfológicos.
- Mediciones del daño celular.
- Mediciones del crecimiento celular.
- Mediciones de aspectos metabólicos celulares específicos.

Por lo que se debe tener claro dentro de cual categoría se estará trabajando, con la finalidad de que los resultados se puedan interpretar de una forma cuantitativa y sean comparables con otras investigaciones similares sobre el mismo biomaterial.

## 1.20 SÍNTESIS DE PMMA

La síntesis del poli (metil metacrilato) se puede llevar a cabo por 4 diferentes técnicas:<sup>64</sup>

- a) Polimerización en suspensión. Utiliza un peróxido que es soluble en el monómero pero ambos son insolubles en el medio dispersante que por lo general es agua. Se obtiene un polímero en forma de gránulos esféricos que fácilmente pueden ser aislados por filtración o sedimentación. El tamaño de partícula obtenido es de 45 –400  $\mu\text{m}$  con peso molecular de 24,000 a 80,000 Da.
- b) Polimerización en emulsión. La reacción se lleva a cabo con peróxidos solubles en agua, y se le añade un emulsificante, que puede ser un jabón o detergente. El tamaño de partícula que se obtiene es de 1 – 20  $\mu\text{m}$ , con peso molecular de 38,000 a 85,000 Da. Su aplicación es en plastisoles (látex).
- c) Polimerización en masa. Los únicos componentes son el monómero y el iniciador (peróxido). El polímero que se obtiene es más puro, sin embargo la reacción es altamente exotérmica y se obtienen partículas de gran tamaño (70-170  $\mu\text{m}$ ) que no se dispersan en los plastificantes. Por su peso molecular bajo se utilizan en adhesivos.
- d) Polimerización en solución. En esta polimerización se diluye el monómero con disolventes en los cuales también se disuelve el polímero. Empleando un disolvente adecuado se evitan los problemas derivados de la reacción exotérmica de polimerización, aunque se crea el problema de la separación posterior del disolvente. Este tipo de polimerización se emplea cuando el polímero final va a aplicarse en forma disuelta, como en el caso de adhesivos o barnices.<sup>64</sup>

## 1.21 *Candida albicans*

### 1.21.1 Taxonomía

*Candida albicans* se encuentra actualmente clasificada taxonómicamente de la siguiente forma: <sup>65,66</sup>

**Clase:** *Deuteromycota*

**Subclase:** *Blastomycetes*

**Orden:** *Cryptococcaceae*

**Familia:** *Criptococeae*

**Género:** *Candida*

**Especie:** *albicans* (como la más frecuente y patógena) <sup>67-69</sup>

El género *Candida* comprende más de 150 especies de blastoconidios (levaduras) que no forman esporas, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual por lo que se encuentran de la división *Deuteromycota*.<sup>65</sup>

Es un hongo microscópico, saprófito, patógeno oportunista el cual habita en la mucosa bucal, gastrointestinal, vaginal y piel del humano. La especie *Candida albicans* es la de más importancia médica, debido a que la mayoría de las micosis que se presentan en el humano son ocasionadas por este microorganismo.

*Candida albicans* presenta características morfológicas, estructurales, de adherencia y factores de patogenicidad los cuales están relacionados con su capacidad para producir lesiones.

## 1.21.2 Morfología

*Candida albicans* tiene tres formas biológicas y morfológicas.

### 1.21.2.1 Blastoconidio.

Es una célula oval levaduriforme de 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diámetro en su estado maduro, las cuales se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. Este proceso de división implica la producción de nuevo material celular proveniente de la superficie del blastoconidio. Cuando el brote o yema ha crecido y se encuentra en su tamaño óptimo, lleva a cabo la división celular y se forma un tabique o septo entre las dos células.

### 1.21.2.2 Hifas.

Es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de levaduras o de hifas existentes, miden de 5 a 15  $\mu\text{m}$  de largo en sus estado maduro. Esta crece continuamente por extensión apical inicialmente como tubo germinativo, pseudohifa y posteriormente hifa verdadera. Se ha demostrado *in vitro* que varios factores regulan la transición de blastoconidio a hifa, como son temperaturas entre 37 °C a 40 °C, pH entre 6.5 a 7 y la presencia de fuentes de carbono y nitrógeno, así como dos factores de transcripción Cph1 y Efg1p.<sup>66-70</sup>

### 1.21.2.3 Clamidioconidio.

Son cuerpos celulares grandes de pared gruesa, la cual los protege contra condiciones desfavorables, dicha pared tiene dos capas: la interna de polisacárido y la externa de proteínas. Se presentan cuando se cultivan en medios especiales como el agar harina de maíz. El clamidioconidio tiene un diámetro de 7 a 17  $\mu\text{m}$  en su estado maduro y por lo general se origina en el extremo del seudomicelio. Es una importante característica morfológica en la identificación de *Candida albicans*.<sup>66,67, 69, 70</sup>

## 1.21.3 Factores de Patogenicidad de *Candida albicans*

### 1.21.3.1 Componentes estructurales

#### 1.21.3.1.1 Pared celular.

Es una estructura multilaminada funcional, responsable de la forma y protección frente a los cambios osmóticos. En ella se encuentran moléculas que intervienen de forma decisiva en la patogenia de infecciones, antígenos y moléculas que participan en la adherencia del hongo a células de hospedador y a prótesis.<sup>71</sup>

La pared celular de *C. albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos: manano (polímero de manosa), quitina (polímero de glucosamina) y glucano (polímero de glucosa). Aunque la síntesis de los componentes de la pared celular está dinámicamente influenciada por las condiciones de crecimiento y por los estadios metabólicos. El polisacárido manano representa aproximadamente el 40 % los polisacáridos de la pared celular de la levadura. El glucano y el  $\beta$ -glucano el 40 % del peso seco de la pared celular, quitina entre 0.6 % y 9 % del peso de la pared celular.

Otros componentes han sido reportados, tales como proteínas en cantidades que oscilan alrededor del 6 % y lípidos entre 1 % y 7 %.<sup>72,73</sup> Las proporciones de los componentes que constituyen la pared celular de las hifas y de los tubos germinales es relativamente similar, aunque la cantidad de glucano y de quitina de *C. albicans* varía de acuerdo con forma de crecimiento.<sup>72,74</sup>

Estudios ultra estructurales de la pared celular de *C. albicans* han demostrado una compleja microarquitectura. La pared tiene un espesor variable 125-300 nm y está compuesta por varias capas. El número de capas y su morfología varían; esta variación está relacionada con diversos factores tales como: la etapa de crecimiento celular, la forma de crecimiento (como levadura o como tubo germinal), la capa seleccionada para su estudio y el medio de cultivo empleado para el crecimiento de la célula.

Se han descrito cinco capas dentro de la pared celular, las cuales son (de adentro hacia afuera): a) manoproteínas, b)  $\beta$ -glucano + quitina, c)  $\beta$ -glucano, d) manoproteínas y e) una capa de fibrillas.<sup>71,72,74</sup>

Los polisacáridos del tipo manano están localizados a lo largo de pared celular y éstos, predominan en las zonas de alta densidad electrónica.<sup>75, 76</sup> Las capas internas de la pared celular están compuestas principalmente por quitina y glucano.<sup>22</sup> Estos componentes le dan rigidez a la célula y son esenciales para la división celular.<sup>77, 78</sup>

Están presentes tres tipos de glucano: 1) glucano  $\beta$ -1,6 altamente ramificado, 2) glucano  $\beta$ -1,3 altamente ramificado y 3) glucano  $\beta$ -1,6- $\beta$ -1,3 mezclado con quitina. Las proporciones de ciertos tipos de glucano difieren entre los blastoconidios y los tubos germinativos de *C. albicans*. Durante las primeras etapas de la formación del tubo germinativo, se sintetiza casi exclusivamente glucano  $\beta$ -1. La quitina se encuentra en las células en forma de blastoconidio, hifas, pseudohifas y en los tubos germinativos, aunque la proporción es mayor en las hifas<sup>28</sup>. La capa externa de fibrillas de la pared celular de *C. albicans*, tanto en blastoconidios como en hifas está compuesta de manano. Esta capa ha sido descrita en ocasiones como un revestimiento mucoso o capsular.<sup>79</sup>

#### 1.21.3.1.2 Manoproteínas.

La pared celular de *C. albicans* reconocen receptores específicos en el hospedero localizados en los componentes de la matriz extracelular (laminina, entactina, colágeno y filamentos de actina), componentes del suero (fibrinógeno y fibrina) y aquéllos que están ubicados en las células epiteliales endoteliales. La expresión de estas manoproteínas de la pared celular juega un papel importante en la morfogénesis además de ser potentes inmunógenos capaces de disparar y modular la respuesta inmune durante la candidiasis<sup>69,79</sup> Las manoproteínas de *C. albicans* están constituidas por residuos de manosa unidos entre sí por enlaces  $\alpha$ -1,6 los cuales se unen a la porción de proteína a través de dos residuos de N-acetil glucosamina (unidos entre sí por enlaces  $\beta$ -14) con un residuo de asparagina y residuos de manosa que se unen a la proteína a través de residuos de los aminoácidos serina y treonina.

#### 1.21.3.1.3 Citoplasma.

En el citoplasma se encuentra un núcleo que contiene 7 cromosomas y está delimitado por una membrana nuclear, un nucléolo rico en ARN y organelos citoplasmáticos como mitocondrias, vacuolas retículo endoplásmico, aparato de Golgi y ribosomas 80 S.<sup>71</sup>

#### 1.21.3.1.4 Membrana citoplasmática.

Es una estructura que reviste gran importancia, ya que los antimicóticos actúan a nivel de la misma, además de contener las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. Está presente una doble capa de lípidos y posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200-300 nm de longitud, por 35-40 nm de espesor.<sup>80,81</sup> Además de los lípidos, la membrana citoplasmática está compuesta por grandes cantidades de proteínas y carbohidratos en menor proporción.<sup>67</sup>

## 1.21.4 Mecanismos de Adherencia

### 1.21.4.1 Adherencia.

Es un requisito para la colonización y un paso fundamental para el establecimiento de la infección. La fase inicial de la adherencia de *C. albicans* a los biomateriales es mediada por factores no específicos (la hidrofobicidad superficial y fuerzas electrostáticas) y por adhesinas específicas en la superficie del microorganismo que reconocen ligandos en las películas de condicionamiento, tales como proteínas del suero (fibrinógeno y fibronectina). Estudios recientes sugieren que los acontecimientos específicos de la adherencia se puedan también mediar por las proteínas de la superficie de la célula tales como los codificados por los miembros de la familia de las aglutininas de secuencia (ALS) que producen los genes de adhesión –EAP1.<sup>67</sup> Los principales componentes de la pared celular son el glucano, quitina y mananoproteínas. Los dos primeros están asociados con la rigidez estructural, y las mananoproteínas están implicadas en la adherencia a los tejidos del hospedero, y son diferentes en su expresión, secreción y localización dentro de la estructura de la pared.

Las interacciones físicas de *C. albicans* con el hospedero son a nivel de la superficie celular, y los constituyentes proteicos de la pared celular de esta levadura, involucrados en esta unión, se han designados como adhesinas. El componente es reconocido en el hospedero por el microorganismo y se le conoce como ligando o receptor. *Candida albicans* se adhiere a células epiteliales, células endoteliales, factores solubles, componentes de la matriz extracelular y materiales inertes como prótesis implantadas en el cuerpo del hospedero. Los ligandos o receptores de estos sitios en el hospedero son diversos, y representan toda clase de moléculas, incluyendo carbohidratos, proteínas y lípidos. El gran repertorio de adhesinas desplegado por esta levadura refleja la variedad de sitios en el hospedero que pueden ser invadidos.

La interacción de estas adhesinas con el hospedero tiene implicaciones directas para la patogénesis, ya que pueden modular (activar o inhibir) la respuesta inmune. Los mananos y las manoproteínas exhiben una importante potente actividad inmunomoduladora, capaz de regular virtualmente la respuesta inmune (células asesinas naturales, fagocitos, la inmunidad mediada por células y los mecanismos humorales).<sup>82,83 84</sup>

#### 1.21.4.2 Coagregación.

Como comensal de la cavidad bucal, *C. albicans* puede adherirse a proteínas de la saliva y a bacterias de la cavidad bucal para evitar su eliminación de esta zona. En estas interacciones intervienen múltiples mecanismos. Se ha observado aglutinación microscópica y macroscópica de aislados de *C. albicans* con cepas de *Streptococcus sanguis*, *S. salivaris*, *S. mutans*, *S. mitis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus amylovorus* y *Phorphyromonas gingivalis*. En general, la asociación con especies bacterianas distintas a los estreptococos es sensible al tratamiento térmico de las bacterias y a la inhibición por un carbohidrato, por lo tanto, para estas especies, se sugiere la presencia de una interacción tipo lectina con los carbohidratos presentes en la superficie de *Candida albicans*.

*Candida albicans* también puede unirse a *S. gordonii* esta interacción parece ser una propiedad general para el hongo, ya que numerosas cepas poseen la habilidad de unirse a esta bacteria. La adhesina de unión que se ha propuesto para esta bacteria es un oligosacárido complejo. Esto se demostró por experimentos realizados utilizando anticuerpos contra el polisacárido de la pared de *S. gordonii* el cual inhibe la adherencia.

### 1.21.4.3 Formación de biopelícula.

Para colonizar, los blastoconidios deben primero adherirse a las células del anfitrión o a la superficie del biomaterial que se encuentran cubiertas con una película de acondicionamiento de glicoproteínas. La película de acondicionamiento se forma en la superficie de biomateriales y de la capa inferior del tejido fino inmediatamente después de la implantación, debido a que los dispositivos biomédicos son rodeados generalmente por los fluidos corporales tales como saliva, sangre, líquido sinovial y orina; la formación de la biopelícula se relaciona con la hidrofobicidad de la superficie de la célula. La adherencia de las células es seguida de cerca por la formación y la proliferación de biopelículas. El resultado del crecimiento de biopelículas es la resistencia marcada a los agentes antimicrobianos y la protección contra las defensas del huésped.<sup>67</sup>

## 1.21.5 Mecanismo de Invasión a Tejidos

Para cambiar su comportamiento saprofita o patógeno, *Candida albicans* tiene que desarrollar algunas características fenotípicas que le permitan penetrar al organismo del hospedero. La propensión de la célula fúngica a cambiar su comportamiento es muy grande y depende de su entorno. Se ha demostrado que el cambio fenotípico en las cepas de *C. albicans* está asociado con las infecciones sistémicas. Para ser más considerado como un patógeno, *Candida* tiene que exhibir dos propiedades fundamentales: la adherencia a los receptores en el hospedero y la producción de enzimas líticas. Está bien establecido que estos dos procesos están asociados con variaciones morfológicas. Operando una transición dimórfica de estado levaduriforme (blastoconidio) al estado filamentoso (hifa), *C. albicans* incrementa sus propiedades adhesivas y la secreción de enzimas.<sup>65,69 79</sup>

### 1.21.5.1 Dimorfismo.

La capacidad para desarrollar dos tipos de crecimiento, el filamentoso y el levaduriforme, favorece la adaptación al hospedero y facilita la evasión de sus mecanismos de defensa al producirse un cambio antigénico o de composición bioquímica entre los componentes de los dos tipos de desarrollo. Cuando *C. albicans* se encuentra como colonizador de las mucosas se desarrolla fundamentalmente como levaduras mientras que cuando invade los tejidos se observa en forma de levadura y filamentosa, ésta última facilita la adhesión de células al hospedero, la penetración tisular dificulta la fagocitosis al ser más difíciles de fagocitar que las levaduras y permitir el escape del interior de la célula fagocítica al romper su membrana citoplasmática.

