

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

Colegio de Postgrados

**ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO DEL GRADO DE
REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE DENTAL CON EL USO DE
NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA EN DIENTES
EXTRAÍDOS CON Y SIN BRACKETS CEMENTADOS EN ELLOS**

Dra. Andrea Magdalena Jiménez Ochoa

Dra. Carolina Dueñas Bonilla, Directora de Tesis

Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de
Especialista en Ortodoncia

Quito, mayo 2015

Universidad San Francisco de Quito

Colegio de Postgrados

HOJA DE APROBACIÓN DE TESIS

**ESTUDIO COMPARATIVO IN VITRO DEL GRADO DE
REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE DENTAL CON EL USO DE
NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA EN DIENTES EXTRAÍDOS
CON Y SIN BRACKETS CEMENTADOS EN ELLOS**

Dra. Andrea Magdalena Jiménez Ochoa

Dra. Carolina Dueñas Bonilla, Especialista en Ortodoncia
Directora de la Tesis

Dra. Lucía Mesías, Especialista en Ortodoncia
Miembro del Comité de la Tesis

Dr. Carlos Meneses, Especialista en Ortodoncia
Miembro del Comité de la Tesis

Dr. Eduardo Acevedo, Especialista en Ortodoncia
Miembro del Comité de la Tesis

Dr. Gerson Cabezas, Especialista en Ortodoncia
Director del Postgrado de Ortodoncia

Dr. Mauricio Tinajero, Especialista en Periodoncia
Director de Postgrados de Odontología

Dr. Fernando Sandoval, M. S. C.
Decano de la Facultad de Odontología

Víctor Viteri Breedy, PhD
Decano del Colegio de Postgrados

Quito, mayo del 2015

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído la Política de Propiedad Intelectual de la Universidad San Francisco de Quito y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo de investigación quedan sujetos a lo dispuesto en la Política.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo de investigación en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma: _____

Nombre: Andrea Magdalena Jiménez Ochoa

C. I.: 0916070162

Lugar: Quito, Ecuador Fecha: Mayo de 2015

DEDICATORIA

Este logro se lo entrego a Dios, pilar fundamental de mi vida que me guía y fortalece en todo momento.

Gracias a mis padres Ausberto y Magdalena por ser mi ejemplo a seguir de personas luchadoras y entregadas. Gracias por haberme dejado el mejor legado que son los valores y los estudios.

Gracias a mi esposo Javier por confiar en mí y apoyarme incondicionalmente en el logro de este sueño, ahora realidad. Gracias por el mejor regalo de esta gran aventura que decidimos iniciar juntos, nuestros hijos.

Gracias a mis dos hermosos hijos (y a los que vendrán), Javiercito y Camilita, por ser luz en mi vida, mi mayor alegría.

Dedicado a ustedes, los amo.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a todas aquellas personas que me apoyaron en el logro de esta meta, no sólo en el desarrollo de mi tesis sino en todos los conocimientos compartidos a lo largo de estos años de preparación profesional.

De manera especial a mi tutora, Dra. Carolina Dueñas Bonilla, que pasó largas jornadas corrigiendo y aportando en el desarrollo de esta investigación. Gracias por su amistad y dedicación.

Al Dr. Gerson Cabezas por ser un director que además de conocimientos de ortodoncia, nos brindó experiencias de vida.

A mis profesores del postgrado por su apoyo, enseñanzas y amistad.

A mis compañeros, por haber sido parte de esta gran aventura que iniciamos juntos y Dios mediante, juntos la terminaremos.

Gracias a todas aquellas personas que laboran en la facultad, que día a día estuvieron pendientes que todo se realice de la manera correcta.

Gracias a ustedes, de todo corazón.

Dios los bendiga

RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de las partículas de nano-hidroxiapatita en el esmalte dental desmineralizado aplicándolo en premolares extraídos, por razones ortodóncicas, con y sin brackets adheridos a ellos, debido a que la desmineralización de la estructura adamantina en forma de manchas blancas es una de las principales desventajas del tratamiento de ortodoncia. Los dientes fueron sumergidos en 3 diferentes concentraciones de suspensión líquida de nanoXIM•CarePaste al 5%, 10% y 15% en peso respectivamente, diluido en agua destilada, durante 6 y 12 días, luego de los cuales fueron examinados mediante un análisis subjetivo de la superficie adamantina empleando el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB). Se emplearon 40 premolares superiores e inferiores humanos que fueron divididos aleatoriamente en 2 grupos de trabajo de 18 dientes cada uno, a los cuales se los llamó grupo A y grupo B, y 2 grupos control de 2 dientes cada uno, a los que se denominó grupo control 1 y grupo control 2. A los dientes del grupo A, se los desmineralizó con ácido fosfórico al 37% durante 15 segundos, mientras que al grupo B se los desmineralizó con el mismo ácido, y se les cementó un bracket metálico a cada diente, siguiendo el protocolo de adhesión recomendado por el fabricante del adhesivo. Luego se procedió a dividir cada grupo de trabajo en tres subgrupos de 6 premolares cada uno, a los que se denominó subgrupo A1, subgrupo A2, subgrupo A3, subgrupo B1, subgrupo B2 y subgrupo B3. Cada uno de los tres subgrupos del grupo de trabajo A y B fue sumergido en los frascos que contenían la solución de tratamiento al 5%, 10% y 15% respectivamente, durante 6 y 12 días, luego de los cuales fueron examinados mediante un análisis subjetivo de la superficie adamantina empleando el MEB, el mismo que demostró que las nanopartículas de hidroxiapatita se depositaron regularmente en la estructura celular del esmalte desmineralizado dando la apariencia de formar nuevas capas superficiales. En conclusión, esta investigación demostró que las nanopartículas de hidroxiapatita tuvieron potencial remineralizante en esmaltes dentales desmineralizados, pero no en el área donde fue cementado el bracket. Una concentración al 10% de nano-HA puede ser óptima para lograr remineralización de manchas blancas en el esmalte dental que a mayor tiempo de exposición mayor será el sellado de las microporosidades.

Palabras Clave: Hidroxiapatita, lesiones de mancha blanca, remineralización

ABSTRACT

The purpose of the research was to evaluate the effect of nano-hydroxyapatite particles on demineralized tooth enamel applying it on extracted bicuspid teeth for orthodontic reasons, with and without brackets attached to them, because demineralization of the adamantine structure as white spot lesions is the main disadvantage of orthodontic treatment. The teeth were immersed in 3 different concentrations, 5%, 10% and 15%, of nanoXIM•CarePaste liquid suspension by weight, diluted in distilled water for 6 and 12 days, after which they were examined by a subjective analysis of the enamel surface by a Scanning Electron Microscope (SEM). 40 human upper and lower bicuspid teeth were randomly divided into 2 working groups of 18 teeth each, called group A and group B, and 2 control groups of two teeth each, called control group 1 and 2. Teeth from group A were demineralized with 37% phosphoric acid for 15 seconds, while the teeth from group B were demineralized with the same acid, and attached to them a metallic bracket, following the protocol recommended by the adhesive manufacturer. Each working group was subdivided into three subgroups containing 6 bicuspid teeth each one, named subgroup A1, A2, A3, and subgroup B1, B2, B3. Each subgroup of the working groups A and B was immersed in the treatment solution of 5%, 10% and 15%, respectively, for 6 and 12 days, after which they were examined by a subjective analysis of the enamel surface by a SEM, which showed that hydroxyapatite nanoparticles were regularly deposited on the cellular structure of demineralized enamel surface, which appeared to form new surface layers. In conclusion, nano-hydroxyapatite particles showed remineralization potential over demineralized dental enamel, which was not present in the area where the brackets were previously bonded. This investigation showed that a 10% concentration of nano-HA solution may be optimal to achieve remineralization of white spot lesions on tooth enamel and while the longer the exposure is, the greater the sealing of microporosities will occur.

Keywords: Hydroxyapatite, white spot lesions WSLs, remineralization

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| Dedicatoria ----- | 5 |
| Agradecimientos ----- | 6 |
| Resumen ----- | 7 |
| Abstract ----- | 8 |
| Tabla de contenido ----- | 9 |
| Índice de figuras ----- | 11 |
| 1. INTRODUCCIÓN ----- | 16 |
| 1.1. Justificación ----- | 20 |
| 1.2. Objetivos generales ----- | 20 |
| 1.3. Objetivos específicos ----- | 21 |
| 1.4. Hipótesis ----- | 22 |
| 2. REVISIÓN DE LA LITERATURA ----- | 23 |
| 2.1. Esmalte dental ----- | 23 |
| 2.1.1. Estructura histológica del esmalte ----- | 30 |
| 2.1.1.1. Unidad estructural básica ----- | 30 |
| 2.1.1.2. Unidades estructurales secundarias ----- | 31 |
| 2.1.2. Propiedades físicas del esmalte ----- | 35 |
| 2.1.3. Grábado ácido del esmalte ----- | 36 |
| 2.1.3.1. Patrones de grabado ácido ----- | 37 |
| 2.2. Desmineralización dentaria ----- | 41 |
| 2.2.1. Manchas blancas en ortodoncia ----- | 42 |
| 2.3. Remineralización dentaria ----- | 48 |
| 2.4. Hidroxiapatita ----- | 52 |
| 2.4.1. Composición química de la hidroxiapatita ----- | 52 |
| 2.4.2. Fuentes de hidroxiapatita ----- | 52 |
| 2.4.2.1. Hidroxiapatita de origen natural ----- | 52 |
| 2.4.2.2. Hidroxiapatita de origen sintético ----- | 53 |
| 2.4.3. Métodos para síntesis de la hidroxiapatita ----- | 54 |
| 2.4.4. Propiedades de la hidroxiapatita ----- | 55 |
| 2.4.5. Aplicaciones de la hidroxiapatita ----- | 57 |
| 2.4.6. Ventajas del uso de nanomateriales ----- | 59 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS ----- | 60 |
| 3.1. Tipo de estudio ----- | 60 |
| 3.2. Muestra ----- | 60 |
| 3.2.1. Criterios de inclusión ----- | 62 |
| 3.2.2. Criterios de exclusión ----- | 62 |
| 3.3. Metodología ----- | 63 |

| | |
|--------------------------------------|-----|
| 4. RESULTADOS | 82 |
| 5. DISCUSIÓN | 99 |
| 6. CONCLUSIONES | 105 |
| 7. RECOMENDACIONES | 107 |
| 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 109 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|--------------|---|----|
| Figura 1. | Micrografía de Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) ----- | 25 |
| Figura 2. | Microestructura del esmalte ----- | 27 |
| Figura 3. | Representación esquemática de la celda unitaria hexagonal de la hidroxiapatita ----- | 27 |
| Figura 4. | Apariencia de las bandas de Hunter-Schreger ----- | 33 |
| Figura 5. | Patrón de grabado ácido tipo 1 ----- | 38 |
| Figura 6. | Patrón de grabado ácido tipo 2 ----- | 38 |
| Figura 7. | Patrón de grabado ácido tipo 3 ----- | 39 |
| Figura 8. | Patrón de grabado ácido tipo 4 ----- | 40 |
| Figura 9. | Patrón de grabado ácido tipo 5 ----- | 40 |
| Figura 10. | Manchas blancas después de año de tratamiento de ortodoncia ----- | 44 |
| Figura 11. | Áreas grabadas de la superficie adamantina no cubiertas por la base del bracket ----- | 46 |
| Figura 12. | Lesiones de mancha blanca ----- | 47 |
| Figura 13. | nanoXIM•CarePaste ----- | 60 |
| Figura 14.a. | Lavado con agua corriente de grifo ----- | 61 |
| Figura 14.b. | Suero fisiológico al 0,9% ----- | 61 |
| Figura 14.c. | Muestras en frasco estéril sumergidos en el suero fisiológico ----- | 61 |
| Figura 15. | Limpieza de superficie dentaria con piedra pómez ----- | 65 |
| Figura 16.a. | Grabado ácido con Scotchbond™ universal 3M ----- | 65 |
| Figura 16.b. | Apariencia de blanco tiza de las superficies dentarias grabadas ----- | 65 |
| Figura 17.a. | Aplicación de adhesivo en la superficie dentaria donde irá colocado el bracket ----- | 66 |
| Figura 17.b. | Aplicación de resina Transbond™ XT 3M Unitek ----- | 66 |

| | |
|---|----|
| Figura 17.c. Remoción de excesos de resina alrededor del bracket ----- | 66 |
| Figura 17.d. Fotocurado de la resina por 10 segundos en cada cara interproximal del bracket ----- | 66 |
| Figura 18. Ácido grabador Scotchbond™ universal, primer y resina fotopolimerizable Transbond™ XT ----- | 66 |
| Figura 19. nanoXIM•CarePaste y agua destilada ----- | 67 |
| Figura 20. Concentraciones al 5%, 10% y 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 68 |
| Figura 21.a. 6 premolares sin brackets en cada frasco. Sólo se realizó el proceso de grabado ácido en estos dientes ----- | 69 |
| Figura 21.b. Grupo A de trabajo conformado por subgrupo A1, subgrupo A2 y subgrupo A3, sumergidos en solución de tratamiento de nanoXIM•CarePaste al 5%, 10% y 15% ----- | 69 |
| Figura 22.a. 6 premolares en cada frasco a los que se les realizó el proceso de grabado ácido seguido del procedimiento de adhesión de un bracket ----- | 69 |
| Figura 22.b. Grupo B de trabajo conformado por subgrupo B1, subgrupo B2 y subgrupo B3, sumergidos en solución de tratamiento de nanoXIM•CarePaste al 5%, 10% y 15% ----- | 69 |
| Figura 23. Microscopio Electrónico de Barrido o Scanning marca JEOL JSM 5310 - ----- | 71 |
| Figura 24.a. Se extrajo 3 premolares de cada subgrupo (A1, A2 y A3) del grupo A con la ayuda de una pinza algodонера ----- | 72 |
| Figura 24.b. Premolares colocados en vidrio reloj ----- | 72 |
| Figura 24.c. Corte mesio-distal por la mitad de la corona en sentido ocluso-cervical -- ----- | 72 |
| Figura 24.d. Corte a nivel del cuello dentario ----- | 72 |
| Figura 25. Alicata extractor de bracket marca American Orthodontics y alicata removedor de resina marcaOrmco ----- | 73 |
| Figura 26.a. PBS ----- | 74 |

| | |
|---|----|
| Figura 26.b. Glutraldehido al 25% | 74 |
| Figura 26.c. Glutraldehido al 3% | 74 |
| Figura 27.a. Muestras de grupo control 1 y 2 colocadas en vasos de precipitado -- | 75 |
| Figura 27.b. Muestras de subgrupos A1, A2, A3, B1, B2 y B3 examinadas a los 6 días de haber estado inmersas en la solución de tratamiento y sumergidas en gluteraldehido al 3% | 75 |
| Figura 27.c. Muestras de subgrupos A1, A2, A3, B1, B2 y B3 examinadas a los 12 días de haber estado inmersas en la solución de tratamiento y sumergidas en gluteraldehido al 3% | 75 |
| Figura 27.d. Glutraldehido al 3% | 75 |
| Figura 28. Enjuague de las muestras con buffer | 76 |
| Figura 29. Fijación con OsO ₄ (Tetraóxido de Osmio) | 76 |
| Figura 30. Enjuague de las muestras con agua destilada | 77 |
| Figura 31. Enjuague de las muestras en Tert-Butanol al 70%, 80%, 90% y 100% --- | 77 |
| Figura 32.a. Máquina de secado por congelación | 78 |
| Figura 32.b. Jarra de la secadora por congelación conteniendo a las muestras ---- | 78 |
| Figura 33. Montaje de las muestras en placa de cobre | 78 |
| Figura 34. Recubrimiento de las muestras con oro | 79 |
| Figura 35. Grupo control recubierto con oro | 79 |
| Figura 36. Grupo A y B a los 6 días de haber estado sumergidos en la solución de tratamiento, recubiertos con oro | 80 |
| Figura 37. Grupo A y B a los 12 días de haber estado sumergidos en la solución de tratamiento, recubiertos con oro | 80 |
| Figura 38. Placa de cobre con muestras debidamente colocadas dentro del MEB -- | 81 |
| Figura 39. Micro-fotografías muestra #1 de grupo control 1 | 83 |
| Figura 40. Micro-fotografías muestra #2 de grupo control 2 | 82 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 41. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 85 |
| Figura 42. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 85 |
| Figura 43. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 86 |
| Figura 44. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 86 |
| Figura 45. | Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo A3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 87 |
| Figura 46. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 87 |
| Figura 47. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 88 |
| Figura 48. | Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 89 |
| Figura 49. | Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 89 |
| Figura 50. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo B2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 90 |
| Figura 51. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 90 |
| Figura 52. | Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 91 |
| Figura 53. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 92 |
| Figura 54. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 92 |
| Figura 55. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 91 |

| | | |
|------------|---|----|
| Figura 56. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 93 |
| Figura 57. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 94 |
| Figura 58. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 94 |
| Figura 59. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 95 |
| Figura 60. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo B1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste ----- | 96 |
| Figura 61. | Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 96 |
| Figura 62. | Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo B2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste ----- | 97 |
| Figura 63. | Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 97 |
| Figura 64. | Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste ----- | 98 |

1. INTRODUCCIÓN

El esmalte dental es el tejido más duro del cuerpo humano que cubre la superficie externa de las coronas dentarias cuya finalidad es proteger al diente de agresiones físicas y químicas (Hueb de Menezes & Paes Torres, 2010). Actualmente es considerado como una biocerámica dura nanocompuesta con un alto contenido mineral (Moradian-Oldak, 2012). Está compuesto en un 92-96% de materia inorgánica (mineral), esencialmente de fosfato de calcio en forma de cristales de hidroxiapatita, y 4% de materia orgánica y agua (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002) (Hueb de Menezes & Paes Torres, 2010).

La cementación de los brackets con adhesivos de resina en ortodoncia requiere de un pretratamiento del esmalte realizado con ácido, descrito por primera vez en su técnica original por Buonocore en 1955, empleando ácido fosfórico al 85% con el fin de alterar la superficie dental por medios químicos para crear una nueva superficie para la adhesión de los materiales resinosos (Buonocore, 1955) (Sargison, McCabe, & Millett, 1996). Este tratamiento químico realizado altera la topografía del esmalte, haciéndolo más susceptible a la adhesión, creando múltiples microporosidades de 5-50 μm de profundidad y elimina 10 μm de la superficie adamantina. En estos microporos fluirá la resina, que luego de una correcta polimerización creará una unión fuerte entre el bracket y el esmalte dental (Carpena Lopes, Greenhalgh Thys, & Klauss, 2007).

Se han descrito algunos efectos indeseables del grabado ácido en el esmalte, tales como pérdida de esta estructura a causa del grabado, tinción negra o verde donde la sal de cromo producida por la corrosión del acero inoxidable del bracket se deposita en las áreas grabadas y la creación de grietas luego del descementado de los brackets debido a la limpieza de los tags de resina remanentes (Evans & Oliver, 1991) (Sargison, McCabe, & Millett, 1996).

Una de las mayores complicaciones que se presenta con la aparatología ortodóncica es la desmineralización del esmalte alrededor del bracket durante y después del tratamiento por eliminación de los ácidos orgánicos producidos principalmente por los Streptococos Mutans (SM). Al instalar la aparatología hay un aumento de los SM en la placa bacteriana, ya que se adhieren con mayor facilidad a los restos de adhesivo alrededor del bracket (Ahn, B., & Lee, 2010) (Maaitah, Adeyemi, Higham, Pender, & Harrison, 2011). Otra causa del aumento de los microorganismos es la inadecuada higiene oral del paciente que se dificulta al emplear aparatos fijos (Ritcher, Arruda, & Peters, 2011).

La desmineralización dentaria es el primer estadio de una lesión cariosa que en el paciente ortodóncico se visualizará desde manchas blancas o cafés que se pueden establecer desde las 4 semanas de la colocación de la aparatología y avanzar hasta comprometer la integridad del diente produciendo una cavidad. Ciertos estudios indican que la incidencia de aparición de este tipo de lesiones en la dentición del paciente con aparatología fija va del 13-75%, aumentado el riesgo de

descalcificación en adolescentes más que los adultos (Uysal, Amasyali, Ozcan, & Koyuturk, 2011). Sin embargo otros estudios indican que la lesión de manchas blancas puede llegar hasta un 95% de los pacientes que han recibido tratamiento ortodóncico, aumentado el riesgo mientras más tiempo dure el tratamiento. (Benhan, Arruda, González-Cabezas, & Sohn, 2010) (bdulmawjood, Ahmed, & Al- Saleem, 2012).

La remineralización dental es la re deposición de los minerales perdidos como calcio, fosfato y otros iones con el fin de reparar la pérdida mineral ocasionada esencialmente por la presencia prolongada de la placa bacteriana en la superficie dentaria (Aparecido & Andaló, 2009). Múltiples intentos para lograr esta recalcificación del esmalte se han realizado con el empleo de diversos agentes como barnices fluorados, fosfopéptidos de caseína-fosfato de calcio amorfo (CCP-ACP) y sellantes de resina (Chen, Liu, Dai, Jiang, Guo, & Ding, 2013).

En los últimos años, múltiples reportes han demostrado el potencial de remineralización artificial que tienen las partículas de nano-hidroxiapatita (HA) sobre las lesiones cariosas en adición a pastas dentales, enjuagues bucales, etcétera, teniendo incluso mayor potencial de remineralización que las pastas dentales de fluoruro de amina (Tschoppe, Zandim, Martus, & Kielbassa, 2011). La HA es uno de los materiales más biocompatibles y bioactivos que se aplican extensamente en el campo de la odontología (Huang, Gao, & Yu, 2009). Estas partículas de HA tienen similitud a los cristales de apatita del esmalte de los dientes en la morfología,

estructura y cristalinidad lo que resulta en su eficaz absorción por los tejidos naturales dentarios (Li, Pan, Tao, & Xu, 2008).

El objetivo del presente estudio es identificar los efectos de las partículas de nano-hidroxiapatita sobre el esmalte desmineralizado en premolares con y sin aparatología fija para describir si este compuesto puede ser empleado en la práctica ortodóncica como prevención y tratamiento de las lesiones de manchas blancas en la superficie dentaria causadas por del grabado ácido y por el aumento de los microorganismos de la placa bacteriana al emplear ortodoncia para la corrección de las malposiciones dentarias.

1.1 JUSTIFICACIÓN

Es conocido que uno de los posibles efectos adversos del tratamiento de ortodoncia mediante cementado de brackets es la consecuente desmineralización del esmalte dentario iniciándose como mancha blanca o café alrededor de los brackets, más aún si los pacientes tienen una higiene dental deficiente; finalizando ciertos tratamientos de ortodoncia con dientes alineados y en buena oclusión, pero debilitados estructuralmente.

El presente estudio buscó identificar los efectos de las partículas de nano-hidroxiapatita sobre el esmalte desmineralizado para determinar si este compuesto puede ser recomendado en la práctica ortodóncica como prevención y tratamiento de las lesiones de manchas blancas en la superficie dentaria.

1.2 OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar los efectos de las partículas de nano-hidroxiapatita en el esmalte dental desmineralizado aplicándolo en premolares superiores e inferiores, extraídos por razones ortodóncicas, con y sin brackets adheridos a ellos, para confirmar si este compuesto puede ser empleado en la práctica ortodóncica como prevención y tratamiento de las lesiones de manchas blancas en la superficie dentaria.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el estado estructural del esmalte en las piezas dentarias previo a la desmineralización con ácido fosfórico.
- Evaluar el estado estructural del esmalte en las piezas dentarias luego de la desmineralización con ácido fosfórico.
- Evaluar los cambios producidos por las nanopartículas de hidroxiapatita en diferentes concentraciones de solución (5%, 10% y 15%) sobre el esmalte dentario desmineralizado, sometido a tratamiento de inmersión en dichas soluciones durante 6 y 12 días.
- Evaluar el efecto de las soluciones de tratamiento de nanopartículas de hidroxiapatita al 5%, 10% y 15% sobre la superficie adamantina debajo de la base del bracket cementado en dientes sometidos a tratamiento de inmersión en dichas soluciones durante 6 y 12 días.
- Comparar los resultados de las soluciones de tratamiento de diferentes concentraciones de nanopartículas de hidroxiapatita (5%, 10% y 15%) sobre dientes con brackets cementados y sobre piezas dentarias sin aparatología adherida.
- Comparar los resultados en el tiempo (6 y 12 días) de la acción de las nanopartículas de hidroxiapatita sobre dientes con brackets cementados y sobre piezas dentarias sin aparatología adherida.

