Nº MARC
67009
R. 17291

T
B826P
2011

Universidad de Valparaíso
Chile

Escuela de Odontología

PENETRABILIDAD DE UNA RESINA EN LESIONES ARTIFICIALES DE ESMALTE LUEGO DE LA ACCIÓN DE UN AGENTE DESPROTEINIZANTE (NaOCl Al 5,25%)

UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
BIBLIOTECA Y RECURSOS PARA EL APRENDIZAJE
ODONTOLOGIA
CHILE

Trabajo de Investigación
Requisito para Optar al
Título de Cirujano - Dentista

Alumnos: Pamela Bravo Acevedo
Rodrigo Morales Tapia
Alejandra Romero Cousiño

Docente Guía: Prof. Dr. Santiago Gómez Soler
Universidad de Valparaíso

Prof. Dr. Alejandro Oyarzún Droguett
Universidad Finis Terrae

Valparaíso - Chile
2011

Agradecimientos:

En las siguientes paginas queremos agradecer a : Dios , Familiares , profesores y amigos que nos ayudaron , acompañaron y apoyaron a llevar a cabo este proyecto...

Agradecimientos:

Ante todo agradecerle a Dios, a mis padres, a mi familia y a mi pololo por el apoyo incondicional que me brindaron en todo este proceso, a mis amigos tesistas Alejandra Romero y Rodrigo Morales, con los cuales hemos compartido grandes momentos debido a esta tesis y que ha sacado lo mejor de nosotros y ha fortalecido nuestra amistad dándonos la oportunidad de conocernos mejor, ya que cada viaje sirvió no tan sólo para conversar sobre la tesis en sí sino para tener ratos muy agradables donde compartir.

Gracias a los dos grandes doctores que nos acompañaron durante esta travesía, Dr. Santiago Gómez y Dr. Alejandro Oyarzún, que compartieron sin egoísmo alguno sus conocimientos, siendo grandes docentes y no tan sólo eso, sino que grandes personas, gracias a ustedes el proceso de realizar esta tesis se hizo muy enriquecedor.

Dr. Gómez muchas gracias por darnos siempre una buena acogida en su hogar al igual que su esposa Dra. Webber, donde pudimos conocer a una integrante más de su familia, Bernie. Me encantó que pudiéramos conocer más de usted en uno de los viajes que realizamos a Santiago.

Dr. Oyarzún gracias por tomarnos a nosotros como uno más de sus alumnos, por pasar hasta tarde con nosotros en su laboratorio, en el cual podíamos ver que se daba una dinámica muy diferente a la que habíamos visto en otras partes. Que llegaban alumnos a saludarlo por la particular forma que tiene usted de ser, esa forma de atraer a los jóvenes con su cordialidad y atención.

Además a todas las personas que nos colaboraron en la realización de nuestra tesis tanto en la obtención de los dientes, muchas gracias tío Enrique, y a la facultad de Química y Farmacia de la Universidad Valparaíso por prestarnos su horno para realizar nuestras lesiones.

También agradecer a docentes de la Universidad Finis Terrae que nos acogieron como uno más, gracias Gaby, Etienne, Javi, Pato, Chris, Gloria, que hicieron que tuviéramos ansias de volver en un próximo viaje a trabajar en lo nuestro y compartir con ustedes.

Gracias a todos los que colaboraron de distintas maneras en esta tesis, especialmente a mis muy buenos amigos Fabiola Quiñones, Carlos Marchant por revisar con nosotros en varias ocasiones nuestra tesis, por alentarnos en este proceso. Gracias Carito y Miguel por recibirnos tan cordialmente en su hogar y disfrutar junto a ustedes de actividades recreativas. Gracias a los cuatro por su amistad.

Pamela Bravo Acevedo

Agradecimientos

En realidad todas las cosas, todos los acontecimientos, para quien sabe leerlos con profundidad encierran un mensaje que, en definitiva, remite a Dios"
(Juan Pablo II)

Me siento bendecido por Dios al presentar hoy esta Tesis. Ello fue posible primero, porque, me regaló el talento y premió el esfuerzo que realicé para lograr esta primera meta: la tan anhelada Tesis..... Luego me acercó a las personas y dispuso de los medios que necesitaría para entregarles hoy el fruto de este trabajo.

Nada de esto hubiera sido posible si no hubiera contado con el cariño de mis padres, hermanos: Gabriel y Paulina de quienes recibí su incondicional apoyo. Los valores y la formación recibida de su parte, sin duda, me acompañaron en estos 7 años. Agradezco a Loreto por el amor, cariño y comprensión que recibí durante todo este tiempo

No puedo dejar de manifestar mi gratitud al doctor Santiago Gómez por su confianza, su paciencia, su cariño paternal, su rigurosidad y pasión por la investigación; al doctor Alejandro Oyarzún también por su gran paciencia, alegría especial, apoyo incondicional, conocimiento y entrega para todos quienes quieren aprender. Ambos comparten la virtud que destaca a los grandes hombres; su humildad, sencillez y entrega hacia sus estudiantes.

Como dejar de agradecer a mis amigas Alejandra por su dedicación, constancia, apoyo, fuerza, espíritu y lucha durante estos 7 años de carrera.... a Pamela por su disposición, perfeccionismo, ánimo y solidaridad..... Sin ellas este proyecto no hubiera sido lo mismo.

Y no podría dejar de mencionar a Carlos Marchant, amigo incondicional que siempre estuvo ahí en las buenas y en las malas, a Carolina Pardo, Pauly Lara, Fabiola Rojas, la cátedra de preventiva ,profesora Silvia Bonilla, Tía Paty, Daniel Moraga, la profesora Guillermina Tapia, la Dra Weber y los "beagles" de la universidad Finis Terrae

Además de agradecer a todos aquellos que indirectamente nos ayudaron a llevar este proyecto adelante...

Rodrigo Morales Tapia

Agradecimientos

Primero que todo, a Dios, por haberme dado la vida y la oportunidad de estudiar y finalizar esta hermosa carrera.

A mis papás, Miguel y Alejandra, que me acompañaron, guiaron, aconsejaron y apoyaron en todas las decisiones y en cada paso que dí, entregándome siempre su cariño incondicional.

A mis hermanos, Miguel, Pili, Magda y José Ignacio, que celebraron y se alegraron con cada éxito y alegría que obtuve durante este periodo.

A Francisco por su apoyo, cariño, paciencia y comprensión, que me dio fuerzas para seguir adelante en todo momento.

A mi familia, mis tías y mis abuelas, que se alegraron conmigo y más de una vez rezaron por mí.

A mis amigos universitarios; Carito, Carlos, Fabi, Vicky, Fernando, que con su amistad incondicional y su apoyo constante pudimos llevar este proyecto a buen término.

Al Dr., Santiago Gómez y la Dra., Adriana Weber, quienes nos abrieron las puertas de su casa, nos acogieron como parte de su familia y nos guiaron en todo momento con su excelente espíritu docente.

A la Cátedra de Odontología Preventiva, docentes y ayudantes, quienes nos animaron, ayudaron y guiaron durante toda la carrera, y en especial durante el desarrollo de esta tesis.

Al Dr., Alejandro Oyarzún, por su excelente disposición al prestarnos las dependencias de su universidad, ayudarnos con el desarrollo de toda la tesis y brindarnos un lugar acogedor y ambiente agradable en su laboratorio. A todo su equipo de "beagles" y "leones", quienes hicieron de nuestro trabajo un momento alegre y llevadero.

A la Facultad de Química y Farmacia, Tía Paty, Daniel y profe Silvia, quienes con la mejor disposición, nos entregaron parte de su tiempo, cariño y su laboratorio para facilitar el desarrollo de nuestro trabajo.

Por último, pero no menos importante, agradezco a mis queridísimos amigos y co-autores, Rodrigo y Pamela, simplemente por ser mis amigos, por estar ahí siempre, por entregarse por enteros a este trabajo, por los viajes a Santiago, y por hacer de esta experiencia tan importante para el término de esta larga carrera, un momento alegre y llevadero, donde lo más importante fue siempre mantener nuestra amistad y la alegría que a cada uno nos caracteriza.

Alejandra Romero Cousiño

Índice

I Introducción 1
II Marco teórico 3
1. Esmalte 3
1.1 Propiedades físicas 3
1.2 Composición química 3
1.3 Estructura histológica 4
2. Saliva 5
3. Sellantes 6
3.1 Composición 6
3.2 Sellantes terapéuticos 7
3.3 Técnica de aplicación de sellantes 9
3.4 Técnica de aplicación de infiltrantes 10
3.5 Características de la técnica de infiltración 10
3.6 Penetrabilidad de los sellantes 10
4. Acción del hipoclorito de sodio como desproteinizante 11
III Objetivos e hipótesis 13
IV Materiales y método 14
1. Diseño de Investigación 14
2. Universo y Muestra 14
3. Criterios de selección 15
4. Recolección de datos 15
4.1. Variables 15
4.1.1. Definiciones conceptuales y operacionales 15
5. Desarrollo del estudio piloto 16
6. Desarrollo del estudio experimental 18
6.1. Delimitación de áreas de lesiones 18
6.2. Ciclo de desmineralización 19
6.3. Ciclo de remineralización 19
6.4. Ciclo de proteinización de las lesiones artificiales 20
6.5. Aleatorización de las lesiones proteinizadas 20
6.6. Procedimiento de sellado de lesiones 20
6.7. Corte y procesamiento de las muestras 21
6.8. Observación al microscopio 22
6.9. Procesamiento de las imágenes 23
6.10. Análisis computarizado de las superposición de imágenes digitalizada 23
7. Análisis estadístico 24
V Resultados 25
VI Discusión 35
VII Limitaciones y sugerencias del estudio 39
VIII Conclusiones 40
IX Resumen 41
X Bibliografía 42
XI Anexos 46

Introducción

Durante las últimas décadas, la odontología ha avanzado en diversos ámbitos: desde el conocimiento acerca de la etiología de muchas enfermedades hasta el desarrollo de altas tecnologías que permiten el tratamiento de las múltiples patologías que presenta la población y la restitución de la salud bucal en todo sentido.

En este campo de desarrollo, una nueva disciplina también ha ido surgiendo, que es lo que se conoce como “Odontología mínimamente invasiva”, la cual hace referencia a la mínima intervención y a la máxima conservación del tejido dentario que sea posible, en especial frente al proceso de la caries dental. (Kielbassa et al., 2009)

Pese a todos los avances realizados y a los descubrimientos en relación a su etiopatogenia, la caries dental continúa siendo un problema de salud pública a nivel mundial. Sin embargo, ahora es posible determinar quienes presentan mayor susceptibilidad a la caries y además diagnosticarla en etapas tempranas, lo que se conoce como “*lesiones de esmalte*”. El diagnóstico de estas lesiones permite un tratamiento precoz del proceso de caries, la prevención de que se genere un nuevo proceso y por lo tanto un mejor pronóstico para la persona en relación a la conservación de tejido dentario y al compromiso que ésta debe asumir para mantener su salud bucal (Longbottom et al., 2009).

No obstante lo anterior, las lesiones que se desarrollan en las caras proximales aún generan un cuestionamiento en relación a su manejo. En la última década, se ha visto que un 50% de la población mayor de 21 años presenta lesiones proximales y el desafío que se plantea, es en relación a su mejor forma de tratamiento o control. (Kielbassa et al., 2009).

Existen variadas alternativas de manejo no invasivo, las cuales han sido de alto interés para la comunidad científica. Estas varían entre las técnicas convencionales, la higiene con seda dental y la aplicación tópica de fluoruros, las cuales no siempre han dado buenos resultados La alternativa que hoy en día está siendo muy investigada es la aplicación de una resina fluida en la lesión proximal, ya sea por sellado terapéutico o por infiltración con excelentes resultados en cuanto a la detención de la progresión de la lesión. (Gómez et al., 2005, 2007 y 2008; Martignon et al., 2006 y 2010; Paris et al., 2011;Meyer- Lueckel et al.,2011; Kim et al., 2011)

El problema de una resina fluida en una lesión es que ésta no posee gran penetrabilidad. Se supone que las proteínas de la saliva, obstruirían, por una parte la difusión de ella.(Hara & Zero, 2010; McDonald et al., 2010) y por otra, estarían interfiriendo en un adecuado grabado ácido (Espinosa et al., 2010; Justus et al., 2010)

Por lo tanto, se han creado técnicas de infiltrado que permitirían aumentar la difusión del sellante en el interior de la lesión, cumpliendo así con el objetivo de detener su progresión. Sin embargo, éstas técnicas son erosivas, ya que eliminan

alrededor de 100 µm de tejido dentario con el propósito de retirar todo el material orgánico que pudiese estar interfiriendo en la penetración de la resina (Paris & Meyer-Lueckel, 2010).

La relevancia del presente estudio radica en la búsqueda de nuevas soluciones menos invasivas, agregando a la técnica convencional de sellantes terapéuticos proximales (Gómez et al.,2007), el uso de un agente desproteinizante, cuyo objetivo sería eliminar las proteínas de la saliva y restos orgánicos que obstruyen los poros superficiales de las lesiones, aumentando así la penetrabilidad de la resina selladora, sin la necesidad de erosionar la zona superficial de la lesión.

Por razones metodológicas, la siguiente experiencia se realizará en lesiones artificiales, dejando para futuras investigaciones su aplicabilidad en lesiones naturales cuyos resultados, de ser positivos, conducirían a su uso clínico.

Marco Teórico

1. El esmalte o tejido adamantino

Es el tejido de recubrimiento que presenta el diente en su porción coronaria, brindándole protección y seguridad al componente interno de éste formado por el sistema dentino-pulpar.

Se caracteriza por estar formado por millones de prismas o varillas extremadamente mineralizadas, lo que le da su característica de dureza. Estos recorren un espesor que va desde el límite amelodentinario a la superficie externa del diente. (Gómez de Ferraris & Campos, 2009)

Dentro de sus características podemos observar:

1.-Embriológicamente deriva del ectodermo.
2.-La matriz inorgánica es proteica y sin colágeno
3.-Los cristales de hidroxiapatita están densamente empaquetados.
4.-Los cristales son solubles a la acción de ácidos.
5.-El esmalte maduro no se regenera.
6.-El esmalte pierde sus células generadoras al erupcionar el diente.
7.-Frente a una noxa, el esmalte reacciona con pérdida de sustancia sin reparación.