### 1.21.5.2 Tigmotroismo

*Candida albicans* puede orientar su crecimiento cuando se encuentra en su fase micelial guiándose por la topografía del tejido, este crecimiento guiado por contacto es utilizado por el hongo para encontrar interrupciones entre las células y penetrar entre ellas.

### 1.21.5.3 Enzimas

Las proteasas y fosfolipasas producidas por *Candida albicans* facilitan su multiplicación favoreciendo la diseminación por los tejidos del hospedero ya que éstas son capaces de escindir la acción de la Ig A sérica y la Ig A secretora.<sup>71</sup>

### 1.21.6 Estomatitis protésica

Es un proceso inflamatorio de la mucosa bucal. Sus principales formas clínicas son la atrófica (con presencia de lesiones eritematosas) y la hiperplásica. Se observa con mayor frecuencia en mujeres, principalmente con localización maxilar, en la superficie del paladar que se encuentra en contacto con la prótesis dental. La mucosa del paladar que está en contacto con la dentadura se inflama de manera difusa, en placas o extendiéndose afectando toda el área que está en contacto con la prótesis. Se observa una zona roja con petequias y en casos crónicos ocurre hiperplasia papilar en la bóveda palatina así como edema y eritema.

Esta lesión tiene una etiología multifactorial y ha sido asociada principalmente con la presencia de *Candida albicans*, así como con otros microorganismos bucales. El desarrollo de estomatitis protésica se ve influido por la presencia de prótesis, microorganismos, factores locales y sistémicos como el pH salival ácido, el alto consumo de carbohidratos, tratamiento prolongado con antibióticos, terapia hormonal, así como por enfermedades sistémicas, como diabetes mellitus o hipertensión arterial, xerostomía, neoplasias, deficiencias nutricionales en infección por VIH, que tienen repercusión directa en las condiciones ambientales de la cavidad bucal.

El hecho de portar una prótesis ya es un factor predisponente para dicha patología. Se crea un ambiente cerrado, anaerobio, entre la prótesis colocada en la boca y la mucosa, con lo cual se favorece el crecimiento de *Candida*, pudiendo pasar de ser un hongo comensal a un patógeno que infecte la mucosa. Si además la superficie de la prótesis es rugosa y tiene una elevada porosidad, se favorece la acumulación de microorganismos y la aparición de la enfermedad.

En ocasiones los cambios epiteliales producidos por irritación por parte de *C. albicans* durante esta patología pueden degenerar en atipias celulares y transformaciones malignas. Con relación a esto, se ha comprobado la capacidad de *Candida albicans* para producir nitrosaminas (N-nitrobenzilmetilamina carcinogénica). En lesiones con fenómenos de premalignización se han aislado cepas con un mayor poder de nitrosaminación. Las células epiteliales tratadas con nitrosaminas, producidas por *Candida albicans* alcanzan la fase de carcinoma en periodos cortos.

## CAPÍTULO II

### 2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hoy en día, las prótesis totales removibles son utilizadas por pacientes que en su mayoría padecen enfermedades sistémicas o están inmunocomprometidos, lo cual aunado a inadecuados hábitos de higiene y deficientes técnicas de desinfección de las prótesis los lleva a presentar acumulación microbiana en la superficie de las dentaduras y en las estructuras de la cavidad bucal.<sup>85</sup>

El material de primera elección para elaborar prótesis totales es el PMMA<sup>86</sup>, debido a que se considera un biomaterial que a pesar de presentar propiedades físicas aceptables, se encuentra en continua modificación, sin embargo es el material ideal para soportar las cargas masticatorias sin lesionar los tejidos de soporte. Es necesario encontrar formulación de resina acrílica que presente el mínimo de porosidad, de monómero residual, sorción de agua, solubilidad, adherencia microbiana y que continúe siendo estético y biocompatible.

Hay que señalar que el personal que procesa las prótesis dentales en el laboratorio, con frecuencia no tiene control sobre el tiempo y temperatura indicados para una adecuada polimerización, sin tomar en cuenta que someter las prótesis a diferentes tiempos y temperaturas de polimerización modifican directamente las propiedades finales de las prótesis.<sup>87</sup>

Una resina acrílica con propiedades físico-químicas alteradas tendrá un desempeño inapropiado provocando hipersensibilidad en mucosas, deficiente estabilidad dimensional o desajuste protésico, mal olor y cambio de color de las dentaduras, hasta estomatitis protésica causada por la acumulación de microorganismos, repercutiendo directamente en la vida diaria de los pacientes y por ende en el éxito del tratamiento protésico.<sup>86</sup>

## 2.2 JUSTIFICACIÓN

Las investigaciones en cuanto a síntesis y caracterización de polímeros realizadas en el Laboratorio de Materiales Dentales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología de la UNAM<sup>20,88</sup> despertaron el interés por evaluar de forma integral el comportamiento físico-químico, así como las propiedades de adherencia de *Candida albicans* y citotoxicidad de una resina acrílica de PMMA sintetizada y reforzada con fibras de polietileno.

El 67 % de los pacientes portadores de dentaduras padecen en algún período de su vida acumulación y proliferación de *Candida albicans*<sup>89</sup> patógeno oportunista causante de procesos infecciosos en la cavidad bucal.<sup>90,91</sup>

Factores intrínsecos como la porosidad y el contenido de monómero residual influyen en las propiedades de las resinas acrílicas.<sup>86</sup> El monómero residual resulta de una incompleta conversión del monómero y tiene el potencial de causar irritación e inflamación en la mucosa bucal. La porosidad depende en parte del material y del método de polimerización utilizado,<sup>80</sup> cuya desventaja es provocar la acumulación de biofilm y cálculo en las dentaduras resultando en manchas difíciles de remover. Los primeros depósitos que se forman en las bases de dentaduras por lo general son proteínas de la saliva y restos de alimentos.<sup>86</sup>

Las pruebas de biocompatibilidad de los materiales dentales por método de cultivo celular son relativamente simples de realizar y reproducir, mostrando ciertas ventajas como un adecuado control de la técnica y la relación costo-beneficio. Estas pruebas ofrecen una alternativa a los costosos y controversiales experimentos en animales, lo cual también lleva a la obtención de numerosas variables incontrolables.<sup>87</sup>

Modificar tiempo y temperatura de polimerización de las resinas acrílicas para dentaduras modifica el comportamiento general.<sup>87</sup> No se encuentran estudios completos que indiquen las ventajas y desventajas de los ciclos de procesado convencional y rápido.

## 2.3 HIPÓTESIS

Procesar la resina acrílica experimental reforzada con fibras de polietileno a diferentes ciclos de polimerización provocará alteración en los valores de contenido de monómero residual, sorción de agua, solubilidad, porosidad, comportamiento en flexión y citotoxicidad; los cuales en sinergia contribuirán significativamente para la adherencia de *Candida albicans*.

## 2.4 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las propiedades físico-químicas, citotóxicas y adherencia de *Candida albicans* de una resina acrílica sintetizada con nanopigmentos y reforzada con fibras de polietileno, procesada mediante dos ciclos de polimerización.

### Objetivos específicos:

- Sintetizar PMMA en suspensión agregando nanopigmentos.
- Evaluar por medio de SEM morfología y tamaño de partícula del PMMA sintetizado.
- Evaluar con SEM y espectroscopía de infrarrojo las fibras de refuerzo del PMMA experimental y las fibras de refuerzo de un PMMA comercial.
- Procesar el PMMA sintetizado con dos diferentes ciclos de polimerización y procesar el PMMA comercial como especifica el fabricante.
- Evaluar el contenido de monómero residual, sorción, solubilidad, comportamiento en flexión, porosidad y rugosidad de superficie del PMMA experimental procesándolo con tres diferentes ciclos de polimerización.
- Evaluar adherencia de *Candida albicans* con la técnica de Luminometría.
- Evaluar citotoxicidad de los PMMA de estudio por medio del ensayo de Metil Tiazol Tetrazolio a 24, 48 y 72 h.
- Evaluar la genotoxicidad de los PMMA de estudio por medio de un ensayo de Bromodesoxiuridina a 24 h.

## 2.5 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.5.1 Tipo de Estudio.

Experimental, comparativo, transversal.

### 2.5.2 Población de Estudio.

- PMMA Experimental reforzado con fibras de polietileno bajo el ciclo de polimerización determinado por el Laboratorio de Materiales Dentales (90 min a  $75 \pm 2^\circ\text{C}$ ).
- PMMA Experimental reforzado con fibras de polietileno bajo el ciclo de polimerización **9 h** (9 horas a  $70^\circ\text{C}$ ).
- PMMA Experimental reforzado con fibras de polietileno bajo el ciclo de polimerización **42 min**(20 minutos a  $70^\circ\text{C}$  + 22 minutos a  $92^\circ\text{C}$ ).
- Resina comercial Lucitone 199 procesada siguiendo las instrucciones del fabricante.

### 2.5.3 Variables Dependientes

- Contenido de monómero residual.
- Sorción de agua.
- Solubilidad al agua.
- Rugosidad de superficie.
- Porosidad.
- Módulo Elástico
- Resistencia a la Flexión.
- Adherencia de *Candida albicans*.
- Citotoxicidad.

### 2.5.4 Variables Independientes

- Proporción polvo-líquido.
- Tiempo de polimerización.
- Temperatura de Polimerización.

### 2.5.5 Criterios de Inclusión.

- Resina Experimental reforzada con fibras de polietileno.
- Resina comercial Lucitone 199.
- Muestras elaboradas con cada una de las resinas acrílicas que cumplan con las dimensiones especificadas por la norma ISO 1567:1999 para las pruebas de contenido de monómero residual, sorción, solubilidad y comportamiento en flexión.
- Muestra elaboradas con cada resina acrílica que cumplan con las dimensiones especificadas para la prueba de porosidad.
- Muestras elaboradas con cada una de las resinas acrílicas que cumplan con las dimensiones para la observación en el microscopio electrónico de barrido.
- Muestras elaboradas para las pruebas de adherencia de *Candida albicans* y para el ensayo de citotoxicidad de acuerdo a la norma ISO10993-5.

### 2.5.6 Criterios de Exclusión.

- Todas aquellas muestras que no cumplan con los parámetros en dimensiones y condiciones requeridos por la norma ISO 1567:2000, para realizar las pruebas físicas.
- Resinas acrílicas comerciales y fibras de refuerzo diferentes a las utilizadas en este estudio.

### 2.5.7 Criterios de Eliminación.

- Todas las muestras que se fracturen antes de iniciar la prueba.
- Todas aquellas muestras que resulten defectuosas en apariencia.

## 2.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

### 2.6.1 Grupos de estudio:

1. PMMA experimental con fibras de polietileno.
2. PMMA comercial – Lucitone 199.

**Tabla 2.** Ciclos de polimerización para el PMMA experimental.

METODO DE PROCESADO	PROCEDIMIENTO
<b>Ciclo de Termopolimerización del Laboratorio de Materiales Dentales (MD)</b>	90 min a $75 \pm 2$ °C seguido de 30 min en ebullición. Enfriamiento de 30 min a temperatura ambiente y 15 min en agua a $4 \pm 1$ °C
<b>Técnica Convencional (9 h)</b>	Bajo presión hidráulica (6 bar) por 15 min, después: polimerización en agua por 9 h a $70 \pm 2$ °C.
<b>Periodo Corto de Termopolimerización (42 min)</b>	Bajo presión hidráulica (6 bar) por 15 min, después: polimerización en agua por 20 min a $70 \pm 2$ °C + 22 min a $92 \pm 2$ °C.

- **Prueba de Cromatografía de gases:** Muestras de  $50 \pm 1$  mm de diámetro y  $0.5 \pm 0.1$  mm de espesor. (n=3)
- **Pruebas de Sorción de agua y Solubilidad:** Muestras de  $50 \pm 1$  mm de diámetro y  $0.5 \pm 0.1$  mm de espesor. (n=10)
- **Prueba de Adherencia de *Candida albicans*:** Discos de  $10 \pm 0.1$  mm de diámetro y  $2 \pm 0.1$  mm de espesor. (n=9)
- **Módulo elástico y resistencia a la flexión:** Muestras de  $65 \pm 0.1$  x  $10 \pm 0.1$  x  $2.5 \pm 0.1$  mm. (n=10)
- **Porosidad y Rugosidad de Superficie:** Muestras de  $30 \pm 0.1$  x  $10 \pm 0.1$  x  $2.5 \pm 0.1$  mm. (n=10)
- **Citotoxicidad:** Discos de  $10 \pm 0.1$  mm x  $2 \pm 0.1$  mm. (n=9)
- **Genotoxicidad:** Discos de  $10 \pm 0.1$  mm x  $2 \pm 0.1$  mm. (n=9)

## 2.7 MATERIALES

### 2.7.1 Polímeros Experimentales.

- PMMA experimental reforzado con fibras de polietileno (Laboratorio de Materiales Dentales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, FO UNAM).
- Fibras de polietileno (Plásticos Sonora, México)
- Lucitone 199 (Dentsply/Trubyte, York, PA, USA)

### 2.7.2 Nanopigmentos

- Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (R-4511 González Cano y Compañía S.A de C.V).
- TiO<sub>2</sub> (RF-9400 González Cano y Compañía S.A de C.V)

### 2.7.3 Líneas Celulares

- Fibroblastos de Ratón 3T3 NIH - ATCC; CL 173 (American Type Culture Collection, Manassas, VA).
- *Candida albicans* ATCC20096 (American Type Culture Collection, Manassas, VA).

### 2.7.4 Insumos

- Muflas metálicas y prensas.
- Separador yeso acrílico. (Manufacturera Dental S. A. de C. V.)
- Yeso tipo III alta resistencia “MAGNUM” (Manufacturera Dental Continental S.A. de C.V.)
- Probetas de diferente volumen
- Balanza analítica (Ohaus GA200, West Germany)
- Papel de abrasivo No. 400 y 280 (FANDELI México, S.A. de C.V)
- Cajas de cultivo celular. (Nunc, USA)
- Placas de 24 y 96 pozos (Nunc, USA)

## 2.7.5 Equipo.

- Estufa de termopolimerización (Hanau Engineeringco. Inc. Ony USA).
- Máquina universal de pruebas mecánicas Instron (INSTRON ®, Illinois Tools Works Inc. EUA).
- Cromatógrafo de Gases: GC-2010 Shimadzu®Columna: Tubo capilar Stabilwax® entrecruzada Carbowax-Polietilenglicol, de 30m de longitud y 0.53mm de diámetro interno. (Restek®, USA).
- Lector de ELISA (BioRad 680, USA).
- Luminómetro (Turner Biosystems, Promega, USA).
- Microscopio Electrónico de BarridoJSM-6060LV, (JEOL, Peabody,MA).
- Espectroscopio de Infrarrojo. Bruker Vector 33 Instrument, (Bruker, Germany).