1.4 HIPÓTESIS

Las partículas de nano-hidroxiapatita (nanoXIM•CarePaste) remineralizan el esmalte dentario desmineralizado.

2. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 ESMALTE DENTAL

El esmalte o sustancia adamantina es el tejido más duro del cuerpo humano que se encuentra cubriendo la superficie externa de las coronas dentarias. Está compuesto en un 92%-96% de materia inorgánica o mineral, lo que le proporciona su dureza, y 4% de componentes orgánicos y agua (Hueb de Menezes & Paes Torres, 2010).

La matriz orgánica es de naturaleza proteica, siendo un sistema de multiagregados polipeptídicos, constituidos por proteínas tales como amelogeninas, enamelinas, ameloblastinas, tuftelinas y parvalbúminas. Además encontramos proteínas séricas, enzimas y lípidos (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002). Los ameloblastos secretan otras proteínas y glicoproteínas que no se consideran las proteínas del esmalte, sin embargo desempeñan un papel importante durante la amelogénesis, como son los proteoglicanos como el biglicano y la sialofosfoproteína dentinal (Moradian-Oldak, 2012).

La fase mineral se compone principalmente de fosfato cálcico en la forma de cristales de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{HO})_2$), de aproximadamente 50 nm de diámetro, 25 nm de espesor y varias micras de largo, sin embargo, el tamaño puede variar con la profundidad (Xiaoke Lia, 2014). La hidroxiapatita presente no es pura, ya que puede presentar sustituciones de iones como magnesio, sodio, cloro, potasio,

carbonato, flúor, entre otros (Castellanos, Marín Gallón, Úsuga Vacca, Castiblanco Rubio, & Martignon Biermann, 2013).

A nivel de cúspides presentan grosores de hasta 2,5 mm y espesores mínimos en las zonas cervicales y en fosas y fisuras de los dientes, presentando menor espesor los dientes deciduos que sus permanentes sucesores (Joubert, 2010).

El esmalte se forma antes de que el diente entre en erupción, entre la dentina y una capa celular superpuesta de ameloblastos, donde ocurrirán varios eventos químicos y físicos que formarán el tejido adamantino como la expresión génica, secreción de proteínas, crecimiento mineral y degradación de proteínas. En los seres humanos, el desarrollo del esmalte comienza en el tercer trimestre de embarazo, completando su mineralización a los seis meses después del nacimiento (Moradian-Oldak, 2012).

La matriz extracelular se secreta de forma continua durante la formación del esmalte para dar lugar a un "formador de matriz mineralizada" en lugar de la "matriz preformada" como para otros tejidos mineralizantes; degradándose rápidamente junto con proteínas cuando los cristales de hidroxiapatita crecen principalmente en anchura y espesor, hasta eliminarse del espacio extracelular junto con la finalización de la mineralización (Moradian-Oldak, 2012).

Estos cristales de hidroxiapatita conforman la microestructura del esmalte y están dispuestos en prismas o varillas perpendiculares que van desde la unión amelodentinaria (UAD) a la superficie dentaria (Figura 1). Su zona interprismática contiene millones de prismas siendo rico en proteínas y en la capa de esmalte sin prisma, los cristales se disponen paralelos entre sí y perpendiculares a la superficie del esmalte (Hueb de Menezes & Paes Torres, 2010).

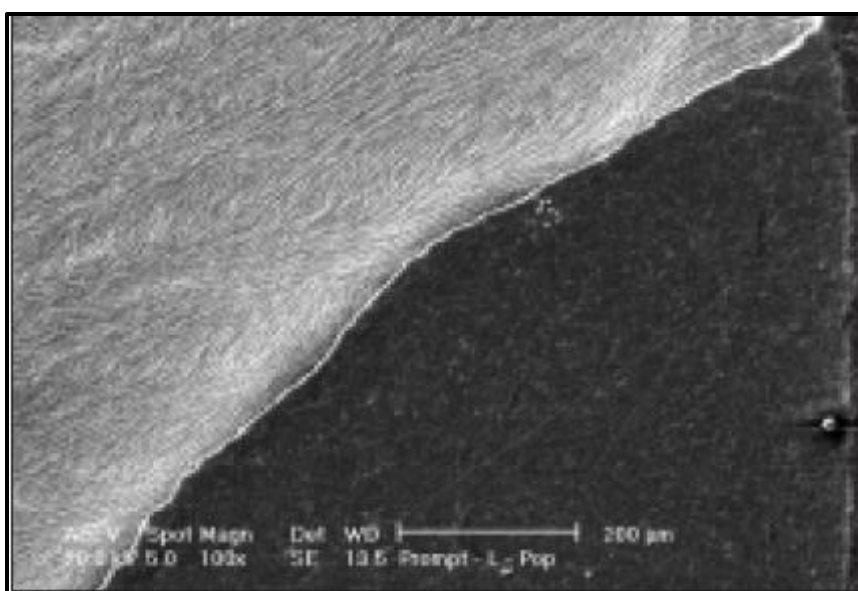


Figura 1. Micrografía de Microscopio Electrónico de Barrido (SEM).
Se puede observar la orientación de los prismas del esmalte.
(Carpena Lopes, Greenhalgh Thys, & Klauss, 2007)

En el esmalte prismático que conforma en su mayoría este tejido, los cristales están densamente agrupados y dispuestos en 3 direcciones formando largos prismas manteniendo su integridad y apoyo debido a su disposición transversal, morfología irregular, y patrones superpuestos (Carpena Lopes, Greenhalgh Thys, & Klauss, 2007).

Al estar en contacto con el medio oral, la estructura adamantina debe soportar cargas físicas y sustancias químicas que pueden llevar a la abrasión o desgaste a causa de fuerzas de compresión de hasta alrededor de 700N además de un acondicionamiento ácido de manera diferente, dependiendo de la edad y la constante exposición a la saliva y dieta (Xiaohe Lia, 2014).

Después de la erupción del diente se produce un proceso de maduración del esmalte que lo hace más resistente a la desmineralización, consistente en la deposición de minerales a partir de los fluidos orales en espacios interprismáticos que antes estaban llenos de agua (Carpena Lopes, Greenhalgh Thys, & Klauss, 2007). Weinmann, Wessinger, y Reede han demostrado que el esmalte inmaduro tiene solo el 30% de las sales minerales que se encuentran en el esmalte maduro o calcificado (Chase, 1948).

Actualmente, a este tejido se lo ha descrito como una biocerámica dura nanocompuesta con capacidad de recuperación significativa protegiendo al diente de agentes físicos y químicos externos, proporcionándole esta capacidad su alto contenido mineral y su relación estrecha con la dentina subyacente (Moradian-Oldak, 2012). Al ser un material biomineralizado, ha proporcionado gran potencial para ser aplicado en el desarrollo de materiales para la aplicación en el campo de la medicina, odontología e industria.

La hidroxiapatita está dispuesta en forma de cerradura en un arreglo de celdas unitarias hexagonales (Figura 2 y 3), conocido este conjunto como prismas del esmalte que van desde la UAD hacia la superficie del diente (Reyes-Gasga, 2013).

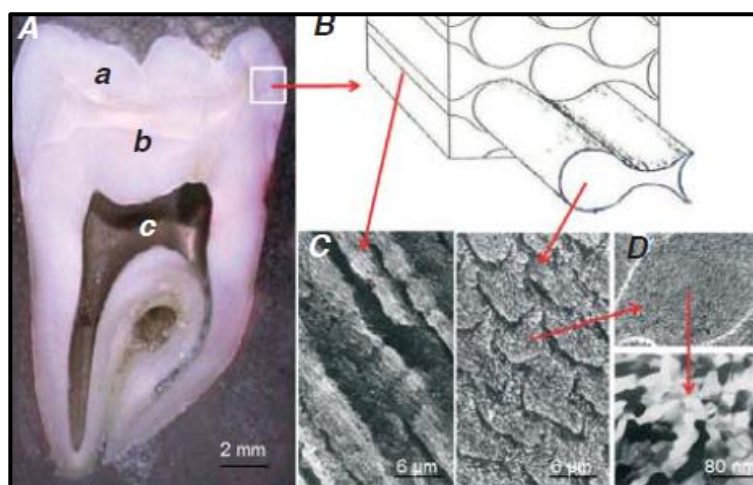


Figura 2. Microestructura del esmalte

A) Elementos que conforman el diente humano. a) Esmalte, b) Dentina, c) Pulpa

B) Dibujo esquemático del arreglo prismático del esmalte en forma de cerradura representando los prismas.

C) Imágenes de SEM de los prismas del esmalte en sección longitudinal y transversal.

D) Imágenes de TEM donde se observan los cristales de hidroxiapatita.

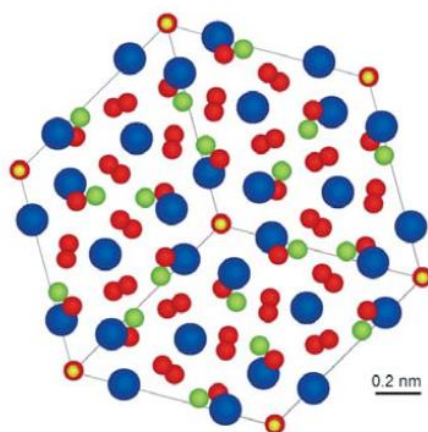


Figura 3. Representación esquemática de la celda unitaria hexagonal de la hidroxiapatita.

Vista basal con el arreglo atómico que presentan los átomos de calcio (Ca, en color azul), fósforo (P, en color verde), oxígeno (O, en color rojo) e hidrógeno (H, en color amarillo) (Reyes-Gasga, 2013)

Esta estructura adamantina está en contacto íntimo con la saliva y fluidos de la placa bacteriana, estando en constante equilibrio los cristales de hidroxiapatita con estos medios acuosos, sin embargo se pueden disolver en el proceso conocido como desmineralización, dependiendo de la cantidad y velocidad de disolución del pH y de la concentración de iones de calcio y fosfato en la solución, siendo necesario un pH <5.5 (Xiaoke Lia, 2014).

Generalmente la desmineralización se da por secreciones ácidas eliminadas por las bacterias como producto del metabolismo de carbohidratos o por ingestión de alimentos ácidos. Este proceso de degradación del esmalte, es uno de los problemas más difíciles de controlar en el tratamiento de ortodoncia ya que se complica el control de la placa bacteriana al haber dificultad en la higiene oral, además de mayor acumulación en la aparatología que se emplea, como brackets, bandas, cadenas elásticas, entre otros (Uysal, Amasyali, Ozcan, & Koyuturk, 2011).

Estudios como el de Kitada et al, demuestran el aumento de bacterias oportunistas en pacientes que emplean aparatos ortodóncicos adheridos en la saliva que cubre los brackets metálicos, encontrándose igual cantidad de SM; sin embargo estos niveles bacterianos disminuyen luego de la descementación de la aparatología fija (Kitada, de Toledo, & Oho, 2009).

El sitio más común de desmineralización es en la unión entre el adhesivo ortodóncico y el esmalte. El adhesivo remanente que en ocasiones queda alrededor

de la base del bracket es el factor predisponente a esta desmineralización, ya que luego de la cementación queda una superficie áspera que es el medio adecuado para la adhesión y crecimiento de los microorganismos orales, siendo esto el estadio inicial para la formación de placa bacteriana, por ende de la degradación de los cristales de hidroxiapatita (Ahn, B., & Lee, 2010). El esmalte es acelular y avascular; por lo que es incapaz de remodelarse o repararse (Castellanos, Marín Gallón, Úsuga Vacca, Castiblanco Rubio, & Martignon Biermann, 2013).

Los ameloblastos, después de completar la formación del esmalte, involucionan y desaparecen durante la erupción dentaria por medio de un mecanismo de apoptosis que consiste en muerte celular provocada por ellas mismas (Joubert, 2010). Sin embargo, luego de la erupción dentaria, hay un proceso de maduración del esmalte que lo hace más resistente a la desmineralización por medio del depósito de minerales proveniente de los fluidos orales en los espacios interprismáticos llenados previamente por agua (Carpena Lopes, Greenhalgh Thys, & Klauss, 2007). Es esta característica la que distingue el esmalte de los dientes recién erupcionados de los que ya lo han hecho anteriormente, ya que tienen una composición adamantina distinta (Uysal, Amasyali, Ozcan, & Koyuturk, 2011).

2.1.1 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE

2.1.1.1 UNIDAD ESTRUCTURAL BÁSICA

La unidad estructural básica del esmalte dental es el prisma o varilla del esmalte que recorre la corona dentaria desde el límite amelodentinario hacia la superficie. Son estructuras alargadas con trayecto sinusoidal de dimensiones micrométricas, variando su longitud y trayecto en distintas zonas del diente, ya que son un registro de la trayectoria seguida por los ameloblastos secretores durante la formación del esmalte (Reyes-Gasga, 2013). Por lo general, estas estructuras miden $5\mu\text{m}$ de diámetro, aproximadamente el mismo diámetro de un ameloblasto, extendiéndose de $6\text{-}12\mu\text{m}$ por debajo de la superficie del diente (Bechtle, Habelitz, Klocke, Fett, & Schneider, 2010).

Los prismas están conformados por cristales de hidroxiapatita a escala nanométrica dentro de una matriz orgánica de 1nm de espesor, clasificándolo como un material tipo compósito; es decir cuando dos o más materiales con diferentes propiedades mecánicas se unen para formar una estructura con mejores propiedades mecánicas (Reyes-Gasga, 2013). Estos cristales de hidroxiapatita están unidos formando haces longitudinales de hasta mil cristales de 50nm de diámetro aproximadamente, en cuyo espacio interprismático fluye constantemente gran cantidad de agua e iones (Bechtle, Habelitz, Klocke, Fett, & Schneider, 2010) (Castellanos, Marín Gallón, Úsuga Vacca, Castiblanco Rubio, & Martignon Biermann, 2013).

Los cristales de hidroxiapatita que conforman los prismas del esmalte miden aproximadamente 50-70 nm de ancho, 20 a 25 nm de espesor y presentan una longitud mínima de 100 μm ; aumentando de tamaño durante el envejecimiento debido a la incorporación de iones de la saliva por la mineralización de iones de calcio y fosfato y de los productos ácidos bacterianos. Por lo general, los prismas son más alargados en zona oclusal y más cortos en zona cervical, formados desde un inicio capa por capa (Uysal, Amasyali, Ozcan, & Koyuturk, 2011) (Moradian-Oldak, 2012).

2.1.1.2 UNIDADES ESTRUCTURALES SECUNDARIAS

Las unidades estructurales secundarias se forman como resultado de diferentes eventos durante la formación o disposición del esmalte; es así que el diferente grado de mineralización del esmalte, origina consecuentemente las estrías de Retzius y los penachos de Linderer; el cambio en el recorrido de los prismas forman las denominadas bandas de Hunter-Schreger y el esmalte nudoso y la interrelación entre el esmalte y la dentina subyacente, forma la unión amelodentinaria, husos adamantinos, periquimatías, las líneas de imbricación de Pickerill y laminillas del esmalte (Amerise, Delgado, Meheris, Santana, & Domínguez, 2005) (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).

- **ESTRÍAS DE RETZIUS**

Son líneas de crecimiento incremental durante la formación de esmalte en forma de bandas oscuras. En una sección transversal se manifiestan como anillos concéntricos. Estas estructuras son prominentes en dientes humanos permanentes, menos prominentes en esmalte postnatal de dientes temporales y casi nulas en esmalte prenatal; siendo características distintivas del esmalte de un individuo a otro (Contreras, 2009) (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).

- **PENACHOS DE LINDERER**

Son estructuras ramificadas permeables de acúmulos de prismas hipomineralizados que se extienden desde el límite amelodentinario al interior del esmalte en un tercio de su grosor; ricos en matriz orgánica (Garre, 2006).

- **BANDAS DE HUNTER-SCHREGER**

Osborn (1965) indicó que la aparición de las bandas de Hunter-Schreger (Figura 4) es un fenómeno óptico relacionado con los cambios en las direcciones de prismas de esmalte a medida que pasan a través del cuerpo del esmalte desde la UAD a la superficie externa del esmalte. Actualmente (Osborn, 1990) se sugiere que la aparición de este tipo de estructuras está relacionada con el entrecruzamiento sincrónico de los prismas del esmalte en el plano horizontal probablemente causado por la reflexión de la luz por el material interprismático (Lynch, O'Sullivan, Dockery, McGillicuddy, & Sloan, 2010).

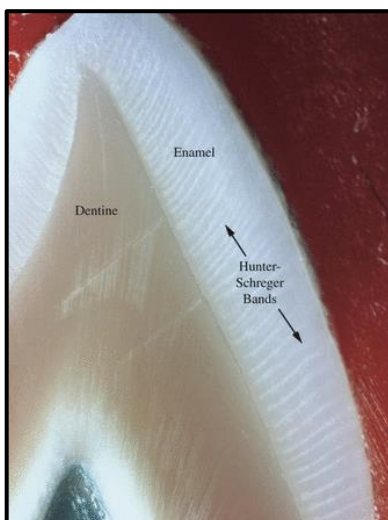


Figura 4. Apariencia de las bandas de Hunter-Schreger.
Vista de la superficie vestibular de un canino superior empleando el reflejo de la luz.
(Lynch, O'Sullivan, Dockery, McGillycuddy, & Sloan, 2010)

- ESMALTE NUDOSO

Esmalte nudoso o escleroso es un trastorno de los prismas de esmalte en el que presenta un aspecto festoneado o entrecruzado a nivel de la UAD por presiones que grupos de ameloblastos ejercen sobre las islas de dentina que se van depositando a medida que la corona dentaria se va formando en sentido cervical (Moreno-Gómez, Ortiz-Salazar, & Mejía-Pavony, 2013).

- UNIÓN AMELODENTINARIA

La UAD es una interfase festoneada que se forma por procesos biológicos durante un coordinado desarrollo del esmalte y la dentina, interdigitándose entre sí estas dos estructuras con el fin de conformar una solución de continuidad altamente resistente a las fuerzas verticales para soportar el estrés funcional a la que son sometidos constantemente las piezas dentarias (Moreno-Gómez, Ortiz-Salazar, & Mejía-Pavony, 2013).

- **HUSOS ADAMANTINOS**

Estructuras con aspecto de clavos irregulares con dirección divergente a nivel de la UAD que corresponde a las terminaciones de las prolongaciones odontoblásticas dentro de los túbulos dentinarios. Presentan un diámetro de 2 micras cerca de la UAD, mientras que en el esmalte prismático lejos de la UAD miden más de 2 micras de diámetro (Palamara, Phakey, Rachinger, & Orams, 1989).

- **PERPIQUIMATÍAS Y LÍNEAS DE IMBRICACIÓN DE PICKERILL**

Las líneas de Pickerill son bandas u ondulaciones de 30-100 μm de anchura que corren paralelamente alrededor de la superficie dentaria, separadas entre sí por unos surcos o canales conocidos como periquematías de aspecto ondulado (Risnes, 1985).

- **LAMINILLAS DEL ESMALTE**

Defectos en el desarrollo del esmalte que consisten en haces de sustancia orgánica no calcificada que se extienden desde la superficie del esmalte hacia la UAD con curso lineal y con ramificaciones, descritos por primera vez por Bödecker en 1906. Gottlieb (1944) enunció que las laminillas están más concentradas en la superficie interproximal del diente (Amerise, Delgado, Meheris, Santana, & Domínguez, 2005).

2.1.2 PROPIEDADES FÍSICAS DEL ESMALTE

El esmalte presenta las siguientes propiedades:

- **Dureza:** Es la resistencia a la abrasión o resistencia superficial a ser rayado o sufrir deformación bajo la acción de fuerzas; la dureza disminuye a medida que se va acercando a la UAD haciéndolo más propenso a la fractura. Además está influenciada por la dirección de los prismas. Los valores promedios de dureza en piezas dentarias permanentes varía entre 3,1 y 4,7 Giga pascales (Tanevitch, y otros, 2013). El esmalte es duro como el acero, aunque es proclive al desgaste por atrición, abrasión o fricción.
- **Elasticidad:** Es muy baja por su bajo contenido de material orgánico, lo que lo hace susceptible a micro y macrofracturas; siendo necesario el apoyo dentinario (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).
- **Color y transparencia:** Es translúcido, es decir una situación intermedia entre opaco que bloquee totalmente la luz y transparente que permite el pasaje de la luz. El grado de translucidez es directamente proporcional al grado de mineralización, y el color dependerá tanto del grosor del esmalte como del color de la dentina subyacente; generalmente el esmalte variará de un blanco amarillento a un blanco grisáceo. Los dientes temporales al tener menor nivel de calcificación tendrán una apariencia más blanca, a diferencia de las piezas

dentarias permanentes que por su mayor calcificación y por lo tanto mayor mineralización tendrán un color más oscuro y amarillo (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).

- **Permeabilidad:** Es escasa, aunque esta estructura puede actuar como membrana semipermeable permitiendo el paso de agua y de algunos iones presentes en el medio oral (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).
- **Radioopacidad:** Es la estructura más radiopaca del organismo humano al tener un alto grado de mineralización (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).

2.1.3 GRABADO ÁCIDO DEL ESMALTE

La técnica del grabado ácido fue descrita por primera vez por Buonocore en 1955, empleando ácido fosfórico al 85% donde sugería que esta solución producía la adhesión de resina acrílica al esmalte teniendo una duración de 1070 horas antes de descementarse cuando es colocado en agua (Buonocore, 1955).

Este tratamiento químico de la superficie dentaria se empezó a emplear con el fin de modificar la topografía del esmalte y convertirla en una superficie retentiva a la adhesión con otros materiales. La desmineralización que se produce es parecida a la destrucción que produce la colonización de bacterias sobre el esmalte (Carpena Lopes, Greenhalgh Thys, & Klauss, 2007).

La desmineralización por grabado ácido es selectiva en el esmalte debido a la disposición morfológica de los prismas, ya que la diferencia de angulación de éstos provoca que el ácido tenga mayor potencial de desmineralización en ciertas regiones. Este tratamiento químico removerá 10 μm de la superficie del esmalte y creará microporosidades de 5-50 μm de profundidad por donde fluirá la resina que luego de ser polimerizada se producirá una fuerte unión entre el bracket y la superficie adamantina debido a la retención micromecánica producida por el ácido (Carpena Lopes, Greenhalgh Thys, & Klauss, 2007).

2.1.3.1 PATRONES DE GRABADO ÁCIDO

Silverstone et al (1957) describió tres patrones de grabado ácido que dependerá del tipo de ácido, concentración y tiempo de exposición: (Silverstone, Saxton, & Fejerskov, 1975)

Tipo 1: El ácido graba el centro del prisma, dejando la periferia intacta. Es el mejor grabado ácido para la adhesión (Figura 5).

Tipo 2: Grabado de las regiones interprismáticas o periféricas, permaneciendo su centro intacto. Grabado aceptable para la adhesión (Figura 6).

Tipo 3: Grabado desordenado e indiscriminado del esmalte por lo que no es favorable para la adhesión (Figura 7).

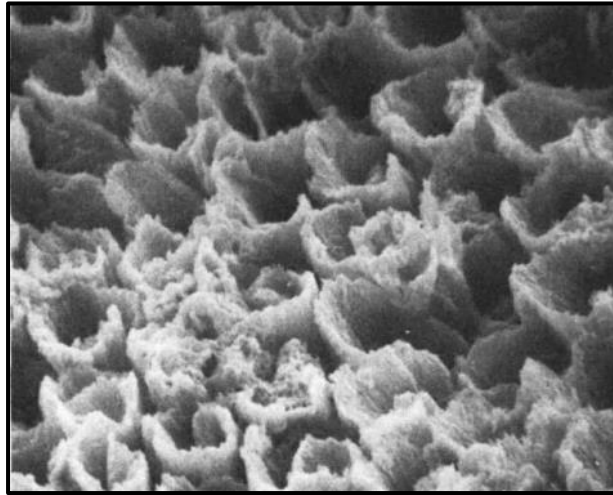


Figura 5. Patrón de grabado ácido tipo 1 después de aplicación de ácido fosfórico por 1 minuto (Galil & Wright, 1979)



Figura 6. Patrón de grabado ácido tipo 2 después de aplicación de ácido fosfórico por 1 minuto (Galil & Wright, 1979)

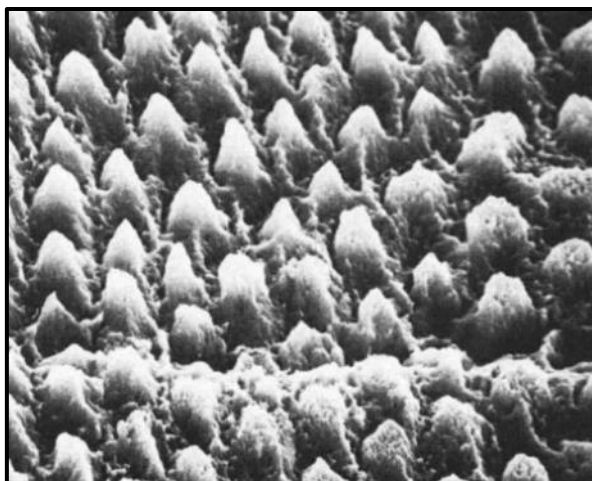


Figura 7. Patrón de grabado ácido tipo 3 después de aplicación de ácido fosfórico por 1 minuto (Galil & Wright, 1979)

Posterior a este estudio Gail et al describieron dos patrones adicionales:

Tipo 4: Superficie porosa con hoyos que se encuentra generalmente en el área cervical de la superficie vestibular y menor frecuencia en caras oclusales. Las depresiones son aleatorias en la superficie del esmalte, sin que haya una erosión preferente del centro o periferia de los prismas (Figura 8) (Galil & Wright, 1979).