1.1 Propiedades físicas del esmalte

Dentro de los tejidos dentarios el esmalte tiene las siguientes propiedades físicas

- Dureza
- Elasticidad
- Color y transparencia
- Radioopacidad

1.2 Composición química del esmalte

Básicamente, el esmalte esta compuesto por: una matriz inorgánica (96%), agua (3%) y una matriz orgánica (0,36-1%). La matriz inorgánica está formada principalmente por cristales de hidroxiapatita los que se encuentran constituidos por fosfato de calcio.

-Matriz orgánica: Es un componente importante y esta formado por compuestos proteicos (no colagénicos). Presenta 4 tipos diferentes de proteínas:

- Amelogeninas
- Enamelinas
- Ameloblastinas
- Tuftelinas

-Matriz inorgánica: Está formado por fosfato y carbonato. Estas sales se depositan en la matriz del esmalte dando lugar rápidamente a un proceso de cristalización que transforma la masa mineral en cristales de hidroxiapatita.

Los iones de flúor pueden sustituir a los grupos hidroxilos en el cristal de hidroxiapatita y transformarlo en cristales de flúorhidroxiapatita, lo que lo hace más resistente y menos soluble a la acción acidogénica del biofilm y por ende más resistente a la producción de caries.

Los cristales de sales son más grandes en el esmalte que los que presentan la dentina y el tejido óseo. Estos pueden alcanzar una longitud de 100 – 1000 µm, con una anchura de 30-70 µm y una altura de 10-40 µm, los cuales tienen morfología hexagonal elongado.

Con independencia de la forma externa de los cristales de apatita, éstos están formados por unidades llamadas “células o celdillas unitarias” que son unidades básicas de asociación iónica de sales minerales en el seno del cristal. Estas celdillas unitarias conforman el cristal y tienen una síntesis muy esquemática, una configuración química y cristalográfica también hexagonal, en cuyos vértices hay iones de calcio.

-Agua: Es un componente químico del esmalte que se encuentra en la periferia del cristal, participando escasamente en la estructura del esmalte.

1.3 Estructura histológica del esmalte.

Se denomina unidad estructural básica al prisma o varilla de esmalte, compuesta por cristales de hidroxiapatita. Esta forma parte de la matriz extra celular mineralizada, lo que se denomina “esmalte prismático o varillar”.

Los prismas y varillas tienen 6 µm de espesor, en promedio, que se dirige desde el límite amelo- dentinario a la superficie del diente. Su espesor es mayor que el propio espesor del esmalte porque en su inicio presenta una zona sinuosa. El diámetro varia de 4 µm – 10 µm, es menor en su punto de origen y va aumentando a medida que se acerca a la superficie. El número de prismas varía de acuerdo al tamaño de la corona pero está entre 5 – 12 millones.

Al realizar un corte horizontal, se puede observar una forma característica denominada “ojo de cerradura”. Esto permite distinguir dos zonas: la cabeza y la cola, siendo las primeras las que le dan un mayor engranaje al sistema dentario, distribuyendo mejor las fuerzas.

El material orgánico es muy escaso y se desarrolla en la periferia de la unidad estructural básica.

Las unidades estructurales están formadas por un conjunto de cristales de hidroxiapatita y presentan una orientación definida, las cuales se caracterizan porque

en su zona más central, cerca al límite amelodentinario, son sinuosas; en cambio en la superficie del esmalte, estas estructuras son más rectas. La superficie externa del esmalte se destaca por ser carente de unidades estructurales y se le conoce como “esmalte aprismático o avarillar”, el cual posee un espesor de 30 µm.

Hasta antes de llegar a oclusión, el esmalte dentario está inmerso en el medio bucal cubierto por una película primaria, a la cual, se agrega una película exógena denominada película adquirida, la que finalmente será colonizada por el biofilm dental.

2. Saliva

La saliva es una compleja mezcla de proteínas y otras moléculas que cubren con una delgada película móvil (8- 40 µm) la superficie de los dientes (Schipper & Silletti, 2007).

Está compuesta por una combinación de fluidos presentes en la cavidad oral, siendo uno de los principales componentes el agua (99.5%); le siguen proteínas (0.3%), sustancias inorgánicas y otros (0.2 %) (Schipper et al., 2007).

Dentro de los componentes orgánicos, el grupo de las proteínas esta constituido por: glicoproteínas, enzimas (alfa-amilasa, anhidrasa carbónica) , inmunoglobulinas y un amplio rango de péptidos (cystatinas, estaterinas histatinas y proteínas ricas en proteínas (PRPs)) con propiedades antimicrobianas. La fracción inorgánica contiene múltiples electrolitos (sodio, potasio cloro y bicarbonato) en una concentración que lo hace un fluido hipotónico (Schipper et al., 2007; Hara.& Zero, 2010).

Dentro de las características de sus proteínas, las glicoproteínas, constituidas por sulfato, generalmente son resistentes a la proteólisis. Por otra parte las proteínas como PRPs, histatinas y estaterinas son susceptibles a la hidrólisis enzimática.

Se puede agregar que la histatina, en estudios in vitro, es resistente a las enzimas proteolíticas debido a la alta afinidad que presenta con los cristales de hidroxiapatita. (McDonald et al., 2010)

.

3. Sellantes

El desarrollo de los sellantes de fosas y fisuras se basó en el descubrimiento de que al grabar el esmalte con ácido fosfórico, se aumentaba la retención de los materiales restaurativos de resina y se mejoraba en grado considerable la integridad marginal. A finales de 1960, se probaron varios compuestos de resina y se encontró que un material viscoso resistía la pérdida y producía una unión tenaz con el esmalte grabado, compuesto por una sucesión de monómeros de metacrilato haciendo reaccionar el bisfenol A (un compuesto aromático de tipo epoxi) con dos moléculas de metacrilato de glicilo (GMA).

3.1 Composición de los sellantes:

El material más empleado en la composición de los sellantes es la resina bis-GMA que constituye la matriz orgánica y que puede contener partículas de relleno o carga además de una parte inorgánica constituida por porcelana, vidrio y cuarzo.

-Matriz Orgánica: En la búsqueda de nuevos monómeros, en 1974, se desarrolló otro monómero, el uretano dimetacrilato (UDMA). Se trata de una molécula bifuncional como el Bis-GMA pero donde el grupo aromático se ha sustituido por una amina secundaria (NH) confiriéndole una reducción en su viscosidad. No obstante, se reduce la rigidez y aumenta la contracción de polimerización con respecto al Bis-GMA, inconvenientes muy importantes en las resinas compuestas.

Investigaciones recientes apuntan al desarrollo de monómeros de baja viscosidad que puedan acabar reemplazando al Bis-GMA, como el denominado silorano. La elevada viscosidad del Bis-GMA sigue resultando un inconveniente tanto para la incorporación de las partículas de relleno inorgánico como para su manipulación clínica. Los fabricantes, con el fin de mejorar este aspecto, incorporan otros monómeros de menor peso molecular que aumentan la fluidez de estos productos. Se conocen con el nombre de “controladores de la viscosidad”.

-Relleno Inorgánico: Llamado también fase dispersa, es un grupo de sustancias que se encuentran en la matriz orgánica en forma de partículas, filamentos o incluso fibras. Su presencia proporciona a la resina compuesta unas propiedades físicas y mecánicas muy superiores a las que presenta la resina base de manera aislada. De esta manera, las partículas de relleno proporcionan propiedades positivas. Los fabricantes tratan de incorporar un porcentaje cada vez mayor de fase dispersa mediante la combinación de partículas de tamaños distintos, sinterización, prepolimerización y centrifugación, lo que si bien es cierto, aumenta su resistencia pero disminuye su fluidez. (Tanoue et al., 2007)

3.2 Sellantes terapéuticos:

Hoy en día la conservación de los dientes y del tejido dentario es una premisa. Lo que se conoce como “principio de la odontología mínimamente invasiva” permite que la intervención restauradora sea dilatada por la mayor cantidad de tiempo posible, ya que una vez que el diente es restaurado entra en un ciclo restaurativo repetitivo, cada vez más invasivo y menos conservador, que puede ser ilustrado por estudios que muestran que el reemplazo de las restauraciones abarca del 50 al 70% de las restauraciones efectuadas en la atención de los pacientes adultos (Gómez et al., 2007).

Cuando los sellantes son utilizados como alternativa terapéutica se realizan procedimientos operatorios microconservadores los cuales fomentan la preservación de la estructura dental y no su remoción innecesaria, promoviendo así la máxima conservación de la dentina y esmalte desmineralizado. Estas restauraciones con instrumentación mínima poseen una finalidad terapéutica y una preventiva simultáneamente.

Los sellantes utilizados en conjunto con un grabado ácido en la superficie del esmalte son capaces de retardar la progresión de las lesiones incipientes interproximales de dientes posteriores, utilizándose para este fin sellantes para punto y fisura. (Gómez et al., 2007 y 2008) La aplicación clínica de estos sellantes ha demostrado que es una forma segura y efectiva de prevenir las caries de puntos y fisuras, además de ser capaz de detener caries incipiente en fisuras por más de 10 años. (Mertz – Fairhurst et al., 1998)

Un estudio de 18 meses de duración, demostró que las lesiones de esmalte interproximales progresan sólo un 22% luego de la aplicación de sellantes, en comparación al grupo control, al cual se le realizó únicamente una higiene interproximal con seda dental 3 veces por semana, donde el progreso alcanzó un 47%. (Martignon et al., 2006)

La profundidad de los tags de resina formados en las lesiones no cavitadas de esmalte luego de la aplicación de sellante de puntos y fisuras en dientes extraídos es de 6 µm de profundidad. Esta barrera física puede actuar como protección en contra de la exposición de los ácidos producidos por las bacterias en el biofilm dental, disminuyendo la actividad metabólica de la lesión cariosa, pero también puede disminuir el número de microorganismos viables en la lesión bajo el sellante. (Gómez et al., 2005)

Debido a que la progresión de las lesiones de esmalte a dentina es mayor en los dientes temporales que en los definitivos es recomendable sellarlos antes que la lesión haya progresado radiográficamente en dentina. (Ekstrand et al., 2007)

Se ha demostrado que la efectividad del sellante disminuye a través del tiempo tras una sola aplicación ya sea porque la retención no fue completa o porque se tornó deficiente. Esto podría llevar a la progresión de la lesión. (Gómez et al., 2005)

Algunos estudios demuestran que la penetración de adhesivos en lesiones de esmalte desmineralizado artificialmente inhibe la progresión de la lesión, incluso luego de repetidas desmineralizaciones. Lo que no está claro aún, es si el efecto de la inhibición de la desmineralización es causado por la penetración de la resina en los poros de esmalte o por el simple recubrimiento de la superficie con resina. En estudios *in vitro* se ha logrado demostrar que luego de retirar el exceso de resina, el sellante que infiltra los poros es capaz de inhibir la progresión de la caries. Hay que recordar que existen diferencias estructurales entre las lesiones artificiales y las naturales del esmalte. Las capas superficiales de las lesiones naturales no son homogéneas y muestran mayor grosor y contenido mineral producto de los ciclos alternados de desmineralización y remineralización presentes en la cavidad oral. Eso sí, la penetración del adhesivo, luego de dos minutos de grabado con ácido fosfórico, es sólo superficial. (Phark et al., 2009)

Parches de poliuretano:

Otro tipo de sellantes utilizados para la zona interproximal son los parches de poliuretano que no presentan la capa inhibida por el oxígeno y al estar prepolimerizados requieren de una técnica menos complicada, (Splieth et al, 2010) ya que se adhieren a la lesión actuando como una barrera de difusión.

En un estudio de 2 años en el cual se realizó un sellado con la técnica ya mencionada versus un grupo control que utilizaba seda dental y aplicación tópica de flúor, no hubo diferencias significativas en cuanto a progresión o avance de las lesiones. El seguimiento se efectuó a los 6 y 12 meses, y se realizó un control radiográfico a los 2 años. La población examinada tenía baja incidencia de caries y eran de estrato socioeconómico alto. (Splieth et al, 2010)

Infiltrantes:

Se infiltra la lesión cariosa con una resina de baja viscosidad que funciona mediante el bloqueo de la difusión de los ácidos cariogénicos logrando así la detención de ella (Paris & Meyer Lueckel, 2010).

En contraste al sellado terapéutico de la caries, donde se difunde una capa de resina superficial, en la técnica de infiltración se establece una barrera que podría llegar a fortalecer la estructura del esmalte, lo cual previene la cavitación o la ruptura de la superficie del esmalte.

Algunos estudios demuestran que la infiltración reduce la progresión de la lesión que se extiende radiográficamente en la capa interna del esmalte o en el tercio externo de la dentina comparándolo con lesiones no tratadas después de 12 a 18 meses (Phark et al., 2009). La penetración de la resina es mejorada al grabar la superficie previamente. El grabado ácido de las lesiones naturales con ácido clorhídrico al 15% por 120 segundos reduce significativamente la capa superficial e incrementa la

penetración de la resina comparada con un grabado con ácido fosfórico al 37%. (Meyer-Lueckel & Paris., 2008; Pascon et al., 2010)

Técnica:

3.3 Sellante terapéutico interproximal:

1. Para poder accede a la zona interproximal en donde se encuentran las lesiones de esmalte se debe realizar una separación temporal de los dientes con bandas ortodóncicas, las cuales se colocan en la zona del contacto proximal. Después de cinco días se remueve la banda. El espacio obtenido en la mayoría de los casos es entre 0.8 y 1 mm. Si el espacio obtenido es menor a 0.8 mm se coloca doble elástico de ortodoncia por 4 días entre los dientes obteniendo así una mejor separación.
2. La zona a tratar debe ser limpiada con piedra pómez venteada y cepillos interproximales.
3. Se debe lavar y secar con aire comprimido libre de contaminantes, teniendo aislado con tórulas de algodón o con goma dique (relativo o absoluto).
4. Se debe examinar la superficie proximal en cuanto a su color, manchado y la verificación del estado de la lesión de esmalte no cavitada (activa o detenida).
5. Se graba por 20 segundos con un gel de ácido fosfórico al 35% usando un fino pincel de pelo de marta doblado en 45°.
6. Las superficies adyacentes son protegidas del grabado por una banda adhesiva de nylon o teflón.
7. La superficie grabada luego es lavada con agua y secada por aire.
8. A continuación, se aplica un sellante de punto y fisura de baja viscosidad fotopolimerizable en una capa delgada con un fino pincel de pelo de marta.
9. Se espera por 30 segundos, luego se fotopolimeriza, mientras se realiza este proceso hay una seda dental introducida en el espacio sulcular para evitar que el sellante se deslice hacia la zona cervical.
10. Después de la polimerización el sellante es inspeccionado para verificar la total cobertura del área deseada.
11. Son removidos los excesos de sellantes con una sonda de las áreas no grabadas y los márgenes son pulidos con finas bandas de pulido si fuese necesario.