## 2.7.6 Reactivos

- Reactivos para síntesis de PMMA: Metil metacrilato, peróxido de benzoílo, Hidróxido de Sodio. (Sigma-Aldrich, St. Louis MO).
- Reactivos para cromatografía de Gases con grado de pureza HPLC como Hidroquinona, Acetona, Tetrahidrofurano, Metanol (Sigma-Aldrich, St. Louis MO).
- Cultivo celular de fibroblastos: Dulbeco's Modified Eagle's Medium (DMEM), y antibióticos (10 µL de estreptomina y 100 U/mL de penicilina). (Sigma-Aldrich, St. Louis MO), Suero fetal bovino (Gibco, Invitrogen, Carlsbad, CA).
- Cultivo de *Candida albicans* ATCC20096 (American Type Culture Collection, Manassas, VA).
- Kit MTT - (3-[4,5-dimetiltiazol-2-y]-2,5-difenil bromuro de tetrazolio. (Sigma-Aldrich, St. Louis MO).
- Kit BrdU para Genotoxicidad.
- Kit para ensayo de adherencia de *Candidaalbicans*. Bac Titer-Glo, (Promega, Fitchburg, WI).

## 2.7.7 Infraestructura

- Laboratorio Interdisciplinario “Honorato Villa y Acosta,” Facultad de Odontología de la UNAM. Ciudad Universitaria D. F.
- Laboratorio de Materiales Dentales, División de Estudios de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología UNAM. Ciudad Universitaria D. F.
- Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, UNAM Campus Juriquilla Querétaro.
- Instituto de Neurobiología, UNAM Campus Juriquilla Querétaro.
- Laboratorio de Cromatografía, División de Polímeros del Instituto de Investigaciones en Materiales. UNAM. Ciudad Universitaria D. F.

## CAPÍTULO III

### 3.1 MÉTODO

#### 3.1.1 Síntesis de PMMA

Se realizó la síntesis *in situ* del PMMA Experimental con nanopigmentos mediante la polimerización en suspensión basado en los estudios de Acosta-Torres et al.<sup>ref 2011</sup> y Plata-Rodríguez et al.<sup>20</sup>

Al producto de PMMA sintetizado se le agregaron fibras de polietileno al 1%,<sup>20</sup> considerándose éste material como el PMMA Experimental del estudio, el cual se procesó de acuerdo a tres diferentes ciclos de polimerización y después fue sometido a las pruebas físico-químicas y biológicas que a continuación se especifican.

##### 3.1.1.1 Caracterización de Fibras de Refuerzo y PMMA.

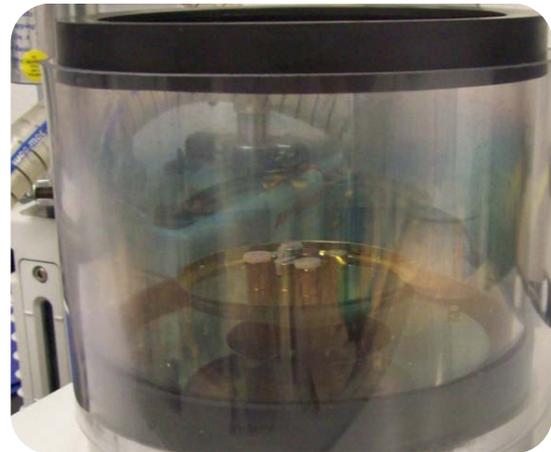
Lucitone 199 fue tamizado con malla 250 para separar las fibras de refuerzo que contiene para su análisis.

Las fibras y partículas poliméricas de Lucitone 199 y las fibras de polietileno y partículas sintetizadas del PMMA Experimental se analizaron con Espectroscopia de Infrarrojo (IR) y Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), para conocer grupos funcionales presentes, morfología y diámetro de las fibras.

Las partículas de PMMA experimental, las partículas de la resina comercial Lucitone 199, las fibras de polietileno experimentales y las muestras de PMMA reforzado con fibras de polietileno se montaron en porta muestras metálicos (**Fotografía 3**) y se ionizaron con una capa de oro-paladio durante 3 minutos a 1500 KV y a 10  $\mu$ A (**Fotografía 4**) y fueron observadas a ampliaciones de 600, 1500 y 6000 X (**Fotografías 5 y 6**).



**Fotografía 3.** Colocación de las muestras en los portaobjetos .



**Fotografía 4.** Ionización de las muestras con una capa de oro-paladio.



**Fotografía 5.** Colocación de los portaobjetos en la platina del microscopio.



**Fotografía 6.** Microscopio Electrónico de Barrido.

### 3.1.2 TÉCNICA DE PROCESADO.

Se utilizó proporción polvo: líquido 3:1 de cada resina acrílica. Las partículas sintetizadas de PMMA experimental adicionadas con fibras de polietileno, se mezclaron con monómero de Metil Metacrilato (MMA) conteniendo 1 % de peróxido de benzoílo como iniciador. La mezcla se empacó en muflas de bronce que posteriormente se prensaron. Las muestras se termopolimerizaron en baño de agua de acuerdo a los tres ciclos de polimerización analizados **(Fotografías 7 a 12)**.



**Fotografía 7.** Montaje de la contramufila y vertimiento de Yeso dental tipo III.



**Fotografía 8.** Cerrado y prensado de la mufila mientras se produce la reacción de fraguado del yeso.



**Fotografía 9.** Una vez eliminada la cera y el detergente se seca la mufla, para posteriormente aplicarle tres capas de separador yeso-acrílico.



**Fotografía 10.** En un frasco seco y limpio de vidrio, se vierte primero el líquido y después el polvo. Este paso se aplica para las tres resinas comprendidas en este estudio.



**Fotografía 11.** Se coloca una hoja de polietileno húmeda previo al prensado.



**Fotografía 12.** Una vez cerrada la mufla se introduce con todo y prensa a la unidad de termopolimerizado.

### 3.1.3 CONTENIDO DE MONÓMERO RESIDUAL

#### 3.1.3.1 Prueba de cromatografía de gases

Preparación de la solución muestra: Se analizaron tres soluciones muestra de cada espécimen de prueba, dando un total de nueve soluciones muestra.

1. Se pulverizó cada disco espécimen en piezas lo suficientemente pequeñas que pudieran pasar a través del cuello del matraz aforado de 10mL. **(Fotografía 13)**.



**Fotografía 13.**Disco pulverizado.

2. La masa de la muestra fue de 650mg y fueron introducidas en matraces separados. Las masas fueron pesadas fuera del matraz con la ayuda de la balanza analítica y se registraron y etiquetaron cada una de las soluciones muestra. **(Fotografía 14)**.



Fotografía 14.

3. Se agregó el Tetrahidrofurano (THF) al matraz hasta que el volumen fue de 10mL (**Fotografía 15**). Se introdujo a cada matraz un agitador magnético y cada solución muestra se agitó durante  $72\pm 2$ h a temperatura ambiente (**Fotografía 16**).



Fotografía 15. Aforo a 10 mL con THF.



Fotografía 16. Muestra en agitación.

4. Después de que se diluyó cada solución (**Fotografía 17**), se utilizó una pipeta volumétrica para transferir 2mL de cada una de las soluciones muestra disueltas a matraces de 10mL (**Fotografía 18**). A estos matraces se les agregó  $100\mu\text{L}$  de Estándar Interno (Decano) (**Fotografía 19**); después se agregó Metanol hasta aforar a 10mL para provocar la precipitación del polímero (**Fotografía 20**). Se dejó reposar la solución durante un día hasta que se aclaró totalmente.



Fotografía 17. Muestra disuelta.



Fotografía 18. Alícuota de 10 mL en matraz.



Fotografía 19. Incorporación del decano.



Fotografía 20. Precipitación del polímero.

5. Después de las 24 h se realizó el análisis cromatográfico de cada solución muestra; para hacer esto, se agitó manualmente el matraz y se tomó  $1.3\mu\text{L}$  (Fotografía 21); la cantidad obtenida se inyectó al Cromatógrafo de Gases (Fotografía 22).



**Fotografía 21.** Se toma una muestra líquida



**Fotografía 22.** Inyección al cromatógrafo.

**Tabla 3.** Características del cromatógrafo de gases

Incremento de Temperatura	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
0	40	4
30°C/min	220	2

El tiempo de corrida para cada inyección de las muestras fue de 12 min.

### 3.1.3.2 Cálculo y expresión de resultados de la gráfica:

- Determinación del Porcentaje del monómero residual:

Se determinó el porcentaje de monómero usando las relaciones correspondientes:

$$\frac{A' MMA}{A' E. I.}$$

Donde:

$A' MMA$ : Área del pico de monómero en la solución muestra.

$A' E. I.$ : Área del pico del estándar interno en la solución muestra.

Se usó la curva de calibración para determinar la concentración, en microgramos de MMA ( $cMMA$ ) por milímetro de solución muestra.

La cantidad total de MMA en la solución muestra ( $mMMA$  en  $\mu g$ ), fue calculada por la ecuación:

$$mMMA = \left[ cMMA(\mu g/mL) \times \frac{10(mL)^a}{2(mL)} \times 10(mL)^b \right] \mu g$$

$$Monomero\ residual\ (\% \text{ fracción de masa}) = \frac{mMMA}{m\ Muestra}$$

Donde  $m\ Muestra$  = es la masa de la muestra dada en microgramos.

## 3.1.4 PRUEBAS FÍSICAS

### 3.1.4.1 Sorción de Agua

Se colocaron las muestras sobre una rejilla dentro de un desecador el cual contenía sílica gel recién deshidratada (**Fotografías 23 y 24**). Se colocó el desecador dentro de la estufa a una temperatura de  $37 \pm 1$  °C durante  $23 \pm 1$  horas y después se removió el desecador de la estufa. Se transfirieron las muestras sobre la rejilla a otro desecador con nueva sílica gel recién deshidratada (**Fotografía 25**). El segundo desecador se mantuvo a una temperatura de  $23 \pm 2$  °C. Después de  $60 \pm 10$  min de estar en el segundo desecador, las muestras se pesaron en una balanza analítica.

Se repitió el ciclo descrito hasta que se obtuvo una masa constante  $m_1$ , y la masa perdida entre cada muestra no fue mayor a 0.2 mg, esta masa se llamó “masa condicionada”. En este punto se calculó el volumen  $V$  para cada muestra, utilizando el promedio de tres mediciones del diámetro y el promedio de cinco mediciones del espesor. El grosor se tomó en el centro y en cuatro puntos alrededor de la circunferencia.

#### 3.1.4.1.1 Saturación de las muestras

Las muestras condicionadas en agua desionizada a una temperatura de  $37 \pm 1$  °C durante  $7 \text{ d} \pm 2 \text{ h}$  (**Fotografía 26**). Después de este tiempo se removieron los discos del agua con ayuda de pinzas, una vez afuera se limpiaron con una toalla hasta que quedaron libres de humedad visible, y se aplicó aire durante  $15 \pm 1$  s y pesaron los discos después de  $60 \pm 10$  s de haberlos secado. En ese momento se registró esta masa como  $m_2$ .

### 3.1.4.1.2 Muestras reacondicionadas

Después de este pesaje, se reacondicionaron las muestras hasta que se obtuvo una masa constante tal y como se describió en el primer paso. En ese momento se registró esa masa “reacondicionada” como  $m_3$ .

Se calculó el valor de la sorción de agua,  $W_{sp}$  para cada muestra, expresado en microgramos por milímetro cúbico ( $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ ) para cada muestra de la siguiente ecuación:

$$W_{sp} = \frac{m_2 - m_3}{V}$$

$m_2$  = masa de la muestra, ( $\mu\text{g}$ ).

$m_3$  = masa reacondicionada de la muestra, ( $\mu\text{g}$ ).

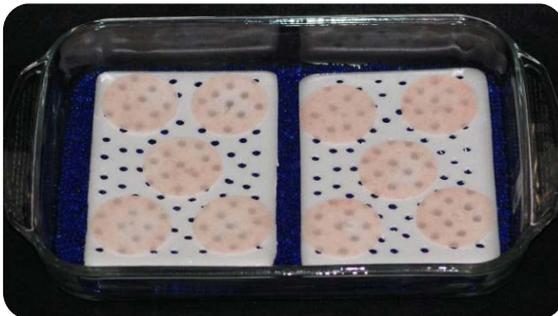
$V$  = volumen de la muestra, ( $\text{mm}^3$ ).



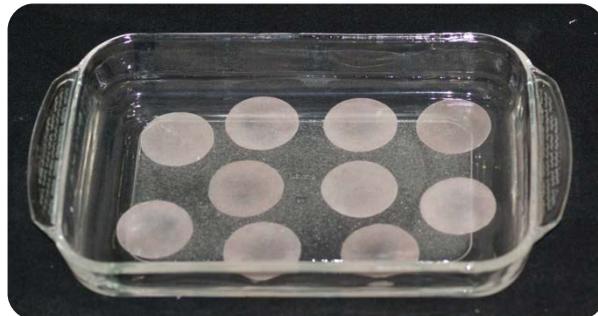
**Fotografía 23.** Desecador y frasco con sílica gel



**Fotografía 24.** Rejilla dentro del desecador, lista para colocar las muestras.



**Fotografía 25.** Discos durante el proceso de acondicionamiento.



**Fotografía 26.** Una vez acondicionados los discos se sumergen en agua durante siete días para después comenzar el reacondicionamiento.

### 3.1.4.2 Solubilidad

Se calculó la masa soluble por unidad de volumen,  $W_{sl}$ , filtrada durante la inmersión, expresada en microgramos por milímetro cúbico ( $\mu\text{g}/\text{mm}^3$ ) para cada muestra con la ecuación:

$$W_{sl} = \frac{m_1 - m_3}{V}$$

Donde:

$m_1$  = masa “acondicionada” de la muestra, ( $\mu\text{g}$ ).

### 3.1.4.3 Resistencia a la Flexión

Una vez que las muestras son ajustadas a las dimensiones requeridas (**Fotografías 27 y 28**) se almacenaron las muestras en agua desionizada a temperatura de  $37 \pm 1$  °C durante  $50 \pm 2$  h antes de las pruebas de comportamiento a la flexión (**Fotografía 29**). Una vez transcurrido ese tiempo se tomó la muestra del agua e inmediatamente después se colocó sobre los soportes del banco de ensayo de flexión, el cual estuvo inmerso en baño de agua durante toda la prueba. Después de haber permitido que la muestra adquiriera un equilibrio con la temperatura del baño de agua, se aplicó una fuerza de carga desde cero uniformemente, utilizando una velocidad de cruceta constante de  $5 \pm 1$  mm/min hasta que la muestra se rompió (**Fotografía 30**).