Tipo 5: Superficie lisa sin evidencia de los contornos de los prismas, por ende existe ausencia de las microporosidades como áreas retentivas para la resina (Figura 9) (Galil & Wright, 1979).



Figura 8. Patrón de grabado ácido tipo 4 después de aplicación de ácido fosfórico por 1 minuto. (Galil & Wright, 1979)

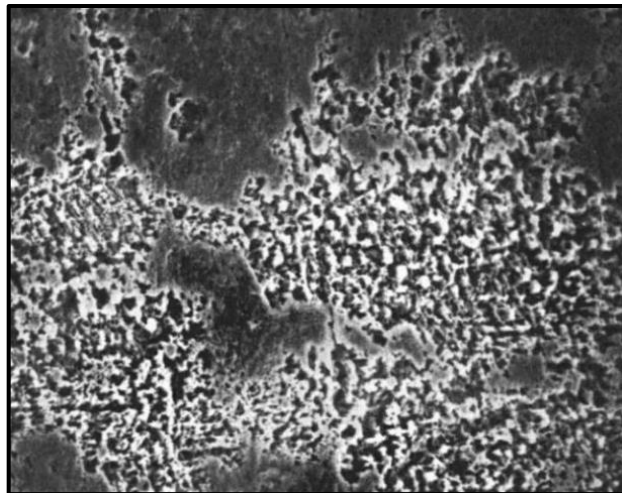


Figura 9. Patrón de grabado ácido tipo 5 después de aplicación de ácido fosfórico por 1 minuto (Galil & Wright, 1979)

2.2 DESMINERALIZACIÓN DENTARIA

La desmineralización del esmalte dentario es la disolución superficial del esmalte que es el tejido más duro y externo del diente. Es la etapa más temprana de caries en los dientes, y generalmente se observa en la superficie vestibular dentaria en forma de áreas blancas conocidas como manchas blancas.

Este proceso de desmineralización se produce cuando existe un pH bajo o acidúrico de la cavidad oral saturado con iones minerales, en relación con el contenido mineral del diente. Los cristales de hidroxiapatita del esmalte se disuelven por ácidos orgánicos (láctico y acético) que se producen por la acción celular de bacterias presentes en la placa principalmente cuando el individuo lleva una dieta rica en carbohidratos (Hemagaran & Neelakantan, 2014). Generalmente las manchas blancas se oscurecen debido a que se pigmentarán con facilidad debido a su superficie rugosa.

Dentro de las fuentes comunes de ácidos encontramos:

- Placa bacteriana de la cavidad oral.
- Ingestión frecuente de bebidas ácidas como gaseosas o energizantes con un gran contenido de ácido fosfórico.
- Exposición frecuente de la superficie vestibular de los dientes a los alimentos cítricos (ácido cítrico) como en los limones, naranjas, limas. Incluso en la

fabricación del queso se emplea el ácido cítrico para la aceleración de su proceso.

- Ácidos gástricos: Ácido clorhídrico para ayudar a digerir los alimentos. Este ácido causa desmineralización del esmalte en pacientes con trastornos de la alimentación como la bulimia y pacientes con trastornos de reflujo, así como en mujeres en etapa gestacional que presenten constantes náuseas y vómitos.
- Medicamentos o procedimientos médicos que produzcan xerostomía crónica (metanfetaminas, quimioterapia, etc.)
- Mala higiene bucal durante el tratamiento de ortodoncia provocará desmineralización del esmalte por la acumulación de placa bacteriana.

2.2.1 MANCHAS BLANCAS EN ORTODONCIA

Las lesiones de mancha blanca en ortodoncia (cariosas) se definen como porosidades de la superficie adamantina de desmineralización cariosa, presentan un aspecto blanco opaco por los cambios que se producen en la reflexión interna del esmalte, disminuyendo su brillo y se encuentran en las superficies lisas de los dientes, generalmente acompañada de placa bacteriana a su alrededor en el perímetro del bracket de ortodoncia; mientras que las manchas no cariosas son suaves y brillantes clasificadas como fluorosis, hipomineralización o hipoplasia del esmalte; siendo la causa factores genéticos o ambientales. Por lo general, este tipo

de manchas se limitan a pocos dientes, generalmente de la zona anterior, o pueden estar presentes en toda la dentición, cubriendo la superficie vestibular de los dientes.

Para diferenciar entre los dos tipos de lesiones es imprescindible que el profesional limpie y seque el diente y luego lo evalúe con adecuada luz y magnificación, inspeccionando la zona con el uso de una sonda periodontal (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010).

Las lesiones de mancha blanca cariosa generalmente no se las categoriza como caries que requieran algún tipo de restauración; sin embargo si la mala higiene o los factores de riesgo se mantienen en el paciente, será necesario un tratamiento restaurativo, clasificándolas entonces como lesiones de mancha blanca cariosas cavitadas (Knosel, Bojes, Jung, & Ziebolz, 2012).

Es conocido dentro de la literatura que los pacientes con tratamiento de ortodoncia son más susceptibles al desarrollo de las manchas blancas (Figura 10) que aquellos que no siguen este tipo de terapia; siendo uno de los efectos colaterales que acompaña a estos tratamientos, afectando estéticamente a la sonrisa, y siendo la etapa inicial de la caries del esmalte, donde sus capas más externas presentarán importante desmineralización. Estas lesiones se pueden formar a las 4 semanas de haber cementado la aparatología y que por lo regular es el tiempo entre cada cita a la que acude el paciente al control con el ortodoncista.

Las superficies irregulares de los brackets, bandas, y arcos limitan el mecanismo de autolimpieza que realiza la saliva y la musculatura oral; y esto promueve la acumulación de placa bacteriana y con el tiempo la colonización de las bacterias acidúricas. Sumado a esto, los dispositivos empleados en el tratamiento de ortodoncia dificultan la eliminación mecánica de la placa bacteriana, predisponiendo a los pacientes ortodóncicos a este tipo de lesiones (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010) (Enaia, Bock, & Rufc, 2011).



Figura 10. Manchas blancas después de año de tratamiento de ortodoncia (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010)

Sin embargo, para prevenir la descalcificación y la formación de manchas blancas es importante que los pacientes con ortodoncia sigan un régimen estricto en su higiene dental, empleando dentífricos y enjuagues fluorados con una concentración de 0.05% de fluoruro de sodio, ya que está demostrado que este compuesto puede reducir significativamente las lesiones de mancha blanca durante la terapia de ortodoncia (Maxfield, Hamdan, Tufekc, Shroff, Best, & Lindauerf, 2012). De igual forma, nosotros como profesionales tenemos el deber de motivar al

paciente, siendo ésta una de las mejores terapias para obtener buenos hábitos perdurables en el tiempo.

Es importante reconocer que estas medidas de prevención dependerán del cumplimiento y grado de compromiso del paciente con los programas de mantenimiento de la salud e higiene oral. Geiger indicó que menos del 15% de los pacientes siguen las instrucciones recomendadas; mientras que Richter reportó una cifra con una incidencia alarmantemente alta, indicando que el 72,9% de pacientes desarrollaron al menos una lesión de mancha blanca durante el tratamiento de ortodoncia, de las cuales el 2,3% de las lesiones presentó cavitaciones (Richter, Arruda, Peters, & Sohn, 2011). El Dr. Mizrahi en un estudio realizado en 1982, demostró una prevalencia de este tipo de lesiones del 84% en pacientes ortodóncicos (Mizrahi, 1982). Otros estudios indican una prevalencia variable que va de un 2% al 97% (Chapman, Roberts, Eckert, Kula, & González-Cabezas, 2010).

El tratamiento recomendado para este tipo de lesiones es único para cada paciente, debido a que responden de manera diferente; por lo que es imprescindible que el paciente y profesional trabajen juntos para su prevención (Maxfield, Hamdan, Tufekc, Shroff, Best, & Lindauerf, 2012).

Sin embargo, a pesar de todos los esfuerzos que se han realizado a manera de normas preventivas, como es el empleo de clorhexidina para la reducción del nivel de SM, e incluso eliminar el uso de materiales de cementación de brackets o

barnices liberadores de flúor, éstos parecen tener cambios mínimos o ningún cambio positivo en el proceso de desmineralización del diente (Enaia, Bock, & Rufc, 2011).

Se han realizado estudios sugiriendo que un grabado ácido inadecuado previo a la cementación de los brackets puede desencadenar iatrogénicamente manchas blancas en ciertas circunstancias, principalmente con un grabado excedente de las zonas de esmalte que posteriormente no estarán cubiertas por la base del bracket, el adhesivo de unión del bracket al diente o selladores (Figura 11); ya que esas áreas se convierten en superficies ásperas y retentivas a las bacterias (Knosel, Bojes, Jung, & Ziebolz, 2012).

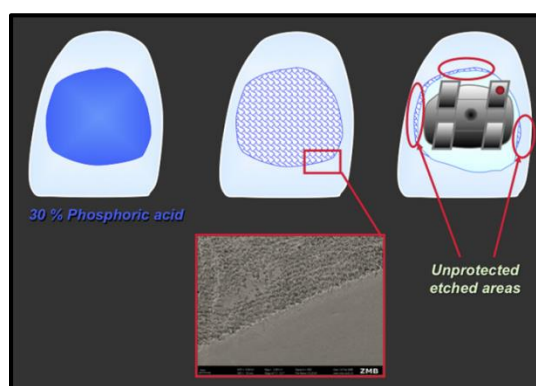


Figura 11. Áreas grabadas de la superficie adamantina no cubiertas por la base del bracket (Knosel, Bojes, Jung, & Ziebolz, 2012)

El estudio de Knosel et al concluyó que un grabado ácido excesivo en extensión y mayor a 15 segundos realizado para la posterior cementación de los brackets, más un inadecuado cepillado o la falta de uso de hilo dental, influyen en la desmineralización del esmalte, pudiendo desencadenar iatrogénicamente las

lesiones de manchas blancas. Es por esto que es recomendable que el grabado ácido no sea de más de 15 segundos y limitándose al área donde irá posteriormente cementada la base del bracket (Figura 12) (Knosel, Bojes, Jung, & Ziebolz, 2012).

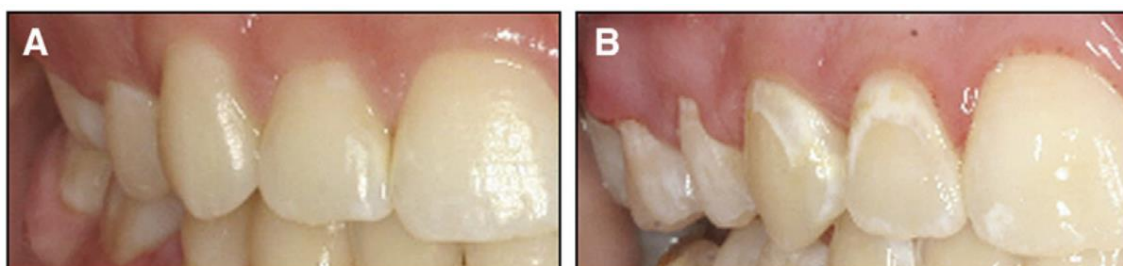


Figura 12. Lesiones de mancha blanca. A. Dientes sin lesiones de mancha blanca.
B. Posterior al tratamiento de ortodoncia (Knosel, Bojes, Jung, & Ziebolz, 2012)

Un estudio realizado por Chapman et al, indica que dentro de los factores de riesgo para desarrollar este tipo de lesiones de caries incipiente durante el tratamiento de ortodoncia están los pacientes jóvenes al inicio del tratamiento (preadolescentes), ausencia o pocas citas de profilaxis dentales durante el tratamiento, etnia blanca, una higiene bucal inadecuada en el examen inicial de pretratamiento y susceptibilidad genética (Chapman, Roberts, Eckert, Kula, & González-Cabezas, 2010).

La probabilidad de desarrollar lesiones de mancha blanca aumenta si el paciente tiene inadecuada higiene oral, dieta rica en carbohidratos, alto índice de caries restauradas y la falta de medidas preventivas como el uso de fluoruros, gomas de xilitol, o compuestos derivados del calcio. Es por esto importante que para su prevención, los ortodoncistas deben analizar los factores de riesgo antes y luego del

tratamiento de ortodoncia, apoyándose de las medidas de prevención y principalmente ofrecer una buena motivación.

2.3 REMINERALIZACIÓN DENTARIA

La remineralización del esmalte se define como un proceso fisiológico en el medio oral en el cual hay una ganancia neta de material calcificado en la estructura dental, reemplazando los iones perdidos en el proceso de desmineralización del diente. Esto se produce mediante un proceso físico-químico en la que una vez que hay una sobresaturación de iones en la solución con respecto al esmalte, éstos comienzan a formar enlaces y a deshidratarse, formando núcleos sólidos que luego se van a agrupar formándose los cristales en aquellos espacios del esmalte que han estado desmineralizados (Castellanos, Marín Gallón, Úsuga Vacca, Castiblanco Rubio, & Martignon Biermann, 2013).

La saliva puede actuar como un regulador natural para neutralizar el pH ácido oral y limitar el proceso de desmineralización, ya que generalmente posee una alta concentración de iones de calcio y fosfato, que junto a un pH oral mayor a 5.5 puede dar como resultado un equilibrio, precipitándose los iones de fosfato cálcico y finalmente los tejidos desmineralizados pueden remineralizarse.

Desde hace muchos años, se han empleado diversos productos con el fin de mantener o mejorar la estructura del esmalte, remineralizando el diente que por

diversos factores, sean estos locales, ambientales o genéticos, debilitan y desmineralizan el esmalte.

Los productos fluorados como barnices o pastas dentales son empleados con el fin de proteger a la estructura adamantina de la caries dental. Durante el cepillado, las pastas con flúor depositan ésta sustancia en la superficie dental, saliva, tejidos blandos y en la capa de placa bacteriana residual, actuando como reservorio para proteger al diente de los ácidos. Sin embargo, el contenido de flúor es alto al inicio del cepillado pero disminuye su concentración rápidamente luego del cepillado debido al aclaramiento con agua (Castellanos, Marín Gallón, Úsuga Vacca, Castiblanco Rubio, & Martignon Biermann, 2013).

Los iones de fluoruro también pueden producir la remineralización del esmalte desmineralizado previamente si es que en la saliva hay suficientes iones de calcio y fosfato, formando la fluorapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$); siendo esta disponibilidad de iones de calcio y de fosfato el factor limitante para la remineralización del esmalte, agravándose en caso de pacientes con xerostomía (Hemagaran & Neelakantan, 2014). Es recomendable que los pacientes con aparatología fija se cepillen los dientes 2 veces al día con una pasta o gel fluorado de 5000-ppm; además de la aplicación en consultorio de barniz de flúor 2 o más veces en el año (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010).

Otro agente preventivo y de detención de caries es el Xylitol que es un tipo de carbohidrato llamado poliol, usado como un sustituto de azúcar bajo en calorías que además inhibe la adhesión de los SM a la superficie dentaria, evitando así que eliminen sus ácidos sobre la estructura dentaria desmineralizándola. Estas propiedades antimicrobianas ayudan a inhibir el riesgo de caries, y mantienen un pH estable (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010).

El uso de una goma de mascar de xilitol durante 5 minutos, 3 veces al día ha demostrado resultados favorables en la disminución de riesgo de caries, favoreciendo además a una mayor producción salival que contiene más concentraciones de iones de fosfato y calcio. Sin embargo, cuando se exceden las dosis recomendadas, puede causar problemas digestivos (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010).

Por otro lado, algunos estudios como el de Robertson et al, indican que el nanocomplejo de fosfopéptidos de caseína y fosfato de calcio amorfo (CCP-ACP) previene o revierte la desmineralización dentaria. Este compuesto se produce de la digestión de la caseína, proteína de la leche, mediante un aumento de los niveles de calcio y fosfato, que mejorado aún con incorporación de iones de flúor es capaz de remineralizar las superficie dentaria, previniendo la aparición de manchas blancas durante el tratamiento ortodóncico y reparando las que ya estén presentes (Robertson, How Kau, English, Lee, Powers, & Nguyenf, 2011). A esta conclusión también llegó el estudio realizado por Fuenmayor, que habiendo empleado las pastas

dentales MI Paste y MI Paste Plus, cuyo ingrediente principal es el RECALDENT™ (CCP-ACP), reportó que éstos fueron efectivos en la liberación de calcio, siendo un buen mecanismo alternativo en la prevención de la aparición de lesiones en el esmalte (Fuenmayor, 2013).

Los colutorios de clorhexidina son antisépticos antibacterianos de indicación profesional. Han sido usados para inhibir el proceso de desmineralización en pacientes con tratamiento de ortodoncia junto con la terapia de fluoruro, pero por lo general se lo emplea en lesiones leves de la mucosa bucal, casos de gingivitis y periodontitis y como antiséptico previo a cirugías bucales. Se recomienda usarlo una sola vez en el día, máximo 14 días. El uso prolongado puede ocasionar manchas en los dientes es por esto que es debe ser usado bajo supervisión profesional (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010).

Por otro lado, ciertos estudios han demostrado que las nanopartículas de hidroxiapatita han revelado que produce no sólo remineralización del esmalte y dentina; sino también disminución de la sensibilidad dentaria. Además se ha empleado la HA en regeneración de tejido óseo, como cubrimiento de implantes, para regenerar rebordes alveolares, entre otras aplicaciones clínicas.

2.4 HIDROXIAPATITA

La hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{HO})_2$) es un biomaterial cristalino e inorgánico, no metálico, formado por átomos de calcio, fósforo, e hidrógeno. Pertenece a la familia de las apatitas, presenta una estructura hexagonal, y se la puede encontrar en la naturaleza formando parte de las rocas sedimentarias y metamórficas. Es un componente del hueso que varía de acuerdo a la edad, hábitos alimenticios y patologías presentes en el individuo y además se encuentra formando parte del esmalte dentario confiriéndole su dureza (García-Garduño & Reyes-Gasga, 2006) (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).

2.4.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA HIDROXIAPATITA

La hidroxiapatita (HA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ pertenece al grupo de las apatitas; este término fue empleado por primera vez por Werner refiriéndose a los minerales, y actualmente a los cristales compuestos por calcio, fósforo y a un grupo hidroxilo o compuesto halogenado ($\text{M}_{10}(\text{RO}_4)_6\text{X}_2$). El ión OH puede ser sustituido por flúor, cloro y carbonato para formar compuestos como fluorapatita o cloroapatita (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).

2.4.2 FUENTES DE HIDROXIAPATITA

2.4.2.1 HIDROXIAPATITA DE ORIGEN NATURAL

La hidroxiapatita natural proviene de la transformación hidrotermal del carbonato cálcico CaCO_3 (Aragonito) de los corales o de huesos humanos o

animales como el hueso bovino. También está presente en la naturaleza, derivada de las algas que presenta un patrón de formación de los minerales parecido al del hueso por lo que permite la integración ósea (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).

2.4.2.2 HIDROXIAPATITA DE ORIGEN SINTÉTICO

La hidroxiapatita, debido a su semejanza con los tejidos óseos y dentarios está siendo ampliamente usada en el área de la salud con varias aplicaciones biomédicas, por lo que se la puede sinterizar artificialmente obteniendo las HA no cerámicas y cerámicas (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).

- **HIDROXIAPATITA NO CERÁMICA:** Mineral de reabsorción lenta que actúa como matriz ósea sobre la cual se deposita el nuevo hueso formado; se obtiene por precipitación química al añadir una solución rica en fosfatos a otra con iones de calcio en condiciones controladas.
- **HIDROXIAPATITA DE ORIGEN CERÁMICO:** Altamente biocompatible formada por partículas esféricas de alta densidad y gran pureza permitiendo la aposición directa del hueso; se sintetiza mediante calentamiento de los fosfatos cálcicos.

2.4.3 MÉTODOS PARA SÍNTESIS DE LA HIDROXIAPATITA

- **POR PRECIPITACIÓN:** Método más usado para la síntesis de HA. Esto consiste en materiales menos cristalinos que se obtienen de la mezcla de fuentes de iones de calcio y fosfato en un medio acuoso con un control estricto de pH mediante el suministro de NH_3 gaseoso o soluciones acuosas de NH_4OH , NaOH o KOH . La precipitación ocurre a un ritmo muy lento, variando sus temperaturas de reacción entre 25°C y 90°C ; a temperaturas de reacción más altas, se obtendrá un producto más cristalino (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013) (Chetty, Wepener, Marei, El Kamary, & Moussa, 2013).
- **POR VÍA HIDROTÉRMICA:** Método en el cual se realiza la síntesis de HA con pocos defectos en la red cristalina a partir de soluciones acuosas a temperaturas y presiones muy elevadas (140 a 500°C) (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).
- **POR VÍA TÉRMICA:** Mezclas de fosfato y de calcio en estado sólido son sometidas a altas temperaturas (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).
- **POR MÉTODO ESTADO SÓLIDO:** Método poco reportado en la literatura, implica la combinación de polvos de Beta-fosfato tricálcico ($\beta\text{-TCP}$) e Hidróxido de Calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) en proporciones específicas (3:0-3,4), mezclando los polvos secos en agua con procesos de molido, secado y sinterización. Para obtener HA pura de alta cristalinidad se somete a un proceso de sinterización a altas

temperaturas de 1000°C durante 8 horas. La sinterización es un tratamiento térmico de un polvo o compactado metálico o cerámico a una temperatura inferior a la de fusión de la mezcla para incrementar la fuerza y la resistencia del producto con enlaces fuertes entre las partículas. Además también se puede obtener nanopartículas de este material a través del método mecanoquímica con la mezcla de polvos secos de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) y di-amonio fosfato de hidrógeno ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) que luego del proceso de molido se obtendrán nanopartículas de HA de 10 – 50 nm (Chetty, Wepener, Marei, El Kamary, & Moussa, 2013).

2.4.4 PROPIEDADES DE LA HIDROXIAPATITA

- **Biocompatibilidad:** La HA es un material no tóxico de fácil integración con el hueso por su contenido de iones de calcio, potasio, magnesio y sodio, dándole una semejanza química y estructural no sólo con la fase mineral del hueso sino también de los dientes, siendo ampliamente utilizado para la regeneración de los tejidos duros debido a la aceptación que tienen estos tejidos con el material (García-Garduño & Reyes-Gasga, 2006) (Agrawal, Singh, Puri, & Prakash, 2011) (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013). Se lo considera además un material que presenta bioafinidad, bioactividad, osteoconducción, osteointegración y osteoinducción.

Es un material osteoconductor ya que permite ser invadido por tejido conectivo proveniente del hueso que lo rodea para luego osificarse y se dice que es bioactivo cuando estimula una reacción biológica específica en la interfaz material-tejido con la formación de enlaces bioquímicos entre el tejido vivo y el material (Chetty, Wepener, Marei, El Kamary, & Moussa, 2013). La osteoinducción se produce por la estimulación de las células madre mesenquimales del huésped en los tejidos circundantes. Estas células madre se diferencian en osteoblastos que son las formadoras de hueso.

- **Rigidez y elasticidad:** La HA presenta rigidez, dureza, y a su vez elasticidad en continuidad con las fibras de colágeno. Las resistencias de compresión fluctúan entre 20 y 500 MPa, las resistencias de la tracción son de 4 a 70 MPa, y resistencia a la tracción y a fatiga de 1 a 20 MPa (García-Garduño & Reyes-Gasga, 2006) (Agrawal, Singh, Puri, & Prakash, 2011) (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).

