

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**TESIS DE DOCTORADO**

**Pertenciente a**

**Mendes Claudia Andrea**

**Directora: Prof. Dra. Stella Maris Iriquín**

**Co-Director: Prof. Dr. Gabriel Lazo**

**La Plata - Provincia de Buenos Aires**

**Año 2017**

**REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE CON CASEIN FOSFATO**

**ESTUDIO CON ESPECTROFOTÓMETRO Y EDAX**

## RESUMEN

**Introducción:** La caries constituye el mayor problema de salud bucal, siendo diagnosticada luego de la verificación clínica de algún grado de destrucción de la estructura dental sin incorporar ningún tipo de medida preventiva. Por lo tanto, en ocasiones es el proceso de remineralización y desmineralización los que actúan evitando su instalación, siendo procesos naturales que se encuentran en balance y ocurren de manera frecuente en el medio oral. Si se produce un desequilibrio, la desmineralización del esmalte está altamente comprometida. El hecho de que la caries de fosas y fisuras constituya la mayor parte de los casos en niños, sugiere la necesidad de disponer de un material y una técnica adecuada para facilitar la resolución de dicho tipo de lesiones por medio de maniobras sencillas y con una óptima relación costo/rendimiento.

Uno de estos materiales, es el Péptido Caseína Fosfato (CPP) y Fosfato de Calcio Amonio (ACP) que intervienen en el balance del proceso remineralización del diente y tiene por objeto reparar la pérdida de minerales (Mi Varnish). **Objetivo general:** Analizar la acción del Caseín Fosfato sobre la remineralización dentaria, en surcos cariados de las piezas dentarias mediante el espectrofotómetro y el Edax. **Materiales y Métodos:** Se seleccionaron 90 piezas dentarias permanentes del sector posterior (premolares y molares), extraídos por razones ortodóncicas y quirúrgicas, tomando como criterios de inclusión piezas dentarias sanas y con caries código 1, 2 Y 3, es decir, en estado inicial según codificación del sistema ICDAS II, siendo 70 piezas dentarias sometidas al seccionamiento obteniendo 140 Unidades experimentales (UE) para ser observadas al microscopio electrónico y 20 piezas dentarias fueron pulverizadas para ser analizadas con el espectrofotómetro. **Resultados:** los estudios con el espectrofotómetro por espectroscopia de FTIR (espectroscopia infrarroja) demostraron diferencias entre el diente sin tratar y tratado con barniz. Respecto del análisis con el Edax utilizando la prueba de T de Student, se observó diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) entre la 1ra y la 2da aplicación del barniz relacionada con el fósforo (P) y el calcio (Ca) respectivamente. La prueba de t ( $p < 0,05$ ) estableció diferencias significativas de flúor entre la 1ra y 2da aplicación del barniz ( $t: 15,25; p > 0,001$ ) y diferencias significativas, después del retiro de barniz para Ca y P de ( $p < 0,001$ ). Se registro presencia de sílice significativas ( $t: -11,25; p > 0,001$ ), entre 1ra y 2da aplicación del barniz. **Conclusiones:** La aplicación del barniz en estudio (Mi Varnish), sería efectivo por la incorporación de fluoruro de sodio (componente del mismo, al 5%), manteniendo los niveles de calcio y fosfato (disminuidos por la desmineralización), sugiriendo así, la posibilidad de ser utilizado como un cariostático, sellador de fosas y fisuras en los surcos cariados (código 3, según ICDAS II), actuando deteniendo la desmineralización, manteniendo los niveles expresados de calcio y fosfato en las diferentes unidades experimentales. **Palabras claves:** Desmineralización-remineralización- surcos cariados- Caseín fosfato. Espectrofotómetro. Edax.

## ABSTRACT

**Introduction:** Decay is the biggest problem of oral health, diagnosis and elimination of the category of preventive prevention. Therefore, it is sometimes the process of remineralization and demineralization of those who act avoiding its installation, being natural processes that are in balance and occurrence frequently in the oral environment. If there is an imbalance, the demineralization of the enamel is very compromised. The fact that decay of pits and fissures constitutes the majority of the cases in children, suggests the need to have a material and an adequate technique to facilitate the resolution of this type of injuries by means of simple maneuvers and with an optimal cost / performance ratio.

One of these materials is the Casein Phosphate Peptide (CPP) and Ammonium Calcium Phosphate (PCA) which are involved in the balance of the tooth remineralization process and is intended to repair the loss of minerals (Mi Varnish). **General objective:** To analyze the action of Casein Phosphate on dental remineralisation, in carious grooves of the teeth through the spectrophotometer and the Edax. **Materials and Methods:** Ninety teeth of the posterior sector (premolars and molars), extracted for orthodontic and surgical reasons, were selected, taking as inclusion criteria healthy and caries teeth codes 1, 2 and 3, that means, initial state according to system coding ICDAS II, 70 teeth were submitted to the sectioning, obtaining 140 experimental units (UE) to be observed under an electron microscope and 20 teeth were sprayed for analysis with the spectrophotometer. **Results:** spectrophotometer studies using FTIR (infrared spectroscopy) showed differences between the untreated and varnished teeth. Regarding the analysis with the Edax using the Student's T test, significant differences ( $p < 0.001$ ) were observed between the 1st and 2nd application of the varnish related to phosphorus (P) and calcium (Ca) respectively. The t-test ( $p < 0.05$ ) established significant fluoride differences between the first and second application of the varnish ( $t: 15.25$ ;  $p > 0.001$ ) and significant differences after removal of varnish for Ca and P de  $p < 0.001$ ). The presence of significant silica ( $t: -11.25$ ;  $p > 0.001$ ) was recorded between the 1st and 2nd application of the varnish. **Conclusions:** The application of varnish under study (Mi Varnish), would be effective by the incorporation of sodium fluoride (5% component thereof), maintaining calcium and phosphate levels (decreased by demineralization), thus suggesting the possibility of be used as a cariostatic, sealant of pits and fissures in carious furrows (code 3, according to ICDAS II), acting to stop demineralization, maintaining the expressed levels of calcium and phosphate in the different experimental units.

**Key wordsw:** Demineralization-remineralization - carious grooves - Casein phosphate.Espectrofotómetro.Edax.



## **DEDICATORIA**

A mis hijos SEBASTIÁN Y NICOLÁS

A mis queridos PADRES

*Es intentando lo imposible, como se realiza lo posible!*  
Henri Barbusse

## AGRADECIMIENTOS

A la Decana. Prof. Dra. Stella Maris Iriquín, Directora de este trabajo, por haberme guiado comprendiendo mis dificultades en este proceso, brindándome sus conocimientos y su afecto de siempre.

Al Vice Decano, Prof.Dr. Lazo Gabriel, Co-director del siguiente trabajo, por su dedicación y aportes que permitieron desarrollar y enriquecer esta investigación además de su incondicional amistad.

A la Facultad de Odontología de La Plata Autoridades actuales, gestión anterior especialmente a la Prof. Dra. María Mercedes Medina, bastión fundamental, incentivándome continuamente, para concluir con mi trabajo doctoral.

A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la FOLP, Prof.DraMerino,Graciela Prof.Dra.Micinquevich Susana,Prof. Dra.,Mayocchi Karina por su apoyo continuo.

Prof.Dra, Durso,Graciela, titular de la Asignatura Histología de la Folp, al Prof.Dr.Abal,Adrián, por facilitarme las instalaciones y materiales necesarios para concretar las actividades de laboratorio.

Prof. Dr. Oviedo Arévalo José, titular de la Asignatura Microbiología de la Folp y personal docente por brindarme su cordialidad en sus espacios de trabajo y recursos necesarios para llevar a cabo las diferentes actividades de laboratorio.

Al Prof. Dr. Lazo, Sergio, amigo, compañero, Titular de la Asignatura Odontología Preventiva y Social por alentarme demostrando su interés y considerar que mi proyecto era factible.

En especial agradezco la valiosa y desinteresada colaboración de la Od. Rocio, Fernández, docente de la Asignatura Odontología Integral Niños.

A la Prof. Dra. Estela Bonzo por realizar el análisis estadístico, fundamental para las conclusiones de esta tesis, alentándome demostrando su interés.

A mis amigos y compañeros, Saracino Horacio y Quevedo José, por su compañía incondicional en esta difícil tarea.

Laboratorio de Investigación de Metalúrgica Física (LIMF) responsable Ing. Llorente e Ing. Echarry Juan Manuel.

Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica (LEMIT). Ing. Ricardo Grammatico.

Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnologías de Pinturas (CIDEPINT) Prof. Roberto Romagnoli y Cerutti Claudio, que sin la intervención de cada uno de ellos, no hubiese concretado mis estudios fundamentales para el desarrollo de mi tesis doctoral.

A todos mis amigos y compañeros de trabajo, que creyeron en mí, alentándome incondicionalmente.

A mí querida Facultad de la Universidad Nacional de La Plata, pública, libre y gratuita, que me cedió el espacio durante tantos años, para desarrollar mi objetivo fundamental: ser docente y profesional.

Gracias.

## ÍNDICE GENERAL

<b>1- INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2- MARCO TEÓRICO</b> .....	6
<b>2.1- Embriología dentaria: Generalidades</b> .....	6
Morfogénesis del órgano dentario.....	7
Desarrollo y formación del patrón coronario.....	7
Estadio de brote o yema dentaria.....	9
Estadio de casquete.....	10
Estadio de campana.....	12
Estadio terminal o de folículo dentario.....	18
<b>2.2- Histogénesis: Formación del esmalte</b> .....	20
Ciclo vital del ameloblasto.....	20
Periodo morfogénico.....	20
Periodo de organización.....	21
Periodo formativo.....	21
Periodo maduración.....	22
Periodo de protección.....	22
Periodo desmolítico.....	23
Formación y maduración de la matriz orgánica.....	23
Desarrollo de los procesos de Tomes.....	23
Barras Terminales distales.....	24
Ameloblasto en proceso de maduración.....	24
Mineralización y maduración de la matriz del esmalte.....	24
<b>2.3- Ameloblasto maduro</b> .....	25
Estructura.....	25
Mecanismo de secreción.....	28
Exocitosis.....	29
Mineralización.....	30
Cristalización inorgánica inicial.....	31
Relación entre sustancia orgánica e inorgánica.....	31
Crecimiento de los cristales.....	32
Involución de los ameloblastos.....	34
Movimiento del ameloblasto.....	35
<b>2.4- Esmalte</b> .....	36
Propiedades físicas.....	36
Propiedades químicas.....	38
Estructura.....	40
Estructura submicroscópica.....	41
Orientación de los prismas.....	43
Estrías de Retzius.....	44
Bandas de Hunter-Shreger.....	46
Las periquimatías.....	48
Cutícula del esmalte.....	49

Laminillas o fisuras del esmalte.....	49
Penachos del esmalte o de Linderer.....	50
Límite amelodentinario.....	50
Fibrilla de Tomes y Husos adamantinos.....	51
Esmalte dentario. Zonas menos desmineralizadas.....	51
Histofisiología.....	54
Histología aplicada. Consideraciones clínicas.....	56
<b>2.5- Proceso de Desmineralización – Remineralización.....</b>	<b>57</b>
La saliva.....	59
Tratamiento con Caseín fosfato.....	63
Caseín fosfopéptidos.....	64
<b>3- FUNDAMENTACIÓN.....</b>	<b>68</b>
<b>4- OBJETIVOS.....</b>	<b>70</b>
Objetivo General.....	70
Objetivos Específicos.....	70
<b>5- HIPÓTESIS DE TRABAJO.....</b>	<b>71</b>
<b>6- MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>72</b>
<b>6.1- Método de diagnóstico clínico: ICDAS II.....</b>	<b>72</b>
<b>6.2- Instrumento de análisis de las unidades experimentales.....</b>	<b>73</b>
Durómetro.....	73
Espectrofotómetro.....	76
Microscopio Electrónico de Barrido.....	77
<b>6.3- Preparación de las muestras.....</b>	<b>82</b>
Corte de las unidades experimentales.....	83
Inclusión en resina acrílica.....	84
Lijado y pulido de las UE.....	85
Observación con lupa estereoscópica.....	86
Determinación de la microdureza.....	87
Aplicación del barniz.....	88
Secado de las UE: Silicagel.....	90
Metalización de las muestras.....	91
Estudio con Espectrofotómetro. Pulverización de las muestras.....	92
<b>7- RESULTADOS.....</b>	<b>94</b>
<b>7.1-Análisis Microdureza Vickers.....</b>	<b>94</b>
<b>7.2-Análisis con Espectrofotómetro.....</b>	<b>96</b>
<b>7.3-Microscopía electrónica de barrido y espectrometría dispersa en energía.....</b>	<b>102</b>
<b>7.4- Recolección de los datos.....</b>	<b>151</b>
<b>7.5- Análisis descriptivos de los datos.....</b>	<b>161</b>
<b>8- DISCUSIÓN.....</b>	<b>177</b>
<b>9- CONCLUSIÓN.....</b>	<b>180</b>
<b>10- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>182</b>

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Dureza Vickers del molar.....	95
Gráfico 2. Lineal. Análisis de las piezas dentarias con surcos cariados.....	96
Gráfico 3. Lineal. Análisis de surcos cariados con aplicación de barniz.....	97
Gráfico 4. Lineal. Análisis de piezas dentarias con surcos cariados.....	97
Gráfico 5. Lineal. Análisis de piezas dentarias con surcos cariados.....	98
Gráfico 6. Lineal. Análisis de surcos cariados con aplicación de barniz.....	98
Gráfico 7. Lineal. Surcos cariados con aplicación de barniz.....	99
Gráfico 8. Lineal. Comparación de piezas dentarias sanas y con caries.....	99
Gráfico 9. Lineal. Grado de absorción del barniz, en surcos cariados.....	100
Gráfico 10. Lineal. Aplicación de barniz en surcos cariados con su precipitación.....	101
Gráficos 11 a 15. Esmalte sano sin evidencia clínica.....	106-110
Gráficos 16 a 19. Surcos cariados.....	116-119
Gráficos 20 a 30. Surcos cariados 1ra aplicación de barniz.....	125-135
Gráficos 31 a 34. Surcos cariados 2da aplicación de barniz.....	138-141
Gráficos 35 a 40. Retiro del Barniz.....	145-150

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Codificación ICDAS II.....	72
Tabla 2. Valores microdureza Vickers.....	94
Tabla 3. Tabulación de piezas dentarias sanas AT%.....	151
Tabla 4. Tabulación de piezas dentarias cariadas AT%.....	152
Tabla 5. Tabulación de piezas dentarias cariadas con primera aplicación de barniz.....	153
Tabla 6. Tabulación de piezas dentarias cariadas con segunda aplicación de barniz.....	154
Tabla 7. Tabulación de piezas dentarias sanas WT%.....	155
Tabla 8. Tabulación de piezas dentarias cariadas WT%.....	156
Tabla 9. Tabulación de piezas dentarias cariadas con primera aplicación de barniz.....	157
Tabla 10. Tabulación de piezas dentarias cariadas con segunda aplicación de barniz.....	158
Tabla 11. Tabulación de piezas dentarias post-barniz AT%.....	159
Tabla 12. Tabulación de piezas dentarias post-barniz WT%.....	160

## 1 - INTRODUCCIÓN

Es una preocupación histórica la presencia de caries, que ocasiona un problema grave de salud pública. El diagnóstico de la caries dental ha sido considerado como uno de los tópicos de mayor relevancia en Odontología, debido a que en las últimas décadas grandes avances han ocurrido en el área de la prevención, trayendo consigo algunos cambios de comportamiento frente al diagnóstico y al tratamiento de las lesiones de caries. Los objetivos de un correcto diagnóstico en cariología son los de determinar la presencia o ausencia de la enfermedad, su extensión, localización, teniendo como parámetros los signos y síntomas, permitiendo seleccionar el tratamiento más eficaz que determine un pronóstico más favorable, monitorear el curso de la enfermedad, evaluar el aspecto terapéutico adoptado y determinar la presencia de factores que puedan favorecer el establecimiento y la evolución de la enfermedad. (1) (2)

La caries constituye el mayor problema de salud bucal, siendo diagnosticada luego de la verificación clínica de algún grado de destrucción de la estructura dental sin incorporar ningún tipo de medida preventiva. Por lo tanto, en ocasiones es el proceso de remineralización y desmineralización los que actúan evitando su instalación. (3) (4)

La desmineralización y remineralización del esmalte son procesos naturales que se encuentran en balance y ocurre de manera frecuente en el medio oral. Si se produce un desequilibrio, la desmineralización del esmalte está altamente comprometida. El hecho de que la caries de fosas y fisuras constituya la mayor parte de los casos en niños, sugiere la necesidad de disponer de un material y una técnica adecuada para facilitar la resolución de dicho tipo de lesiones por medio de maniobras sencillas y con una óptima relación costo/rendimiento. (5)

¿Cómo podemos ayudar a que se produzca este fenómeno de remineralización?

Uno de los elementos es el Péptido Caseína Fosfato (CPP)<sub>1</sub> y Fosfato de Calcio Amonio (ACP) que intervienen en el balance del proceso remineralización del diente y tiene por objeto reparar la pérdida de minerales. Tiene su efecto remineralizante en una solución poco concentrada (0.5-1 % de CPP-ACP) equivalente a 500 ppm de fluoruros inhibiendo también la adherencia de la placa al diente. Por lo tanto, el tratamiento estará centrado en el Caseín fosfato y su acción remineralizante. (6)

La caries dental es un proceso infeccioso que afecta al 95% de la población y con mayor frecuencia a las superficies oclusales de molares permanentes, debido a su complejidad anatomotopográfica por cuanto la detección de lesiones oclusales es difícil de determinar (7). En la medida que el diagnóstico de caries de fosas y fisuras se realice con

criterio preventivo, éste se efectúa más precozmente. Sin embargo, existen dificultades, debidas principalmente, a un cambio en los patrones clínicos de la presentación de la caries en sus etapas iniciales y a la acción de los fluoruros en la remineralización del esmalte. (8) (9)

Las caries dentales que no son detectables clínicamente presentan una desmineralización subsuperficial del esmalte que solo será observada por métodos microscópicos, el avance de esta lesión lleva a una cavitación superficial, la cual puede ser detectada por inspección visual (10) (11) (12). A través de la utilización del sistema ICDAS II, se clasificarán las lesiones cariosas no cavitadas y cavitadas en esmalte. (13). Es un sistema internacional de detección y diagnóstico de caries siendo su objetivo, diagnosticarla visualmente, para establecer su severidad y detectarla lo más temprano posible, implementando un nuevo paradigma del manejo de la caries dental y sus consecuencias. El código ICDAS II, se basa en el correcto y oportuno diagnóstico del proceso de enfermedad y su prevención, con un minucioso diagnóstico de las lesiones de caries, incluyendo 6 códigos, relacionándose con el grado de cavitación clínicamente visible, permitiendo detectar a tiempo, lesiones iniciales y evitar pérdidas extensas de tejido.

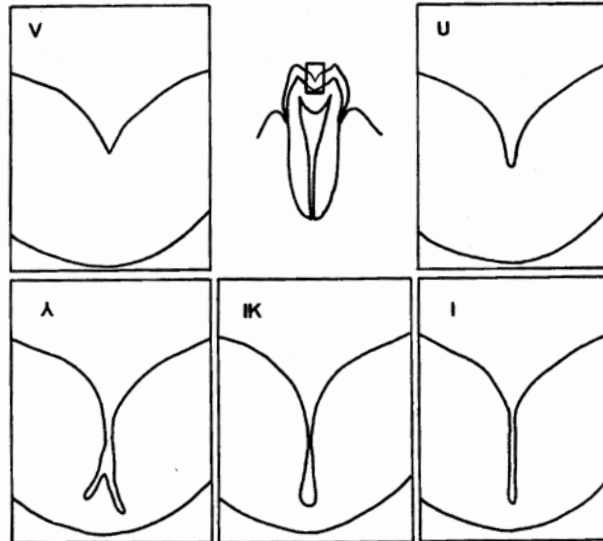
Para el análisis sistemático entre el aspecto clínico e histológico del estado progresivo de la caries dental, es indispensable conocer e interpretar las características estructurales, fisicoquímicas y biológicas del tejido adamantino en estado de salud. El esmalte presenta características especiales que lo individualizan respecto a los demás tejidos del genoma. Es el tejido más duro, frágil y altamente mineralizado. Debido a su complejidad química y a su comportamiento biológico ha sido estudiado por numerosos investigadores (14). El problema a conocer es la importancia que tienen las estructuras del esmalte en relación a la susceptibilidad cariosa y establecer si las mismas corresponden a un factor constitutivo. (15)

La superficie oclusal, debido a su compleja morfología favorece el acúmulo y retención del biofilm dental aumentando así su vulnerabilidad a la instalación de lesiones cariosas. La localización y anatomía de la superficie oclusal también favorecen a la retención y disponibilidad del sustrato cariogénico además de dificultar, o incluso imposibilitar la higiene de fosas y fisuras (el diámetro de una cerda del cepillo dental es mayor que el diámetro de las fisuras (16). Éstas fueron inicialmente consideradas como un defecto estructural del esmalte formadas por las invaginaciones del órgano del esmalte durante la odontogénesis siendo zonas retentivas, proclives a desarrollar caries. Los



estudios sobre fosas y fisuras conocidos en la literatura tratan de sus formas y profundidades, capacidad de penetración de materiales selladores, de la microfiltración de éstos, de la supervivencia bacteriana en molares sellados y de nuevos materiales con características cariostáticas (17); sin embargo, todos abordan el tema desde la perspectiva de órganos dentales permanentes y del riesgo de caries. Las estructuras del esmalte se han discutido y tratado de relacionar con los eventos metabólicos del esmalte que tienen manifestaciones clínicas que pueden significar riesgos o mecanismos de resistencia ante procesos cariogénicos. Las dificultades técnicas que obstaculizan su estudio a fondo se deben a la variabilidad de espesor, los diferentes ángulos de observación, las limitaciones para obtener cortes de estructuras mineralizadas, su refractividad confusa y las imágenes bidimensionales limitan la comprensión de la anatomía microscópica del esmalte. No obstante, lo anterior, la exploración de las estructuras dentales de la dentición, continúa sin abordarse como un problema de investigación que puede dar paso al desarrollo de nuevas perspectivas para la interpretación de los altos índices de prevalencia de caries y proponer nuevos protocolos de diagnóstico y atención preventiva de las lesiones incipientes. El conocimiento de las características morfométricas de las fosas y fisuras del esmalte permitirá conocer las limitaciones de los materiales sellantes, y reconsiderar los protocolos de indicaciones y contraindicaciones. (18)

La importancia de la forma retentiva de las fisuras como un factor de riesgo para caries, llevó a algunos investigadores a analizar la forma de ellas. La clasificación más conocida de su morfología, es la de Nagano (19), quien las clasifica por su forma en los siguientes tipos: tipo V o gradualmente angostas; tipo U de piso tan ancho como su entrada; tipo I extremadamente angostas; tipo IK o de cuello de botella, como se muestra en la figura 1.



*Fig. 1. Esquema de diversos tipos de fosa o fisuras oclusales. Estas fisuras pueden llegar a medir hasta 1.5 mm y el cepillo dental solamente llega a 0.4 mm de profundidad. Por lo tanto la indicación de sellantes para prevenir caries ha sido una medida de gran utilidad. (Foto tomada de Newbrun E. Cariology, Quintessence Books, Chicago, 1989)*

El contexto morfométrico y la posición de los molares en los arcos dentales son importantes en el análisis del riesgo para el desarrollo de lesiones cariosas. La presencia per sé de las fosas y fisuras del esmalte no es suficiente para determinar el riesgo de la aparición de lesiones cariosas; la altura de las cúspides y el ángulo de inclinación, son elementos que deben considerarse también, ya que la fuerza con la que son triturados y compactados los alimentos en las caras oclusales es mayor en tanto más altas sean las cúspides, profundos y anguladas las paredes cúspideas respecto a su base en el fondo de su intersección con otras, lugar donde aparecen los surcos de desarrollo, la fosa central en la zona de un valle donde los alimentos pueden ser suficientemente compactados, refiriendo así el 83% de los casos de caries en caras oclusales. Clínicamente se trata de relacionar a los ángulos de los planos inclinados de las cúspides con la posibilidad de formación de lesiones cariosas en el esmalte donde se unen las bases cúspidea sobre todo de las primeras y segundos molares permanentes. (20)

Por otro lado, el grosor de la capa del esmalte del fondo de las fisuras es otro factor que las hace especialmente susceptibles al desarrollo de caries. La odontotomía profiláctica fue una técnica desarrollada para tratar en toda su capacidad las formas de las fisuras con el objetivo de sellar cualquier filtración hacia los tejidos subyacentes. Se demostró que el piso de las fisuras no es regular presentando oscilaciones de altura, donde el esmalte

sensiblemente más delgado, contiene restos de materia orgánica, siendo más profundas las que abarcan la mayoría del espesor de la capa del esmalte. Existen dos clasificaciones de la profundidad de fosas y fisuras; Cruvivelet et al., las clasifican en:

Superficiales: cuando abarcan menos del 56% de penetración en la superficie del esmalte.

Medias: cuando penetran en el esmalte del 56% al 78%.

Profundas: cuando abarcan del 79% al 100% en el grosor del esmalte. Symons et al, las consideró como hendidas y no hendidas.

En las primeras consideró solo a las superficiales. Las intermedias son las que tienen hasta 100  $\mu$ m de profundidad y las profundas exceden de las 100  $\mu$ m.

Investigadores (20) afirman que las estructuras de las fisuras oclusales varían de un órgano dental a otro. Actualmente existen todavía limitaciones técnicas, que implica el análisis de las estructuras dentales mineralizadas y las descripciones histológicas disponibles son de la dentición permanente en la etapa pre-eruptiva. El conocimiento de estas características llevo a la búsqueda de encontrar componentes que actúen interceptando la evolución de la caries dental, tales como el flúor y el fosfopéptido de caseína –fosfato de calcio amorfo (CPP- ACP) aplicado en los últimos tiempos en la presencia de manchas blancas. Los fluoruros actúan estabilizando el proceso cíclico de desmineralización y remineralización y en el caso de las caseínas, estudios recientes han demostrado que los nanocomponentes del CPP-ACP, intervienen previniendo la desmineralización y promoviendo la remineralización del esmalte, estabilizando los iones de calcio y haciéndolos solubles para que el esmalte pueda remineralizar. Al mismo tiempo, también este complejo CPP-ACP podría tener un efecto sinérgico con los iones de flúor. (21) (22)

La Odontología, así se orienta como área de la ciencia de la salud hacia una filosofía preventiva, poniendo énfasis en los programas de prevención odontológica buscando mejorar la salud y calidad de vida del individuo dejando de lado el tratamiento curativo y la etiología de las enfermedades. (23) (24)

## 2 - MARCO TEÓRICO

### 2.1 - Embriología Dentaria: Generalidades.

En el curso del desarrollo de los órganos dentarios humanos aparecen sucesivamente dos clases de dientes: los dientes primarios y los permanentes o definitivos. Ambos se originan de la misma manera y presentan una estructura histológica similar.

Los dientes se desarrollan a partir de brotes epiteliales que normalmente, empiezan a formarse en la porción anterior de los maxilares y luego avanzan en dirección posterior. Poseen una forma determinada de acuerdo con el diente al que darán origen y tienen una ubicación precisa en los maxilares, pero todos poseen un plan de desarrollo común que se realiza en forma gradual y paulatina. Las dos capas germinativas que participan en la formación de los dientes son: el epitelio ectodérmico, que origina el esmalte, y el ectomesénquima que forma los tejidos restantes (complejo dentinopulpar, cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar).

Son numerosos los mecanismos que guían y controlan el desarrollo dental, pero es el fenómeno inductor, el esencial para el comienzo de la organogénesis dentaria.

En la odontogénesis, el papel inductor desencadenante es ejercido por el ectomesénquima o mesénquima cefálica, denominado así porque son células derivadas de la cresta neural que han migrado hacia la región cefálica, este ectomesénquima ejerce su acción inductora sobre el epitelio bucal de, origen ectodérmico, que reviste al estomodeo o cavidad bucal primitiva.

La acción inductora de la mesénquima ejercida por diversos factores químicos en las distintas fases del desarrollo dentario y la interrelación, a su vez, entre el epitelio y las diferentes estructuras de origen ectomesenquimático (que surge como consecuencia de la odontogénesis), conducen hacia una interdependencia tisular o interacción epitelio-mesénquima, mecanismo que constituye la base del proceso de formación de los dientes.

En dicho proceso vamos a distinguir dos grandes fases:

1) la morfogénesis o morfo diferenciación que consiste en el desarrollo y la formación del patrón coronario y radicular, como resultado de la división, el desplazamiento y la organización en distintas capas de las poblaciones celulares, epiteliales y mesenquimatosas, implicadas en el proceso.

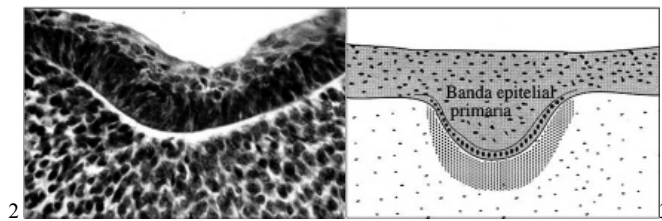
2) la histogénesis o cito diferenciación que conlleva la formación de los distintos tipos de tejidos dentarios: el esmalte, la dentina y la pulpa en los patrones previamente formación. (25) (26)

- Morfogénesis del órgano dentario.
  - Desarrollo y formación del patrón coronario

El ciclo vital de los órganos dentarios comprende una serie de cambios químicos, morfológicos y funcionales que comienzan en la sexta semana de vida intrauterina (cuarenta y cinco días aproximadamente) y que continúa a lo largo de toda la vida del diente. La primera manifestación consiste en la diferenciación de la lámina dental o listón dentario, a partir del ectodermo que tapiza la cavidad bucal primitiva o estomodeo.

El epitelio ectodérmico bucal en este momento está constituido por dos capas: una superficial de células aplanadas y otra basal de células altas, conectadas al tejido conectivo embrionario o mesénquima por medio de la membrana basal (MB). Se postula hoy que la MB constituye un factor importante para la diferenciación celular y organogénesis dental, de acuerdo con los resultados de los trabajos de cultivos celulares sobre inducción epitelio-mesénquima.

Inducidas por el ectomesénquima subyacente las células basales de este epitelio bucal proliferan a todo lo largo del borde libre de los futuros maxilares, dando lugar a dos nuevas estructuras: la lámina vestibular y la lámina dentaria. (Figuras 2 y 3)



*Figuras 2 y 3. Formación de la Banda Epitelial Primaria (4<sup>a</sup> – 6<sup>a</sup> semana)*

*(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*

Lámina vestibular: sus células proliferan dentro del ectomesénquima, se agrandan rápidamente, degeneran y forman una hendidura que constituye el surco vestibular entre el carrillo y la zona dentaria.

Lámina dentaria: merced a una actividad proliferativa intensa y localizada, en la octava semana de vida intrauterina, se forman en lugares específicos 10 crecimientos epiteliales dentro del ectomesénquima de cada maxilar, en los sitios correspondientes a los 20 dientes deciduos. De esta lámina, también se originan los 32 gérmenes de la dentición permanente alrededor del quinto mes de gestación. Los primordios se sitúan por lingual o palatino en relación a los elementos primarios. Los molares se desarrollan por extensión distal de la lámina dental. (Figuras 4.A y 5)

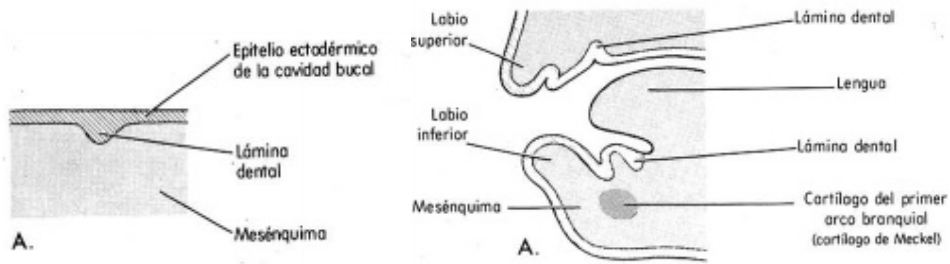


Fig. 4. A Formación de la lámina dentaria (6ª semana)

(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

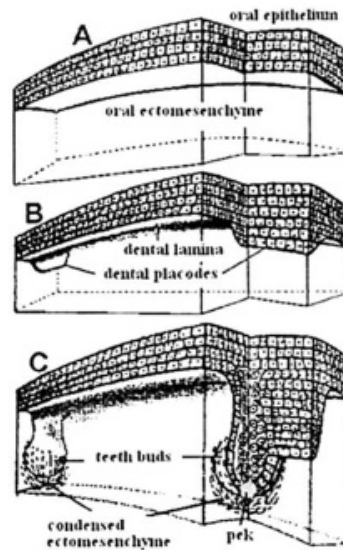


Fig. 5. Formación de láminas dentarias (6ª semana)

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

El indicio del primer molar permanente existe ya en el cuarto mes de vida intrauterina. Los molares segundo y tercero comienzan su desarrollo después del nacimiento, alrededor de los cuatro o cinco años de edad (Figura 6). (25) (26) (27)

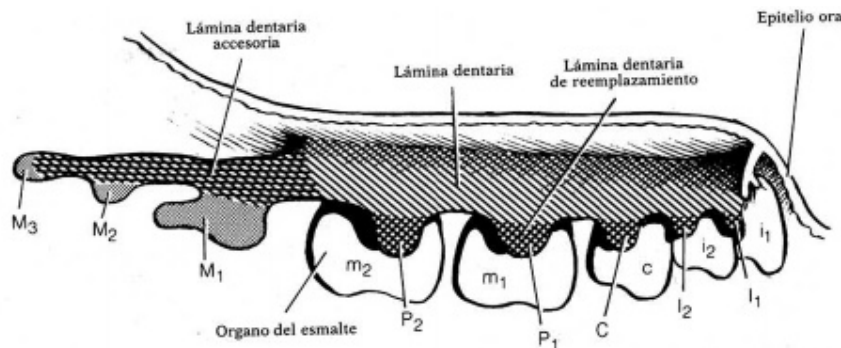


Fig.6. Láminas dentarias: dientes primarios, permanentes de recambio, molares permanentes

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

Los gérmenes dentarios siguen en su evolución una serie de etapas que, de acuerdo a su morfología, se denominan: estadio de brote macizo (o yema), estadio de casquete, estadio de campana y estadio de folículo dentario, terminal o maduro:

- Estadío de brote o yema dentaria

El período de iniciación y proliferación es breve y casi a la vez aparecen diez yemas o brotes en cada maxilar. Son engrosamientos de aspecto redondeado que surgen como resultado de la división mitótica de algunas células de la capa basal del epitelio en las que se asientan el crecimiento potencial del diente. Estos serán los futuros órganos del esmalte que darán lugar al único tejido de naturaleza ectodérmica del diente, el esmalte.

La estructura de los brotes es simple, en la periferia se identifican células cilíndricas y en el interior son de aspecto poligonal con espacios intercelulares muy estrechos. Las células del ectomesénquima subyacente se encuentran condensadas por debajo del epitelio de revestimiento y alrededor del brote epitelial. (fig.7 y 8)

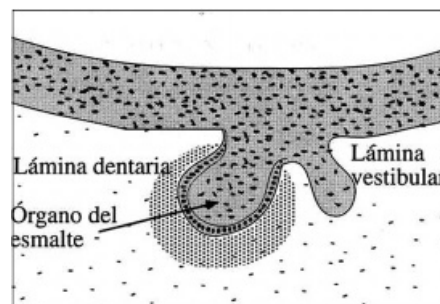


Fig. 7. Período de botón, yema o brote

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

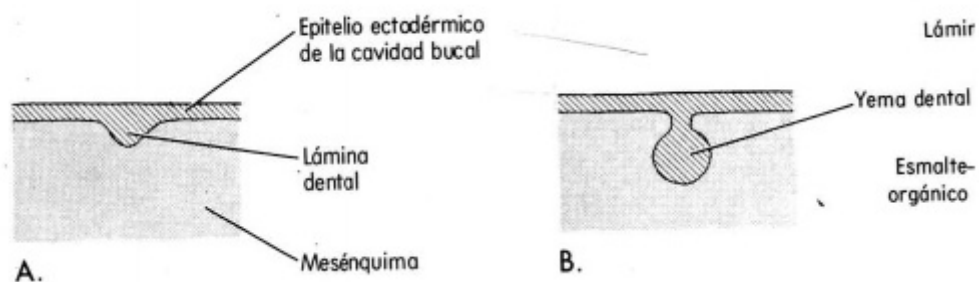


Fig. 8. A y B Período de botón, yema o brote (7ª – 8ª semana)

(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

Desde el punto de vista histoquímico esta etapa se caracteriza por un alto contenido en glucógeno, típico de los epitelios en proliferación. Las granulaciones PAS+ (tinción histoquímica, (Periodic Acid Schiff) son abundantes en las capas intermedias y muy

escasas o nulas en las células basales. Se destacan nítidamente la PAS positividad de la membrana basal. (25) (26) (27)

- Estadio de casquete

La proliferación desigual del brote a expensas de sus caras laterales o bordes, determina una concavidad en su cara profunda por lo que adquiere el aspecto de un verdadero casquete. Su concavidad central encierra una pequeña porción del ectomesénquima que lo rodea; es la futura papila dentaria, que dará origen al complejo dentinopulpar.

Histológicamente podemos distinguir las siguientes estructuras en el órgano del esmalte u órgano dental:

A) Epitelio externo

B) Epitelio interno

C) Retículo estrellado

a) El epitelio externo del órgano del esmalte está constituido por una sola capa de células cuboides bajas, dispuestas en la convexidad que están unidas a la lámina dental por una porción del epitelio, llamado pedículo epitelial.

b) El epitelio interno del órgano del esmalte se encuentra dispuesto en la concavidad y está compuesto por un epitelio simple de células más o menos cilíndricas bajas. Estas células aumentarán en altura, en tanto su diferenciación se vuelve más significativa, se diferencian en ameloblastos, de ahí que suele denominarse epitelio interno, preameloblástico o epitelio dental interno. El contenido de ácido ribonucleico (ARN) y la actividad de las enzimas hidrolíticas y oxidativas, determinados por medios histoquímicos se incrementa en el estadio de casquete a medida que las células preameloblástico del epitelio interno se alargan.

c) Entre ambos epitelios, por aumento del líquido intercelular, se forma una tercera capa: el retículo estrellado, constituido por células de aspecto estrellado cuyas prolongaciones se anastomosan formando un retículo. Las células están unidas mediante desmosomas, conformando una red celular continua.

Los espacios intercelulares están ocupados por un líquido de aspecto y consistencia mucosoide, por lo que se ha llamado también gelatina del esmalte. Químicamente esta matriz extracelular hidrófila es rica en glicosaminoglicanos, fundamentalmente en ácido hialurónico. La captación de agua conlleva a la separación de las células y a un aumento



del espacio extracelular lo que, por ende, hace que las células tomen una forma estrellada. A esta capa se la asigna función metabólica y morfogenética.

El tejido conectivo embrionario o mesénquima que hay en el interior de la concavidad, por influencia del epitelio proliferativo se condensa por división celular y aparición activa de capilares, dando lugar a la papila dentaria; futura formadora del complejo dentinopulpar.

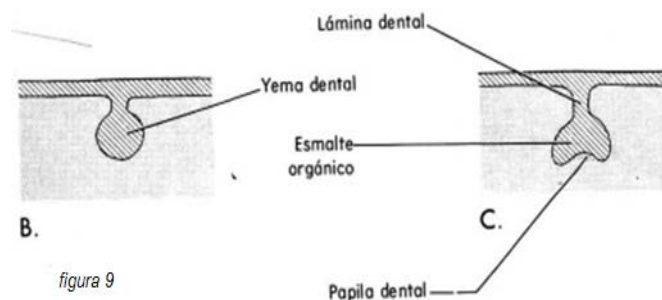
Las células mesenquimatosas de la papila dentaria son grandes, de citoplasma moderadamente basófilo y núcleos voluminosos, existe abundante sustancia fundamental, rica en glicosaminoglicanos, que ofrece un carácter metacrómico con azul de toluidina.

La papila se encuentra separada del epitelio interno del órgano del esmalte por una membrana basal, que representa la localización de la futura conexión amelodentinaria.

El tejido mesenquimático que se encuentra inmediatamente por fuera del casquete, rodeándolo casi en su totalidad, salvo en el pedículo, también se condensa volviéndose fibrilar y forma el saco dentario primitivo o folículo dental. El órgano del esmalte, la papila y el saco constituyen en conjunto el germen dentario.

Al finalizar esta etapa comienza a insinuarse, en el epitelio interno del órgano del esmalte, un acúmulo de células de donde parte una prolongación celular llamada cuerda del esmalte, que termina en una muesca en el epitelio externo, conocida como el ombligo del esmalte. Estas estructuras son temporales, pues más tarde sufren una regresión o involución, se las vincula con la morfogénesis coronaria. El nudo del esmalte se considera centro regulador de la morfología dentaria a través de producción de factores que participan en la interrelación epitelio-mesénquima. En los dientes molares multicuspidos existen nudos de esmalte secundario que regulan la morfogénesis de cada región cuspidada.

En resumen, tenemos en esta etapa de casquete tres estructuras embrionarias fundamentales para el desarrollo dentario, tal como se expresa en las siguientes imágenes. (Figuras 9 B y C; 10 y 11).



*Fig 9 B y C. Período de casquete o caperuza (9<sup>a</sup> – 13<sup>a</sup> semana)*

*En la 9<sup>o</sup> semana, la superficie profunda del botón se invagina formando un capuchón.*

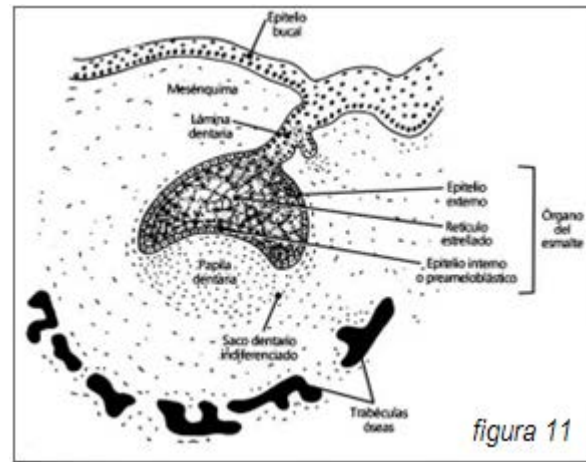
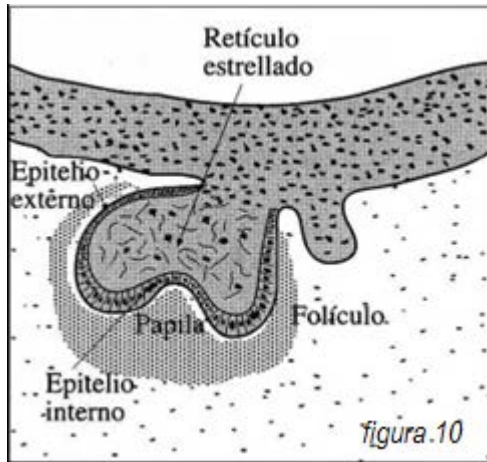


Fig. 10 y 11. Período de casquete o caperuza (9<sup>a</sup> – 13<sup>a</sup> semana)

(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea)

### Órgano del esmalte

Origen: ectodermo

- a) epitelio externo
- b) retículo estrellado
- c) epitelio interno o pre ameloblasto

### Esbozo de papila dentaria

Origen: ectomesénquima

### Esbozo de saco dentario

Origen: ectomesénquima

Estas estructuras por cambios morfológicos, químicos y funcionales darán origen a todos los tejidos dentarios y peri dentarios. (25) (26) (27)

### - Estadio de campana

Ocurre sobre las catorce a dieciocho semanas de vida intrauterina. Se acentúa la invaginación del epitelio interno adquiriendo el aspecto típico de una campana.

En este estadio es posible observar modificaciones estructurales e histoquímicas en el órgano del esmalte, papila, saco dentario respectivamente. El desarrollo del proceso permite considerar en el estadio de campana una etapa inicial y otra más avanzada, donde se hacen más evidentes los procesos de morfo e histodiferenciación.

Órgano del esmalte: en la etapa inicial, el órgano del esmalte presenta una nueva capa: el estrato intermedio, situada entre el retículo estrellado y epitelio interno. La

presencia de esta estructura celular en el órgano del esmalte es un dato muy importante para realizar un diagnóstico histológico diferencial con la etapa anterior de casquete.

De manera que en este período embrionario el órgano del esmalte está constituido por:

A) Epitelio externo: las células cúbicas se han vuelto aplanadas tomando el aspecto de un epitelio plano simple. Al final de esta etapa el epitelio presenta pliegues debido a invaginaciones o brotes vasculares provenientes del saco dentario, que asegura la nutrición del órgano del esmalte, que como todo epitelio es avascular. La invasión vascular es más evidente en la fase previa al comienzo de la secreción de esmalte.

B) Retículo estrellado: es notable el aumento de espesor por el incremento del líquido intercelular, pero al avanzar el desarrollo su espesor se reduce a nivel de las cúspides o bordes incisales. En dichas zonas, donde comienza a depositarse las primeras laminillas de dentina, se corta la fuente de nutrientes del órgano del esmalte proveniente de la papila. Esta reducción del aporte nutricio ocurre en el momento en que las células del epitelio interno están por segregar esmalte, por lo que hay una demanda aumentada de nutrientes. Para satisfacerla, el retículo estrellado se adelgaza permitiendo un mayor flujo de elementos nutricionales desde los vasos sanguíneos del saco dentario hacia las células principales o ameloblastos que sintetizarán la matriz del esmalte. La apoptosis en las células retículo estrellado contribuye a la regresión del mismo, células de naturaleza macrofágica que proceden de los vasos periféricos penetran en la estructura epitelial y fagocitan los restos celulares.

C) Estrato intermedio: entre el epitelio interno y el retículo estrellado, aparecen varias capas de células. (Fig.12, 13 y 14)

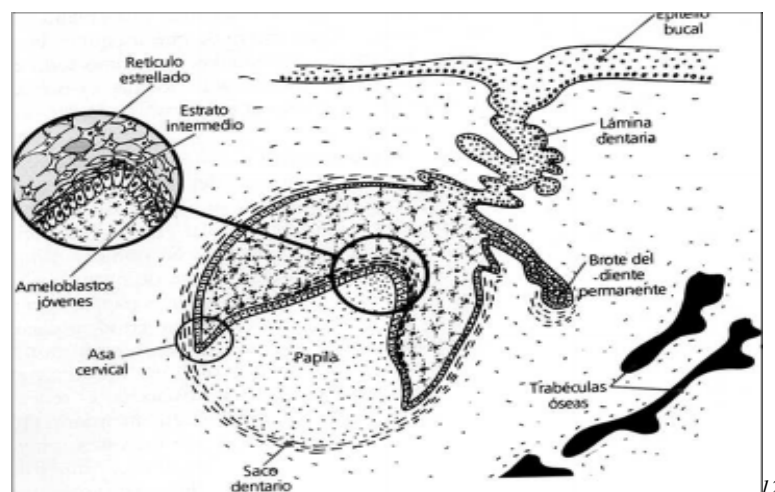
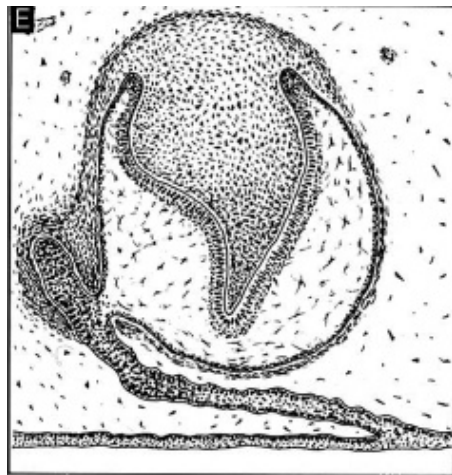
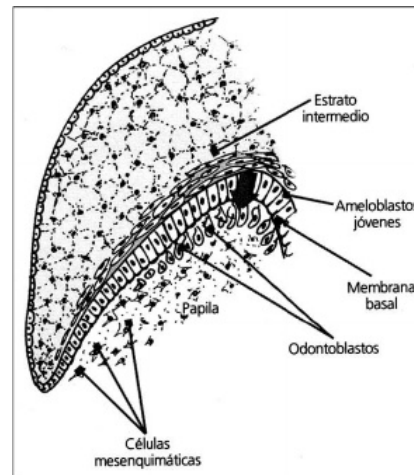


Figura 12. Período de campana (14ª – 18ª semana)

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)



13



14

*Figuras 13 y 14. Período de campana (14<sup>a</sup> – 18<sup>a</sup> semana)*

*(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*

Este estrato es más evidente por el mayor número de capas celulares, sitio que corresponderá a las futuras cúspides o bordes incisales.

En general está formado por cuatro o cinco hileras de células planas con núcleos centrales alargados. Ultra estructuralmente las organelas están poco desarrolladas y no presentan polaridad funcional.

Las relaciones intercelulares presentan desmosomas y estructuras de cierre hermético. Se han observado mitosis y debido a este hecho varios investigadores sugieren que algunos de sus elementos celulares pueden transformarse en ameloblastos.

Por otra parte, las células del estrato intermedio en el estadio de campana tienen marcada actividad enzimática fosfatasa alcalina positiva, mientras que los ameloblastos carecen de esta enzima, por lo que se postula que el estrato intermedio participa indirectamente en la amelogénesis.

Las células planas del estrato intermedio mantienen relaciones intercelulares, a través de desmosomas, tanto con las células del retículo, como con los ameloblastos. Cada célula del estrato intermedio está, al parecer, relacionada con seis ameloblastos.

Al finalizar esta etapa de campana, cuando comienza la histogénesis o aposición de los tejidos duros dentarios, el estrato se vincula estrechamente con los vasos sanguíneos provenientes del saco dentario, asegurando no solo la vitalidad de los ameloblastos, sino controlando el paso del aporte de calcio, del medio extracelular al esmalte en formación. Esto demuestra o sugiere el importante papel del estrato intermedio durante la etapa de secreción y mineralización del esmalte.

D) Epitelio interno: las células del epitelio interno o pre ameloblastos se diferencian en ameloblastos jóvenes, son células cilíndricas bajas y sus órganos no presentan en esta fase una orientación definida.

Raschkow advirtió en este periodo morfogénético, una condensación de fibras argirofílicas por debajo y adyacente al epitelio interno del órgano del esmalte, ésta condensación se denominó membrana preformativa y actualmente recibe el nombre de lámina basal ameloblástica. Distintos autores (28) (29) coinciden en afirmar que con microscopía electrónica esta membrana, situada debajo del epitelio dental interno, es una típica membrana basal a la que se añade un material finamente filamentoso, que incrementan su espesor en 1 u, y por debajo de la cual se localizan algunas fibras colágenas.