Se calculó la resistencia a la flexión,  $\sigma$ , en MPa de la siguiente ecuación:

$$\sigma = \frac{3Fl}{2bh^2}$$

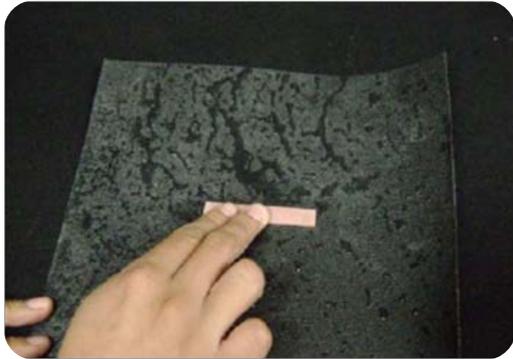
Donde

$F$  = Carga máxima, aplicada a la muestra (N)

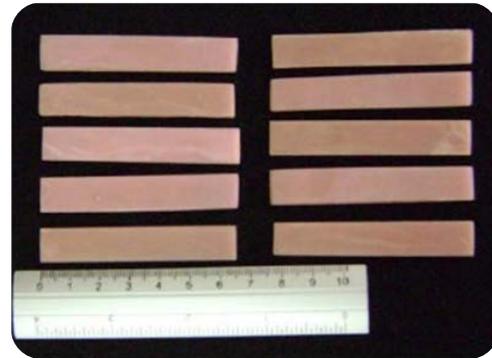
$l$  = Distancia, entre los soportes, con una exactitud de  $\pm 0.01$  mm;

$b$  = Ancho de la muestra medida inmediatamente antes de almacenamiento en agua; (mm).

$h$  = Espesor de la muestra medida inmediatamente antes del almacenamiento en agua (mm).



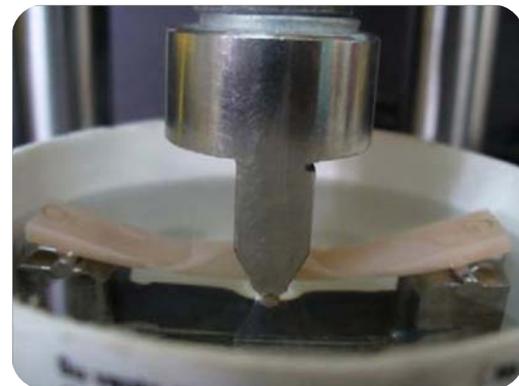
**Fotografía 27.** Ajuste de las barras con ayuda del papel abrasivo.



**Fotografía 28.** Barras muestra con las dimensiones requeridas para la prueba.



**Fotografía 29.** Pre-acondicionamiento de las muestras en humedad y temperatura controladas.



**Fotografía 30.** Muestra probada en el banco de ensayo de flexión.

### 3.1.4.4 Módulo Elástico

Se calculó el módulo elástico  $E$  (MPa), de la siguiente ecuación:

$$E = \frac{F_1 l^3}{4bh^3 d}$$

Donde

$F_1$  = Carga aplicada (N)

$d$  = es la deflexión a la carga  $F_1$  (mm)

$lbh$ = como ya fueron descritos.

### 3.1.4.5 Porosidad

El porcentaje de porosidad se evaluó pesando las muestras y colocándolas en un desecador con sílica gel a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  cada 24 h hasta que se obtuvo el valor de peso constante de 0.2 mg. Una vez que las muestras fueron acondicionadas se realizaron dos pesajes; uno con la muestra en el aire y otro con la muestra inmediatamente después de haberla sumergido en el agua durante 60 segundos. Después de esto las muestras fueron colocadas en agua desionizada a  $37^\circ\text{C}$ . Una vez que las muestras fueron saturadas se realizaron dos pesaje de nuevo, uno de la muestra saturada y otro después de reacondicionar las muestras en sílica gel hasta que de nuevo la diferencia entre cada pesaje fue de 0.2 mg.

Siguiendo la siguiente ecuación se calcularon el porcentaje de porosidad interna de las muestras:

$$V_d = \frac{m_d - m'_d}{p_w} V_s = \frac{m_s - m'_s}{p_w}$$

$$\% \text{ de Porosidad} = \frac{(V_s - V_d) \times 100}{V_d}$$

Donde:

$V_d$  = Volumen acondicionado de la muestra ( $\text{m}^3$ ),

$m_d$  = Masa acondicionada en aire de la muestra (Kg),

$m'_d$  = Masa acondicionada en inmersión de la muestra (Kg),

$V_s$  = Volumen saturado de la muestra ( $\text{m}^3$ ),

$m_s$  = Masa saturada en aire de la muestra (Kg),

$m'_s$  = Masa saturada en inmersión de la muestra (Kg),

$p_w$  = Densidad del agua a  $37^\circ\text{C}$  ( $999.3316 \text{ Kg/m}^3$ ).

### 3.1.4.6 Rugosidad de Superficie

Se realizaron 10 muestras de cada grupo de  $30 \pm 0.1 \times 10 \pm 0.1 \times 2.5 \pm 0.1$  mm y se procesaron por medio de los tres diferentes ciclos de polimerización, inmediatamente después de haber salido de la mufla se midió su rugosidad de superficie con ayuda de un rugosímetro Mitutoyo SJ-201P (Tsukuba Laboratory, Japón) para obtener valores de rugosidad media aritmética ( $R_a$ ). Las muestras fueron rescatadas de la mufla y una de sus caras fue desgastada con papel abrasivo con la finalidad de eliminar irregularidades. La otra cara fue la que se analizó con la finalidad de analizar la superficie que en una prótesis total no se pule y queda en contacto directo con la mucosa bucal del paciente.

### 3.1.5 PRUEBAS BIOLÓGICAS

#### 3.1.5.1 Ensayo de Citotoxicidad

Se utilizaron fibroblastos de ratón 3T3-NIH, cultivados en medio Dubelco´s Modified Eagle´s Medium (DMEM), 10% de suero fetal bovino (FBS) y antibióticos (10  $\mu$ L de estreptomina y 10 U / mL de penicilina (**Fotografía 31**). Las células se incubaron en ambiente de humedad a 37°C en atmósfera de aire al 95% y 5% de CO<sub>2</sub>.



**Fotografía 31.** Cultivo celular de fibroblastos de ratón

Se realizó conteo celular en un hemocitómetro y las células se sembraron a una densidad de  $1 \times 10^4$  en placas de cultivo de 24 pozos (**Fotografía 32**).



**Fotografía 32.** Sembrado de células en placas de cultivo de 24 pozos.

Las células se incubaron durante 24 h para permitir su adhesión a la placa. Una vez adheridas las células se renovó el medio de cultivo y se colocaron las muestras de cada PMMA previamente esterilizadas con luz UV durante 5 min (**Fotografía 33 y 34**).



**Fotografía 33.** Colocación de las muestras de PMMA en cada pozo.



**Fotografía 34.** Incubación de las células.

Las células fueron cultivadas en ausencia o presencia de PMMA y se incubaron durante 24, 48 y 72 h para evaluar el efecto citotóxico mediante el ensayo de MTT. El cual está basado en la habilidad de la hidrogenasa mitocondrial de oxidar al tiazol azul (MTT), una sal de tetrazoilo (3-[4,5-dimetiltiazol-2-y]-2,5-difenil bromuro de tetrazoilo) en un producto insoluble azul de formazán.

Después de cada periodo de tiempo de incubación, 100  $\mu$ L de reactivo MTT se agregaron y se incubaron durante 40 min (**Fotografía 35**).



**Fotografía 35.** Adición del reactivo MTT.

El sobrenadante fue removido y 100  $\mu$ L de dimetilsulfóxido (DMSO) se agregaron a cada pozo para disolver los cristales de MTT, permitiendo ser absorbidos por las células y así poder medir la viabilidad celular. (**Fotografía 36 y 37**).



**Fotografía 36.** Se removió el sobrenadante.



**Fotografía 37.** Adición de 100  $\mu$ g de DMSO.

Después de 10 min de ligera agitación, la absorbancia se leyó a 655 nm en un lector de ELISA. Los resultados fueron comparados con respecto al control sin tratamiento. Las pruebas se hicieron por triplicado (**Fotografía 38**).



**Fotografía 38.** Colocación de la placa en el lector de ELISA

Se calculó el porcentaje de viabilidad celular como sigue:

$$\% \text{ Viabilidad} = \frac{\text{Densidad óptica de las muestras}}{\text{Densidad óptica del grupo control}} \times 100$$

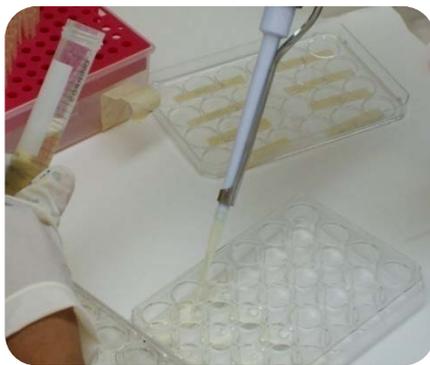
### 3.1.5.2 Ensayo de Genotoxicidad

Fibroblastos de ratón 3T3-L1 fueron sembrados  $2 \times 10^4$  por pozo en cajas de 24 pozos con 500  $\mu\text{L}$  de DMEM se incubaron durante 24 h a  $37^\circ$ . Una vez adheridas las células se renovó el medio de cultivo y se colocaron las muestras de acrílico previamente esterilizadas con luz UV durante 5 min. Las muestras se incubaron durante 24 h en presencia de 10  $\mu\text{L}$  del reactivo BrdU. Finalmente fueron tomados 50  $\mu\text{L}$  por pozo y fueron colocados en una placa de 96 pozos para medir la absorbancia a 492 nm.

### 3.1.6 CULTIVO E INCUBACIÓN DE *Candida albicans*.

Se utilizó un cepa 90026 de la ATCC de *Candida albicans*.

Las muestras de cada PMMA fueron esterilizadas con luz UV durante 5 min y colocadas en placas de cultivo de 24 pozos (NUNC) conteniendo *Candida albicans* a una densidad de  $1 \times 10^6$ . Se incubaron a 37 °C por 72 h (Fotografías 39 y 40).



**Fotografía 39.** Colocación del cultivo de *Cándida albicans* en cada pozo de la caja de cultivo.



**Fotografía 40.** Colocación de las muestras de PMMA en cada pozo.

Transcurrida la incubación, las resinas se retiraron y lavaron en un baño de ultrasonido durante 10 min, se enjuagaron con agua destilada 3 veces (60 segundos por agitación), a fin de remover los organismos no adheridos (Fotografía 41).



**Fotografía 41.** Después de la incubación las muestras se agitaron con la finalidad de remover organismos no adheridos.

### 3.1.6.1 Adherencia de *Candida albicans* por Ensayo de Luminometría

Las muestras que contenía a *Candida albicans* fueron extraídas con 1.0 mL de cloruro de benzalconio durante 15 min. Se tomaron 20  $\mu$ L de la solución resultante para agregar 30  $\mu$ L del reactivo de cuantificación de ATP (BacTiterGlo, Promega) en un tubo eppendorf de 1.5 mL para cada muestra. Finalmente la viabilidad de *Candida albicans* fue determinada por Luminometría utilizando un Luminómetro (**Fotografías 42 y 43**).



**Fotografía 42.** Luminómetro para cuantificar la adherencia de *Cándida albicans*, expresada en URL's.



**Fotografía 43.** Panel de control del Luminómetro

Como grupo control se utilizaron muestras de cada grupo sin estar en contacto con *Candida albicans*. Los resultados se reportaron como URL's (Unidades Relativas de Luz) emitidas en 10 segundos de integración, respecto al grupo control. Las pruebas se hicieron por triplicado.

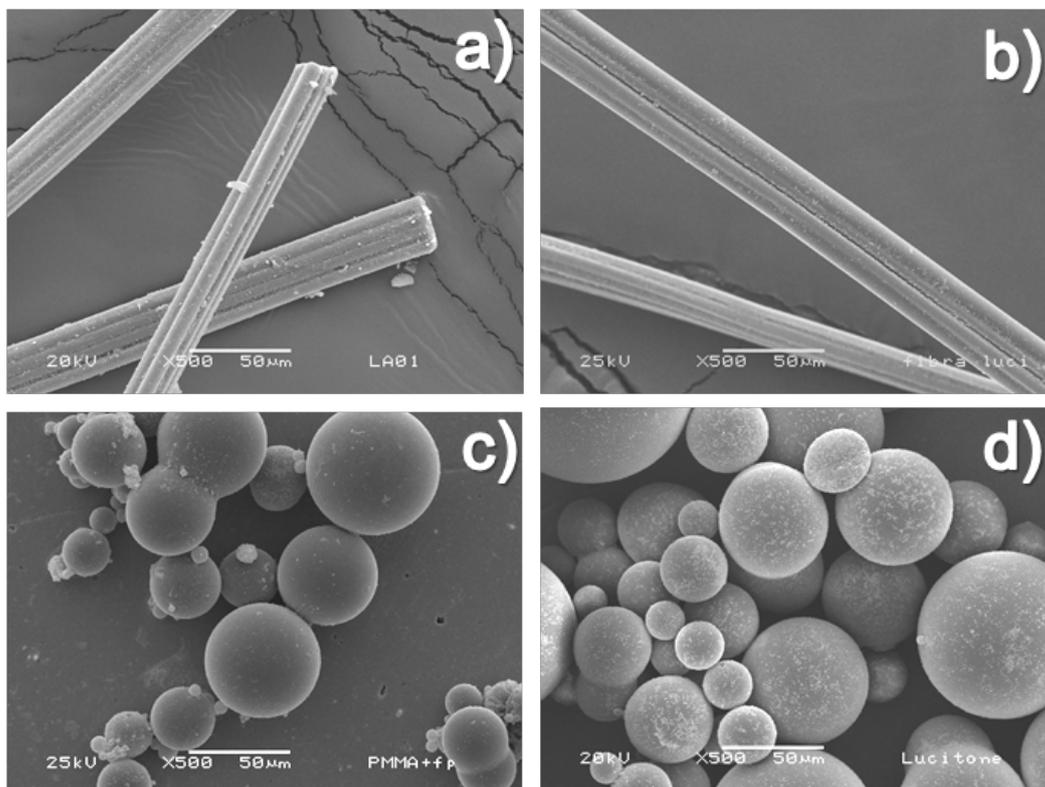
### 3.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se aplicó ANOVA de Una Vía ( $p < 0.05$ ) y Tukey Test ( $p = < 0.001$ ) a los valores obtenidos de contenido de monómero residual, sorción de agua, solubilidad, módulo elástico, resistencia a la flexión, porosidad, citotoxicidad, genotoxicidad y adherencia de *Candida albicans*.