3.4 Infiltrante interproximal:

1. Se coloca goma dique para aislar.
2. Los dientes son separados en 40 µm con una cuña aplanada. El diseño de la cuña permite tener acceso a la lesión interproximal para el tratamiento. El tratamiento puede ser aplicado en la misma sesión con una mínima separación entre los dientes producida por la cuña.
3. Se inserta un dispositivo aplicador entre los dientes. El aplicador consiste en dos membranas paralelas. Una de las membranas tiene microperforaciones, que enfrenta a la lesión, y la otra cara no tiene perforaciones y enfrenta a la superficie proximal adyacente del diente. El diseño del aplicador permite proteger la superficie del diente adyacente de los materiales aplicados.
4. Se aplica un gel de ácido clorhídrico al 15% por 2 minutos para erosionar la capa superficial de la lesión.
5. Después se lava con agua, se aplica alcohol y seca con aire.
6. Luego se aplica el infiltrante. Después de 3 minutos de la aplicación, el infiltrante ha penetrado lo suficientemente profundo en la lesión.
7. El exceso del material es removido con un suave soplo de aire, para que no exista acumulación de placa o caries secundaria.
8. Se fotopolimeriza la resina y se aplica una segunda capa por 1 minuto solamente de la misma manera que la capa anterior.

3.5 Características de la técnica de infiltración

- Se utiliza acido clorhídrico al 15%, lo cual provoca una micro erosión en la zona subsuperficial del esmalte (que posee alta cantidad de minerales y compuestos orgánicos), eliminando hasta 100 µm de espesor, con el fin de lograr el acceso a la lesión y así poder infiltrarla con las resinas de alta fluidez.
- No necesita separación con goma ortodóncica.
- La resina logra penetrar en gran parte del cuerpo de la lesión debido a la eliminación de la capa superficial de ésta.

3.6. Penetrabilidad de los sellantes y compuestos adhesivos.

A partir de todos los conceptos mencionados anteriormente, se han llevado a cabo muchos estudios que pretenden mejorar la penetrabilidad de un sellante o resina en una superficie grabada. De esta forma, se respalda el concepto de proteger la estructura dentaria y prevenir el continuo desarrollo de una lesión de esmalte en una caries francamente cavitada, dentro del contexto de la odontología mínimamente invasiva.

El concepto de penetrabilidad se entiende como: “la impregnación o introducción de alguna cosa dentro de otra” (diccionario de la Real Academia de la Lengua Española). En este caso se entenderá como la introducción de una resina fluida dentro

de los poros que deja abiertos el proceso de desmineralización durante el desarrollo de la caries más el grabado ácido.

La penetrabilidad estará determinada por varios factores:

1) Capilaridad del poro
2) Humectabilidad de la resina
3) Fluidez de la resina
4) Volumen del poro

Y su comportamiento se observa en base a la ecuación de Washbun:

$D^2 = (y \cos 0 / 2_n)\ rt,$

Donde "D" es igual a la distancia recorrida por la resina
"y" es la tensión superficial de la resina.
"0" es el ángulo de contacto de la resina con el esmalte.
"n" es la viscosidad dinámica de la resina.
"r" es el radio del poro.
"t" es el tiempo de penetración (Paris & Meyer- Lueckel, 2007)

Todos los factores mencionados anteriormente están siendo estudiados, de manera de modificarlos y de esa forma lograr un aumento de penetrabilidad de las resinas en las lesiones. Por ejemplo, para aumentar el volumen del poro, se están realizando grabados ácidos con diferentes componentes para evaluar cual otorga mayor penetrabilidad a la resina compuesta. Sin embargo, el ingreso de proteínas salivales, detritus orgánico y ácido bacteriano en los poros de la misma lesión, producirían una disminución de la penetrabilidad.

4. Acción del Hipoclorito de sodio como desproteinizante.

Uno de los usos principales del hipoclorito de sodio es en endodoncia como irrigante debido a su mecanismo de acción. Este permite la limpieza de los conductos radiculares, a través de un debridamiento superficial con disolución de los tejidos y destrucción de los microorganismos (Alcira et al., 2009). Además se le reconoce propiedades desmineralizantes lo que facilitaría su difusión en los tejidos dentarios. (Oyarzún et al., 2002; Pascon et al, 2009).

El hipoclorito de sodio se descompone en hidróxido de sodio, ácido hipocloroso, cloramina e ión hidroxil. Al descomponerse en hidróxido de sodio, actúa como saponificador de los ácidos grasos, lo que reduce la tensión superficial. El ácido hipocloroso graba y neutraliza aminoácidos; la cloramina actúa inhibiendo el metabolismo celular bloqueando la acción enzimática lo que causa la ruptura en los grupos aminos (Tobon et al., 2003). Finalmente el ión hidroxil unido al calcio, desnaturaliza proteínas en la formación de $CaOH_2$.

La desproteinización que realiza el hipoclorito de sodio es mediante un mecanismo de oxidación con el cual se disuelve tejido orgánico. (Golberg et al., 2002). Esto se debe a la formación de cloraminas producto de una combinación proteica. (Arias et al., 2004)

Cuando se efectúa una limpieza con piedra pómez y grabado con ácido fosfórico al 37%, éste no es capaz de remover todo el material orgánico, ya que hay proteínas que están inmersas en los cristales que forman el esmalte. Además, hay que considerar que la acción del ácido fosfórico ocurre principalmente en tejidos mineralizados (materia inorgánica), creando principalmente grabado con un patrón tipo 3 lo cual disminuye significativamente la adhesión de los materiales al esmalte. Prueba de que no elimina todo el tejido orgánico es que al aplicarlo sobre la dentina se forma una red colágena que no es eliminada, quedando las fibras intactas.

Por lo tanto, la desproteinización con hipoclorito de sodio al 5,25% por un minuto se ha utilizado en algunos estudios previo al grabado con ácido fosfórico al 37% concluyendo que ésto crearía un mejor acondicionamiento de la superficie y logrando así un mejor patrón de grabado en la gran mayoría de los casos estudiados (Espinosa et al., 2008 y 2010) o mejorando la retención clínica de los brackets ortodóncicos (Justus et al., 2010).

Objetivos e Hipótesis

1. Hipótesis.

La eliminación del material orgánico en las lesiones artificiales aumenta la penetrabilidad de una resina selladora.

2. Objetivo General.

- Optimizar la penetrabilidad de una resina selladora en lesiones artificiales, al eliminar el material orgánico que obstaculiza su zona superficial.

3. Objetivos Específicos.

1.- Desarrollar un método para la creación de lesiones artificiales.

2.- Observar y cuantificar la penetración de una resina selladora en lesiones artificiales (medido en micrones).

3.- Evaluar la eficacia del uso de agente oxidante como elemento removedor del material orgánico que obstaculiza la zona superficial en una lesión artificial.

Materiales y Métodos

1. Diseño de Investigación.

Experimental, *in vitro,* doble ciego y aleatorio.

2. Universo y muestra.

Para este estudio, se utilizaron 20 terceros molares sanos extraídos en un lapso de un mes y mantenidos en suero fisiológico.

Determinación del tamaño de muestra.

Para la determinación de la cantidad de lesiones artificiales necesarias para el estudio, se utilizó el método análisis de varianza a un factor, para esto se considera la probabilidad de error tipo II que es:

$$\beta = 1 - P(Rechazar\ H_0 / H_0\ es\ falsa)$$

Para evaluar la probabilidad descrita anteriormente se utilizan las curvas características de operación. Estas curvas grafican la probabilidad de la ecuación anterior contra un parámetro Φ, en el cual:

$$\Phi^2 = \frac{n \cdot D^2}{a \cdot \sigma^2}$$

Donde:

- σ^2: Es la varianza de la variable en estudio a nivel poblacional.
- a: Es el número de grupos a evaluar.
- n: Es el tamaño de la muestra por grupo.
- D: Es la diferencia máxima entre dos tratamientos cualesquiera.

Selección de la muestra.

Se consideró como valor de la varianza poblacional 100 μm^2 (Desv. Est = 10 μm). Detectando diferencias máximas entre los tratamientos (agentes acondicionantes) de 15 μm, estos antecedentes fueron obtenidos del trabajo de Paris & Meyer-Lueckel 2007. Considerando una potencia del test del 85% y un nivel de significancia del 5%, se determinó que el tamaño mínimo adecuado de la muestra fuera de por lo menos 10 dientes por grupo.

La unidad de estudio fue la lesión artificial producida aleatoriamente en la mitad vestibular y/o palatina de los terceros molares seleccionados.

3. Criterios de selección.

- Terceros molares incluidos.
- Íntegros y que no presentaban alteraciones en las superficies de estudio.
- Limpios.
- Almacenados en suero fisiológico.
- Extraídos en el lapso de un mes.

4. Recolección de datos

4.1 Variables

Variable		**Tipo**	
Penetrabilidad de la resina	Cuantitativa	Continua	Dependiente
Técnica convencional	Cualitativa	Nominal	Independiente
Técnica convencional más hipoclorito de sodio	Cualitativa	Nominal	Independiente

Tabla I: Variables a analizar

4.1.1 Definiciones Conceptuales y operacionales

A) Penetrabilidad de la resina:

Definición conceptual:

Impregnación o introducción de una resina en alguna superficie.

Definición operacional:

Introducción de una resina fluida dentro de las zonas de una lesión artificial que fue limpiada con diversos métodos y acondicionada con ácido fosfórico al 37%.

B) *Técnica convencional*:

Definición conceptual:

Procedimiento en el cual se realiza una limpieza de la superficie dentaria, la cual se efectúa con escobilla de profilaxis blanda, micromotor, contra ángulo y piedra pómez venteada, diluida en agua destilada, y posteriormente se aplica un agente ácido para grabar la superficie.

Definición operacional

Técnica convencional que se realiza sobre la superficie de la lesión artificial previo a la aplicación de la resina.

C) Técnica convencional más Hipoclorito de Sodio:

Definición conceptual:

Acondicionamiento de la superficie dentaria con Hipoclorito de Sodio posterior a la técnica convencional y previo a la aplicación de resina.

Definición operacional

Aplicación de Hipoclorito de sodio al 5,25% durante 1 minuto en la lesión artificial.

5. Desarrollo del estudio piloto.

Se efectuó un estudio piloto en 6 terceros molares de los cuales 2 fueron sometidas al proceso de desmineralización y los otros 4 al ciclo completo de des y remineralización, con el fin de corroborar histológicamente, con la técnica de microscopia de luz polarizada, la formación de lesiones artificiales que presenten la zona superficial mineralizada y el correspondiente cuerpo de la lesión subsuperficial (figura 1).

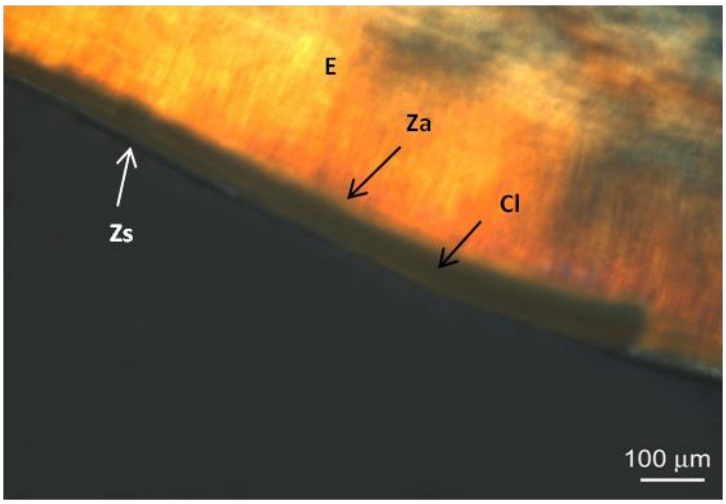
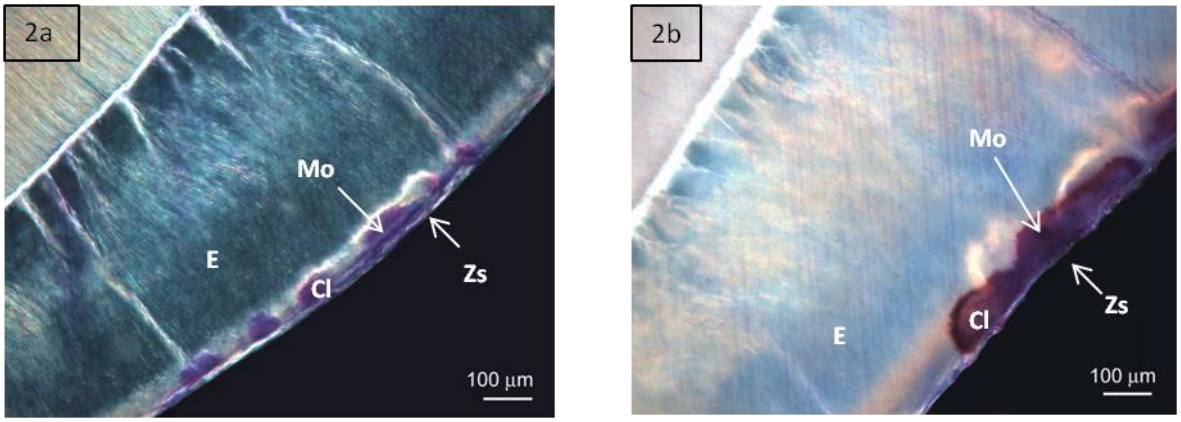


Figura 1: Imagen obtenida a través de microscopía con luz polarizada, (10x). Se observa una lesión artificial sub-superficial con su respectiva zona superficial remineralizada (Z.s), cuerpo de la lesión (C.l) y zona de avance (Z.a). E: Esmalte normal.

De cada grupo, se sometió 1 molar a la aplicación de azul de toluidina (colorante específico para teñir material orgánico), con el objeto de comprobar la presencia de material orgánico proveniente de la saliva en las lesiones experimentales, luego del proceso de proteinización (figuras 2a y 2b).
Luego otra lesión también proteinizada se sometió por un minuto a hipoclorito de sodio la cual posteriormente fue teñida con azul de toluidina, viéndose el resultado en la figura 3, donde se obtuvo una importante disminución en la cantidad de material orgánico.