In vitro la membrana basal es continua durante la diferenciación odontoblástica y el colágeno asociado, tiene una función importante en el desarrollo dentario, pues la interferencia en su depósito por el agregado de distintos agentes destructores del colágeno al medio de cultivo, inhibe la morfogénesis dental. Heilinheimo afirma que el colágeno tipo IV es el componente estructural más importante de esta membrana basal y dado que la colagenasa tipo IV está también presente en la membrana basal, se sugiere que la misma participa en la remodelación y degradación de la lámina basal durante la morfogénesis dentaria humana.

La lámina basal ameloblástica (LBS) futura conexión amelodentinaria, presenta cambios químicos y ultra estructurales. Al microscopio electrónico de transmisión (MET) se ha demostrado que en gérmenes dentarios humanos y de animales, tanto la LBS, como el material filamentoso adyacente son absorbidas, de acuerdo con Garbasch por los ameloblastos secretores.

En este período de campana se determina, además, la morfología de la corona por acción o señales específicas del ectomesénquima adyacente o papila dental sobre el epitelio interno del órgano dental. Ello conduce a que esta capa celular se pliegue, dando lugar a la forma, número y distribución de las cúspides, según el tipo de elemento dentario a que dará origen, es decir, que el modelo o patrón coronario se establece antes de comenzar la aposición y mineralización de los tejidos dentales.

Al avanzar en el estado de campana, los ameloblastos jóvenes ejercen su influencia inductora sobre la papila dentaria. Las células superficiales ectomesenquimático indiferenciadas se diferencian en odontoblastos que comenzarán luego a sintetizar dentina. En este momento los ameloblastos jóvenes en vías de diferenciación están separados de los

ameloblastos por la membrana basal. A través de la membrana pasan los nutrientes desde la papila hacia el epitelio interno o ameloblástico.

En la capa de campana avanzada y antes de que los odontoblastos empiecen a sintetizar y secretar la matriz dentaria, los ameloblastos jóvenes, que por citodiferenciación han adquirido el aspecto de células cilíndricas, experimentan un cambio de polaridad de sus organoides. Microscópicamente lo más evidente es la migración del núcleo de su localización central a la región distal de la célula próxima al estrato intermedio, los ameloblastos adquieren todas las características de una célula secretora de proteínas, pero no llevan aún a cabo ninguna función. Permanecen inactivos hasta que los odontoblastos hayan secretado la primera capa de dentina. De manera que al final del estadio de campana, los ameloblastos jóvenes se han transformado por citodiferenciación en ameloblastos secretores o maduros.

Los ameloblastos que han experimentado su diferenciación bioquímica terminal son células cilíndricas de aproximadamente 60  $\mu\text{m}$  de altura y de 4 a 5  $\mu\text{m}$  de ancho, la estructura y la ultraestructura del ameloblasto maduro es la de una célula secretora para exportación por el mecanismo de exocitosis. Se caracteriza, además, por presentar en la región proximal, libre o secretora una prolongación cónica llamada proceso de Tomes, que desempeña una función esencial en la síntesis y secreción del esmalte prismático. El proceso de Tomes contiene en su interior además del cito esqueleto, mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso y los cuerpos ameloblástico. Estos cuerpos al MET están rodeados de membrana y contienen un material finamente granular. Son considerados como precursores intracelulares de la futura matriz orgánica extracelular. No se ha determinado aún su composición exacta, aunque se ha identificado proteínas, grupos de sulfuros y calcio en forma soluble. En el citoplasma del proceso de Tomes y durante la secreción se ha demostrado la presencia de parvalbúmina, proteína que regula el paso del calcio del medio intracelular al extracelular.

Como consecuencia del depósito dentinario la nutrición de los ameloblastos se realiza ahora e expensas del estrato intermedio y no de la papila, como ocurriría al iniciarse este período, previo a la dentinogénesis. La unión de los ameloblastos con las células del estrato intermedio se realiza mediante desmosomas. También se han observado numerosas uniones de tipo comunicante que favorecerían el paso de iones especialmente de calcio. Se postula que el transporte de iones hacia los ameloblastos se produciría cuando las células del estrato intermedio alcanzan los máximos niveles enzimáticos de fosfatasa alcalina y

adenosíntrifosfatasa (ATPasa), enzimas que participan en el mecanismo de calcificación del esmalte.

Es necesario recalcar que los ameloblastos sintetizan la matriz del esmalte cuando se han formado las primeras capas de dentina calcificada. Esto, es otro ejemplo típico de inducción recíproca. (29)

Las principales características citoquímicas de los ameloblastos secretores son las siguientes: los ameloblastos en la etapa de campana ofrecen una marcada basofilia citoplasmática fácilmente evidenciable con azul de toluidina. La detección de fosfatasa alcalina y glucógeno en los ameloblastos fue, en cambio, negativa al comenzar la secreción del esmalte. Ten Cate postula que los ameloblastos usarían el glucógeno almacenado para cubrir sus requerimientos metabólicos, como consecuencia del cambio y reducción del aporte nutricional sumado a una mayor demanda de nutrientes necesario para iniciar la amelogenesis. La carencia de glucógeno en el epitelio dental interno y en la mesénquima adyacente en esta etapa inicial de la morfogénesis ha sido relacionada por otros autores con la intensa actividad de interrelación molecular epitelio-mesénquima que se desarrolla a este nivel.

Mediante técnicas inmunohistoquímicas se ha observado que el esmalte contiene fibronectina. Este hallazgo induce a sugerir que los ameloblastos son productores de fibronectina o una sustancia similar a la misma.

E) Saco dentario: en la etapa de campana es cuando más se pone de manifiesto su estructura. Está formado por dos capas: una interna célula-vascular y otra externa o superficial con abundantes fibras colágenas. Las fibras colágenas y precólagenas se disponen en forma circular envolviendo al germen dentario en desarrollo, de ahí proviene la denominación de saco dentario. La colágena presente en este nivel es de tipo I y III.

Tanto la inervación, como la irrigación presentan dos variedades, una destinada al saco y la otra a la papila, donde los vasos y nervios atraviesan el saco para distribuirse por la misma. En esta etapa la lámina dentaria prolifera en su borde más profundo, transformándose en un extremo libre, situado por detrás, con respecto al órgano del esmalte, formando el esbozo o brote del diente permanente. La conexión epitelial bucal se desintegra por la mesénquima en proliferación. Los restos de la lámina dentaria persisten como restos epiteliales redondeados, conocidos con el nombre de perlas de Serres.

- Estadio terminal o de folículo dentario (apositional)

Esta etapa comienza, cuando se identifica, en la zona de las futuras cúspides o bordes incisales, la presencia del depósito de la matriz del esmalte sobre las capas de la dentina en desarrollo, como se describe en las figuras 15, 16 y 17.

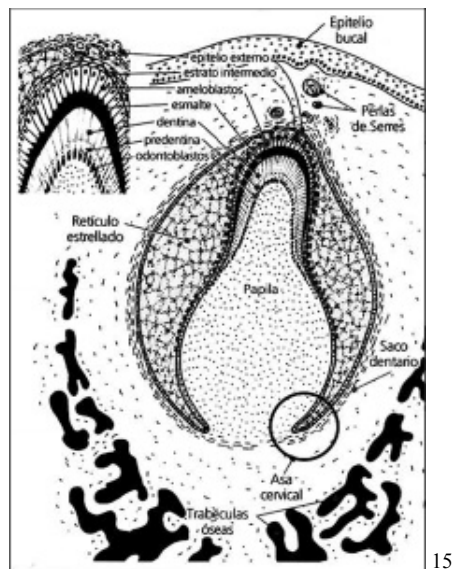
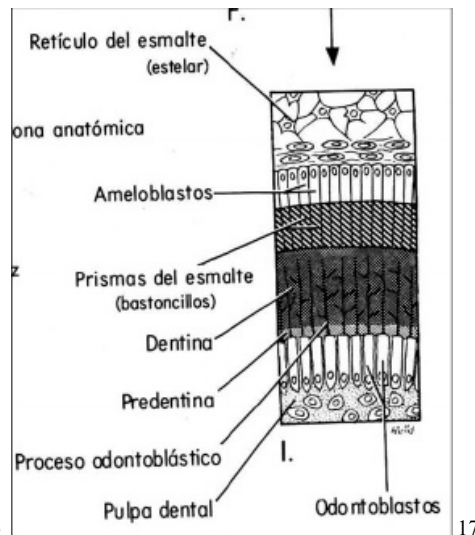
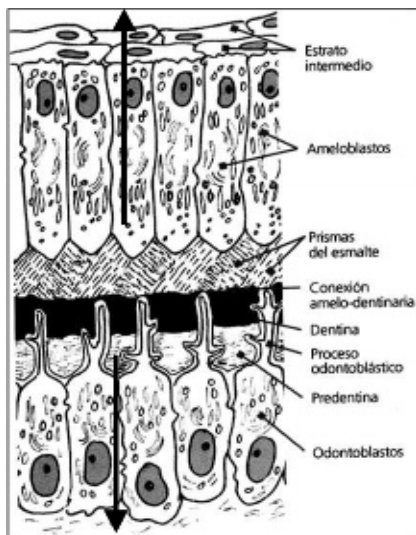


Fig.15. Período del folículo dentario apositiona



Figuras, 16 y 17. Período del folículo dentario apositiona (5º mes; 20ª semana)  
(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

El crecimiento apositiona del esmalte y dentina se realiza por el depósito de capas sucesivas de una matriz extracelular en forma regular y rítmica, alternándose períodos de actividad y reposo a intervalos definidos.



La elaboración de la matriz orgánica, a cargo de los odontoblastos para la dentina y de los ameloblastos para el esmalte, es inmediatamente seguida por las fases iniciales de su mineralización.

El proceso se inicia en las cúspides o borde incisal y paulatinamente se extiende hacia cervical. En elementos dentarios multicuspídeos, se inicia en cada cúspide de forma independiente y luego se une entre sí. Esto da como resultado la presencia de surcos en la superficie oclusal de los molares y premolares, determinando su morfología característica, que permite diferenciarlos anatómicamente entre sí.

La membrana basal (MB) o futura conexión amelodentinaria puede ser lisa o presentar ondulaciones festoneadas, en algunos sitios la MB presenta soluciones de continuidad por donde se extiende algunas prolongaciones de los odontoblastos, que en el esmalte forman los husos adamantinos o los conductillos o túbulos dentinarios remanentes. Si bien la conexión amelodentinaria al microscopio óptico (MO) en preparados de dientes por desgaste es bien nítida, a nivel ultraestructural existe una íntima yuxtaposición de cristales, que resulta difícil de deslindar si pertenecen a uno u otro tejido. Este entremezclamiento de cristales de esmalte y dentina podría explicar parcialmente la estructura de la interfase amelodentinaria.

Una explicación adicional puede estar relacionada con la disposición de las fibras colágenas tipo I en la dentina, perpendiculares al borde amelodentinario en conexión con la fibronectina o sustancia similar a la fibronectina presente en el esmalte inmaduro. El contacto entre el colágeno y fibronectina puede contribuir a la estabilidad entre la dentina y el esmalte, gracias al dominio adhesivo del colágeno sobre la molécula de fibronectina. De esta manera, la fijación del esmalte a la dentina en el germen dental humano, parece ser no meramente mecánica, sino también química. Una vez formado el patrón coronario y comenzado el proceso de histogénesis dental mediante los mecanismos de dentinogénesis-amelogénesis, de forma centrífuga la primera y centrípeta la segunda, comienza el desarrollo y la formación del patrón radicular.

La mineralización de los dientes primarios se inicia entre el quinto y sexto mes de vida intrauterina; por eso, al nacer existen tejidos dentarios calcificados en todos los dientes primarios y en los primeros molares permanentes. Cuando la corona se ha formado el órgano del esmalte se atrofia y constituye el epitelio dentario reducido, que sigue unido a la superficie del esmalte como una membrana delgada. Cuando el diente hace erupción algunas células del epitelio reducido de las paredes laterales de la corona se unen a la mucosa bucal y forman la fijación epitelial o epitelio de unión. Dicho epitelio de fijación

une la encía con la superficie del diente y establece, además, un espacio virtual que se denomina surco gingival.

## **2.2 - Histogénesis: Formación del Esmalte.**

- Ciclo vital de los ameloblastos.

De acuerdo con su función, la vida de las células del epitelio interno del órgano del esmalte puede dividirse en seis períodos:

- 1) Morfogénico.
- 2) De organización.
- 3) Formativo.
- 4) De maduración.
- 5) De protección.
- 6) Desmolítico.

Dado que la diferenciación de los ameloblastos está más avanzada en la región del borde incisal o la punta de las cúspides y menos en la región del asa cervical, pueden observarse en un germen dentario todos estos períodos o solamente algunos de ellos.

- Período morfogénico.

Antes que los ameloblastos estén totalmente diferenciados y produzcan esmalte, interactúan con las células mesenquimático adyacentes determinando la forma del límite amelodentinario y de la corona. Durante este período morfogénico las células son cilíndricas bajas, con grandes núcleos ovalados que ocupan por completo el cuerpo celular.

El aparato de Golgi y los centriolos están localizados en el extremo proximal de la célula, mientras que las mitocondrias se hallan dispersas en forma uniforme por el citoplasma. Durante la diferenciación de los ameloblastos aparecen barras terminales concomitantemente con la migración de las mitocondrias hacia la región basal de la célula. Las barras terminales representan puntos de íntimo contacto entre las células. En un tiempo se creyó que estaban formadas por sustancia intercelular compacta, pero con el microscopio electrónico (ME) se ha visto que comprenden el engrosamiento de las membranas celulares opuestas, unido a la condensación del citoplasma subyacente.

El epitelio interno del esmalte está separado del tejido conectivo de la papila dentaria por una delicada lámina basal. La capa pulpar adyacente es una zona clara, acelular, angosta, que contiene finas fibras argirófilas y las prolongaciones citoplasmáticas de las células superficiales de la pulpa.

- Período de organización.

En este período, el desarrollo del epitelio interno del esmalte interactúa con las células del tejido conectivo adyacentes, diferenciándose en odontoblastos. Se caracteriza por un cambio del aspecto de las células del epitelio interno del esmalte; las mismas se alargan y las zonas anucleares en los extremos distales de las células se vuelven casi tan largas como las partes proximales que contienen los núcleos. En preparación para este desarrollo tiene lugar una inversión de la polaridad funcional de estas células por migración de los centriolos y los complejos de Golgi desde los extremos proximales de las células hacia los extremos distales.

Con métodos especiales de coloración se revelan la presencia de finos gránulos acidófilos en la parte proximal de la célula. Los estudios con el microscopio electrónico (ME) han demostrado que estos gránulos son en realidad las mitocondrias, que se han concentrado en esta porción de la célula. Al mismo tiempo la zona clara acelular entre el epitelio interno del esmalte y la papila dentaria desaparece, probablemente debido al alargamiento de las células epiteliales hacia la papila. De tal modo, las células epiteliales se ponen en íntimo contacto con las células del tejido conectivo de la pulpa, las cuales se diferencian en odontoblastos. Durante la fase terminal del período de organización comienza la formación de la dentina, llevada a cabo por los odontoblastos.

La primera aparición de dentina parece que es una fase crítica del ciclo vital del epitelio interno del esmalte. Mientras se halla en contacto con el tejido conectivo de la papila dentaria recibe material nutritivo de los vasos sanguíneos que contiene este tejido, sin embargo, cuando se forma la dentina, separa los ameloblastos de su fuente primitiva de nutrición y de allí en adelante son aprovisionados por los capilares que rodean, y aún pueden penetrar, en el epitelio externo del esmalte. Esta inversión de la fuente de nutrición se caracteriza por la proliferación de capilares del saco dentario y por la reducción y desaparición gradual del retículo estrellado. De tal modo, se acorta la distancia entre los capilares, el estrato intermedio y la capa de ameloblastos.

- Período formativo.

Los ameloblastos entran en su período formativo después de haberse formado la primera capa de dentina. La presencia de dentina es, al parecer, necesaria para el comienzo de formación de la matriz del esmalte, del mismo modo que era necesaria para que las células epiteliales se pusieran en íntimo contacto con el tejido conectivo de la pulpa durante la diferenciación de los odontoblastos y el comienzo de la formación de la dentina.

Ésta interacción mutua entre un grupo de células y otro es una de las leyes fundamentales de la organogénesis y la histodiferenciación constituyendo un claro ejemplo de inducción.

Durante la formación de la matriz del esmalte los ameloblastos mantienen aproximadamente su misma longitud y organización. Los cambios de la organización y el número de organoides e inclusiones citoplasmáticas están en relación con la iniciación de secreción de la matriz del esmalte.

El primer cambio aparente es el desarrollo de prolongaciones celulares romas sobre la superficie de los ameloblastos, las cuales rechazan la lámina basal y hacen prociencia en la predentina.

- Período de maduración.

La maduración del esmalte se produce después que se ha formado la mayor parte del espesor de la matriz del esmalte en el área oclusal o incisal. En las partes cervicales de la corona, la formación de la matriz del esmalte todavía continúa en este momento. Durante la maduración del esmalte los ameloblastos tienen una longitud ligeramente reducida y están íntimamente adheridos a la matriz del esmalte, las células del estrato intermedio pierden su forma cúbica, su disposición regular y adoptan forma de huso. Durante la maduración, los ameloblastos presentan microvellosidades en sus extremos distales, y vacuolas citoplasmáticas que contienen un material semejante a la matriz del esmalte.

- Período de protección.

Cuando el esmalte se ha desarrollado por completo y está totalmente calcificado, los ameloblastos dejan de estar organizados en una capa bien definida y ya no pueden diferenciarse de las células del estrato intermedio y el epitelio externo del esmalte. Estas capas celulares forman entonces una cobertura epitelial estratificada del esmalte, el llamado epitelio reducido del esmalte. La función del epitelio reducido del esmalte es la de proteger al esmalte maduro separándolo del tejido conectivo hasta la erupción del diente. Si el tejido conectivo se pone en contacto con el esmalte pueden producirse anomalías. Durante esta fase del ciclo vital de los ameloblastos el órgano del esmalte puede retraerse del borde incisal del esmalte y las células mesenquimáticas adyacentes pueden depositar, entonces, cemento afibrilar sobre la superficie adamantina.

- Período desmolítico.

El epitelio reducido del esmalte prolifera y parece inducir la atrofia del tejido conectivo que lo separa del epitelio bucal, de manera que puede producirse la fusión de los dos epitelios. Es probable que las células epiteliales elaboren enzimas que pueden destruir las fibras de tejido conectivo por desmólisis. La degeneración prematura del epitelio reducido del esmalte puede impedir la erupción de un diente. (25) (26)

- Formación y maduración de la materia orgánica

Sobre la base de la ultraestructura y la composición, dos procesos intervienen en el desarrollo del esmalte: la formación de la matriz orgánica y la mineralización. Aún cuando el comienzo de la mineralización no espera a que termine la formación de la matriz, los dos procesos serían considerados por separado.

Los ameloblastos comienzan su actividad secretora cuando se ha depositado una pequeña cantidad de dentina por acción inductora de ésta. Los ameloblastos pierden sus prolongaciones que habían penetrado en la lámina basal que los separa de la preentina, y a lo largo de esta última se depositan islotes de matriz de esmalte. A medida que avanza el depósito de esmalte, se forma una capa delgada y continua de esmalte a lo largo de la dentina, denominada membrana amelodentinaria y su presencia explica el hecho de que los extremos distales de los prismas del esmalte no estén en contacto directo con la dentina.

- Desarrollo de los procesos de Tomes.

Las superficies de los ameloblastos que enfrentan el esmalte en desarrollo no son lisas, existe una interdigitación de las células y de los prismas del esmalte que producen. Las proyecciones de los ameloblastos en la matriz del esmalte se denominan procesos de Tomes y aún cuando los procesos de Tomes están demarcados parcialmente por tabiques incompletos también contienen gránulos de secreción típica, así como retículo endoplasmático rugoso y mitocondrias. Por lo menos dos ameloblastos intervienen en la síntesis de cada prisma del esmalte. Si se examina al microscopio electrónico de barrido (MEB), la superficie del esmalte en desarrollo, (visión tridimensional de la superficie), resultan evidentes las depresiones que ocasionan los procesos de Tomes, permitiendo interpretar las relaciones entre los prismas del esmalte en forma de ojo de cerradura y los ameloblastos aproximadamente hexagonales. La mayor parte de la cabeza de cada prisma está formada por un ameloblasto mientras que otros tres contribuyen a formar parte de la

cola de cada prisma. Según esta interpretación cada prisma está formado por cuatro ameloblastos y cada ameloblasto contribuye a formar cuatro prismas diferentes.

- Barras terminales distales.

En el momento en que comienzan a formarse los procesos de Tomes, aparecen barras terminales o uniones intermedias en los extremos distales de los ameloblastos, que separan los procesos Tomes de la célula propiamente dicha. Desde el punto de vista estructural son condensaciones celulares engrosadas. Se los observa durante el período de producción del esmalte, pero no se conoce su función exacta.

- Ameloblastos que cubren el esmalte en procesos de maduración.

A nivel del microscopio óptico podemos ver que los ameloblastos que se encuentran sobre el esmalte en proceso de maduración son considerablemente más cortos que los ameloblastos que se hallan por encima del esmalte incompletamente formados. Estos ameloblastos cortos tienen una superficie vellosa cerca del esmalte, y los extremos de las células están llenos de mitocondrias. Esta morfología es típica de las células absorbidas y se ha demostrado que, aparentemente, los ameloblastos están transportando componentes orgánicos de la matriz. El hecho que durante la mineralización se pierdan componentes orgánicos al mismo tiempo que agua, representa una diferencia importante entre el esmalte y otros tejidos mineralizados. Mas del 90% de la proteína secretada inicialmente se pierde durante la maduración del esmalte, y la que queda, forma envolturas alrededor de cristales individuales, aún cuando puede haber un mayor contenido de materia orgánica en el área de la vaina del prisma, donde se produce el brusco cambio de orientación del cristal. Con el microscopio electrónico pueden identificarse varios subperíodos en la transición de los ameloblastos desde el período formativo a través del período de maduración con evidentes desplazamientos de los organoides celulares relacionados con la síntesis y secreción proteica relacionados con la absorción. Además, se produce una serie de cambios en los contactos de una célula con otra y en las comunicaciones entre las capas celulares.

- Mineralización y maduración de la matriz del esmalte.

La mineralización de la matriz del esmalte tiene lugar en dos períodos, aún cuando el intervalo de tiempo entre ambos parece que es muy pequeño. En el primer período se produce una mineralización parcial inmediata en los segmentos de la matriz y en la sustancia interprismática a medida que son depositados: los análisis químicos indican que

el flujo inicial puede llegar del 25% al 30% del eventual contenido mineral total. Recientemente se ha demostrado, por medio de estudios de microscopía electrónica y de difracción, que este primer mineral se encuentra, en realidad, en forma de apatita cristalina.

El segundo período, o maduración, se caracteriza por el aumento gradual de la mineralización. El proceso de maduración se inicia en la parte más alta de la corona y avanza en dirección cervical. No obstante, en cada nivel, la maduración parece comenzar en el borde dentinario de los prismas. De tal modo, existe una integración de dos procesos: cada prisma madura desde la profundidad hacia la superficie, y la secuencia de maduración de los prismas es desde las cúspides o bordes incisal hacia la línea cervical.

La maduración comienza antes que la matriz haya alcanzado su espesor total. De tal manera, se está produciendo la matriz interna, formada en primer término, al mismo tiempo que tiene lugar la mineralización inicial, en la matriz externa, recientemente formada. El frente de avance es al principio paralelo al límite amelodentinario y más tarde a la superficie externa del esmalte. Siguiendo este modelo básico, las regiones oclusal e incisales alcanzan su madurez antes que las regiones cervicales.

A nivel ultraestructural, la maduración se caracteriza por el crecimiento de los cristales que se ven en la fase primaria. Los cristales primitivos de forma acintada aumentan de espesor más rápidamente que de ancho. Concomitantemente, la matriz orgánica se adelgaza poco a poco y se separa más para dar espacio a los cristales de crecimiento. El análisis químico muestra que la pérdida de volumen de la matriz orgánica es ocasionada por la extracción de una cantidad apreciable de proteínas, lo mismo que de agua. (25) (26)

### **2.3 - Ameloblasto maduro.**

#### **- Estructura:**

Histológica y ultra estructuralmente el ameloblasto constituye una unidad funcional destinada a elaborar esmalte, ya que no existen otras formaciones participantes para tal fin.

Los ameloblastos maduros, durante el periodo de secreción son células altas (unos 60 um de altura) y delgadas que están dispuestas en forma de empalizada. Sin embargo, el microscopio electrónico demostró la existencia de espacios interameloblásticos ubicados en sus caras laterales, donde las células se proyectan en forma de microvellosidades y de cilias pequeñas. El núcleo se halla en un polo basal alejado del esmalte, las mitocondrias, si bien se encuentran principalmente cerca del núcleo, son numerosas en la región distal o apical del citoplasma, el complejo de Golgi se halla en relación distal respecto al núcleo.

El retículo endoplasmático rugoso se distribuye por toda la célula, desde la región basal hasta el polo apical; en el proceso de Tomes representa al orgánulo más importante, los microfilamentos se disponen a lo largo de la célula y microtúbulos, vesículas en forma de saco, gránulos densos y gránulos claros se encuentran diseminados en todo el citoplasma, aunque son más abundantes en la zona adyacente al complejo de Golgi. El extremo distal está constituido por el proceso de Tomes, el que se introduce en el esmalte, dándole a éste un aspecto similar a un panal de abejas.

Los cuerpos ameloblásticos son formaciones de tipo granular que desde hace un siglo vienen describiéndose en el interior del ameloblasto. Actualmente se los considera como precursores intracelulares del medio extracelular y representan el primer estadio de la matriz orgánica del esmalte. Se los denomina cuerpos ameloblásticos o cuerpos adamantinos. Estos aparecen al microscopio electrónico como grandes cuerpos ovoides envueltos por membranas y que contienen un material denso. Aparecen en el ameloblasto antes que éste alcance su completa maduración, durante el estadio de pre ameloblasto y durante la formación de la primera laminilla de la predentina. Más tarde, se localizan en el proceso de Tomes y contienen un material granular, muy fino, circunscripto por una membrana electrónicamente más densa. Es posible que en los estadios iniciales aparezcan como pequeños gránulos que luego se aglutinan y que recién al alcanzar a formar acúmulos del orden de los de 500 Å, se diferencian de su membrana externa. Los cuerpos ameloblásticos al alcanzar su maduración, es decir, pocos antes de ser expulsados al medio extracelular, presentan un aspecto reticular semejante a un panal de abejas por la regularidad de sus elementos constitutivos. Su forma también manifiesta una evolución: redondeados cuando aparecen, ovalados después, se hacen alargados al estar maduros. En este momento pueden alcanzar 1,5 micrones en su diámetro mayor.

El contenido de los cuerpos ameloblásticos no está aún perfectamente establecido. Por una parte, se supone que su naturaleza es proteica y que podrían contener a uno o varios de los constituyentes de la matriz orgánica del esmalte. Mediante técnicas histoquímicas se demostró la presencia de grupos di-sulfuros, los que podrían ser los precursores de algún tipo de queratina. Por otra parte, no se puede excluir sistemáticamente la presencia de sales minerales conteniendo calcio en forma soluble.

Los cuerpos ameloblásticos se localizan preferentemente en la región secretora del ameloblasto. Cerca del complejo de Golgi, aparecen como gránulos esféricos de tamaño variable, entre 0,1 y 0,2 micrones, de diferentes densidades electrónicas. En el extremo secretor, que es una zona rica en ribosomas libres, los cuerpos ameloblásticos son de



mayor tamaño, de 0,2 a 0,7 micrones. Los mayores de 1,5 micrones de diámetro aparecen rodeados de un retículo endoplasmático granular bien definido y en su interior aumenta su densidad electrónica, acentuándose su estructura reticular.

En el extremo apical del ameloblasto, procesos de Tomes, no se encuentran cuerpos adamantinos, en cambio, aparece una gran vacuola de material irregularmente filamentoso y granular que generalmente se halla retraído. Este material carece de una membrana bien definida, pero por fuera de ella, el retículo endoplasmático granular es muy abundante.

Los ameloblastos están vinculados a sus vecinos por medio de desmosomas, de barras terminales, y de complejos de cierre herméticos. Los desmosomas se encuentran tanto en las caras laterales donde las células se vinculan con sus homólogas, ameloblastos vecinos, como con el extremo basal donde se vinculan con las células del estrato intermedio. Las barras terminales se encuentran tanto en el polo proximal o basal como en el distal o secretor. Los complejos de cierre herméticos alternan con los desmosomas y presentan en algunos casos una forma de bulbo, unido a la célula a la que pertenecen por un delgado pedúnculo. Los complejos de cierre herméticos corresponden a la relación de vecindad más frecuente.

Las barras terminales, distales y proximales, dividen el espacio intercelular lateral en tres zonas:

- A) Un compartimiento ubicado en el polo distal y que puede contener gránulos.
- B) Un compartimiento lateral extenso que carece de gránulos.
- C) Un tercer compartimiento que se extiende desde las barras terminales proximales hasta las células del estrato intermedio.

La producción del esmalte o amelogénesis, es la elaboración extracelular, la que es inmediatamente seguida por las fases iniciales de su mineralización. Los procesos de la deposición de la matriz y su mineralización están tan íntimamente ligados en el tiempo, que es virtualmente imposible el estudio independiente de la primera con respecto a la segunda, aún al utilizar avanzados métodos o técnicas.

Se acepta la presencia de un sustrato amorfo orgánico en el esmalte en formación, pero se discute la presencia de una proteína organizada en el esmalte maduro. La demostración de una estructura de tipo fibrilar es tan dificultosa en el esmalte fetal como en el adulto. Sin embargo, la microscopia electrónica, ha permitido establecer que es el ameloblasto, la célula que lo elabora, al demostrarse que en el interior de éste y en particular en el interior del proceso de Tomes, se hallan los precursores de los elementos extracelulares como inorgánicos. Las dificultades que presenta el estudio de la sustancia

del esmalte se deben fundamentalmente a dos razones: por una parte, la mineralización se realiza inmediatamente después de la aparición de la trama orgánica, y por otra, el espesor de los elementos orgánicos que es muy escaso, siempre menor a los 100 Å. (25) (26)

La estructura que adopta la sustancia orgánica ha sido descrita de maneras diferentes. Unos autores (Frank et al) la consideran como una tupida malla de elementos entrelazados en las tres dimensiones del espacio. Otros autores (Scott y Nylen) sostienen que la sustancia orgánica forma sobres o fundas extremadamente delgadas, de 10 a 20 Å, que envuelven a los cristales.

En el esmalte maduro, mediante técnicas especiales, se ha podido demostrar la presencia de material orgánico, una fracción, estaría en relación con las sales minerales y la otra desprovista de sales.

- Mecanismos de secreción

El mecanismo de secreción del ameloblasto puede ser esquematizado en las siguientes etapas, según Devoto y Scott en:

- 1) Síntesis de sustancias de bajo peso molecular en el retículo endoplasmático localizado en la región basal y en la región para nuclear.
- 2) Concentración de esas sustancias en el complejo de Golgi.
- 3) Adición de elementos proteicos en el retículo endoplasmático intermedio con la formación de los cuerpos adamantinos.
- 4) Fusión de los cuerpos adamantinos entre sí y de esta manera formación de la vacuola apical.

La formación de secreción de los cuerpos ameloblástico está explicada por varias teorías: Para Fearnhead los cuerpos ameloblásticos se aproximan a la periferia de la célula desde donde vuelcan su contenido y cuya membrana permanecen retenidas por la célula. Según ese criterio se trataría de un proceso de pinocitosis invertido. Para Frank y Nalbandian los cuerpos ameloblásticos pasan directamente al medio extracelular, donde se libera su contenido, y tanto éste como la membrana que lo envuelve se incorporan a la sustancia orgánica del esmalte. Según esta interpretación la secreción de los cuerpos ameloblásticos sería semejante al mecanismo que realizan las células glandulares exócrinas, admitiendo, sin embargo, que durante este proceso algunas sustancias sean reincorporadas al ameloblasto por pinocitosis, una vez que hayan cumplido con la función de transportadoras de otras sustancias que sí, van a quedar incluidas en el esmalte.

Después que la primera laminilla de predentina se ha mineralizado, el extremo basal del ameloblasto joven pierde su relación de dependencia con el tejido conectivo de la papila dentaria, por la interposición de una capa mineralizada que dificulta o impide totalmente el aporte de sustancias a través de la membrana basal. En este momento, la membrana plasmática del ameloblasto que contacta con la dentina se hace extraordinariamente plegada y se establecen así, espacios entre ambos elementos. En dichos espacios se visualizan algunos elementos fibrilares que se continúan con las fibras dentinarias y cuya naturaleza colágenas se confirma por su estriación transversal cada 640 Å. En algunos sitios, se mantiene un íntimo contacto entre el extremo del ameloblasto y el del odontoblasto vecino. La persistencia de este tipo de relación, estaría dada con la presencia de las prolongaciones odontoblásticas en el seno del tejido adamantino. Los primeros gránulos que aparecen en los espacios ubicados entre los ameloblastos y la dentina son estructuralmente similares al contenido de los cuerpos ameloblásticos y están separados por espacios de baja densidad electrónica. Simultáneamente los espacios que separaban los gránulos adquieren mayor densidad electrónica de manera que se establece una sustancia amorfa donde es difícil la individualización de elementos estructurales. Ésta homogenización de la matriz indicaría que ya ha comenzado la precipitación mineral sobre la trama orgánica. Sin embargo, este concepto no es definitivo ya que también es posible que la misma sustancia orgánica se homogenice antes de que la precipitación mineral comience. Es probable que ambos fenómenos se presenten simultáneamente: la sustancia orgánica adquiere mayor densidad electrónica y comienza la precipitación de los primeros cristales. Desde los primeros estadios en los que puede identificarse los primeros cristales adamantinos la sustancia orgánica que los envuelve adopta una orientación definida, más o menos paralela al eje axial del prisma.

Es necesario remarcar que la sustancia orgánica, es la que orienta la disposición de los cristales, formando receptáculos semejantes a sobres donde se produce la cristalización.

#### - Exocitosis

La formación ordenada de prismas y de sustancia interprismática conteniendo cristales, tiene lugar sin la ayuda de fibras colágenas, a diferencia de lo que ocurre en los tejidos mesodérmicos calcificados. El esmalte se forma en gran variedad de especies según un modelo de desarrollo que resulta de la actividad del polo secretor, proceso de Tomes del ameloblasto. También se evidencia por método de autorradiografías que la mayor parte de

la matriz orgánica del complejo de Golgi (como membrana limitante de los gránulos secretados), son trasladados al proceso de Tomes por medio de microtúbulos.

Los gránulos se caracterizan por un núcleo electrónicamente denso rodeado por una zona periférica mucho más clara y está envuelto por una unidad de membrana. El diámetro en conjunto mide aproximadamente 1700 Å. Poco después el material contenido en los gránulos ya ubicados en el proceso de Tomes adquiere las características del esmalte ya segregado, aquí se plantea un interrogante: ¿los gránulos esféricos se fusionan con la membrana plasmática para lo cual deben alcanzar primero la superficie libre del ameloblasto o la membrana plasmática envía prolongaciones al interior de la célula semejantes a pseudópodos o exocitosis, para envolver a los gránulos y conducirlos al medio extracelular?

Un gran número de gránulos aparecen en el polo secretor rodeados por una malla reticular de Microfilamentos y la zona clara o halo del gránulo de secreción generalmente no se encuentra asociada con la membrana plasmática de la célula.

El citoplasma apical del ameloblasto no contiene solamente las membranas limitantes de los gránulos, sino que contiene además gran cantidad de túbulos y vesículas de aspecto que permiten aceptar que se trata del sistema retículo endoplasmático liso. Todo este retículo tiene un diámetro bastante uniforme de unos 750 Å de espesor.

Además de la forma esférica, los gránulos aparentan tener cerca del polo apical prolongaciones de la membrana que introduce en el interior de la célula. Histoquímicamente el material contenido en las prolongaciones de la membrana es similar al que tienen los gránulos esféricos.

La presencia de lisosomas en esta región de la célula estaría relacionada con los mecanismos modificadores de la matriz proteica, donde los gránulos abandonan la célula. Es muy probable que el mecanismo de endocitosis esté relacionado con los de exocitosis. Mediante la endocitosis se reintegrarían a la célula, sustancias que acompañan al material inorgánico, pero que es eliminado al madurar el esmalte en el medio extracelular (26) (27)

#### - Mineralización

Si bien existe acuerdo con respecto al origen ameloblástico de la sustancia orgánica del esmalte, la formación de los cristales en el esmalte inmaduro es un problema de difícil interpretación, ya que no existen cristales en el interior del ameloblasto, pero sí, en el medio extracelular que lo rodea existen vasos que aportan los elementos indispensables para la constitución de dichos cristales. Asimismo, se ignoran los mecanismos por los

cuales las sales solubles intracelulares se transforman en el medio extracelular en sales solubles. Los fosfatos de calcio del esmalte son similares a los del hueso, dentina y cemento. Todos ellos pertenecen al grupo de las apatitas, pero en el esmalte alcanzan mayor tamaño y además se vinculan con un tipo de sustancia orgánica que no es de naturaleza colágena. (26)

#### - Cristalización inorgánica inicial

La cristalización se produce inmediatamente después de la disposición de la sustancia orgánica. Los cristales son pequeños y realizan un crecimiento progresivo hasta adquirir su tamaño definitivo.

En los estadios iniciales, se presentan como cintas largas y aplanadas de aproximadamente 15 A° de espesor. El aumento del espesor se establece mediante la fusión de dichos cristales acintados y la sustancia orgánica queda comprimida entre ellos. Otros autores consideran que la sustancia intercelular comprimida entre los cristales, se desplaza hacia los ameloblastos, donde volvería a ser utilizada.

La existencia en los cristales del esmalte maduro de líneas o estrías de diferente densidad electrónica, corroboraría la hipótesis por la cual, el cristal maduro resulta de la fusión de numerosos cristales delgados, siendo en algunos casos la unión de los elementos integrantes en forma perpendicular y no en forma paralela. La mayor parte de los cristales se acoplan entre sí para adquirir la forma de un prisma hexagonal, sin embargo, algunos de ellos pueden persistir sin alcanzar su completa evolución.

#### - Relación entre sustancia orgánica e inorgánica

La relación entre la sustancia orgánica y el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita, es uno de los problemas fundamentales en el estudio de la amelogénesis y de su conocimiento se podrían revelar importantes aspectos en el mecanismo de las caries dentales. Este conocimiento podría aclarar la participación de la trama orgánica en el mecanismo de las caries dentales, la que se caracteriza por la pérdida de la sustancia mineralizada. Hasta el presente no se ha podido establecer con certeza la interrelación de las sustancias orgánicas y minerales, aunque está establecido que dichas sustancias orgánicas son las responsables de la orientación de los cristales y de su crecimiento posterior.

Para explicar el mecanismo íntimo de la mineralización, se adjudicó un importante papel a la sobresaturación localizada de ión fosfato producido por la acción de la fosfatasa alcalina, al actuar ésta, sobre ésteres fosfatados.

Otra teoría que ha tratado de explicar la mineralización del esmalte sostiene que se establece un fenómeno de epistaxis, mediante el cual una “semilla” orienta el crecimiento de los cristales, el que es inducido por la sustancia orgánica. Una vez desencadenado el proceso, el crecimiento del cristal de apatita continúa.

Teniendo en cuenta que el ameloblasto comienza su actividad cuando el odontoblasto ya elaboró una capa de dentina, algunos autores consideran que las fibras colágenas yuxtapuestas a los ameloblastos son las catalizadoras de la enucleación para la calcificación de esmalte.

- Crecimiento de los cristales

Uno de los interrogantes aún no solucionados es el que se plantea con respecto al establecimiento de los centros de cristalización y crecimiento de los cristales en el esmalte. En los tejidos mesodérmicos que se mineralizan, existe un sustrato orgánico que establece las condiciones indispensables para que se inicie el mecanismo de cristalización. Un proceso semejante ocurre en el esmalte durante su formación, pero su explicación es menos sencilla, y en este caso se admite la posibilidad que ocurran fenómenos de epistaxis, es decir, la existencia previa de fibrillas orgánicas que posibilitan el crecimiento del cristal.

El crecimiento de los cristales de apatita comienza inmediatamente después que los precursores de la sustancia orgánica del esmalte son secretados. En este momento, los cristales aparecen como estructuras alargadas que vistas de perfil se presentan como líneas oscuras de 3° A de espesor y de 100 A hasta 1 micrón de longitud.

Las cantidades de unidades repetitivas en cada cristal pueden compararse

a) de hueso: tiene aproximadamente 10.000 unidades repetitivas.

b) de esmalte: tiene aproximadamente 40.000 unidades repetitivas.

Desplazamiento: El ameloblasto mientras segrega las sustancias precursoras del esmalte, se aleja del frente de mineralización con una velocidad promedio de aproximadamente 4 micrones por día.

Dirección: El eje mayor del ameloblasto no es lo mismo que el del prisma respectivo, sino que presenta una angulación con respecto a éste.

Maduración de los cristales: Una delgada región ocupada con material precursor del esmalte, separa al proceso de Tomes del frente de mineralización. Los cristales de

hidroxiapatita se disponen formando un frente de mineralización y a medida que el ameloblasto se aleja, aumentan de espesor, proceso que se acompaña con una pérdida de sustancia orgánica.

Una delgada fisura interprismática dá origen a la vaina del prisma, la que paulatinamente se va adelgazando y que puede llegar a obliterarse parcial o totalmente por el crecimiento de los cristales. La orientación de éstos se pone de manifiesto en el frente de mineralización y dicha orientación se mantiene durante el desarrollo del prisma. Es posible que la misma esté determinada por la organización de la matriz orgánica elaborada previamente, la que algunas veces presenta dimensiones que se hallan por debajo del poder de resolución del microscopio electrónico. La velocidad en la secreción de las moléculas y los gradientes de concentración, podrían ser factores relacionados con la secreción del material precursor del esmalte (Fearhead). Boyde sugiere que los cristales tienden a estar orientados perpendicularmente al frente de mineralización. Una vez formados los grupos de cristales, éstos tienden a continuar su crecimiento en el mismo sentido, pero un cambio de orientación puede originarse por desplazamiento del ameloblasto.

La amelogénesis es un proceso dinámico durante el cual el esmalte no solamente gana material inorgánico, sino que también pierde agua y material orgánico. El movimiento de las proteínas durante este proceso ha sido visualizado por medio de métodos autorradiográficos en ratas. Una hora después de la inyección intraperitoneal de aminoácidos radioactivos, si se sacrifica el animal se puede observar que el material marcado se localiza solamente cerca de la superficie del proceso de Tomes. Si el sacrificio se realiza varias horas más tarde, los aminoácidos marcados se distribuyen tanto en el esmalte formado antes de la inyección como en el que se forma después de la misma. Aunque es difícil su interpretación, esto explica que algunas sustancias se incorporen y otras abandonen al prisma en formación. El desplazamiento realizado por dichas sustancias al penetrar y al salir del prisma actuaría como factores participantes en la orientación de los cristales en el prisma. Este tipo de incorporación difiere del que se produce en otros tejidos mineralizados.

La orientación que adoptan los cristales de apatita en los prismas no puede ser adjudicada al azar, sino que corresponde a la presencia de los elementos orgánicos. (26)  
(27) (28)

- Involución del ameloblasto

Durante el proceso multifacético de la amelogénesis, el ameloblasto experimenta una serie de transformaciones citológicas:

1) Estadio de secreción: Las características del ameloblasto durante el periodo de secreción corresponden, cuando se realiza la acumulación de productos que al ser secretados provocan la formación de una nueva capa de esmalte.

2) Estadio de transición: En este estadio el ameloblasto se hace más corto y el proceso de Tomes prácticamente desaparece y ya no penetra en el esmalte. Se mantienen presentes los gránulos en el compartimiento distal o secretor del espacio intercelular, pero se ignora si esos ángulos van a incorporarse al esmalte o a ser reabsorbidos por los ameloblastos. Estas células presentan varias modificaciones: el núcleo está en el extremo basal; el complejo de Golgi menos desarrollado y prominente; las mitocondrias son más escasas; contiene menor cantidad de gránulos densos. Los gránulos presentes son de variadas formas y tamaños. La característica más llamativa del ameloblasto del periodo de transición es la presencia de vesículas autofágicas, es decir, vacuolas que contienen restos de mitocondrias, de retículo endoplasmático, material granular denso y gránulos de lípidos, los Microfilamentos se reúnen formando haces, las barras terminales proximales no presentan modificaciones, pero las distales están menos definidas y más cerca del esmalte. En el espacio intercelular, el compartimiento distal disminuye de tamaño mientras que en el compartimiento lateral y en el basal aumentan las microvellosidades.

3) Estadio pre absorbente: En este estadio los ameloblastos son menos numerosos. Las mitocondrias y el sistema retículo endoplasmático se localizan cerca del núcleo. Desaparecen las vacuolas autofágicas y los gránulos disminuyen. El extremo distal del ameloblasto se halla directamente opuesto al esmalte. La membrana celular está separada del esmalte por un espacio de 400 a 800 Å que aparece ocupado por material claro y amorfo, con excepción de zonas donde permanecen placas de unión.

4) Estadio de regresión: Durante el mismo se desarrollan en la superficie apical del ameloblasto abundantes microvellosidades, por lo que se lo denomina “a borde estriado”. Estas microvellosidades podrían participar en la resorción de los gránulos que aparecen cerca de la membrana plasmática. Los gránulos resorbidos, se encuentran en el interior de la célula envueltos por una membrana muy delgada y arrugada, siendo su forma ligeramente esférica y de contenido líquido y aunque pueden llegar a ocupar la mitad distal del ameloblasto, se concentran específicamente muy próximos al borde estriado. Las barras terminales desaparecen, por lo que se establece un amplio espacio interameloblástico.



En una etapa posterior de este periodo, desaparecen las proyecciones que formaban el borde estriado, de manera que la superficie se hace nuevamente lisa y los gránulos desaparecen. Los ameloblastos se relacionan con sus vecinos, por medio de una zona reducida que corresponde a las bandas de cierre distales. La característica más llamativa en este momento es su cambio de afinidad tintoreal, reemplazando su basofilia por una eosinofilia.

- Movimiento del ameloblasto

Uno de los más intrincados problemas del desarrollo del esmalte, está relacionado con los movimientos de los ameloblastos, se necesita de alguna fuerza originada dentro o fuera de la célula que actúe determinando el movimiento celular.

Para continuar su función amelogenética, los ameloblastos deben retirarse para establecer un nuevo espacio donde se formará una nueva capa de esmalte.

Se discute cuales son los factores que determinan dicho desplazamiento. Por una parte, se supone que, entre las membranas plasmáticas laterales de los ameloblastos, se producen fenómenos de adhesiones celulares selectivas que participarían entrando en acción; por otra parte, podrían actuar los Microfilamentos incluidos en su citoplasma proveyendo las fuerzas determinantes de los movimientos de los ameloblastos; mediante la contracción de ellos, el ameloblasto sería acortado e impelido desde el material precursor del esmalte. Para que éste mecanismo sea posible, es necesaria la participación del estrato intermedio; el que, alejándose a su vez, permitiría que los ameloblastos recobren su anterior longitud para reiniciarse nuevamente el mecanismo.

Otros autores no están de acuerdo con la teoría anteriormente citada porque de producirse la contracción de la longitud, debe aumentar sus diámetros laterales para que se pueda mantener el volumen de las células. Si esto ocurre aumenta la superficie de contacto entre los ameloblastos y el material precursor del esmalte.

Se puede suponer que el sistema se encuentra en un equilibrio y que un pequeño volumen de material precursor de esmalte es secretado en la región de mineralización.

En el estudio del esmalte tiene particular interés el transporte del calcio, fósforo y fluoruros. Es evidente que el pasaje del calcio desde el medio extracelular al esmalte en formación es controlado por el epitelio del órgano del esmalte durante la etapa de la secreción como en otras etapas, demostrando el importante papel que desempeña el mencionado epitelio en la mineralización adamantina. (26) (27) (28)

Por otra parte, parece ser que el pasaje del ión fosfato no es controlado por la acción de las células epiteliales, haciéndolo solo por difusión.

Los fluoruros son captados durante la formación del esmalte, pero su pasaje está regulado por factores biológicos y factores clínicos en el esmalte ya maduro y erupcionado. Está aceptado el criterio tradicional que los fluoruros están asociados a la fase mineral del esmalte durante su mineralización, por lo tanto, la mayor parte de la asimilación de fluoruros debe tener lugar durante la maduración del esmalte y relativamente poca asimilación durante las etapas de secreción y de transición.

Otros autores no concuerdan con este criterio, Hammarstrom, encontró que el calcio radioactivo es incorporado en escasa cantidad durante las etapas de secreción y transición, pero es incorporado en forma masiva durante la maduración, en cambio, al flúor se lo halla durante las etapas de secreción y transición, pero no durante la maduración. Otros autores encontraron que la incorporación de flúor es posible cuando se ha eliminado el epitelio del órgano del esmalte, que actuaría como filtro regulador de su pasaje. El hecho que sea flúor incorporado durante las etapas de secreción y transición indicaría su vinculación con la fracción proteica del esmalte.

## **2.4 – Esmalte.**

### **- Propiedades físicas**

El esmalte o tejido adamantino es una cubierta de gran dureza que recubre la corona de las piezas dentarias, está afectado a la función masticatoria. Por lo tanto, está en relación directa con el medio bucal por su superficie externa y con la dentina subyacente por dentro. En el cuello tiene relación inmediata o mediata con el cemento que recubre la raíz, siendo extremadamente delgado a este nivel y aumentando su espesor hacia las cúspides, donde alcanza un espesor máximo de 2 a 2,5 mm en premolares, molares y canino superior, zonas de grandes impactos masticatorios. A nivel de surcos intercuspídeos y fositas vuelve adelgazar y en ocasiones hasta faltar totalmente, constituyendo zonas altamente susceptibles a la caries. Es el único tejido dentario de origen ectodérmico, siendo elaborado por células derivadas del epitelio que recubre los rebordes maxilares embrionarios.

En la conocida escala de Mohs la dureza del esmalte es similar a la apatita natural, ubicada en el quinto lugar. Algunos autores afirman que con el avance de la edad este tejido aumenta su dureza y resistencia a la caries, hecho ligado probablemente a las modificaciones cualitativas de la sustancia orgánica que posee.