Las propiedades mecánicas de la HA no deben exceder aquellas del hueso natural, sino reproducirlas lo mejor posible. Una de las principales limitaciones de la HA es su fragilidad frente al hueso cortical; disminuyendo sus propiedades mecánicas en implantes porosos que normalmente se requieren para la ingeniería de tejido óseo. El módulo elástico de HA densa es similar a la del hueso cortical, la dentina, y el esmalte, pero la resistencia mecánica disminuye en implantes porosos de HA; y es por su alta fragilidad, que el uso de implantes de HA está

restringido a sitios que no soporten mucha carga como en la cirugía del oído medio, relleno de defectos óseos en odontología u ortopedia, además como recubrimiento de implantes dentales y prótesis metálicas (Chetty, Wepener, Marei, El Kamary, & Moussa, 2013).

- **Reacción con el hueso:** La HA es el principal componente para el soporte de los tejidos mineralizados ocurriendo el inicio de su cristalización en las etapas embrionarias y fetales. Es un material osteoconductor que provee una matriz física para ser invadido por tejido conectivo proveniente del hueso que lo rodea formando enlaces con el tejido vivo permitiendo su osificación y su posterior crecimiento (García-Garduño & Reyes-Gasga, 2006) (Agrawal, Singh, Puri, & Prakash, 2011) (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).

2.4.5 APLICACIONES DE LA HIDROXIAPATITA

La HA ha sido ampliamente usada en el campo de la biomedicina; en el área de ortopedia, odontología y oftalmología.

- En la medicina, se ha limitado a las aplicaciones de soporte de carga que no sean críticos, como la en huesecillos del oído medio.
- En ortopedia para el reemplazo, reconstrucción y reparación de hueso; siendo la biocerámica (HA) un material cerámico biocompatible.
- Aplicación en la administración de fármacos.

- Purificación de anticuerpos a escala industrial.
- Tráquea o vasos arteriales artificiales.
- En catéter hecho de HA.
- Recubrimientos sobre superficies metálicas.
- Empleo en materiales compuestos y nanocompuestos para la aplicación en la ingeniería biomimética y tejidos con especial énfasis en la ingeniería de tejidos y hueso craneofacial (Chetty, Wepener, Marei, El Kamary, & Moussa, 2013).

Dentro de la odontología, tiene múltiples aplicaciones, entre las cuales tenemos:

- Aumento de reborde mandibular atrófico, siendo un excelente material implantológico. Permite la fijación de los implantes de manera estética y funcional respetando la biología de los tejidos blandos y duros obteniéndose un correcto remodelado.
- Es resistente a la carga de prótesis en el caso de los implantes. La HA se emplea como recubrimiento de dichos implantes. La hidroxiapatita sintética tiene mayor componente inorgánico del hueso mineral, siendo el material más idóneo para implante óseo por su similitud en las características biológicas con el hueso natural.
- Mantiene y mejora la altura del reborde alveolar en alveolos post extracción dental.
- Como profilaxis de la reabsorción de los rebordes alveolares.
- Rellenos de defectos óseos, ya sea por injurias o quistes y tumores.

- Fracturas mandibulares.
- Remineralización de caries temprana en el esmalte (Huang, Gao, & Yu, 2009).
- Promueve remineralización de esmalte y dentina (Tschope, Zandim, Martus, & Kielbassa, 2011).

2.4.6 VENTAJAS DEL USO DE NANOMATERIALES

- El éxito en el empleo de materiales con características de tamaño nanométrico, como la HA (nanoXIM•CarePaste), es que en la regeneración ósea se pueden utilizar como nanocompuestos que contienen fosfato cálcico, mostrando propiedades físicas y químicas únicas.
- Disminuir tamaño del material en la nanoescala, aumenta dramáticamente el área de superficie, rugosidad de la superficie y el área superficial a volumen.
- Se puede emplear este material en el desarrollo de nuevos materiales que puede ser utilizado en numerosas aplicaciones.
- Los nanomateriales con propiedades superficiales similares al hueso son los indicados para promover la regeneración ósea y para mejorar la eficacia implante ortopédico/dental. El proceso de osteointegración es incentivado por la topografía y química del material con capacidad de modular los eventos moleculares y celulares en la interfaz del implante.
- Las biocerámicas nanométricas, especialmente nano-hidroxiapatita (nano-HA), son ampliamente utilizados para la regeneración y sustitución ósea debido a su capacidad para promover la mineralización (Pires, 2013).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDIO

Es un estudio experimental in vitro debido a que se evaluaron los efectos de las nanopartículas de hidroxiapatita (**nanoXIM•CarePaste**) (Figura 13) sobre el esmalte dentario desmineralizado en premolares extraídos por razones ortodóncicas, empleando microscopio electrónico de barrido.

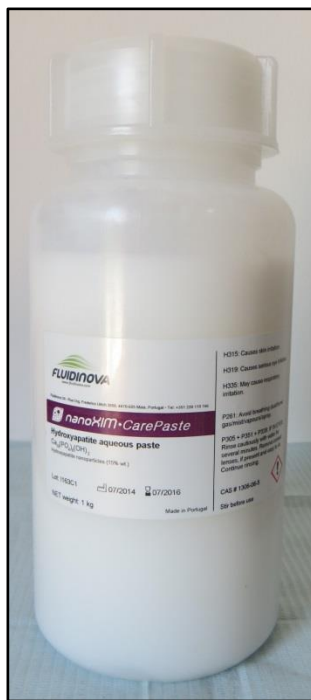


Figura 13. nanoXIM•CarePaste
casa comercial Fluidinova, Engenharia de Fluidos,S.A.
Ciudad de Moreira da Maia - Portugal

3.2 MUESTRA

La muestra estuvo constituida por 40 premolares superiores e inferiores humanos extraídos por razones ortodóncicas. Fueron donados por la Clínica

Odontológica de Posgrado de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ), por el Departamento de Estomatología del Hospital del Niño Dr. Francisco de Icaza Bustamante, ubicado en la ciudad de Guayaquil, y por odontólogos particulares, cuyos pacientes hicieron la donación voluntaria de las piezas dentarias.

Luego de la recolección se lavaron los dientes con agua corriente del grifo (Figura 14.a) y se sumergieron en suero fisiológico estéril al 0,9% marca Fisiol UB (Figura 14.b) colocado en un frasco plástico esterilizado (Figura 14.c), y mantenidos a temperatura ambiente, libre de exposición al sol y calor intenso, hasta que fueron utilizados, para preservar la estructura del diente.

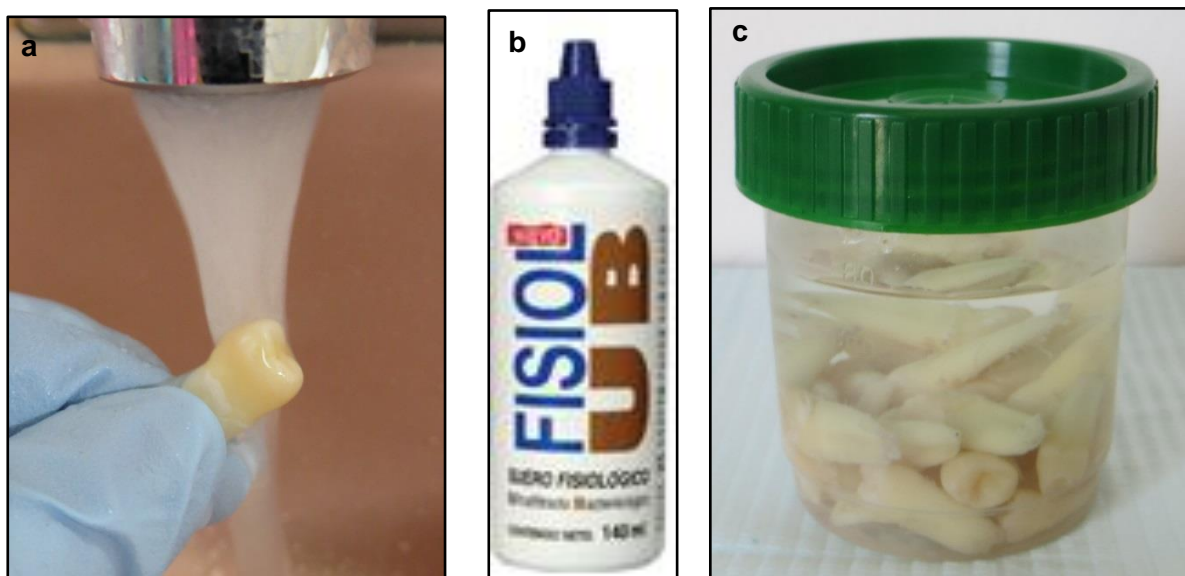


Figura 14 . LAVADO Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

a. Lavado con agua corriente de grifo, b. Suero fisiológico al 0,9%, c. Almacenamientos de las muestras en un frasco estéril sumergidos en el suero fisiológico

3.2.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Premolares superiores e inferiores extraídos por razones ortodóncicas con la corona dentaria completa sin fracturas.
- Premolares superiores e inferiores extraídos por razones ortodóncicas con la corona dentaria sin caries y ni restauraciones previas
- Premolares superiores e inferiores extraídos por razones ortodóncicas, cuyas coronas dentarias no tengan defectos en el esmalte.
- Premolares superiores e inferiores que presenten morfología típica de su tipo.

3.2.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Dientes extraídos que no sean premolares superiores o inferiores.
- Premolares superiores o inferiores que no han sido extraídos por razones ortodóncicas.
- Defectos en el esmalte de la corona dentaria como hipoplasia del esmalte, amelogénesis imperfecta, fluorosis, etc.
- Dientes con cavidades, fracturas, caries o restauraciones previas.
- Premolares superiores o inferiores que no presenten morfología típica de su tipo.

3.3 METODOLOGÍA

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron divididas aleatoriamente en 2 grupos de trabajo de 18 dientes cada uno, a los cuales se los llamó grupo A y grupo B, y 2 grupos control de 2 dientes cada uno, a los que se denominó grupo control 1 y grupo control 2. Antes de realizar la preparación de las muestras, a cada pieza dentaria de los grupos de trabajo A y B, así como de los grupos control 1 y 2, se le realizó una limpieza con copa de caucho y piedra pómez disuelta en agua hasta obtener una pasta homogénea (Figura 15), seguida de lavado con abundante agua por 30 segundos para eliminar cualquier residuo y secado con aire libre de grasa de la jeringa triple, con la finalidad de trabajar con una superficie libre de contaminación.

A continuación, a las caras vestibulares de las coronas dentarias de los 18 dientes del primer grupo de trabajo, es decir al grupo A, se las desmineralizó con ácido fosfórico al 37%, marca ScotchbondTM universal 3M (Figura 16.a), por 15 segundos, siguiendo las indicaciones del fabricante y, acto seguido, se retiró todo el producto con un lavado profuso de la superficie dental durante 30 segundos con agua corriente mediante la jeringa triple, luego de lo cual se procedió a secar la superficie dental con aire libre de grasa, también de la jeringa triple, y, finalmente se comprobó la apariencia de blanco tiza (Figura 16.b) que adquirieron los dientes luego del proceso de grabado.

A todas las superficies vestibulares de las coronas dentarias de los 18 premolares del segundo grupo de trabajo, es decir al grupo B, también se las desmineralizó durante 15 segundos con la misma solución de ácido fosfórico al 37%, se las lavó con agua corriente de la jeringa triple durante 30 segundos, se las secó con aire libre de grasa con ayuda de la jeringa triple, y se comprobó también la apariencia de blanco tiza de las superficies sometidas al proceso de grabado ácido, tal como se hizo en el grupo A, luego de lo cual se procedió a adherir en cada una de las superficies vestibulares de los dientes un bracket metálico para premolar, ya sea superior o inferior, según correspondía a la pieza a ser adherido el bracket, prescripción Roth, slot 0.022", marca Ortho Organizers (Figura 17), siguiendo el protocolo de adhesión recomendado por el fabricante del adhesivo, empleando un primer y adhesivo fotopolimerizable Transbond XT 3M. (Figura 18). Cabe recalcar que el grabado ácido fue realizado en toda la superficie vestibular de la corona dentaria para fines de estudio.

Para el posicionamiento de cada uno de los brackets en el centro de la corona clínica se tomaron en cuenta las referencias tanto en sentido mesio – distal, como en altura e inclinación con respecto al eje longitudinal del diente. Una vez asentados los brackets en la posición deseada, se procedió a eliminar los excesos de material adhesivo (Figura 17.c), y a fotopolimerizar con una lámpara de luz halógena por un tiempo de 10 segundos en cada cara interproximal del bracket. (Figura 17.d)

Posteriormente, a los dientes del grupo control 1 no se les realizó ningún procedimiento de grabado, dejando las superficies del esmalte intactas; mientras que a las coronas de los dientes del grupo control 2 se los desmineralizó con el mismo ácido fosfórico y siguiendo el mismo protocolo de grabado ácido realizado en los grupos de trabajo A y B, y mencionado anteriormente.



Figura 15. Limpieza de superficie dentaria con piedra pómez

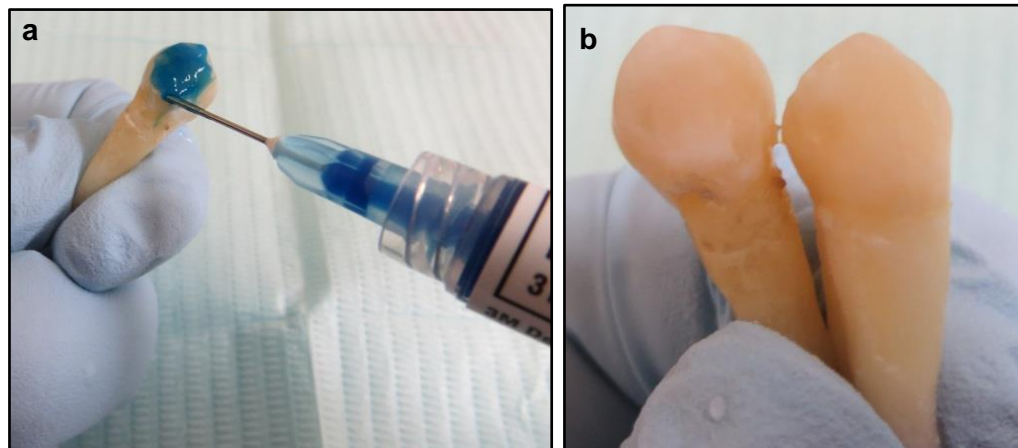


Figura 16. Grabado ácido de la corona dentaria.

- a. Grabado ácido con Scotchbond™ universal 3M
- b. Apariencia de blanco tiza de las superficies dentarias grabadas

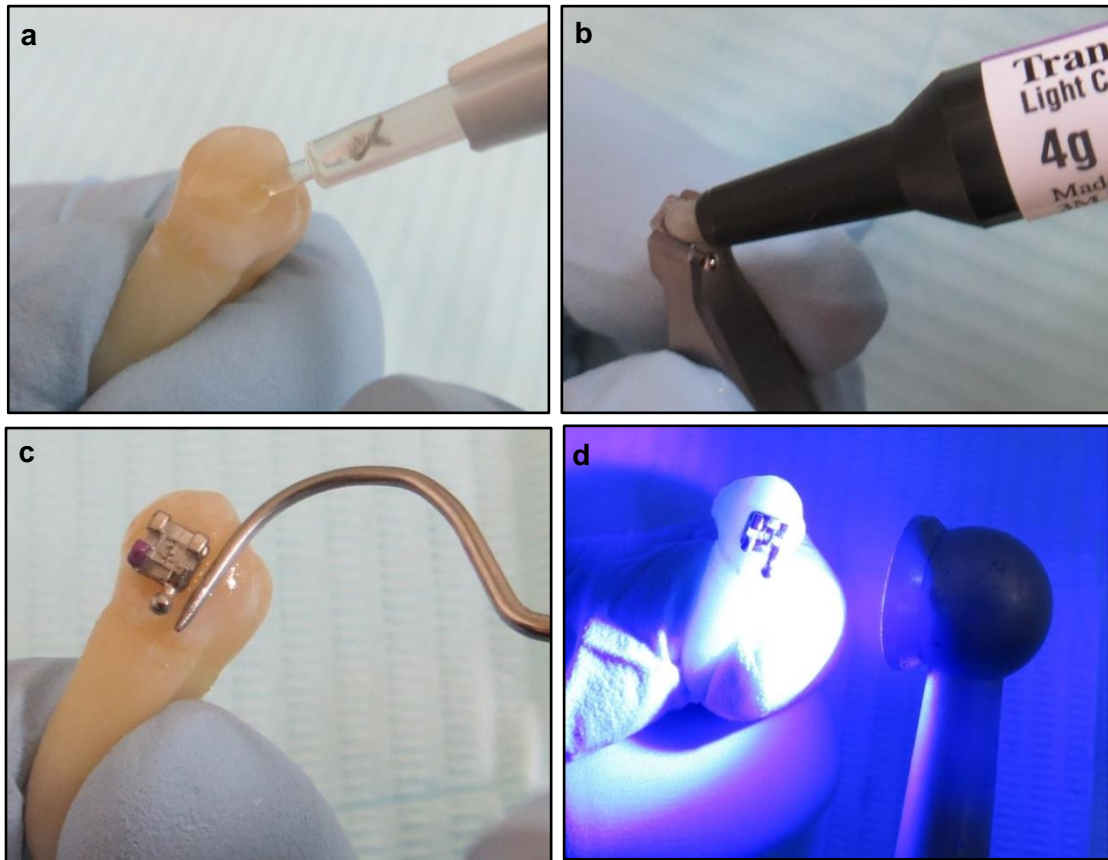


Figura 17. Proceso de adhesión para cementación de un bracket

- Aplicación de una fina capa de adhesivo con aplicador en la superficie dentaria donde irá colocado el bracket.
- Aplicación de resina Transbond™ XT 3M Unitek
- Remoción de excesos de resina alrededor del bracket
- Fotocurado de la resina por 10 segundos en cada cara interproximal del bracket.



Figura 18. Ácido grabador Scotchbond™ universal, primer y resina fotopolimerizable Transbond™ XT

Posterior a esto, se prepararon 3 soluciones de tratamiento, consistentes en una suspensión líquida de nano-HA (**nanoXIM•CarePaste**) al 5%, 10% y 15% en peso respectivamente, empleando como vehículo agua destilada (Figura 19), con la colaboración de la Dra. Elizabeth Maldonado, especialista en Química y Farmacia. Para el efecto se utilizó 1 kg de **nanoXIM•CarePaste** (nanopartículas de nano-hidroxiapatita), donado por la empresa portuguesa FLUIDINOVA, ENGENHARIA DE FLUIDOS, S.A. Estos cristales de nano-HA son de grado nanómetro, de tipo redondo, con un diámetro entre 5-10 nm y una longitud menor a 50 nm, típicamente entre 30-40 nm, teniendo una similitud con los cristales de hidroxiapatita del esmalte dentario.



Figura 19. **nanoXIM•CarePaste** y agua destilada para preparación de las soluciones de tratamiento al 5%, 10% y 15%

Cada suspensión líquida fue colocada en diferentes frascos de vidrio esmerilado, color ámbar, debidamente rotulados especificando las distintas concentraciones. Este tipo de frascos están diseñados para almacenar reactivos que no pueden recibir la luz solar. Se emplearon 6 frascos, es decir, dos para cada concentración de solución de tratamiento (figura 20).



Figura 20. Concentraciones al 5%, 10% y 15% de **nanoXIM-CarePaste**

Luego se procedió a dividir cada grupo de trabajo en tres subgrupos de 6 premolares cada uno, a los que se denominó subgrupo A1, subgrupo A2, subgrupo A3, subgrupo B1, subgrupo B2 y subgrupo B3. Cada uno de los tres subgrupos del grupo de trabajo A (A1, A2 y A3), compuesto por dientes a los que se les realizó el grabado ácido únicamente, fue introducido en los frascos (Figura 21.a) que contenían la solución de tratamiento al 5%, 10% y 15% respectivamente, y sumergidos en dicha solución. Se rotuló cada frasco con el subgrupo que contenía. (Figura 21.b) De igual manera, cada uno de los tres subgrupos del grupo de trabajo B (B1, B2 y B3),

compuesto por dientes a los que se les realizó el grabado ácido seguido de la adhesión de un bracket metálico, fue introducido en los frascos restantes (Figura 22.a) que contenían la solución de tratamiento al 5%, 10% y 15% respectivamente, y los dientes fueron sumergidos en dicha solución. Cada frasco se rotuló también con el subgrupo que contenía. (Figura 22.b)

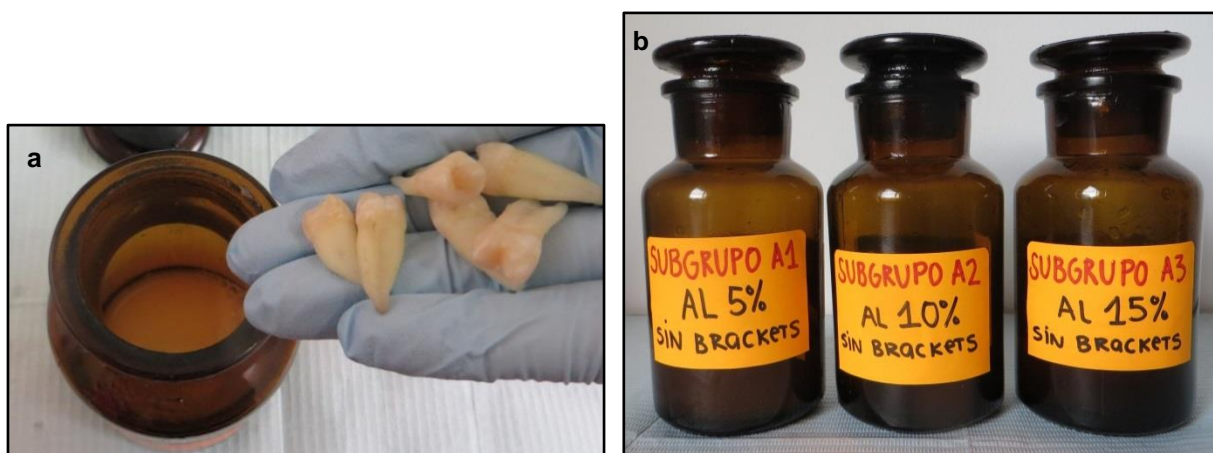


Figura 21. Grupo A de trabajo

- 6 premolares sin brackets en cada frasco. Sólo se realizó proceso de grabado ácido en estos dientes.
- Grupo A de trabajo conformado por subgrupo A1, subgrupo A2 y subgrupo A3, sumergidos en solución de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** al 5%; 10% y 15%



Figura 22. Grupo B de trabajo

- 6 premolares en cada frasco a los que se les realizó el procedimiento de adhesión de un bracket.
- Grupo B de trabajo conformado por subgrupo B1, subgrupo B2 y subgrupo B3, sumergidos en solución de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** al 5%; 10% y 15%.

La mitad de las muestras de los subgrupos A1, A2, A3, es decir, 3 premolares por subgrupo, se dejaron sumergidas en las soluciones de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** al 5%; 10% y 15% por 6 días, y la otra mitad, es decir los 3 premolares restantes por subgrupo, permanecieron sumergidas en este tratamiento por 12 días. De igual manera, la mitad de las muestras de los subgrupos B1, B2 y B3, es decir, 3 premolares por subgrupo, se dejaron sumergidas también por 6 días en las soluciones de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** al 5%; 10% y 15% , y la segunda mitad, es decir los otros 3 premolares de cada subgrupo, se mantuvieron sumergidos en las diferentes soluciones por 12 días.

Una vez transcurrido el tiempo requerido de 6 y 12 días, respectivamente, las muestras de cada subgrupo sometidas a diferentes concentraciones de solución de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** (5%; 10% y 15%) fueron analizadas bajo el Microscopio Electrónico de Barrido o Scanning (MEB), para determinar los cambios ocurridos en ellas. El MEB empleado para esta investigación fue de la marca JEOL JSM 5310, instalado desde el año 1.998 en el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical (INHMT) ubicado en la ciudad de Guayaquil, Ecuador (Figura 23).

Este tipo de microscopios emplean electrones, que son partículas de carga negativa, que atraídos por una carga positiva (cátodo), forman una onda de electrones. Los electrones se obtienen mediante altas temperaturas del filamento de tungsteno (Amano & Díaz, 2012).