Figuras 2a y 2b: Imagen obtenida con microscopía de campo claro con luz polarizada, (10x). En estas figuras es posible observar la presencia de material orgánico de origen salival (Mo, color púrpura y azul), ocupando parte de la zona superficial (Zs) y del cuerpo de la lesión (Cl).

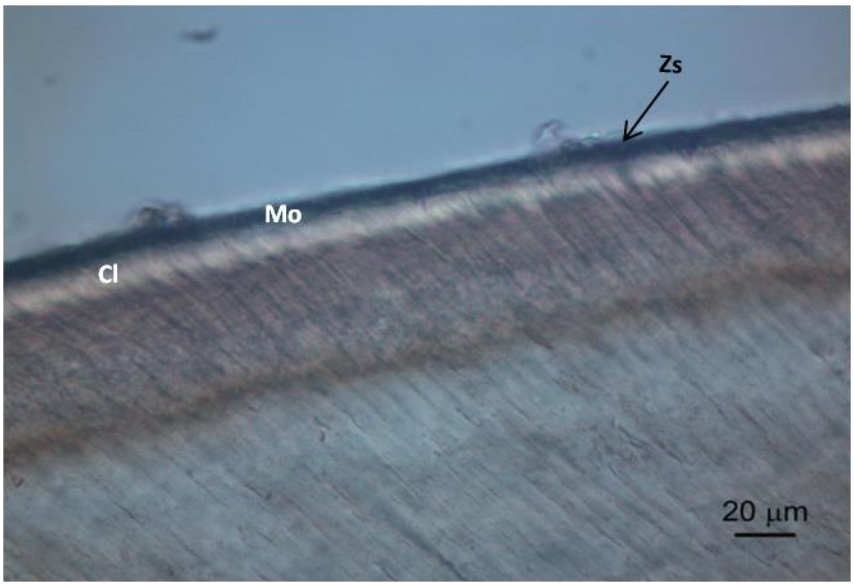


Figura 3: La presente imagen obtenida por microscopía de campo claro con luz polarizada (40x) muestra la zona superficial (Zs) y el cuerpo de la lesión (Cl) con posterioridad a la aplicación del hipoclorito de sodio al 5,25%, por un minuto, donde se aprecia una importante disminución de la cantidad de material orgánico (Mo).

6. Desarrollo del estudio experimental:

En la figura N°4 se muestra el flujograma del diseño experimental.

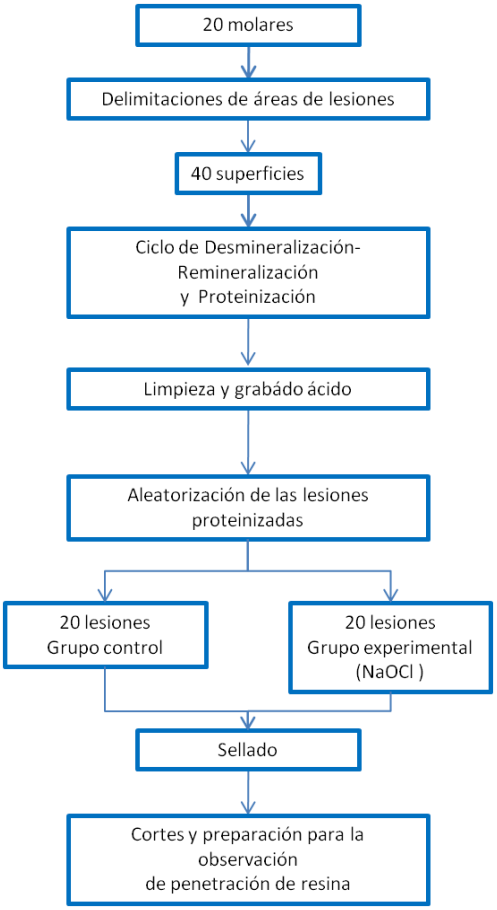


Figura 4: Flujograma del diseño experimental

6.1 **Delimitación de áreas de lesiones:**

Los 20 molares fueron cubiertos con esmalte de uñas marca Maybelline ®, resistente al ácido, dejando libre una ventana de 6x4 mm en las caras vestibulares y palatinas de la corona de cada diente (Figura 5).

Figura 5: Visión macroscópica del diente (1x) que presenta una ventana de 6x4 mm para ser expuesta al proceso de des y remineralización. Éstas fueron realizadas en las caras vestibulares y palatinas de la corona de cada diente seleccionado.

6.2 Ciclo de desmineralización:

Los molares se introdujeron en un recipiente que contenía una solución buffer de acetato 0,01M (pH 4), durante 2 días a 50° C. La solución fue renovada cada 24 horas, acorde con el protocolo descrito por Miake et al., 2003.

6.3 Ciclo de remineralización:

Pasados los 2 días, los molares se lavaron con suero fisiológico para eliminar la solución desmineralizadora y luego fueron introducidos en una solución remineralizadora con Ca^{2+} 1mM, PO_4^{3-} 0,6 mM, F^- 0,05 mM, durante 2 semanas, a 37ºC. (Miake et al, 2003). La solución se cambió semanalmente.

Una vez transcurridas las 2 semanas, se eliminó el esmalte de uñas de la superficie de los dientes con acetona y se llevó a cabo la comprobación de la formación de las lesiones artificiales con el objeto de poder diferenciarlas de una simple erosión, a través de la observación con una Lupa estereoscópica marca Nikon CMZ 800. Posteriormente, fueron corroboradas por estudios histológicos que se observarán en los resultados.

6.4 Ciclo de proteinización de las lesiones artificiales:

Posteriormente, los dientes con las lesiones artificiales formadas se sumergieron en un recipiente conteniendo un pool de saliva humana durante 7 días a 37°C. La saliva fue procesada en la centrífuga marca Hermle modelo Z200A a 1250 rpm para eliminar detritus alimenticios (Figura 6).

Figura 6: Centrífuga marca Hermle modelo Z200A utilizada para eliminar los detritus alimenticios de la saliva recolectada para la proteinización de las lesiones artificiales.

6.5 Aleatorización de las lesiones proteinizadas:

A cada lesión artificial producida en un mismo molar, se asignó aleatoriamente al grupo A o B, con el objeto de mantener la estandarización físico-químico estructural de la unidad de estudio (grupo experimental y control). Se marcaron las lesiones vestibulares de cada diente para facilitar el reconocimiento de las zonas.

- A las lesiones vestibulares se les aplicó la técnica convencional. Este grupo se encriptó aleatoriamente como grupo A.
- A las lesiones palatinas se les realizó la técnica convencional y luego se les sumergió en solución de hipoclorito al 5,25% por un minuto. Se encriptó aleatoriamente como grupo B.

6.6 Procedimiento de sellado de lesiones:

Posteriormente, se aplicó la resina Heliobond® marca Ivoclar Vivadent fotopolimerizable en todas las lesiones. Previo a la aplicación, se tiñó la resina con el fluorocromo rodamina B, para poder ser visualizada a través de microscopía de epifluorescencia (figura 7). Se aplicó esta resina debido a que es la única de baja viscosidad y alta humectabilidad que se encuentra en el mercado nacional.

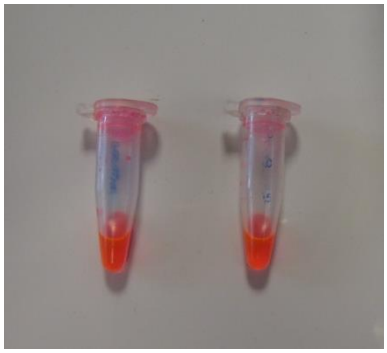


Figura 7: Resina fluida sin relleno marcada con fluorocromo rodamina B.

1) Se aplicó cuidadosamente con un pincel la resina procesada. La aplicación se efectuó en forma uniforme verificando que toda la superficie de la lesión quedara cubierta por la resina.
2) Se utilizó una jeringa triple para soplar suavemente sobre la superficie por 15 segundos a una distancia de 20 cm. con el fin de eliminar los excesos. Luego se polimerizó por 20 segundos con una lámpara halógena Elipar (3M), recién adquirida.

Una vez aplicada la resina, se llevó a cabo el montaje de los molares en acrílico de autocurado Marche®, transparente, como se muestra en la figura 8.

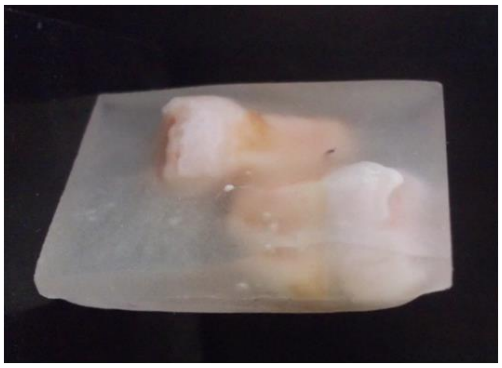


Figura 8: Imagen de molares incluidos en acrílico transparente de autocurado.

6.7 Corte y procesamiento de las muestras.

Posteriormente, se realizaron 3 cortes horizontales, abarcando ambas lesiones procesadas, con una máquina recortadora Isomet® 1000 del laboratorio Buehler, obteniéndose en total 3 muestras de cada lesión. El grosor los cortes fue de 2 mm de espesor.

A continuación, las muestras se fijaron con resina sintética marca Eukitt en portaobjetos por 48 horas para poder adelgazarlas a niveles observables de 50 a 100 µm. Una vez fijadas, se adelgazaron en una máquina compuesta por un disco giratorio abrasivo de distintos granos, desde el mediano al menor (Figura 9).

De las tres muestras de cada lesión ya adelgazadas, se escogió la más íntegra observable, obviando los artefactos de técnica.

Figura 9: Máquina con disco giratorio abrasivo para adelgazar las muestras obtenidas.

6.8 Observación al microscopio

Las muestras seleccionadas se humectaron con agua destilada y se observaron con microscopía de luz polarizada a través de un microscopio marca Zeiss Axiostar plus (figura 10), para verificar tanto la presencia efectiva de la lesión como de la resina selladora.

Figura 10: Microscopio Zeiss Axiostar plus, donde se realizó la observación a través de microscopía de campo claro y epifluorescencia.

Luego, las muestras se impregnaron en Xilol para observarlas con microscopía de epifluorescencia, usando filtro rojo y microscopía de campo claro, utilizando el microscopio mencionado anteriormente.

De cada observación microscópica, se capturó digitalmente una imagen mediante la cámara MicroPublisher RTV marca Q-Imaging.

6.9 Procesamiento de las imágenes

Para poder visualizar de forma correcta los límites de la lesión y la penetración de la resina dentro de ella, se realizó la superposición de las imágenes digitalizadas en el programa computacional Adobe Photoshop CS5.1 (figura 11).

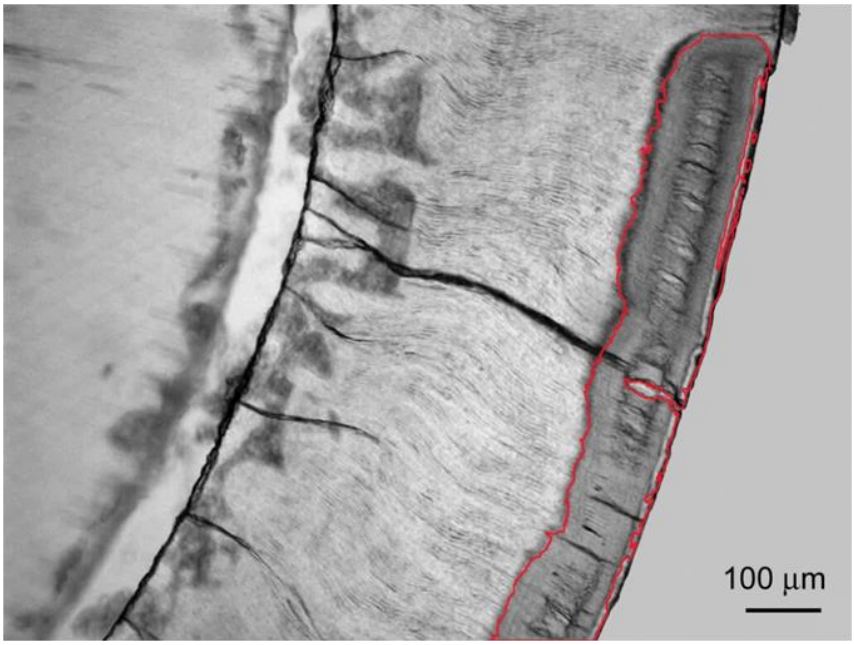


Figura: 11: Superposición de imágenes digitalizadas obtenidas con microscopia de campo claro y de epifluorescencia (línea roja), procedimiento que se puede apreciar mejor en la descripción de los resultados.

6.10 Análisis computarizado de la superposición de imágenes digitalizadas:

Las imágenes obtenidas se analizaron por el programa ImageJ®. Dicho programa procesador de imágenes, basado en Java, permite editar, guardar y trabajar con imágenes de todo tipo de formato, pudiendo así, establecer medidas en base a la equivalencia de unidades de medida y bits de la imagen, midiendo exactamente la penetración de la resina dentro de la lesión artificial.

Para tal efecto, se realizaron 11 medidas por cada lesión, estandarizando la distancia entre cada una a 90 micrones. Se comenzó a medir desde la zona

superficial de la lesión con una línea en forma perpendicular a ésta y se proyectó hasta la zona final de penetración de la resina (figura 12).

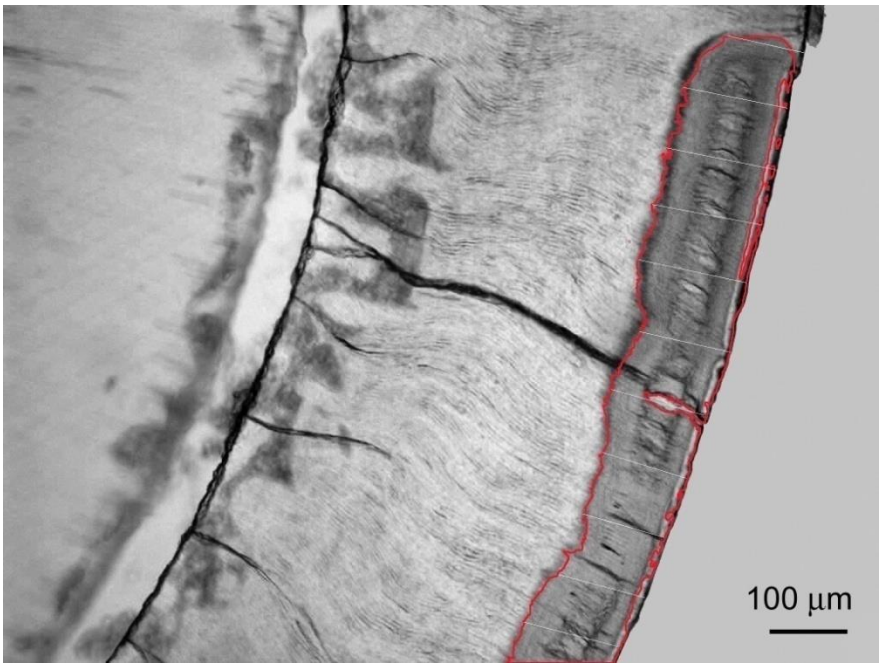


Figura 12: Medición de la penetración de la resina utilizando programa Image J.