Debido a su elevado contenido de sales minerales y su organización cristalina, el esmalte es el tejido calcificado de mayor dureza en el cuerpo humano. La función del esmalte es formar una cubierta resistente de los dientes, adaptándolos de tal manera a la función masticatoria, su estructura y dureza lo tornan quebradizo, lo cual se advierte sobre todo cuando el esmalte pierde su base firme de dentina. La densidad del esmalte es de 2,8 y su peso específico 2,95.

Otra propiedad del esmalte es su permeabilidad. Se ha visto, por medio de marcadores radiactivos, que el esmalte puede actuar en cierto sentido como una membrana semipermeable, lo cual permite el paso total o parcial de ciertas moléculas: urea marcada con C14, I, etc.

El color de la corona cubierta de esmalte varía entre un blanco amarillento y un blanco grisáceo. Se ha sugerido que el color estaría determinado por diferencias de transparencia del esmalte y que los dientes blanco amarillento poseen un esmalte fino, trasparente, a través del cual puede verse el color de la dentina y que los dientes grisáceos tendrían un esmalte más opaco. La transparencia podría atribuirse a variaciones del grado de calcificación y homogeneidad del esmalte. A menudo, los dientes grisáceos muestran un color ligeramente amarillento en las áreas cervicales, supuestamente debido a que la delgadez del esmalte permite que la luz llegue a la dentina amarilla subyacente, y sea reflejada. Las áreas incisales pueden tener una totalidad azulada.

Debido a su estructura cristalina, el esmalte es un tejido birrefringente con una ligera negatividad motivada por las distintas inclinaciones de los cristales de hidroxiapatita tanto referidos al eje del prisma como a la sustancia interprismática.

Una interesante propiedad física del esmalte es su Radiopacidad, entendiéndose por tal su oposición al paso de los rayos roentgen, en este sentido la Radiopacidad es muy alta ya que el esmalte está muy mineralizado.

Todos los tejidos duros la presentan en distintos grados y su magnitud depende de la proporción de sales minerales que contengan. En las radiografías dentales, el esmalte se presenta como una imagen blanca y en ellas las zonas afectadas por lesiones cariosas son detectables por tener disminuida la radiopacidad debido a la alteración y descalcificación propia de esa afección.

Como resultado de su alto contenido en sales minerales y escasa sustancia orgánica, la elasticidad del esmalte es muy escasa, comportándose como un tejido frágil, con tendencia a la fractura, cuya línea sigue la orientación de los prismas y sustancia interprismática.

- Propiedades Químicas.

El esmalte está formado principalmente por material inorgánico (94%) y únicamente una pequeña cantidad de sustancia orgánica (1,5%) y agua (4,5%). El material inorgánico del esmalte es similar a la apatita (fosfato y calcio en forma de cristales de hidroxiapatita)

La mineralización primaria del esmalte y la mineralización secundaria aumentan el contenido mineral describiendo una curva relativamente uniforme, luego se aplanan al producirse la mineralización secundaria; continúa aumentando lentamente en la medida que el espacio ocupado por células es ocupado por la matriz de mineralización en el hueso y la dentina.

El análisis de los componentes minerales del esmalte revela que predomina en ellos el calcio bajo la forma de fosfatos, de los cuales el más abundante es el de cálcico hidratado, que responde a la fórmula  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ , es muy similar a las apatitas naturales y que se denomina por sus características químicas, hidroxiapatita.

Este mineral se deposita durante la maduración de la matriz y sufre rápidamente un proceso de cristalización que lleva a la transformación de la mayor parte de la masa mineral en unidades cristalinas o cristales de hidroxiapatita. Pueden contener, además, otros fosfatos en una fase amorfa, sin organización cristalina, en especial en el esmalte recién elaborado.

Otras sales minerales de calcio han sido halladas en el esmalte incorporadas al cristal, como ser, carbonatos y sulfatos, así como componentes iónicos en muy pequeña cantidad tales como sodio, magnesio, hierro, flúor, manganeso, cobre, potasio, etc.

Respecto a la sustancia orgánica del esmalte no se conoce totalmente su naturaleza exacta dada la pequeña porción de 1,5% a 2% en que se encuentra y la facilidad con que se contamina con el componente similar de la dentina al tratar de aislarlos para su análisis químico. En las reacciones de desarrollo y coloración histológica, la matriz del esmalte se asemeja a la epidermis de queratinización. Otros métodos más específicos han revelado grupos sulfhidrilo y otras reacciones sugieren la presencia de queratina. No obstante, los análisis químicos de la matriz del esmalte maduro indican que la composición de aminoácidos no guarda relación estrecha con la queratina por falta de cistina y es muy diferente de la del colágeno, ya que esta proteína tiene hidroxiprolina e hidroxilisina no detectadas en el esmalte y muy bajo contenido en glicina.

Pueden aislarse proteínas en varias fracciones diferentes y éstas en general contienen un alto porcentaje de serina, ácido glutámico y glicina. Los estudios de difracción de rayos roentgen revelan que la estructura molecular es típica del grupo de proteínas denominadas

proteínas-B-cruzadas. Además, las reacciones histoquímicas han sugerido que las células formadoras de esmalte de los dientes en desarrollo también contienen un complejo polisacárido-proteína y que un mucopolisacárido ácido se incorpora en el propio esmalte en el momento en que la calcificación es un rasgo marcado.

Se ha señalado que otros aminoácidos como prolina, leucina e histidina pueden identificarse en la matriz del esmalte recién segregada por los ameloblastos, pero que luego disminuye notablemente, lo cual indicaría su intervención en el proceso de mineralización.

En suma, la proteína del esmalte es de tipo estructural, muy especial por sus aminoácidos constituyentes y a la cual se ha denominado amelinas o enamelinas.

Dentro de las sustancias orgánicas no proteicas del esmalte, se citan asimismo al ácido cítrico o citratos, carbohidratos como galactosa, lípidos, etc. Sin embargo, algunos hechos pueden ser comprobados en piezas dentarias adultas, como algún aumento de su dureza, disminución de agua, disminución y transformación de la sustancia orgánica y mayor resistencia a las caries.

El agua que contiene el esmalte está alrededor del 3,5% al 4,5%. Muy abundante al comienzo del desarrollo del tejido, y disminuyendo con la edad. En el esmalte adulto la mayor parte está unida a los cristales en la corona de hidratación que los rodea y el resto dentro de la molécula de los fosfatos integrantes de los mismos y proteínas (Fig. 18 a 21).

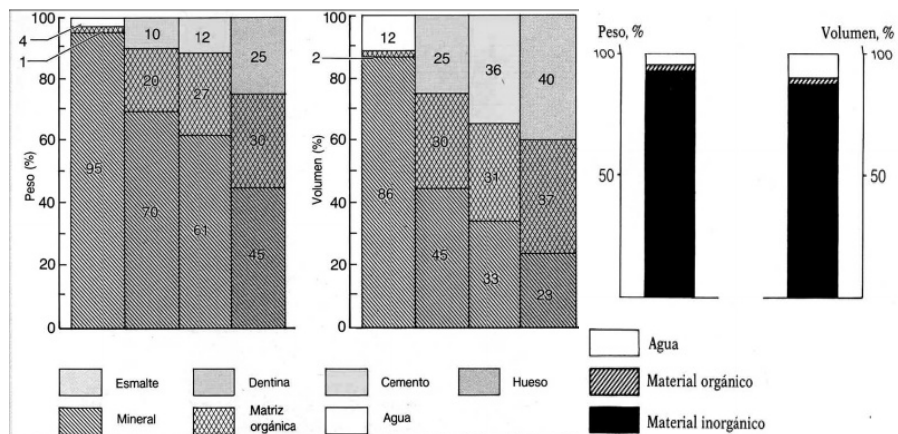


Fig.18. Relación de componentes orgánicos e inorgánicos de las diferentes estructuras. (Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

Cuadro 2. PRINCIPALES COMPONENTES DEL ESMALTE	
Componentes del esmalte	Porcentaje en peso
Hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$	92-94
Agua $\text{H}_2\text{O}$	~ 2-3
Carbonato $\text{CO}_3^{2-}$	~ 2.5
Oligoelementos Na, Mg, K, Cl, Zn	~ 1
Fluoruro F	0.01-0.05
Componentes orgánicos Proteínas y lípidos	<1

Fig.19.Composición del esmalte.

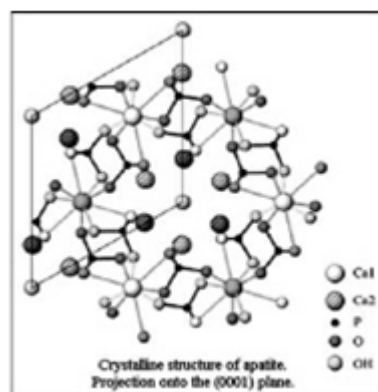


Fig.20.Estructura molecular.

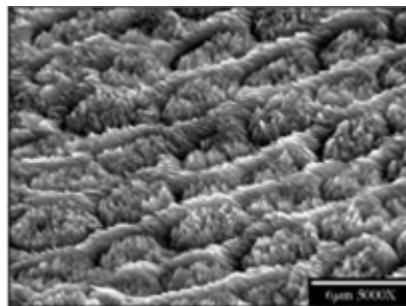


Fig.21 Observación al MEB

(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

- Estructura

Prismas: El esmalte está formado por la varillas o prismas del esmalte, las vainas de los prismas, y en algunas regiones una sustancia llamada cemento interprismático. Se ha estimado que el número de prismas del esmalte va desde 5 millones en los incisivos inferiores laterales hasta 12 millones en los primeros molares superiores. A partir del límite amelodentinario los prismas siguen un curso relativamente sinuoso hacia la superficie del

diente siendo su longitud mayor que la del espesor del esmalte debido a su orientación oblicua y su acomodamiento. Los prismas situados en las cúspides, la parte más gruesa del esmalte, son más largos que los de las áreas cervicales de los dientes. Se afirma en general que, de acuerdo con lo observado con el microscópico óptico, el diámetro de los prismas es de unos 4  $\mu\text{m}$  término medio, aunque esta medida necesariamente varía, dado que la superficie externa del esmalte es mayor que la dentinaria en la cual se originan. Se dice que el diámetro de los prismas aumenta desde el límite amelodentinario hacia la superficie de esmalte en proporción de 1:2 aproximadamente.

En condiciones normales son translúcidos, lo cual permite que la luz pase a través de ellos y vistos en corte transversal con microscopio óptico tienen a veces aspecto hexagonal en ocasiones redondos u ovalados. En cortes transversales de esmalte humano muchos prismas se asemejan a las escamas de pescado. (26) (27) (28)

- Estructura submicroscópica

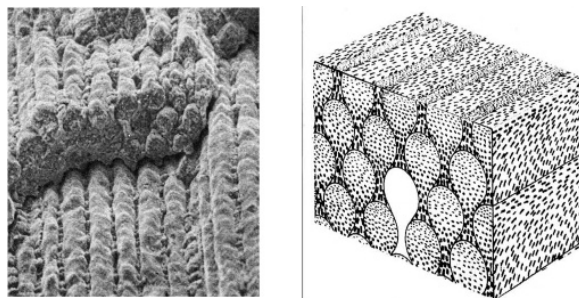
Dado que muchas características de los prismas del esmalte se hallan por debajo del límite de resolución del microscopio óptico, únicamente pueden responderse muchos interrogantes acerca de su morfología por medio de la microscopía electrónica. Si bien muchas áreas de esmalte humano parecen contener prismas rodeados por vainas y separados por sustancia interprismática, el modelo más común es el prisma en ojo de cerradura o en forma de remo. Los cortes longitudinales pasan a través de las cabezas o cuerpos de una hilera de prismas y por las colas de una hilera adyacentes, dando el aspecto de prismas separados por sustancia interprismática, midiendo aproximadamente 5  $\mu\text{m}$  de diámetro. Pueden agruparse de manera muy compacta y el esmalte con ésta estructura explica muchos modelos diferentes que se observan con el microscopio electrónico. Los cuerpos de los prismas están más cerca de la superficie oclusal e incisal, mientras que las colas se encuentran en dirección cervical.

Los estudios con luz polarizada y difracción de rayos roentgen indican que los cristales de hidroxiapatita están dispuestos casi paralelos al eje longitudinal de los prismas, si bien se han comunicado desviaciones hasta de 40 grados, los cuidadosos estudios con el microscopio electrónico han hecho posible describir, con más precisión la orientación de estos cristales, siendo aproximadamente paralelos al eje longitudinal de los prismas en sus cuerpos o cabezas y se desvían unos 65 grados de este eje al abrirse en abanico al llegar a las colas de los prismas.

Dado que es sumamente difícil preparar un corte que sea exactamente paralelo a los ejes longitudinales de los cristales, existen dudas en cuanto a su longitud, aunque se calcula que varía entre 0,05 y 1  $\mu\text{m}$ . En corte transversal, los cristales del esmalte humano tienen forma más bien hexagonal irregular y un espesor promedio de alrededor de 30 nanómetros y un ancho promedio de alrededor de 90 nanómetros.

Los cristales del esmalte son muchos más grandes que los de dentina, cemento y hueso, aunque algunos autores le atribuyen medidas menores a las mencionadas, probablemente debiéndose a la fase de desarrollo del esmalte o a la edad del individuo ya que se acepta que en un comienzo los cristales son pequeños separados por muchas sustancias orgánicas y a medida que éstas van disminuyendo y se pierde agua, aumentan sus diámetros, en especial en espesor, llegando a contactar entre sí.

Los primeros investigadores que usaron la microscopía electrónica describieron una red de finas fibrillas orgánicas que pasaban a través de los prismas y la sustancia interprismática. Los recientes perfeccionamientos de los métodos de preparación revelaron que la matriz orgánica probablemente forma una envoltura que rodea a cada cristal de hidroxiapatita. En micrografías electrónicas se observan las superficies de los prismas debidas a los bruscos cambios de orientación del cristal de un prisma a otro. Por tal motivo los cristales no se encuentran tan comprimidos y puede haber más espacios para la matriz orgánica en estas superficies. Esto explica que la vaina del prisma resulte visible con el microscopio óptico. (Figuras 22 a 24)



Observación al MEB

*Fig. 22. Prismas o varillas del esmalte: formados por cristales de Hidroxiapatita que se sitúan en un ángulo de  $90^\circ$  respecto al eje longitudinal de la varilla*

*(Gráficos tomados de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*



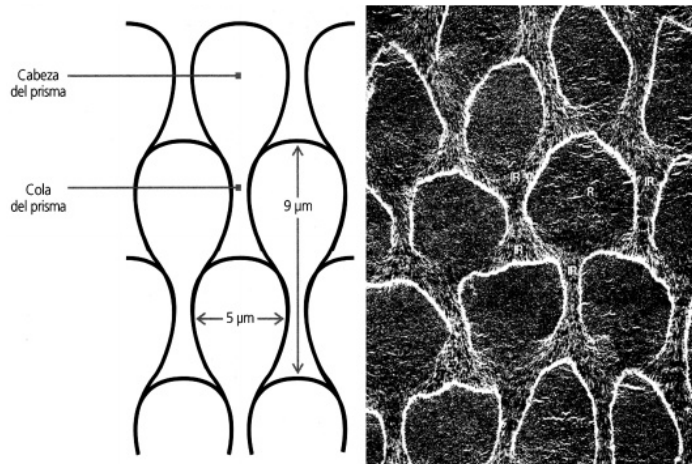


Fig. 23. Esquema y Corte transversal de los prismas al MEB  
(Gráfico tomado de Embriología y Embriología Buco Dental Gómez de Ferraris-)

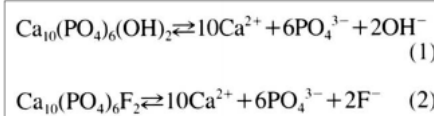
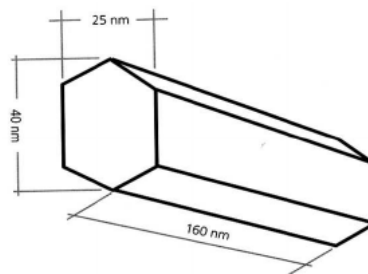


Fig. 24. Diagrama del cristal de hidroxiapatita  
(Gráfico tomado de Embriología y Embriología Buco Dental Gómez de Ferraris -)

Cada prisma de esmalte está compuesto por segmentos separados por líneas oscuras que le dan aspecto estriado. Estas estrías transversales marcan los segmentos y resultan más visibles por acción de ácidos débiles, siendo más pronunciadas en el esmalte poco calcificado. Los prismas están segmentados porque la matriz del esmalte se forma de manera rítmica. En el ser humano, estos segmentos tienen una longitud uniforme de 4 um aproximad

- Orientación de los prismas.

En general los prismas están orientados en ángulos rectos con la superficie de la dentina. En las partes cervicales y central de la corona de un diente deciduo son casi

horizontales. Cerca del borde incisal o en la punta de las cúspides cambian gradualmente de dirección hacia una cada vez más oblicua, hasta que en la región del borde o la punta de las cúspides son casi verticales. La disposición de los prismas en los dientes permanentes es similar en los dos tercios oclusales de la corona y en la región cervical los prismas se desvían de la horizontal en dirección apical.

Rara vez, o nunca, los prismas son rectos, siguen una trayectoria ondulada desde la dentina hasta la superficie del esmalte. Las desviaciones más importantes del curso recto radial pueden describirse de la siguiente manera; si dividimos la parte media de la corona en delgados discos horizontales, los prismas de discos adyacentes se curvan en dirección opuesta, por ejemplo, en un disco los prismas comienzan en la dentina en dirección oblicua y se doblan más o menos bruscamente hacia el lado izquierdo, mientras que en el disco adyacente los prismas se curvan hacia la derecha. Esta desviación en sentido horario y anti-horario alterados de los prismas a partir de la dirección radial puede observarse en todos los niveles de la corona si se cortan los discos en los planos de la dirección de los prismas.

Si se cortan los discos en un plano oblicuo, especialmente cerca de la dentina en la región de las cúspides o los bordes incisales, la disposición de los prismas parece aún más complicada: los haces de prismas parecen entrelazarse de manera más irregular. Este aspecto óptico del esmalte se denomina esmalte nudoso.

Los prismas del esmalte que forman las paredes de fosas y fisuras resultantes del desarrollo de cúspides vecinas, como ocurre en la cara oclusal de premolares y molares, tienen una orientación convergente hacia el exterior.

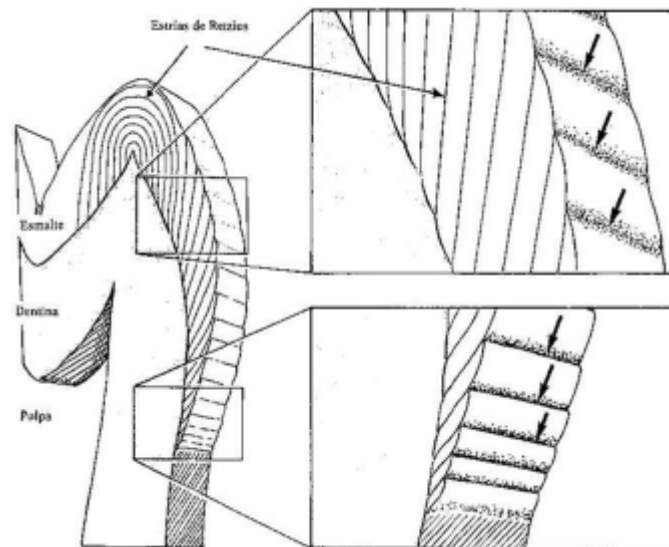
- Estrías de Retzius (líneas incrementales).

Las estrías o líneas incrementales de Retzius aparecen en forma de bandas parduscas en los cortes por desgastes del esmalte. Demuestran la forma como se desarrolla el esmalte con sucesiva aposición de capas de tejidos durante la formación de la corona. En cortes longitudinales se las observa concéntricas a las cúspides de dentina, mientras que, en las porciones cervicales de la corona tienen un recorrido oblicuo. Desde el límite amelodentinario hacia la superficie se desvían en sentido oclusal. En cortes transversales de un diente, las estrías de Retzius se ven como círculos concéntricos comparándose con los anillos de crecimiento que se ven en el corte transversal de un árbol. El término “líneas incrementales” es apropiado para designar estas estructuras, ya que las mismas reflejan, variaciones de estructura y mineralización, ya sea hipomineralización o hipermineralización, que se producen durante el crecimiento del esmalte. No se conoce la

naturaleza exacta de estos cambios del desarrollo. Se ha atribuido la formación de estas líneas de incremento a la curvatura periódica de los prismas del esmalte; a variaciones de su estructura orgánica básica; o a un ritmo de calcificación fisiológico.

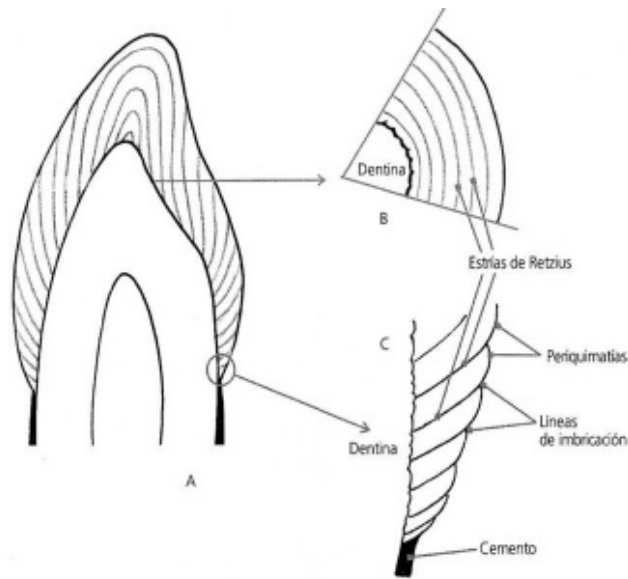
Las estrías de Retzius, cuando son de intensidad moderada, se consideran normales. No obstante, la alteración rítmica de períodos de formación de la matriz del esmalte y de descanso puede ser modificada por alteraciones metabólicas que hacen que los periodos de reposo se prolonguen en forma indebida y estén muy próximos. Esta situación anormal es la causa del ensanchamiento de las estrías de Retzius, que las torna más evidentes.

(Figuras 25 y 26).



*Fig. 25- Estrías trasversales de Retzius: entre una y otra línea de imbricación el esmalte sobresale ligeramente formando las periquimatías, muy visible en la zona cervical de dientes jóvenes. Hay una periquimatía especialmente marcada que representa el momento del nacimiento del individuo, la línea neonatal.*

*(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*



*Fig. 26. Estrías de Retzius: disposición en las distintas zonas del esmalte. Corte longitudinal. Corresponden a incrementos en la mineralización del esmalte cada 5 – 20 días. Líneas de crecimiento. En la superficie del esmalte originan ligeras depresiones denominadas líneas de imbricación.*

*(Gráfico tomado de Histología y Embriología Bucodental –Gomez de Ferrari)*

- Bandas de Hunter-Schreger.

El cambio más o menos regular de la dirección de los prismas puede considerarse una adaptación funcional, que reduce el riesgo de segmentación en dirección axial por influencia de las fuerzas masticatorias oclusales, ocasionando la aparición de las bandas de Hunter-Schreger. Estas bandas oscuras y claras alteradas de ancho variable que se observan mejor en un corte longitudinal por desgaste con luz oblicua reflejada, se originan en el borde amelodentinario y se dirigen hacia afuera, terminando a cierta distancia de la superficie externa del esmalte.

Algunos investigadores sostienen que existen variaciones de la calcificación del esmalte que coinciden con la distribución de las bandas de Hunter-Schreger. La prolija descalcificación y coloración del esmalte ha proporcionado nuevas pruebas de que estas estructuras podrían no ser únicamente consecuencia de un fenómeno óptico, sino que están compuestas por zonas alteradas que tienen una permeabilidad ligeramente diferente y distinto contenido de material orgánico. (Figuras 27 y 28).

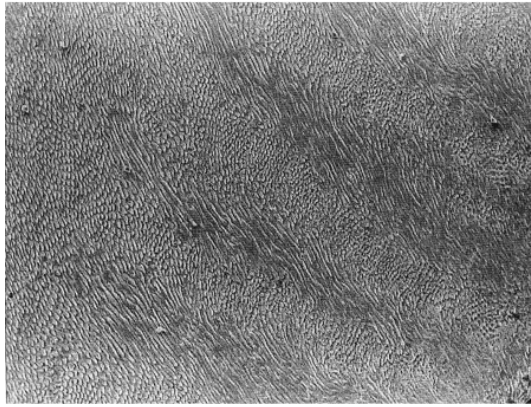


Fig. 27. *Bandas de Hunter Schreger al MEB*

(Gráfico tomado de *Embriología e Histología Dental* - Dr. Juan José Segura Egea-)

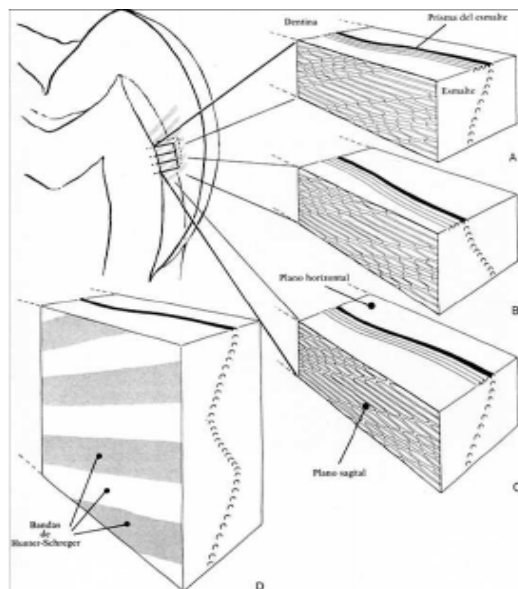


Fig. 28. *Bandas de Hunter – Schreger: la dirección de los prismas es irregular desde el límite amelodentinario hacia la superficie, formando eses; las diferencias de fase entre prismas adyacentes origina las bandas de Hunter Schreger. El entrecruzamiento de esas eses origina los nudos del esmalte o esmalte nudoso, más resistente.*

(Gráfico tomado de *Embriología e Histología Dental* - Dr. Juan José Segura Egea-)

Se ha descrito una capa de esmalte relativamente aprismático de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$  de espesor, en el 70 % de los dientes permanentes y en todos los dientes deciduos. Este esmalte aprismático se encuentra con menos frecuencia sobre los extremos de las cúspides y más comúnmente hacia las áreas cervicales de las superficies del esmalte. En esta capa superficial no se observan los contornos de los prismas, todos los cristales de apatita son paralelos entre sí y perpendiculares a las estrías de Retzius. siendo, algo menos

mineralizada que el resto del esmalte que se encuentra por debajo de ella. Se han observado otros detalles microscópicos en las superficies externas del esmalte de dientes recién erupcionados, tales como periquimatías, extremos de los prismas y laminillas.

- Las periquimatías:

Son rodetes transversales, ondulados, que se cree son la manifestación externa de las estrías de Retzius. Se continúan alrededor del diente y por lo general son paralelas entre sí y con respecto al límite cemento adamantino. Por lo común existen alrededor de 30 periquimatías por milímetro en las proximidades del límite cemento adamantino. Sus concentraciones disminuyen poco a poco hasta unos 10 por milímetro cerca del borde oclusal o incisal de una superficie, generalmente su curso es bastante regular, aunque en la región cervical puede ser muy irregular.

Los extremos de los prismas del esmalte son cóncavos y de profundidad y forma variables, siendo menos profundos, en las regiones cervicales de las superficies y más profundos cerca de los bordes incisal u oclusal.

En un principio se utilizó el término “resquebrajaduras” para describir a las estructuras angostas, en forma de fisuras, que se observan en casi todas las superficies. Más tarde se demostró que en realidad son los bordes externos de las laminillas o fisuras. Se extienden por espacio de una distancia variable a lo largo de la superficie, en ángulo recto con el límite amelodentinario, en el cual se originan. La mayoría de ellas tienen menos de un milímetro de longitud, aunque algunas son más largas, y unas pocas llegan al borde oclusal o incisal de una superficie. Están bastante uniformemente espaciadas, pero las laminillas largas son más gruesas que las cortas.

El esmalte de los dientes deciduos se desarrolla en partes antes, y en partes después del nacimiento. El límite entre las dos porciones de esmalte en los dientes temporarios está marcado por una estría de Retzius acentuada, la línea neonatal o anillo neonatal. Parece que es el resultado de un brusco cambio de las condiciones ambientales y nutricionales del recién nacido. Por lo común, el esmalte prenatal está mejor desarrollado que el posnatal. Esto se explica por el hecho de que el feto se desarrolla un medio bien protegido con un suministro adecuado de todas las sustancias esenciales, a expensas de la madre. Debido al desarrollo ininterrumpido y uniforme del esmalte antes del nacimiento, no se observan periquimatías en las partes oclusales de los dientes deciduos, mientras que se las encuentra en las porciones cervicales posnatales (26) (27).

- Cutícula del esmalte:

Una delicada membrana, denominada membrana de Nasmyth en mérito a su primer investigador, o cutícula primaria del esmalte, cubre toda la superficie de la corona del diente recién erupcionado, perdiéndose pronto con la masticación. Los estudios con el microscopio electrónico indican que esta membrana es una lámina basal típica que se encuentra por debajo de la mayoría de los epitelios, siendo probablemente visible con el microscopio óptico por su curso ondulado. Al parecer, esta lámina basal es secretada por los ameloblastos cuando se completa la formación del esmalte. También se ha observado que el área cervical del esmalte está cubierta por cemento afibrilar, a continuación del cemento y de origen mesodérmico. Aparentemente esta cutícula es secretada después que el órgano del esmalte se retrae de la región cervical durante el desarrollo del diente.

- Laminillas o fisuras del esmalte:

Son estructuras finas, foliadas, que se extienden desde la superficie del esmalte hacia el límite amelodentinario. Pueden extenderse hasta la dentina y, a veces, penetran en ella. La cuidadosa descalcificación de los cortes por desgastes de esmalte hacen posible la diferenciación entre las periquematías y laminillas del esmalte. Las primeras desaparecen, en tanto, las últimas persisten.

Las laminillas pueden desarrollarse en los planos de tensión y si los prismas atraviesan ese plano, un corto segmento del prisma no llega a calcificarse totalmente. Si la alteración es más severa, puede producirse una separación que es ocupada por las células circundantes si la misma se produjo en un diente antes de su erupción, o por sustancias de la cavidad bucal cuando la resquebrajadura se produjo después de la erupción. De tal modo, es posible diferenciar tres tipos de fisuras o laminillas: tipo A, laminillas formadas por segmentos de prismas poco calcificados; tipo B, laminillas formadas por células degeneradas; y tipo C, laminillas originadas en dientes erupcionados donde las resquebrajaduras han sido ocupadas por material orgánico, presuntamente proveniente de la saliva. Este último tipo puede ser más común de lo que antes se creía. Aún cuando las laminillas del tipo A están circunscriptas al esmalte, las de los esmaltes tipo B y C pueden llegar hasta la dentina. Si las células del órgano del esmalte llenan una resquebrajadura del esmalte, las que se alojan en su profundidad degeneran, en tanto que las que se encuentran próximas a la superficie pueden conservar su vitalidad durante un tiempo y producir una cutícula cornificada en la hendidura. En tales casos las partes internas de la laminilla están formadas por detritus orgánicos celulares, en tanto las capas externas, por una doble capa

de la cutícula. Si el tejido conectivo invade una resquebrajadura del esmalte puede formarse cemento. En estos casos las laminillas están constituidas total o parcialmente por cemento.

Las laminillas se extienden en dirección longitudinal y radial del diente, desde la cúspide de la corona hasta la región cervical. Esta disposición explica por qué se las puede observar mejor en cortes horizontales. Se ha sugerido que las laminillas del esmalte podrían ser el sitio menos resistente de un diente y constituir la vía de entrada de las bacterias que ocasionan la caries (26) (27).

- Penachos del esmalte o penachos de Linderer:

Se originan en el límite amelodentinario y recorre el esmalte desde un quinto a una tercera parte de su espesor. Se los denomina de este modo porque se asemejan a penachos de hierba cuando se los observa en cortes por desgastes. Esta imagen es errónea. Un penacho de Linderer no nace en un área única pequeña, sino que es una estructura angosta y acintada, cuyo extremo interno tiene origen en la dentina. La impresión del penacho se crea con el examen de dichas estructuras en cortes gruesos con poco aumento. En tales circunstancias las ondulaciones, que se encuentran en diferentes planos y se curvan en distintas direcciones, se proyectan en un solo plano.

Los penachos están constituidos por prismas del esmalte hipocalcificados y sustancia interprismática. Lo mismo que las laminillas, se extienden en el sentido del eje longitudinal de la corona. Por lo tanto, se observan abundantemente en cortes horizontales, y raras veces en los longitudinales. Su presencia y sus desarrollos son consecuencias de condiciones especiales en el esmalte, o una adaptación a ellas.

- Límite amelodentinario:

Aquí la superficie de la dentina está constituida por concavidades o fositas rellenas por esmalte. Esta relación asegura la firme retención del esmalte sobre la dentina. Por lo tanto, en los cortes aparece el límite amelodentinario, no como una línea recta, sino festoneada.

Las convexidades de las ondas están dirigidas hacia la dentina. El límite amelodentinario festoneado está formado antes del desarrollo de los tejidos duros y evidentes en la organización de los ameloblastos y la membrana basal de la papila dentaria.

En microrradiografías de cortes por desgaste, puede demostrarse a veces en el límite amelodentinario una zona hipermineralizada de 30  $\mu\text{m}$  de espesor aproximadamente, y es más evidente antes de completarse la mineralización.

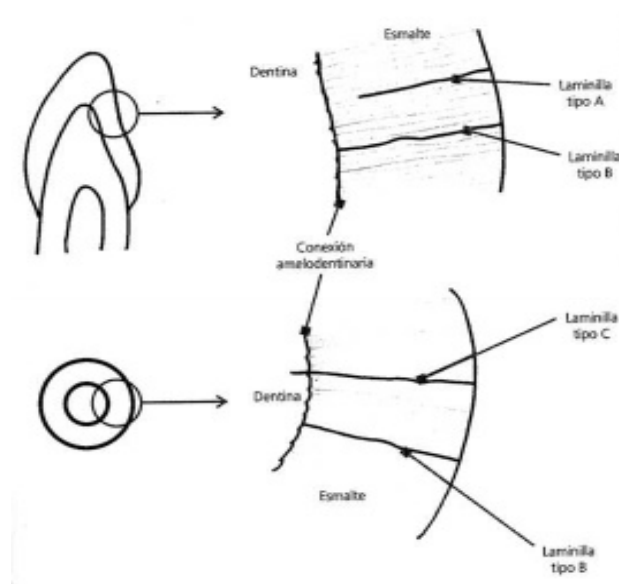


- Fibrillas de Tomes y Husos adamantinos:

A veces, las prolongaciones de los odontoblastos o fibrillas de Tomes pasan a través del límite amelodentinario hacia el esmalte. Dado que muchas de ellas están engrosadas en sus extremos, se las denomina husos adamantinos. Parecen originarse en prolongaciones de los odontoblastos que se han extendido hasta el epitelio del esmalte antes de la aparición de sustancias minerales. La dirección de las prolongaciones odontoblásticas y de los husos en el esmalte corresponde a la dirección original de los ameloblastos: en ángulo recto con respecto a la superficie de la dentina. Dado que los prismas del esmalte se forman en ángulo con el eje de los ameloblastos, la dirección de los husos y los prismas es divergente. En cortes por degastes de dientes secos el contenido orgánico de los husos se desintegran, de modo que los espacios aparecen oscuros con luz transmitida (26) (27) (28).

- Esmalte dentario: Zonas menos mineralizadas.

1. Laminillas - cracks (figura 32)
2. Penachos (figuras 33 a 36)
3. Husos (figuras 37 y 38)
4. Esmalte intervarillar (figuras 39 a y b)



*Fig. 32. Laminillas: numerosas en la region cervical, son fallas de mineralización que se extienden transversalmente desde el límite amelodentinario hasta la superficie del esmalte. Deben distinguirse de las grietas longitudinales que aparecen en el esmalte después de la erupción por las proteínas de la saliva.*

*(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*

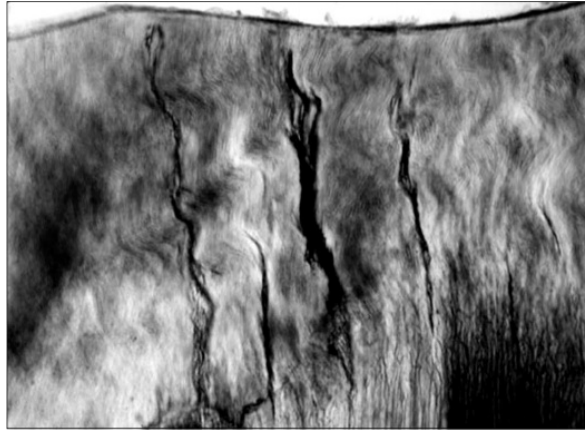


Fig. 33. Observación al MEB x 400. Penachos

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

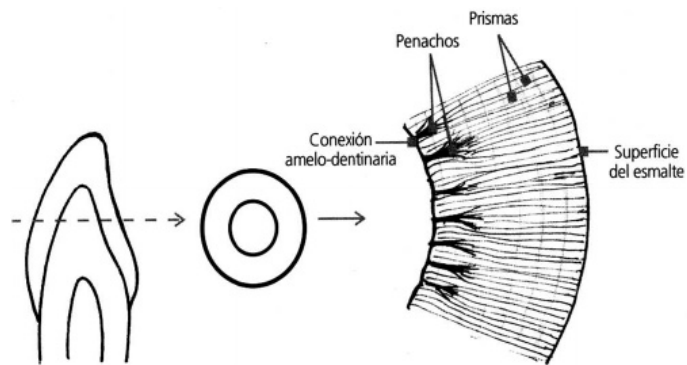


Fig. 34 Penachos de Linderer: son también zonas menos mineralizadas de corto trayecto, solo 1/3 del espesor del esmalte.

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

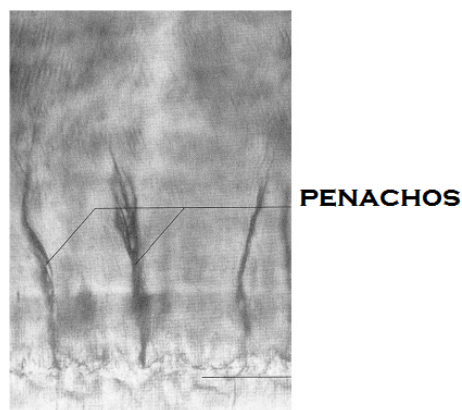
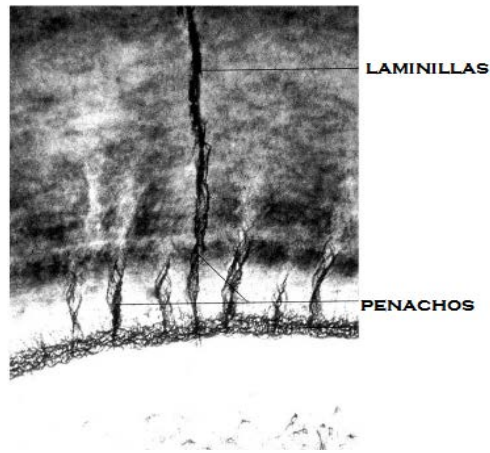


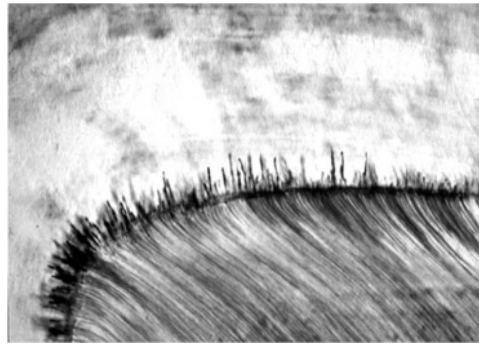
Fig. 35. Penachos. Observación al MEB

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)



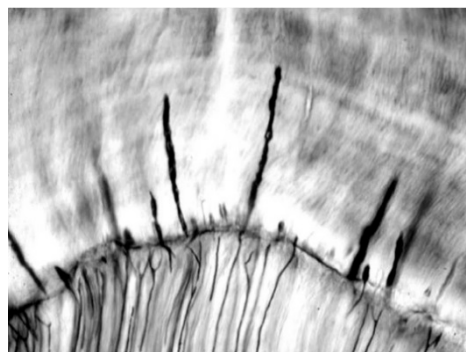
*Fig. 36. Laminillas y Penachos.MEB*

*(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*



*Fig. 37. Husos del esmalte: se localizan en la unión esmalte-dentina; son oquedades cupuliformes provocadas por la prolongación en el esmalte de los conductillos dentinarios y procesos odontoblásticos atrapados en el comienzo de la calcificación.MEB*

*(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*



*Fig. 38. Husos del esmalte.MEB*

*(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)*

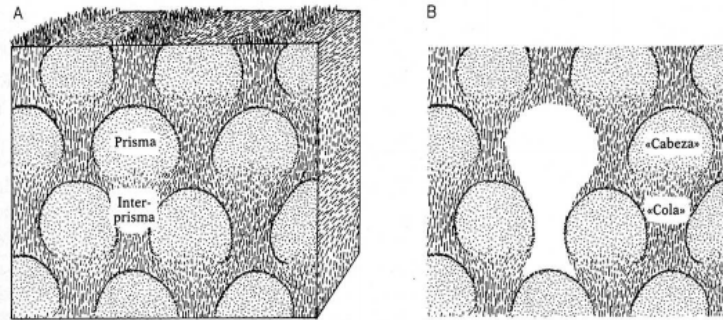


Fig. 39 A y B Esmalte intervarillar: su densidad de cristales es similar a la de los prismas, pero se disponen orientados en distinto eje ( $40^\circ - 60^\circ$ ).

(Gráfico tomado de Embriología e Histología Dental - Dr. Juan José Segura Egea-)

#### - Histofisiología

Este término significa los fenómenos íntimos que tienen asiento en un tejido tan particular como el esmalte que, como sabemos, no tiene células, presenta escasa sustancias orgánicas y está intensamente mineralizado, circunstancias todas que conspiran para adjudicarle circulación, vitalidad o metabolismo en sentido estricto. Sin duda que el punto crítico del problema está en su bajo contenido orgánico, muy alejado de otros tejidos duros como dentina, cemento y hueso que pese a la mineralización tienen sustrato orgánico, vías canaliculares y aún vasculares que posibilitan intercambios materiales y enérgicos con el resto del organismo. Los aspectos histofisiológicos del esmalte son:

Vitalidad: no es un tejido vivo ya que no posee células y prolongaciones de ellas salvo los ocasionales conductillos penetrantes.

Sus caracteres histológicos no le permiten mecanismo biológico de defensa, crecimiento o reparación. Los diversos autores que se han ocupado del problema pueden ser agrupados como: vitalistas, o sea los que consideran al esmalte como tejido vivo, capaz de crecer u aún reaccionar ante agresiones del medio interno o externo. Este grupo de autores atribuían al tejido adamantino un porcentaje de materia orgánica proteica mayor al actualmente aceptado.

Hoy no tiene vigencia este criterio tan amplio, aunque debe admitirse que en el esmalte se producen modificaciones cualitativas en presencia de caries pero que responden a causas puramente químicas no vitales. Asimismo, debe descartarse todo tipo de circulación que recorra el tejido ya que no hay en su estructura elementos que lo prueben. Los que niegan todo tipo de modificaciones en el esmalte maduro son los llamados no vitalistas que sólo consideran al esmalte como una sustancia inerte, sólo afectada a la

función mecánica de masticación, siendo por lo tanto aquellos que admiten las cantidades mínimas de sustancias orgánica. Un tercer grupo puede ser catalogados como eclécticos y admiten transformación en el esmalte con la edad y un grado de permeabilidad capaz de vehiculizar desde el exterior sustancias presentes en la saliva, así como aceptan que, desde dentina, vía conductillos penetrantes y husos adamantinos, en el esmalte joven es posible la vehiculización de fluidos con intervención de fenómenos fisico-químico que modificarían el esmalte con el curso de la edad. Estos hechos están probados por las transformaciones del tejido, que consisten en aumento de su dureza y pérdida de agua, lo que trae aparejada una disminución de su permeabilidad. No debemos olvidar que el esmalte recién elaborado, no maduro, tiene mucha sustancia orgánica, la que posibilita incluso su ulterior mineralización, y que a medida que ella se produce el porcentaje orgánico disminuye hasta estabilizarse en el 1,5 %. En el diente maduro hay además modificaciones cualitativas. En suma, la posición de los eclécticos es más razonable, admiten cierto intercambio en el esmalte joven recién elaborado por su mayor contenido orgánico, transformación con la edad y disminución de la permeabilidad, fenómeno éste que se comprueba con las experiencias de Fish, cementando coronas metálicas en dientes de perro de distintas edades en los que se colocó azul de metileno en distintos lapsos y donde se observó que el colorante empleado se vehiculizaba más fácil y más rápido en dientes jóvenes. Esta experiencia no demuestra circulación, sino modificaciones de la permeabilidad, hecho ligado a la cantidad de sustancia orgánica, a su transformación cualitativa y al aumento del tamaño de los cristales de hidroxiapatita. Otras experiencias más actuales con isótopos radiactivos y sustancias marcadas inyectadas, abonan en el sentido de que el esmalte puede vehiculizarlas en poca cantidad desde el exterior por vía de la saliva que baña la corona, pero solo en un pequeño espesor cortical. Las mismas experiencias demuestran que la vía dentinaria para la difusión de sustancias en el esmalte es muy precaria y disminuye en dientes adultos. (25) (26)

Respecto a la sensibilidad del esmalte debe descartarse ya que no posee terminaciones nerviosas que la posibiliten. La remoción del tejido adamantino en el tratamiento de la caries es indolora, pero el recalentamiento por la fricción de la fresa afecta al tejido dentinario subyacente que es sumamente sensible.

Asimismo, en las proximidades del límite amelodentinario la sensibilidad se agudiza por la proximidad de la dentina y los conductillos penetrantes que pasan al esmalte. No habría entonces una sensibilidad autóctona del tejido adamantino sino a través de elementos incorporados y capaces de transmitir estímulos.

El cambio más aparente provocado por la edad en el esmalte es la atrición o desgaste de las superficies oclusales y los puntos de contacto proximal como consecuencia de la masticación. Esto se manifiesta por la pérdida de la dimensión vertical de la corona y por un aplanamiento del contorno proximal. Además de estos cambios macroscópicos las propias superficies externas del esmalte experimentan alteraciones pos eruptivas de su estructura a nivel microscópico, que son la consecuencia de influencias ambientales y se presentan con una regularidad que puede relacionarse con la edad.

Las superficies de los dientes antes de su erupción y recientemente erupcionados están completamente cubiertas por pronunciadas terminaciones de los prismas y periquimatías. En las áreas más sobresalientes que corresponden a dichas estructuras, las fricciones e impactos masticatorios los van haciendo desaparecer, lo cual tiene como consecuencia la pérdida general de las terminaciones de los prismas y un aplanamiento mucho más lento de las periquimatías. Por último, las periquimatías desaparecen por completo.

Ha sido difícil discernir por medio del microscopio los cambios producidos por la edad en el esmalte propiamente dicho. El hecho de que ocurran alteraciones ha quedado demostrado por análisis químicos, aunque las mismas no se han aclarado del todo. Por ejemplo, algunos autores afirman que la cantidad total de matriz orgánica aumenta, otros que se mantiene invariable y otros, que disminuye. Sin embargo, se han visto aumentos localizados de ciertos elementos como el nitrógeno y el flúor en las capas superficiales del esmalte de dientes maduros. Esto sugiere una captación continua, probablemente del medio bucal, durante el proceso de envejecimiento. Como consecuencia de los cambios debidos a la edad en la parte orgánica del esmalte, supuestamente cerca de la superficie, los dientes pueden oscurecerse y aumentar su resistencia a la caries. Es muy sugestiva, como alteración por envejecimiento, la permeabilidad reducida de los dientes maduros a los líquidos. (25) (26)

- Histología aplicada y consideraciones clínicas.

Las fisuras profundas del esmalte predisponen a las caries. Si bien estas hendiduras profundas entre cúspides adyacentes no pueden considerarse patológicas, proporcionan áreas para la retención de los agentes productores de caries. La caries profundiza en el piso de las fisuras rápidamente porque el esmalte de estas zonas es muy delgado. A medida que el proceso de destrucción llega a la dentina, se propaga siguiendo el límite amelodentinario socavando el esmalte. Se produce la caries de unas extensas áreas de dentina sin que el

paciente lo advierta puesto que la entrada de la cavidad es pequeña. Es necesario un prolijo examen para descubrir dichas cavidades porque la mayoría de las fisuras del esmalte son más pequeñas que la cerda de un cepillo de dientes y no puede detectarse con el explorador.

Las laminillas o fisuras dentarias pueden ser también sitios predisponentes a las caries porque contienen gran cantidad de material orgánico. Sobre todo, desde el punto de vista de la protección contra las caries se efectúan actualmente muchas investigaciones acerca de la estructura y las reacciones de la superficie externa del esmalte. Las pruebas in vitro han demostrado que la solubilidad ácida del esmalte puede verse muy reducida por el tratamiento con compuestos fluorurados. Los ensayos clínicos sobre la base de estos estudios demostraron una reducción del 40% o más en la incidencia de caries en niños tratados con aplicaciones tópicas de fluoruro de sodio o de estaño. La incorporación de fluoruros en pastas dentífricas es un medio para la prevención de la caries aceptado en la actualidad. Las mezclas que contienen fluoruros, tales como pastas con fluoruro estañoso, enjuagues con fluoruro de sodio y fluoruro fosfato acidulado son utilizados también por el odontólogo para modificar la superficie externa del esmalte de manera de tornarla más resistente al ataque.

Hasta el momento, el medio más efectivo para el control masivo de la caries dental ha sido la aceptación del nivel del fluoruro del agua de consumo a una parte por millón. Los estudios epidemiológicos en áreas en las cuales el agua de consumo contiene fluoruro natural han revelado que la frecuencia de caries tanto en niños como en adultos era un 65% inferior a la de áreas con aguas sin fluoruros y los estudios a largo plazo demostraron que se obtiene el mismo grado de protección por medio de programas de fluoruración de agua. Se considera que los mecanismos de acción son fundamentalmente una combinación de cambios de la resistencia del esmalte, provocados por la incorporación de fluoración durante la calcificación, y alteraciones del medio en que se encuentran los dientes, sobre todo en lo que se refiere a la flora bacteriana bucal.(28)

## **2.5 - Proceso Desmineralización – Remineralización (DES-RE).**

Las piezas dentarias necesitan calcio, fosfato y flúor. La saliva contiene a su vez éstos minerales y junto con ciertas proteínas salivales puede liberar bio-naturalmente calcio y fosfato a la superficie del diente durante los procesos de desmineralización – remineralización. El calcio y el fosfato influyen en el fortalecimiento del esmalte dental, en la reducción de la sensibilidad y neutralización de la acidez de la placa bacteriana. (30)

Es normal, que el esmalte del diente se desmineralice gradualmente. El balance oral y mineral puede ser afectado por varias causas: xerostomía, placa bacteriana, mala higiene oral y malos hábitos dietéticos. Todo esto puede inducir a que el equilibrio mineral se pierda y el balance entre la remineralización y desmineralización, se incline hacia la desmineralización. La primera respuesta del organismo es la acción de los sistemas buffer, como la saliva y el líquido de la placa. La saliva suministra iones de calcio y fosfato, dándole otra vez su equilibrio y remineralizando el esmalte. El sistema buffer va a ser capaz de amortiguar el bajo pH y llevarlo a uno más neutro. (31)

Así, la desmineralización ocurre cuando los ácidos ingresan en el esmalte, disuelven los cristales de apatita y liberan iones de Calcio y Fosfato en la saliva lejos de la superficie del diente. Con el tiempo, lleva a la destrucción de la infraestructura del esmalte y la destrucción comienza, observándose en forma de mancha blanca.