Figura 23. Microscopio Electrónico de Barrido o Scanning marca JEOL JSM 5310

Este rayo de electrones, llamado sonda, al encontrar un objeto es desviado por los átomos en el objeto, llamándose a éstos electrones dispersos que componen la observación de la superficie de la muestra, y a su vez causan electrones secundarios que permiten la observación topográfica de la superficie y, finalmente, los rayos x que realiza el análisis elemental del espécimen (Amano & Díaz, 2012).

Para un mejor estudio de las muestras, se procedió al corte de cada corona clínica con un disco de diamante marca BesQual, asistido de constante irrigación. A los 6 días, se extrajo de los subgrupos A1, A2 y A3, 3 premolares con la ayuda de una pinza algodонера y se los colocó en un vidrio de reloj (Figura 24.a. y 24.b.). Se realizó un primer corte mesio-distal por la mitad de la corona en sentido ocluso-cervical (Figura 24.c) y un segundo corte a nivel del cuello dentario (Figura 24.d); quedando libre las superficies vestibulares de cada uno de los dientes, motivo de

análisis en este estudio. Del grupo B, conformado por los subgrupos B1, B2 y B3 también extrajimos 3 premolares de cada uno, retiramos el bracket con un alicate extractor de bracket marca American Orthodontics y limpiamos la superficie de residuos de resina con un alicate removedor de resina marcaOrmco (Figura 25). Posterior a esto, realizamos los mismos cortes descritos anteriormente. Estos cortes fueron realizados también y de la misma manera descrita anteriormente, en los dientes del grupo control 1 y 2. A los 12 días repetimos estos pasos con los dientes restantes de cada uno de los subgrupos A y B para su respectivo análisis. Cabe recalcar que los cortes de las coronas fueron realizados inmediatamente antes de ser examinadas en el MEB, a medida que fueron observadas.

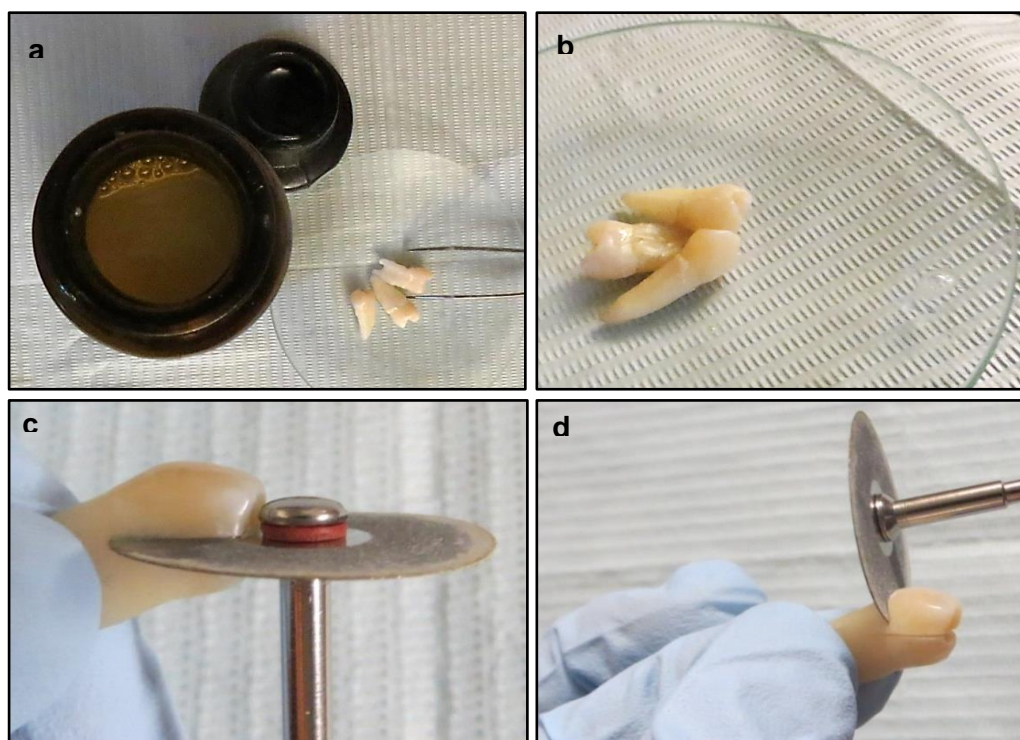


Figura 24. Corte de la cara vestibular de un premolar del grupo A

- Se extrajo 3 premolares de cada subgrupo (A1, A2 y A3) del grupo A con la ayuda de una pinza algodонера.
- Premolares colocados en vidrio reloj.
- Corte mesio-distal por la mitad de la corona en sentido ocluso-cervical.
- Corte a nivel del cuello dentario.



Figura 25. Alicata extractor de bracket marca American Orthodontics y alicata removedor de resina marca Ormco

Antes de examinar las muestras en el MEB, éstas fueron deshidratadas completamente, ya que la mayoría de elementos biológicos contienen agua, como es el caso de los dientes humanos.

Este proceso de secado fue realizado de manera rigurosa con todas las muestras, incluyendo las del grupo control, manteniéndolas siempre perfectamente identificadas, y siguiendo los siguientes pasos:

- **Fijación:** Se insolubilizaron los componentes de proteínas con reactivos químicos. Se empleó glutaraldehído al 3%.

Para realizar 50 ml de glutaraldehido, se colocaron 44 ml de PBS (Figura 26.a.) en una probeta y en una jeringa se absorbieron 6 ml de glutaraldehido al 25%, (Figura 26.b.) y se llevaron estos materiales por separado a una estufa a 37°C por 30 minutos. Luego se sacó el PBS y el glutaraldehido de la estufa, se los mezcló y se los dejó enfriar (Figura 26.c.).

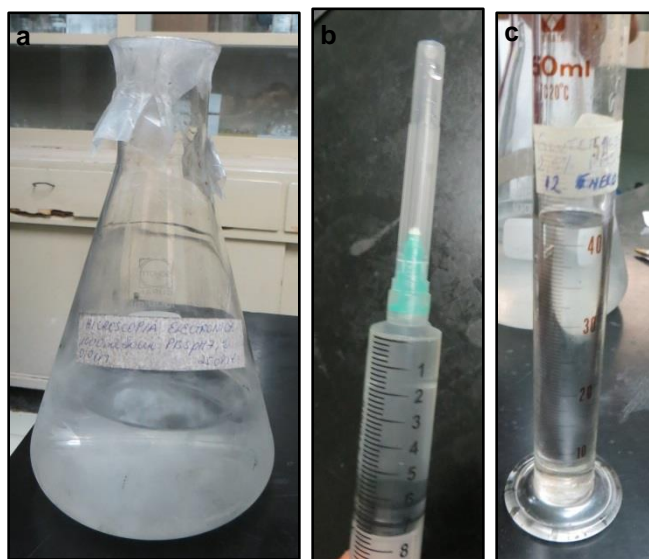


Figura 26. Preparación de Glutaraldehido al 3%

- a. PBS
- b. Glutaraldehido al 25%
- c. Glutaraldehido al 3%

Posteriormente, se colocaron las muestras en vasos de precipitado (figura 27), siempre perfectamente rotulados, donde fueron sumergidas en glutaraldehido al 3% hasta que las cubriera 3 veces su volumen, por un tiempo 2 horas y colocadas en refrigeración.

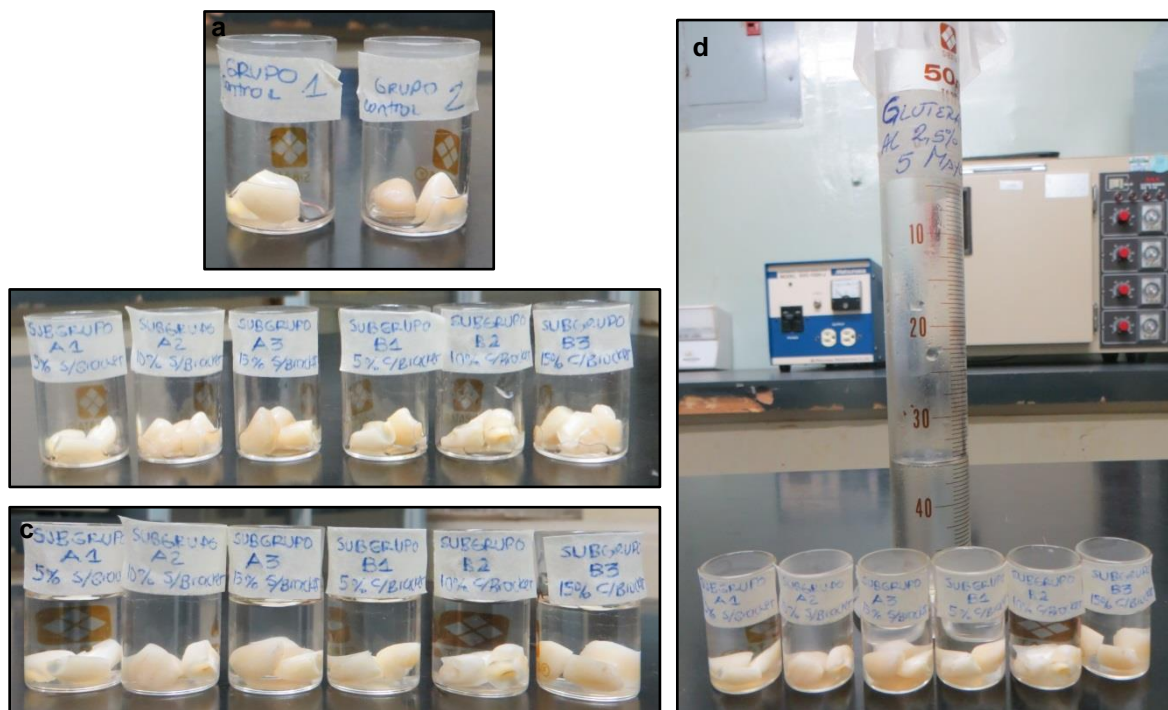


Figura 27. Muestras en vasos de precipitado y sumergidas en glutaraldehido al 3%.
 a. Muestras de grupo control 1 y 2 colocadas en vasos de precipitado.
 b. Muestras de subgrupos A1, A2, A3, B1, B2 y B3 examinadas a los 6 días de haber estado en la solución de tratamiento y sumergidas en glutaraldehido al 3%.
 c. Muestras de subgrupos A1, A2, A3, B1, B2 y B3 examinadas a los 12 días de haber estado en la solución de tratamiento y sumergidas en glutaraldehido al 3%.
 d. Glutaraldehido al 3%.

- **Enjuagues con Buffer (PBS):** Se procedió a enjuagar las muestras con PBS por 3 ocasiones, dejándolos 15 minutos en cada enjuague, sin intervalos de tiempo (Figura 28).
- **Fijación con OsO₄ (Tetraóxido de Osmio):** Se sumergió las muestras en OsO₄ por 1 hora a temperatura ambiente (Figura 29).

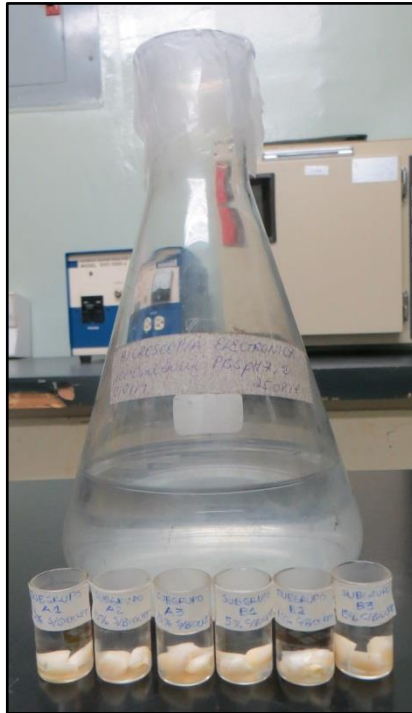


Figura 28. Enjuague de las muestras con Buffer

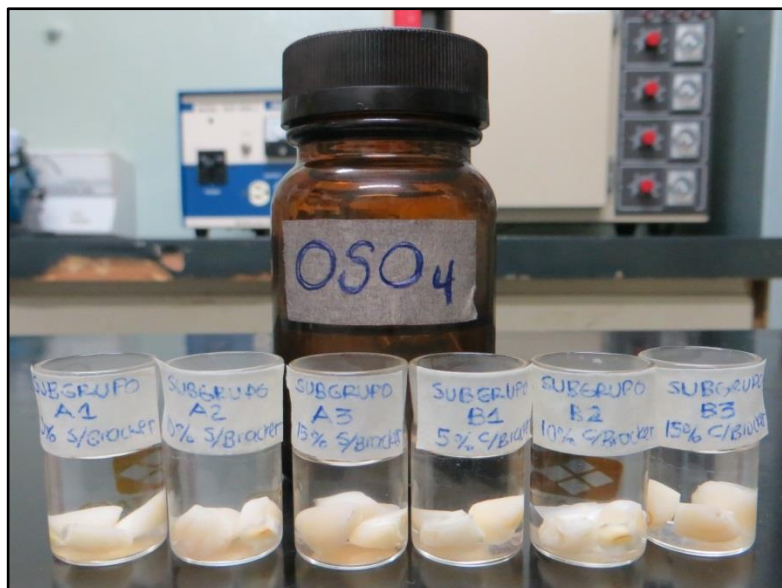


Figura 29. Fijación con OsO_4 (Tetraóxido de Osmio)

- **Enjuagues con agua destilada:** Se procedió a enjuagar las muestras con agua destilada por 3 ocasiones, dejándolos 15 minutos en cada enjuague, sin intervalos de tiempo (Figura 30).



Figura 30. Enjuague de las muestras con agua destilada

- **Enjuague de muestras en Tert-Butanol al 70%, 80%, 90% y 100%:** Cada enjuague que se realizó fue de 1 hora cada uno, sin intervalos de tiempo. (Figura 31).

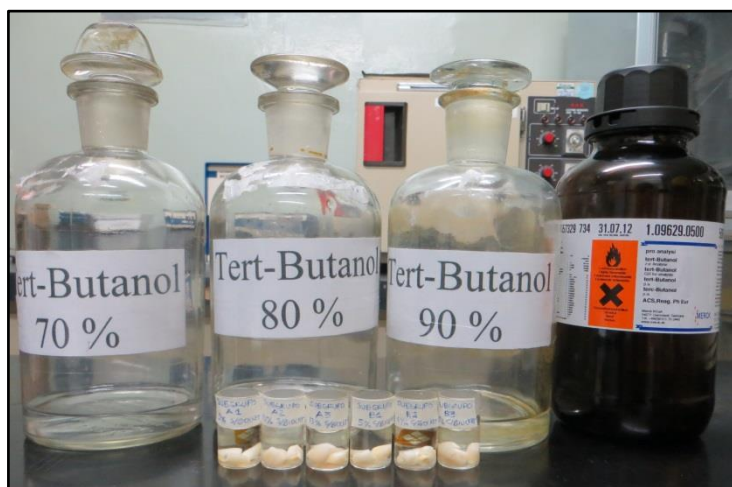


Figura 31. Enjuague de las muestras en Tert-Butanol al 70%, 80%, 90% y 100%

- **Secado por congelación:** Es una técnica para minimizar la distorsión de especímenes. Se colocó las muestras en la máquina de secado por congelación marca JEOL JFD-300 (Figura 32). Tomó alrededor de 7 horas, deshidratar completamente las muestras. El tiempo de este proceso depende del tamaño del espécimen.



Figura 32. Secador por congelación
a. Máquina de secado por congelación
b. Jarra de la secadora por congelación conteniendo a las muestras

- **Montaje de las muestras:** Con las muestras secas, se procedió a montarlas en una placa de cobre, adhiriéndolas con una cinta adhesiva de doble uso. (Figura 33)



Figura 33. Montaje de las muestras en placa de cobre

- **Recubrimiento con metal:** Para aumentar la emisión secundaria de electrones y prevenir la sobrecarga eléctrica, se revistió uniformemente las muestras con una película delgada de oro durante 20 segundos, empleando el evaporador de vacío marca Jeol modelo JFC-1200 (Figura 34-37).



Figura 34. Recubrimiento de las muestras con oro

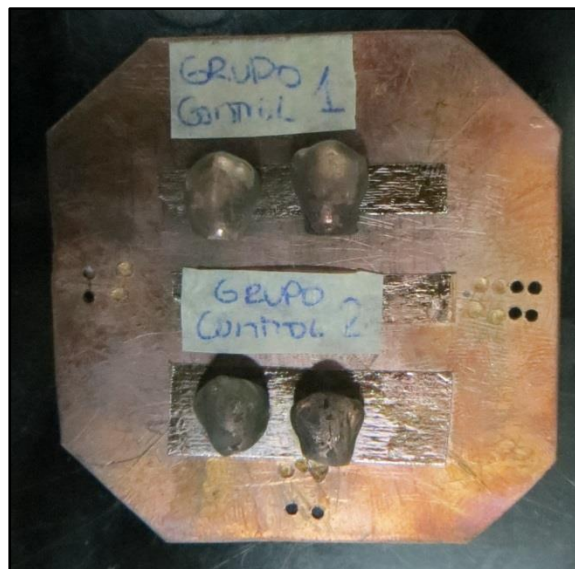


Figura 35. Grupo control recubierto con oro



Figura 36. Grupo A y B a los 6 días de haber estado sumergidos en la solución de tratamiento, recubiertos con oro



Figura 37. Grupo A y B a los 12 días de haber estado sumergidos en la solución de tratamiento, recubiertos con oro

- **Observación en el MEB:** Cada placa de cobre con las muestras debidamente colocadas, fue llevada al MEB para ser examinada (Figura 38). Cada muestra fue observada por un solo operador, la Dra. Linda Díaz, líder del laboratorio de Microscopía Electrónica del INHMT. Se realizaron 80 micro-fotografías digitales del centro de la corona clínica; es decir 2 fotografías por muestra, a una magnificación de X500 y X1500. La toma de cada micro-fotografía fue de 100 segundos, tiempo en el cual hay que mantener la estabilidad del microscopio para evitar distorsiones.

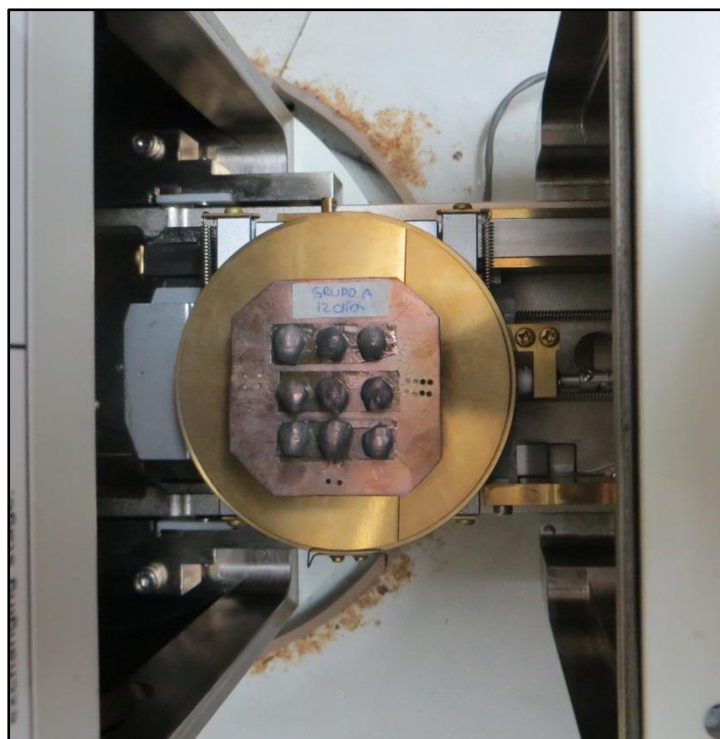


Figura 38. Placa de cobre con muestras debidamente colocadas dentro del MEB.

4. RESULTADOS

Al final del estudio bajo el MEB, se obtuvieron y examinaron un total de 80 micro-fotografías de las 40 muestras examinadas (2 fotografías por muestra, a una magnificación de X500 y X1500). Se eligió de manera aleatoria 50 micro-fotografías, (25 a una magnificación de X500 y 25 de X1500) es decir dos micro-fotografías de una muestra grupo control 1 y dos micro-fotografías de una muestra del grupo control 2; mientras que de cada subgrupo del grupo A y B se eligieron las micro-fotografías de 4 muestras de cada subgrupo (dos muestras a los 6 días de haber estado sumergidas en la solución de tratamiento y dos a los 12 días) para ofrecer una descripción detallada de los resultados encontrados en cada una de ellas.

En el análisis subjetivo de las muestras del grupo control 1, se concluye que un esmalte sano que no ha recibido proceso de desmineralización con ácido fosfórico al 37%, presenta una superficie con áreas lisas, pocas microporosidades e irregularidades propias de la estructura del esmalte; mientras que el grupo control 2 demuestra que el haber realizado el procedimiento de grabado ácido sobre la superficie adamantina se crean microporosidades fácilmente visibles bajo el MEB que dependiendo de la irregularidad del esmalte y el tiempo, así como la distribución del ácido sobre la superficie, creará una zona porosa más uniforme; como lo podemos observar en las siguientes micro-fotografías (Figuras 39 y 40).

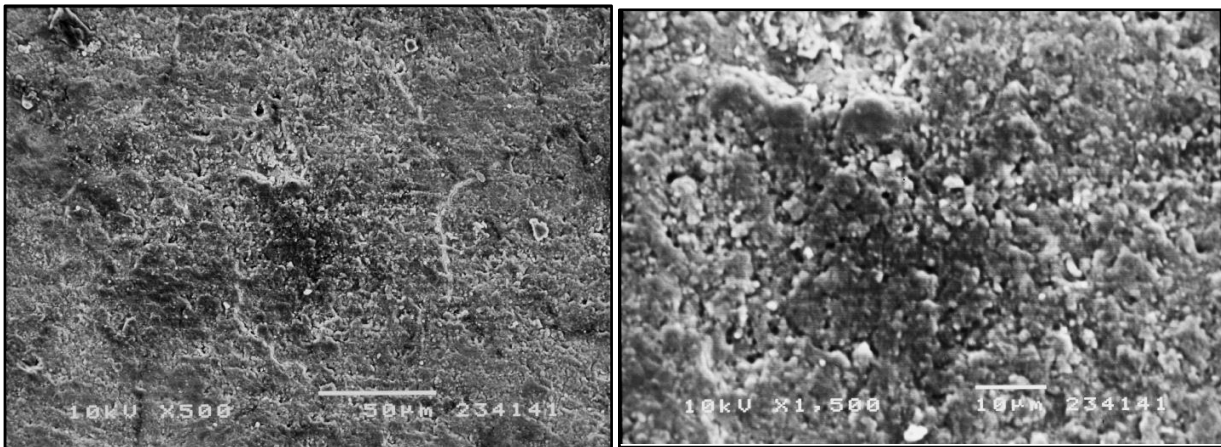


Figura 39. Micro-fotografías muestra #1 de grupo control 1. Presencia de pocas áreas porosas, estrías de retzius, además de zonas lisas.

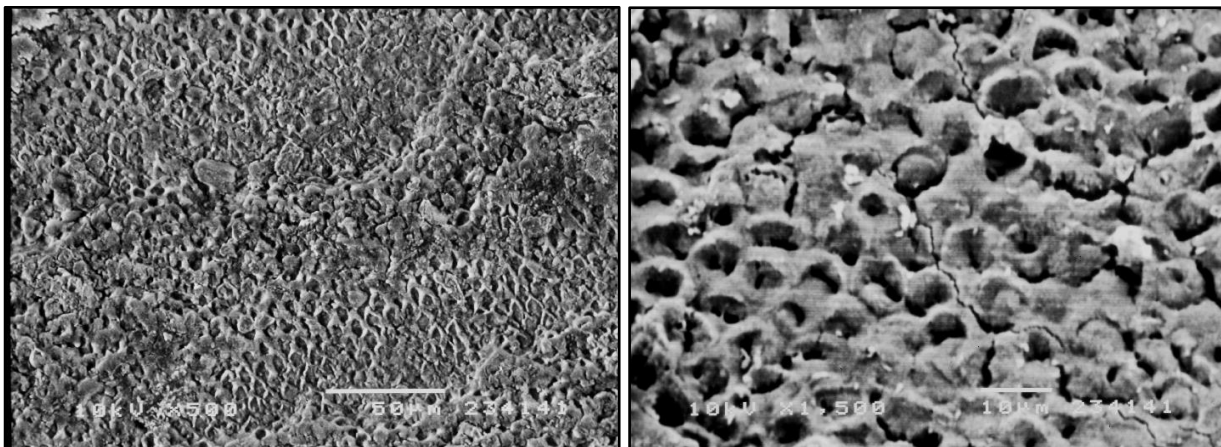


Figura 40. Micro-fotografías muestra #2 de grupo control 2. Presencia de un patrón de grabado ácido tipo 1. Áreas mayormente tratadas, creando microporosidades, grabando el centro de los prismas del esmalte.