Se trasladaron las medidas a una base de datos en el programa Microsoft Excel 2007, en el cual se calcularon los promedios de penetración en cada lesión tanto en el grupo control como en el grupo experimental.

6. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el "Modelo lineal de un factor fijo", a través del test T para muestras pareadas (*t* de Student), cuyo objetivo fue analizar en forma cuantitativa las diferencias de penetrabilidad observadas entre los dos grupos establecidos anteriormente.

Para utilizar el test *t* de Student, se aplicó en primera instancia el test de normalidad Kolmogorov-Smirnov, cuyo objetivo fue verificar si los datos se distribuyeron en forma normal.

Igualmente, con el objeto de determinar la homogeneidad de las varianzas de cada grupo, se utilizó el test de Bartlett y Levinne.

El nivel de significancia se estableció en un 0,05 ($\alpha = 0.05$).

El procesamiento de los datos se efectuó en el programa computacional Microsoft Office Excel 2007 y Minitab © 15.

Resultados

Una vez completada la fase de experimentación, se obtuvieron lesiones artificiales como las que se observan en las figuras 13a, 13b, 15a y 15b, pudiendo diferenciarlas tanto a nivel macroscópica como microscópica.

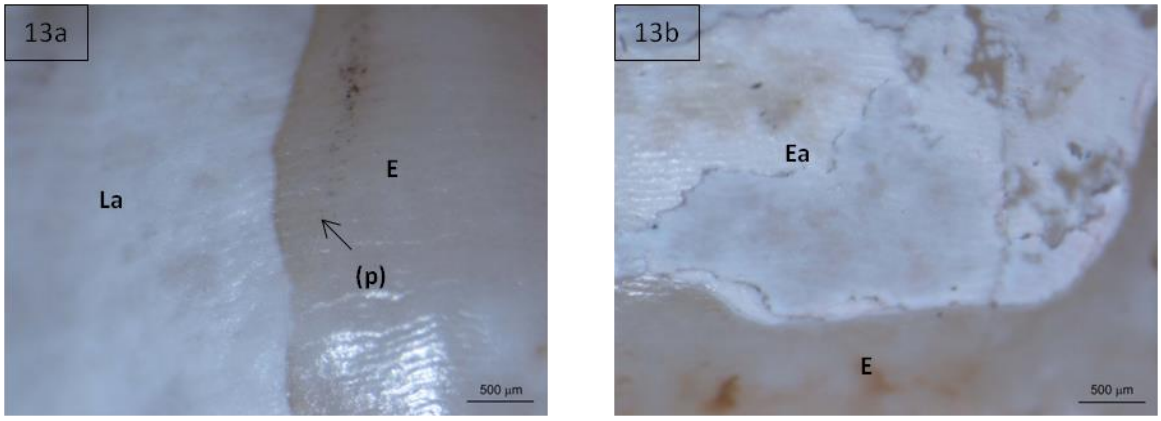


Figura 13a: Se observa una vista macroscópica (4x) de una lesión artificial (L.a.), la cual se diferencia de un esmalte normal (E.s.) principalmente por su color blanco tiza, superficie brillante y textura rugosa. Se puede clasificar como lesión propiamente tal porque mantienen en su superficie las características del esmalte, apreciándose principalmente en la continuidad de la forma de los periquematíes del esmalte (p).

Figura 13b: Se observa una vista macroscópica (4x) de una erosión artificial (E.a), en la cual se aprecian pérdidas de estructura con forma de cráteres en la continuidad del esmalte. En comparación con la lesión artificial, su color es blanco tiza, superficie opaca y textura más rugosa que la anterior producto de las irregularidades existentes por disolución intensa de la superficie.

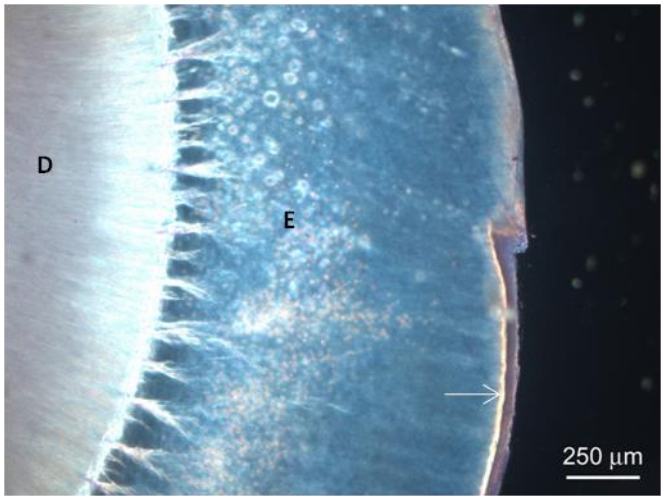
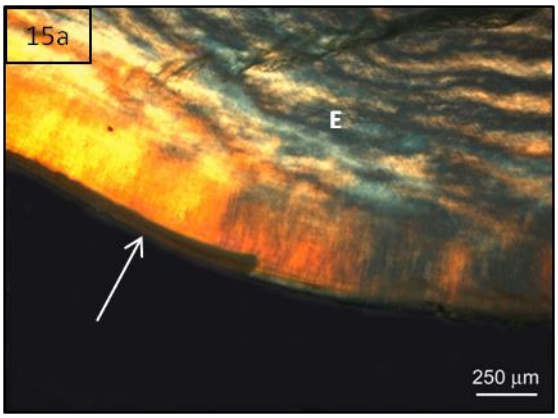


Figura 14: Imagen obtenida a través de microscopía de luz polarizada (4x) en la que se observa histológicamente la forma de una erosión artificial (indicado por la flecha blanca). Se puede observar que no hay continuidad con el margen observado de un esmalte sano (E). Al lado izquierdo de la imagen se observa la dentina (D).



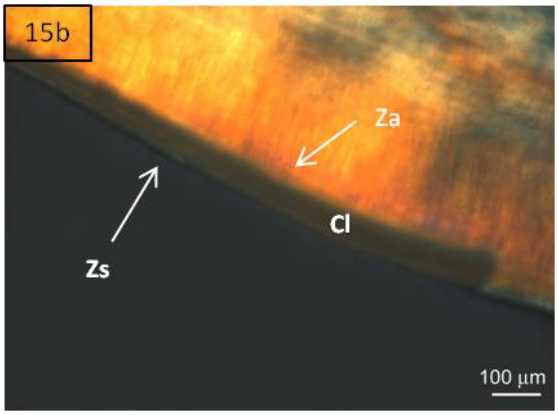
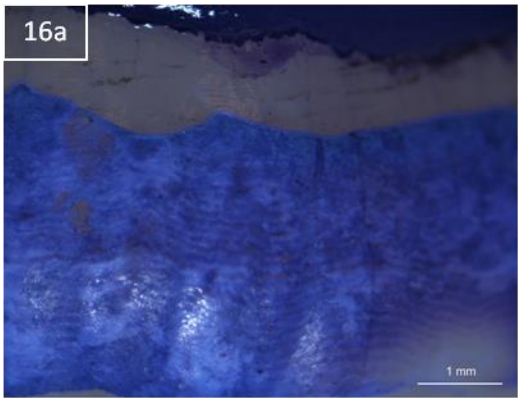


Figura 15a: Imagen obtenida a través de microscopía e luz polarizada (4x) en la que se observa histológicamente la presencia y forma de una lesión artificial (flecha blanca). Se puede apreciar que existe una continuidad con el esmalte sano (E) en su superficie.
Figura 15b: Imagen de la lesión artificial de la figura 15a (10x), en la cual se pueden apreciar las diferentes zonas que caracterizan a una lesión. Se puede observar una zona superficial (Zs), un cuerpo de la lesión (Cl) color marrón oscuro y una zona de avance (Za) de aspecto difuminado.

Al aplicar Azul de toluidina tanto a las lesiones como a las erosiones, una vez realizado el proceso de proteinización, se obtuvieron tonalidades diferentes entre cada una, y más diferencias se presentaron al aplicar tratamiento con hipoclorito de sodio, previo a la aplicación del colorante antes mencionado, tal como se aprecia en las figuras 16a, 16b, 17a, 17b, 18a y 18b respectivamente. Al realizar los cortes histológicos del diente de la figura 18a y 18b se observó una disminución del material orgánico dentro de la lesión luego de la aplicación de hipoclorito de sodio (figura 19).



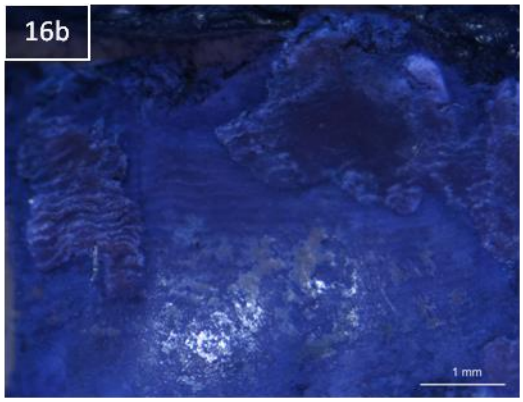
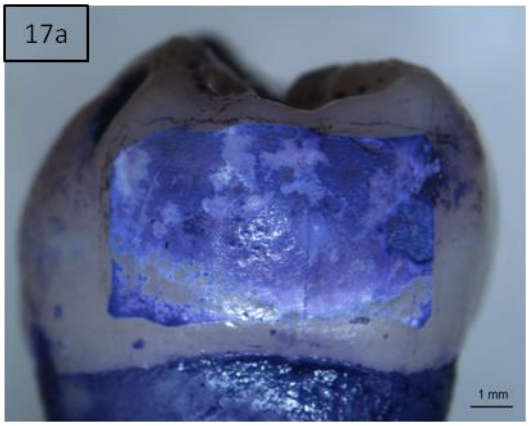


Figura 16a: Visión macroscópica (2x) de una erosión artificial que fue proteinizada con saliva y que posteriormente fue teñida con azul de toluidina. La superficie se observa de color azul claro, con zonas moteadas más claras, manteniéndose sólo en algunos sectores el patrón de los periquematíes.
Figura 16b: Visión macroscópica con aumento de 2x de una erosión artificial que no fue proteinizada y que posteriormente se tiñó con azul de toluidina. La superficie se observa de color azul claro, destacándose también zonas que no están teñidas.



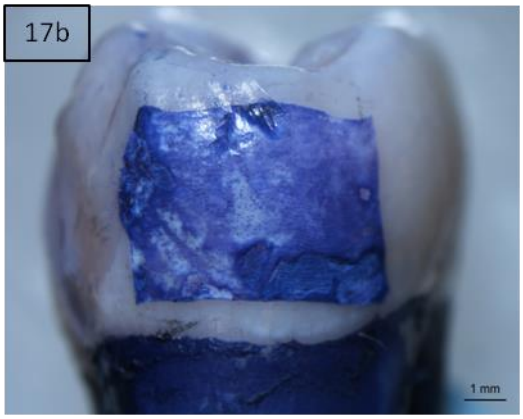
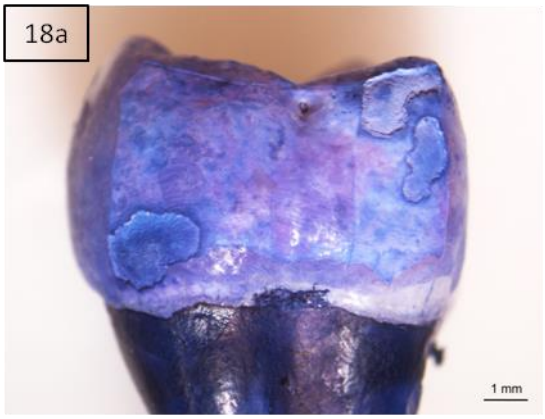


Figura 17a: Visión macroscópica (1x) de una lesión artificial que fue proteinizada con saliva y que posteriormente fue teñida con azul de toluidina. La superficie se observa de color azul claro, con zonas moteadas celestes y blancas de forma irregular correspondiendo estás a las zonas con mayor remineralización, y de superficie brillante, manteniéndose en todas las zonas el patrón de los periquematíes.
Figura 17b: Visión macroscópica (1x) de una lesión artificial que no fue proteinizada y que posteriormente fue teñida con azul de toluidina. La superficie se observa de color azul, con zonas moteadas más claras de forma irregular correspondiendo estás a las zonas con mayor remineralización, y de superficie brillante, manteniéndose en todas las zonas el patrón de los periquematíes.



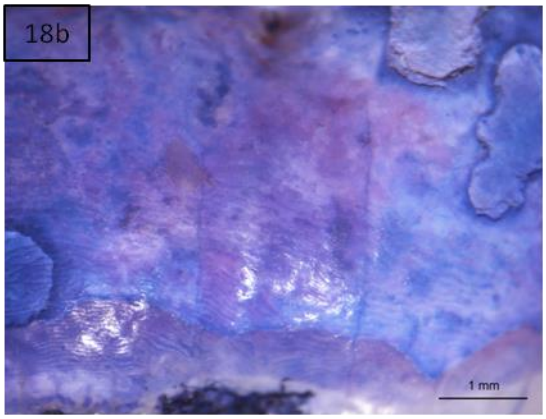


Figura 18a: Visión macroscópica (1x) de una lesión (erosion) artificial que fue proteinizada con saliva y que posteriormente se le aplicó hipoclorito de sodio, luego de este procedimiento se tiño con azul de toluidina. La superficie se observa de color lila con zonas de color celeste muy claro que se presentan de forma irregular correspondiendo éstás a las zonas con mayor remineralización, y de superficie brillante,

Figura18b: Visión macroscópica (2x) de la lesión (erosion) artificial anterior. La superficie se observa de color lila con zonas de color celeste muy claro que se presentan de forma irregular correspondiendo éstas a las zonas con mayor remineralización, y de superficie brillante, Se nota la delimitación entre esmalte sano y el que presenta la lesión. Se observa en la parte superior de la imagen una zona de mayor remineralización con forma irregular presentándose en forma de costra.