## 4. RESULTADOS

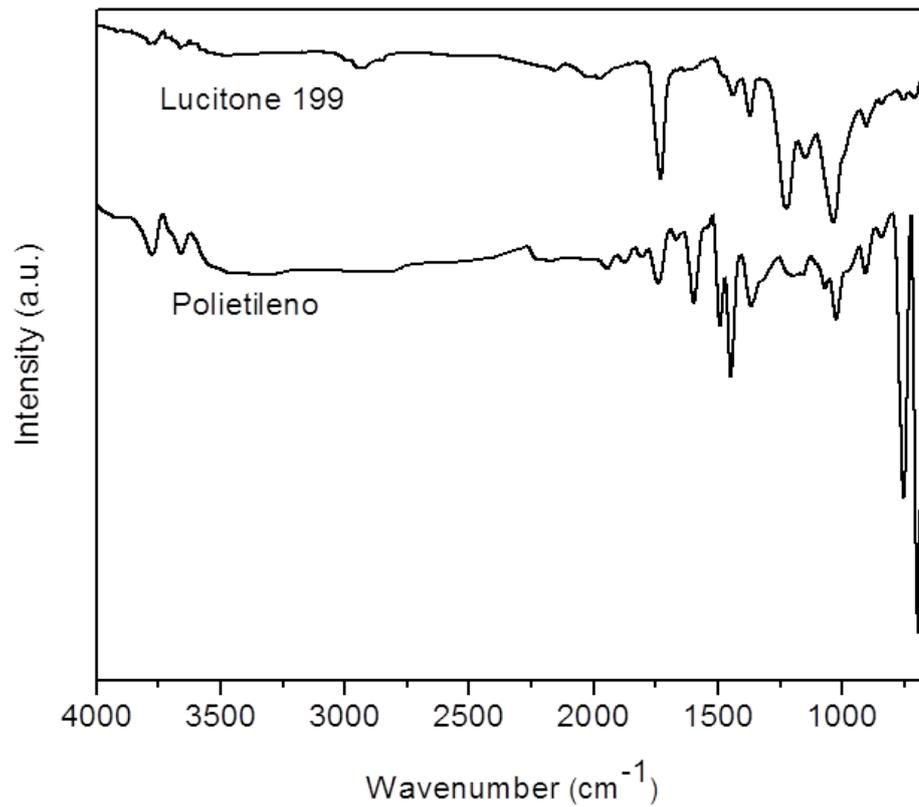
### 4.1 Microscopía Electrónica de Barrido

En la **Fotografía 44a y 44b** se observa que las fibras de polietileno y las fibras de la resina acrílica Lucitone 199 están constituidas por delgadas fibras de 3 a 5  $\mu\text{m}$  de diámetro; las cuales forman haces más gruesos de 25 a 30  $\mu\text{m}$  de diámetro. En la **Fotografía 44c y 44d** se observan imágenes de partículas de PMMA sintetizado y de la resina acrílica Lucitone 199; ambos materiales presentan partículas de forma esférica de 5 a 120  $\mu\text{m}$  de diámetro.



**Fotografía 44.** Imágenes de Microscopía Electrónica de Barrido comparando las fibras analizadas: a) Fibras de polietileno y b) Fibras de Lucitone; Imágenes de las partículas de: c) PMMA sintetizado y d) Lucitone 199.

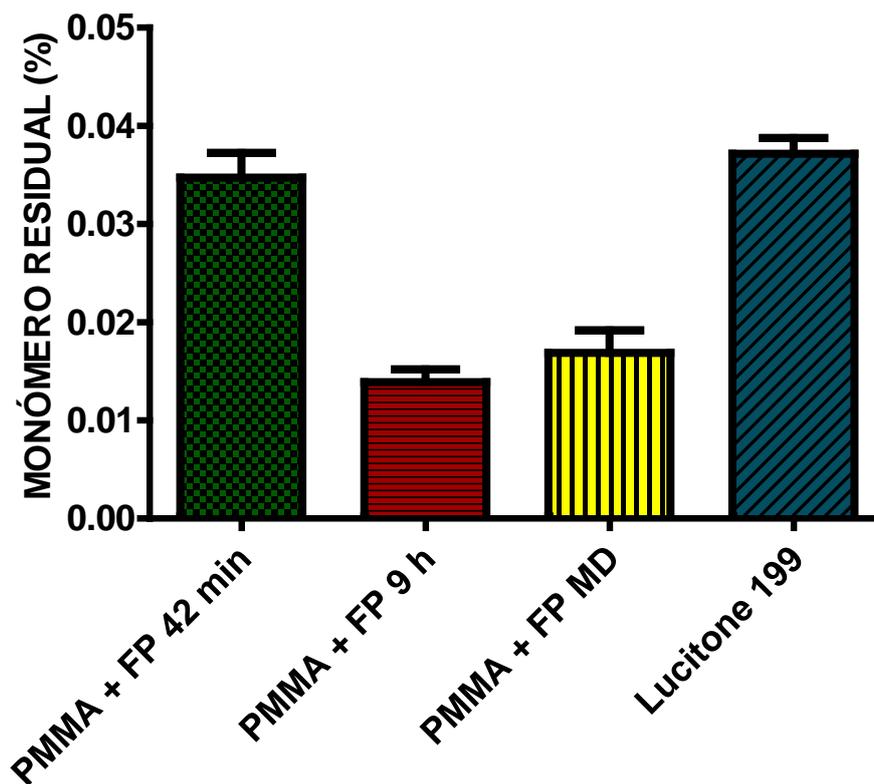
## 4.2 Espectroscopía de Infrarrojo (FT-IR)



**Figura 15.** Se observa la estructura característica del PE de las fibras de refuerzo, las bandas principales de extensión CH entre 2960-2850 cm<sup>-1</sup> y flexión de CH<sub>2</sub> a 1460cm<sup>-1</sup> y 720 cm<sup>-1</sup>.

### 4.3 Contenido de Monómero Residual

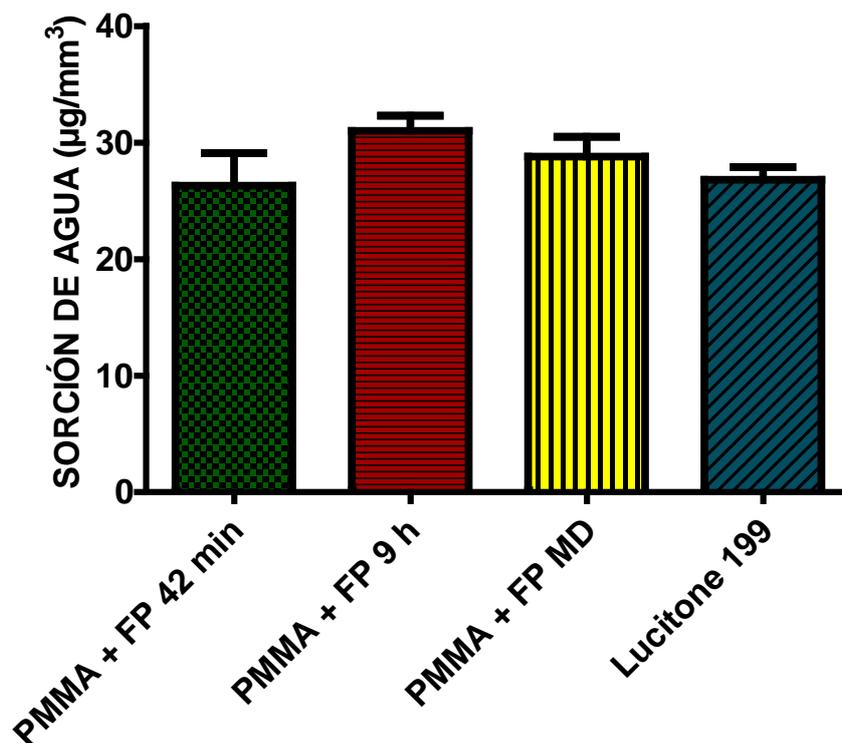
En la **Gráfica 1** se muestran los promedios y las desviaciones estándar de los cuatro grupos; se aprecia que los valores de los ciclos de procesado a 9 h y MD son menores y muestran diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con relación al valor obtenido en el grupo control. El ciclo de procesado a 42 min presentó un valor inferior al del grupo control (Lucitone 199), sin embargo, la diferencia no es estadísticamente significativa. Los cuatro grupos cumplen con el rango establecido por la ISO 1567 (2.2 % en fracción de masa como valor máximo).



**Gráfica 1.** Resultados de Contenido de Monómero Residual, grupo PMMA + FP 42 min (0.03474±0.0025), PMM + FP 9h (0.01388±0.0013), PMMA + FP MD (0.01686 ± 0.0023) y Lucitone 199 (0.03715 ± 0.0016).

#### 4.4 Sorción de agua

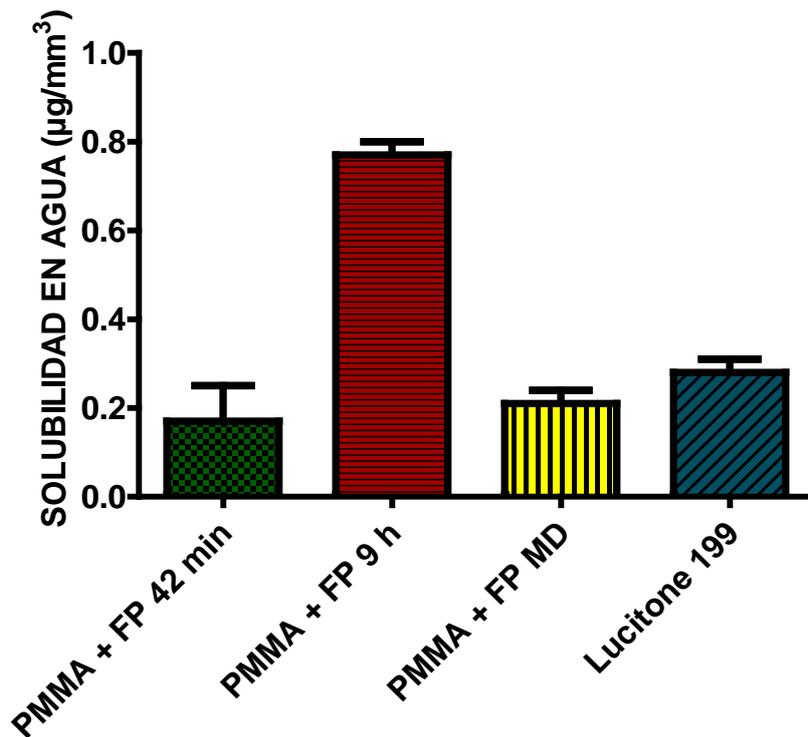
En la **Gráfica 2** se muestran los promedios y desviaciones estándar de los cuatro grupos, los cuales indican que el grupo *42 min* es el que obtuvo el menor valor, sin embargo, comparado con la resina acrílica comercial no muestra diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ). En cuanto a los grupos *9 h* y *MD*, los valores de sorción de agua son mayores en comparación al grupo control (Lucitone 199) mostrando diferencia estadísticamente significativa, sin embargo los cuatro grupos cumplen con lo establecido por la norma ISO 1567 ( $32 \mu\text{g}/\text{mm}^3$  como valor máximo).



**Gráfica 2.** Resultados de Sorción de Agua, grupo PMMA + FP 42 min ( $26.3 \pm 2.8$ ), PMM + FP 9h ( $31.0 \pm 1.3$ ), PMMA + FP MD ( $28.8 \pm 1.7$ ) y Lucitone 199 ( $26.8 \pm 1.1$ ).

## 4.5 Solubilidad

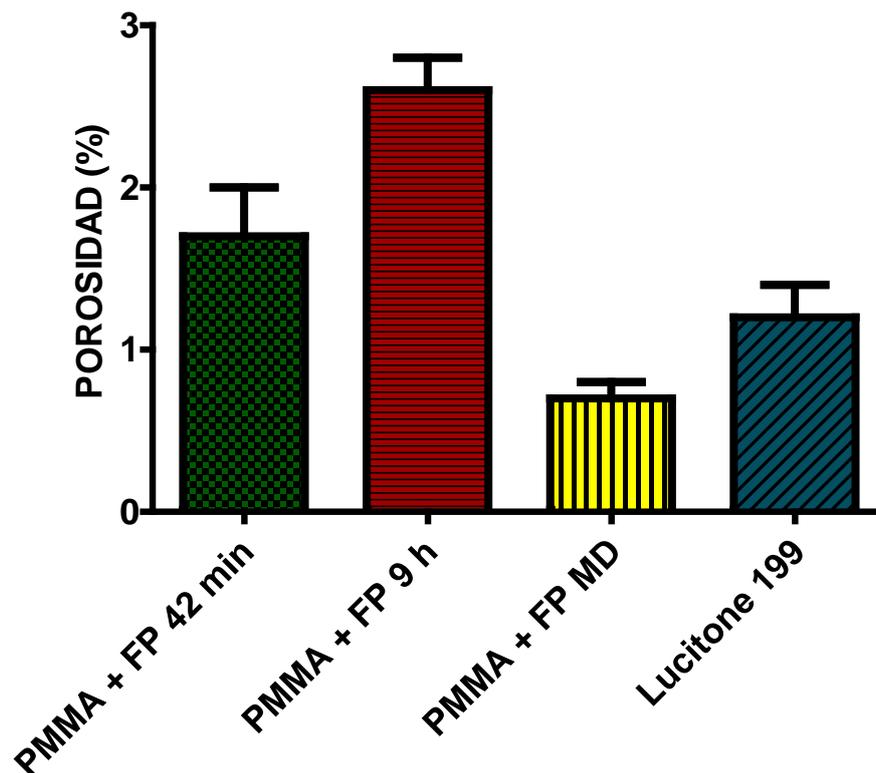
En la **Gráfica 3** se muestran los resultados promedio y desviación estándar de los cuatro grupos evaluados; se observa que el grupo *42 min* obtuvo el menor valor y a pesar de presentar valores inferiores al grupo comercial, la diferencia no es estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ). El valor de solubilidad del grupo *MD* fue mayor al del grupo control sin embargo la diferencia no es estadísticamente significativa. Por último el grupo *9h* presentó el valor más alto en relación a los demás grupos. Todos los grupos cumplieron con el valor establecido por la norma ISO 1567 ( $1.6 \mu\text{g}/\text{cm}^3$  como valor máximo).



**Gráfica 3.** Resultados de Solubilidad, grupo PMMA + FP 42 min ( $0.17 \pm 0.08$ ), PMM + FP 9h ( $0.77 \pm 0.03$ ), PMMA + FP MD ( $0.21 \pm 0.03$ ) y Lucitone 199 ( $0.28 \pm 0.03$ ).