Al examinarse la superficie del esmalte, producto de esta desmineralización inicial, se observa que presenta cambios desde el punto de vista estructural, adoptando un aspecto moteado dado principalmente por el aumento en el tamaño de los poros y el incremento en el tamaño de los espacios interprismáticos; la superficie presenta un aspecto diferente a lo normal visible mediante microscopía electrónica, donde se observan cambios superficiales iniciales a nivel molecular. (32)

La remineralización es un proceso de precipitación de calcio, fosfato y otros iones en la superficie o dentro del esmalte parcialmente desmineralizado. Los iones pueden proceder de la disolución del tejido mineralizado, de una fuente externa (33) (34) como en el caso del trabajo, con la aplicación del Caseín fosfato, o una combinación de ambos. La deposición inicial de los minerales ocurre cerca o en la capa externa de la lesión.

El compuesto mineral que se deposita inicialmente es una forma soluble, al transcurrir el tiempo los minerales son transferidos dentro de la lesión y eventualmente depositados en forma de compuestos insolubles en la parte más profunda del cuerpo de la lesión. La capacidad de remineralización de las áreas desmineralizadas del esmalte, constituyen uno de los pilares fundamentales de la prevención y dentro de este proceso la presencia del flúor ejerce una marcada influencia, dado que el esmalte necesita calcio, fosfato y flúor. (35) (36)

Surge así, la inquietud en la búsqueda de encontrar componentes que actúen interceptando la evolución de la caries dental, reconociendo la efectividad de los fluoruros en relación con un material (Caseín fosfato) poco utilizado o menos investigado, que por su parte van actuar estabilizando el proceso cíclico al cual es sometido el diente, conocido



como, proceso de desmineralización y remineralización (DES-RE). El flúor actúa cuando el pH salival es menor a 5(cinco), los átomos de flúor reemplazan al ión oxhidrilo (OH), formando la flúorapatita, que es un compuesto más resistente a los cambios del pH y por ende a la desmineralización. (37) (38) (39)

Función del pH salival: El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución, indicando la concentración de iones hidronio ( $H_3O$ ) presentes en determinadas sustancias. La sigla significa potencial de hidrógenos, y desde el punto de vista práctico, podemos decir que pH es el exponente positivo de la concentración de hidrógenos de la solución así podrá ser neutra pH siete (7), ácida, pHcinco (5), alcalina, pH nueve (9).

Por otro lado, cabe destacar la importancia de la saliva, como agente protector desinfectante- antibacteriano, dado que en este complejo accionar, el bicarbonato y fosfato componentes de la misma, neutraliza el pH de los alimentos ácidos y la corrosión bacteriana. Por su parte la lisozima, enzima interviniente, tiene efecto antimicrobiano actuando sobre las bacterias, eliminándolas. Su función protectora sobre el esmalte está dado como lubricante, defensa y regulación del pH, favoreciendo la remineralización.

La saliva segregada en la cavidad bucal tiene como constituyentes principales, agua en un 96%, mucopolisacárido y glicoproteínas, iones (sodio, potasio, cloro, fosfato, bicarbonato y calcio pialina, la galactosidasa y la lisozima, globulinas (Inmunoglobulina A), proteínas componentes que le otorgan un pH óptimo entre 6.3 y 6.8.

Es normal la desmineralización gradual del esmalte dentario debido a la pérdida de calcio y de iones fosfatos y es el mantenimiento de la saliva, de balance mineral y del pH oral, el que protege al medio bucal ayudando a prevenir el proceso de desmineralización. Si está afectado el medio, da lugar al proceso mencionado y para compensar este desbalance ocurre la remineralización, proceso en el que precipita el calcio, fosfato y otros iones dentro o en la superficie del esmalte parcialmente desmineralizado. (40)

- La saliva:

Es una mezcla compleja de fluidos, compuesta en más del 99% por agua y el casi 1% restante por sólidos, sobre todo electrolitos, aminoácidos y proteínas, carbohidratos (CH), lípidos, sales e inmunoglobulinas (1,4) que le dan su viscosidad característica.

El término saliva se refiere al fluido ya mezclado que se encuentra en la boca, en contacto con los dientes y la mucosa bucal y a la que se denomina también saliva completa. Su producción diaria es aproximadamente de 0,5 a 1 litro, y el 90% es producida por las glándulas salivares mayores; parótidas, submandibulares y sublinguales. El 10 %

restante es producido principalmente por las glándulas salivares menores, pero también por fuentes no glandulares como el fluido crevicular, en una cantidad dependiente de la salud periodontal del paciente. La saliva completa, de apariencia turbia, en contraste con la saliva glandular transparente, también contiene células epiteliales de la mucosa oral y cantidades importantes de bacterias.

La secreción salival es regulada por los sistemas simpático y parasimpático, connotables variaciones circadianas, con un máximo para la mayoría de las personas, a las cinco de la tarde y un mínimo durante el sueño. Esta secreción puede estar influenciada también por el estado fisiológico y emocional. Toda la boca, dientes y mucosa, se encuentran revestidos por una pequeña y fina capa de saliva de un grosor aproximado de 100µm, variable en las diferentes localizaciones de la boca.

En general la saliva presenta funciones tales como la dilución del detritus, de la comida y de las bacterias, la lubricación de las superficies dentales, la protección de los dientes neutralizando los ácidos, la depuración de los metabolitos ácidos, el mantenimiento de su supersaturación con respecto a la hidroxiapatita (OHAP), su participación en la formación de la película adquirida y la defensa antimicrobiana, entre otros.

La saliva puede influir en el desarrollo de la caries de cuatro modos generales, mediante el proceso de limpieza mecánica, la reducción de la solubilidad del esmalte, la neutralización de los ácidos y su actividad antibacteriana.

1) Proceso de limpieza mecánica: autoclisis y aclaramiento: El término autoclisis se refiere a aquellos mecanismos que limpian de forma natural las superficies de los dientes y los tejidos de revestimiento de la cavidad oral. El rozamiento sobre la superficie del diente y de la encía, debido a los movimientos de la lengua, de la mucosa yugal, de los labios y de los propios alimentos durante la masticación posee un efecto de fricción sobre la placa bacteriana que limita su acumulación. El efecto de barrido de la saliva es dependiente del volumen producido, de su calidad serosa y producida principalmente durante la ingesta de alimentos.

Respecto al aclaramiento oral es una función primordial de la saliva que consiste en diluir y eliminar sustancias, y esto es de especial importancia en el caso de sustancias con una influencia directa en el proceso de la caries como por ejemplo algunos tipos de CH fermentables, sobre todo la sacarosa.

2) Reducción de la solubilidad del esmalte: El esmalte formado por cristales de hidroxiapatita (OHAP) está en un equilibrio fluctuante físico-químico con la saliva, existiendo un intercambio entre ellos que da lugar a un proceso constante de dilución y

reprecipitación. La capacidad de la saliva para mantener el medio oral supersaturado en relación a la OHAP, la convierte en un medio protector contra la DES y reparador para el diente. Los componentes de la saliva involucrados en mantener esta supersaturación son los iones de Ca (calcio) y P (fósforo), ambos constituyentes además de la OHAP. Los niveles reales del total de estos elementos en la saliva son difíciles de determinar, al variar según se trate de saliva estimulada o de reposo y al ser diferente en la secreción de cada glándula. Bajo condiciones fisiológicas la capacidad de neutralización de la saliva trabajará en equipo con estos iones para mantener la supersaturación, manteniendo el medio ambiente oral en un pH cercano a la neutralidad.

La supersaturación, favorece la reposición de minerales por parte de la superficie del esmalte. Por lo tanto, está claro que el mineral de esmalte, en condiciones normales, no se disolverá en la boca. Además, se podría esperar que debido a este alto nivel de supersaturación, los cristales de OHAP continúen creciendo o se generaran nuevos cristales en la saliva que se depositan en la superficie del esmalte. La principal razón por la que esto no ocurre en las superficies libres de placa, es porque la saliva contiene inhibidores proteicos del crecimiento de los cristales. Algunos de ellos son los péptidos ricos en tirosina, esteaterina y varias proteínas ricas en prolina que cubren la superficie del esmalte y previenen que este pudiera crecer en puntos donde los cristales estén expuestos, además también evitan precipitaciones espontáneas en los ductos salivares. (41) (42)

3) Neutralización de los ácidos: Varios factores contribuyen a la capacidad de la saliva para contrarrestar el ácido introducido directamente en la boca o producido en ella, entre estos factores se destacan: el pH de la saliva durante la secreción y la presencia de elementos que tienden a aumentar el pH salival.

El pH de la saliva es extremadamente variable. En ausencia de estímulo exógeno el pH de la saliva parotídea es de  $5,5 \pm 0,5$  y el de la saliva de la glándula submaxilar es algo más alto:  $6,4 \pm 0,6$ . Este pH puede elevarse con el aumento del flujo, es más bajo por las mañanas y mucho más alto durante las comidas, determinando que el pH de la saliva humana tiene valores cercanos a la neutralidad.

Por otro lado, la saliva contiene numerosas sustancias que no son las que la componen originariamente y que pueden tener efectos en la regulación del pH oral.

Algunas de estas sustancias están presentes en concentraciones muy altas en muy pocos individuos y en la mayoría de la población en concentraciones muy bajas, como es el caso de la urea. En la boca un alto nivel de urea favorecerá que se una a los iones hidrógeno basificando el pH.

En cuanto a su capacidad amortiguadora, tras la ingesta de alimentos azucarados, el pH de la placa bacteriana cae y permanece bajo hasta que el azúcar disminuya de la boca y el ácido producido por las bacterias es neutralizado. Por lo tanto, es clave para la integridad del diente que este tiempo en el que el pH está por debajo del valor crítico sea el menor posible.

Esta capacidad está determinada por la unión de una cantidad concreta de ácido a una cantidad de saliva también determinada, observándose el valor del pH salival resultante. Cuanto mayor sea el pH final, es decir, si la adición de grandes cantidades de ácido genera cambios pequeños en el pH, mejor es la capacidad de amortiguación de la saliva y viceversa.

Dicha capacidad de la saliva está regulada por tres sistemas diferentes: el sistema fosfato, el sistema bicarbonato y el sistema proteico. El sistema fosfato es el principal amortiguador en la saliva no estimulada, mientras que en la saliva estimulada el amortiguador más importante es el sistema bicarbonato.

El primero funciona gracias a los fosfatos y compuestos que contienen P en la saliva y el segundo gracias al bicarbonato de la misma, ambos actúan amortiguando iones hidrógenos. El sistema de las proteínas, sin embargo, se basa en algunas proteínas salivares que pueden actuar como amortiguadores, cuando el pH está por debajo de su punto isoeléctrico (número de cargas positivas es igual al número de cargas negativas, siendo la carga neta de la molécula igual a cero) y así pueden liberar protones. Muchas de estas proteínas tienen dicho punto a pH entre 5 y 9 y por lo tanto pueden ser buenas neutralizadoras especialmente en pH ácidos. Aunque este sistema de amortiguación proteico es mucho menos relevante en la saliva humana que el sistema fosfato o bicarbonato, existen microambientes, donde la concentración de proteínas es muy alta, y donde este sistema es el predominante. Además de la neutralización química, algunas proteínas salivares aumentan la viscosidad de la saliva cuando los pH se vuelven ácidos y por lo tanto protegen físicamente al diente contra el ataque de los mismos formando una barrera de difusión. (42)

4) Actividad antibacteriana: La actividad antibacteriana de la saliva está dada por algunos de sus componentes como la lisozima, que es un agente antibacteriano inespecífico que también se encuentra en otras secreciones como las lágrimas y que en la saliva tiene una baja concentración. Su participación consiste en dañar a las células bacterianas, alterando su pared celular y produciendo su lisis.

La lactoferrina se une al hierro, que es imprescindible para el metabolismo de las bacterias, y lo mantiene lejos de las mismas, impidiendo su crecimiento.

La lactoperoxidasa forma hipotiocianato y ácido cianosulfuroso que oxida los grupos sulfhidrilos de las bacterias, inhibiendo en ellas su capacidad de metabolizar la glucosa. Esta peroxidasa protege a las glicoproteínas salivares de la degradación bacteriana.

Además, la saliva, es rica en inmunoglobulinas: IgA, IgG e IgM y le dan la particularidad de ser antigénica. Las IgA secretorias, especialmente, inhiben la adhesión de las bacterias al esmalte y llegan vía glándulas salivares siendo el anticuerpo más importante en la región. Pequeñas cantidades de IgG, el anticuerpo más importante a nivel sérico, llegan también a la saliva a través del fluido crevicular. (43)

El trabajo de tesis doctoral, incluye Saliva Artificial: Receta magistral (cloruro de potasio: 0,6 gr; potasio dihidrogenofosfato: 0,17 gr; cloruro de sodio: 0,42 gr; cloruro de calcio: 0,148gr; cloruro de magnesio: 0,025 gr; carboximetilcelulosa: 5 gr; sorbitol: 15 gr; agua purificada cantidad suficiente para 500 ml), sin contenido de fluor, para verificar la incorporación del mismo por la aplicación del barniz (Mi Varnish). (44)

- Tratamiento con el Caseín fosfato:

En el caso de la caseína estudios recientes han mostrado que los complejos de Fosfato de Calciofosfopéptidos Amorfo (CPP-ACP) intervienen previniendo la desmineralización y promoviendo la remineralización del esmalte, estabilizando los iones calcio y haciéndolos solubles para que el esmalte pueda remineralizar. El Fosfato de Calcio Amorfo (FCA), un sistema de suministro de iones calcio y fosfato libremente disponibles, interviene en el balance de dicha desmineralización y remineralización; expulsando calcio e iones de fosfato, que, en proporciones adecuadas, pueden formar el mineral de las estructuras dentarias. (45)

Además de remineralizador, el FCA añadido al peróxido de carbamida produce una reducción significativa en la hipersensibilidad dentinaria durante y después del tratamiento. Ofrece un tratamiento adicional para los casos de disfunción salival, erosiones. Se utiliza como suplemento en chicles, dentífricos, enjuagues bucales y últimamente en materiales de obturación con el objetivo de reparar la pérdida de minerales en ambientes ácidos producida por bacterias. (46) (47) (48) (49) (50)

Las investigaciones de Reynolds E. et al (1984), en la Universidad de Melbourne, Australia determinaron que la leche y los quesos presentaban actividad anticariogénicas en

ratas por la acción de la caseína que recalifica, remineraliza las lesiones cariosas de esmalte, manteniendo la hipersaturación de la hidroxapatita. (51)

Publicaciones actuales concuerdan que el nano complejo de fosfopéptido de caseína y fosfato de calcio amorfo CCP-ACP, tiene acción preventiva en la desmineralización del esmalte y en la promoción de la recalificación de lesiones cariosas en su superficie, liberando iones calcio y fósforo por un mecanismo que depende del pH ácido del medio salival.

La leche vacuna es la fuente de estos remineralizante- recalificantes que contienen 18.0% de ión calcio y 30% de ión fosfato en peso. (52)

La crema tópica denominada Mi Paste en USA, Japón y América y Tooth Mousse en Europa y Australia contiene 10% de nano complejos CCP-ACP en forma de nanoclústers de iones calcio y fosfato con un radio de 1.5 nm. (53) (54) (55)

Algunos investigadores han demostrado a través de pruebas de laboratorio en animales y en seres humanos que en los complejos de Fosfato de Calcio Fosfopéptido Amorfo de la caseína (CPP-FCA) exhiben una actividad anticariogénicas. Los Fosfopéptido de la Caseína (CPP) tienen una capacidad notable de estabilizar el fosfato de calcio amorfo (FCA) y de aumentar substancialmente el nivel del fosfato de calcio en la placa dental. A través de sus múltiples residuos, el lazo de CPP forma racimos de FCA en la solución, previniendo su crecimiento al tamaño crítico requerido para su enucleación y precipitación. El mecanismo propuesto de la anticariogenicidad para el complejo CPP-FCA, es la localización del FCA en placa dental, que almacenará la actividad de los iones libres de calcio y fosfato ayudando a mantener un estado de sobre saturación con respecto a la desmineralización del esmalte y realzando la remineralización (56) (57). El FCA a diferencia del fluoruro puede ser agregado a los alimentos con azúcar (58) y por lo tanto tener potencial comercial como un añadido a los alimentos, así como a las cremas dentales y a los enjuagues para el control de la caries dental. Por lo tanto, el FCA puede ser un moderno acercamiento a la prevención como material innovador para la técnica de mínima intervención dental.

- Caseín Fosfopéptidos: obtención y actividad biológica.

La leche es un ingrediente de fundamental importancia para la industria alimentaria. En los últimos años, diversos péptidos lácteos han sido identificados. Estos fragmentos de proteínas tienen propiedades bioquímicas específicas y pueden regular algunos procesos orgánicos cuando se consumen diariamente. En algunos casos, la expresión del potencial

biológico surge de la sinergia entre los péptidos y sustancias no proteicas. Los Fosfopéptidos Caseínofos-(CPP) se derivan de la hidrólisis de la caseína y tienen propiedades bioactivas. Se han producido in vitro mediante el uso de enzimas pancreáticas en la caseína. Los estudios in vivo también han demostrado la formación de caseínofosfopeptídeos de la caseína en animales de experimentación. Son componentes naturales de los quesos, y el proceso de maduración también conduce a la aparición de los péptidos con actividad hipertensiva. (59)

El término caseínofosfopeptídeo (CPP) se introdujo en los años 50 para describir los derivados péptidos fosforilados de la caseína que tenían la propiedad de mejorar la calcificación de los niños con raquitismo. Los péptidos obtenidos tenían alto contenido de residuos de fosfoserina y aumentaron el equilibrio del calcio 39-78% en los lactantes con retraso del crecimiento. Las verificaciones científicas de los caseínofosfopeptídeos determinaron la capacidad de convertir en elementos tales como, el Ca (calcio), Mg(magnesio) y Fe(hierro) y también oligoelementos como el Zn(zinc), Ba(bario), Cr(cromo), Ni(níquel), Co(cobalto) y Se(selenio). Se observó la presencia de 8,40 caseínofosfopeptídeos en el íleon de los animales experimentales y humano adulto, después de unas pocas horas de la ingestión de leche. Estos hallazgos indican su formación in vivo durante la digestión de la caseína, siendo el epitelio del tracto intestinal la puerta de entrada para componentes de los alimentos, videos caseínofosfopeptídicos- obtenidos in vitro se ensayaron para determinar la citotoxicidad posible. (60)

**Estructura molecular:** Los primeros estudios sobre la hidrólisis de la caseína en 1895 ya mostraron que los derivados fosforilados compuestos, forman sales insolubles con diversos metales que se llaman "fosfopeptonas y utilizando tripsina, un polipéptido obtenido con nitrógeno a fósforo (N: P) 4: 1, lo que indicó que los péptidos tenían alta fosforilación. Estudios posteriores determinaron que el caseino- fosfopéptidos que consisten en una mezcla de péptidos de diferentes pesos moleculares formados in vivo, cuando la caseína es degradada por enzimas proteolíticas, es absorbida en el aparato digestivo. Estos péptidos, en su estructura primaria tienen una secuencia de aminoácidos cargados negativamente en el pH fisiológico, que comprende ácido glutámico residual- y serina así, varios estudios han demostrado que la digestión de la caseína aumenta la biodisponibilidad de calcio. Los caseínofosfopeptídeos forman complejos solubles con fosfato de calcio a pH alcalino. Estos complejos impiden la precipitación de fosfato de calcio y aumentan la concentración de calcio soluble in vitro y en el lumen del intestino delgado.

Métodos de obtención: Simulando el proceso de formación in vivo de CPP se determinaron métodos para producir este péptido de la hidrólisis enzimática de caseína. Los hidrolizados de caseína se pueden producir por diversas combinaciones de endoproteasas, incluyendo tripsina, quimo tripsina, pepsina, subtilisina, pancreatina y otra carboxipetidasa. Estas enzimas pueden ser microbianas, vegetales o animales. Sin embargo, mientras las proteínas de origen microbiano dan como resultado la producción de mejor calidad y costos más bajos. Los alimentos funcionales son considerados y utilizados para aumentar la biodisponibilidad de calcio en el tracto intestinal. (61)

Acción de la absorción de minerales: Los fosfopéptidos tienen un alto contenido de sitios cargados negativamente unión y fosfoseril o lítica carboxílico y la formación de complejos solubles con cationes divalentes. Se informó de complejos formados entre fosfopéptidos y varios minerales. Cuando se compara los niveles intestinales, isótopos de Ca de 45 animales que recibieron las fuentes de proteínas en sus dietas (caseína, gluten, gelatina, caseína desfosforilado, albúmina de huevo, suero de leche o proteína de soja aislada) queda en claro que la fosforilación de la caseína es un requisito previo para el efecto significativo de mayor solubilidad de la proteína en el mineral. Leche y productos lácteos son una fuente excelente de calcio. Las formas básicas de la absorción de calcio por el hombre son dependientes del sistema de vitaminas D (el duodeno y el yeyuno.) En esto, el factor clave es una proteína ("proteína de unión a calcio" - CaBP) que facilita la propagación del mineral por las membranas que participan en el transporte activo, siendo esta proteína estimulada por la vitamina D o su metabolito activo. El transporte pasivo del derivado, es el canal principal de la absorción de minerales en la dieta. Varios factores dietéticos pueden afectar la absorción de este mineral: presencia oxalatos, compuestos fenólicos, lactosa, fósforo y vitamina D. Por ejemplo, ha sido bien documentado que la presencia de la proteína de soja reduce la absorción del mineral por combinación con quelato de calcio formándose altamente insoluble. Algunos estudios sugieren que la absorción de fosfopéptidos Caseín- se produce por el sistema pasivo independiente de la vitamina D. Además, cuando forman complejos solubles entre el péptido y el mineral se produce precipitaciones de fosfato de calcio y, como consecuencia, aumenta la cantidad de calcio soluble. (62)

Efecto anti-cariogénico: El consumo de productos lácteos y leche se asocia a la reducción de la caries dental, siendo considerada como un grupo de alimentos con actividad anticaries. Las cavidades cariosas están relacionadas con la desmineralización de los dientes generada por los ácidos orgánicos producidos por bacterias durante la



fermentación de azúcares de la dieta. La adherencia de *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mutans* en la película salival puede ser reducida por la incorporación de CPP. Cuando las lesiones dentales ya están instaladas, la adición de CPP aumenta significativamente la capacidad de la leche bovina a remineralizar in situ. Se utilizó un modelo animal para comparar la actividad de la CPP con el flúor en la reducción de caries. Se encontró que la aplicación de CPP (0,5 - 1% w / v) dos veces al día en los dientes es equivalente a usar 500 ppm de flúor. Los Fosfopéptidos también tienen la capacidad de prevenir la formación de cálculo dental, que constituyen un depósito de fosfato de calcio en forma de hidroxiapatita hiperactiva. CPP puede ser incorporado en una variedad de productos para la higiene oral y en la goma de mascar con acción anticariogénica. Después de 3 horas de xilitol (goma de mascar que contiene CPP) todavía era posible detectar la presencia del péptido en la superficie de los dientes. El uso de enjuagatorios orales que contiene CPP aumenta el nivel de calcio y fosfato en la región oral. El uso de pasta de dientes que contiene CPP también reduce la sensibilidad en individuos que sufren de alta sensibilidad de los dientes en la higiene oral. (63) (64) (65) (66) (67)

El material de estudio (Caseín fosfato) de acuerdo a la bibliografía consultada tiene la acción de proveer bionaturalmente calcio y fosfato cuando son realmente requeridos por la pieza dentaria. Mi Varnish (nombre comercial) contiene Recaldent tm Caseína Fosfopéptido (CPP) moléculas naturales que se pueden adherir a los iones Calcio y Fosfato estabilizando al Fosfato de Calcio Amorfo (ACP). Es una proteína especial derivada de la leche que ayuda a reemplazar los minerales perdidos en el diente haciéndolos más resistentes a la caries y la erosión, reacción similar a la relación mineral-está terina en la saliva proporcionando el Calcio y Fosfato requerido para dar lugar a la remineralización. (68) (69)

### 3 - FUNDAMENTACION.

¿El casein fosfato produce remineralización bionaturalmente? El calcio y el fosfato incorporado, ¿remineraliza en el mismo porcentaje, al igual que los materiales que contienen flúor?

El Fosfato de Calcio Amorfo (FCA) es un sistema ideal de suministro de iones de calcio y fosfato libremente disponibles que ayuda a mantener un estado de sobresaturación con respecto a la desmineralización del esmalte por los ataques ácidos y aumentando la remineralización posterior. Algunas situaciones para usar productos dentales con FCA incorporado, promete ser una importante contribución para la protección del medio oral en un amplio número de situaciones, en las que pueda haber un desequilibrio mineral. Se clasifica en una nueva serie de “materiales inteligentes”. La investigación ha demostrado que el FCA, acciona el lanzamiento lento de los iones de calcio y de fosfato y también la capacidad de remineralizar las estructuras del diente. Consecuentemente, estos materiales pueden tener la capacidad de realzar el mecanismo natural de la reparación de los dientes y de esta forma la remineralización de caries en sus etapas iniciales puede surgir como un método de tanta relevancia como tuvo el flúor en el siglo pasado en la prevención y disminución de las caries a nivel mundial. (70)

La incorporación de FCA a la cavidad oral, se complementa aumentando el efecto de la saliva, suministrando una concentración de calcio y de fosfato sueltos en el medio oral, restaurando así el balance mineral. El FCA tiene un efecto remineralizador en una solución poco concentrada (0.5-1% de CPP-FCA) equivale a 500 ppm (partes por millón) de fluoruro, reduce la actividad cariogénica en un 55% y además inhibe la adherencia de la placa bacteriana al diente.

Por lo antes expuesto, se realizó la revisión bibliográfica sobre los usos y efectos de este material con la idea de aportar a la comunidad odontológica una información actualizada de diferentes opciones que prometen ser una importante contribución para la protección del medio oral, ya sea en la curación o en la prevención de enfermedades o alteraciones de la cavidad bucal. Cuando se aplica CCP- ACP en el entorno bucal, éste se adhiere al biofilm (película adherente), a las bacterias, a la hidroxiapatita y a los tejidos dentarios normales o patológicos, disminuyendo la sensibilidad, provocando la desmineralización – remineralización, uniéndose al calcio y al fósforo biodisponible. (71)

(72)

Como variable dependiente la remineralización del esmalte, es análoga a la curación de las heridas en los tejidos blandos del cuerpo. Es el resultado de la detención o regresión

de la lesión, al disminuir el ataque cariogénico, aumenta la resistencia de la superficie del diente o la combinación de ambos procesos. Estos cambios van acompañados de la redeposición de mineral en los micro espacios creados en los tejidos dentarios por la devolución anterior de las sustancias minerales resultante de la actividad cariosa. Debido a que el proceso incluye otras reacciones además de la incorporación de minerales a la lesión (tales como los correspondientes a la deposición de material orgánico extrínseco y las de coloración), la detención de la misma, se define mejor como una consolidación o remineralización, denominaciones que para efectos prácticos son sinónimos.

En la actualidad se ha establecido a la remineralización como un hecho indiscutible que puede estar acelerado por medios terapéuticos. La evidencia experimental y Clínica apoya el concepto de la Remineralización. (73)

**Mineralización Biológica:** La Mineralización biológica o calcificación es el proceso en que ciertos tejidos acumulan grandes cantidades de minerales y forman cristales complejos, otorgando rigidez. Todos los tejidos contienen minerales, tejidos blandos y duros, cuya diferencia se basa en cantidad, clase de minerales y disposición espacial.

**Tejido Blando:** minerales menos a 1 %, dispersos en forma iónica en los líquidos corporales. **Tejidos Duros:** Mineralización mayor a un 98% (Esmalte). Forma modelos cristalinos que se caracterizan en apatita (hueso y diente).

El esmalte compuesto por un 95% de sales minerales de fosfatos y carbonatos de calcio que luego del proceso de cristalización, se transforman en cristales inorgánicos de hidroxiapatita, constituyendo la ultraestructura, agua en 1% y una matriz orgánica de naturaleza proteica en un 4% en peso, constituida por amelogeninas, amelinas, enamelinas y proteínas séricas. Es una sustancia o material extracelular micro cristalino, microporoso y anisótropo, de alta mineralización y de extremada dureza, acelular, avascular, aneuronal, no debiendo ser considerado como un tejido. Fue tejido en la etapa de desarrollo, cuando existían las células ameloblásticas; al desaparecer éstas se lo debe considerar como sustancia o material extracelular. Esto determina que el esmalte no posee poder regenerativo siendo afectado por la desmineralización ácida, pudiendo producirse en él, fenómenos de remineralización o de recalificación, pero nunca de reconstitución o de restitución ad integrum, como sucede en otros tejidos del organismo. El esmalte así está expuesto a mecanismos de desmineralización a los que se contraponen ciclos de remineralización, siendo el balance mineral el que determina el estado de salud.

## 4 - OBJETIVOS

### **Objetivo general:**

Analizar la acción del Caseín fosfato sobre la remineralización dentaria a través del espectrofotómetro y el Edax.

### **Objetivos específicos:**

- Definir los términos y descripciones usadas para medir con el proceso de caries, desde estadios iniciales, mediante el sistema ICDASII.
- Medir los diferentes estadios de la lesión de caries mediante el sistema ICDAS II.
- Cuantificar la microdureza del esmalte dentario.
- Analizar las variaciones de la microdureza sobre la ultraestructura de los tejidos duros dentarios
- Analizar la información de tipo estructural sobre los tejidos dentarios sin lesiones clínicas
- Determinar información de tipo analítica (cantidad de átomos en la fórmula química y cantidad en peso en gramos) a través del microscopio electrónico de barrido (EDAX).
- Estudiar la aplicación del casein fosfato en superficies a remineralizar
- Evaluar a través del microscopio electrónico de barrido (MEB) la acción del Caseín fosfato sobre la superficie del esmalte (Cualitativo).
- Cuantificar los datos obtenidos y la incorporación de elementos de la tabla periódica (Fósforo, Calcio, etc.) a través del Espectrofotómetro y Edax (cuantitativo) luego de la aplicación del Caseín fosfato.
- Desarrollar y caracterizar las modificaciones de la superficie del esmalte mediante la acción del Caseín fosfato sobre la remineralización dentaria.

## **5 - HIPÓTESIS DE TRABAJO.**

El Caseín fosfato produce remineralización en los surcos profundos cariados de las piezas dentarias.

## 6 - MATERIALES Y MÉTODOS.

### 6.1 - Método de diagnóstico clínico.

El sistema de diagnóstico de caries utilizado para la selección de las muestras fue a través de sistema ICDAS II (74) (75) (76), mediante codificación preestablecida, indicando:

Código ICDAS	Umbral Visual
0	Sano
1	Mancha blanca / marrón en esmalte seco
2	Mancha blanca / marrón en esmalte húmedo
3	Microcavidad en esmalte seco < 0.5mm sin dentina visible
4	Sombra oscura de dentina vista a través del esmalte húmedo con o sin microcavidad
5	Exposición de dentina en cavidad > 0,5mm hasta la mitad de la superficie dental en seco
6	Exposición de dentina en cavidad mayor a la mitad de la superficie dental

*Tabla 1*

El diagnóstico fue determinado a través del secado con aire, con la utilización como complemento un explorador de punta redonda (Sonda Periodontal WHO, 11.5). Se incluyeron solamente las piezas dentarias sanas y con caries incipientes, es decir códigos 0, 1, 2 y 3 (ICDAS II), como muestra la figura 40.



*Figura 40. Microcavidad en esmalte seco. Código 3 según Sistema ICDAS II*

Código cero: no evidencia caries después de secar. En fosas y fisuras las pigmentaciones múltiples consistentes con hábitos como té y café, también deben codificarse como cero.

Código 1: primer cambio visible en el esmalte.

Código 2 de caries: lesión de caries observado cuando este húmedo. Opacidad provocada por caries (lesión de mancha blanca) o decoloración (lesión mancha color café).

Código 3 de caries: ruptura localizada de esmalte debida a caries sin dentina visible. En húmedo, lesiones opacas o decoloradas son aparentes. En seco existe pérdida por caries de la estructura dental pero no dentina visible. Un explorador de punta redondeada puede deslizarse suavemente para confirmar la microcavitación (pérdida de integridad de la superficie del esmalte).

Código 4 de caries: sombra oscura subyacente de dentina. Sombra de dentina decolorada visible a través de esmalte intacto. Más notoria cuando la superficie esta húmeda. La sombra puede ser gris, azul o café.

Código 5 de caries: cavidad detectable con dentina visible: cavitación debido a caries en esmalte opaco o decolorado exponiendo la dentina. Se extiende menos de la mitad de la superficie dental.

Código 6: Cavidad detectable extensa con dentina visible. Exposición de dentina en cavidad mayor a la mitad de la superficie dental.

El esmalte desmineralizado es más poroso que el esmalte sano y ésta es la clave para entender algunos de los cambios visuales. Una lesión de mancha blanca, en una superficie dental húmeda, es más porosa y profunda que una que solamente es visible después de secar con aire por un tiempo. Esto es debido a las diferencias en los índices de refracción del esmalte (1.62), el agua (1.33) y el aire (1.0).

Los poros en la estructura desmineralizada se llenan de un medio acuoso y la diferencia en el índice de refracción entre este esmalte y el sano, dá como resultado que la lesión se vea blanca al secar el diente, dado que el agua va a ser reemplazada por aire. La diferencia en el índice de refracción entre aire y esmalte es mayor que aquella entre agua y esmalte, lo cual significa que una lesión sea mas evidente, después de secar con aire y así una lesión menos porosa puede ser detectada.

## **6.2 - Instrumentos de Análisis de las Unidades Experimentales.**

### **- Durómetro:**

Un durómetro es un aparato especializado en la medición de la dureza de diferentes materiales utilizando varios procedimientos llamados ensayos.

Clasificación de los durómetros: la dureza de los materiales tiene distintas clasificaciones y para cada una de estas existe un durómetro. Los más comunes se enlistan a continuación:

Durómetro Brinell: Los durómetros Brinell miden la resistencia a la tracción del material analizado.

Durómetro Rockwell: Obtiene la medición de la dureza del material de manera directa obteniendo una huella pequeña del material, por lo que su procedimiento es considerado como ensayo no destructivo.

Durómetro Vickers: Utilizado para materiales blandos, aunque sus mediciones coinciden con las de la escala Brinell.

Funcionamiento del durómetro: Para la medición de la dureza de materiales, el durómetro funciona de la siguiente manera:

Una vez que se selecciona el material del cual se quiere conocer la dureza, se normaliza la fuerza que se le ha de aplicar a través de un elemento penetrador, que también debe estar normalizado.

Dependiendo de la profundidad o tamaño de la huella que se obtenga de esta aplicación de fuerza es como sabremos el grado de dureza del material.

Así se puede conocer la resistencia al corte de la superficie que tiene el material analizado utilizando los diferentes tipos de durómetros, descritos anteriormente.

El ensayo de dureza es simple y de alto rendimiento y es particularmente útil para evaluar propiedades de los diferentes componentes microestructurales del material.

Los métodos existentes para la medición de la dureza se distinguen básicamente por la forma de la herramienta empleada (penetrador), por las condiciones de aplicación de la carga y por la propia forma de calcular (definir) la dureza. La elección del método de determinación de la dureza depende de factores tales como tipo, dimensiones de la muestra y espesor de la misma. En particular, el tipo de ensayo mecánico que realizaremos será el tipo *Vickers*. Este método es muy difundido ya que permite medir dureza en prácticamente todos los materiales metálicos independientemente del estado en que se encuentren y de su espesor.

El procedimiento Vickers, emplea un penetrador de diamante en forma de pirámide de base cuadrada. Tal penetrador es aplicado perpendicularmente a la superficie cuya dureza se desea medir, bajo la acción de una carga  $P$ . Esta carga es mantenida durante un cierto tiempo, después del cual es retirada y medida la diagonal  $d$  de la impresión que quedó sobre la superficie de la muestra. Con este valor y utilizando tablas apropiadas se puede obtener la dureza Vickers, que es caracterizada por  $HV$  y definida como la relación entre la carga aplicada (expresada en Kgf) y el área de la superficie lateral de la impresión.



El microdurómetro existente en el laboratorio utiliza un marcador piramidal de diamante con un ángulo de 136° entre las caras opuestas. Como resultado de la forma del marcador, la impresión sobre la muestra (la huella) será un rombo rectangular. La longitud de la diagonal del rombo se mide a través del microscopio que contiene el microdurómetro. Para convertir el valor de la diagonal al número de dureza piramidal Vickers utilizamos la fórmula:  $HV = \frac{1,854 \cdot L}{D^2}$

Donde:

L= carga aplicada (Kg)

D= longitud de la diagonal del cuadrado de la impresión (mm).

El microdurómetro lleva además incorporado un microscopio óptico de tres lentes con diferentes aumentos (x10, x20 y x40 aumentos correspondientemente). En los ensayos de dureza realizados con el microdurómetro se deben respetar una serie de normas:

- 1) La superficie de ensayo debe estar pulida para que los resultados sean válidos.
  - 2) Como norma general, el espesor de la probeta debe ser superior a 1.5 veces la diagonal de la huella.
  - 3) En las probetas redondas, debe aplicarse sobre el diamante una carga tan pequeña que la influencia de la curvatura (flecha) sobre la longitud de la diagonal sea inferior a 0.01 mm.
- (77)

Determinación de la Microdureza de Vickers en las Unidades Experimentales: Por lo expresado anteriormente, se resume que: La dureza es la capacidad que tiene los materiales de oponerse a ser penetrado por otro, con lo cual, en una situación de dos materiales en contacto, aquel material que es más duro, raya o penetra al más blando. Existen tres métodos de determinación: Brinell; Rockwell, y Vickers, los métodos son de similar aplicación, salvo que en los dos primeros utilizan bolilla de acero especial de 1/8 Y 1/16 de pulgada (excepto Rocwell C que utiliza un penetrador de punta de diamante), mientras que el tercero utiliza una punta de diamante de ángulo de 136° entre caras opuestas.

En el método de toma de dureza Vickers consiste en un penetrador punta piramidal de diamante de ángulo entre caras opuestas de 136° el cual es aplicado mediante una carga de manera de penetrar al material, luego se mide la longitud de las diagonales promedio de la impronta y de tablas se obtiene el valor de dureza. Existe la macro dureza y la micro dureza Vickers. La dureza Vickers puede observarse en las figuras 41 y 42.



Figura 41. Indentador punta piramidal de diamante.

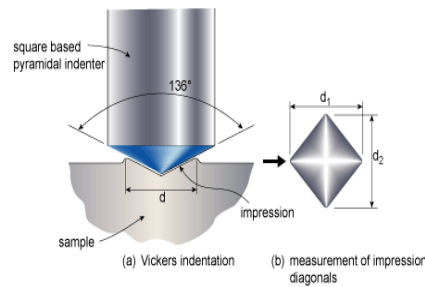


Figura 42. Indentación; forma de la impronta y medición de las diagonales.

La macro dureza Vickers se aplica en las superficies de los materiales y se observa el tamaño de las diagonales de la impronta mediante una lupa de 10 x obteniéndose el valor de dureza en tablas, mientras que la micro dureza Vickers se aplica en el caso de la determinación de dureza para el caso de fases metalográficas a nivel microscópico siguiendo una metodología similar. Se adaptará este proceso para el caso de la determinación de la dureza en la zona de esmalte y dentina, y en zonas regeneradas donde antes existían caries, para el caso de dientes de procedencia humana. (77)

- Espectrofotómetro.

Es un dispenser de energía espectroscópica de rayos X. Constituye una técnica analítica que utiliza el análisis elemental o caracterización química de una muestra. Es una de las variantes de espectroscopía de rayos X de fluorescencia que se basa en la investigación de una muestra a través de las interacciones entre la radiación electromagnética y la materia, el análisis de rayos X emitidos por la materia en respuesta a ser golpeado con partículas cargadas. Sus capacidades de caracterización son debido en gran parte con el principio fundamental que cada elemento tiene una estructura única atómica permitiendo rayos X que son característicos de la estructura atómica de un elemento que se identifican de forma única. Las muestras sólidas se preparan principalmente de dos maneras. La primera es molerla con un agente aglomerante para formar una suspensión, en un mortero de mármol o ágata. Una fina película de suspensión se aplica sobre una placa de sal y se realiza la medición.

El espectrofotómetro, tal como se observa en figuras 43 a 45, es un elemento utilizado en la física óptica que sirve para medir en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica, relativos a dos haces de radiación. Nos permitirá medir la naturaleza de las sustancias y qué cantidad de elementos están presentes en la muestra sobre la superficie (calcio y fosfato), por su capacidad de proyectar un haz de luz monocromático a través de lo observado por la cantidad de luz absorbida (78) (79) (80) (81). No solo se determinará cuánto se absorbe de calcio y fosfato sino también establecerá el grado de remineralización alcanzado de acuerdo al grado de absorbancia.



43



44



45

*Figuras 43, 44 y 45. Espectrofotómetro. CIDEPINT  
(Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnologías de Pinturas).*

- Microscopio Electrónico de Barrido.

En el año 2009 se instaló y puso en funcionamiento, el servicio de microscopía electrónica de Barrido ambiental con capacidad de microanálisis (ESEM-EDS), en el LIMF-Facultad de Ingeniería-UNLP. El equipamiento se adquirió en el marco del PME-2006 N° 1891 “Estudio teórico-experimental de componentes para la tecnología energética y de materiales” en el cual participaron diferentes grupos de investigación de la UNLP, CONICET y CICPBA. (80) (81)

El microscopio electrónico de barrido (SEM, Scanning Electrón Microscope) es uno de los Instrumentos más versátiles para el examen y análisis de características microestructurales de objetos sólidos. Una de las razones para ello es su alta resolución (de

20 a 50 Å) y otra característica importante es la apariencia tridimensional de las imágenes, producto de su gran profundidad de foco (aproximadamente entre 100 y 1000 veces mayor que la de un Microscopio óptico a la misma magnificación).

En general los SEM cuentan con capacidad analítica mediante el agregado de un detector de rayos X dispersivo en energías (EDS, Energy Dispersive Spectrometer), que permite obtener información composicional de manera rápida y eficiente.

Los microscopios electrónicos de barrido (SEM), trabajan a un vacío aproximado de  $10^{-6}$  torr (unidad de presión) En estos microscopios las muestras no conductoras (orgánicas, biológicas, vidrios, polímeros, etc.) necesitan una cubierta conductora metálica, para evitar carga eléctrica y daño por radiación, y lograr su observación. En estos casos se utiliza generalmente una cubierta de oro por ser buen conductor del calor y la electricidad, o se recubren con carbono cuando se quiere realizar análisis químico por EDS. Por otro lado, las muestras conductoras pueden ser examinadas sin ningún tipo de cubierta.

En el caso de las muestras biológicas, estas deben recibir un tratamiento de secado por punto crítico (CPD, Critical Point Drying) previo al metalizado. El CPD es un método de secado posterior a la deshidratación con alcohol o acetona, que permite conservar la forma y estructura celular de la muestra. El proceso se basa en el reemplazo de los líquidos (utilizados en la extracción, fijación y conservación iniciales) por CO<sub>2</sub>, que es finalmente evacuado sin dañar los tejidos de la muestra. Los nuevos microscopios electrónicos de barrido (ESEM, Environmental Scanning Electron Microscope) tienen la capacidad de trabajar con bajo vacío (hasta 20 torr), aumentando notablemente el campo de aplicación, llegando a extremos de poder estudiar en esas condiciones muestras con un 100% de humedad relativa por una pieza metálica cilíndrica, denominada cilindro de Wehnelt. Las partes esenciales del microscopio electrónico de barrido son: el sistema de vacío, la columna de electrones, la cámara portamuestras y el sistema de adquisición y procesamiento de imágenes.

**El Sistema de Vacío:** En cualquier microscopio electrónico de barrido, la columna de electrones debe estar a un vacío de aproximadamente  $10^{-6}$  torr para evitar la dispersión del haz de electrones y asegurar una mayor duración de la fuente de emisión de electrones, entre otros. Las bombas de vacío estándar utilizadas son las difusoras de aceite, que se dañan si trabajan a presiones cercanas a las atmosféricas. Para evitar este daño, se coloca previamente una bomba mecánica para bajar el vacío a un valor aproximado de  $10^{-3}$  torr. Para minimizar la introducción de gotas de aceite en la cámara portamuestras se utilizan, en la actualidad, bombas turbos moleculares en reemplazo de las difusoras de aceite. Estas

bombas tienen la ventaja de ser limpias, aunque pueden introducir vibraciones al microscopio y requieren de una bomba mecánica para retirar el aire que se comprime en la base de la bomba turbo molecular. En los SEM convencionales, tanto la columna de electrones como la cámara porta muestras deben estar a un vacío aproximado de  $10^{-6}$  torr. Sin embargo, en los ESEM la columna de electrones se mantiene a un alto vacío mientras que la cámara portamuestras puede estar a un vacío entre  $10^{-2}$  y 20 torr. En este caso, se utiliza un juego de aperturas múltiples que limitan la presión y separan la cámara portamuestras de la columna de electrones. En consecuencia, los microscopios electrónicos de barrido ambientales (ESEM), pueden trabajar en tres modalidades de vacío: Alto Vacío ( $10^{-6}$  torr), Bajo Vacío ( $10^{-2}$  a 1 torr) y Modo Ambiental (1 a 20 torr). La ventaja de las modalidades Bajo Vacío y Ambiental es que se pueden analizar muestras sin necesidad de preparación previa, como el metalizado o secado por punto crítico, aunque la calidad de resolución es menor que en el modo Alto Vacío.

La columna de electrones: La fuente de electrones convencional consta de un filamento de tungsteno (W) aproximadamente  $100\mu\text{m}$  de diámetro que se calienta produciendo un haz de electrones por emisión termoiónica. El filamento está rodeado a un potencial negativo variable que obliga a los electrones a focalizarse en una pequeña región de entre 25 y  $100\mu\text{m}$ . Unos pocos milímetros por debajo de esta pieza metálica se encuentra un ánodo que puede polarizarse hasta un potencial de 50kV. Los electrones se aceleran a este potencial mientras que un par de bobinas electromagnéticas denominadas lentes condensadoras, demagnifican el haz una cierta cantidad. Un segundo par de bobinas, llamadas lentes objetivos concentran el haz hasta una sección mínima, que puede variar de 1nm a 500nm. Asimismo, un par de bobinas de deflexión electromagnéticas permiten realizar el barrido del haz de electrones sobre la muestra en sincronismo con la impresión de la imagen en la pantalla del monitor. Esto implica que a cada punto de la muestra le corresponde un punto de la imagen.

Existen otras fuentes electrónicas más intensas como los cátodos de hexaboruro de Lantano ( $\text{LaB}_6$ ) y los cátodos fríos o de emisión de campo (FEG), que son más duraderos permitiendo mejores resoluciones por ser de mayor brillo. El FEG es la fuente de electrones utilizada en los SEM de alta resolución.

Interacción de los electrones con la materia: Cuando un haz de electrones choca con la superficie de una muestra se producen distintos y complejos fenómenos, siendo los más comunes las dispersiones inelásticas (cambios en la energía de los electrones incidentes con cambios despreciables en su dirección) y las dispersiones elásticas (cambios de

dirección de los electrones incidentes con pérdida despreciable de energía). La interacción del electrón incidente puede ser con el núcleo o con los electrones atómicos, dando lugar a diferentes señales que pueden ser utilizadas para producir una imagen en el SEM o bien para realizar análisis elemental de la muestra en estudio:

- 1) Cuando la interacción del electrón incidente es con los electrones más periféricos de los átomos de la muestra, muchos de estos electrones de valencia son eyectados fuera de la muestra como electrones secundarios de baja energía.
- 2) En la interacción de los electrones incidentes cerca del núcleo de los átomos de la muestra, se produce una gran deflexión en la dirección del electrón. De esta manera, estos electrones son dispersados elásticamente hacia atrás y son eyectados fuera del espécimen (electrones retrodispersados o “backscattered”), y la fracción de éstos aumenta con el número atómico de la muestra.
- 3) La interacción inelástica de los electrones incidentes con los electrones de las capas más internas del átomo dan lugar al espectro de rayos X de líneas características de los elementos presentes en la muestra.
- 4) Muchos de los electrones incidentes que interactúan elástica o inelásticamente, pueden atravesar la muestra, si la misma es muy delgada. Estos electrones transmitidos, dan lugar a diferentes señales en lo que se conoce como modo STEM (Scanning Transmisión Electron Microscope). En este caso, se puede colocar en la cámara portamuestras del ESEM del LIMF un detector para obtener imágenes en modo STEM. El ESEM del LIMF cuenta con capacidad analítica por rayos X observándose el detector de rayos X dispersivo en energías adosado al microscopio. Este detector permite obtener imágenes de rayos X, además de los espectros de composición química elemental. Estos análisis proveen información cualitativa y semi cuantitativa de la zona en que se encuentran determinados elementos en forma simultánea.

Formación de imágenes en el SEM: En el SEM, se focalizan electrones de alta energía en un fino haz, el cual barre la superficie de la muestra. Unas amplias variedades de señales son producidas debido a interacciones complejas del haz de electrones con los átomos del espécimen. Estas señales (electrones secundarios y electrones retrodispersados o backscattered) son colectadas por distintos detectores colocados en la cámara portamuestras del microscopio. En el modo Alto Vacío, el detector fotomultiplicador (Departamento de Mecánica I 663 Segundas Jornadas de Investigación y Transferencia – 2013) Centellador desarrollado por Everhart and Thornley (E-T), genera imágenes topográficas a partir de la detección de electrones secundarios. En el modo Bajo Vacío se

utiliza para la generación de estas imágenes el detector Large Field Detector (LFD) de FEI. En las dos modalidades mencionadas, el detector de electrones retro dispersados DualBSD de FEI, permite obtener imágenes con contraste composicional. En la modalidad Ambiental, la imagen se genera a través del detector de electrones secundarios gaseoso (GSED). En esta modalidad, se coloca en la cámara un porta muestras que permite variar la temperatura, de esta manera se puede mantener la muestra dentro de la cámara, con un 100% de humedad relativa.