En el análisis subjetivo realizado mediante la observación de la topografía del esmalte a través del MEB del grupo A (premolares desmineralizados con grabado ácido), cuyas muestras permanecieron 6 días sumergidas en las diferentes concentraciones de solución de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste**, podemos observar que las soluciones de tratamiento al 10% y 15% crearon mayores zonas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita, dejando pocas superficies porosas. El análisis microscópico de la superficie del esmalte de las piezas tratadas con solución de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** al 10% y al 15% durante 6 días sugiere que se produjo una remineralización del esmalte depositándose las nanopartículas regularmente en la estructura celular del esmalte desmineralizado dando la apariencia de formar nuevas capas superficiales.

Por otro lado, la observación de las micro-fotografías de las muestras del grupo A, sometidas a tratamiento de 6 días de inmersión en **nanoXIM•CarePaste** al 5% reveló que aún es visible el patrón de grabado ácido, con varias áreas llenas de microporosidades, demostrando que el grado de concentración de la solución de tratamiento no fue suficiente para mejorar la superficie adamantina (Figuras 41-46).

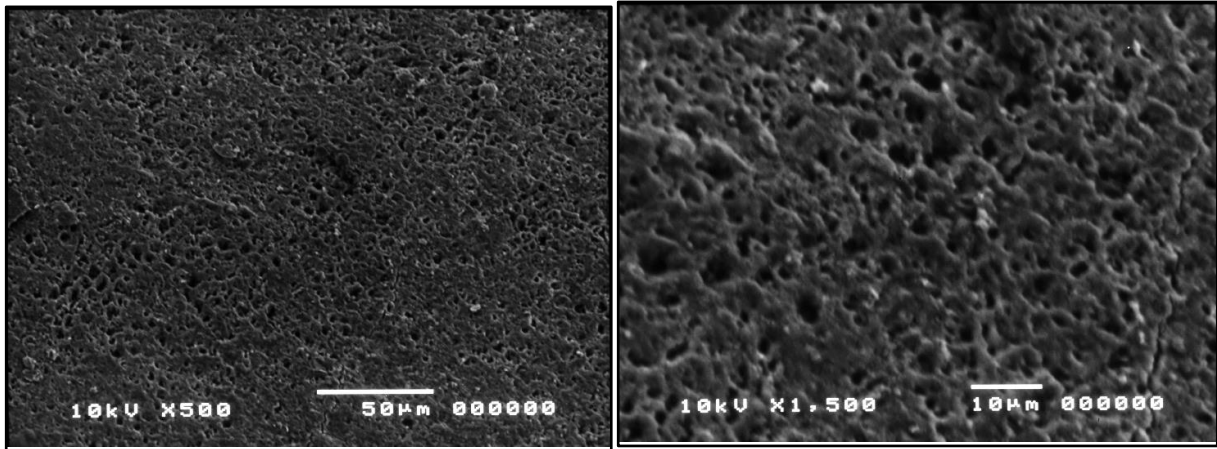


Figura 41. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste. Extensas zonas llenas de microporosidades. Pocas áreas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita o que haya estimulado un proceso de remineralización.

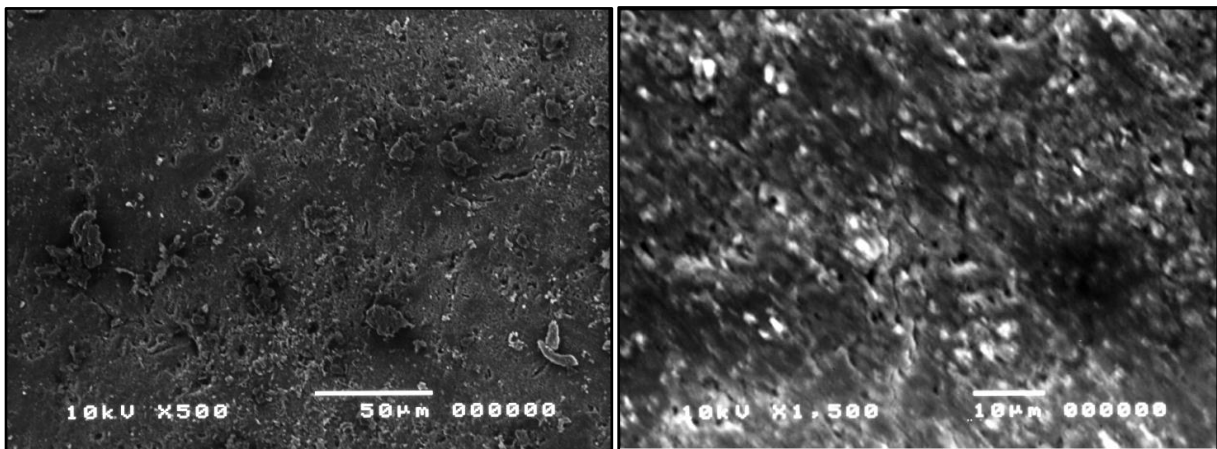


Figura 42. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste. Varias zonas de microporosidades, depresiones y pocas áreas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita o que haya estimulado un proceso de remineralización. Superficie bastante irregular.

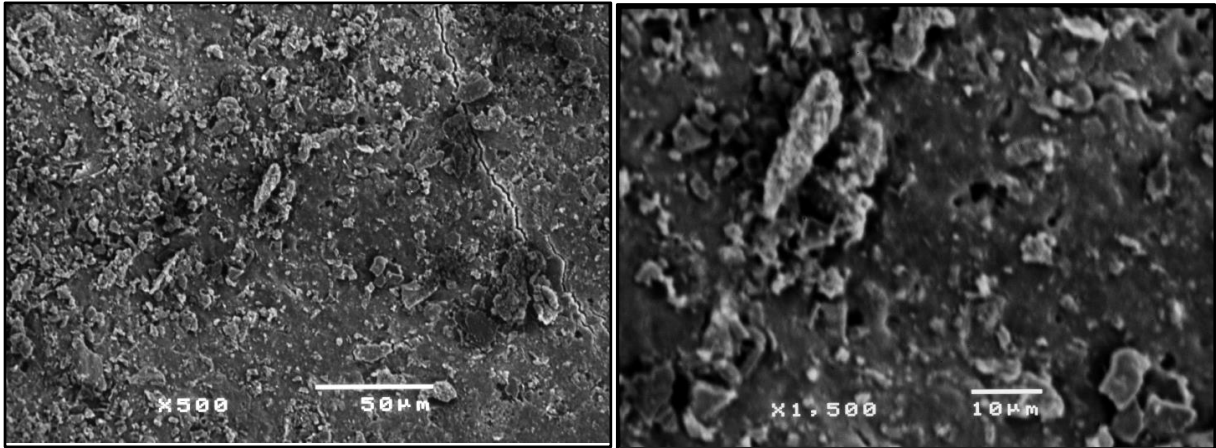


Figura 43. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste. Extensas zonas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita o que haya estimulado un proceso de remineralización. Pocas microporosidades en la superficie.

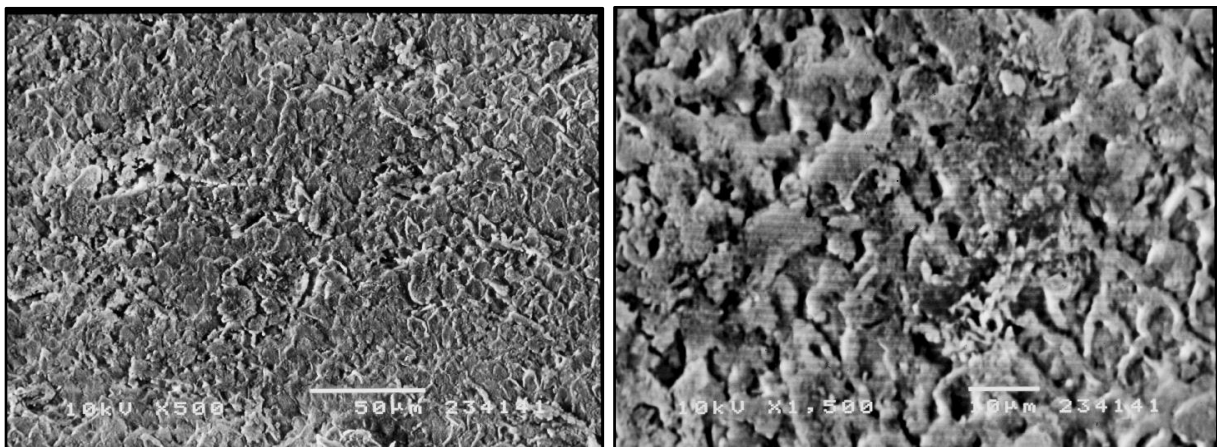


Figura 44. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste. Áreas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita o que haya estimulado un proceso de remineralización, sin embargo también hay presencia de microporosidades pero no es un patrón uniforme de grabado.

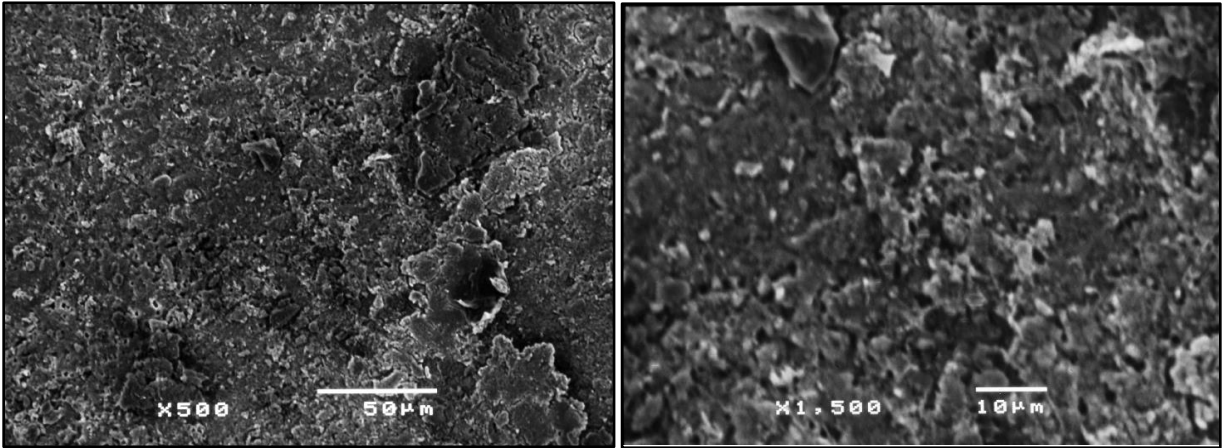


Figura 45. Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo A3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Extensas zonas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita o que haya estimulado un proceso de remineralización, por ende un cierre de los poros. Además hay presencia de microporosidades.

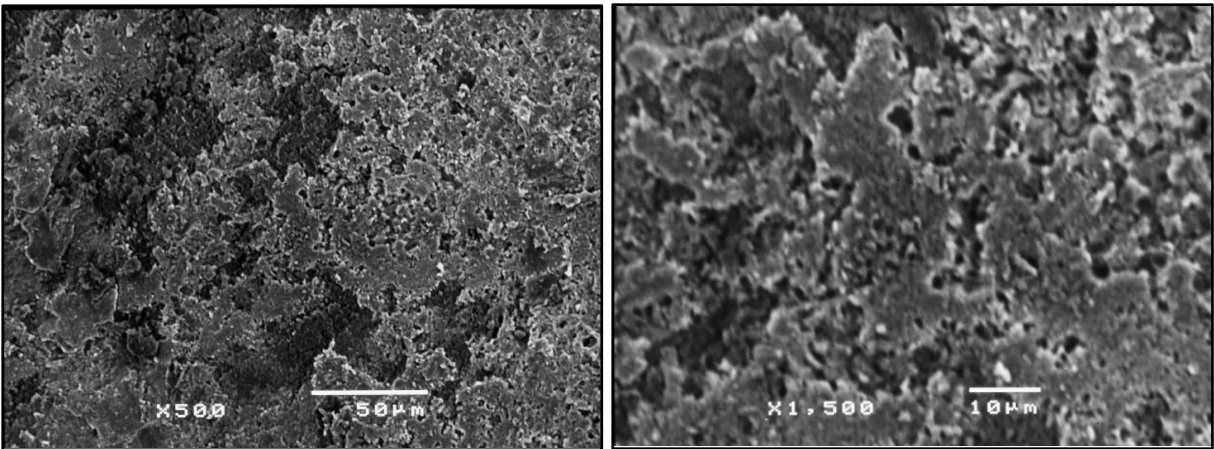


Figura 46. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Extensas zonas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita o que haya estimulado un proceso de remineralización, por ende un cierre de los poros. Poca presencia de microporosidades.

Por otro lado, en el grupo B (premolares sometidos a proceso de desmineralización seguido de la cementación de un bracket metálico rigiéndose al protocolo de adhesión) transcurridos los 6 días de haber estado sumergidos en las soluciones de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** en sus distintas concentraciones, se pudo observar bajo el MEB que en la zona donde fue cementado el bracket (centro de la corona clínica) permanecían las microporosidades o en su defecto estaban cubiertas de lo que podría ser el material adhesivo o no fueron debidamente grabadas por la irregularidad del esmalte, lo que puede indicar que en esa área no hubo acción de las nanopartículas de HA (Figuras 47-52).

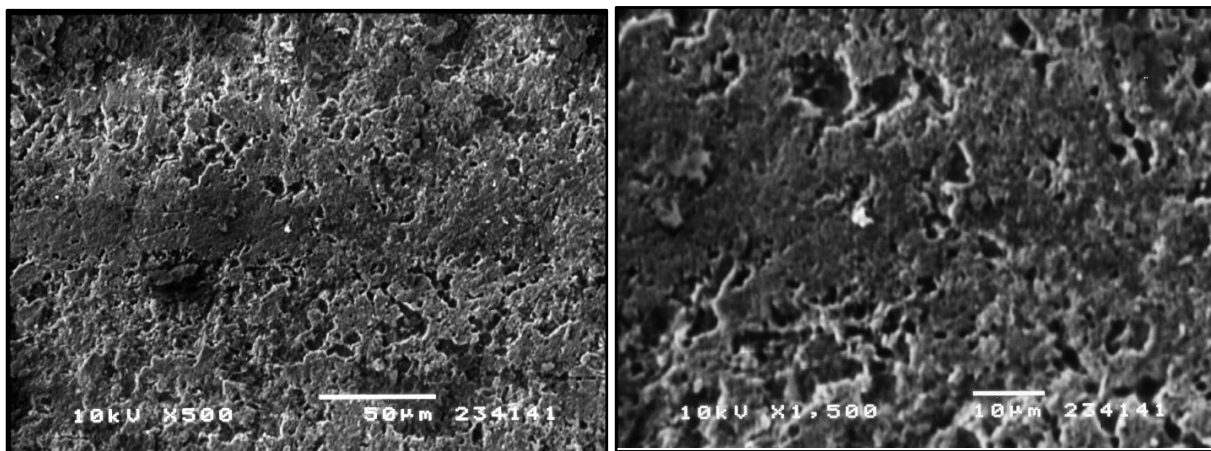


Figura 47. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste. Presencia irregular de microporosidades en la superficie del esmalte y áreas aparentemente lisas que pudieron no ser grabadas adecuadamente o en su defecto están cubiertas por material adhesivo.

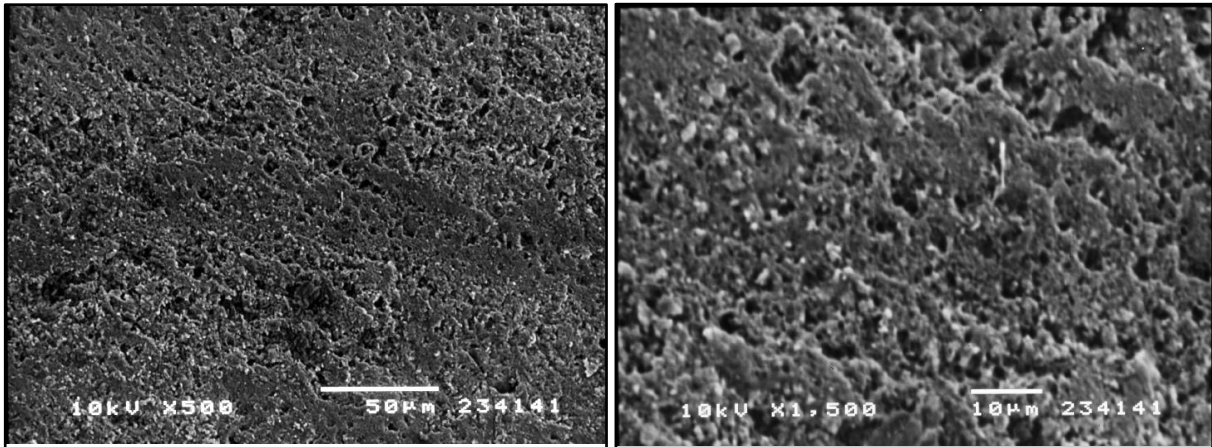


Figura 48. Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B1 (6 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM-CarePaste. Presencia irregular de microporosidades en la superficie del esmalte y áreas aparentemente lisas que pudieron no ser grabadas adecuadamente o en su defecto están cubiertas por material adhesivo.

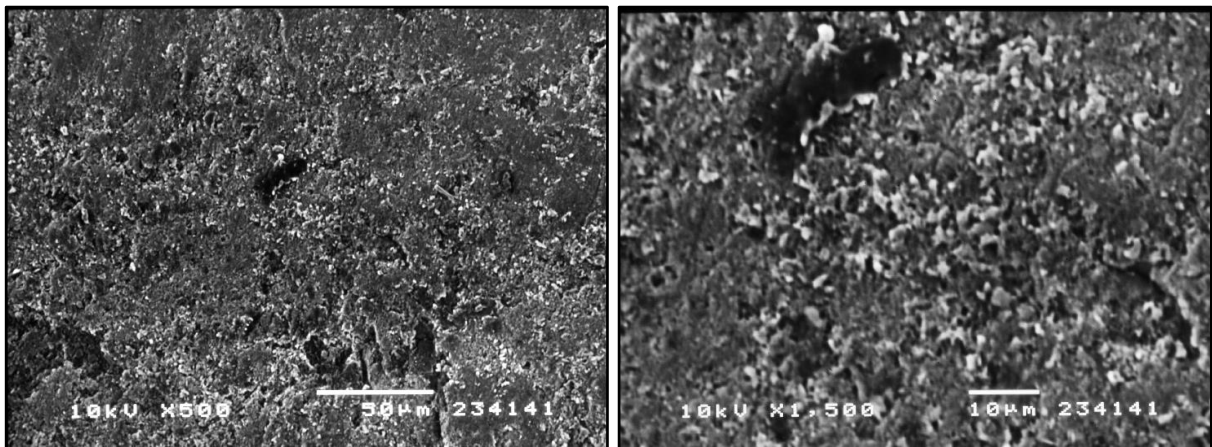


Figura 49. Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM-CarePaste. Presencia irregular de microporosidades en la superficie del esmalte y áreas aparentemente lisas que pudieron no ser grabadas adecuadamente o en su defecto están cubiertas por material adhesivo.

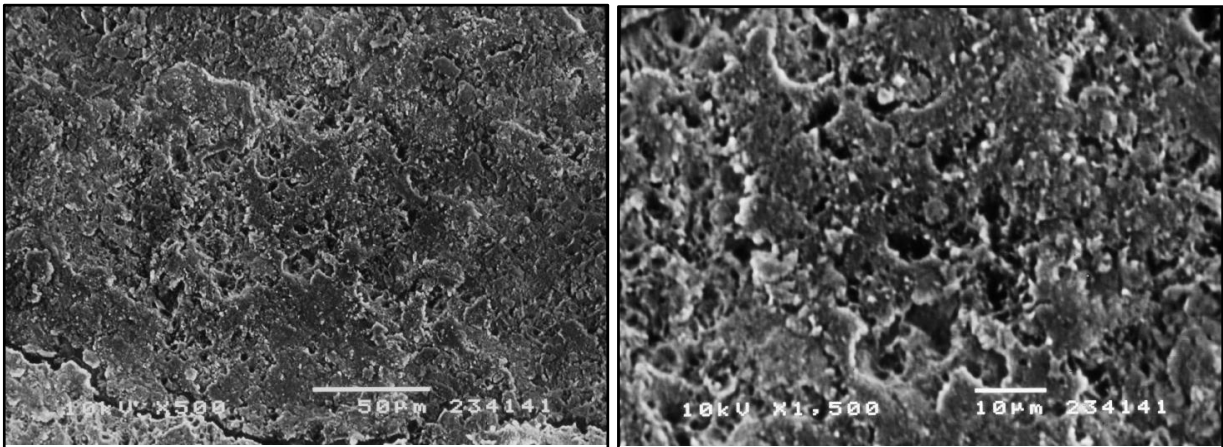


Figura 50. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo B2 (6 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste. Presencia irregular de microporosidades en la superficie del esmalte y áreas aparentemente lisas que pudieron no ser grabadas adecuadamente o en su defecto están cubiertas por material adhesivo.

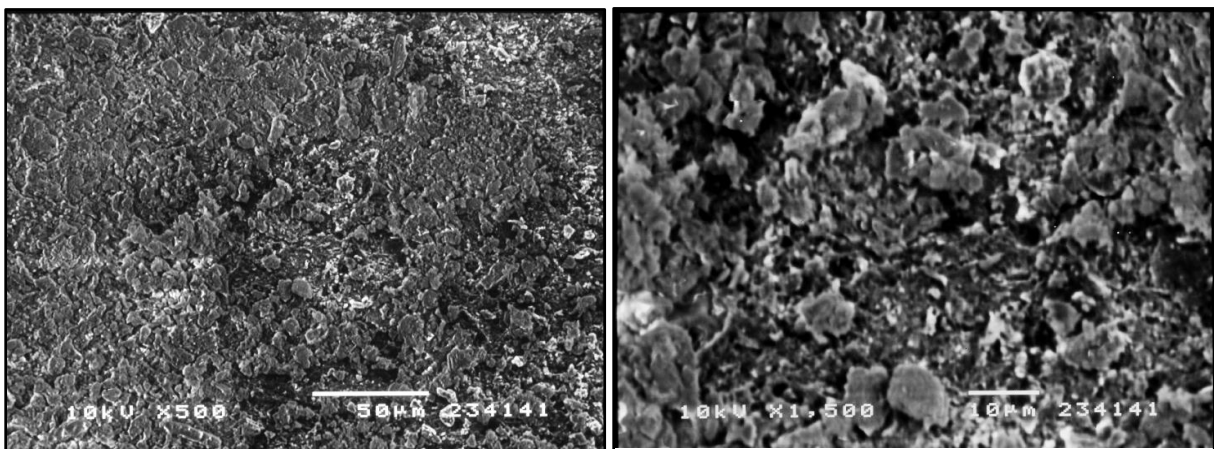


Figura 51. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Presencia irregular de microporosidades en la superficie del esmalte, al igual que áreas aparentemente cubiertas por algún tipo de material que podría ser el adhesivo.

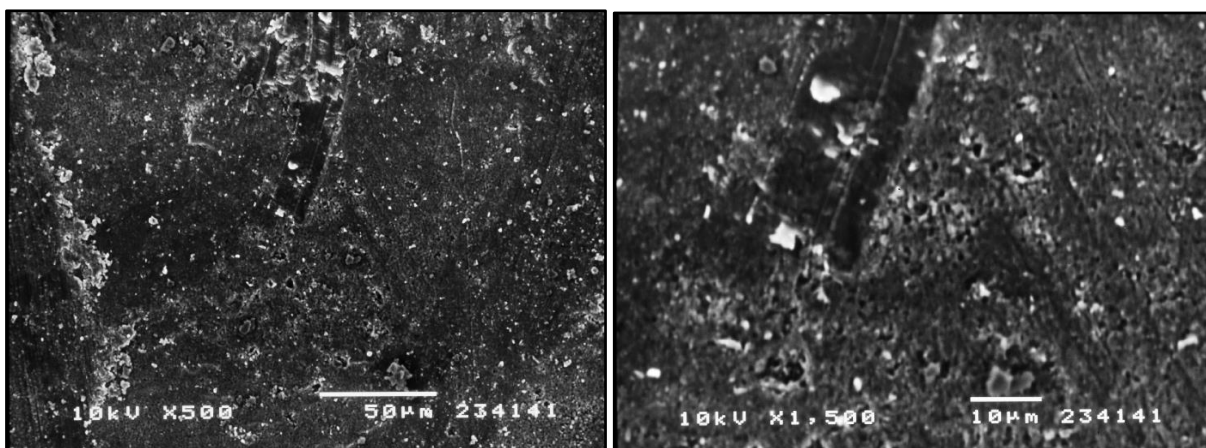


Figura 52. Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B3 (6 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Presencia irregular de microporosidades en la superficie del esmalte, y en su mayoría hay áreas aparentemente cubiertas por material adhesivo. Además podemos observar irregularidad en la superficie del esmalte de los restos adhesivos dejados al momento de la remoción de la resina, luego del descementado del bracket.