## 4.6 Porosidad.

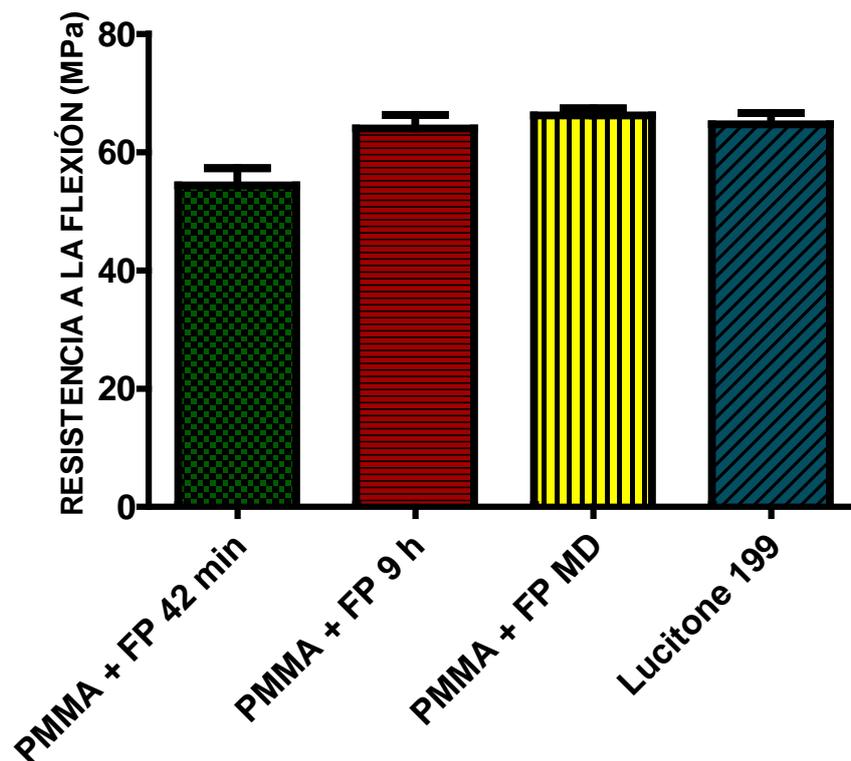
En la **Gráfica 4** se muestran los promedios con desviación estándar del porcentaje de porosidad de los cuatro grupos analizados. El grupo *MD* mostró el valor más bajo presentando diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) con Lucitone 199. El valor del grupo *42 min* es mayor comparado con el grupo comercial, sin embargo, no se encontró diferencia estadísticamente significativa. Por último el valor obtenido del grupo *9h* es mayor al de todos los grupos mostrando diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



**Gráfica 4.** Resultados de Porosidad, grupo PMMA + FP 42 min ( $1.7 \pm 0.3$ ), PMM + FP 9h ( $2.6 \pm 0.2$ ), PMMA + FP MD ( $0.7 \pm 0.1$ ) y Lucitone 199 ( $1.2 \pm 0.2$ ).

#### 4.7 Resistencia a la Flexión.

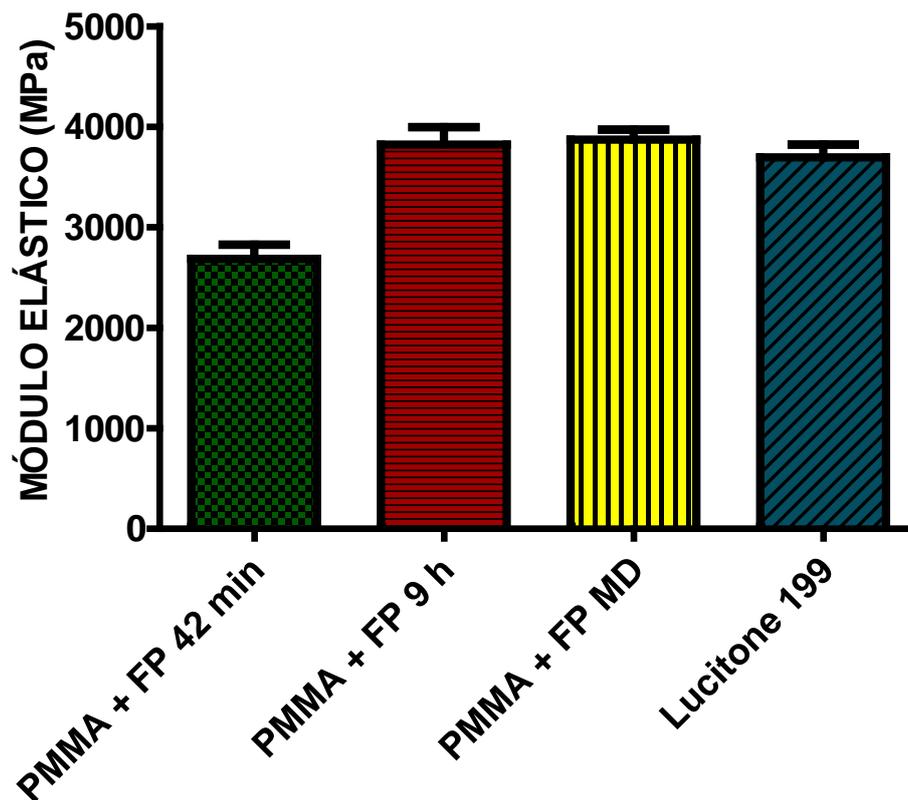
En la **Gráfica 5** se muestran los promedios y variaciones de resistencia a la flexión de los cuatro grupos. Se observa que el grupo *MD* es el que obtuvo el mayor valor seguido del grupo *9h* sin embargo al compararlos con Lucitone 199 no existieron diferencias estadísticamente significativas ( $p > 0.05$ ). El grupo *42 min* presentó el menor valor de resistencia a la flexión en comparación con Lucitone 199 y si existió diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



**Gráfica 5.** Resultados de Resistencia a la Flexión, grupo PMMA + FP 42 min ( $54.39 \pm 2.9$ ), PMM + FP 9h ( $63.98 \pm 2.3$ ), PMMA + FP MD ( $66.21 \pm 1.2$ ) y Lucitone 199 ( $64.69 \pm 1.9$ ).

#### 4.8 Módulo Elástico.

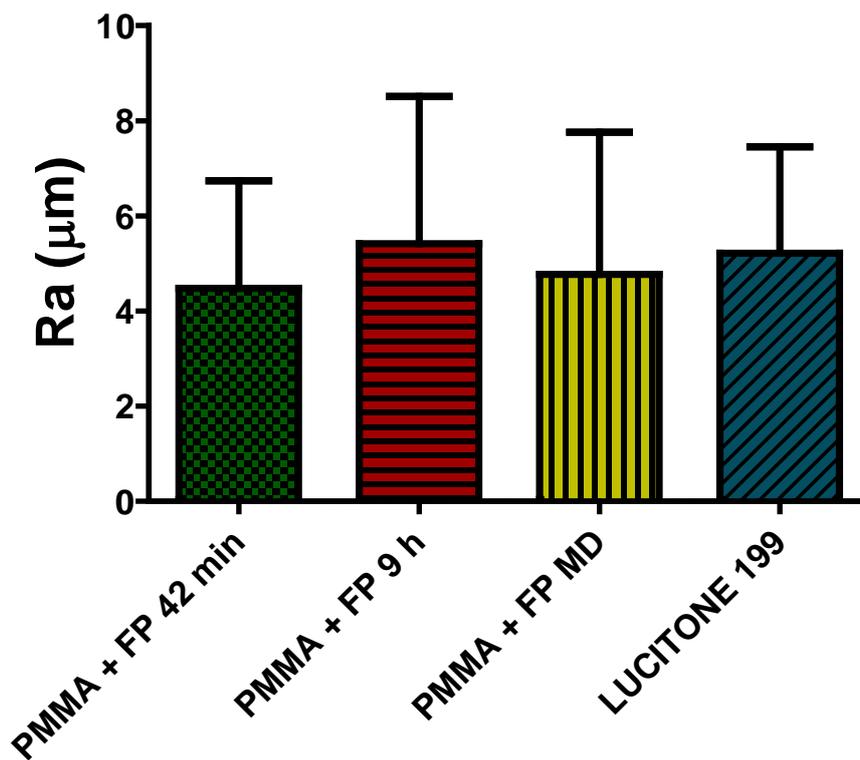
En la **Gráfica 6** se presentan los valores con desviaciones estándar de módulo elástico de los cuatro grupos, en donde el grupo *MD* tiene el mayor valor seguido por el grupo *9h*, al compararlos con el grupo comercial no presentaron diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ). El grupo *42min* que el que presentó el menor valor de módulo elástico y al compararlo con Lucitone 199, se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). Los cuatro grupos cumplieron con el valor establecido por la norma ISO 1567 (2000 MPa mínimo).



**Gráfica 6.** Resultados de Módulo Elástico, grupo PMMA + FP 42 min (2685 ± 143), PMM + FP 9h (3823 ± 174), PMMA + FP MD (3872 ± 101) y Lucitone 199 (3697 ± 125).

## 4.9 Rugosidad de Superficie.

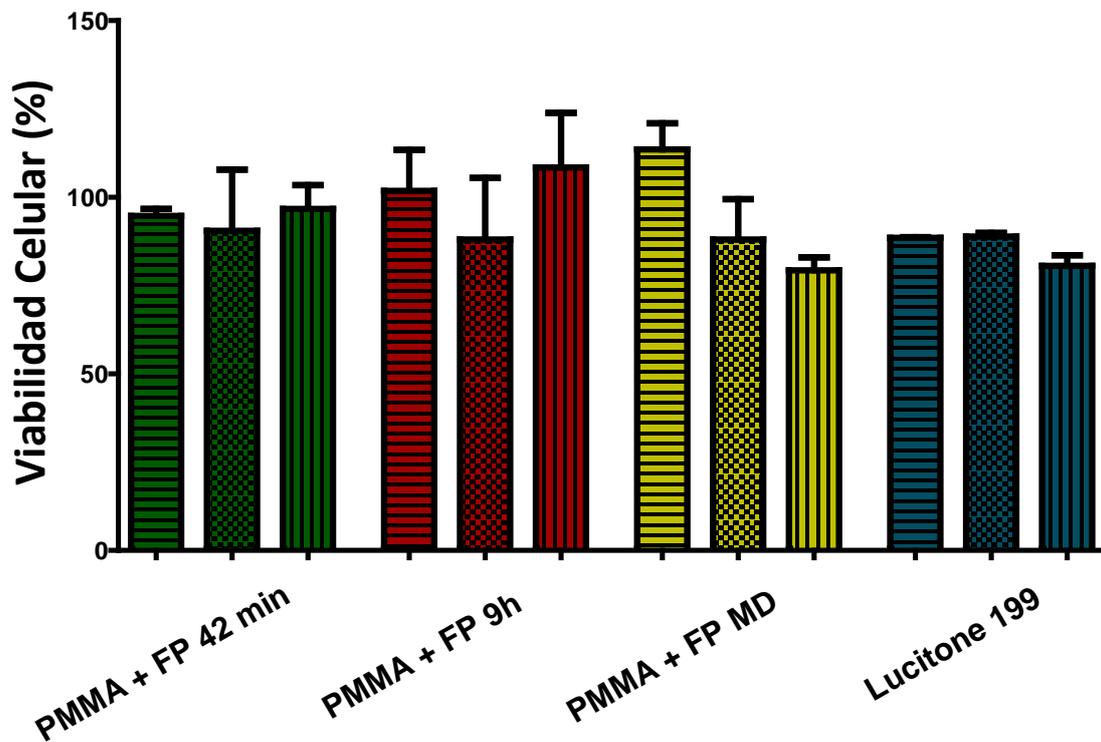
En la **Gráfica 7** se observan los resultados obtenidos de la prueba de rugosidad de superficie se muestra que el grupo *9h* obtuvo el mayor valor, por otra parte el grupo *42 min* fue el que obtuvo el menor valor sin embargo, ninguno de los grupos mostró diferencia estadísticamente significativa entre sí.



**Gráfica 7.** Prueba de rugosidad de superficie por perfilómetro. ANOVA de Una Vía ( $p > 0.05$ );  $n = 30$ .

#### 4.10 Citotoxicidad.

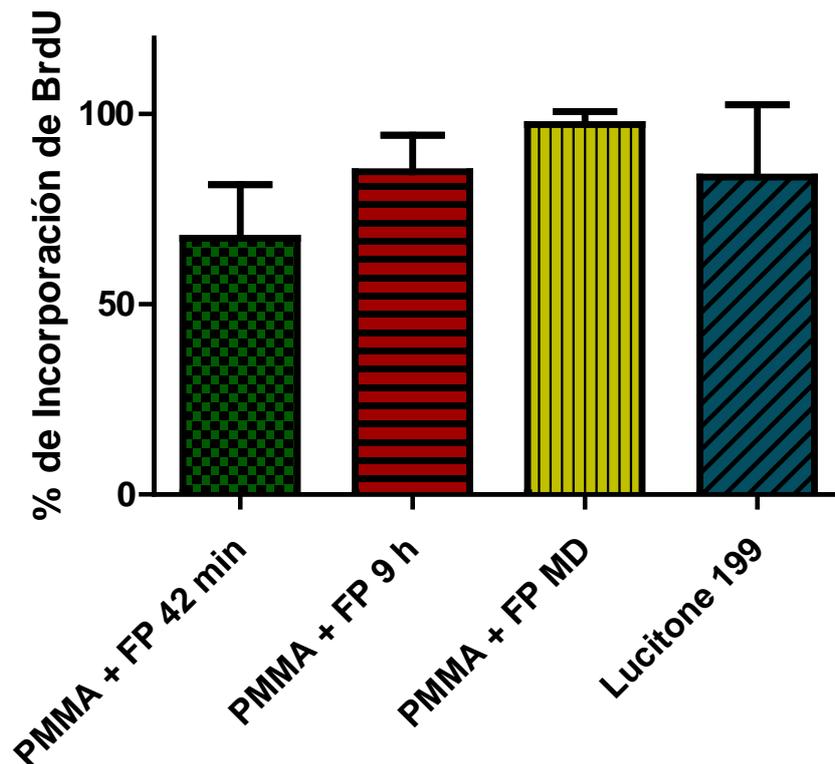
Se observa en la **Gráfica 8** los valores de viabilidad celular de las células incubadas a 24, 48 y 72 horas con PMMA reforzado con fibras de polietileno procesado a los diferentes ciclos de polimerización y se indica que todos los grupos analizados son iguales estadísticamente ( $p > 0.05$ ) por lo que se consideran que son no-citotóxicos.



**Gráfica 8.** Grupos de PMMA evaluados en el ensayo de citotoxicidad usando fibroblastos de ratón 3T3-NIH. ANOVA de Una Vía ( $p > 0.05$ );  $n = 9$ .