El microscopio electrónico de barrido, como se observa en figuras 46 y 47, permite obtener información topográfica y composicional rápida, eficiente y simultáneamente en distintos tipos de muestras (82).



46



47

*Figuras 46 y 47. Servicio de microscopía electrónica de barrido y microanálisis del LIMF (Laboratorio de Investigación de Metalúrgica Física) Facultad de Ingeniería – UNLP*

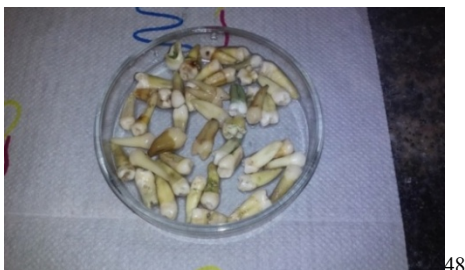
El diseño de la investigación fue de tipo explicativo donde se establecieron las relaciones causa efecto; longitudinal dado que las variables fueron evaluadas en el tiempo, con diferentes mediciones siguiendo su evolución, experimental(in vitro) donde se aplicaron estímulos modificadores procediendo a evaluarlo en los tiempos estipulados, considerando como variable independiente al Caseín fosfato, nombre comercial “Mi Varnish” (CPP-ACP)” proveniente de la caseína de la leche el cual no contiene lactosa (83).

La población a estudiar fueron aquellas piezas dentarias que presentaron surcos cariados, en los primeros molares permanentes y premolares superiores e inferiores. Se utilizaron para este estudio 90 piezas dentarias permanentes del sector posterior (premolares y molares), extraídos por razones ortodóncicas y quirúrgicas, tomando como criterios de inclusión piezas dentarias sanas y con caries código 1, 2 Y 3, es decir, en estado inicial según codificación del sistema ICDAS II (84) (85). Quedaron excluidas del

trabajo las piezas dentarias con restauraciones y/o selladores, como así también con caries cavitadas código 4 en adelante del sistema ICDAS II.

### 6.3 - Preparación de las muestras.

Las piezas dentarias seleccionadas fueron en primer lugar tratadas de manera profiláctica. Se les realizó la desoperculización del esmalte con una brochita y piedra pómez con la finalidad de eliminar la película orgánica y cualquier otro tipo de detritus depositados sobre la superficie oclusal (86), colocándolas en cápsulas de petri estériles con saliva artificial, receta magistral (cloruro de potasio: 0,6 gr; potasio dihidrogenofosfato: 0,17 gr; cloruro de sodio: 0,42 gr; cloruro de calcio: 0,148gr; cloruro de magnesio: 0,025 gr; carboximetilcelulosa: 5 gr; sorbitol: 15 gr; agua purificada cantidad suficiente para 500 ml) ,sin contenido de flúor (Figura 48).



*Fig.48. Piezas dentarias incluidas en saliva.*

Fueron ubicadas en la estufa de cultivo que funciona en la Asignatura Microbiología de la Facultad de Odontología de La Plata (FOLP), integrada por un termostato electrónico con regulación Macro y Micro, indicador lumínico de funcionamiento, interruptor de corte de funcionamiento, una puerta única de vidrio (visibilidad 100%), exactitud:  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ , dos (2) estantes tipo rejilla a  $37^{\circ}$ , como se observa en figuras 49 y 50, con la finalidad de acondicionarlas a una situación similar al medio bucal ,y permitir su hidratación, durante una semana.



49



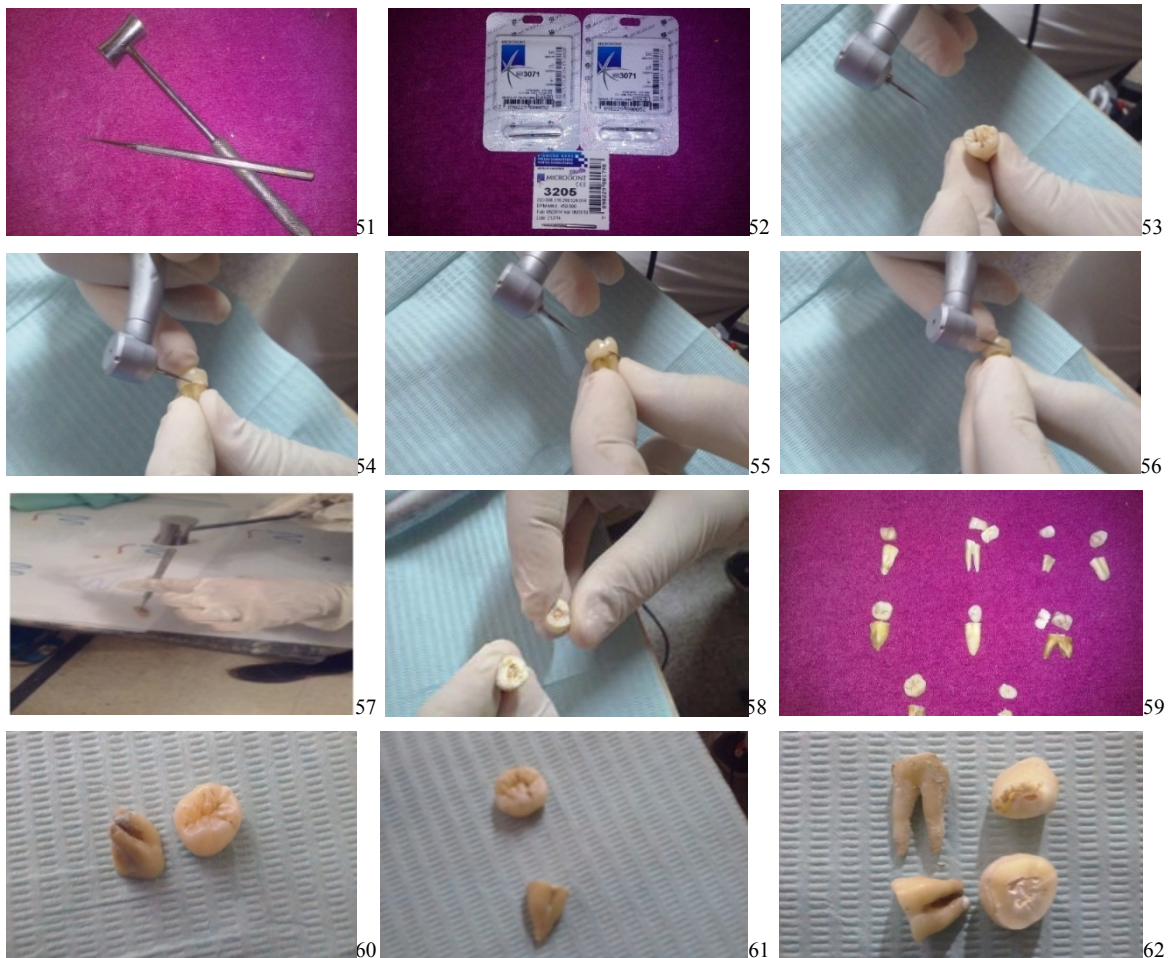
50

*Figuras 49 y 50. Estufa de cultivo. Asignatura Microbiología. Folp.*



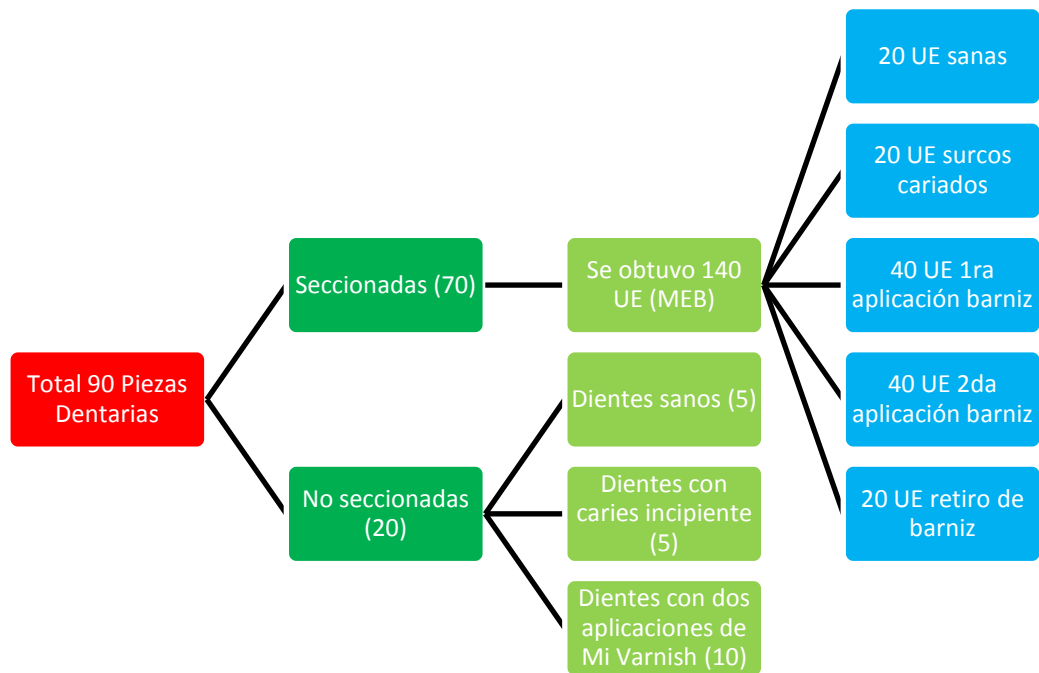
- Corte de las Unidades Experimentales:

Acondicionadas las muestras, se realizaron los desgastes o cortes marcados previstos del esmalte con cincel recto ubicados en una prensa, para que dicho corte sea nítido y seco, terminando el mismo con piedras de diamante N°3205. Se tomó una pieza dental como probeta, cada una, representa dos unidades experimentales (UE). Una UE será la mitad de una pieza que involucrará las observaciones correspondientes (esmalte sano, cariado, con aplicaciones de barniz y retiro del mismo), como se observa en las figuras 51 a 62.



*Fig.51 a 62. Secuencia de cortes de las unidades experimentales (UE).*

De un total de 90 piezas dentarias, 70 fueron sometidas al seccionamiento obteniendo, 140 Unidades experimentales (UE) para ser observadas al Microscopio electrónico de barrido. Las restantes 20 piezas dentarias fueron pulverizadas para ser analizadas al Espectrofotómetro, 5 (cinco) con esmalte sano, 5(cinco) con caries incipientes, y 10(diez) con dos aplicaciones de barniz.



- Inclusión de las UE, en resina acrílica

Para manipular las 140 UE se colocaron en probetas de acrílico confeccionadas en cubeta plásticas divididas en cuadrículas sirviendo como molde de soporte.

Se mezclaron dos componentes: polvo (polímero) y un líquido (monómero) obteniendo un producto final (resina acrílica) con determinadas propiedades físicas y químicas: rigidez acompañada de escasa fragilidad, estabilidad dimensional, estabilidad de color y translucidez. Las ventajas de la resina acrílica residen en su menor costo, su menor tiempo de polimerización y su consistencia más fluida al mezclar los componentes, lo cual facilita su manipulación.

Se tomó cubetas plásticas seccionadas en 10 partes, acondicionándolas con vaselina sólida para facilitar el retiro de las piezas dentarias incluidas. Se procedió a incorporar el material resinoso (medio de soporte), marca Subiton (polvo-polímero, líquido monómero) colocando una pequeña porción de acrílico en estado filamentoso, ubicando las UE de acuerdo a la superficie a estudiar, e incorporando el resto del material preparado hasta cubrir la superficie de cada cuadrícula. Una vez polimerizado, las UE incluidas fueron retiradas, como se muestra en figuras 63 a 74



*Fig. 63 a 74. Elaboración de las probetas de acrílico en cubetas plásticas con inclusión de las unidades experimentales y posteriores retiro.*

- Lijado y pulido

Obtenido el bloque de resina (UE) y a través de la intervención del LEMIT (Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica), se realizó el lijado de las probetas para eliminar posibles superficies cubiertas con resina que impidan su observación y posterior tratamiento: se utilizó una Lijadora Manual, lijas al agua, con granulometría 120, 220, 600 y 1000 gramos /pulgadas. Cada probeta fue desbastada primero, por lija 120 gr/pulgadas (siempre refrigerada con agua corriente), realizado en un mismo sentido, con ligera presión, siendo inspeccionada bajo luz artificial, para detectar la presencia o no de rayaduras de la superficie. Se procedió de igual forma hasta la lija 1000, constatando que la superficie quede lisa y brillante (figuras 75a 77). El pulido de las superficies se realizó con una lijadora mecánica giratoria (MARCA:



PRAZIS), utilizando pasta diamantada para pulido, marca PRAZIS (tamaño 1 micrón). Para evitar el empaste, se vertió pequeñas gotas de alcohol etílico, lavadas con agua corriente y secadas con aire seco.



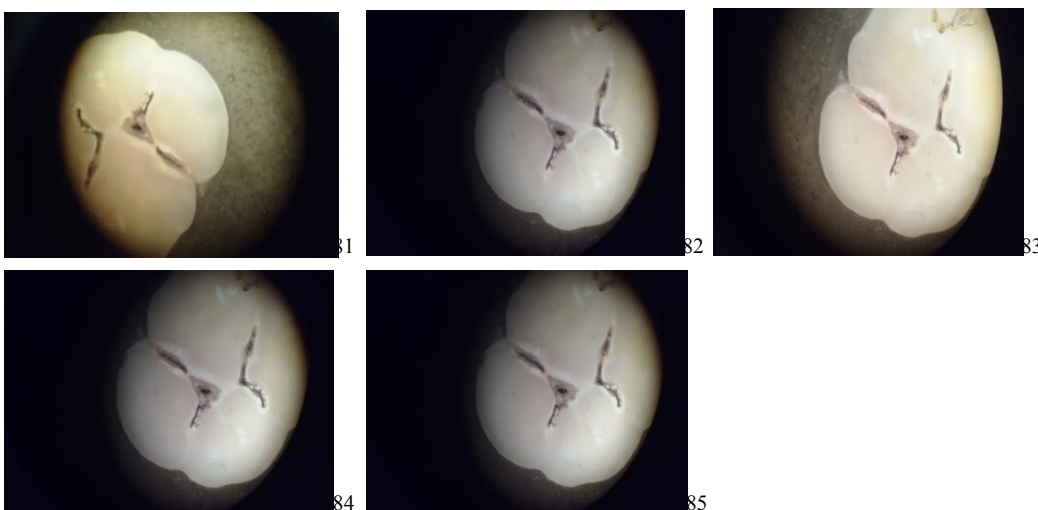
*Fig. 75 a 77: Lijado y pulido de las probetas obtenidas.*

- Observación con la lupa estereoscópica, luego del lijado y pulido de las superficies.

Las probetas obtenidas fueron observadas con lupa binocular estereoscópica (Fig. 78 a 80) Marca HOKENN, 20X (micrómetros) de aumento perteneciente a la Asignatura Histología de la FOLP, para verificar o no la presencia de acrílico sobre la superficie de trabajo (surcos cariados), expresándose en figuras 81 a 85. De comprobarse rayas, producto de las lijas, los pasos del desgaste y pulido deberán ser repetidos.



*Fig. 78 a 80: Lupa binocular estereoscópica-Histología-Odontología. UNLP.*

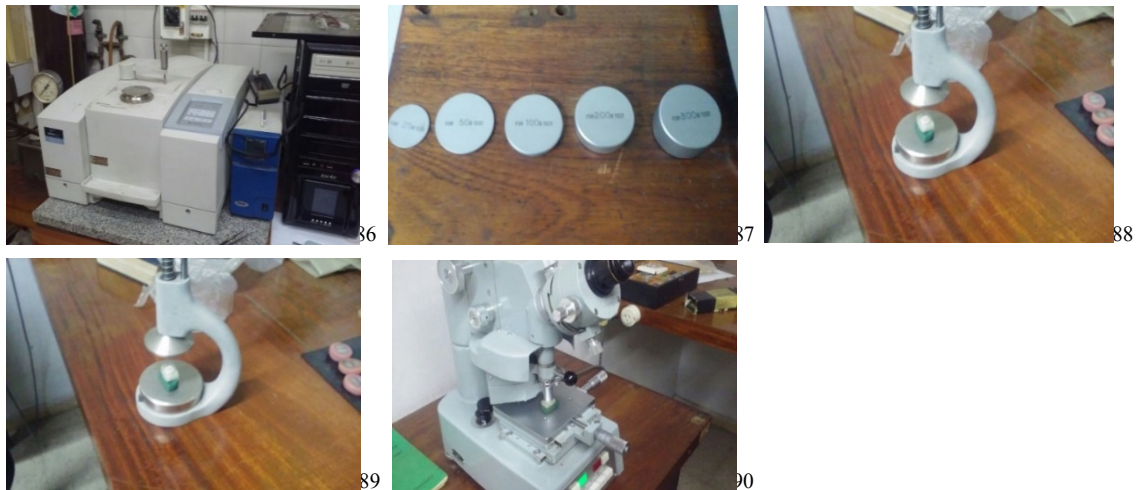


*Fig. 81 a 85: Observación con lupa estereoscópica de las superficies con surcos cariados para verificación de la presencia de acrílico.*

- Determinación de microdureza:

Microdurómetro. (Lemit). Laboratorio de Entrenamiento Multidisciplinario para la Investigación Tecnológica.

En primera instancia, se realizó la medición de microdureza de una UE para determinar la capacidad de penetración, como se observan en figuras 86 a 90



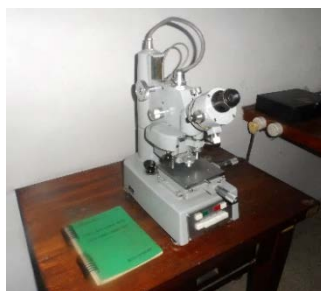
*Fig. 86 a 90: Microdurómetro. Técnica de comprobación de microdureza. LEMIT*

El procedimiento fue realizado sobre una probeta de un molar, sobre una sección transversal, la cual fue incluida en resina polimérica para luego ser desbastada con lija al agua con granulometría desde 120 hasta 2500 y terminada mediante el pulido con pasta de diamante de diamante tamaño desde 1 hasta 0,1 micrón. La citada probeta puede ser observada en la figura 91.



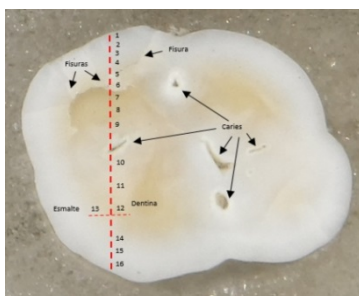
*Figura 91. Probeta de un molar incluida en polímero*

El equipo empleado es un micro durómetro Shimadzu en el cual se identificó la zona con un objetivo de 100 x, se aplica el indentador con una precarga de 200 gr mediante un tiempo de 20 segundos, y se observó el tamaño de la impronta con un objetivo de 600 x. El micro durómetro Shimadzu se puede apreciar en la figura 92.



*Figura 92. Micro durómetro Shimadzu con su tabla para la determinación de la dureza. LEMIT.*

La determinación de las mediciones se realizó sobre una línea imaginaria perpendicular a la sección transversal de la probeta y fuera de la zona de caries o fisuras, de manera de recorrer toda la sección del diente comenzando sobre un borde del mismo en la zona de esmalte, siguiendo hacia el centro en la zona de dentina, y terminando en el borde opuesto otra vez en la zona de esmalte, tal como se observa en la figura 93.



*Figura 93. Posición de la zona de toma de muestra*

Las unidades experimentales fueron seleccionadas para su posterior observación siendo identificadas según el tratamiento a recibir en:

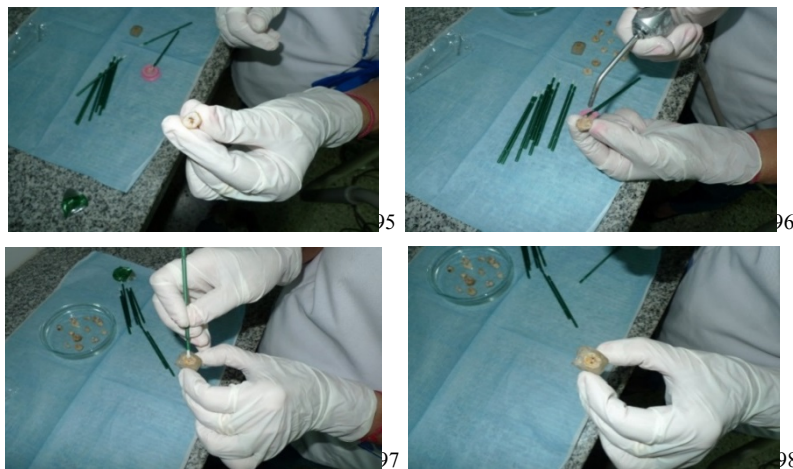
- Esmalte sano: Total 20 UE, (sin aplicación del material).
  - Esmalte con surcos cariados: Total 20 UE, (sin aplicación del material).
  - Esmalte con surcos cariados y con una aplicación de Mi Varnish: Total 40 UE.
  - Esmalte con surcos cariados y con dos aplicaciones de Mi Varnish: Total 40 UE.
  - Esmalte con surcos cariados, con dos aplicaciones de Mi Varnish y retiro del barniz: Total 20 UE.
- Aplicación del barniz, Mi Varnish.

Se procedió al lavado de las unidades experimentales con solución fisiológica, colocadas en cápsulas de petri esterilizadas, para su posterior secado en la estufa de cultivo. A las 24 horas fueron retiradas las 100 (UE) a las cuales se aplicó el barniz a

analizar, Mi Varnish (barniz con fluoruro de sodio al 5%), según especificaciones del fabricante, (las superficies de los dientes deben estar limpias y secas antes de su aplicación) – figura 94 –. No se realizó profilaxis. Se aplicó una fina capa de Mi Varnish sobre las superficies a observar, mediante un cepillo descartable, incluido en el kit. Se utilizó la jeringa de aire del equipo del sillón odontológico, para dispersar el solvente de todo barniz, y lograr una cubierta uniforme, siendo sometidas a una aplicación, 40 (UE) y dos aplicaciones de barniz, 60 (UE) (Figuras 95 a 98). Posteriormente fueron colocados en cápsulas de petri, con saliva artificial, (descripción pag.82) ya que el barniz se fija cuando entra en contacto con agua o saliva. Se dejaron durante 24 horas en estufa de cultivo a 37° de temperatura, Fig. 99 y 100.



*Figura 94. Mi Varnish (barniz con fluoruro de sodio al 5%)*



*Figuras 95 a 98: Aplicación del barniz (MI VARNISH).*



*Figuras 99 y 100 Unidades experimentales con aplicación de barniz , incluidas en saliva artificial y colocadas en estufa de cultivo*

- Muestras a las 24hs de secado en frascos con Silicagel:

Las UE fueron retiradas a las 24 hs y colocadas en envases herméticos identificados, con silicagel (Figuras 101 a 104), para evitar cualquier tipo de contaminación y posible humedad, para su posterior metalización con carbono.

El gel de sílice, también conocido como Silicagel, es un producto absorbente, catalogado como el de mayor capacidad de absorción de los que se conocen actualmente. Es una sustancia química de aspecto cristalino, porosa, inerte, no tóxica e inodora, de fórmula química molecular  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ , insoluble en agua ni en cualquier otro solvente, químicamente estable, sólo reacciona con el ácido fluorhídrico y el álcali.

Bajo diferentes métodos de fabricación, se consiguen diferentes tipos de gel de sílice/silicagel con diversas estructuras del poro, pudiendo llegar algunos a absorber hasta un 40% de su propio peso en agua.

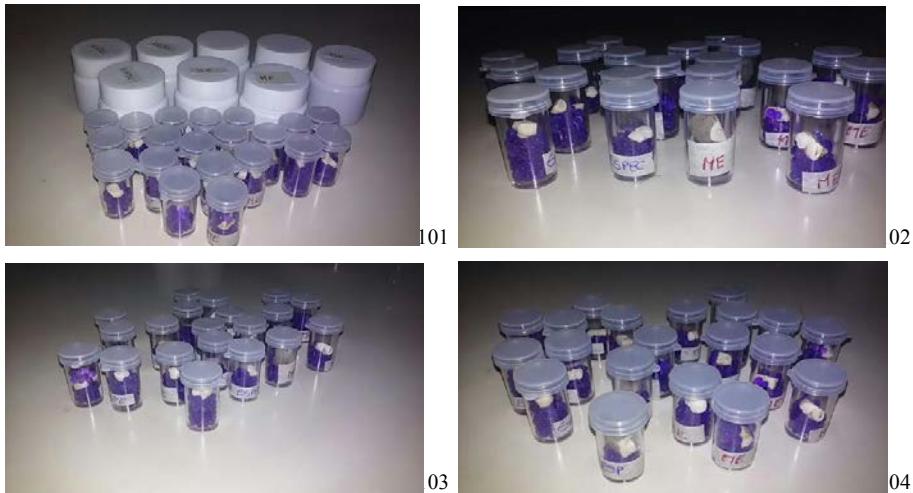
Según el diámetro del poro se categoriza el gel de sílice/silicagel como de poro fino o macro poroso, cada uno de ellos con una capacidad diferente de absorción en función de la humedad relativa, por lo que la elección del tipo debe ajustarse según las condiciones de utilización. El gel de sílice/silicagel también puede diferenciar la absorción de diferentes moléculas actuando como un absorbente selectivo.

Su gran porosidad de alrededor de  $800 \text{ m}^2/\text{g}$ , le convierte en un absorbente de agua, por este motivo se utiliza para reducir la humedad en espacios cerrados; normalmente hasta un cuarenta por ciento, no es tóxico, inflamable ni químicamente reactivo.

El compuesto es ampliamente usado como desecante (mediante el efecto de mantener deshidratación en el aire) y como filtro retenedor de Fluoruro (F), Arsénico (As) y Selenio (Se) en agua potable, se une con el flúor a temperaturas ordinarias, y con oxígeno, cloro, bromo, azufre, nitrógeno, carbono y boro a temperaturas progresivamente más altas.

Dadas las características descriptas, surge la inquietud como hallazgo experimental, la presencia de sílice en la mayoría de los espectros registrados, lo que nos lleva a pensar en su competencia con el flúor (5%) presente en la composición del material (Mi Varnish) reaccionando químicamente y demostrando su grado de absorción en las muestras analizadas luego del retiro del barniz aplicado.

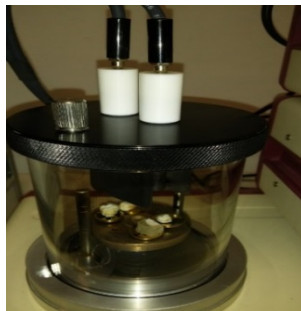




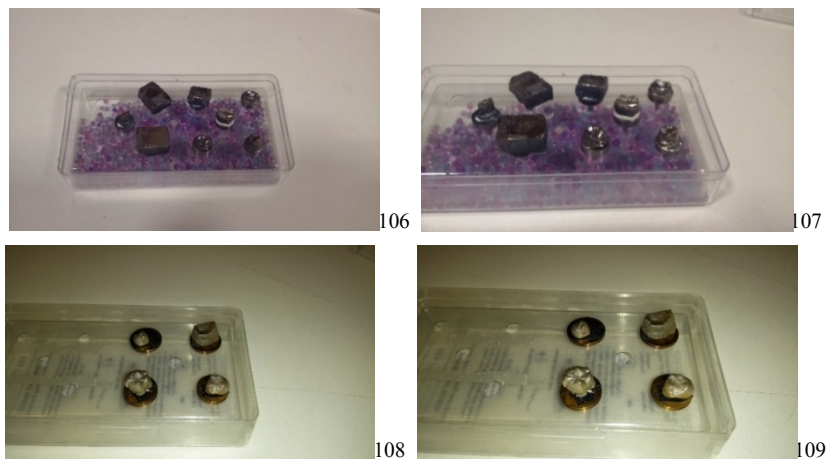
*Fig. 101 a 104. Acondicionamiento de las muestras en silicagel*

- Metalización de las unidades experimentales:

Para lograr la observación de las muestras al microscopio electrónico (MEB), se utilizó el Cilindro de Wehnelt (Figura 105) que permitió el depósito de una cubierta conductora de carbono, como muestran las figuras 106 a 109, para realizar el análisis químico, sin que exista ningún tipo de dispersión de los componentes a analizar. (87)



*Figura 105. Cilindro de Wehnelt: Controla el flujo de electrones que se dirigen a la muestra a metalizar, controlando el depósito e intensidad de la emisión.*



*Fig. 106 a 109: Metalización de las muestras con carbono*

Esto permitió el análisis de las imágenes obtenidas a través del microscopio electrónico de barrido (Edax) mediante Fotomicrografías, mostrando las diferentes modificaciones en los tejidos dentarios.

Las observaciones fueron realizadas con el siguiente esquema:

- La primera observación al microscopio electrónico de barrido fue de 20 UE con esmalte sin evidencias clínicas.
- La segunda observación al microscopio electrónico de barrido ,20 UE con caries incipientes.
- La tercera observación, al microscopio electrónico , 40 UE con surcos cariados sometidas a una aplicación de barniz y observadas a los siete días,
- La cuarta observación, se realizó a los 15 días en 40 UE, con surcos cariados con dos aplicaciones de barniz, (Mi Varnish).
- La quinta observación, al microscopio electrónico de barrido fue en surcos cariados con 2 aplicaciones de barniz, retirado mecánicamente al momento de ser analizado,siendo a los 2 meses: 10(UE) y a los 4 meses, 10 (UE)

- Estudio con Espectrofotómetro. Pulverización de las muestras:

Las piezas dentarias estudiadas con el espectrofotómetro fueron un total de 20, las cuales no fueron seccionadas. Fueron tratadas de la misma forma que las estudiadas al microscopio electrónico de barrido, es decir:

1. Desoperculización mecánica.
2. Inmersión en saliva artificial.
3. Acondicionamiento en la estufa de cultivo.
4. Se trabajaron individualmente (sin probetas de acrílico) por la complejidad para su posterior estudio.
5. Colocación en silicagel
6. Se identificaron en 3 grupos para su observación:
  - Piezas dentarias sanas: Total 5(cinco)
  - Piezas denatrias con caries incipiente: Total 5(cinco)
  - Piezas dentarias con dos aplicaciones de Mi Varnish: Total 10(diez)
7. Fueron pulverizadas utilizando un mortero de ágata de la Asignatura Microbiología de la Folp, como se observa en las figuras 110 a 113.



110



111



112



113

*Fig.109 a 112. Pulverización de las muestras para el análisis con Espectrofotómetro.*

Concluidos los procedimientos de acondicionamiento y preparación de las unidades experimentales, se obtuvieron los siguientes resultados por medio de las fotomicrografías y espectrometrías correspondientes, a través del microscopio electrónico de barrido y espectrofotómetro para su posterior análisis estadístico.

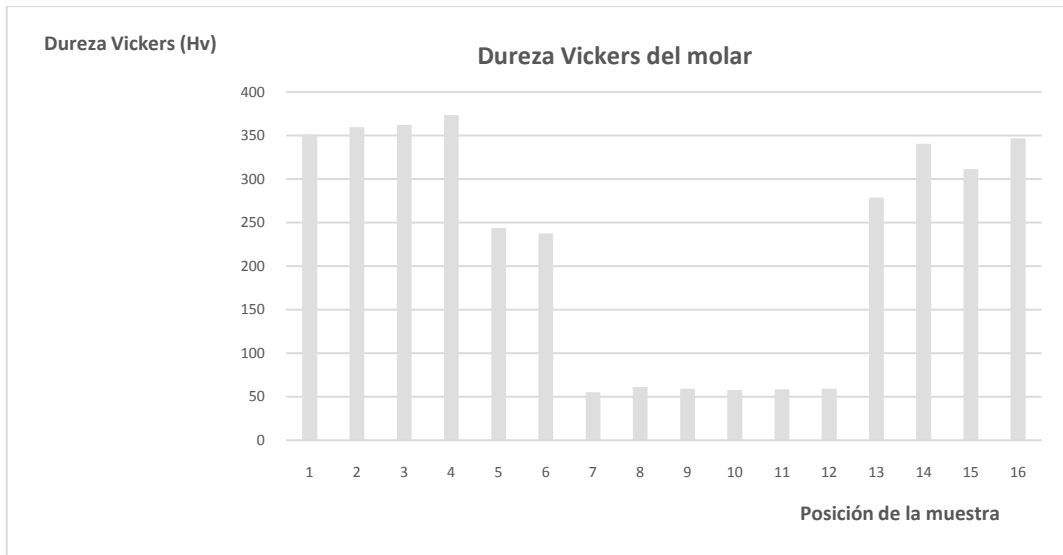
## 7 – RESULTADOS.

### 7.1- Análisis Micro Dureza Vickers

Luego de obtenidos los valores de las diagonales de las distintas improntas mediante la lectura, con el objetivo del micro durómetro, en las tablas del equipo se obtuvieron los valores de la micro dureza Vickers, pudiéndose visualizar la variación en la tabla 2 y en el grafico I, los resultados.

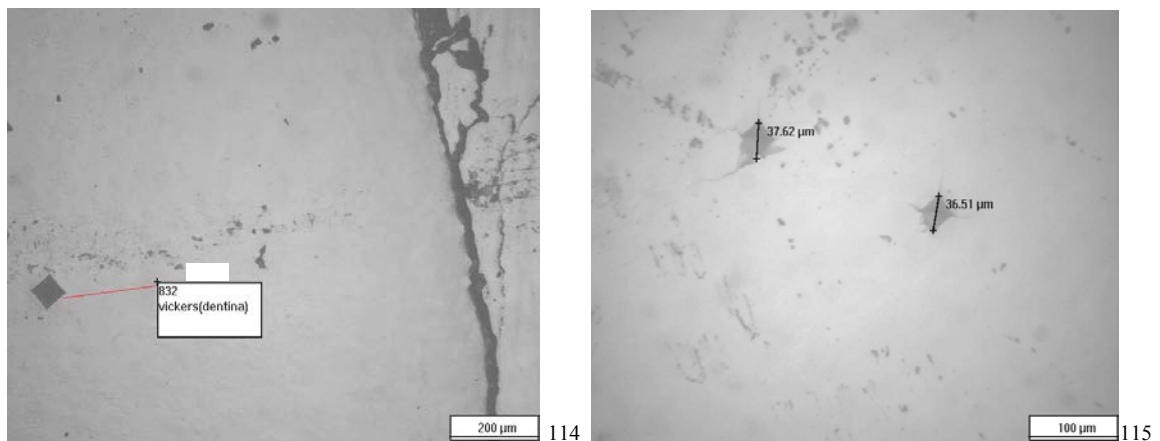
<b>NºPosición en el molar</b>	<b>Zona de la muestra</b>	<b>Dureza Vickers (Hv)</b>
1	Esmalte	351,1
2	Esmalte	359,7
3	Esmalte	362,2
4	Esmalte	373,8
5	Esmalte	243,8
6	Esmalte	237,7
7	Dentina	55,18
8	Dentina	60,96
9	Dentina	59,43
10	Dentina	57,95
11	Dentina	58,68
12	Dentina	59,43
13	Esmalte	278,9
14	Esmalte	340,6
15	Esmalte	311,6
16	Esmalte	346,8

*Tabla 2. Valores obtenidos de microdureza Vickers*



*Grafico 1. Valores obtenidos de micro dureza Vickers en función de la posición en el molar*

En el microscopio óptico se tomaron las micrografías de las figuras 114 y 115, en las cuales se muestran las huellas obtenidas en la toma de micro dureza Vickers.



*Figuras 114 y 115. Huellas dejadas por el penetrador Vickers en la dentina*

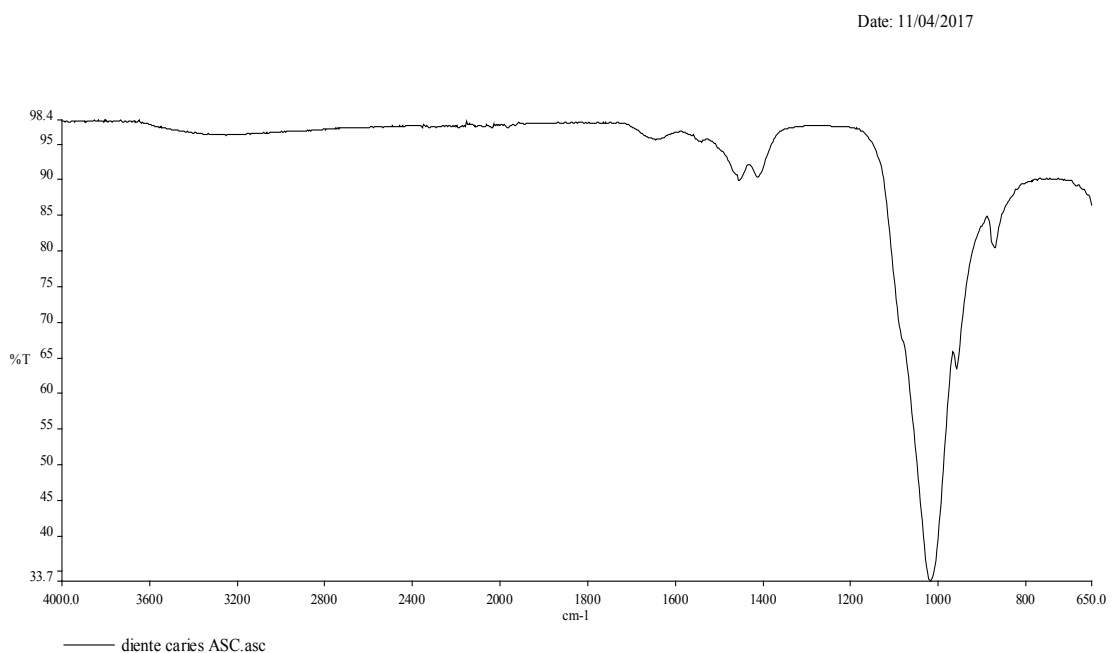
Valores que permitieron determinar la diferencia significativa entre el esmalte y dentina para establecer la posibilidad de incorporación del barniz aplicado (Mi Varnish).

## 7.2- Análisis con Espectrofotómetro - CIDEPINT -

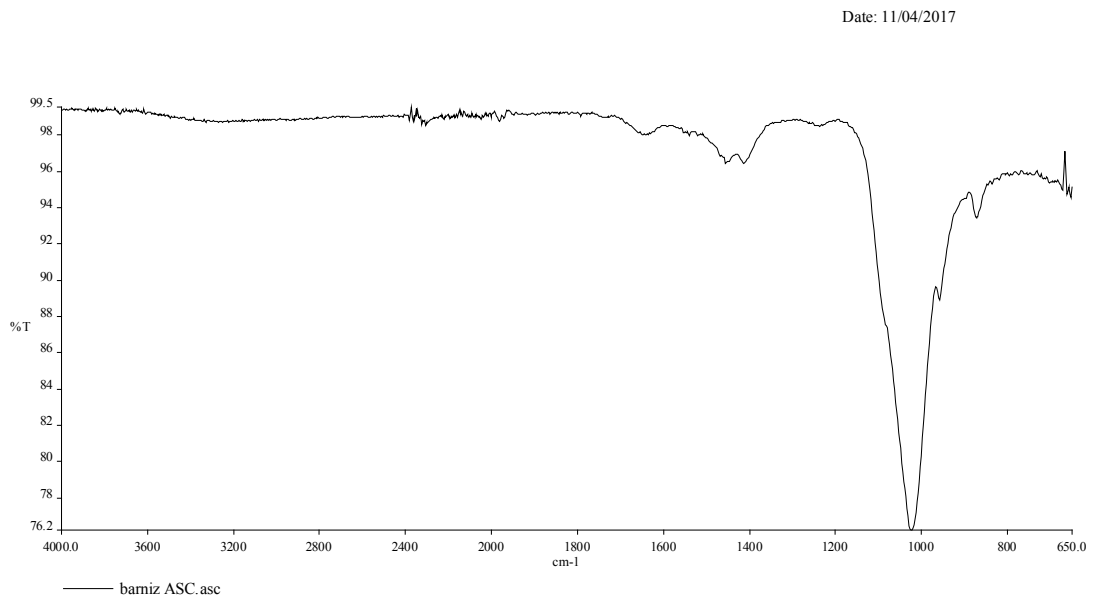
### Centro de Investigaciones y Desarrollo en Tecnologías de Pinturas.

Los espectros fueron realizados por espectroscopía de FTIR (espectrometría infrarroja con transformado de Fourier) por reflectancia total atenuada sobre ventana universal de ZnSe( Selenurio de zin)-Diamante (U-ATR) del diente molido.

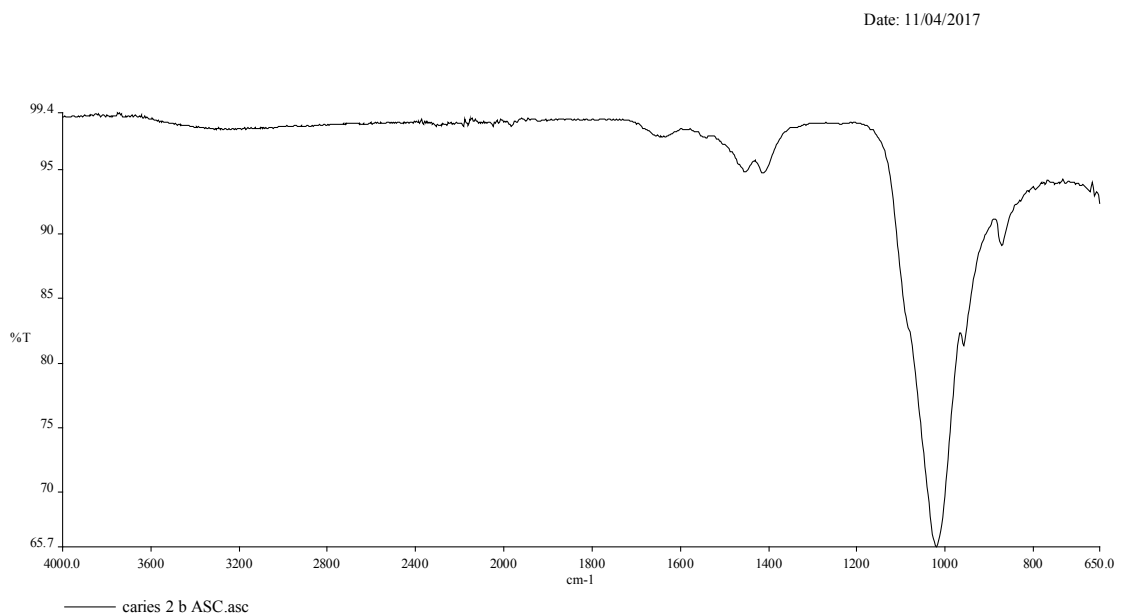
Sobre un total de 20 piezas dentarias (no seccionadas) ,5 (cinco) con esmalte sano, 5 (cinco) con surcos cariados y 10 (diez) fueron pulverizadas, obteniendo los siguientes gráficos.



*Gráfico 2: Lineal. Análisis de las piezas dentarias con surcos cariados.  
Pico de desmineralización.*

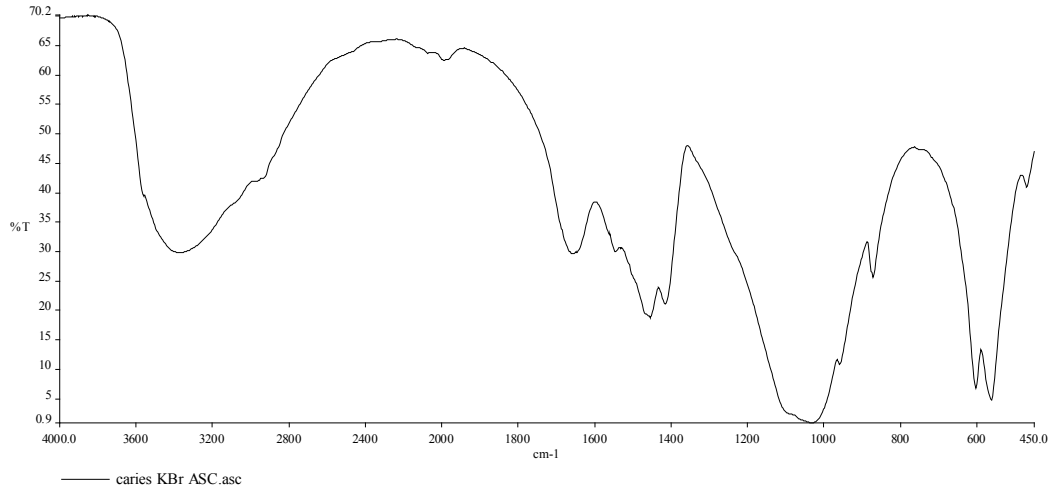


*Gráfico 3: Lineal. Análisis de las piezas dentarias con surcos cariados con aplicación del barniz. Niveles mínimos de absorbancia.*



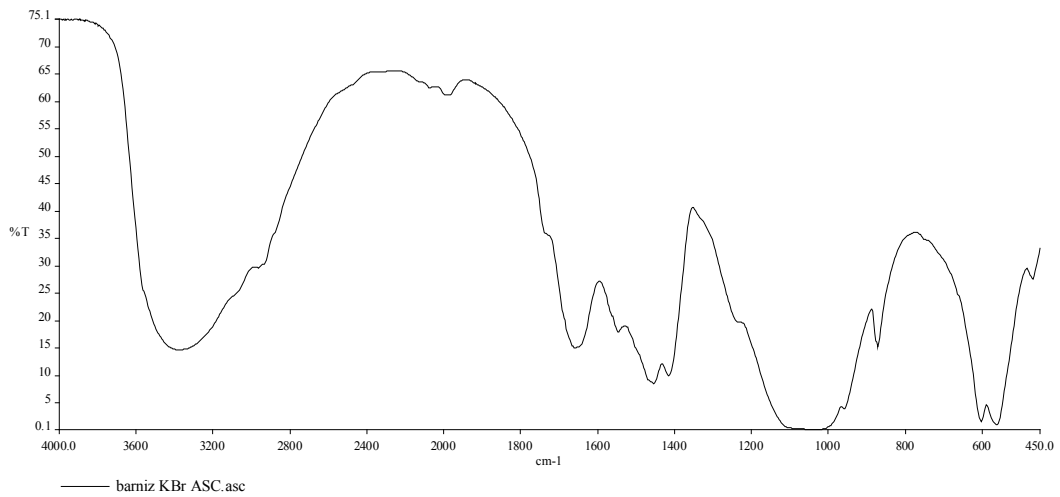
*Gráfico 4: Lineal. Análisis de piezas dentarias con surcos cariados*

Date: 11/04/2017



*Gráfico 5: Lineal. Análisis de piezas dentarias con surcos cariados. Diferentes curvas de desmineralización, según zona analizadas.*

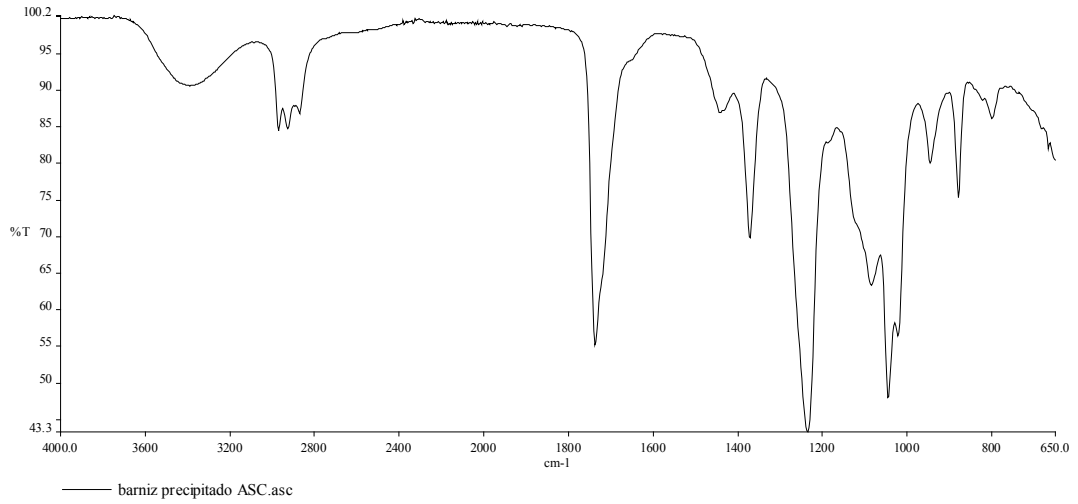
Date: 11/04/2017



*Gráfico 6: Lineal, Piezas dentarias con surcos cariados y aplicación del barniz. Diferencias significativas de absorbancia*

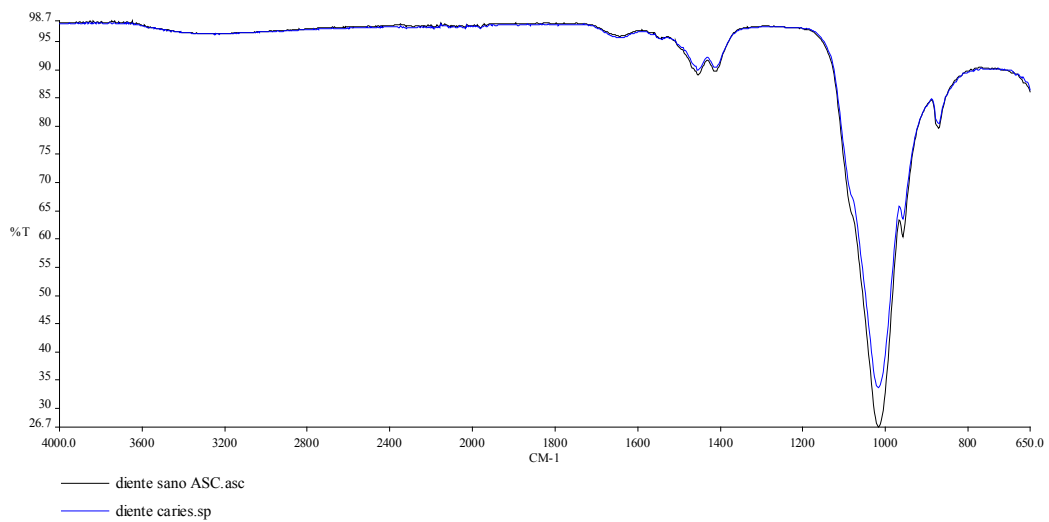


Date: 11/04/2017

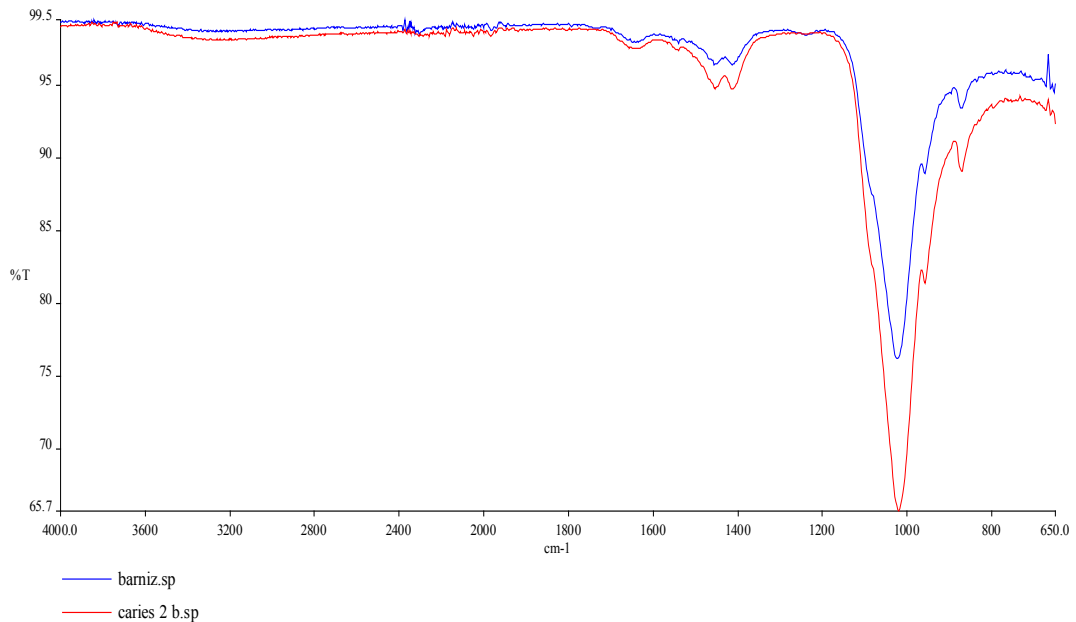


*Gráficos 7: Lineal. Surcos cariados con aplicación de barniz. Precipitación en diferentes zonas desmineralizadas.*

Date: 19/12/2016



*Gráfico 8: Lineal Comparación entre pieza dentaria sana y con surcos cariados respecto de su composición estructural*



*Gráfico 9: Grado de absorción del barniz en los surcos cariados.*

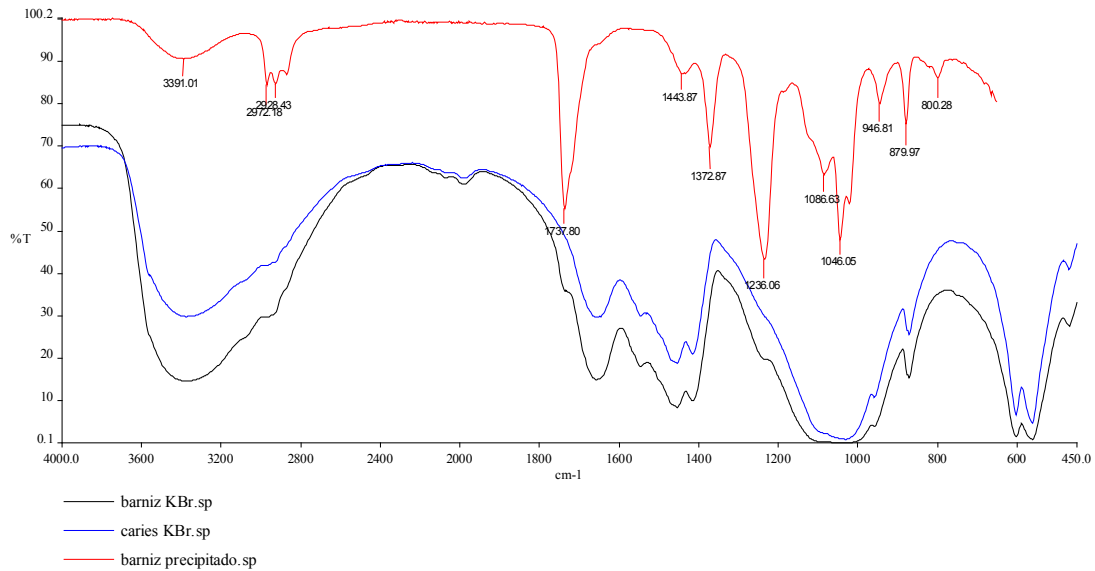
Estos espectros corresponden a las muestras de piezas dentarias con caries sin tratar (caries 2b) y piezas dentarias tratadas con barniz.