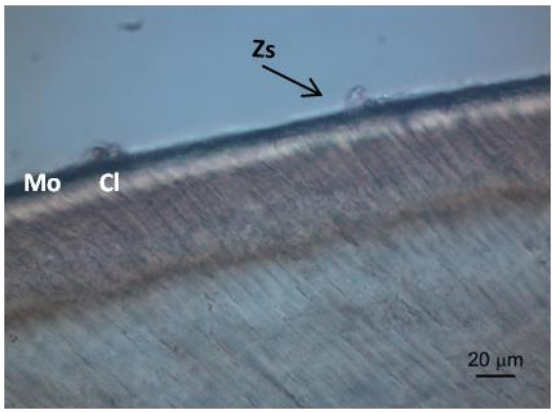


Figura19: Corte histológico obtenida a través de microscopía con luz polarizada (40x) de la **lesión** artificial (flecha blanca) de la figura 18a, que fue proteinizada con saliva y y posteriormente sometida a la acción del hipoclorito de sodio (un minuto). Al teñirla con azul de toluidina, se puede observar en su zona superficial (Zs) y cuerpo de la lesión (Cl) una importante disminución de la presencia de material orgánico (Mo) de origen salival.

Al finalizar el análisis macroscópico y microscópico con azul de toluidina, se inició el estudio central, en el cual se observaron las 40 lesiones macroscópicamente, para comprobar la existencia de lesiones y luego se realizaron los cortes correspondientes y se obtuvieron 40 mitades de dientes con su respectiva lesión artificial. De cada muestra se digitalizaron 3 imágenes: una con microscopía de campo claro (figura 20a), otra con microscopia de epifluorescencia (figura 20b) y la última de una superposición digital de las imágenes anteriores con el propósito de cuantificar la penetración de la resina (figura 20c).

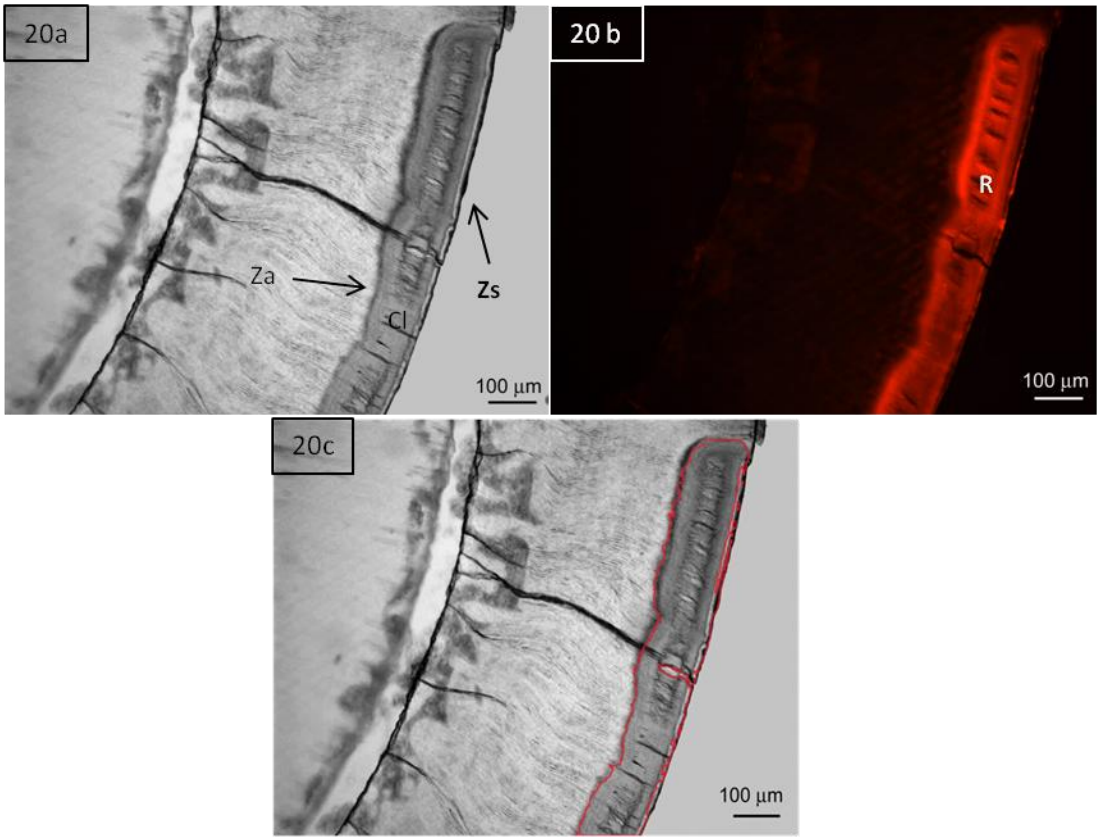


Figura 20a: Imagen obtenida por microscopía de campo claro (10x), en la cual se observan las distintas zonas de una lesión artificial: Z.s: zona superficial de la lesión, Cl: cuerpo de la lesión y Z.a: zona de avance.

Figura 20b: Imagen obtenida por microscopía de epifluorescencia (10x), en el cual se observa la penetración de la resina selladora (R) en la lesión artificial.

Figura 20c: Superposición digitalizada de las imágenes con microscopía de campo claro y epifluorescencia (10x) (figura 20a y 20b respectivamente), donde se cuantificó la penetración de la resina.

De las imágenes superpuestas se obtuvieron las mediciones, logrando de esta manera un promedio por cada imagen. Previo a esto se obtuvo una media de la profundidad de las lesiones artificiales que fue de 129,8 µm.

Se analizaron los promedios de cada tratamiento a través de la prueba *t de* Student para muestras pareadas, se utilizó este tipo de test porque ambos tratamientos ocuparon la misma unidad de estudio (diente), y los resultados de este se colocaron en una tabla N°II. El valor obtenido de p fue $p<0,001$

	Media (µm)	Desv. Est	Media del error estándar
Tratamiento Convencional	94,98	28,66	6,41
Tratamiento Convencional más hipoclorito	122,87	25,39	5,68

Tabla II: Resultados de la prueba t de student para muestras pareadas

Los datos obtenidos de cada grupo se ven reflejados en el gráfico n°1, donde se muestra la distribución de estos por cada grupo analizado.

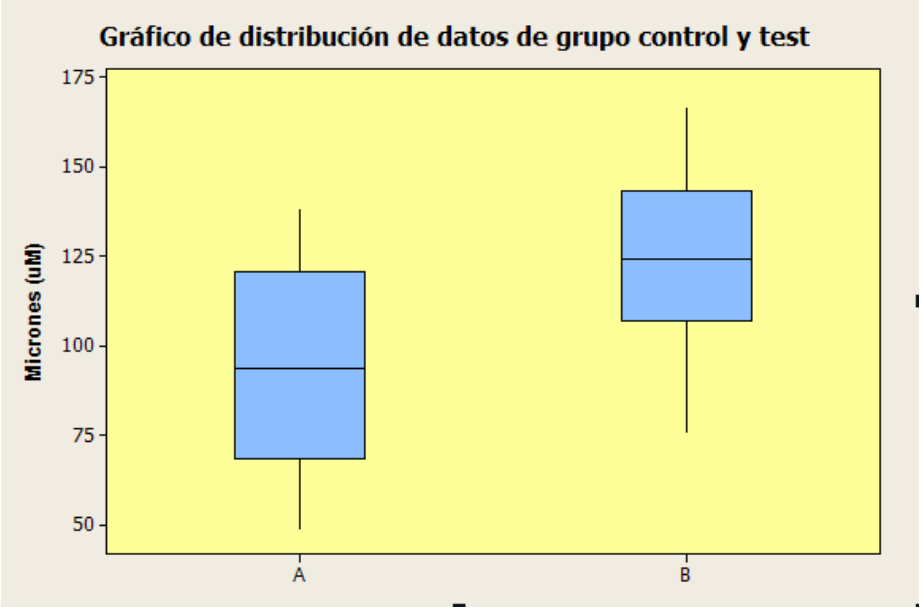


Gráfico N°1: Gráfico de Distribución de datos de ambos grupos, donde A es el grupo control y B es el grupo test (con Hipoclorito de Sodio. ($p < 0.001$). La mayor concentración de datos se encuentra contenido en las cajas, mientras que las medias se ven reflejadas en la línea central de cada caja.

Se procedió a analizar posteriormente las medias obtenidas de cada grupo, y su comportamiento, lo cual se puede apreciar en el gráfico n°2.

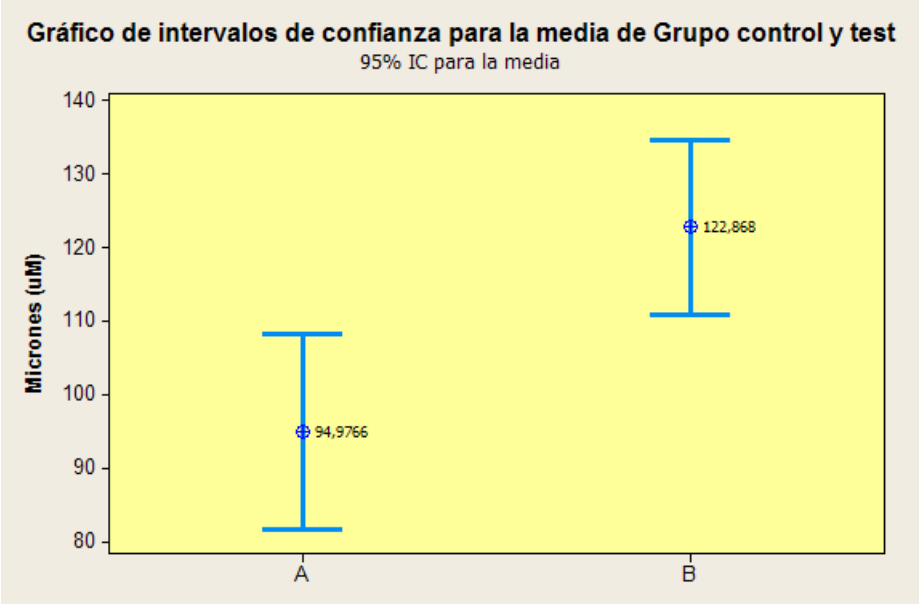


Gráfico N°2: Gráfico de Intervalos de confianza para la media de ambos grupos, donde A es el grupo control y B es el grupo test (con Hipoclorito de Sodio). ($p < 0.001$). Se puede apreciar el resultado de las medias (A= 94,98; B=122,87), observándose que no hay superposición entre ellas.

Para demostrar la validez de la prueba *t* de Student, se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov- Smirnov para ambos grupos, los cuales resultaron dar una distribución normal como se aprecia en los gráficos n° 3 y 4. Donde el valor p es la probabilidad de que los datos se distribuyan de forma normal.

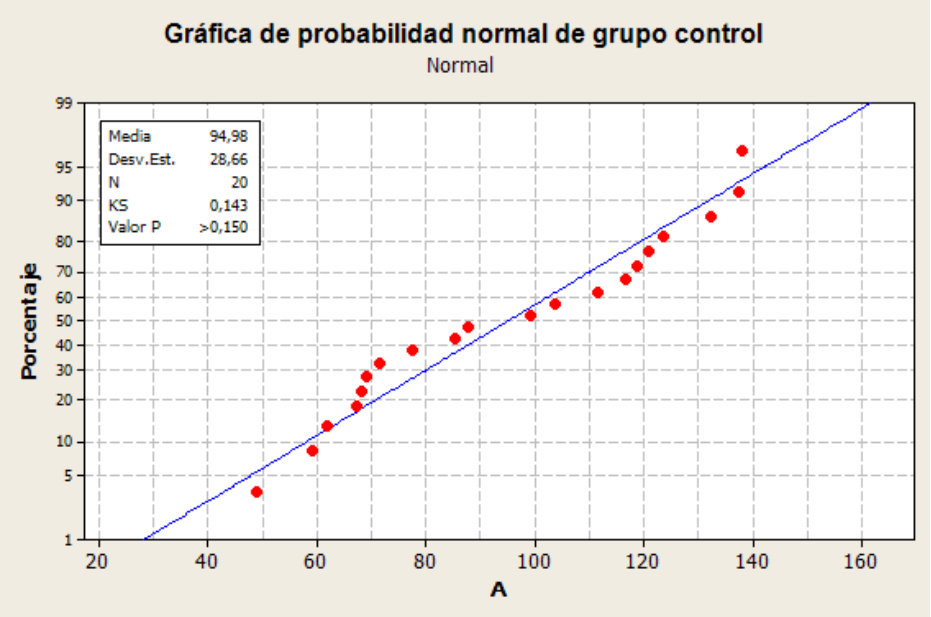


Gráfico 3: Gráfico de probabilidad normal de los datos del grupo control. Dado el valor de p (p> 0,15), se puede afirmar que los datos se distribuyen en forma normal.

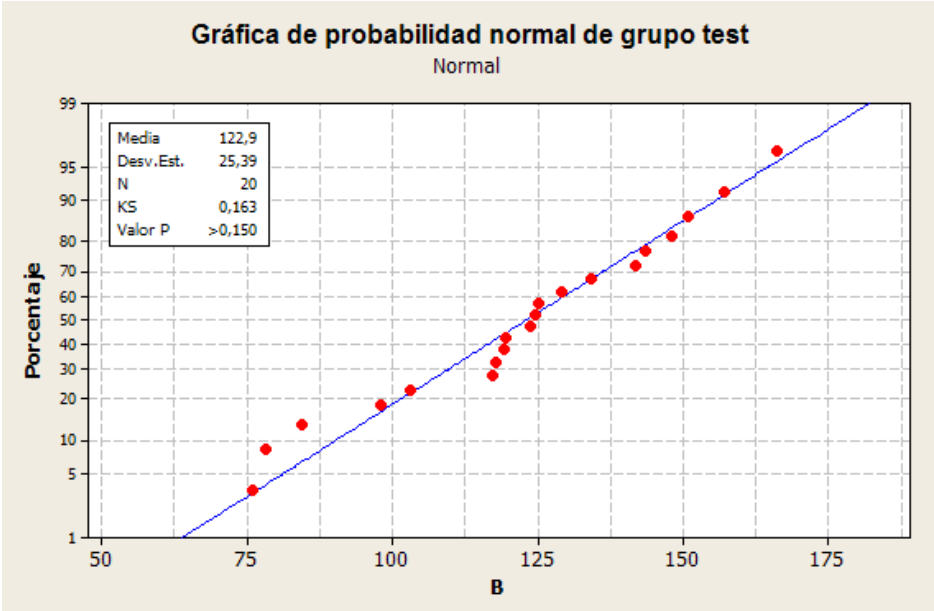


Gráfico 4: Gráfico de probabilidad normal de los datos del grupo test. Dado el valor de p (p> 0,15), se puede afirmar que los datos se distribuyen en forma normal.