Tras la interpretación subjetiva del análisis de las micro-fotografías de la superficie del esmalte realizado a través del MEB del grupo A (premolares desmineralizados con grabado ácido) habiendo transcurrido 12 días sumergido dentro de la solución de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** a las diferentes concentraciones, se puede indicar que las soluciones de tratamiento al 5% y 10% crearon mayores zonas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita, dejando muy pocas superficies con microporosidades; por lo que se podría pensar que hubo una remineralización del esmalte a través del depósito de las nanopartículas regularmente en la estructura celular del esmalte desmineralizado dando la apariencia de formar nuevas capas superficiales. Además las micro-fotografías de las muestras al 15% revelaron que si bien hubo varias zonas cubiertas por las soluciones de tratamiento, tal vez estimulando la remineralización del esmalte, aún se pueden observar áreas de microporosidades (Figuras 53-58).

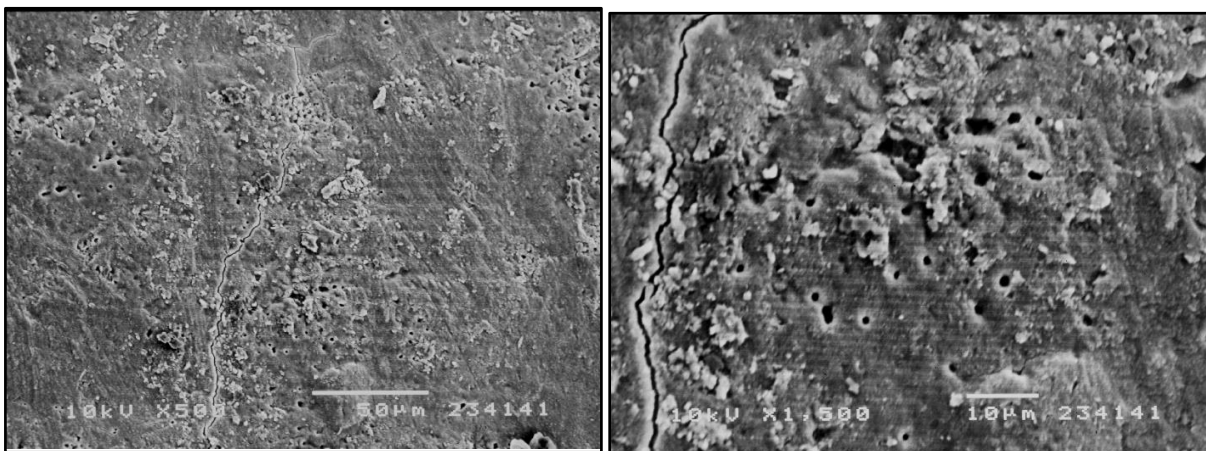


Figura 53. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de amplias zonas lisas, probablemente por la acción de las nanopartículas de hidroxiapatita que han estimulado un proceso de remineralización del esmalte. Además hay presencia de pocas microporosidades irregulares de diferente diámetro.

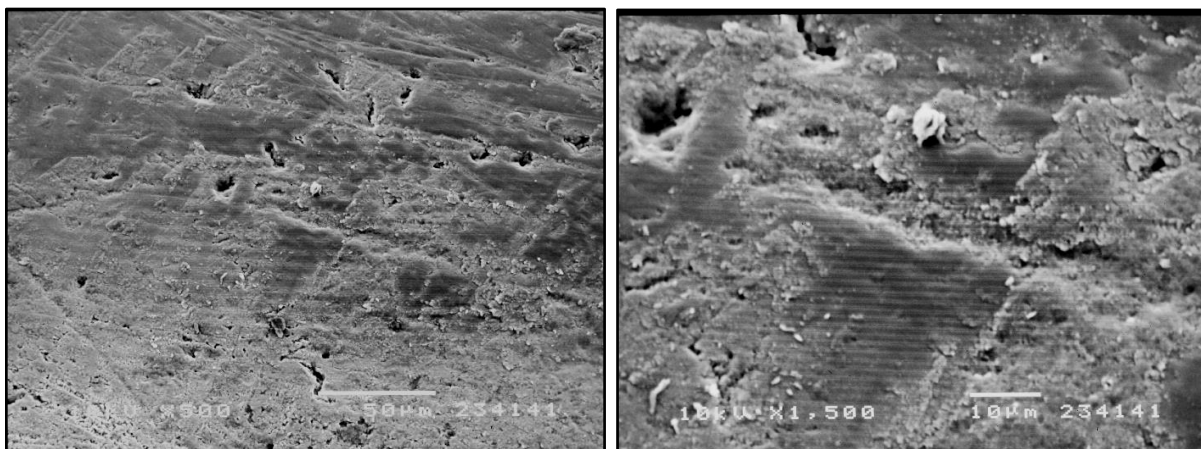


Figura 54. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de amplias zonas lisas, probablemente por la acción de las nanopartículas de hidroxiapatita que han estimulado un proceso de remineralización del esmalte. Las estrías de Retzius son visibles y hay presencia de pocas microporosidades irregulares de diferente diámetro.

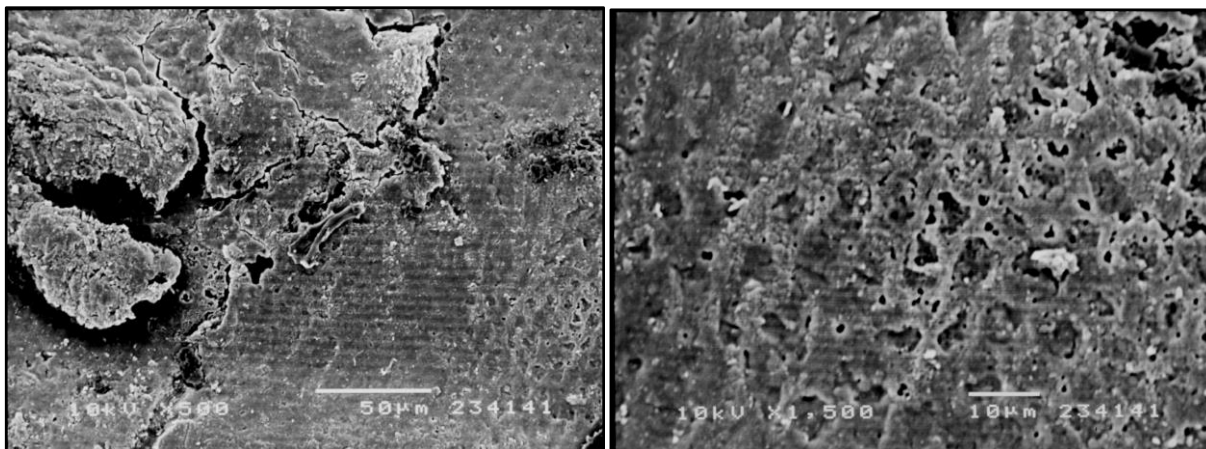


Figura 55. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de amplias zonas lisas, probablemente por la acción de las nanopartículas de hidroxiapatita que han estimulado un proceso de remineralización del esmalte. Las microporosidades aparentan desvanecerse o sellarse con el uso de este material.

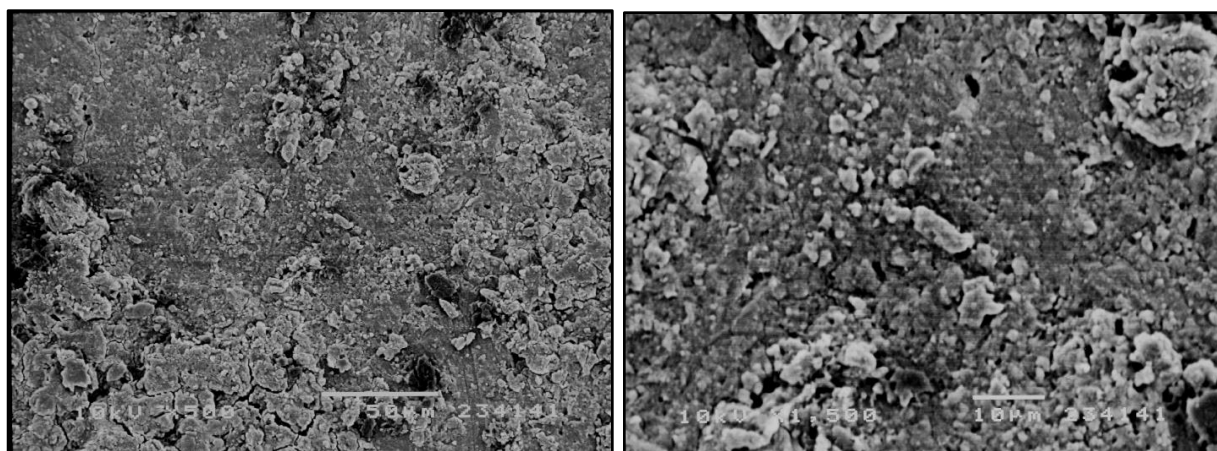


Figura 56. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de extensas zonas lisas, probablemente cubiertas por la acción de las nanopartículas de hidroxiapatita que a pudo haber estimulado la remineralización del esmalte. Las microporosidades aparentan sellarse con el este material.

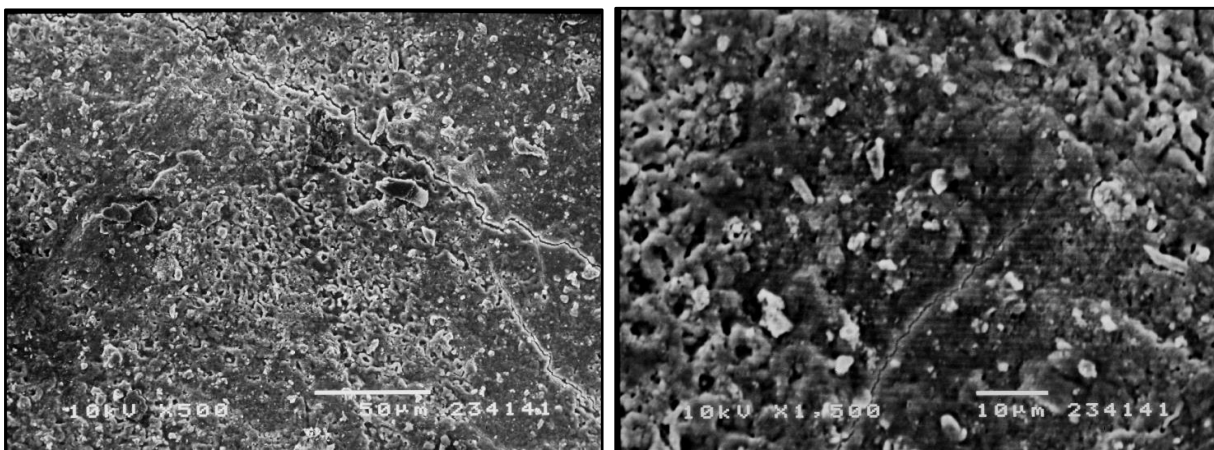


Figura 57. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo A3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de zonas lisas, probablemente cubiertas por la acción de las nanopartículas de hidroxiapatita que pudo haber estimulado la remineralización del esmalte. De igual manera hay microporosidades irregulares en diámetro presentes en la superficie del esmalte.

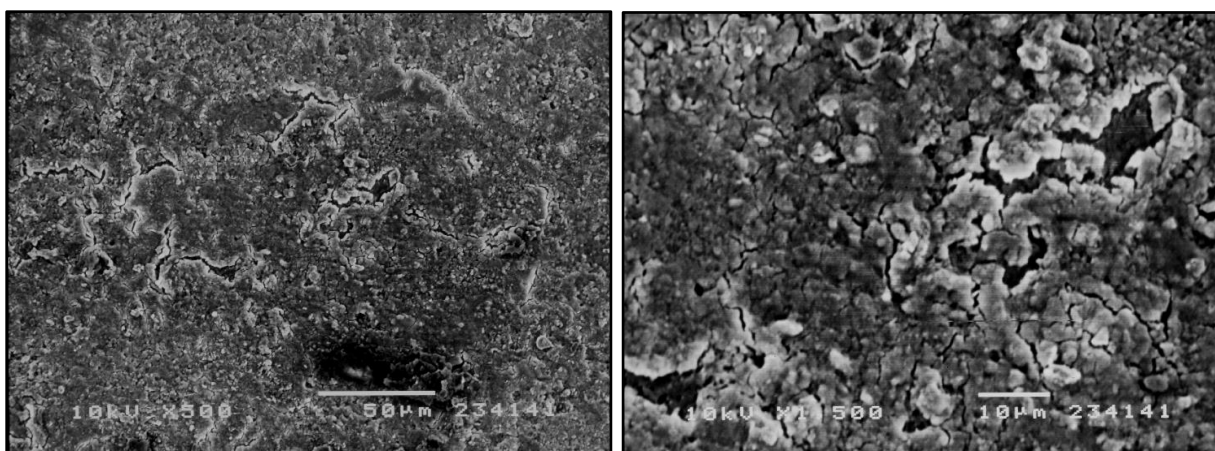


Figura 58. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo A3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de zonas lisas, probablemente cubiertas por la acción de las nanopartículas de hidroxiapatita que pudo haber estimulado la remineralización del esmalte. De igual manera hay microporosidades irregulares en diámetro presentes en la superficie del esmalte.

Al analizar las microfotografías del grupo B obtenidas bajo el MEB (premolares sometidos a proceso de desmineralización seguido de la cementación de un bracket metálico rigiéndose al protocolo de adhesión) transcurridos 12 días de haber estado sumergidos en las soluciones de tratamiento de **nanoXIM•CarePaste** en sus distintas concentraciones 5%, 10% y 15%, bajo el MEB, se pudo observar que en la zona donde fue cementado el bracket (centro de la corona clínica) permanecían las microporosidades o estaban cubiertas lo que podría ser residuos de material adhesivo o no fueron debidamente grabadas por la irregularidad del esmalte, lo que sugiere que debajo del área donde estuvo colocado el bracket no hubo acción de las nanopartículas de hidroxiapatita. (Figuras 59-64)

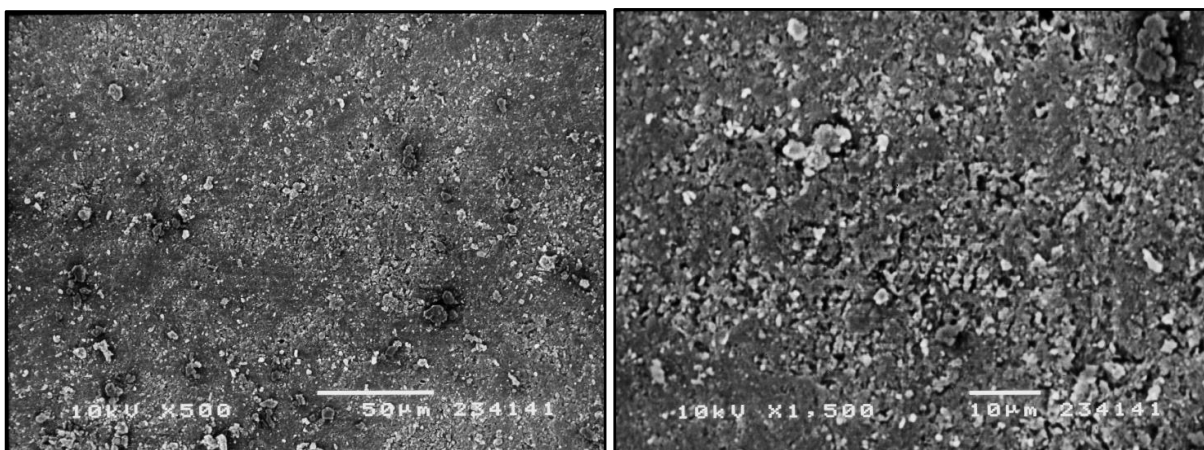


Figura 59. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de zonas lisas, probablemente cubiertas por residuos de material adhesivo, además de presencia de microporosidades; superficie irregular, no se ven las estrías de retzius propias del esmalte.

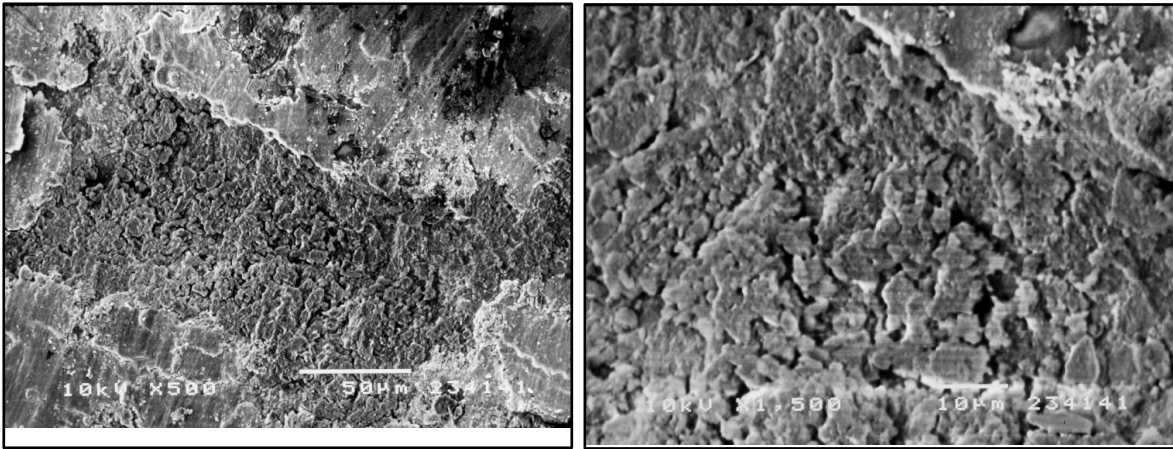


Figura 60. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo B1 (12 días) en solución de tratamiento al 5% de nanoXIM•CarePaste. Superficie irregular del esmalte, con microporosidades y residuos de algún material probablemente de adhesivo.

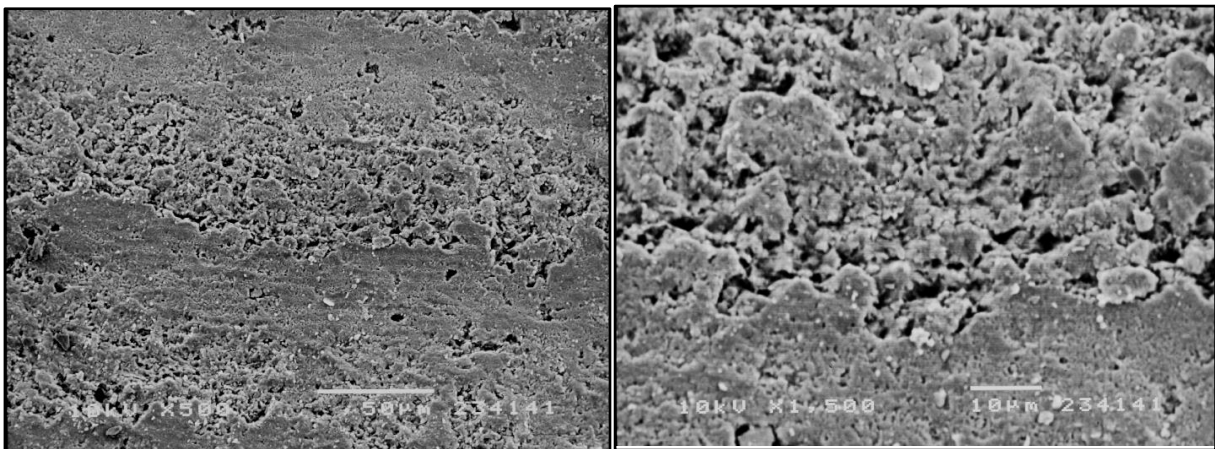


Figura 61. Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste. Presencia de amplias zonas con microporsidades creadas por el grabado ácido. Además presencia de zonas lisas con estrías de retzius propias del esmalte, posiblemente por falta de grabado ácido en esas áreas por irregularidad del esmalte.

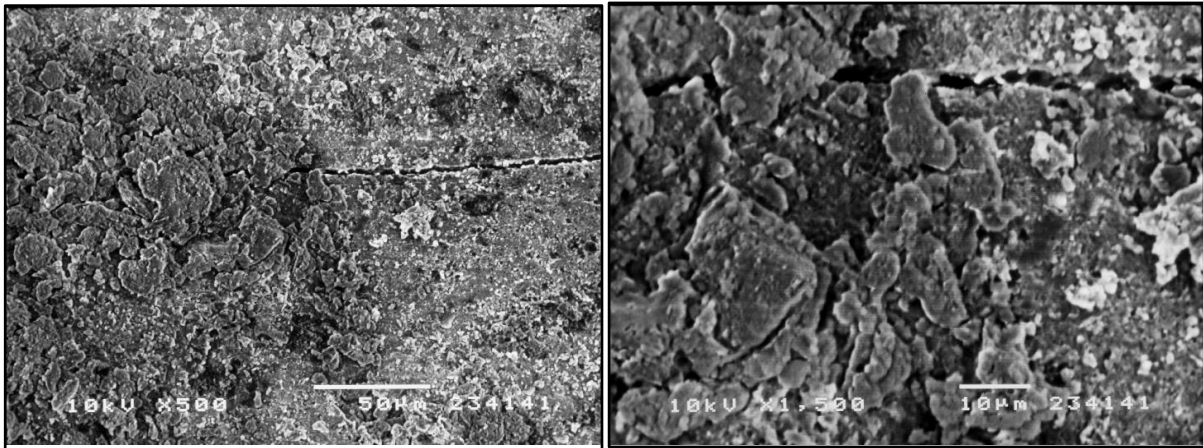


Figura 62. Micro-fotografías muestra # 3 de subgrupo B2 (12 días) en solución de tratamiento al 10% de nanoXIM•CarePaste. Superficie irregular del esmalte, con microporosidades, residuos de algún material probablemente de adhesivo; además de una microfisura visible en el esmalte, probablemente ocasionada al momento del descementado del bracket.

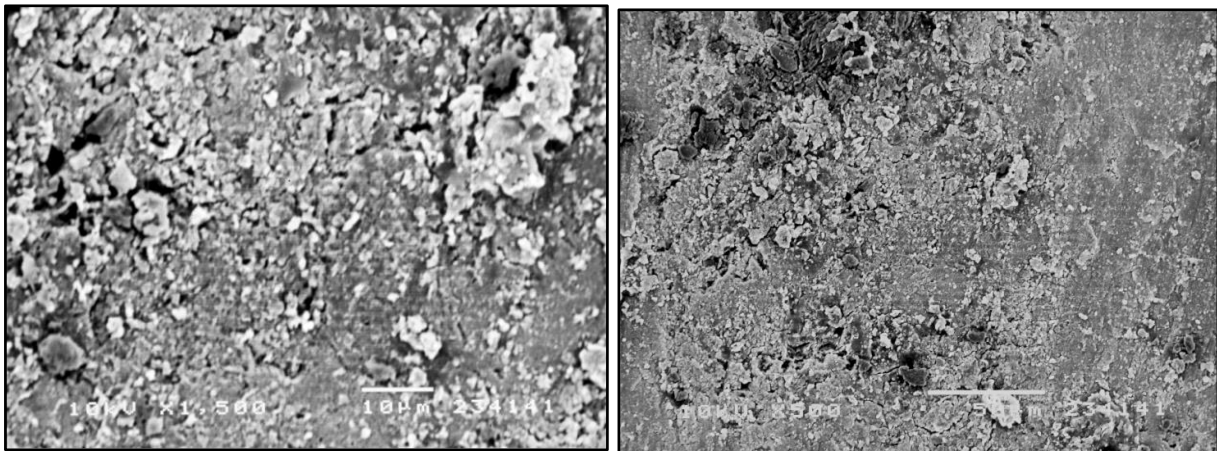


Figura 63. Micro-fotografías muestra # 1 de subgrupo B3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Superficie irregular del esmalte, con microporosidades y zonas lisas cubiertas por un material, probablemente residuos de adhesivo dejados al momento de la remoción.