Los espectros de las muestras de diente fueron realizados por espectroscopía de FTIR por transmitancia en pastillas de KBr (pastillas de Bromuro Potásico) con el diente molido.

El espectro del barniz fue realizado por espectroscopía de FTIR por reflectancia total atenuada sobre ventana universal de ZnSe-Diamante (U-ATR) del producto.

En la zona de 1738 y 1236 cm<sup>-1</sup> se observan diferencia entre los espectros del diente sin tratar y tratado con barniz, dichas diferencias se corresponden con picos de absorción correspondientes al barniz, por lo que podrían atribuirse a restos del mismo.

La magnitud de la diferencia es muy baja, lo que puede deberse a un efecto de dilución de la zona tratada en la masa total de diente molido.



*Gráficos 10: Comparativos entre pieza dentaria cariada, con aplicación de barniz y el resultado del barniz precipitado, mostrando los picos de absorción del mismo.*

Estos espectros corresponden a las muestras de piezas dentarias con caries sin tratar (caries KBr ASC), piezas dentarias tratadas con barniz (barniz KBr ASC) y muestra del barniz (barniz KBr ASC).

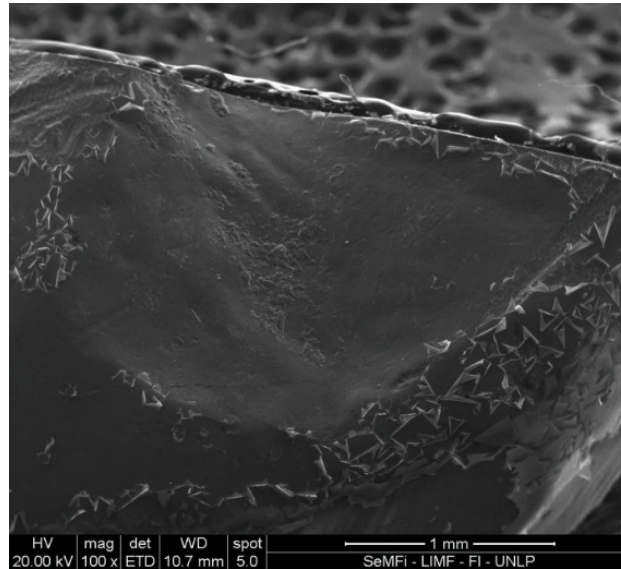
Los espectros fueron realizados por espectroscopía de FTIR por reflectancia total atenuada sobre ventana universal de ZnSe-Diamante (U-ATR) del diente molido.

Como la absorbancia fue baja, no se observó diferencia entre los espectros.

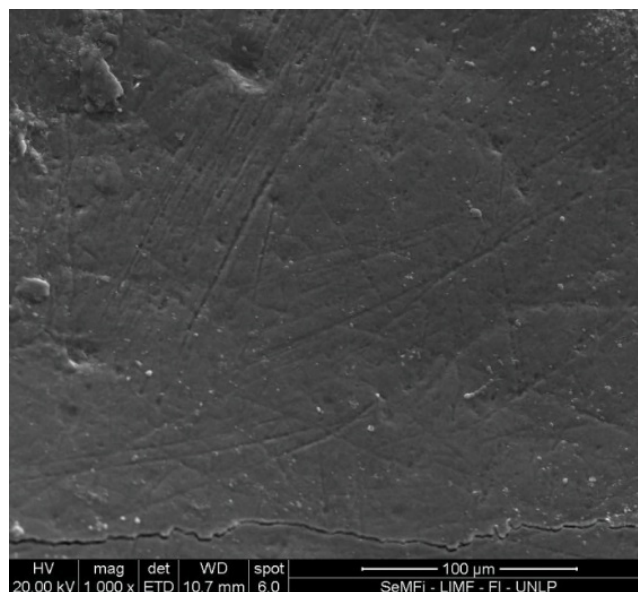
### 7.3- Microscopía Electrónica de Barrido y Espectrometría dispersa en energías.

Sobre un total de 90 piezas dentarias: 70 fueron seccionadas, obteniendo 140 (UE), siendo observadas con microscopio electrónico, 20 (UE) de esmalte sin lesiones clínicas. (figuras 116 a 123) Las Microfotografías fueron tomadas a 100x, 500x y 1000x .

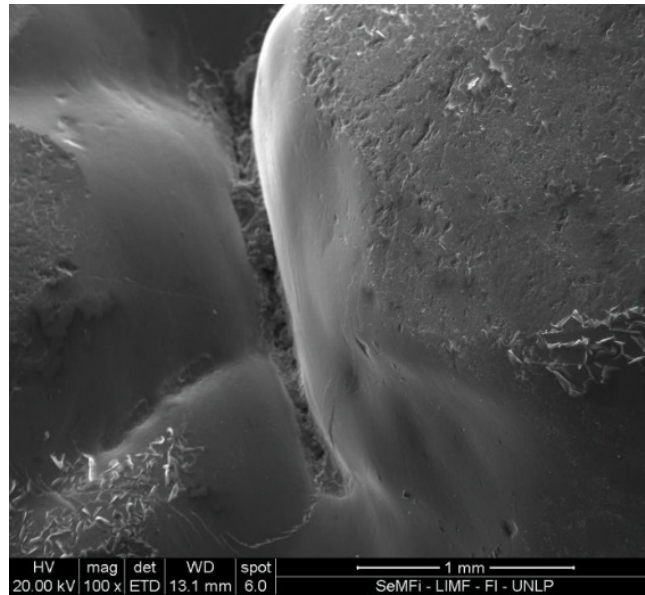
- Observación del esmalte sin lesión clínica.



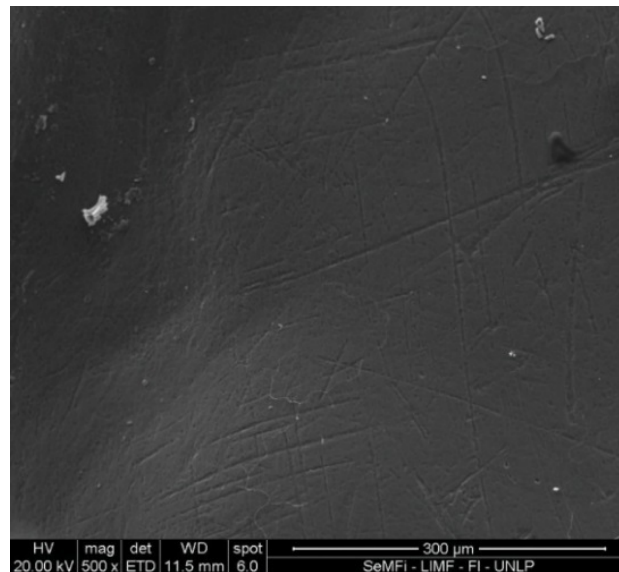
*Figura 116. Observación del esmalte sin lesión clínica. SEM: 100x*



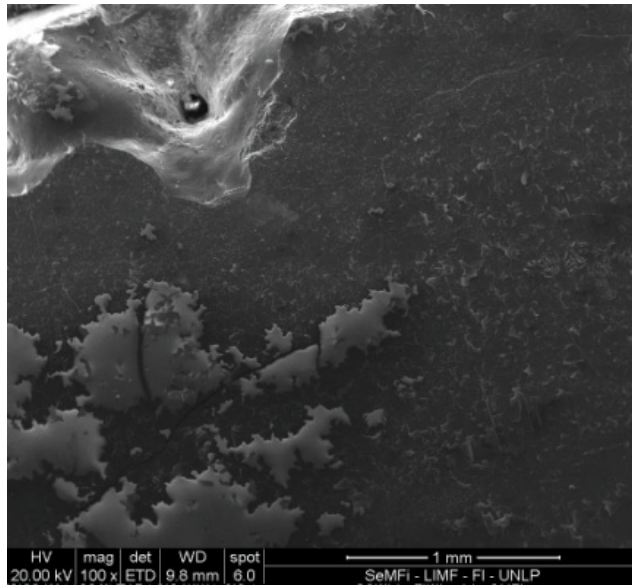
*Figura 117. Observación del esmalte sin lesión clínica.  
SEM: 1000x. Presencia de microimpronta.*



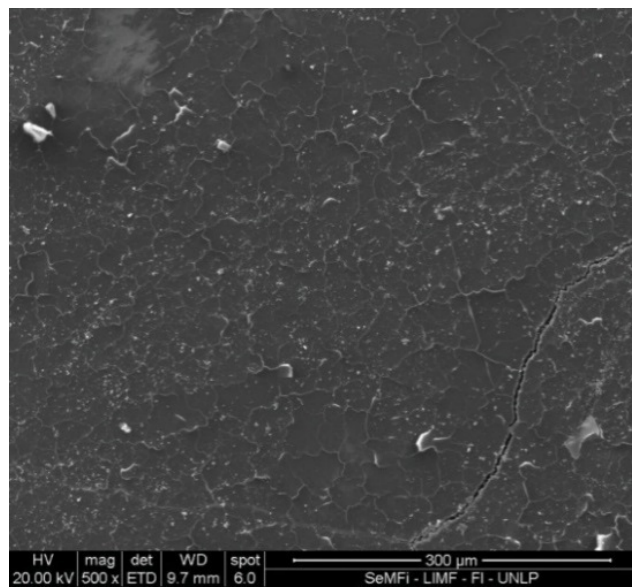
*Figura 118. Observación del esmalte sin lesión clínica.  
Surco sano SEM: 100x (otro sector del esmalte)*



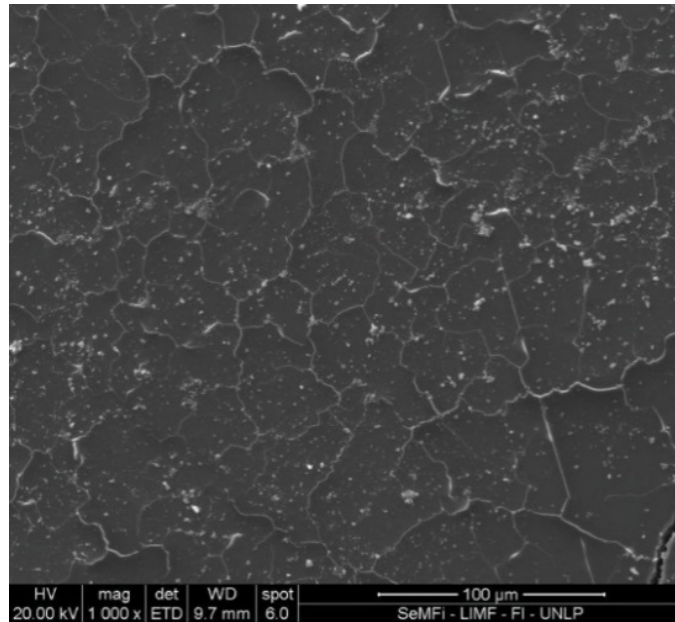
*Figura 119. Observación del esmalte sin lesión clínica.  
SEM: 500x (otro sector del esmalte) Presencia de microimpronta.*



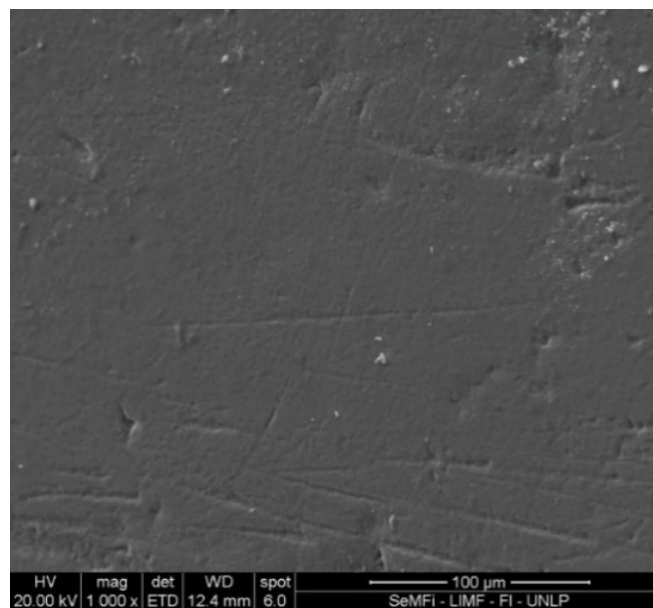
*Figura 120. Observación del esmalte sin lesión clínica. Restos de biofilm SEM: 100x*



*Figura 121. Observación del esmalte sin lesión clínica. SEM: 500x*



*Figura 122. Observación del esmalte sin lesión clínica, y metalización con carbono  
SEM: 1000x*



*Figura 123. Observación del esmalte sin lesión clínica SEM: 1000x. Microimpronta*

Cuantificación de los diferentes elementos químicos. Los espectros se tomaron a 12,5 KeV, con 90'' de análisis y sin análisis de carbono.

Gráficos de esmalte sano sin evidencia clínica.

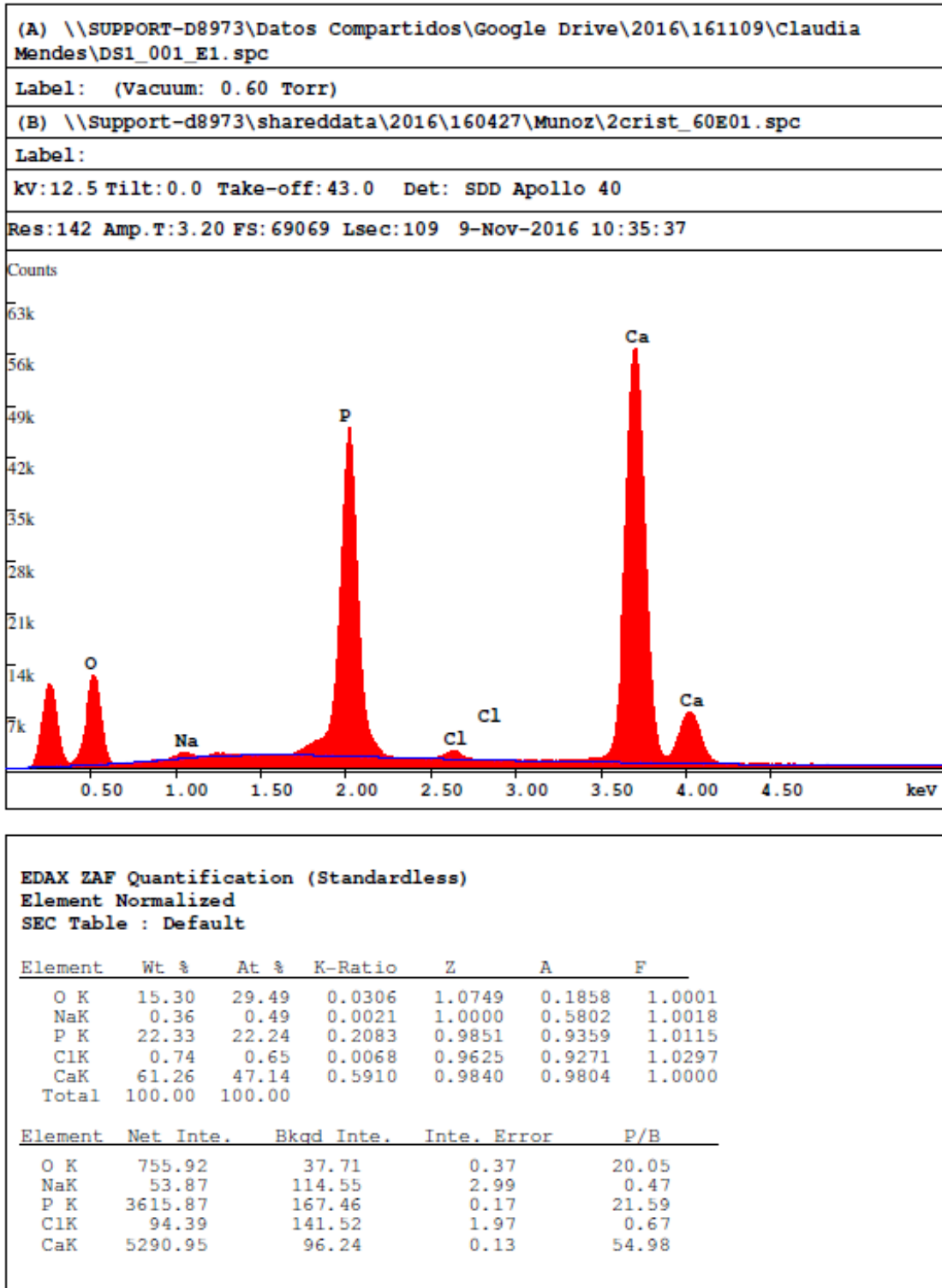
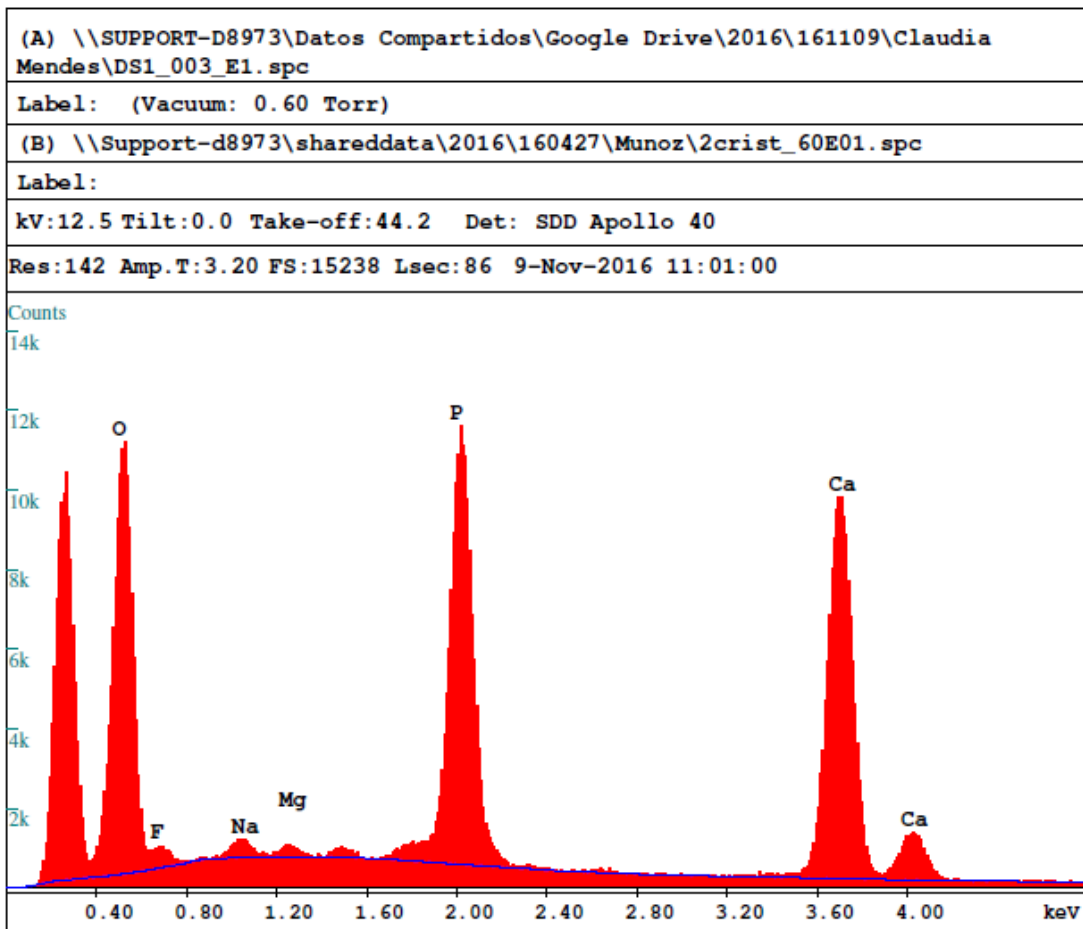


Gráfico 11 – Cuantificación SEM 100x





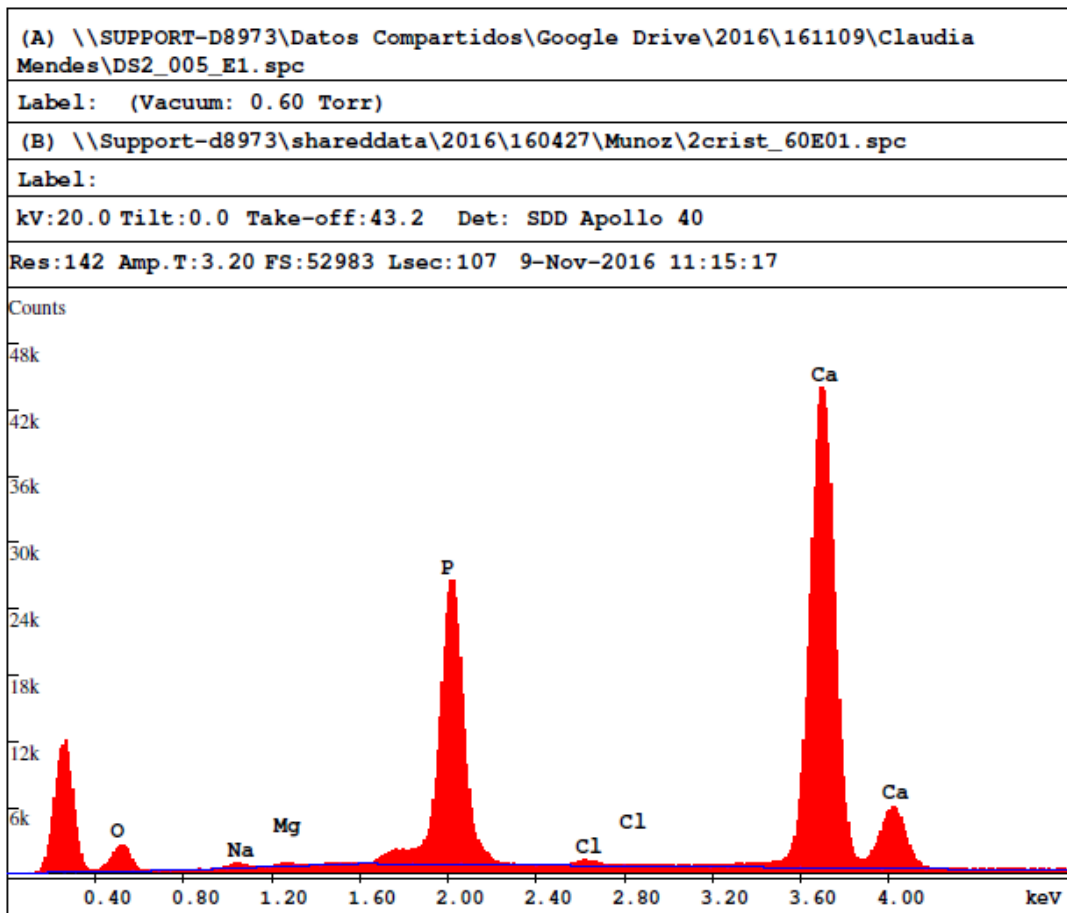
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	36.32	55.45	0.1010	1.0536	0.2638	1.0002
F K	2.25	2.90	0.0062	0.9883	0.2762	1.0003
NaK	0.80	0.85	0.0046	0.9806	0.5858	1.0016
MqK	0.42	0.42	0.0031	1.0051	0.7197	1.0033
P K	20.62	16.26	0.1875	0.9638	0.9363	1.0076
CaK	39.59	24.12	0.3748	0.9625	0.9838	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DS1\_003\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	886.66	33.20	0.38	26.70
F K	55.41	59.13	2.56	0.94
NaK	41.46	81.75	3.72	0.51
MqK	25.91	93.91	6.08	0.28
P K	1150.50	77.43	0.34	14.86
CaK	1185.67	35.41	0.32	33.48

Gráfico 12 – Cuantificación SEM 500x



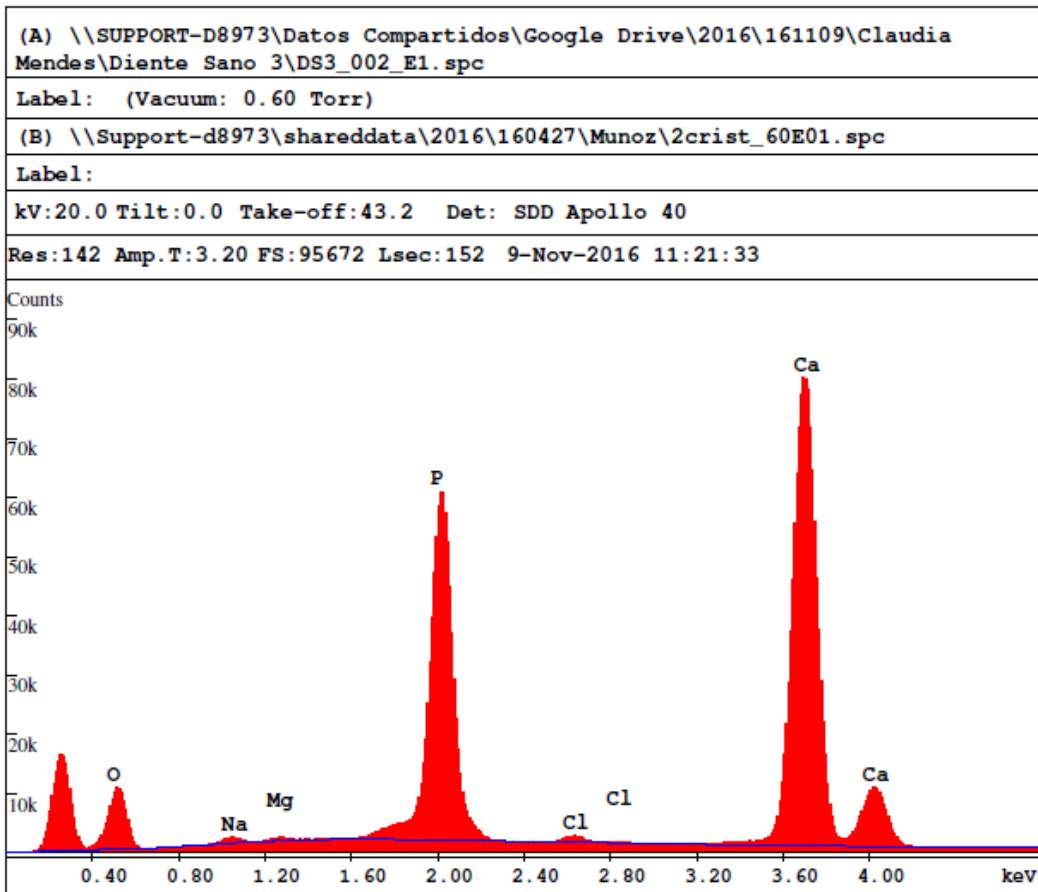
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	12.97	25.60	0.0147	1.0622	0.1064	1.0002
NaK	0.56	0.77	0.0020	0.9936	0.3641	1.0027
MqK	0.32	0.41	0.0017	1.0184	0.5102	1.0056
P K	22.95	23.39	0.1972	0.9850	0.8586	1.0158
ClK	0.58	0.52	0.0049	0.9649	0.8348	1.0391
CaK	62.62	49.31	0.5901	0.9911	0.9509	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DS2\_005\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	155.28	14.13	0.84	10.99
NaK	27.03	42.16	3.77	0.64
MqK	22.03	61.64	5.29	0.36
P K	2157.95	86.48	0.22	24.95
ClK	46.12	81.22	3.03	0.57
CaK	4219.50	62.38	0.15	67.64

Gráfico 13 – Cuantificación SEM 500x



**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	22.47	39.76	0.0288	1.0549	0.1213	1.0002
NaK	0.65	0.80	0.0024	0.9870	0.3671	1.0026
MgK	0.29	0.34	0.0015	1.0116	0.5134	1.0055
P K	23.87	21.81	0.2037	0.9774	0.8619	1.0132
ClK	0.55	0.44	0.0045	0.9569	0.8315	1.0324
CaK	52.16	36.84	0.4873	0.9837	0.9497	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\Diente Sano 3\DS3\_002\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	468.47	26.71	0.39	17.54
NaK	48.64	90.52	2.52	0.54
MgK	31.23	127.03	4.38	0.25
P K	3431.49	150.94	0.14	22.73
ClK	66.15	133.75	2.24	0.49
CaK	5364.15	94.25	0.11	56.91

Gráfico 14 – Cuantificación SEM 1000x

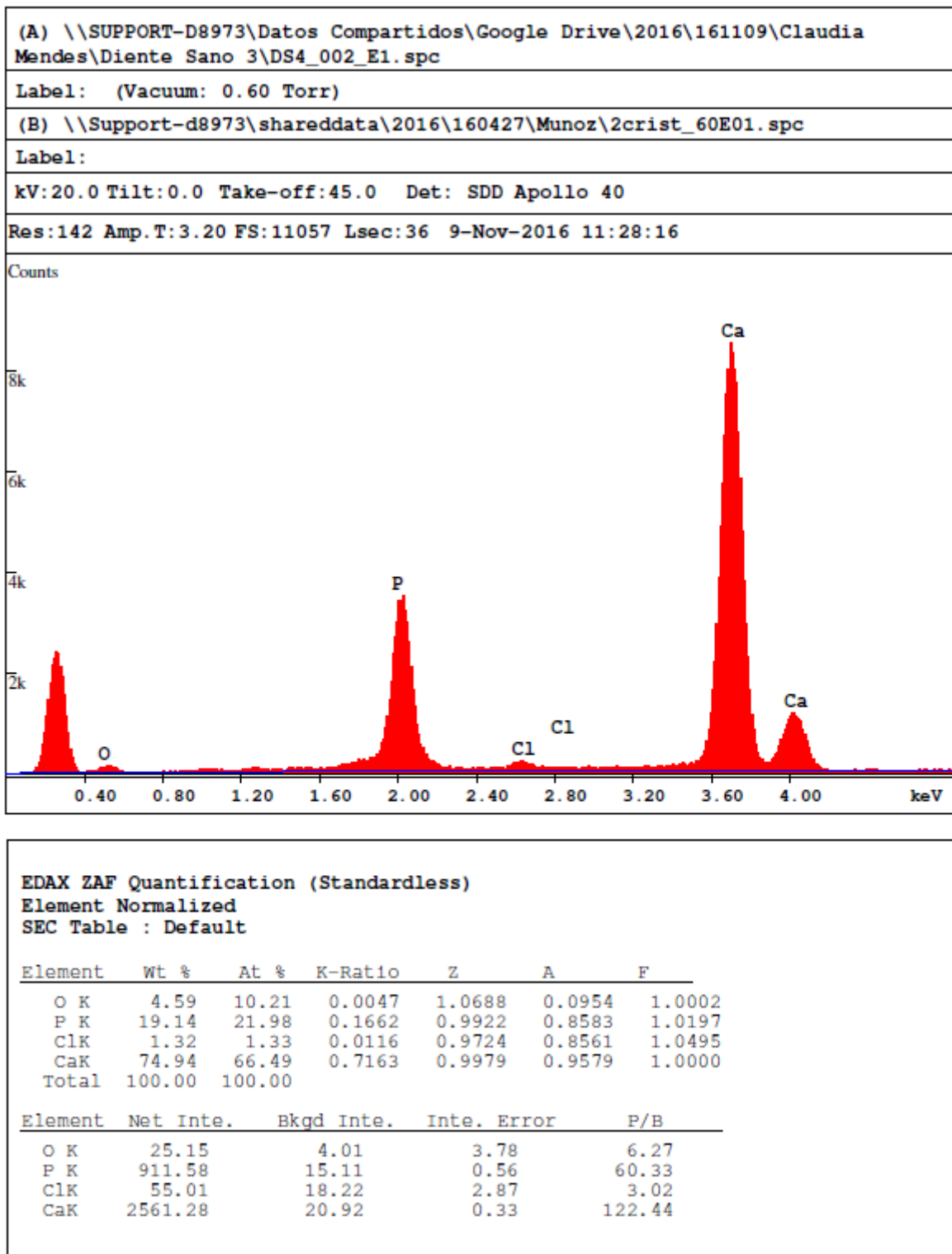
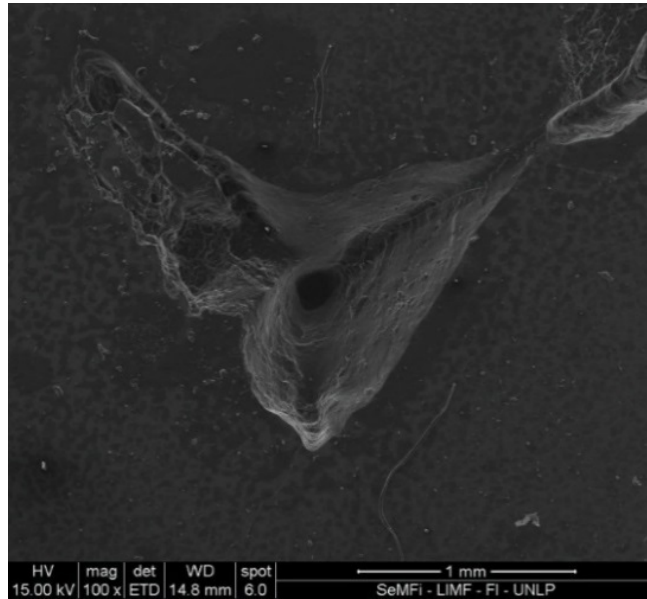


Gráfico 15 – Cuantificación SEM 1000x

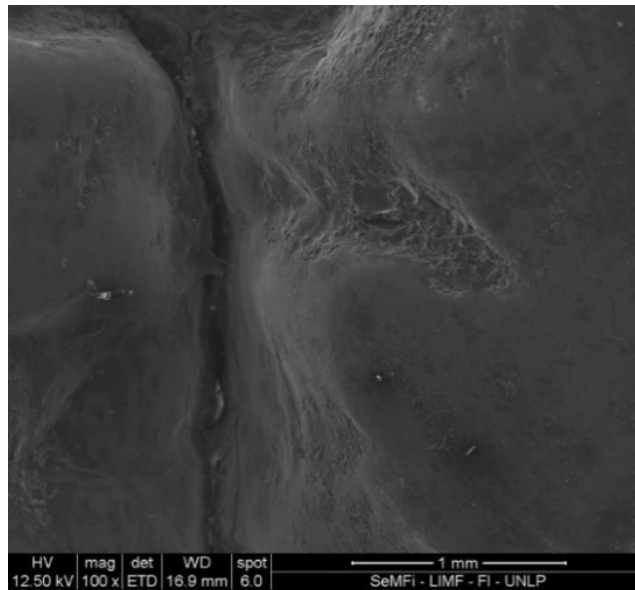
Los diferentes espectros demuestran los elevados niveles de calcio y fósforo, presentes en todo esmalte sano.

- Observación al Microscopio Electrónico 20 (UE) con Surco profundo cariado.  
(Figuras 124 a 133)

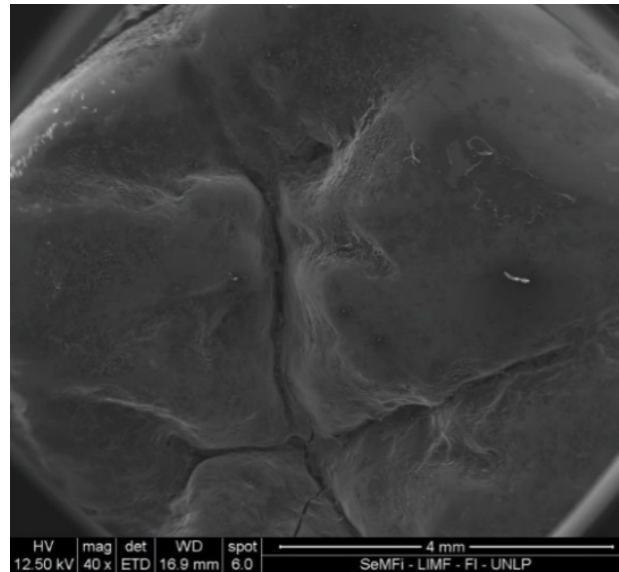


*Figura 124. Observación profundidad de surco cariado:*

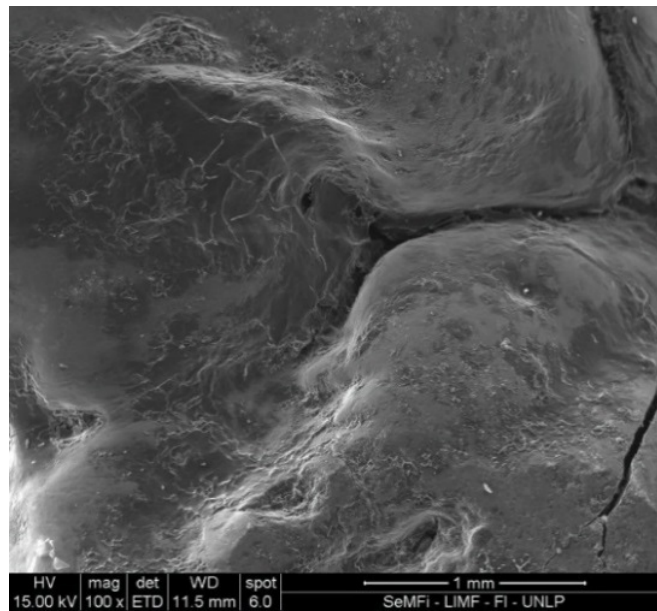
*SEM: 100x*



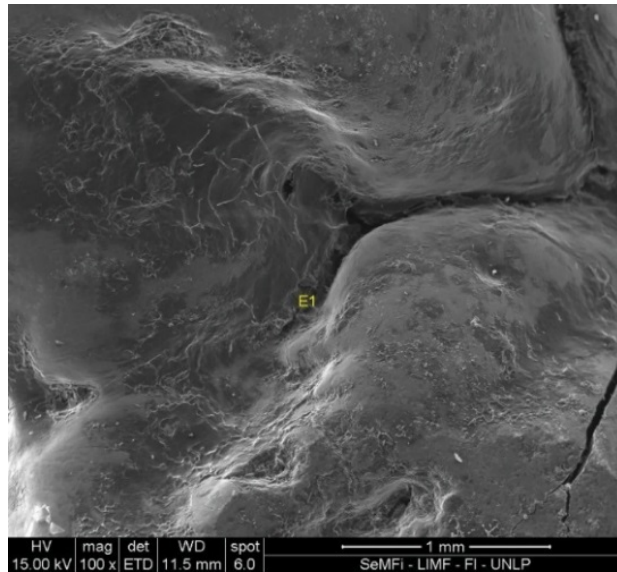
*Figura 125. Observación surco cariado .SEM: 100x*



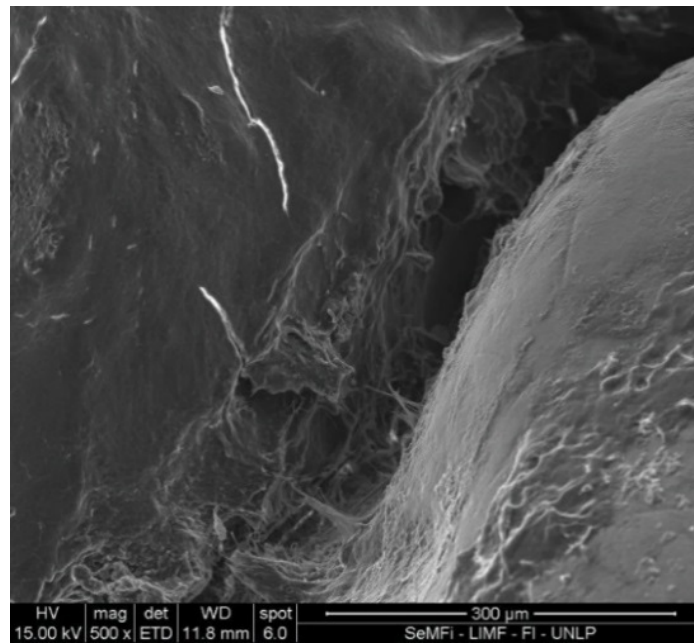
*Figura 126. Observación surco cariado a menor aumento SEM: (40x).*



*Figura 127. Observación surco cariado. SEM: 100x*

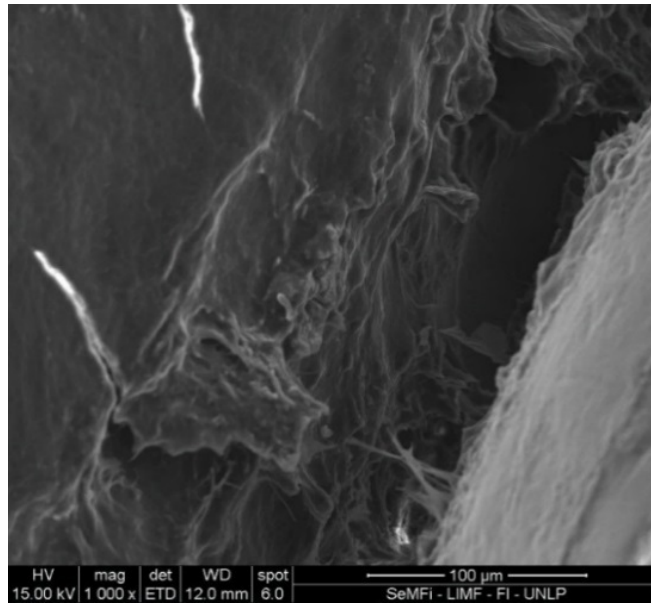


*Figura 128. Observación surco cariado, vestigios de biofilm.SEM: 100x (zona E1).*

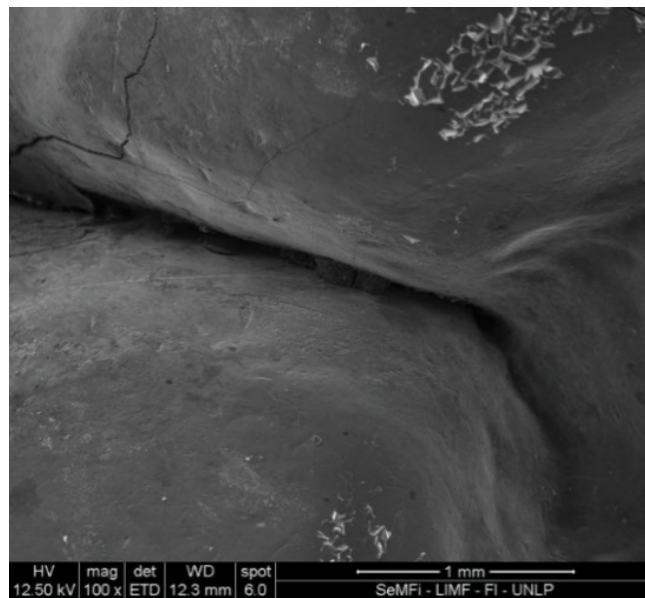


*Figura 129. Observación surco cariado, (zona E1) a mayor aumento.SEM: 500x*



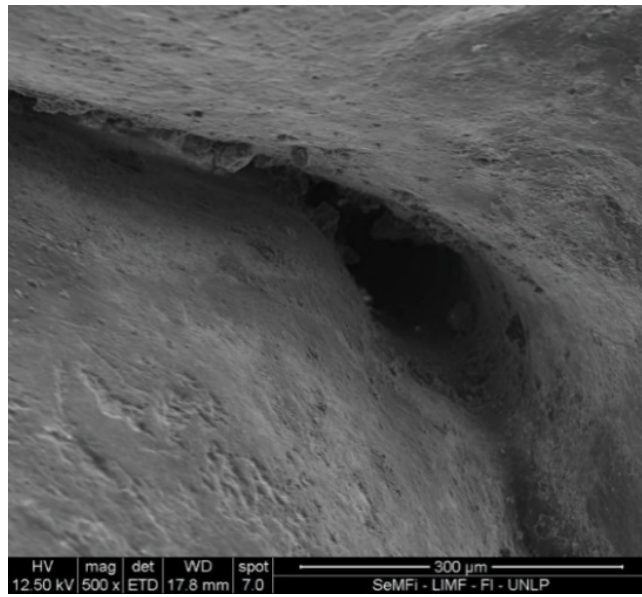


*Figura 130. Observación surco cariadoSEM: 1000x (zona E1)*

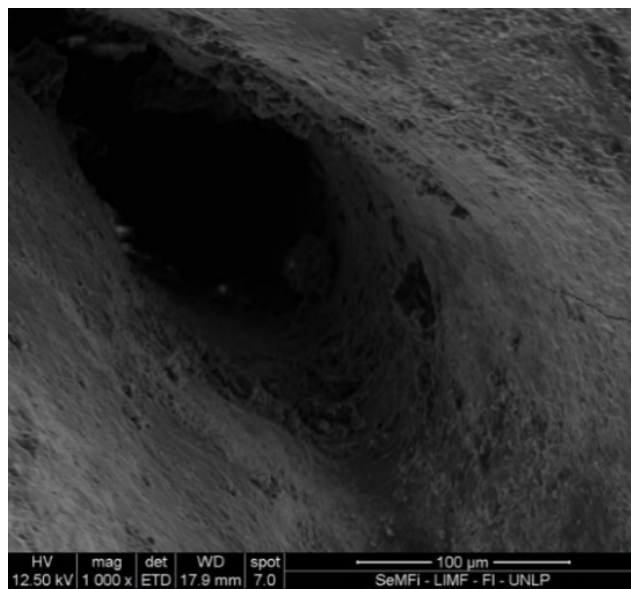


*Figura 131. Observación surco cariado.SEM: 100x*





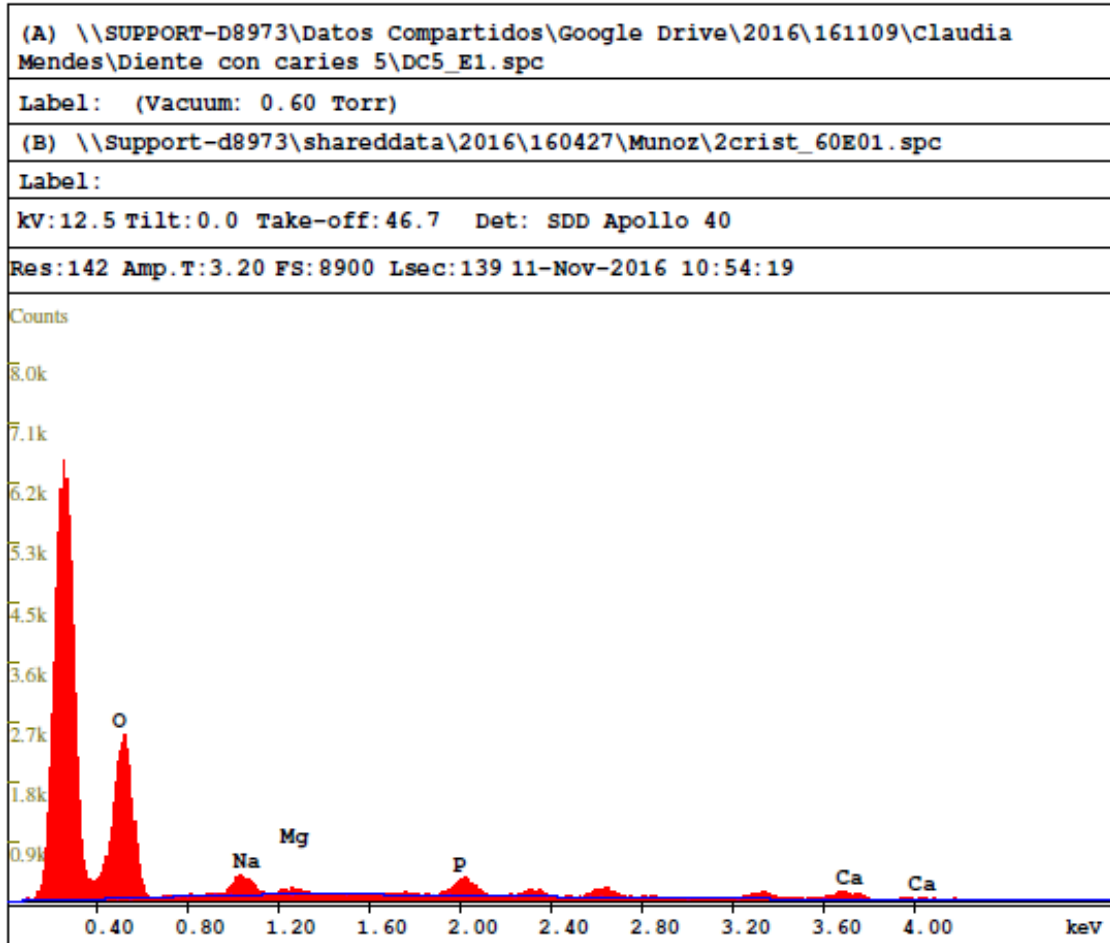
*Figura 132. Observación surco cariado.SEM: 500x.*



*Figura 133. Observación surco cariado.SEM: 1000x*

Cuantificación de los diferentes elementos químicos: los espectros se tomaron a 12,5 KeV, con 90'' de análisis y sin análisis de carbono.