Una vez aplicado el test de normalidad, se procedió a realizar es test de Levine y Bartlett, de manar de evaluar la homogeneidad de varianzas. Los resultados de este test se pueden observar en el gráfico n°5.

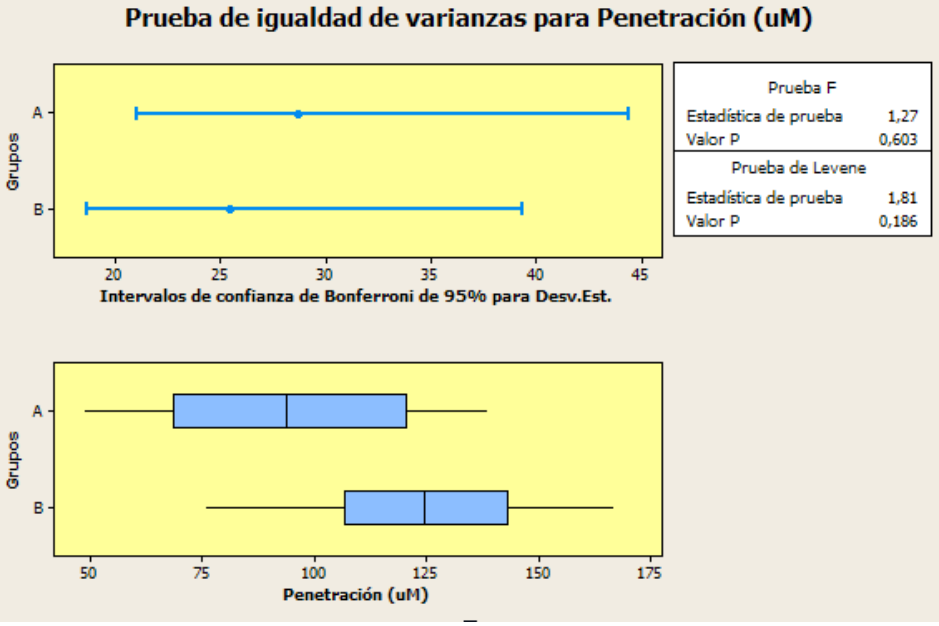


Gráfico n°5: Gráfico de prueba de igualdad de varianzas, Donde se puede apreciar que las varianzas del grupo control (A) y el grupo test (B) son homogéneas, lo cual permite decir que los datos son comparables entre sí.

Finalmente, se realizó un gráfico de diferencias (gráfico n°6) de las medias en treel Grupo control (A) y el grupo Test (B) (A-B), donde la diferencia de estos se estimó que fue de -25 µm. La diferencia real entre los tratamientos está contenida en los rangos del intervalo con una probabilidad de 0.95. Además, como no contiene el valor 0 (Ho), se rechaza la hipótesis nula.

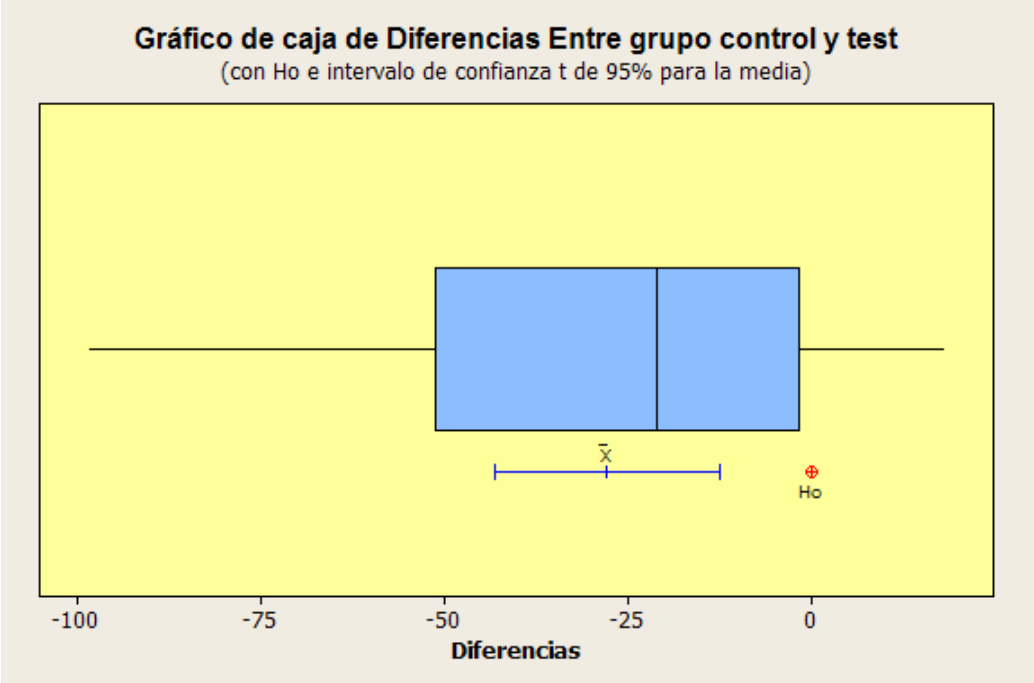


Gráfico n° 6: Gráfico de diferencias entre ambos grupos, (control y test). Se puede observar que el rango de diferencias varía entre -1 y -50, por lo que la media se estima que se encuentra en el -25. Se puede apreciar también que Ho se encuentra fuera del rango de diferencias, por lo que se rechaza hipótesis nula.

Discusión

En el ámbito de la cariología, el capítulo de los sellantes terapéuticos es un tema cada vez más estudiado y discutido (Splieth et al., 2010) debido a que es una alternativa viable y segura para el control de las lesiones proximales (Gómez y cols., 2005, 2007 y 2008; Martignon et al., 2006 y 2010). Dado el éxito de este procedimiento, varios autores han desarrollado diversos métodos para llevarlo a cabo, con distintos materiales y técnicas (Longbottom et al., 2009; Neuhaus et al., 2010; Paris et al., 2011; Meyer-Lueckel et al., 2011; Kim et al., 2011). Entre éstos, se puede destacar a Paris & Mayer-Lueckel, quienes en sus estudios han probado una técnica utilizando ácido clorhídrico y resina fluida, obteniendo buenos resultados en relación a la infiltración del cuerpo de la lesión (Paris & Meyer-Lueckel, 2010). Sin embargo, también se ha visto que el método propuesto por estos investigadores elimina una cantidad considerable del esmalte, aparte de ser potencialmente iatrogénica para los tejidos mineralizados del diente en la zona cervical (sobre 100 µm), todo lo cual, para la odontología mínimamente invasiva, es poco consecuente.

Lo que se propuso en este estudio fue una optimización de la técnica descrita por Gómez y cols. (2005) a través de la incorporación de un agente desproteinizante. El primer acercamiento se produce por medio de un estudio in vitro sobre lesiones artificiales. Cabe señalar que la creación de estas lesiones en esmalte humano es un tema muy poco estudiado en Chile y de hecho, existen muy pocas publicaciones nacionales que hacen referencia a la creación de lesiones artificiales conducentes a optimizar la penetración de una resina cuando se efectúa un sellante terapéutico de una lesión activa no cavitada.

En la literatura internacional se han descrito variados métodos para la creación de lesiones artificiales. Sin embargo, a través del estudio piloto, se llegó a la conclusión que el método descrito por Miake et al., en el año 2003 fue el más efectivo y con el que se logró obtener las mejores características de lesiones artificiales, comparables con otros estudios que han trabajado con este tipo de lesiones. Cabe señalar la importancia de ser muy acucioso con las instrucciones y los pasos señalados para el desarrollo de estas lesiones artificiales. Si sucede lo contrario, entonces lo que se obtendrá serán simples erosiones, ya que no se formará la inconfundible zona superficial remineralizada que debiera observarse en las lesiones anteriormente mencionadas.

Se pueden reconocer la presencia y características de una lesión artificial a través del análisis de las imágenes macroscópicas obtenidas en este estudio. Su color blanco tiza, superficie irregular y brillante y la continuidad con los periquematíes del esmalte sano hacen pensar que este tipo de lesiones se asemejan a las lesiones naturales que se observan frecuentemente en boca. En el presente estudio piloto se compararon las lesiones artificiales obtenidas con las erosiones realizadas artificialmente, las cuales se caracterizaron por presentar una superficie rugosa, blanco tiza, irregular e interrumpida en algunas zonas de la superficie. A diferencia de las lesiones artificiales previamente mencionadas, en las erosiones no existe continuidad con los periquematies del esmalte, caracterizándose por una morfología macroscópica

muy irregular. Esta diferencia se debe principalmente al proceso de remineralización al cual fueron sometidas las lesiones experimentales de esta investigación. Este proceso permite formar una capa remineralizada que en teoría se asemejaría a las lesiones reales y funcionaria como una barrera semejante al de las lesiones naturales. Cabe mencionar que este proceso de remineralización no es homogéneo en toda la superficie de la lesión artificial, existiendo sectores en los cuales la formación de la zona superficial es mayor que en otros, provocando de esta manera, que en esos sectores, la zona superficial sea de mayor grosor, lo que fue confirmado con observaciones histológicas.

Al respecto, la verificación de la creación de lesiones artificiales se puede hacer sólo mediante el estudio histológico, a través de la observación con microscopia de luz polarizada, técnica que fue utilizada como *gold* estándar en esta investigación.

Una vez obtenidas las lesiones artificiales mediante el proceso cíclico de remineralización y desmineralización, se procedió a la fase de proteinización de éstas con el fin de someterlas a las mismas condiciones que se observan en boca. En el estudio piloto desarrollado, las lesiones se tiñeron con azul de toluidina para comprobar la penetración en el esmalte de material orgánico proveniente de la saliva. Se utilizó el azul de toluidina debido a sus características metacromáticas, lo que significa que la tinción tiene la capacidad de tomar dos tonalidades diferentes, violeta o azul, dependiendo del tejido al cual es sometido, tiñéndose de color violeta los proteoglucanos y de azul las glicoproteínas. Este colorante, por sus propiedades químicas, permite teñir específicamente el material proteico procedente de la saliva.

Al analizar los resultados de las tonalidades obtenidas quedó en evidencia que tanto las lesiones como las erosiones sometidas y no sometidas a saliva presentaron un tono azul bastante marcado. Este resultado estaría indicando la existencia de proteínas propias del esmalte.

En el presente estudio, no se determinó que lo detectado correspondería exclusivamente a material orgánico salival, ya que también podría corresponder a las proteínas estructurales propias de la matriz orgánica del esmalte. Por lo tanto, es dable deducir que las lesiones experimentales obtenidas en este estudio, exhibían material orgánico extrínseco e intrínseco. La naturaleza y la descripción específica de las proteínas presentes en ellas no fueron reconocidas, ya que este proceso no estaba considerado en los objetivos de esta investigación.

Por otra parte, se puede destacar que las lesiones inmersas en saliva al ser tratadas posteriormente con hipoclorito de sodio por un minuto, presentaron un cambio en su coloración, tiñendo la muestra de un color violeta heterogéneo, con zonas más intensas que otras. Ésto se explica por la capacidad desproteinizante que tiene el hipoclorito sobre la estructura del esmalte, lo que generaría una eliminación proteica, tanto de la matriz orgánica como de las proteínas salivales, dejando al descubierto los proteoglicanos de la matriz del esmalte, los cuales presentan en su estructura condroitín sulfato, que es el dímero por el cual el azul de toluidina tiene afinidad, tornando su color a un tono violeta (Oyarzun et al., 2002). Esto indicaría que,

macroscópicamente, la superficie del esmalte tratada con hipoclorito de sodio estaría libre de material orgánico proteico, tanto salival como intrínseco de la estructura del esmalte. Además, se comprobaría en la practica la efectividad del hipoclorito como agente desproteinizante.

Igualmente, el estudio piloto realizado no sólo demostró la presencia de material orgánico proveniente de proteínas salivales en la zona superficial, sino que también en parte del cuerpo de la lesión, luego de que el diente, con la lesión artificial ya creada fuera sometido al proceso de proteinización con saliva. Estas proteínas ya habían sido descritas por Hara & Zero (2010) y también por McDonald (2010), en lesiones naturales, lo que hizo sugerir en este estudio que su presencia podría dificultar la penetración de una resina selladora.

A su vez, la elección del hipoclorito de sodio al 5,25% como agente desproteinizante se debió principalmente a sus conocidas propiedades antioxidantes producidas en la dentina cuando se aplica en los tratamientos de endodoncia (Miori et al., 2009). Sin embargo, existe muy poca bibliografía que avale su uso en esmalte dentario. Recientemente, en el año 2010, Espinoza et al., demostraron una aplicación en el esmalte para mejorar los patrones de grabado, sometiendo la zona superficial con Hipoclorito de sodio al 5,25% durante un minuto. El estudio piloto realizado por los investigadores que suscriben, demostró fehacientemente la eliminación del material orgánico proveniente de las proteínas salivales en la lesión artificial, a través de la aplicación de hipoclorito de sodio a igual concentración, durante un minuto, luego de la limpieza con escobilla blanda y posterior grabado ácido, lo que fue comprobado histológicamente (figuras 19b).

Igualmente, los estudios clínicos de Justus et al., 2010, corroboraron que este procedimiento mejora significativamente la adhesión de la resina en la cementación de los brackets de ortodoncia. La mejora anterior, puede verse incrementada por la acción anexa desmineralizante que también se le reconoce al hipoclorito de sodio (Oyarzun et al., 2002)

En relación al procedimiento utilizado en este estudio *in vitro* con la resina seleccionada (Heliobond ®), Paris et al., 2007, comprobaron que resinas similares, al ser de baja viscosidad, penetran con mayor facilidad en las lesiones artificiales sin necesidad de realizar un termociclado previo.