#### 4.11 Genotoxicidad.

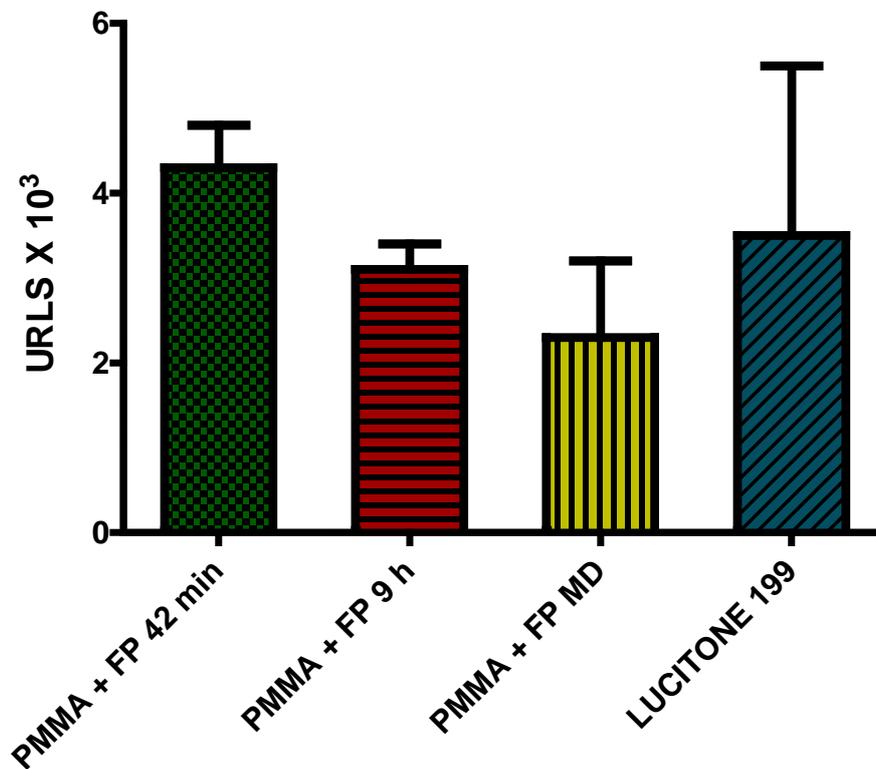
La **Gráfica 9** muestra que estadísticamente no existen diferencias significativas ( $p>0.05$ ) en el porcentaje de incorporación del reactivo de BrdU en los cuatro grupos evaluados, lo cual indica que el DNA de las células en contacto con las resinas acrílicas no sufrieron alteraciones y el ciclo de replicación celular se llevó a cabo de forma normal. A mayor incorporación de BrdU; mayor integridad del DNA, por lo que en el presente estudio los resultados muestran que los materiales evaluados no causan daño genotóxico a los fibroblastos después de 24 h en contacto.



**Gráfica 9.** Ensayo de genotoxicidad mediante la medición de incorporación del reactivo de BrdU, lo cual es indicativo de la integridad del material genético.

#### 4.12 Adherencia de *Candida albicans*.

En la **Gráfica 10** se muestra que en el análisis de adherencia de *Candida albicans* por luminometría el grupo *42min* presentó el mayor valor de adherencia mostrando diferencia estadísticamente significativa en relación a los grupos *MD* y *9 h*. Los demás grupos no mostraron diferencias significativas comparadas con el grupo control.



**Gráfica 10.** .Ensayo de adherencia de *Candida albicans* por medio de Luminometría. ANOVA de Una Vía ( $p > 0.05$ );  $n = 9$ .

## 5. DISCUSIÓN

En este estudio se sintetizó PMMA en suspensión de acuerdo a lo reportado por Acosta-Torres<sup>88</sup> y Plata-Rodríguez.<sup>20</sup> Las partículas de PMMA obtenidas de la síntesis mostraron forma esférica y tamaño similar a las de la resina acrílica comercial Lucitone 199. De igual manera se observó que al utilizar grenetina como agente de suspensión no sólo se obtuvo la forma y el tamaño de partícula adecuado, sino también al momento de lavar el PMMA sintetizado, la grenetina fue removida con mayor facilidad.

Con el propósito de obtener un color similar al de la encía, durante la síntesis del PMMA se agregó óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y óxido de hierro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) como nano-pigmentos, además debenzofenona como estabilizador de color.<sup>20</sup> Se han publicado estudios que indican que al agregar estos nanopigmentos se logra un color adecuado y baja porosidad del biomaterial.

Para superar el problema de la facilidad de fracturarse de las prótesis de resina acrílica, varios autores han coincidido en reforzar al PMMA con diversos tipos de fibras entre las que destacan las fibras de vidrio, fibras flock y fibras de polietileno.<sup>93</sup>

Se ha demostrado que al incorporar fibras de refuerzo (fibras de polietileno) al 1 % w/w, se incrementan las propiedades mecánicas del PMMA, dando como resultado valores similares a los arrojados por la resina comercial Lucitone 199,<sup>20</sup> sin embargo; otros estudios han demostrado que el contacto directo con las fibras de vidrio, así como la exposición a ellas por tiempo prolongado puede ser un factor de riesgo para desarrollar cáncer<sup>94</sup>, aunque las fibras de vidrio que se utilizan en Odontología son silanizadas y eso disminuye potencialmente este efecto adverso sin embargo, en este estudio se decidió reforzar el PMMA con fibras de polietileno y analizar a profundidad sus propiedades fisicoquímicas y biológicas.

En este estudio se incorporaron las fibras en el polvo de PMMA al 1 % en relación al peso con la finalidad de facilitar el procesamiento e incrementar el mojado de las fibras minimizando la porosidad interna<sup>54,95</sup> tal y como lo recomienda Franklin et al.<sup>93</sup> Se observó que las fibras de polietileno incorporadas en las partículas del PMMA se distribuían uniformemente con gran facilidad.

De acuerdo a otros investigadores se ha visto que el mejor refuerzo para polímeros para base de dentaduras son los haces de filamentos de fibras de polietileno de alta densidad o polipropileno de diámetros de 10 a 20  $\mu\text{m}$ .<sup>96</sup> En el presente estudio las observaciones mediante microscopía electrónica de barrido demostraron que los haces de fibras de polietileno experimental y las fibras de la resina comercial Lucitone199 tienen forma y diámetro similares de entre 25 a 30  $\mu\text{m}$ .

Los resultados de la espectroscopía infrarrojo (FT-IR) mostraron la estructura característica del PE, las bandas principales de extensión CH entre 2960-2850  $\text{cm}^{-1}$  y flexión de  $\text{CH}_2$  a 1460 $\text{cm}^{-1}$  y 720  $\text{cm}^{-1}$ ; tanto en las fibras de la resina comercial como en las fibras experimentales.

El PMMA reforzado con fibras de polietileno (3 mm) se procesó de acuerdo al ciclo de polimerización determinado por el Laboratorio de Materiales Dentales de la DEPEl de la Facultad de Odontología de la UNAM (MD), el ciclo corto de polimerización (42 min) y el ciclo convencional de polimerización (9h). La resina comercial Lucitone 199 que es una resina de alto impacto con fibras orgánicas color rosa fue procesada de acuerdo al ciclo de polimerización determinado por su fabricante y fue utilizada como grupo control.

En la prueba de contenido de monómero residual (% en fracción de masa) los grupos *9h* y *MD* presentaron los valores más bajos en relación al grupo control, mientras que el grupo *42 min* fue el que presentó el mayor valor, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Bayraktar<sup>97</sup> quedando claro que el contenido de monómero residual es inversamente proporcional al tiempo y temperatura de polimerización. Además los valores de los cuatro grupos a pesar de ser diferentes entre sí, cumplieron con el valor determinado por la norma ISO 1567 (2.2 % como valor máximo), además de coincidir con los resultados obtenidos por Zissiset al.<sup>98</sup>

En las pruebas de sorción de agua y solubilidad el grupo *42 min* obtuvo el menor valor; y los grupos *MD* y *9 h* obtuvieron valores más altos en comparación al grupo control. En estas pruebas, todos los grupos evaluados cumplen con los valores requeridos por la ISO 1567.

El grupo *42 min* presentó la mayor porosidad, lo que indica que probablemente no se llevó a cabo una completa polimerización y ligado al valor elevado obtenido en el análisis de monómero residual.

Es importante mencionar que basados en la suposición que hacíamos en cuanto a que mayor contenido de monómero residual habría mayor sorción, analizando el grupo *42 min* y el grupo control se puede corroborar lo afirmado sin embargo; el grupo *9h* demuestra lo contrario ya que fue el que obtuvo el valor más bajo de monómero residual y presentó el valor más elevado de sorción y porosidad, lo que nos hace suponer que el contenido de monómero residual no es el único factor relacionado al aumento de la sorción, sino que la porosidad también influye directamente en este aumento, ya que el grupo *42 min* y el grupo control también presentaron valores relativamente altos de porosidad. Los resultados obtenidos de las cuatro pruebas anteriores concuerdan con los resultados de diversos autores de los que destacan Huseyin et al.<sup>99</sup> y Hayakawa et al.<sup>100</sup>

Los dos autores anteriores mencionan que la relación entre estas propiedades repercute directamente en el rendimiento clínico ya que al estar en contacto directo el PMMA con un medio acuoso como la saliva, los componentes solubles atrapados en la prótesis (monómero residual) al momento de transportarse hacia el exterior pueden provocar una reacción de irritación en los tejidos de soporte. También es importante mencionar que no sólo se debe pensar en monómero residual como componente soluble ya que dentro de estos componentes se encuentran también los plastificantes, cuya pérdida provocan que el biomaterial sea menos flexible y se vuelva más rígido.<sup>101</sup>

En los valores de resistencia a la flexión y módulo elástico, el grupo *MD* presentó el valor más elevado, seguido por el grupo *9 h, Lucitone y 42min*, señalando que el tiempo de termopolimerización es importante para producir materiales con propiedades mecánicas favorables para uso como prótesis dentales.

De las dos pruebas anteriores se debe resaltar la influencia directa que tiene el tiempo y la temperatura de polimerización, ya que analizando los resultados se puede observar que el PMMA experimental a un tiempo de polimerización más elevado mostró valores más elevados de resistencia a la flexión y módulo elástico tal y como lo demostraron Machado et al.<sup>102</sup> y Bayraktar et al.<sup>97</sup>, que en sus estudios variaron el tiempo y la temperatura de polimerización.

En cuanto a los criterios de biocompatibilidad se observa que el PMMA experimental reforzado con fibras de polietileno no es tóxico para el modelo experimental analizado (fibroblastos). En la actualidad son necesarias las pruebas de citotoxicidad *in vitro* para la selección de nuevos biomateriales. El ensayo de MTT fue seleccionado para este estudio y se basa en la evaluación de la función mitocondrial después de la exposición de las células a sustancias que puedan ser potencialmente tóxicas.

Las propiedades biológicas de los biomateriales dentales son importantes en relación a su uso clínico ya que en algunas situaciones clínicas las fibras pueden estar cubiertas por una delgada capa de polímero o pueden estar en contacto directo con los tejidos bucales.<sup>103</sup>

Como se analizó en el presente estudio las células incubadas a 24, 48 y 72 horas con PMMA reforzado con fibras de polietileno procesado a diferentes ciclos de polimerización indican que todos los grupos analizados son no-citotóxicos y no-genotóxicos.

En la prueba de adherencia de *Candida albicans* los resultados demostraron adherencia en todos los grupos, sin embargo, se encontró mayor adherencia en el grupo comercial. Este comportamiento puede ser asociado a los nanopigmentos utilizados en la síntesis del PMMA experimental ya que el óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) es un componente con actividad fotocatalítica relevante, además tanto el  $\text{TiO}_2$  como el óxido de hierro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) son partículas de óxidos metálicos con efecto antimicrobiano debido a su estructura cristalina de rutilo/anatasa ( $\text{TiO}_2$ ) y hematita ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ).<sup>92</sup>

## 6. CONCLUSIONES

De acuerdo a la hipótesis de este estudio, los resultados demostraron que la alteración del tiempo y temperatura de procesado provoca modificación en las propiedades físico-químicas del PMMA reforzado con fibras de polietileno, ya que es notable que esta variación repercute en forma directa en la porosidad y el contenido de monómero residual los cuales en sinergia alteran las propiedades fisicoquímicas del material pero no su desempeño biológico.

Se puede destacar que los nanopigmentos agregados junto con las fibras de polietileno son factores importantes para la obtención de un PMMA con propiedades mecánicas, disminuida porosidad y reducida adherencia de *Candida albicans*, además de presentar un buen desempeño biológico, este se midió por medio del ensayo de MTT el cual consiste en evaluar la viabilidad celular a través de la actividad mitocondrial de los fibroblastos.

Es imprescindible mencionar que a la fecha existe información seria y muy valiosa sobre el desarrollo de polímeros para base de dentadura en el Laboratorio de Materiales Dentales de la DEPeI de la Facultad de Odontología de la UNAM. Lo cual nos incita a pensar en la realización de investigaciones clínicas mediante la aplicación de estos polímeros ya que sería importante dar el paso y estudiar el comportamiento *in vivo* de estos polímeros para posteriormente concretar la finalidad de esta investigación que es en beneficio de la sociedad.

## REFERENCIAS

1. Berger JC. Surface roughness of denture base acrylic resin after processing and after polishing. *J Prosthodont* 2006;15:180-6.
2. Waltimo T, Johanna T. Adherence of *Candida albicans* to the surface of polymethylmethacrylateE-glass fiber composite used in dentures. *Int J Prosthodont* 1999;12:83-86.
3. MJ, Wander, Da Silva J, Pereira T, Del Bel A, Cunha CR, Rodríguez M. Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four *Candida* species. *J Prosthet Dent* 2006;96:205-11.
4. Kuhar M, Nenad, Funduk. Effects of polishing techniques on the surface roughness of acrylic denture base resin. *J Prosthet Dent* 2005;93:76-85.
5. Shah N, Parkash H, Sunderman KR. Edentulousness denture wear and denture need of Indian elderly a community-based study. *J Oral Rehab* 2004;31:467-76.
6. O'Donnell, Randford, Sinclair, Clark. Chairside polishing of heat-cured acrylic resin: an SEM and EDTA study. *Int J Prosthodont* 2003;16:233-8.
7. L. Karaaguclioglu, G. Can, B. Yilmaz, N. Anyhan, O. Semiz, H. Levent. The adherence of *Candida albicans* to acrylic resin reinforced whit different fibers. *J Mater Sci Mater Med* 2008;19:959-963.
8. Waltimo T, Valittu P, Haapasalo M. Adherence of *Candida* species to newly polymerized and water-stored denture base polymers. *Int J Prosthodont* 2001;14:457
9. Nikawa H, Taizo H. Interactions between thermal cycled resilient denture lining materials, salivary and serum pellicles and *Candida albicans* in vitro. Part I. Effects on fungal growth. *J Oral Rehab* 2000;27:41-51.
10. He X, Meurman J, Kari K, Rautemaa R, Samaranayake L. In vitro adhesion of *Candida* species to denture base materials. *Mycoses* 2005;49:80-84.

11. Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP. Characteristics of dual Candida biofilms on denture acrylic surfaces. Arch Oral Biology 2007;52:1200-1208.
12. Shibata T, Hamada N, Kimoto K, Sawada T, Sawada T, Kumada H, Umemoto T, Toyoda M. Antifungal effect of acrylic resin containing apatite-coated TiO<sub>2</sub>photocatalyst. Dent Mater 2007;26:437-444.
13. Da Silva FC, Tomitsu E, Gasparotto MN, Balducci I, Cardoso AO, YumiKoga-Ito. Effectiveness of six different disinfectants on removing five microbial species and effects on the topographic characteristics of acrylic resin. J Prosthodont 2008;17:627-633.
14. Jagger RG. Effect of the curing cycle properties of a polymethylmethacrylate denture base material. J Oral Rehab 1978;5:151-7.
15. Venegas-Lancón RD, Solórzano-Lémus F, Moreno-Maldonado V, López-Morales S. Influencia del ciclo de polimerización en la concentración de monómero residual de tres resinas para base de dentadura. RevOdontolMex 2009;13:205-216.
16. International Standar. ISO 1567. Dentistry-denture base polymers. Third Edition. 1999-02-15.
17. Pfeiffer P, Rosenbauer EU. Residual methyl methacrylate monomer, water sorption, and water solubility of hypoallergenic denture base materials. J Prosthet Dent 2004;92:72-8.
18. Meloto CB, Silva-Cocílio LR, Machado C. Water sorption of heat-polymerized acrylic resins processed in mono and bimaxillary flasks. Braz Dent J 2006;17:122-125.
19. Castillo- Torres TI, Moreno-Maldonado V, Fernández- Pedrero JA. Influencia de la variación del tiempo y la temperatura durante el procesado en la microestructura de resina para base protésica. Análisis mediante SEM. Tesis de Licenciatura, Facultad de Odontología UNAM Junio 2007.
20. Plata-Rodríguez ME, Palma-Calero JM, Barceló-Santana FH, Acosta-Torres LS. Comportamiento físico-mecánico de una resina acrílica experimental reforzada con fibras. Tesis de Licenciatura, Facultad de Odontología UNAM, Enero 2009.

21. Jorge JH, Giampaolo ET, Vergani CE, Machado AL. Effect of post-polymerization heat treatments on the cytotoxicity of two denture base acrylic resins. *J Appl Oral Sci* 2006;14:203-7.
22. Dee KC, Puleo DA, Bizios R. An introduction to tissue-biomaterial interactions. Edit Wiley-Liss, New Jersey; 2002. P 37-52.
23. Mjör IA. Problems and benefits associated with restorative materials: side-effects and long-term cost. *Adv Dent Res* 1992;6:7-16.
24. Guzmán HJ. *Materiales Odontología de Uso Clínico*. EditEcoe, Colombia 2003.
25. Lai CP, Tsai MH, Chen M. Morphology and properties of denture acrylic resins cured by microwave energy and conventional and conventional water bath. *Dent Mater* 2004;20:133-41.
26. Craig RG. Prosthetic applications of polymers, In: *Restorative dental materials*. St. Louis: Mosby; 1997. P 500-551.
27. Munksgaard EC. Toxicology versus allergy in restorative dentistry. In: *advances in dental research*. *Adv Dent Res* 1992;6:17-21.
28. Hesten-Pettersen A, Jacibsen N. Perceived side effects of biomaterials in prosthetic dentistry. *J Prosthet Dent* 1991;65:38-43.
29. Kallus T, Mjör IA. Incidence of adverse effects of dental materials. *Scand J Dent Res* 1991;99:236.
30. Bength O, Ard F, Kayser, Gunnar E, Carlsson, *Odontología Protésica, Principios y estrategias terapéuticas*. Editorial Mosby, Madrid, España; 1997.
31. Zarb GA, Bolender CL, Hickey JC, Carlsson GE. *Prostodoncia Total de Boucher*. Nueva editorial Interamericana, D.F, México 1994.
32. Echeverría P, Roldán M. *Rehabilitación del Paciente Edentado*. Editorial Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia; 1997.
33. Reisbick. *Materiales Dentales en Odontología Clínica*. Editorial El Manual Moderno, México; 1982. P. 287-295.
34. Meng TR, Latta MA. Physical properties of our acrylic dentures base resins. *J Contemp Dent Pract* 2005;6:1-5.
35. Phillips RW. *Skinner's Science Of Dental Materials*. ) ed. Philadelphia, W.B. Saunders; 1991 p 140-160.

36. Phillip N. New acrylic resin composite with improved thermal diffusivity. *J Prosthet Dent* 1998;3:278-284.
37. Karacaer OI, Polat TIN, Tezvergil A. The effect of length and concentration of glass fibers on the mechanical properties of an injection and compression molded denture base polymer. *J Prosthet Dent* 2003;90:385-393.
38. Kim SH, Watts DC. The effect of reinforcement with woven E-glass fibers on the impact strength of complete dentures fabricated with high-impact acrylic resin. *J of Prosthet Dent* 2004;91:274-80.
39. Anusavice KJ, Phillips RW, Phillip's Science of Dental materials. Elsevier, España; 2004.
40. Williams. *Materiales en Odontología Clínica*. Ed. Mundi, Paraguay; 1982. P. 300-23.
41. Mikai M, Koike M, Fujii H. Quantitative analysis of allergenic ingredients in eluate extracted from used denture base resin. *J Oral Rehab* 2006;33:216-20.
42. Lung CYK, Darvell BW. Methyl methacrylate in poly(methyl methacrylate)-validation of direct injection gas chromatography. *J Chromatograph A* 2004; 1061:93-8.
43. Malcolm PS. *Polymer Chemistry an Introduction*. Oxford University Press, New York, Oxford; 1999.
44. Cökeliler D, Erkut S, Zemek J, Biederman H, Mutlu M. Modification of glass fibers to improve reinforcement: A plasma polymerization technique. *Dent Mat* 2007;23:335-42.
45. Diaz AAM, Vargas MA. Flexural and fatigue strengths of denture base resins. *J Prosthet Dent* 2008;100;100:46-5
46. Narva KK, Lassila LV, Vallittu PK. The static strength and modulus of fiber reinforced denture base polymer. *Dent Mat* 2005;21:421-8.
47. Goldberg AJ, Burstone CJ. The use of continuous fiber reinforcement in dentistry. *Dent Mat* 1992;8:197-202.
48. Rached RN, Powers JM. Repair strength of autopolymerizing, microwave, and conventional heat-polymerized acrylic resins. *J Prosthet Dent* 2004;92:79-82.

49. Ledesma SA. Atlas de Materiales Compuestos de Última Generación. 1a ed. México: Editorial Prado; 2007. P. 174-96.
50. Chawla KK. Fibrous Materials. 2a ed. New York: Cambridge University;1997. P. 16-34.
51. Tezvergil A, Lippo VJ. The effect or fiber orientation on the thermal expansion coefficients of fiber reinforcing composites. Dent Mat 2003;19:471-7.
52. Mohanty AK, Misra M, Drzal LT. Natural fibers, biopolymers, and biocomposites. 3ª ed. FI, USA: Editorial Taylor & Francis;2005. p. 45-62.
53. Ganga R, Hota VS. Reinforced Design with FRP Composites. 2a ed. Florida: Editorial CRC;2007. P. 16-28.
54. Kanie T, Arikawa H, Fujii K, Ban S. Flexural properties of denture base polymers reinforced with a glass cloth – urethane polymer composite. Dent Mat 2004;20:709-16.
55. Xia Chung M. Rapid processing for heat polymerization of polymethyl methacrylate in pressure cooker with automatic controls. J Prothet Dent 1996;76:445-7.
56. Debby. Effect of processing method on the dimensional accuracy and water sorption of acrylic resin dentures. J ProsthetDent 1999;81:300-4.
57. Smith B. Materiales Dentales. Editorial Masson, Barcelona, España 1996. P. 129-234.
58. Vega del Barrio JM. Prótesis dentales retiradas del paciente después de su uso prolongado. RCOE, (online) 1996:27-38.
59. Revised American Dental Association Specification No. 12 for Denture Base Polymers. Reports of Councils and Boreaus/JADA, 1975;90, February; 451458.
60. O'Brien, William. Materiales Dentales. Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires; 1986. P. 66-8.
61. Liao Y, Wang Q, Xian H, Xu X, Baxter SM. J. Polym. Sci.- A Polym. Chem. 2001; 39:3356-3364.
62. Takahashi Y. Strength of relined denture base polymers subjected to long-term water immersion. J Prosthodont 2000;13:305-8.

63. International Standard. ISO 10993-5. Biological Evaluation of Medical Devices- Part 5: Test for in vitro cytotoxicity.
64. Malcom PS. Polymerization Chemistry an Introduction. Oxford University Press, Nw York, Oxford; 1999.
65. Scully C, Saramanayake L. Candida and oral Candidosis: a review. Crit Rev Oral Biol Med 1994;5:125-157.
66. Pardi G, Cardozo I. Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. ActOdont Ven. 2002 40:1.
67. Ramage G, Saville P. Biofilm of *Candida albicans*: A update. Eukaryotic Cell 2005;4:633-638.
68. Garcia-Sanchez S, Aubert S. *Candida albicans* biofilms: a developmental state associated with specific and stable gene expression patterns. Eukaryotic Cell 2004; 21.
69. Panadizo M, Reviákina V. Adhesinas y receptores involucrados en el fenómeno de adherencia de *Candida albicans* a las células epiteiales. RevSoc Ven Microbiol 2001;21.
70. Scully C. Candidiasis mucosal. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1994;78:189-93.
71. Liebana UJ. Microbiología Oral. 2da. Edición. España Ed. Mc Graw Hill, 2002.
72. Dorey J, Bruce B. Oral mucosal disorders in denture wearers. J. Prosthet Dent 1985;53:210-13.
73. Jenkinson H, Raíz C. Coaggregation of *Streptococcus sanguis* and other *Streptococci* with *Candida albicans*. InfectImm 1990;50:1429-1436.
74. Kagermeier-Callaway A, Willershausen B. In vitro colonization of acrylic resin denture materials by *Streptococcus oralis* and *Actinomyces viscosus*. Int Dent J 2000;50:79-85.
75. Adam B, Baillie GS. Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. J Med Microbiol 2002;51:344-49.
76. Samanarayake LP, McFarlane TW. An in vitro study of adherence of *Candida albicans* to acrylic resins. Arch Oral Biol 1980;25:603-609.

77. Maza JL, elguezabal N, Prado C. *Candida albicans* adherence to resin-composite restorative dental material: influence of whole human saliva. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod. 2002;94:589-92.
78. Gadea I, Cuenca-Estrella. Recomendaciones para el diagnóstico micológico y estudios de sensibilidad a los antifungicos. EnfermInfeccMicrobiolClin 2004;22:32-39.
79. Panadizo M, Reviánkina V. *Candida albicans* and its pathogenic effect on membranes. Rev SocVenMicrobiol. 2001;21.
80. Pero AC, Barbosa DB, Marra J, Ruvolo-Filho AC, Compagnoni MA. Influence of microwave Polymerization method and thickness on porosity of acrylic resin. J Prosthodont 2008;17:125-129.
81. Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis. Pot Grad Med Jour. 2002;78:455-459.
82. Radford D, Challacombe S. Denture plaque and adherence of *Candida albicans* to denture-base materials in vivo and in vitro. Crit Rev Oral BioMed 1999;10:99-116.
83. Gibbons R, Turck D. Bacterial adhesion to oral tissues: A model for infectious diseases. J Dent Res 1989;68:750-760.
84. Okita N, Orstavik D. In vitro and in vivo studies on soft denture materials: microbial adhesion and tests for antibacterial activity. Dent Mater 1991; 7:155-160.
85. Boscato N, Radavelli A, Faccio D. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surface of a soft denture-lining material. Gerodontology 2008;1-4.
86. Jagger DC, Akhazam AI, Harrison A, et al. The effectiveness of seven denture cleansers on tea stains removal from PMMA acrylic resin. Int J Prosthodont 2008;15:549-552.
87. Jorge JH, Giampaolo ET, Machado AI, Vergani CE. Cytotoxicity of denture base acrylic resin. A literature review. JProsthet Dent 2003;90:190-3.
88. Acosta-Torres LS, Barceló-Santana FH, Alvarez-Gayosso CA. Synthesis and characterization of poly(methyl metacrylate) polymerized by microwave energy or conventional water bath. J ApplPolymSci 2008;109:3953-60.

89. Moura J, da Silva W, Pereira T. Influence of acrylic resin polymerization methods and saliva on the adherence of four *Candida* species. *J Prosthet Dent* 2006;96:205-211.
90. Oliveira H, Silva-Lobato C. Effect of three methods for cleaning dentures on biofilms formed in vitro on acrylic resin. *J Prosthodont* 2009;20:1-5.
91. Marcos-Arias C, López J, Sahand I. Isolation of *Candida dubliniensis* in denture stomatitis. *Arch Oral Biol* 2009;54:127-131.
92. Acosta-Torres LS, López-Marín LM, R. Núñez-Anita RE, Hernández-Padrón G, and Castaño VM. Biocompatible metal-oxide nanoparticles: nanotechnology improvement of conventional prosthetic acrylic resins. *J Nanomat*, 2011, Article ID 525967.
93. Franklin P, Wood DJ, Bubb NL. Reinforcement of poly(methyl methacrylate) denture base with glass flake. *Dent Mater*, 2005;21:365-370.
94. Karami S et al. Occupational exposure to dusts and risk of renal cell carcinoma. *Br J Cancer*. 2011;104(:1797-803.
95. Vallitu PK, Ruyter IE, Ekstrand K. Effect of Water Storage on the Flexural Properties of E-Glass and Silica Fiber Acrylic Resin Composite. *Int J Prosthodont* 1998;11-4:340-50.
96. Turker SB, Sener ID. Replacement of a maxillary central incisor using a polyethylene fiber-reinforced composite resin fixed partial denture: A clinical report. *J Prosthet Dent*, 2008;100:254-258.
97. Bayraktar G, Guvener B, Bural C, Uresin Y. Influence of polymerization method curing process, and length of time storage in water on the residual methyl methacrylate content in dental acrylic resins. *J Biomed Mater Part B: Appl Biomater* 76B:2006; 340-345.
98. Zissis A, Yannikakis S, Polyzois G, Harrison A. A long term study on residual monomer release from denture materials. *Eur J Prosthodont Restor Dent*, 2008;16(2): 81-4.

99. Huseyin K, Ovul K, Rahime T, Aylin K, Hayal B, Onur O, Atilla U. Effects of saliva and nasal secretion on some physical properties of four different resin materials. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010,1;15: 969-75.
100. Hayakawa I, Akiba N, Keh E, Kasuga Y. Physical properties of a new denture lining material containing a fluoroalkyl methacrylate polymer. *J Prosthet Dent* 2006;96:53-8.
101. Dootz ER, Koran A, Craig RG. Physical property comparison of 11 soft denture lining materials as a function of accelerated aging. *J Prosthet Dent* 1993;60:114-9.
102. Machado C, Sanchez E, Azer SS, Uribe JM. Comparative study of the transverse strength of three denture base materials. *J Dent* 2007; 35:930-3.
103. Meric G, Dhl JE, Ruyter IE. Cytotoxicity of silica-glass fiber reinforced composites. *Dent Mater*, 2008;24:1201-1206.