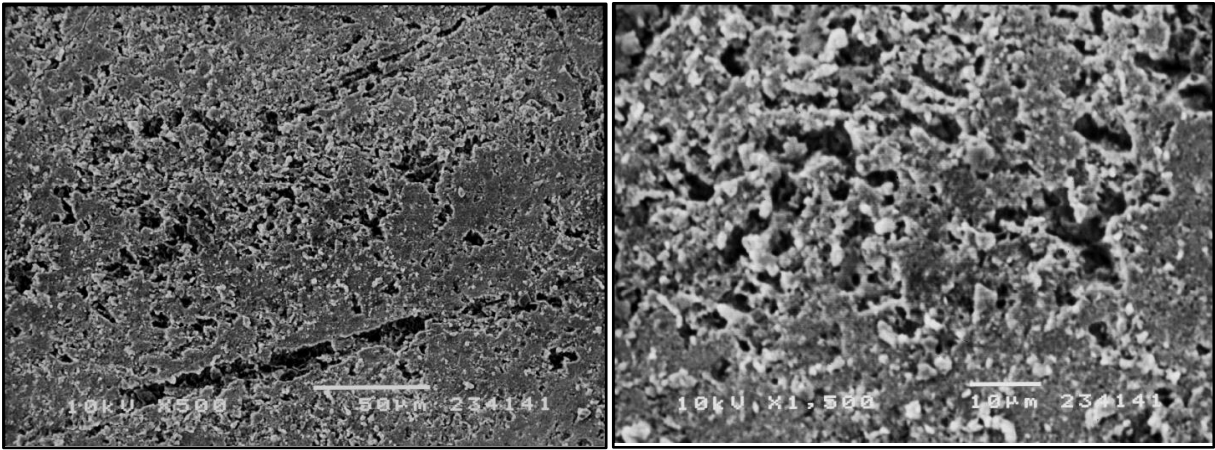


Figura 64. Micro-fotografías muestra # 2 de subgrupo B3 (12 días) en solución de tratamiento al 15% de nanoXIM•CarePaste. Superficie irregular del esmalte, con muchas microporosidades y zonas lisas entre estos microporos cubiertas por un material, probablemente residuos de adhesivo dejados al momento de la remoción.

5. DISCUSIÓN

Una de las mayores desventajas del tratamiento de ortodoncia es la consecuente desmineralización que ocurre en el esmalte dental, no sólo por el grabado ácido que se le realiza a la superficie previo a la cementación de los brackets, sino por la eliminación de ácidos orgánicos producidos principalmente por el aumento de SM que se adhieren con mayor facilidad en los restos de adhesivo alrededor del bracket, así como en la aparatología que se emplea como brackets, arcos, y módulos elásticos dificultándose la higiene dental (Ahn, B., & Lee, 2010) (Ritcher, Arruda, & Peters, 2011).

Esta desmineralización la podemos observar en formas de manchas blancas que se establecen a partir de las 4 semanas de la colocación de la aparatología, siendo los pacientes con tratamiento de ortodoncia más susceptibles al desarrollo de estas lesiones que aquellos que no siguen este tipo de terapia (Guzman-Armstrong, Chalmers, & Warren, 2010) (Chapman, Roberts, Eckert, Kula, & González-Cabezas, 2010).

La saliva puede actuar como un regulador natural para neutralizar el pH ácido oral y evitar la desmineralización, pero a su vez, desde hace muchos años, se han empleado varios productos orales con el fin de remineralizar estas superficies adamantinas debilitadas empleando barnices fluorados, xilitol, RECALDENT™, entre otros.

Si bien se ha demostrado los beneficios del uso de RECALDENT™ en la remineralización del esmalte (Fuenmayor, 2013) , existe otro compuesto que está siendo ampliamente usado en el campo de la biomedicina, principalmente en el área de odontología como son las nanopartículas de hidroxiapatita, que además están siendo empleadas como compuestos de dentríficos (Agrawal, Singh, Puri, & Prakash, 2011) (Kowalyszyn, Silva, & Torres, 2013).

La hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) es un biomaterial cristalino e inorgánico, no metálico, formado por átomos de calcio, fósforo, e hidrógeno que se encuentra formando parte del hueso y del esmalte dentario confiriéndole su dureza. Es debido a su alta biocompatibilidad con el hueso y esmalte dental por su semejanza química y estructural que lo están empleando para la regeneración de los tejidos duros (García-Garduño & Reyes-Gasga, 2006). En odontología se lo emplea en la remineralización de caries temprana en el esmalte (Huang, Gao, & Yu, 2009), además de que promueve la remineralización de esmalte y dentina (Tschoppe, Zandim, Martus, & Kielbassa, 2011).

El presente estudio buscó evaluar a través del MEB los efectos de las partículas de nano-hidroxiapatita (**nanoXIM•CarePaste**) en el esmalte dental desmineralizado aplicándolo en concentraciones del 5%, 10% y 15% en premolares superiores e inferiores, extraídos por razones ortodóncicas, con y sin brackets metálicos adheridos a ellos, para confirmar si este compuesto puede ser empleado en la práctica ortodóncica como prevención y tratamiento de las lesiones de manchas

blancas en la superficie dentaria, ya que ciertos tratamientos de ortodoncia culminan con dientes alineados y en buena oclusión, pero debilitados estructural y estéticamente.

Dentro del análisis subjetivo realizado a través de las micro-fotografías obtenidas, se evaluó la superficie del esmalte a una magnificación de X500 y X1500, observando sus características topográficas como áreas con microporosidades, áreas lisas aparentemente sanas o remineralizadas, residuos de materiales, así como un sellado de los microporos provocado por el grabado ácido al que fueron sometidas las muestras.

Mediante la observación de la topografía de la superficie del esmalte a través del MEB del grupo A (premolares desmineralizados con grabado ácido) habiendo sumergido las muestras durante 6 y 12 días en solución de tratamiento de nanoXIM•CarePaste a concentraciones del 5%, 10% y 15%, se pudo determinar que la solución de tratamiento al 10% creó mayores zonas cubiertas por las nanopartículas de hidroxiapatita, dejando pocas superficies porosas, lo que indicaría una remineralización del esmalte.

De igual manera, la solución de tratamiento de nanoXIM•CarePaste al 5% tuvo acción remineralizadora del esmalte en el grupo A, pero únicamente en la muestra que fue sometida a tratamiento de inmersión en esta solución durante 12 días, pues

en la que sólo fue sometida a tratamiento de inmersión durante 6 días se observaron áreas bastante porosas del esmalte.

Respecto al grupo B, el análisis al MEB de los especímenes tratados con las tres concentraciones de solución de tratamiento de nanoXIM•CarePaste sugiere que no hubo cambios debajo del bracket realizados por la acción de nanopartículas de hidroxiapatita, ya que en la mayoría de muestras se observaron microporosidades en esa zona, además de residuos de algún material compatible en este caso con restos de adhesivo.

Al comparar las micro-fotografías del grupo A habiendo transcurrido 6 y 12 días de estar sumergidas las muestras dentro de las diferentes soluciones de tratamiento de nanoXIM•CarePaste, se puede concluir que a mayor tiempo de exposición de este compuesto a la superficie del esmalte, mayor es el sellado de las microporosidades, y por ende se presenta una mayor remineralización del tejido adamantino. En las microfotografías se observa una disminución en la cantidad de zonas porosas, así como de las depresiones observadas en un esmalte grabado.

Una forma de cuantificar la remineralización del esmalte, es someter las muestras a un MEB que determine porcentajes de calcio, fósforo y oxígeno; o en su defecto analizar por medio de un microdurómetro los porcentajes de microdureza del tejido adamantino. En este estudio, debido a las características del MEB utilizado, no

se pudo complementar el análisis subjetivo de las micro- fotografías con la evaluación cuantitativa de la remineralización del esmalte.

Huang et al, realizaron un estudio sobre la acción de nanopartículas de hidroxiapatita en distintas concentraciones en lesiones iniciales del esmalte, analizando la microdureza de la superficie empleando dientes bovinos. Este estudio concluyó que una concentración del 10% de nano-hidroxiapatita puede ser óptimo para la remineralización de caries temprana del esmalte (Huang, Gao, & Yu, 2009).

Así mismo, Najibfard en su estudio concluye un que un dentífrico de nanopartículas de HA causó remineralización comparable a un dentífrico con fluoruro, además de inhibir el desarrollo de caries, por lo que sugiere que un dentífrico nano-HA puede ser una alternativa eficaz a la pasta dental con fluoruro (Najibfard, Ramalingam, Chedjieu, & Amaechi, 2011).

Lili et al, realizaron un estudio experimental in vitro empleando nano-HA con un tamaño de 20 nm compartiendo características similares al esmalte dental para comprobar las ventajas de este nanomaterial. Concluyeron que este compuesto puede ser utilizado como un agente eficaz de reparación del tejido adamantino así como agente de prevención de caries (Li, Pan, Tao, & Xu, 2008).

Estos resultados coinciden con los resultados obtenidos en este estudio a partir de las características topográficas observadas en el MEB, que revela que

nanoXIM•CarePaste tiene poder remineralizante en el tejido adamantino sellando las microporosidades mediante el depósito de estas nanopartículas en la estructura celular del esmalte desmineralizado dando la apariencia de formar nuevas capas superficiales, promoviendo así la remineralización.

6. CONCLUSIONES

En las condiciones en la que este estudio de investigación fue realizado y mediante un análisis subjetivo de las micro-fotografías tomadas con el MEB, se puede concluir que:

- La hipótesis de este estudio fue comprobada, las nanopartículas de hidroxiapatita (**nanoXIM•CarePaste**) tienen poder remineralizante en esmaltes dentales desmineralizados.
- Una concentración al 10% de nanopartículas de hidroxiapatita puede ser óptimo para lograr remineralización de manchas blancas en el esmalte dental.
- A mayor tiempo de exposición de las nanopartículas de hidroxiapatita a la superficie adamantina, mayor es el sellado de las microporosidades, por ende promoverá una mayor remineralización del tejido adamantino.
- No hay acción de nanopartículas de hidroxiapatita debajo del bracket, ya que en la mayoría de muestras se observaron microporosidades, además de residuos de material adhesivo.

- Luego de descementar la aparatología ortodóncica pueden quedar residuos de los materiales adhesivos, que si no son removidos adecuadamente será una superficie que fomente la acumulación de bacterias, y por ende una posterior desmineralización.

7. RECOMENDACIONES

- Realizar este mismo estudio pero sometiendo las muestras a un MEB que determine porcentajes de calcio, fósforo y oxígeno existentes.
- Complementar este estudio con otro en el cual se someta a los dientes, tras la remoción de los brackets, al tratamiento con distintas concentraciones de nano-hidroxiapatita.
- Se puede realizar una valoración adicional de las muestras mediante un microdurómetro que indique porcentajes de microdureza del tejido adamantino.
- Realizar estudios empleando dentríficos que contengan nanopartículas de hidroxiapatita y observar su efecto en manchas blancas.
- Realizar grabado del esmalte solamente en el área donde será colocado posteriormente el bracket para evitar desmineralización innecesaria del esmalte.
- Recomendar a pacientes ortodóncicos con tendencia a presentar manchas blancas, el uso de dentríficos que contengan hidroxiapatita en su composición.
- Realizar una valoración clínica rutinaria previa al tratamiento de ortodoncia de la incidencia de lesiones de mancha blanca para fomentar primero su

remineralización antes de la colocación de la aparatología; en caso de que existieran.

- Entregar a cada paciente una hoja donde se detalle las recomendaciones en higiene y prevención oral para así evitar lesiones de manchas blancas; como es el empleo de colutorios y un adecuado uso hilo dental en una rutina diaria de limpieza oral, además de los dentríficos fluorados o con hidroxapatita.
- Indicar a los pacientes que recibirán tratamiento de ortodoncia la desventaja de presentar lesiones de manchas blancas durante o después del tratamiento si es que no se siguen los consejos en el cuidado oral y hacer constar este riesgo en el consentimiento informado.
- Las clínicas dentales deben tener un protocolo de profilaxis dentales periódicas y motivación constante en el tema de aseo oral riguroso para prevenir lesiones como las manchas blancas a causa de acumulación de placa bacteriana alrededor de los brackets.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrawal, K., Singh, G., Puri, D., & Prakash, S. (2011). Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite Powder by Sol-Gel Method for Biomedical Application. *Journal of Minerals & Materials Characterization & Engineering*, Vol. 10, No.8, pp.727-734.
- Ahn, S., B., L., & Lee, S. (2010). Surface characteristics of orthodontic adhesives and effects on streptococcal adhesion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 137, 489-95.
- Alessandri, G. Z. (2011). Evaluation of enamel surfaces after bracket debonding: An in-vivo study with scanning electron microscopy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 140:696-702.
- Amano, Y., & Díaz, L. (2012). *Introducción a la MICROSCOPIA ELECTRÓNICA PRINCIPIOS-APLICACIONES*. Guayaquil-Ecuador.
- Amerise, C., Delgado, A. M., Meheris, H., Santana, M., & Domínguez, F. V. (2005). Análisis Cualitativo y Cuantitativo de las laminillas del esmalte dental humano. *Revista Dental de Chile*, 96 (3): 26-29.
- Aparecido, J., & Andaló, L. (2009). Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? *Braz Oral Res*, 23(Spec Iss 1), 23-30.
- bdulmawjood, A., Ahmed, M., & Al- Saleem, N. (2012). Al-Rafidain Dent J. *Prevalence of "White Spots" Around Orthodontic Brackets: A Clinical Study.*, 12(2), 371-377.
- Bechtle, S., Habelitz, S., Klocke, A., Fett, T., & Schneider, G. A. (2010). The Fracture Behaviour of Dental Enamel. *BIOMATERIALS* , 375-384.
- Benhan, S., Arruda, A., González-Cabezas, C., & Sohn, W. P. (2010). In-vitro evaluation of various treatments to prevent demineralization next to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 138, 712.e1-712.e7.
- Bolívar, D. H., Zúñiga, C. F., Ortiz, P., López, D., & Baquero, C. (s.f.). Frecuencia de asimetrías maxilomandibulares en una muestra de radiografías panorámicas de pacientes pediátricos. *Revista de Estomatología*, 27 - 35.
- Buonocore, M. G. (Dec de 1955). A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *J Dent Res*, 34 (6), 849-53.

- Cantín, M., Salgado, G., Inzunza, O., Inostroza, V., Errázuriz, M. J., & Fuentes, C. P. (2013). Evaluación Morfométrica Directa de la Asimetría. *International journal of Morphology*, 1401 - 1406.
- Carpena Lopes, G., Greenhalgh Thys, D., & Klauss, P. (January de 2007). Enamel Acid Etching: A review. *Compendium Universidade Federal de Santa Catarina*, 28, 662-669.
- Castellanos, J., Marín Gallón, L., Úsuga Vacca, M., Castiblanco Rubio, G., & Martignon Biermann, S. (2013). La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Univ Odontol.*, 32(69): 49-59.
- Chapman, J., Roberts, E., Eckert, G., Kula, L., & González-Cabezas, C. (2010). Risk factors for incidence and severity of white spot lesions during treatment with fixed orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 138:188-94.
- Chase, S. W. (1948). THE DEVELOPMENT, HISTOLOGY, AND PHYSIOLOGY OF ENAMEL AND DENTIN--THEIR SIGNIFICANCE TO THE CARIES PROCESS. *Journal Of Dental Research*, 27(1), 87-95.
- Chen, H., Liu, X., Dai, J., Jiang, Z., Guo, T., & Ding, Y. (2013). Effect of remineralizing agents on white spot lesions after orthodontic treatment: A systematic review. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 143, 376-82.
- Chetty, A., Wepener, I., Marei, M. K., El Kamary, Y., & Moussa, R. M. (2013). *HYDROXYAPATITE: SYNTHESIS, PROPERTIES, AND APPLICATIONS*. Nova Biomedical.
- Contreras, C. I. (2009). *FUNDAMENTOS PARA LA EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO, DESARROLLO Y FUNCIÓN CRANEOFACIAL*. Colombia.
- Enaia, M., Bock, N., & Rufc, S. (2011). White-spot lesions during multibracket appliance treatment: A challenge for clinical excellence. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 140:e17-e24.
- Evans, R., & Oliver, R. (1991). Orthodontic bonding using glass ionomer cements: an in-vitro study. *European Journal of Orthodontics*, 13, 493 –500.
- Fuenmayor, G. (2013). ESTUDIO IN VITRO DEL GRADO DE LIBERACIÓN DE CALCIO CON EL USO DE RECALDENT “MI PASTE” Y “MI PASTE PLUS” EN DIENTES DESMINERALIZADOS. *Repositorio digital USFQ*.

- Fuentes, R., Engelke, W., Bustos, L., Oporto, G., Borie, E., Sandoval, P., y otros. (2011). Reliability of two techniques for measuring condylar asymmetry with X-Rays. *International journal of Morphology*, 694-701.
- Galil, K., & Wright, G. (1979). Acid Etching Patterns on Buccal Surfaces of Permanent Teeth. *PEDIATRIC DENTISTRY*, Vol.1, No.4.230-234.
- García-Garduño, M. V., & Reyes-Gasga, J. (2006). La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 9(2):90-95.
- Garre, R. N. (2006). *ESTUDIO MEDIANTE MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO DE LOS EFECTOS PRODUCIDOS POR COCA COLA® Y SCHWEPPE® LIMÓN EN EL ESMALTE Y SCHWEPPE® LIMÓN EN EL ESMALTE NTACTO Y EN EL ESMALTE GRABADO Y SELLADO CON UNA RESINA ORTODÓNICA*. MURCIA.
- Ghiz, M., Ngan, P., Kao, E., Martin, C., & Gunel, E. (2009). Effects of sealant and self-etching primer on enamel decalcification. Part II: An in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 135, 206-13.
- Gómez de Ferraris, M., & Campos Muñoz, A. (2002). *Histología y embriología bucodental*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
- Guzman-Armstrong, S., Chalmers, J., & Warren, J. (2010). White spot lesions: Prevention and treatment . *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 138 (6) , pp. 690-696. .
- Hemagaran, G., & Neelakantan, P. (2014). Remineralization of the Tooth Structure - The Future of Dentistry. *International Journal of PharmTech Research*, Vol.6, No.2, pp 487-493.
- Huang, G., Roloff-Chiang, B., Mills, B., & al., e. (2013). Effectiveness of MI Paste Plus and PreviDent fluoride varnish for treatment of white spot lesions: A randomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 143, 31-41.
- Huang, S., Gao, S., & Yu, H. (2009). Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed. Mater.* 4 , 034104 (6pp).
- Hueb de Menezes, M., & Paes Torres, C. (2010). Microstructure and Mineral Composition of Dental. *Microsc. Res. Tech.*, 73, 572–577.
- Joubert, H. R. (2010). *Odontología Adhesiva y Estética*. Editorial Ripano.

- Kitada, K., de Toledo, A., & Oho, T. (2009). Increase in detectable opportunistic bacteria in the oral cavity of orthodontic patients. *Int J Dent Hyg.*, 7(2):121-5.
- Knosel, M., Bojes, M., Jung, K., & Ziebolz, D. (2012). Increased susceptibility for white spot lesions by surplus orthodontic etching exceeding bracket base area. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 141:574-82.
- Kowalyszyn, K., Silva, A., & Torres, Q. (2013). La hidroxiapatita como biomaterial para la reconstrucción de rebordes alveolares. *Rev Venez Invest Odont IADR*, 1(1):62-71.
- Li, L., Pan, H., Tao, J., & Xu, X. (2008). Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *J. Mater. Chem.*, 18, 4079–4084.
- Lynch, C. D., O'Sullivan, V. R., Dockery, P., McGillycuddy, C., & Sloan, A. J. (2010). Hunter-Schreger Band patterns in human tooth enamel. *J Anat.*, 217(2): 106–115.
- Maaitah, E., Adeyemi, A., Higham, S., Pender, N., & Harrison, J. (2011). (2011) Factors affecting demineralization during orthodontic treatment: A Post-hoc analysis RCT recruits. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 139, 181-91.
- Martínez, D. M. (2013). *La ortopantomografía en el diagnóstico de la simetría mandibular en niños en dentición mixta con y sin mordida cruzada*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid.
- Maxfield, B., Hamdan, A., Tufekc, E., Shroff, B., Best, A., & Lindauerf, S. (2012). Development of white spot lesions during orthodontic treatment: Perceptions of patients, parents, orthodontists, and general dentists. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 141:337-44.
- Mayne, R., Cochrane, N., Cai, F., Woods, M., & Reynolds, E. (2011). In-vitro study of the effect of casein phosphopeptide amorphous calcium fluoride phosphate on iatrogenic damage to enamel during orthodontic adhesive removal. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 139, e543-e551.
- Mizrahi, E. (1982). Enamel demineralization following orthodontic treatment. *Am J Orthod*, 82:62-7.
- MJ, P. C., & G, P. G. (2009). Prevalencia de asimetrías faciales usando el análisis panorámico de Levandoski. *Revista Odontológica Mexicana*, 13(2), 99 - 104.
- Moradian-Oldak, J. (1 de Jun de 2012). Protein-mediated enamel mineralization. *Front Biosci* 2012 Jun 1; 17: 1996-2023, 17, 1996-2023.

- Moreno-Gómez, F., Ortiz-Salazar, M., & Mejía-Pavony, C. (2013). Métodos de separación y técnicas de observación microscópica de la unión amelodentinaria: revisión sistemática de la literatura. *Univ Odontol.*, 32(69): 19-34.
- Najibfard, K., Ramalingam, K., Chedjieu, I., & Amaechi, B. (2011). Remineralization of Early Caries by a Nano-Hydroxyapatite Dentifrice. *J Clin Dent*, Vol. 22 No. 5.
- Palamara, J., Phakey, P., Rachinger, W., & Orams, H. (1989). Ultrastructure of spindles and tufts in human dental enamel. *Adv Dent Res.* , 3(2):249-57.
- Pires, E. M. (Junio de 2013). Effect of the Nanohydroxyapatite Formulation NanoXIM•HAp102® on the Proliferation and Osteogenic Differentiation of Human Bone Mesenchymal Stem Cells. *Dissertation performed under the Integrated Master in Bioengineering- Biomedical Engineering*. Porto, Portugal.
- Reyes-Gasga, J. (2013). Observación del esmalte dental humano con microscopía electrónica. *Tamé*, 1(3): 90-96.
- Richter, A., Arruda, A., Peters, M., & Sohn, W. (2011). Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* , 139: 657-64.
- Risnes, S. (1985). Circumferential continuity of perikymata in human dental enamel investigated by scanning electron microscopy. *Scand J Dent Res*, 93:185-91.
- Ritcher, A., Arruda, A., & Peters, M. S. (2011). Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 139, :657-64.
- Robertson, M., How Kau, C., English, J., Lee, R., Powers, J., & Nguyenf, J. (2011). MI Paste Plus to prevent demineralization in orthodontic patients: A prospectiverandomized controlled trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 140:660-8.
- Sargison, A. E., McCabe, J., & Millett, D. T. (June de 1996). A laboratory Investigation to Compare Enamel Preparation by Sandblasting or Acid Etching Prior to Bracket Bonding. *J. Orthod.*, 26, 141-146.
- Sevillano, D. M. (2008). *Prevalencia de cefaleas y su relación con asimetrías faciales macroscópicas en niños de 6 a 13 años*. Lima, Perú.

- Silverstone, L., Saxton, C. D., & Fejerskov, O. (1975). Variation in the Pattern of Acid Etching of Human Dental Enamel Examined by Scanning Electron Microscopy. *Caries Res* , 9:373–387.
- Tanevitch, A., Durso, G., Batista, S., Abal, A., Llompert, G., Llompert, J., y otros. (2013). Microestructura del esmalte en dientes deciduos: Los tipos de esmalte y la resistencia a la abrasión. *U.N.R. Journal*, 1713-1718.
- Tschoppe, P., Zandim, D., Martus, P., & Kielbassa, A. (2011). Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *Journal of Dentistry* 39 , 430-437.
- Uysal, T., Amasyali, M., Ozcan, S., & Koyuturk, A. S. (2011). Effect of antibacterial monomer-containing adhesive on enamel desmineralization around orthodontic brackets: An in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 139, 650-6.
- Xiaoke Lia, J. W. (2014). The remineralisation of enamel: a review of the literature. *Journal of dentistry* 42s1 , s12–s20.