Con respecto a los resultados de la presente investigación, ellos permiten comprobar que existe una penetración de la resina en la lesión artificial, ya sea con la técnica convencional como con la aplicación de Hipoclorito de Sodio. Sin embargo al comparar estos dos procedimientos se pudo demostrar que existe una diferencia significativa entre las medidas de penetración de ambos, siendo mayor en el grupo donde se utilizó hipoclorito de sodio, descartándose de esta forma la hipótesis nula ($p<0,001$).

Al analizar y comparar el porcentaje de penetración de la resina en la lesión artificial, se observó que, pese a la diferencia de profundidad entre cada lesión, el porcentaje de áreas infiltradas era mayor en las que se aplicó el tratamiento con hipoclorito de sodio.

Cabe destacar que el mayor aumento detectado en la penetración de la resina mediante el uso de hipoclorito podría tener una aplicación clínica en la técnica del sellado terapéutico de lesiones del esmalte no cavitadas. Lo anterior, permitiría optimizar la penetración y la retención de ésta sin la necesidad de realizar una erosión profunda de la zona superficial de la lesión como lo proponen otras técnicas. (Paris et al., 2007).

La validez de estos resultados está avalada por los análisis estadísticos presentados anteriormente y por el desarrollo propiamente tal de la metodología, a través de la eliminación de los sesgos y la estandarización de los procedimientos. Igualmente la aplicación de los tratamientos, la encriptación de las muestras así como el procesamiento y análisis histológico y digital de las imágenes. Es preciso señalar que éstos fueron realizados por tres operadores diferentes, evitando así el sesgo del observador.

Se puede agregar además que una ventaja detectada en este estudio, fue el uso de un mismo diente para producir ambas lesiones, tanto la utilizada como test como la utilizada para su control. Lo anterior, permitió mantener estandarizadas las mismas propiedades estructurales físicas y químicas del esmalte y por lo tanto también el de las lesiones estudiadas comparativamente.

Finalmente, es necesario destacar que todos los pasos del estudio se realizaron en las mismas condiciones de procedimiento, día y operador, evaluándose con estudios histológicos todo lo observado, respetando el gold estándar en este tipo de experiencias.

Limitaciones y sugerencias del estudio

Dentro de las limitaciones de este estudio, se puede mencionar que al ser un estudio *in vitro* en lesiones artificiales, sus resultados no son extrapolables al uso clínico. Por lo tanto, se sugiere desarrollar en una próxima experiencia este mismo procedimiento pero en lesiones naturales de caries.

Otra limitación observable fue la escasa bibliografía existente en relación a la experiencia realizada, por lo cual no existió un punto de comparación más pertinente con otras investigaciones similares.

Igualmente, se sugiere comparar el método utilizado por los investigadores alemanes Paris & Meyer-Lueckel con la propuesta de esta investigación, empleando para su evaluación comparativa la misma técnica microscópica de campo claro y epifluorescencia que se utilizó en el presente estudio.

Por último, otra sugerencia para investigaciones posteriores sería evaluar la efectividad de otra presentación del hipoclorito de sodio (idealmente en consistencia de gel), debido que su aplicación y manejo en estado líquido no es adecuado para la realización de un estudio clínico, analizando además su efectividad en relación a diferentes tiempos de aplicación.

Conclusiones

El presente estudio desarrolló exitosamente un método para crear lesiones artificiales en esmalte a través de un proceso cíclico de des y remineralización, lo que permitió la realización de éste estudio en lesiones de iguales características estructurales fisicoquímicas.

Esta experiencia permitió deducir que existe una penetración real de la resina en el esmalte, la que fue analizada mediante el corte histológico, que es el gold estándar en este tipo de estudio.

Además, se logró cuantificar, de una manera concreta y exacta, la penetración de la resina mediante el análisis digital morfométrico de las imágenes (superposición digital), siendo la epifluorescencia un método ideal para ver el límite de la penetración de éstas.

Los resultados demostraron que hay una diferencia significativa ($P < 0.001$) en la penetración de la resina selladora (≥ 20 µm) cuando se complementa la técnica convencional con la aplicación de hipoclorito de sodio al 5,25% por un minuto.

Resumen

Objetivo: Optimizar la penetrabilidad de una resina selladora en lesiones artificiales del esmalte, al eliminar el material orgánico de origen salival después de la acción del hipoclorito de sodio (NaOCl) como agente desproteinizante.

Materiales y Métodos: Se utilizaron 20 terceros molares humanos incluidos, recientemente extraídos. Mediante la delimitación de una ventana de 6 x 4 mm expuesta a un ciclo de desmineralización-remineralización, se crearon lesiones artificiales comprobadas histológicamente. Posteriormente se proteinizaron por una semana sumergiéndolas en un pool de saliva humana a 37°C. Luego se realizó la limpieza y grabádo ácido con H_3PO_4 al 37% por 20 segundos. A continuación se dividieron en dos grupos aleatoriamente, 20 lesiones como control, y 20 sometidas a la acción desproteinizante del NaOCl al 5,25% durante un minuto. Finalmente, se sellaron con una resina fluída Heliobond marcada con fluorocromo Rodamina B para su observación microscópica y análisis morfométrico digital. El análisis estadístico se efectuó a través de los test *t* de Student, Kolmogorov-Smirnov, Bartlett y Levinne. Con un nivel de significancia de $p<0.001$.

Resultados: La penetración de la resina en el grupo control fue de una media de 94,98 ± 28,66 µm versus 122,87 ± 25,39 µm en el grupo experimental. Esto representa un 22, 69% de mayor penetración al usar NaOCl.

Conclusión: Los resultados demostraron una significativa penetración de la resina selladora cuando se complementa la técnica convencional con la aplicación de hipoclorito de sodio al 5,25% por un minuto.

Bibliografía

- Alcira R., González MI., Negroni M. (2009): Agentes químicos antisépticos y desinfectantes. En: Microbiologia Estomatológica. Fundamentos y guía práctica. 2° edición. Editorial Panamericana. Buenos Aires, Argentina. pp:116.

- Aller MA., Arias J., Arias JI., Fernández-Miranda E., Lorente L. (2004): Desinfección. *En:* Propedéutica quirúrgica: preoperatorio, operatorio, postoperatorio. Editorial Tébar. España. pp: 197-203.

- Berg J., Stryer L., Tymoczko J. (2008): Estrategias catalíticas. En: Bioquímica.6° edición. Editorial Reversé S.A. Barcelona. España. pp: 248

- Ekstrand KR., Martignon S., Christiansen ME. (2007): Frequency and distribution patterns of sealants among 15-year-olds in Denmark in 2003. Community Dent Health. Mar; 24(1): 26-30.

- Espinosa R., Valencia R., Uribe M., Ceja I., Saadia M. (2008): Enamel deproteinization and its effect on acid etching: an in vitro study. J Clin Pediatr Dent. Fall; 33(1):13-9.

- Espinosa R, Valencia R, Uribe M, Ceja I, Cruz J, Saadia M.(2010): Resin replica in enamel deproteinization and its effect on acid etching. J Clin Pediatr Dent. 2010 Fall;35(1):47-51.

- Golberg F., Lison J. (2002): Procedimientos químicos auxiliares de la preparación quirúrgica. En: Endodoncia: técnicas y fundamentos. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires. Argentina. pp:127-139

- Gómez de Ferraris ME., Campos A. (2009): Esmalte. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. Editorial Médica Panamericana S.A. México DF, México. pp: 292-305.

- Gómez SS., Basili CP., Emilson CG. (2005): A 2-year clinical evaluation of sealed noncavitated approximal posterior carious lesions in adolescents. Clin Oral Investig. Dec; 9(4):239-43.

- Gómez SS., Onetto JE., Uribe SA., Emilson CG. (2007): Therapeutic seal of approximal incipient noncavitated carious lesions: technique and case reports. Quintessence Int. Feb; 38(2):e99-105.

- Gomez S, Uribe S, Onetto JE, Emilson CG. (2008): SEM analysis of sealant penetration in posterior approximal enamel carious lesions in vivo. J Adhes Dent. 2008 Feb;10(2):151-6.

- Hara AT. , Zero DT. (2010): The Caries Environment: Saliva, Pellicle, Diet, and Hard Tissue Ultrastructure. Dental Clinics of North America 3 July 2010 Volume 54, Issue. 455-467.

- Kielbassa AM., Muller J., Gernhardt CR. (2009): Closing the gap between oral hygiene and minimally invasive dentistry: a review on the resin infiltration technique of incipient (proximal) enamel lesions. Quintessence Int. Sep 2009; 40(8) :663-81

- Kim S, Kim EY, Jeong TS, Kim JW.(2011)The evaluation of resin infiltration for masking labial enamel white spot lesions. Int J Paediatr Dent. 2011 Jul;21(4):241-8.

- Longbottom C, Ekstrand K, Zero D, Kambara M.(2009): Novel preventive treatment options. Monogr Oral Sci. 2009;21:156-63. Epub 2009 Jun 3. Review.

- Martignon S., Ekstrand KR., Ellwood R. (2006): Efficacy of sealing proximal early active lesions: an 18-month clinical study evaluated by conventional and subtraction radiography. Caries Res. 40(5):382-8.

- Martignon S, Tellez M, Santamaría RM, Gomez J, Ekstrand KR.(2010): Sealing distal proximal caries lesions in first primary molars: efficacy after 2.5 years. Caries Res. 2010;44(6):562-70. Epub 2010 Nov 19.

- McDonald EE., Goldberg HA., Tabbara N., Mendes FM., Siqueira WL. (2010): Histatin 1 Resists Proteolytic Degradation when Adsorbed to Hydroxyapatite. J Dent Res. 2010 Nov 12.

- Neuhaus KW, Graf M, Lussi A, Katsaros C.(2010):Late infiltration of post-orthodontic white spot lesions. J Orofac Orthop. 2010 Nov;71(6):442-7.

- Mertz-Fairhurst EJ., Curtis JW Jr., Ergle JW., Rueggeberg FA., Adair SM .(1998): Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: results at year 10. J Am Dent Assoc. Jan; 129(1):55-66.

- Meyer-Lueckel H, Chatzidakis A, Naumann M, Dörfer CE, Paris S.(2011): Influence of application time on penetration of an infiltrant into natural enamel caries. J Dent. 2011 Jul;39(7):465-9.

- Meyer-Lueckel H., Paris S. (2008): Progression of artificial enamel caries lesions after infiltration with experimental light curing resins. Caries Res. 42(2):117-24.

- Miake Y., Saeki Y., Takahashi M., Yanagisawa T. (2003): Remineralization effects of xylitol on demineralized enamel. J Electron Microsc. 52(5):471-6.

- Oyarzun A, Cordero AM, Whittle M.(2002):Immunohistochemical evaluation of the effects of sodium hypochlorite on dentin collagen and glycosaminoglycans. J Endod. 2002 Mar;28(3):152-6.

- Pascon FM, Kantovitz KR, Sacramento PA, Nobre-dos-Santos M, Puppin-Rontani RM. (2009): Effect of sodium hypochlorite on dentine mechanical properties. A review. J Dent. 2009 Dec;37(12):903-8. Epub 2009 Jul 23.

- Paris S., Meyer-Lueckel H., Kielbassa A.M. (2007): Resin Infiltration of Natural Caries Lesions. J Dent Res. Jul; 86(7):662-6.

- Paris S, Bitter K, Naumann M, Dörfer CE, Meyer-Lueckel H.(2011): Resin infiltration of proximal caries lesions differing in ICDAS codes. Eur J Oral Sci. 2011 Apr;119(2):182-6.

- Paris S., Meyer-Lueckel H. (2010): Inhibition of caries progression by resin infiltration in situ. Caries Res. 44(1):47-54.

- Phark JH., Duarte S. Jr., Meyer-Lueckel H., Paris S. (2009): Caries infiltration with resins: a novel treatment option for interproximal caries. Compend Contin Educ Dent. Oct; 30 Spec No 3:13-7.

- Schipper RG., Silletti E., Vingerhoeds MH. (2007): Saliva as research material: Biochemical, physicochemical and practical aspects. Archives of Oral Biology, 12, Dec 2007 Volume 52, Issue, Pages 1114-1135

- Schmidlin PR., Klück I., Zimmermann J., Roulet JF., Seemann R. (2006): Caries-preventive potential of an adhesive patch after thermomechanical loading--a microbial-based in vitro study. J Adhes Dent. Feb;8(1):7-12.

- Splieth CH., Ekstrand KR., Alkilzy M., Clarkson J., Meyer-Lueckel H., Martignon S., Paris S., Pitts NB., Ricketts DN., Van Loveren C. (2010): Sealants in dentistry: outcomes of the ORCA Saturday Afternoon Symposium 2007. Caries Res. 2010; 44(1):3-13.

- Tanoue N., Mikami A., Atsuta M., Matsumura H. (2007): Effects of monomer composition and original filler content on filler loading in the resulting centrifuged composites. Dent Mater J. Jul; 26(4):501-5.

- Tobón D. (2003): Conformación y desinfección conductos radiculares. En: Manual básico de endodoncia. Editorial CIB. Medellín. Colombia. pp: 63-67.

Anexo

"Carta de Solicitud De Docente Guía a Profesor Alejandro Oyarzun, Universidad Finis Terrae

Valparaíso, 5 Enero 2011.-

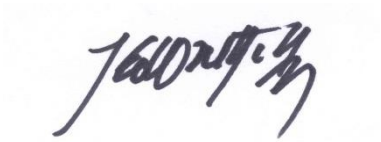
Prof. Dr.
Alejandro Oyarzun Droguett
Magister en Ciencias Biológicas
Universidad Finis Terrae

Presente:
Estimado Profesor Oyarzun:

La Escuela de Odontología de nuestra Universidad tiene como requisito que sus estudiantes realicen un seminario de tesis para graduarse como Cirujano Dentista. El Profesor Dr. Santiago Gómez Soler, es profesor guía de la tesis ***"Penetrabilidad de una resina en lesiones artificiales de esmalte al usar un agente desproteinizante"***, con los estudiantes Rodrigo Morales, Alejandra Romero y Pamela Bravo.

Conociendo su experticia en el tema y la posibilidad de contar con parte de las instalaciones de su laboratorio en la Universidad Finis Terrae, es que solicito a usted tenga a bien acceder a ser profesor guía de esta tesis, en conjunto con el Dr. Gómez.

Agradeciendo desde ya su valiosa participación, saluda atentamente a Ud.



Prof. Dr. Juan Eduardo Onetto C.
Director
Oficina de Investigación
Facultad de Odontología
Universidad de Valparaíso