Gráficos de surcos cariados



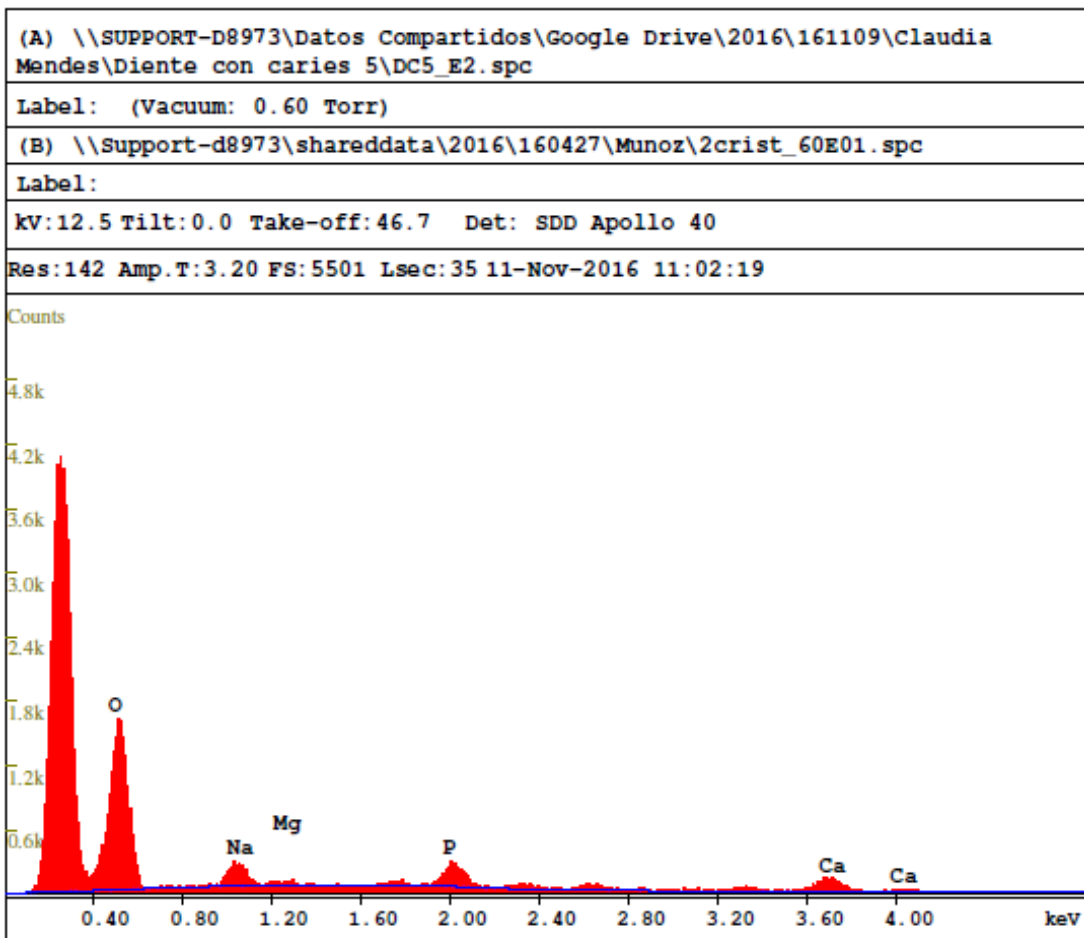
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	69.81	80.77	0.4331	1.0225	0.6066	1.0002
NaK	9.20	7.40	0.0539	0.9523	0.6150	1.0009
MgK	2.84	2.16	0.0193	0.9733	0.6981	1.0012
P K	9.44	5.64	0.0812	0.9327	0.9202	1.0018
CaK	8.72	4.03	0.0805	0.9313	0.9922	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	116.61	3.09	0.80	37.77
NaK	14.81	6.72	3.03	2.20
MgK	4.98	7.90	7.74	0.63
P K	15.15	7.59	3.07	2.00
CaK	7.74	3.88	4.30	1.99

Gráfico 16 – Cuantificación SEM 100x



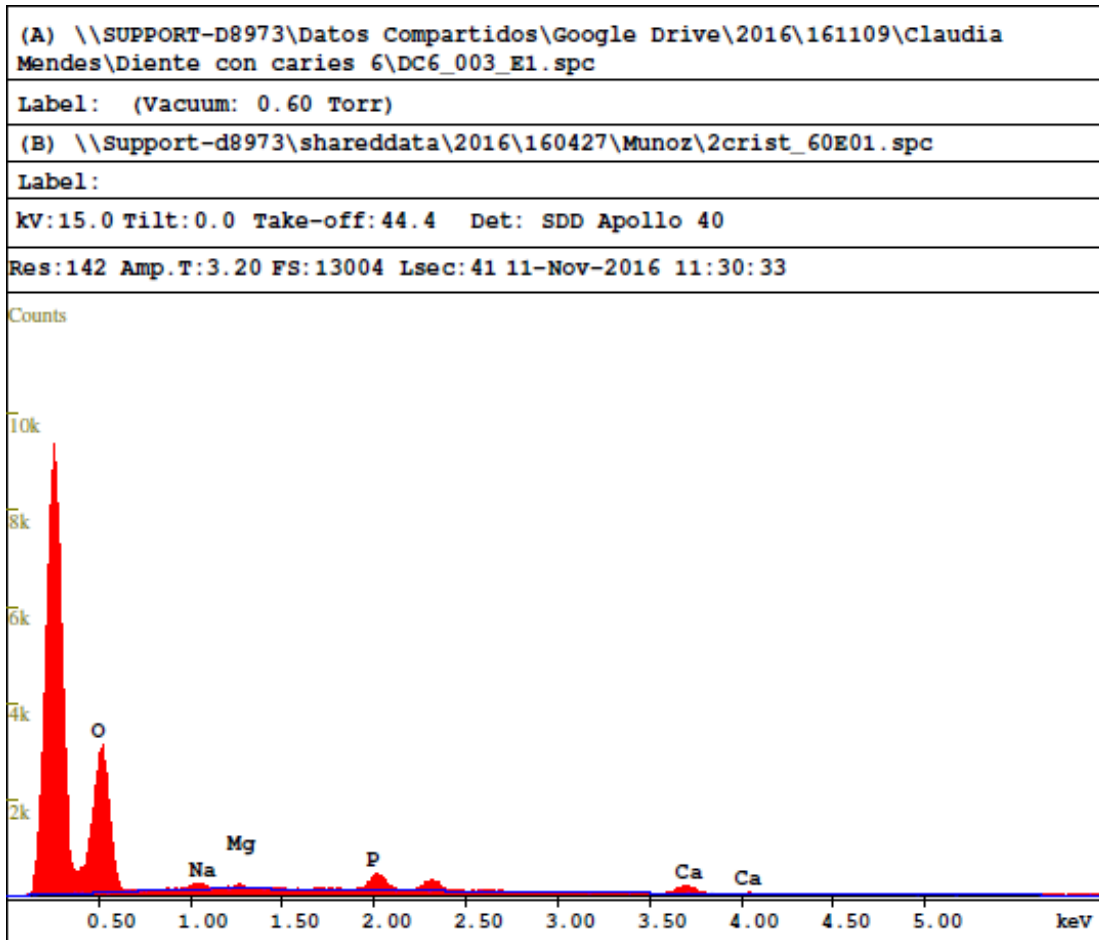
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	65.81	78.44	0.3611	1.0261	0.5346	1.0002
NaK	9.08	7.53	0.0533	0.9556	0.6136	1.0009
MgK	1.96	1.53	0.0134	0.9770	0.6976	1.0015
P K	10.54	6.49	0.0913	0.9364	0.9223	1.0026
CaK	12.62	6.00	0.1170	0.9350	0.9915	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	298.75	8.71	1.00	34.32
NaK	44.99	17.92	3.35	2.51
MgK	10.59	21.30	11.56	0.50
P K	52.38	21.07	3.12	2.49
CaK	34.54	8.68	3.50	3.98

Gráfico 17 – Cuantificación SEM 500x



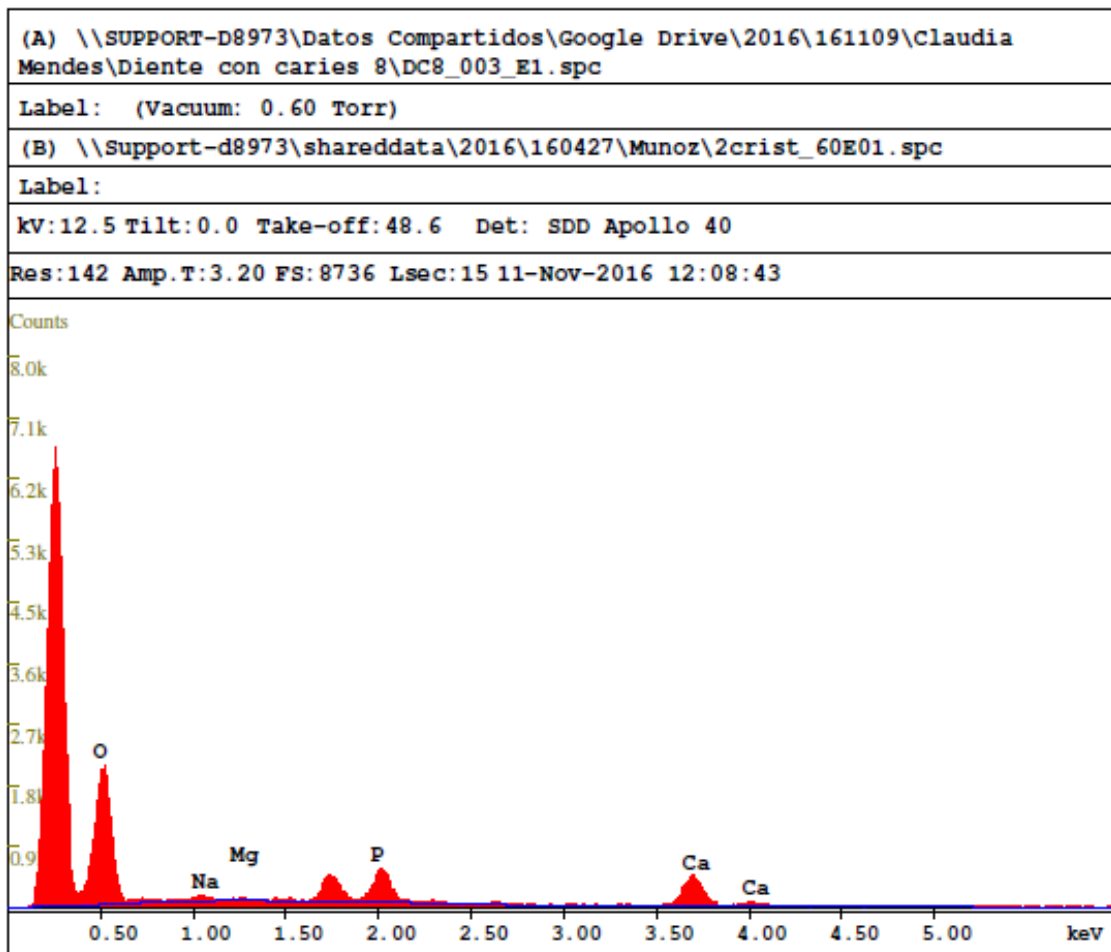
EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	78.25	87.42	0.4515	1.0155	0.5681	1.0001
NaK	3.70	2.88	0.0173	0.9478	0.4934	1.0009
MgK	1.65	1.21	0.0100	0.9708	0.6227	1.0014
P K	8.98	5.18	0.0751	0.9282	0.9001	1.0018
CaK	7.42	3.31	0.0687	0.9331	0.9917	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	530.09	15.06	0.69	35.21
NaK	22.36	33.37	6.55	0.67
MgK	12.31	39.36	12.03	0.31
P K	70.80	34.67	2.60	2.04
CaK	36.98	20.07	3.69	1.84

Gráfico 18 – Cuantificación SEM 100x



EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	61.52	77.86	0.2600	1.0311	0.4099	1.0001
NaK	1.70	1.50	0.0098	0.9601	0.5971	1.0010
MgK	0.65	0.54	0.0046	0.9823	0.7244	1.0020
P K	12.39	8.10	0.1099	0.9417	0.9369	1.0051
CaK	23.75	12.00	0.2216	0.9403	0.9923	1.0000
Total	100.00	100.00				

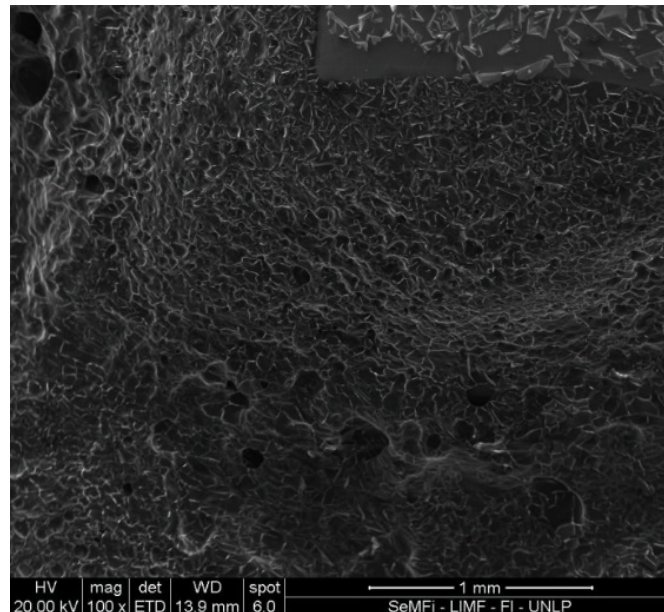
  

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	910.37	26.64	0.87	34.18
NaK	34.73	61.37	9.23	0.57
MgK	15.41	69.20	20.57	0.22
P K	265.44	59.28	1.89	4.48
CaK	275.23	25.20	1.68	10.92

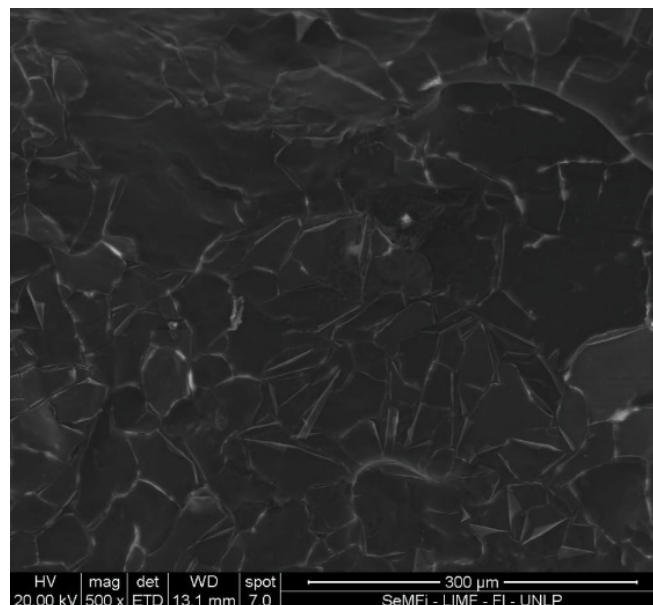
Gráfico 19 – Cuantificación SEM 1000x

Espectrometrías con niveles inferiores de calcio y fósforo, determinantes de la desmineralización.

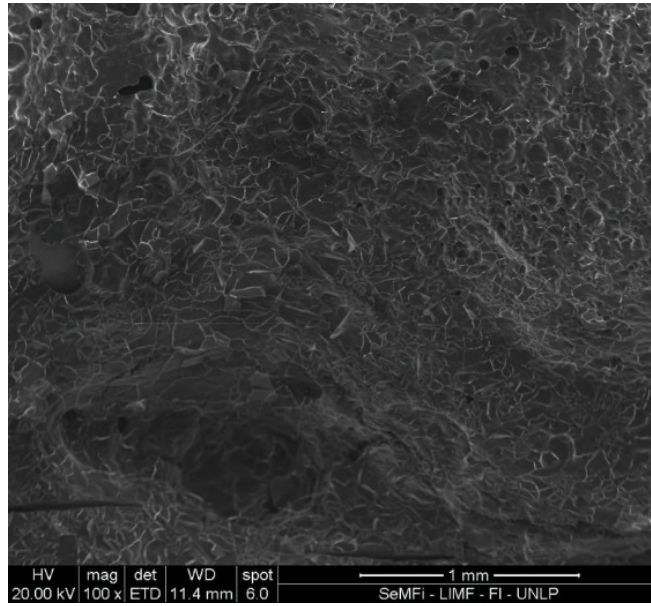
- Observación al Microscopio Electrónico de Barrido 40 (UE) con una aplicación de barniz y observadas a los 7 días. (Figuras 134 a 143)



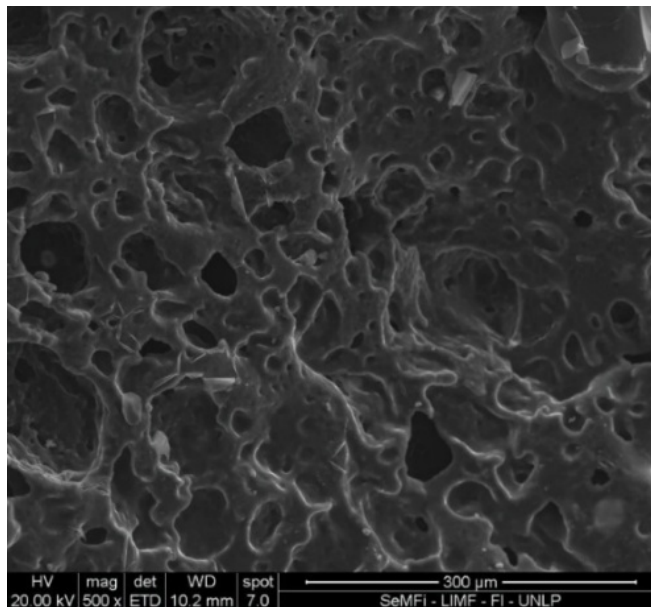
*Figura 134. Surco cariado con una aplicación de barniz. SEM: 100x.*



*Figura 135. Surco cariado con una aplicación de barniz.  
Desprendimiento de capa de carbono. SEM: 500x*

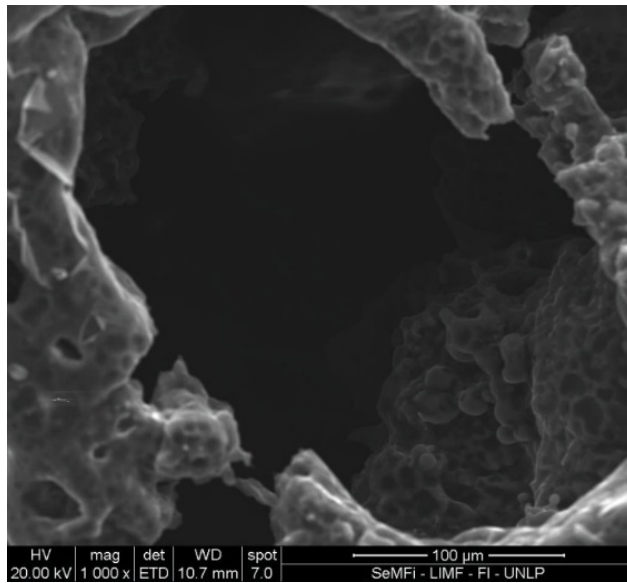


*Figura 136. Surco cariado, una aplicación con barniz. SEM: 100x*

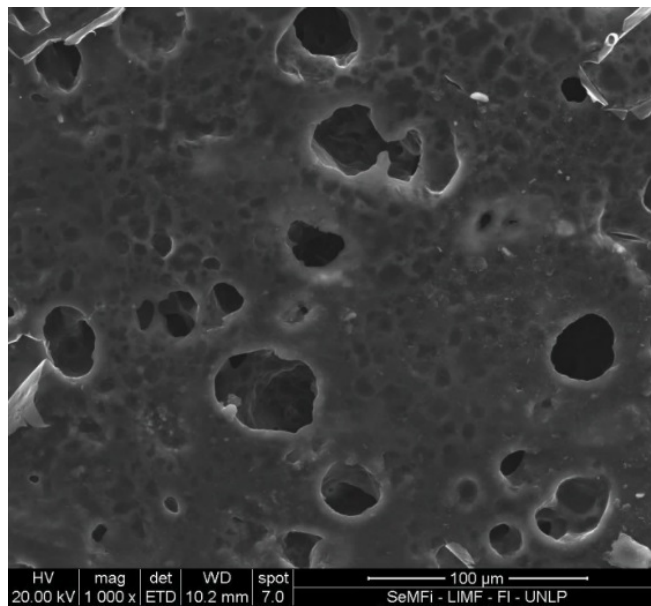


*Figura 137. Surco cariado con una aplicación barniz. SEM: 500x*  
*Microporos en superficie*



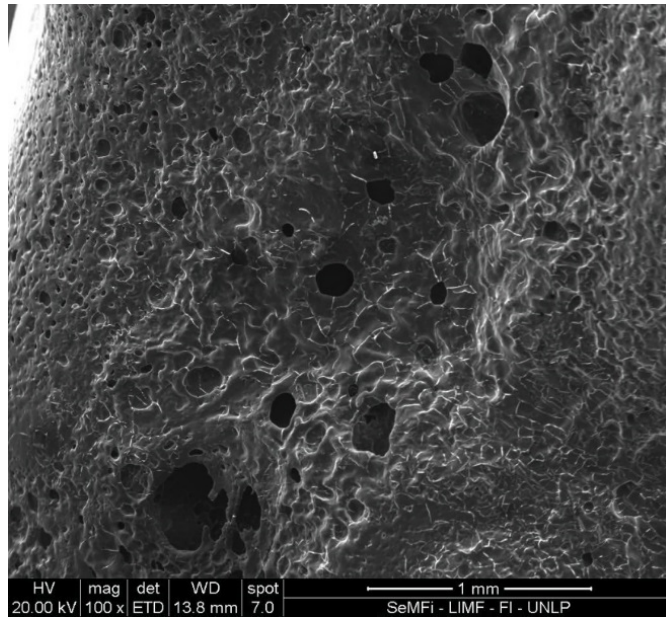


*Figura 138. Surco cariado con una aplicación. SEM: 1000x  
Presencia de barniz y microporos.*

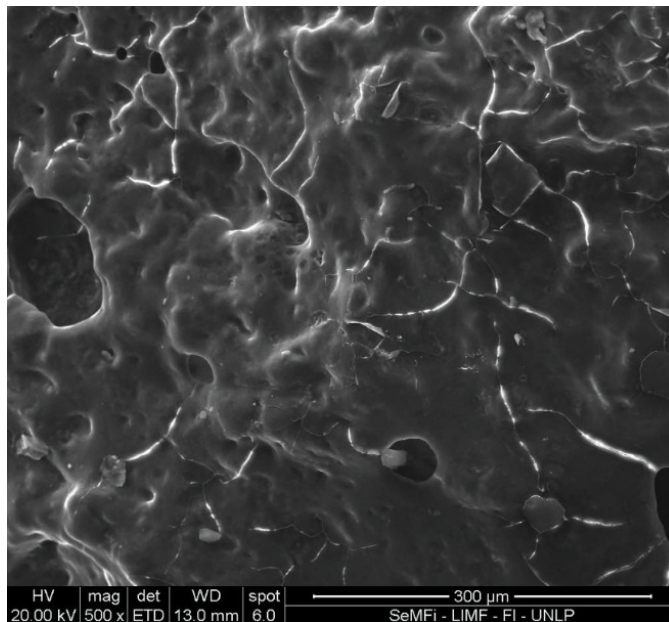


*Figura 139. Surco cariado, una aplicación con barniz. SEM:1000x*

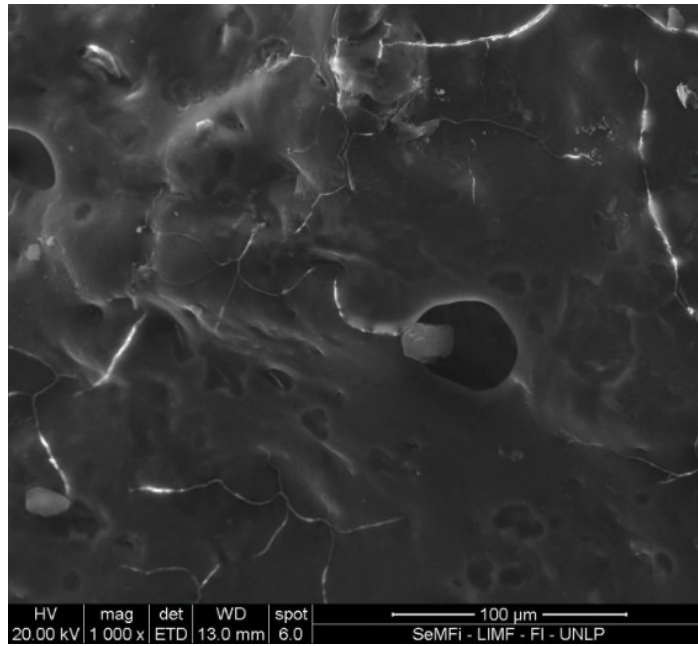




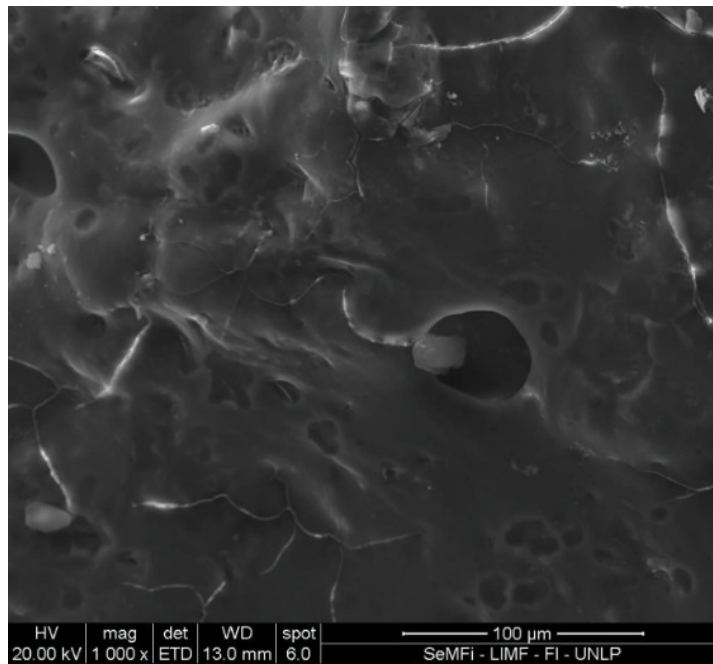
*Figura 140. Surco cariado con una aplicación barniz. SEM: 100x*



*Figura 141. Surco cariado, con una aplicación de barniz: SEM: 500x*  
*Esparcimiento de capa de barniz*



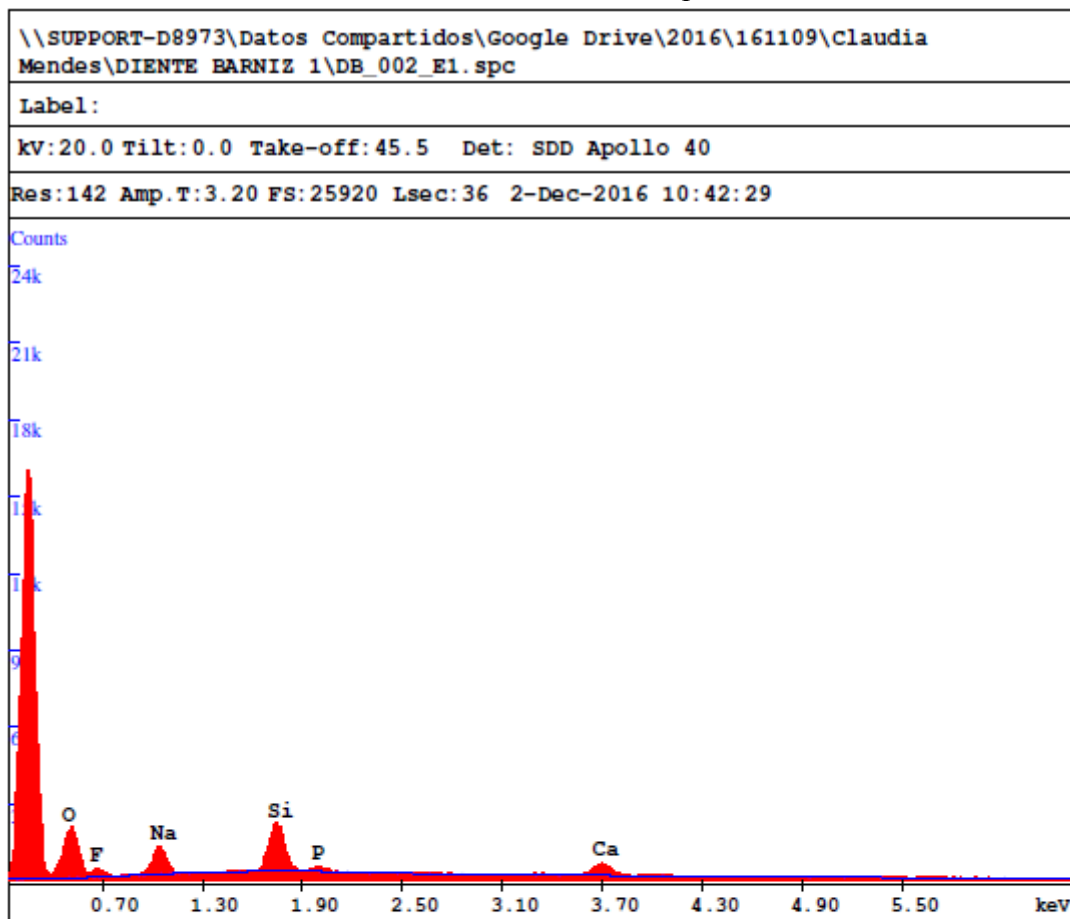
*Figura 142. Surco cariado, con una aplicación de barniz. SEM: 1000x*



*Figura 143. Surco cariado con una aplicación de barniz. SEM:1000X*

Cuantificación de los diferentes elementos químicos: Todos los espectros se tomaron a 12,5 KeV, con 90'' de análisis y sin análisis de carbono.

Gráficos de surcos cariaados con una Aplicación de barniz



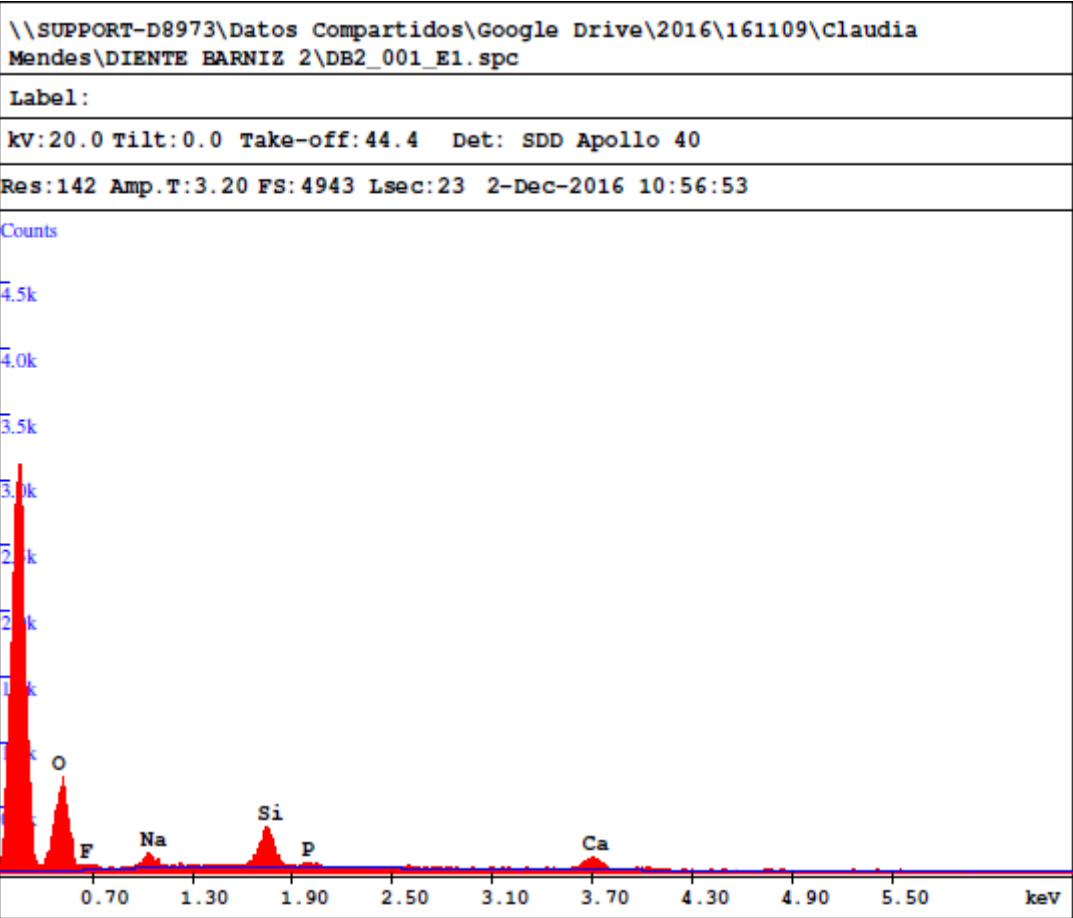
EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
Element Normalized  
SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	40.99	52.46	0.1439	1.0335	0.3394	1.0009
F K	11.32	12.20	0.0233	0.9713	0.2121	1.0011
NaK	15.55	13.85	0.0645	0.9673	0.4280	1.0024
SiK	21.78	15.88	0.1585	0.9906	0.7333	1.0019
P K	2.15	1.42	0.0138	0.9538	0.6705	1.0017
CaK	8.20	4.19	0.0750	0.9613	0.9515	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 1\DB\_002\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	385.36	23.52	0.90	16.38
F K	69.32	39.47	2.93	1.76
NaK	216.00	62.24	1.42	3.47
SiK	465.27	111.79	0.94	4.16
P K	37.63	110.37	7.12	0.34
CaK	133.29	71.77	2.08	1.86

Gráfico 20 – Cuantificación SEM 100x



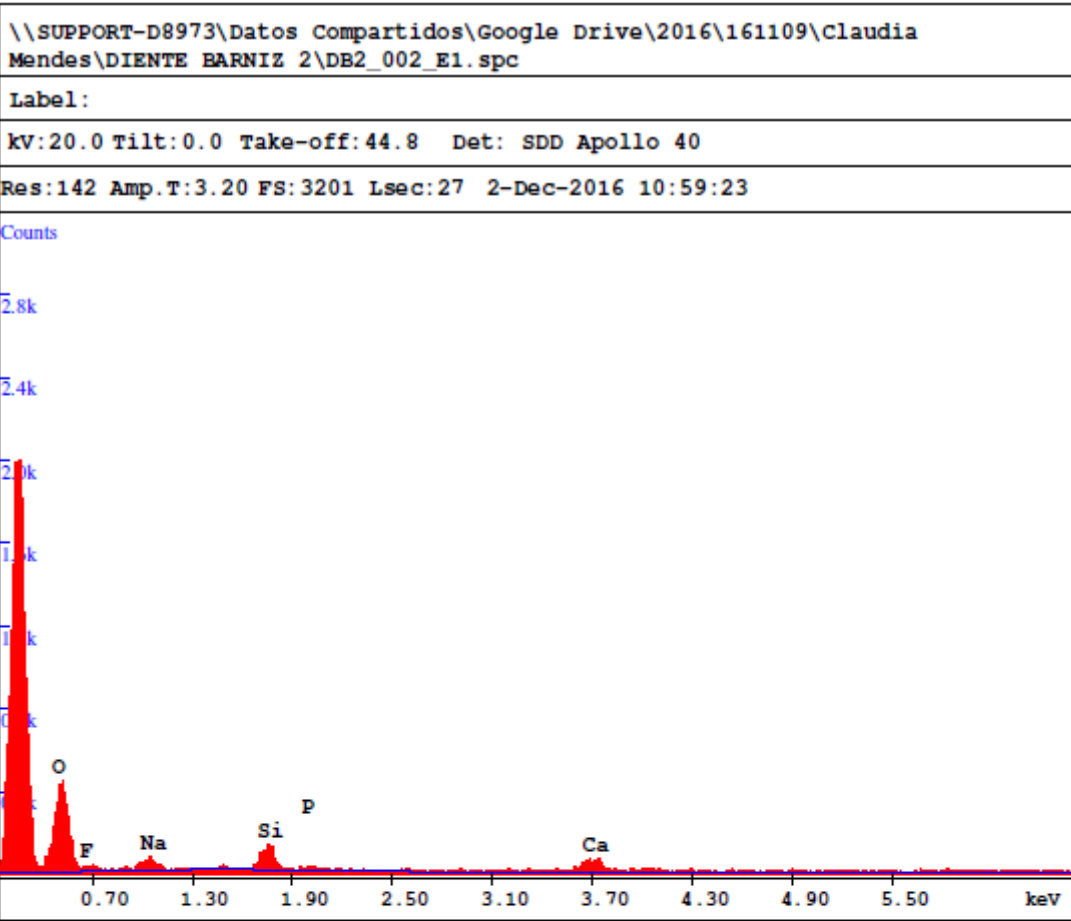
EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	58.09	69.05	0.2354	1.0233	0.3958	1.0006
F K	9.65	9.66	0.0162	0.9618	0.1742	1.0006
NaK	7.31	6.05	0.0264	0.9578	0.3770	1.0017
SiK	15.62	10.57	0.1147	0.9809	0.7474	1.0018
P K	1.71	1.05	0.0116	0.9438	0.7189	1.0018
CaK	7.63	3.62	0.0703	0.9514	0.9690	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 2\DB2\_001\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	184.28	6.57	1.56	28.04
F K	14.06	10.55	8.63	1.33
NaK	25.99	15.28	5.92	1.70
SiK	99.07	22.89	2.49	4.33
P K	9.33	22.01	16.01	0.42
CaK	36.83	13.06	4.41	2.82

Gráfico 21 – Cuantificación SEM 100x



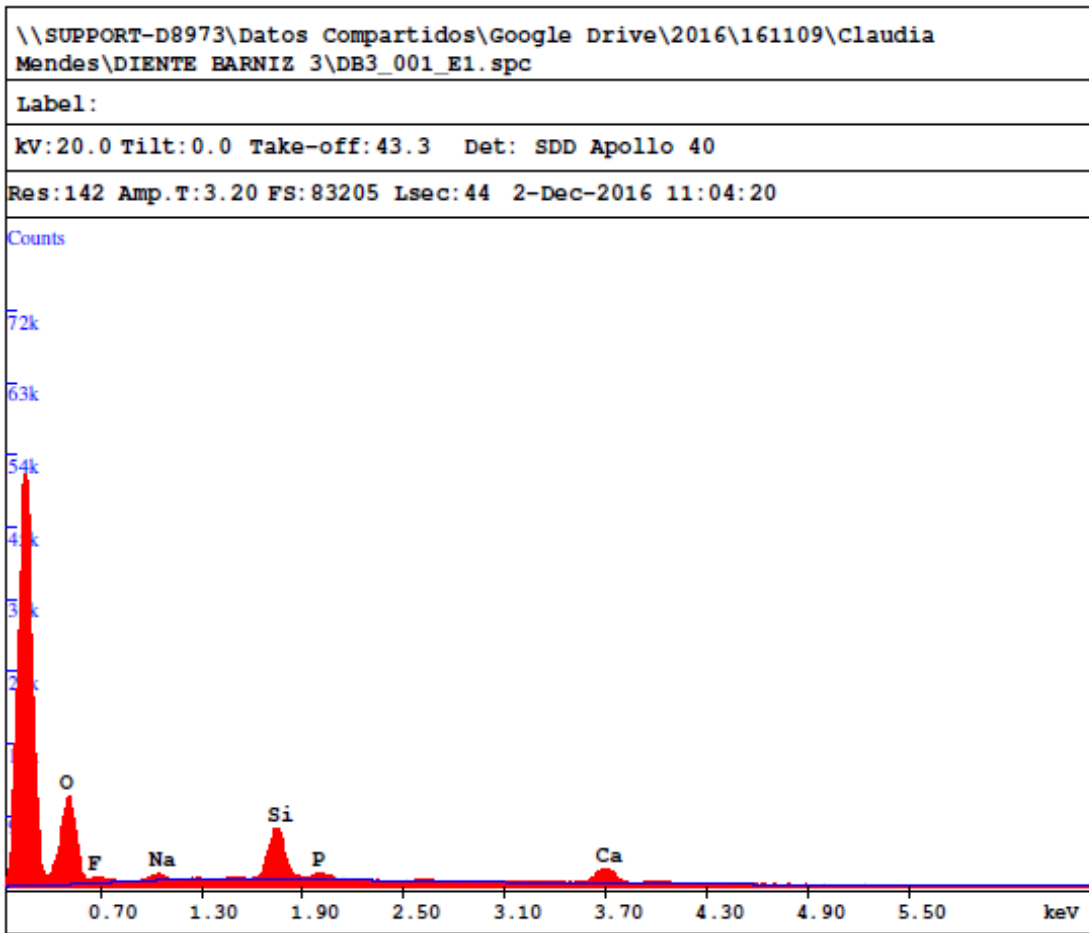
EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	61.88	72.31	0.2557	1.0220	0.4040	1.0005
F K	9.79	9.63	0.0158	0.9605	0.1674	1.0005
NaK	7.46	6.06	0.0261	0.9566	0.3650	1.0012
SiK	10.21	6.79	0.0738	0.9797	0.7367	1.0021
P K	1.68	1.01	0.0119	0.9425	0.7513	1.0023
CaK	8.98	4.19	0.0835	0.9501	0.9789	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 2\DB2\_002\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	105.00	3.85	1.93	27.30
F K	7.18	6.13	11.69	1.17
NaK	13.42	7.51	7.57	1.79
SiK	33.38	9.11	4.10	3.67
P K	5.01	7.33	16.87	0.68
CaK	22.89	6.60	5.00	3.47

Gráfico 22 – Cuantificación SEM 500x



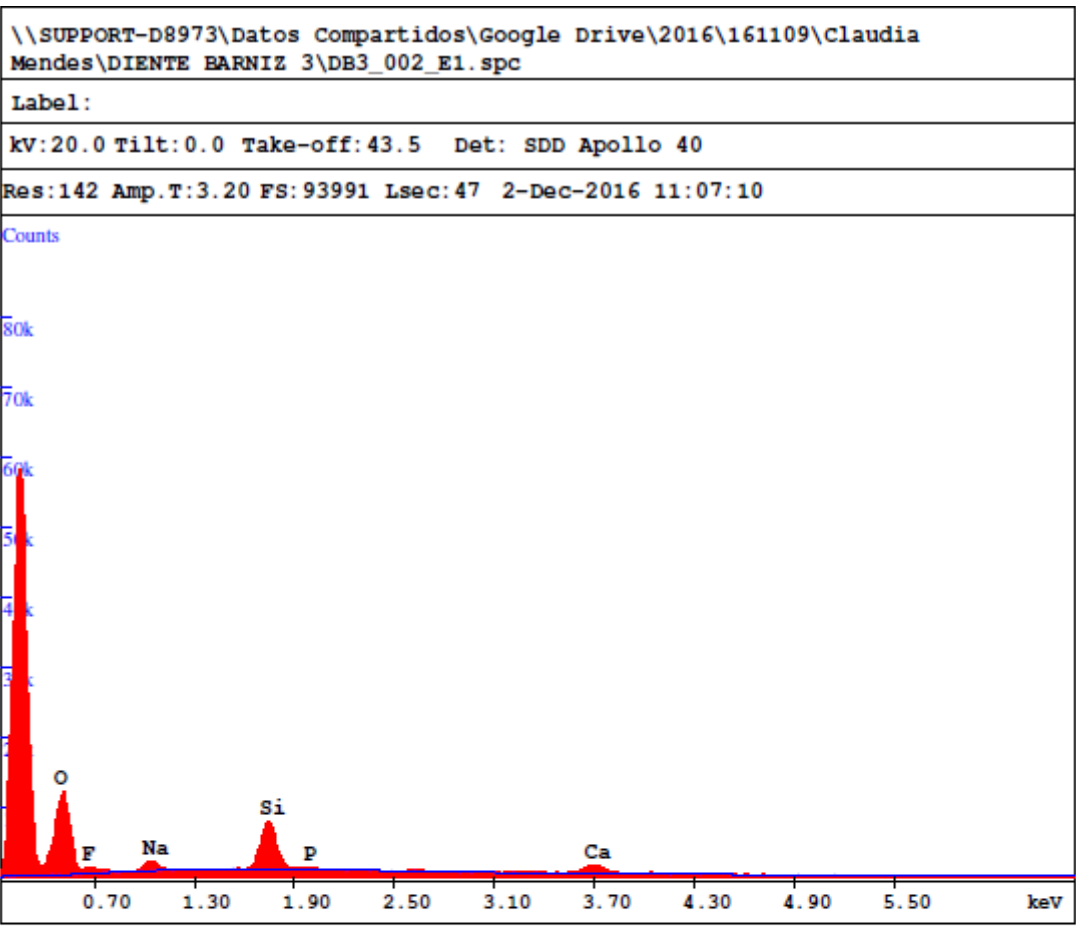
EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	57.51	69.27	0.2113	1.0231	0.3590	1.0005
F K	9.15	9.28	0.0149	0.9615	0.1694	1.0005
NaK	3.59	3.01	0.0128	0.9576	0.3702	1.0021
SiK	18.55	12.73	0.1395	0.9807	0.7652	1.0022
P K	2.32	1.44	0.0155	0.9438	0.7082	1.0020
CaK	8.88	4.27	0.0815	0.9514	0.9644	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 3\DB3\_001\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	1685.70	71.84	0.38	23.47
F K	132.42	122.09	2.19	1.08
NaK	128.28	179.90	2.58	0.71
SiK	1236.09	282.27	0.51	4.38
P K	127.90	281.59	3.08	0.45
CaK	438.45	153.36	0.93	2.86

Gráfico 23 – Cuantificación SEM 1000x



EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	55.28	66.16	0.2286	1.0240	0.4036	1.0006
F K	11.25	11.34	0.0195	0.9625	0.1804	1.0007
NaK	6.31	5.26	0.0230	0.9585	0.3790	1.0021
SiK	20.21	13.78	0.1500	0.9816	0.7551	1.0012
P K	1.03	0.64	0.0068	0.9445	0.6905	1.0013
CaK	5.91	2.82	0.0541	0.9521	0.9620	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 3\DB3\_002\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	1699.50	71.12	0.37	23.90
F K	161.60	120.52	1.80	1.34
NaK	215.36	183.50	1.62	1.17
SiK	1236.94	277.48	0.50	4.46
P K	51.81	265.26	6.74	0.20
CaK	270.94	160.95	1.30	1.68

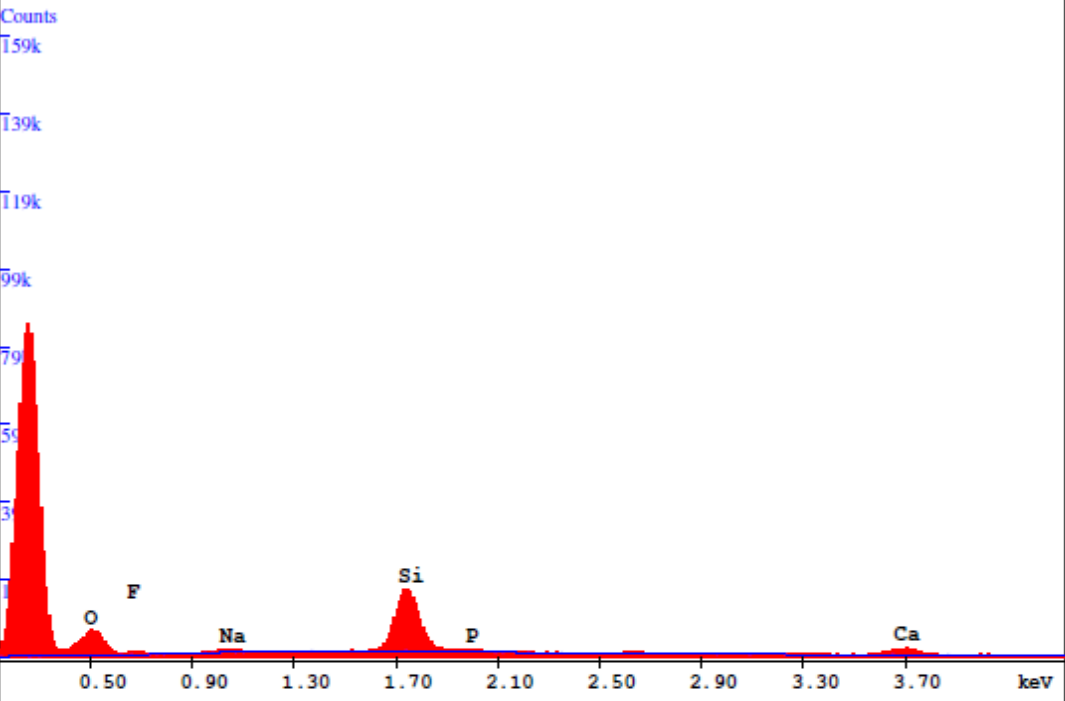
Gráfico 24 – Cuantificación SEM 100x

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 3\DB3\_004\_E1.spc

Label:

kV:20.0 Tilt:0.0 Take-off:43.5 Det: SDD Apollo 40

Res:142 Amp.T:3.20 FS:163924 Lsec:52 2-Dec-2016 11:15:03



EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

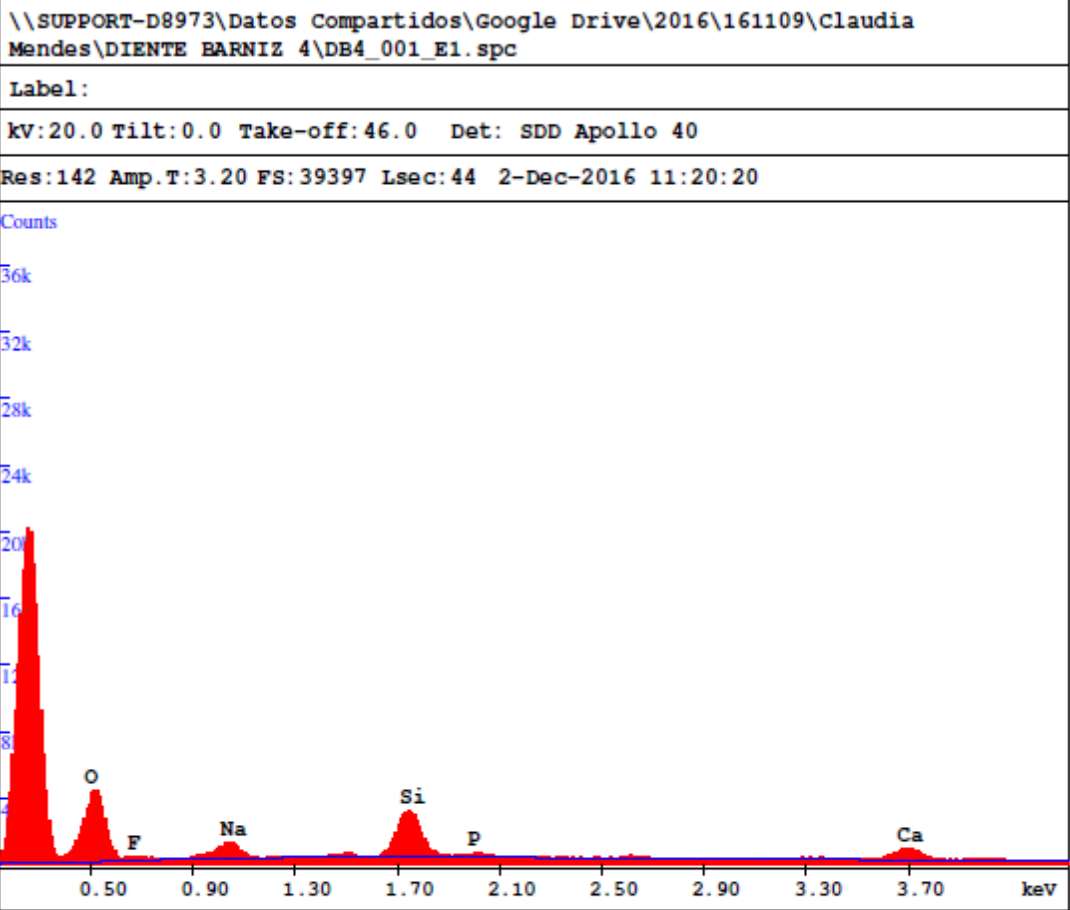
Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	39.10	52.25	0.1173	1.0306	0.2910	1.0007
F K	7.12	8.01	0.0140	0.9686	0.2034	1.0011
NaK	3.64	3.39	0.0155	0.9645	0.4388	1.0049
SiK	40.53	30.86	0.3278	0.9876	0.8175	1.0017
P K	2.28	1.58	0.0131	0.9515	0.6009	1.0013
CaK	7.33	3.91	0.0651	0.9589	0.9259	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 3\DB3\_004\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	819.61	81.15	0.53	10.10
F K	109.17	137.59	2.47	0.79
NaK	136.34	220.33	2.42	0.62
SiK	2539.82	330.01	0.31	7.70
P K	94.23	300.17	3.85	0.31
CaK	306.32	168.33	1.14	1.82

Gráfico 25 – Cuantificación SEM 500x





EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	52.38	64.29	0.1975	1.0262	0.3673	1.0006
F K	7.79	8.05	0.0140	0.9645	0.1862	1.0008
NaK	10.09	8.62	0.0396	0.9605	0.4080	1.0022
SiK	20.13	14.07	0.1495	0.9836	0.7539	1.0018
P K	1.73	1.10	0.0114	0.9467	0.6952	1.0017
CaK	7.88	3.86	0.0722	0.9543	0.9602	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 4\DB4\_001\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	650.15	32.98	0.62	19.71
F K	51.05	56.01	3.74	0.91
NaK	162.77	75.95	1.63	2.14
SiK	537.87	122.08	0.78	4.41
P K	38.12	119.45	6.53	0.32
CaK	157.16	82.67	1.71	1.90

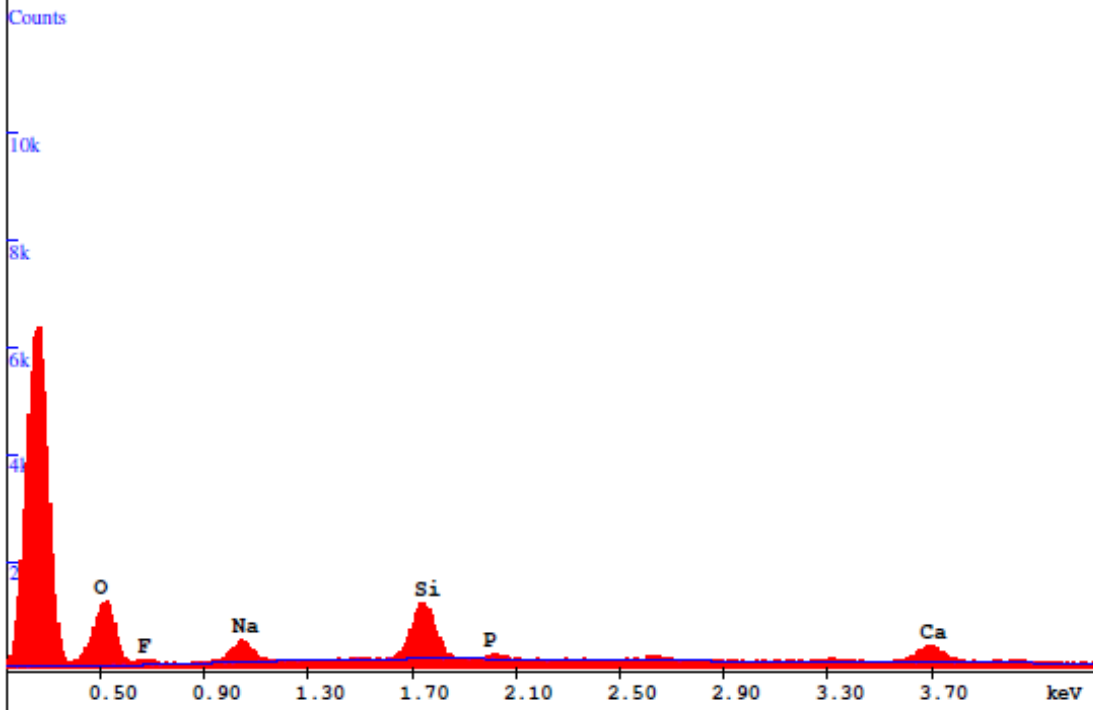
Gráfico 26 – Cuantificación SEM 1000x

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 4\DB4\_002\_E1.spc

Label:

kV:20.0 Tilt:0.0 Take-off:45.5 Det: SDD Apollo 40

Res:142 Amp.T:3.20 FS:13092 Lsec:45 2-Dec-2016 11:25:05



**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**

Element Normalized  
SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	48.04	60.65	0.1618	1.0288	0.3271	1.0006
F K	7.16	7.61	0.0131	0.9669	0.1893	1.0009
NaK	11.23	9.86	0.0451	0.9629	0.4158	1.0024
SiK	21.61	15.54	0.1606	0.9861	0.7521	1.0021
P K	2.06	1.34	0.0134	0.9495	0.6836	1.0021
CaK	9.90	4.99	0.0906	0.9570	0.9558	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 4\DB4\_002\_E1.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	191.79	8.73	1.12	21.96
F K	17.25	14.48	5.86	1.19
NaK	66.77	23.37	2.37	2.86
SiK	208.66	45.30	1.23	4.61
P K	16.19	43.27	9.31	0.37
CaK	71.26	31.62	2.42	2.25

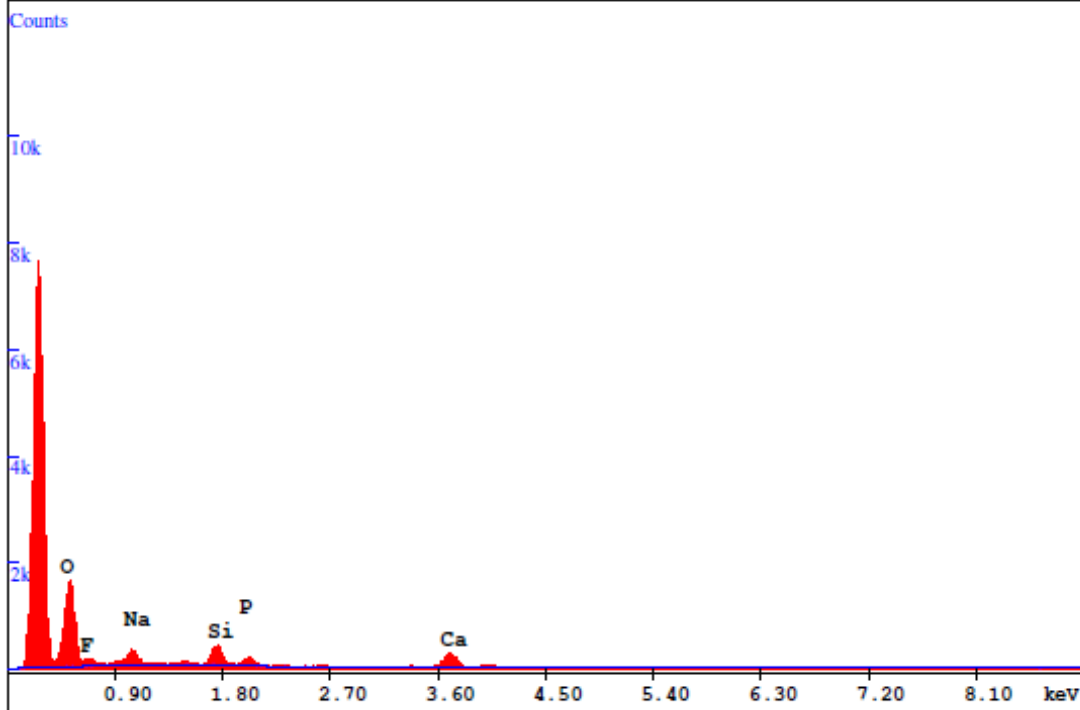
Gráfico 27 – Cuantificación SEM 100x

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 1\DB\_001\_E2.spc

Label:

kV:20.0 Tilt:0.2 Take-off:44.7 Det: SDD Apollo 40

Res:142 Amp.T:3.20 FS:13075 Lsec:73 2-Dec-2016 10:29:19



**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**

Element Normalized  
SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	57.55	67.99	0.2358	1.0254	0.3994	1.0006
F K	12.32	12.25	0.0209	0.9638	0.1758	1.0006
NaK	9.83	8.08	0.0347	0.9598	0.3676	1.0011
SiK	8.16	5.49	0.0583	0.9830	0.7243	1.0028
P K	3.28	2.00	0.0235	0.9457	0.7573	1.0023
CaK	8.87	4.18	0.0826	0.9534	0.9768	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161109\Claudia Mendes\DIENTE BARNIZ 1\DB\_001\_E2.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	157.30	5.87	0.96	26.78
F K	15.47	9.46	4.43	1.64
NaK	29.04	11.16	2.88	2.60
SiK	42.80	13.67	2.28	3.13
P K	16.07	11.69	4.56	1.37
CaK	36.75	7.51	2.29	4.89

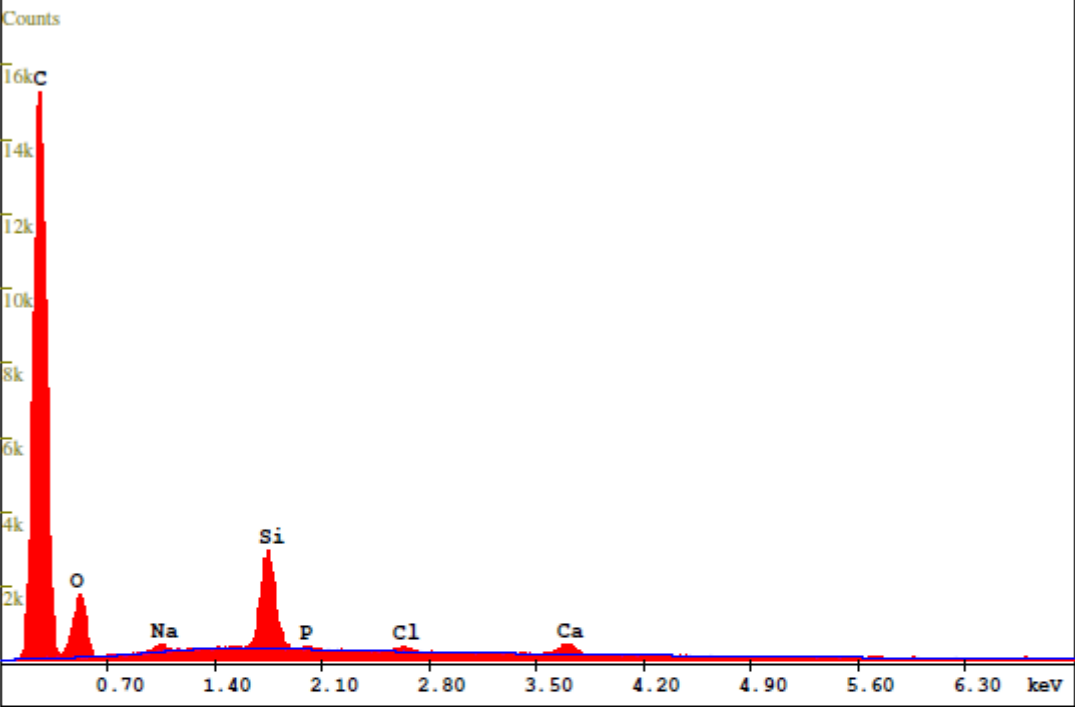
Gráfico 28 – Cuantificación SEM 500x

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161213\Claudia mendez\Diente (1 Aplicacion)\Diente1\_El.spc

Label:

kV:20.0 Tilt:0.0 Take-off:43.1 Det: SDD Apollo 40

Res:142 Amp.T:3.20 FS:17756 Lsec:101 13-Dec-2016 10:51:38



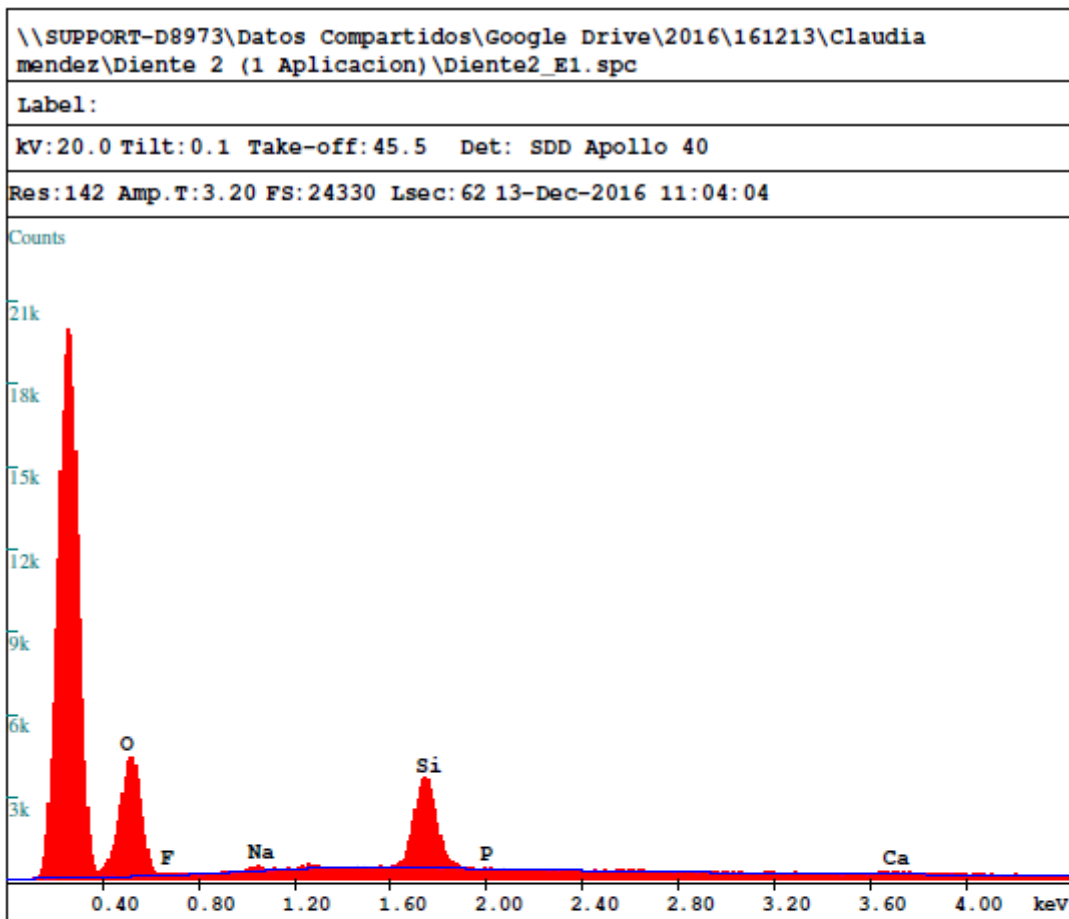
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
C K	76.98	83.88	0.3836	1.0072	0.4947	1.0001
O K	15.65	12.80	0.0267	0.9905	0.1723	1.0001
NaK	0.55	0.31	0.0027	0.9273	0.5323	1.0009
SiK	5.42	2.52	0.0470	0.9501	0.9137	1.0005
P K	0.12	0.05	0.0010	0.9111	0.9138	1.0007
ClK	0.33	0.12	0.0029	0.8889	0.9895	1.0014
CaK	0.96	0.31	0.0090	0.9192	1.0213	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161213\Claudia mendez\Diente (1 Aplicacion)\Diente1\_El.spc

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
C K	1003.84	5.24	0.31	191.52
O K	115.68	7.17	0.98	16.13
NaK	14.73	21.10	5.08	0.70
SiK	226.58	35.46	0.76	6.39
P K	4.49	32.84	18.51	0.14
ClK	11.36	28.67	7.24	0.40
CaK	26.33	21.73	3.15	1.21

Gráfico 29 – Cuantificación SEM 1000x



EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
Element Normalized  
SEC Table : Default

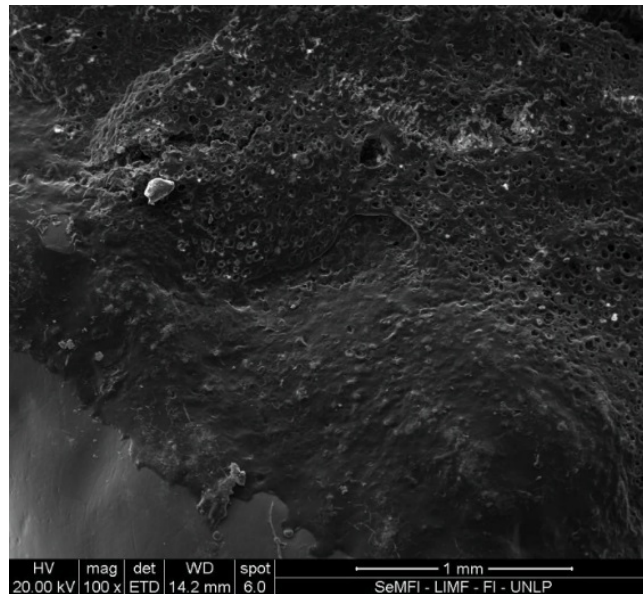
Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	62.57	73.95	0.2875	1.0169	0.4516	1.0004
F K	2.84	2.82	0.0047	0.9558	0.1732	1.0007
NaK	1.95	1.60	0.0076	0.9518	0.4110	1.0034
SiK	30.92	20.81	0.2441	0.9748	0.8098	1.0002
P K	0.00	0.00	0.0000	0.9379	0.6586	1.0004
CaK	1.73	0.81	0.0155	0.9455	0.9519	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161213\Claudia mendez\Diente 2 (1 Aplicacion)\Diente2\_E1.spc

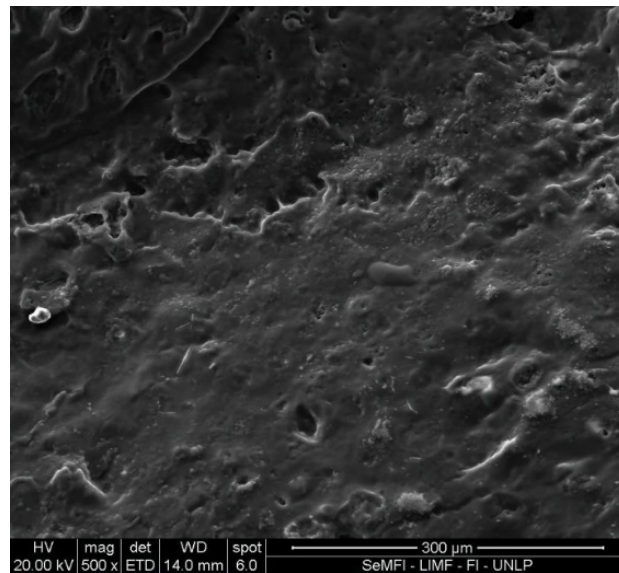
Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	489.43	15.15	0.59	32.31
F K	8.87	25.44	11.03	0.35
NaK	16.26	46.38	8.14	0.35
SiK	455.56	79.05	0.69	5.76
P K	0.00	70.21	0.00	0.00
CaK	17.56	40.22	7.14	0.44

Gráfico 30 – Cuantificación SEM 1000x

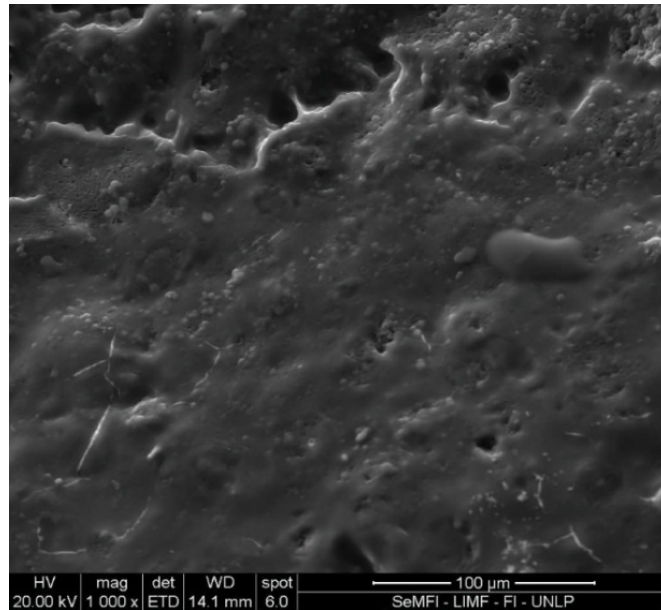
- Observación al Microscopio Electrónico de Barrido 40 (UE) con dos aplicaciones de barniz y observados los 15 días. (Figuras 144 a 147)



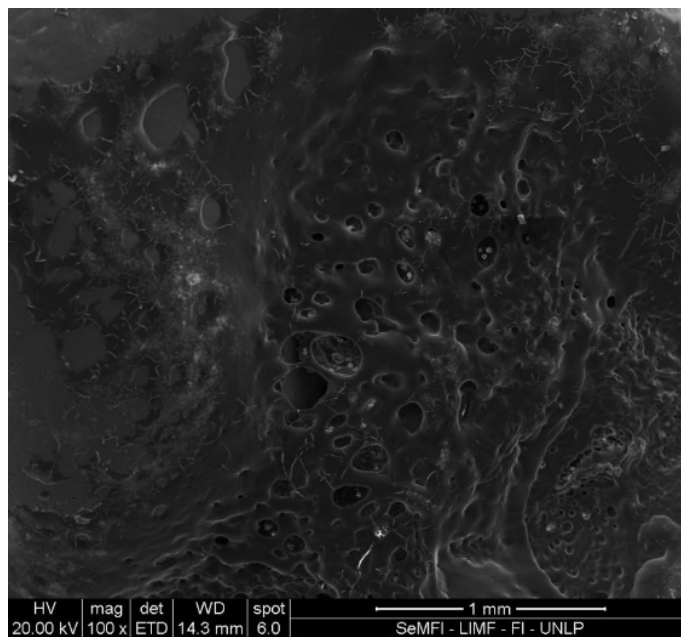
*Figura 144. Surco cariado con barniz, 2(dos) aplicaciones. SEM:100x*



*Figura 145. Surco cariado con barniz, 2(dos) aplicaciones.  
Esparcimiento de barniz. SEM: 500x*



*Figura 146. Surco cariado Diente con barniz, 2(dos) aplicaciones.SEM: 1000x*



*Figura 147. Surco cariado2 (dos) aplicaciones de barniz. SEM: 100x*

Cuantificación de los diferentes elementos químicos: Todos los espectros se tomaron a 12,5 KeV, con 90'' de análisis y sin análisis de carbono.

Gráficos de surcos cariaados con dos aplicaciones de barniz

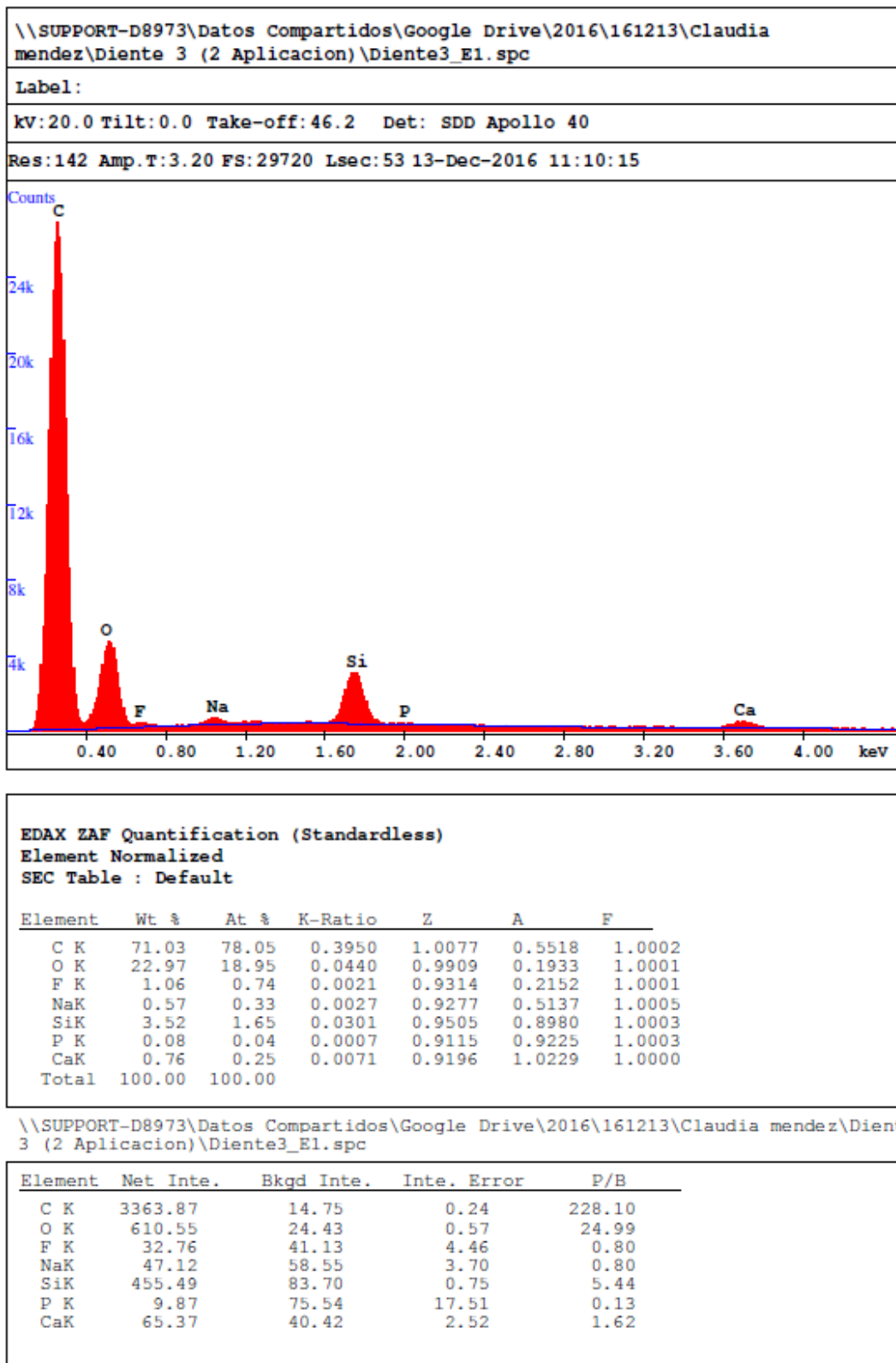


Gráfico 31 – Cuantificación SEM 1000x

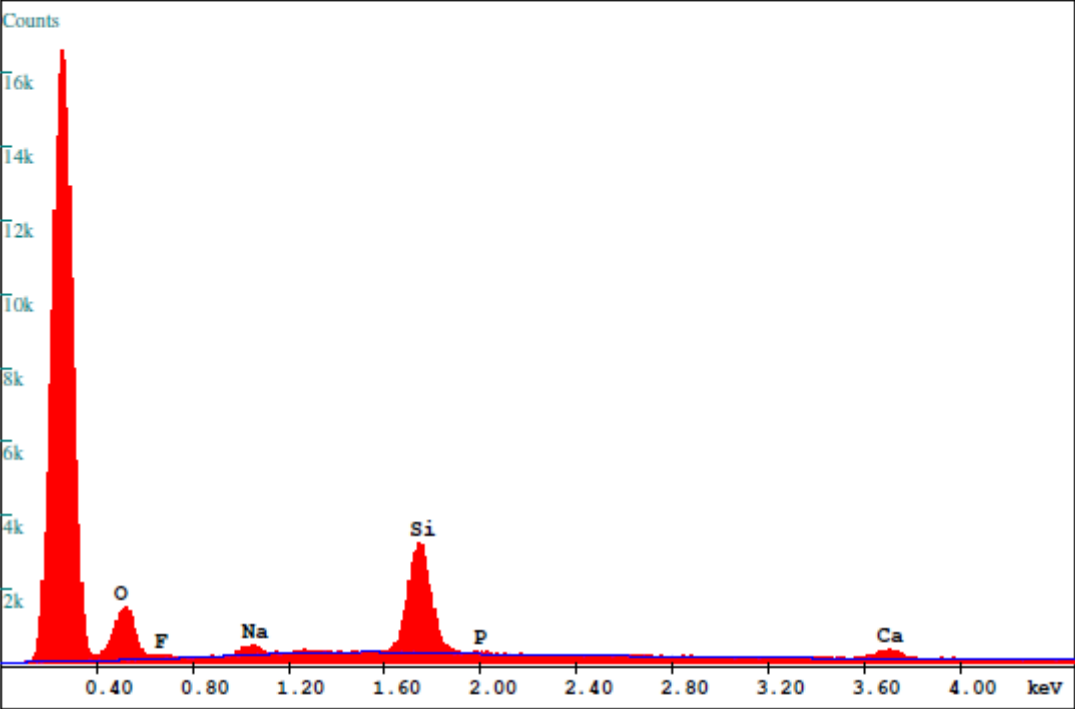


\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161213\Claudia mendez\Diente 3 (2 Aplicacion)\Diente3\_E2\_Poro.spc

Label:

kV:20.0 Tilt:0.0 Take-off:45.5 Det: SDD Apollo 40

Res:142 Amp.T:3.20 FS:17894 Lsec:36 13-Dec-2016 11:13:30



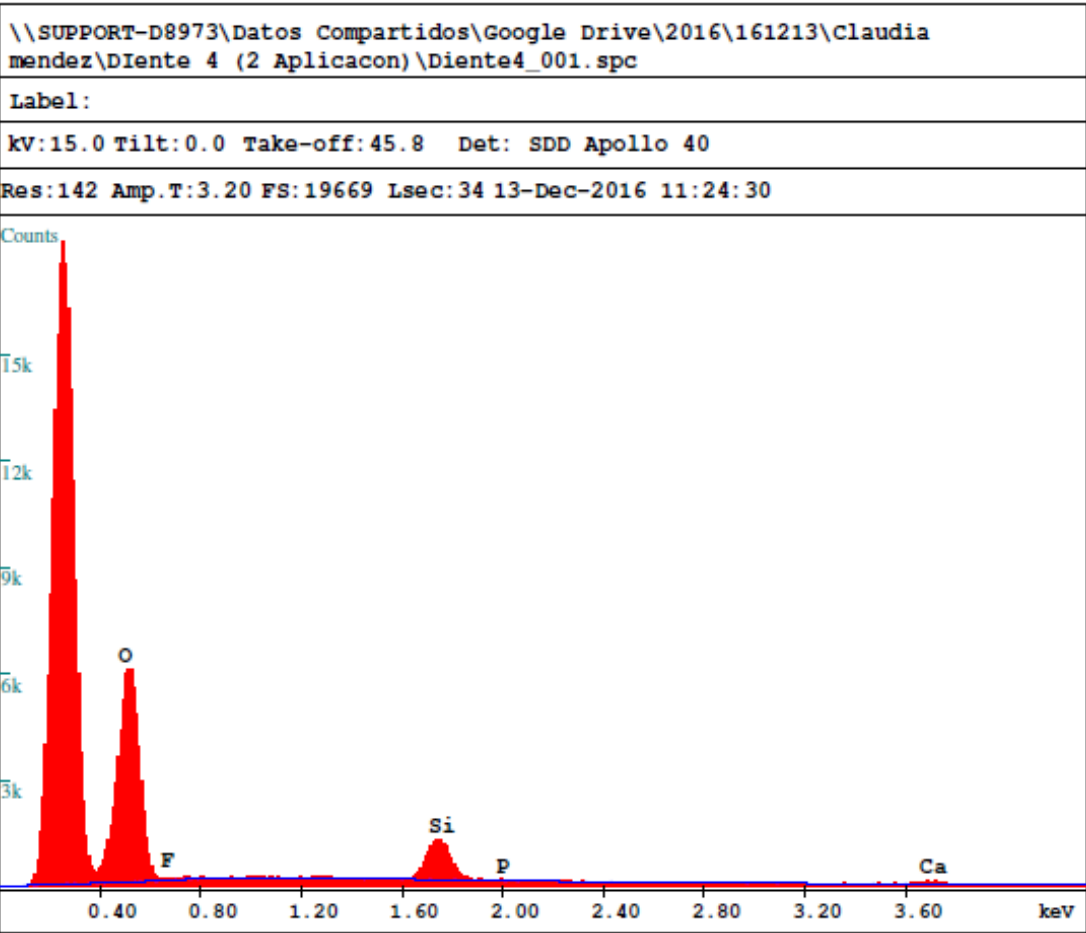
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	42.48	55.73	0.1389	1.0281	0.3177	1.0007
F K	5.23	5.77	0.0103	0.9663	0.2035	1.0011
NaK	4.66	4.26	0.0204	0.9622	0.4522	1.0048
SiK	40.85	30.53	0.3302	0.9853	0.8194	1.0011
P K	1.04	0.71	0.0060	0.9491	0.6066	1.0010
CaK	5.74	3.00	0.0510	0.9565	0.9300	1.0000
Total	100.00	100.00				

\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2016\161213\Claudia mendez\Diente 3 (2 Aplicacion)\Diente3\_E2\_Poro.spc

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	266.87	19.82	1.08	13.46
F K	21.94	33.12	7.04	0.66
NaK	48.99	54.79	4.23	0.89
SiK	695.68	84.66	0.70	8.22
P K	11.75	73.64	17.66	0.16
CaK	65.10	42.60	3.10	1.53

Gráfico 32 – Cuantificación SEM 100x



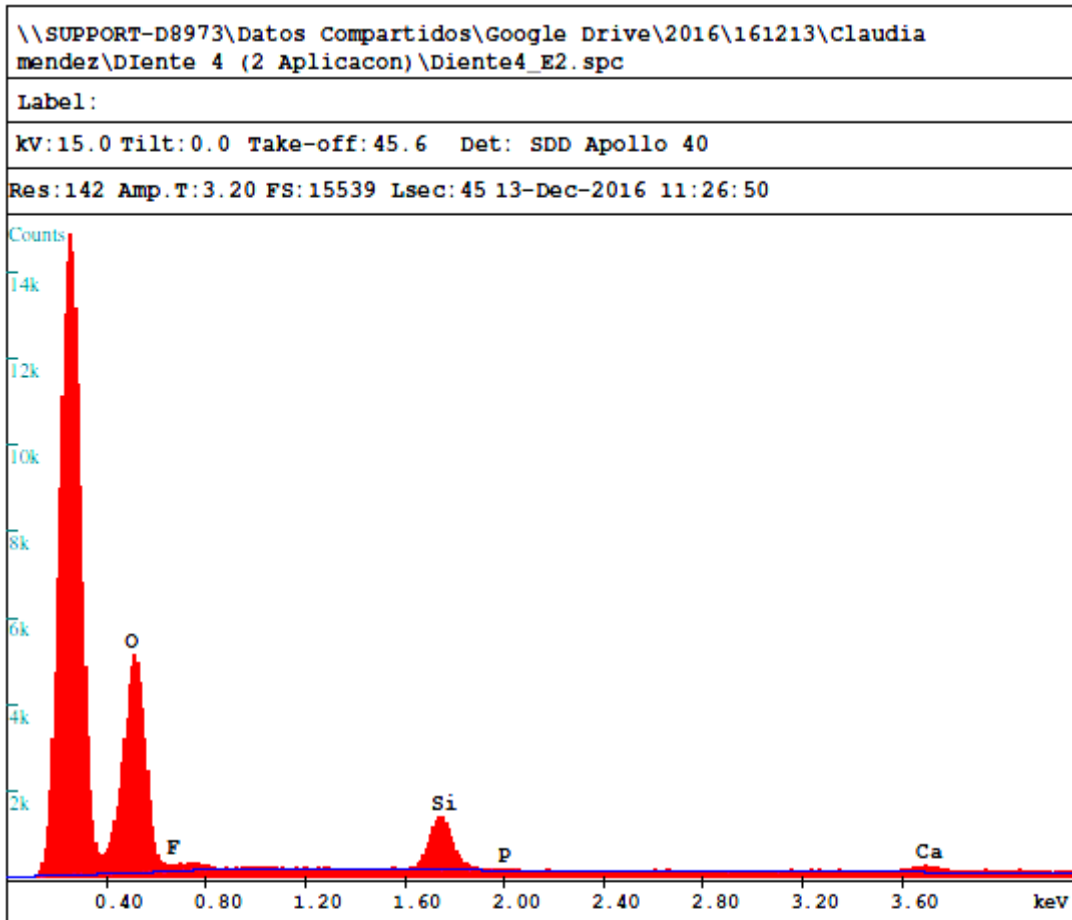
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	76.96	85.06	0.5225	1.0118	0.6709	1.0002
F K	2.86	2.66	0.0060	0.9500	0.2205	1.0003
SiK	17.63	11.10	0.1464	0.9573	0.8668	1.0004
P K	0.43	0.24	0.0033	0.9245	0.8298	1.0004
CaK	2.13	0.94	0.0195	0.9296	0.9867	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	1261.91	30.43	0.49	41.46
F K	15.22	53.10	12.33	0.29
SiK	311.54	63.25	1.14	4.93
P K	6.29	53.04	28.69	0.12
CaK	21.48	27.74	6.95	0.77

Gráfico 33 – Cuantificación SEM 500x



EDAX ZAF Quantification (Standardless)  
 Element Normalized  
 SEC Table : Default

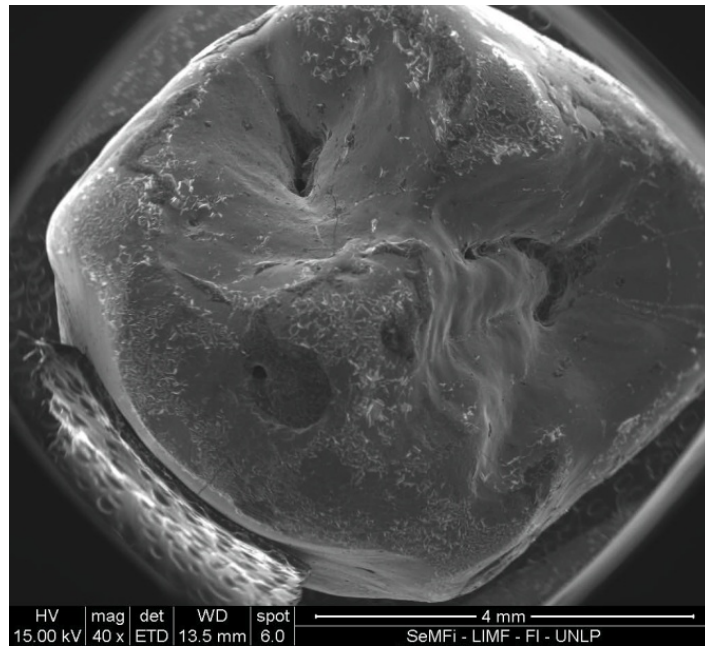
Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	68.98	78.29	0.4217	1.0171	0.6009	1.0004
F K	8.16	7.80	0.0182	0.9550	0.2330	1.0003
SiK	17.83	11.53	0.1482	0.9628	0.8626	1.0008
P K	0.77	0.45	0.0059	0.9297	0.8255	1.0008
CaK	4.25	1.93	0.0392	0.9346	0.9852	1.0000
Total	100.00	100.00				

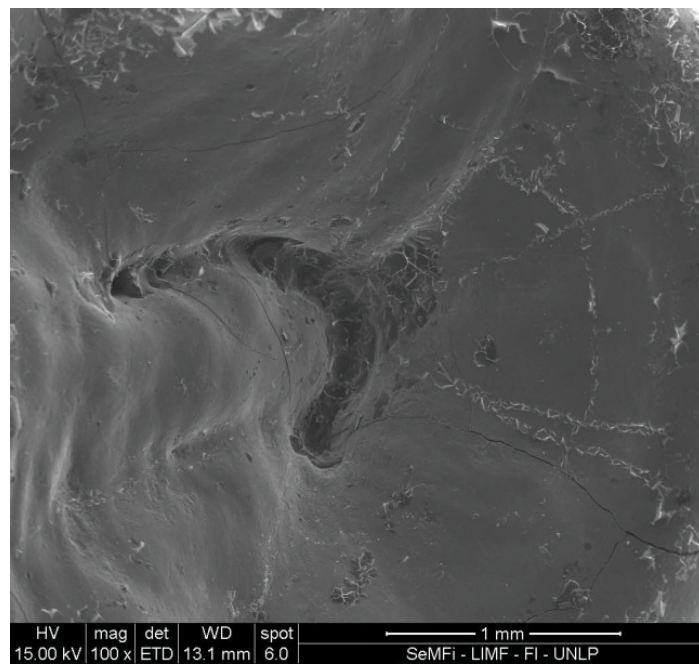
Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	770.39	18.08	0.55	42.60
F K	34.93	31.52	4.22	1.11
SiK	238.82	43.92	1.13	5.44
P K	8.65	37.50	15.72	0.23
CaK	32.63	33.78	4.56	0.97

Gráfico 34 – Cuantificación SEM 1000x

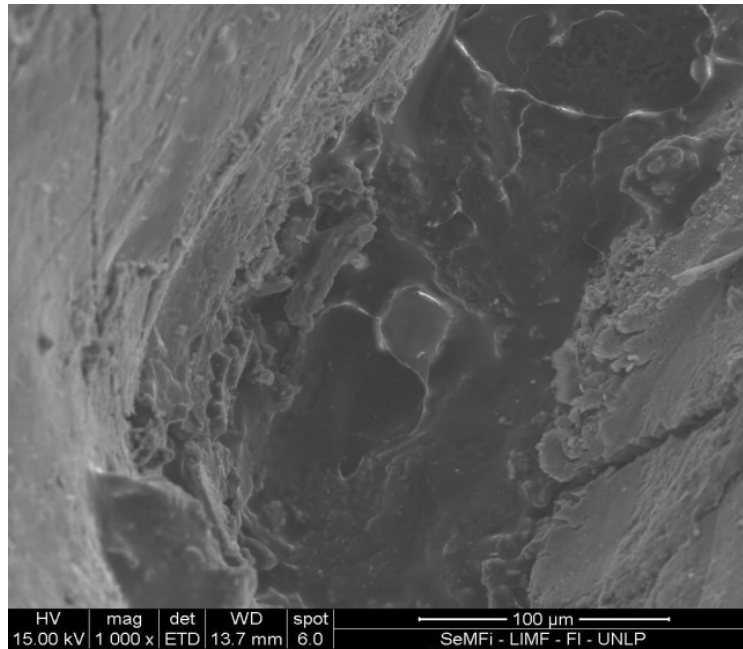
- Observación al Microscopio Electrónico de 20 (UE) con dos aplicaciones después del retiro del barniz. 10 (UE) a los 2 meses y 10 (UE) a los 4 meses (Figuras 148 a 152)



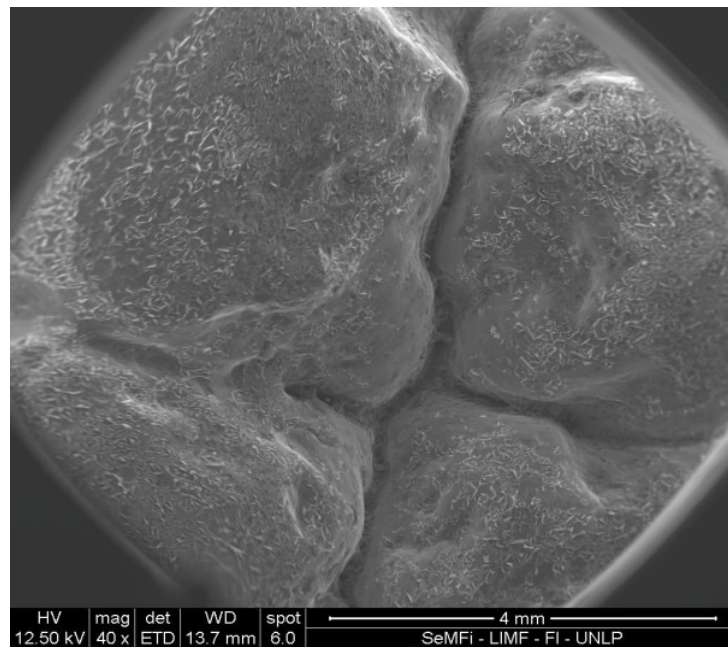
*Figura 148. Surcos después del retiro del barniz a los 2 meses. SEM: 40x.*



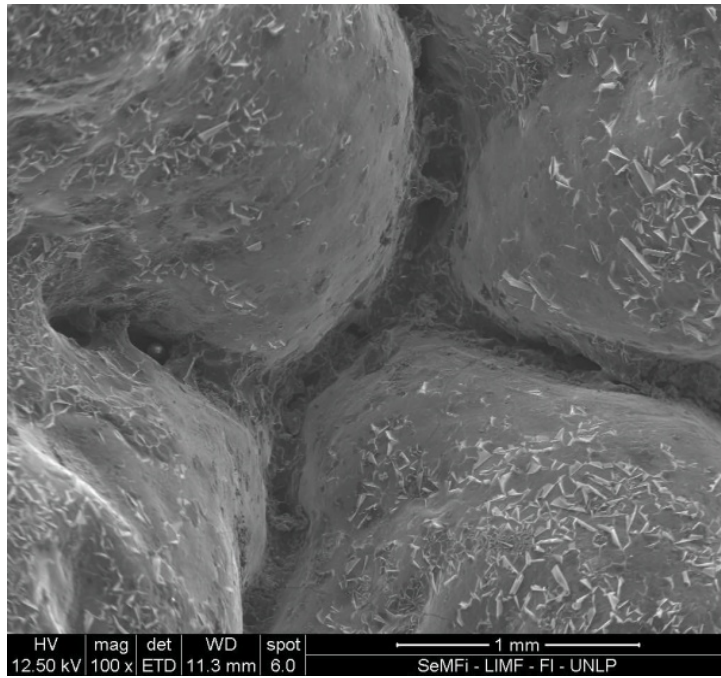
*Figura 149. Surcos después del retiro del barniz, a los 2 meses. SEM: 100x.*



*Figura 150. Surco después del retiro del barniz, a los 2 meses .SEM: 1000x.*



*Figura 151. Surco después del retiro del barniz, a los 4 meses. SEM: 40x.*



*Figura 152. Surco cariado, después retiro del barniz, a los 4 meses. SEM: 100x.*

Cuantificación de los diferentes elementos químicos: Todos los espectros se tomaron a 12,5 KeV, con 90'' de análisis y sin análisis de carbono.

Gráficos del retiro del barniz a los 2 y 4 meses

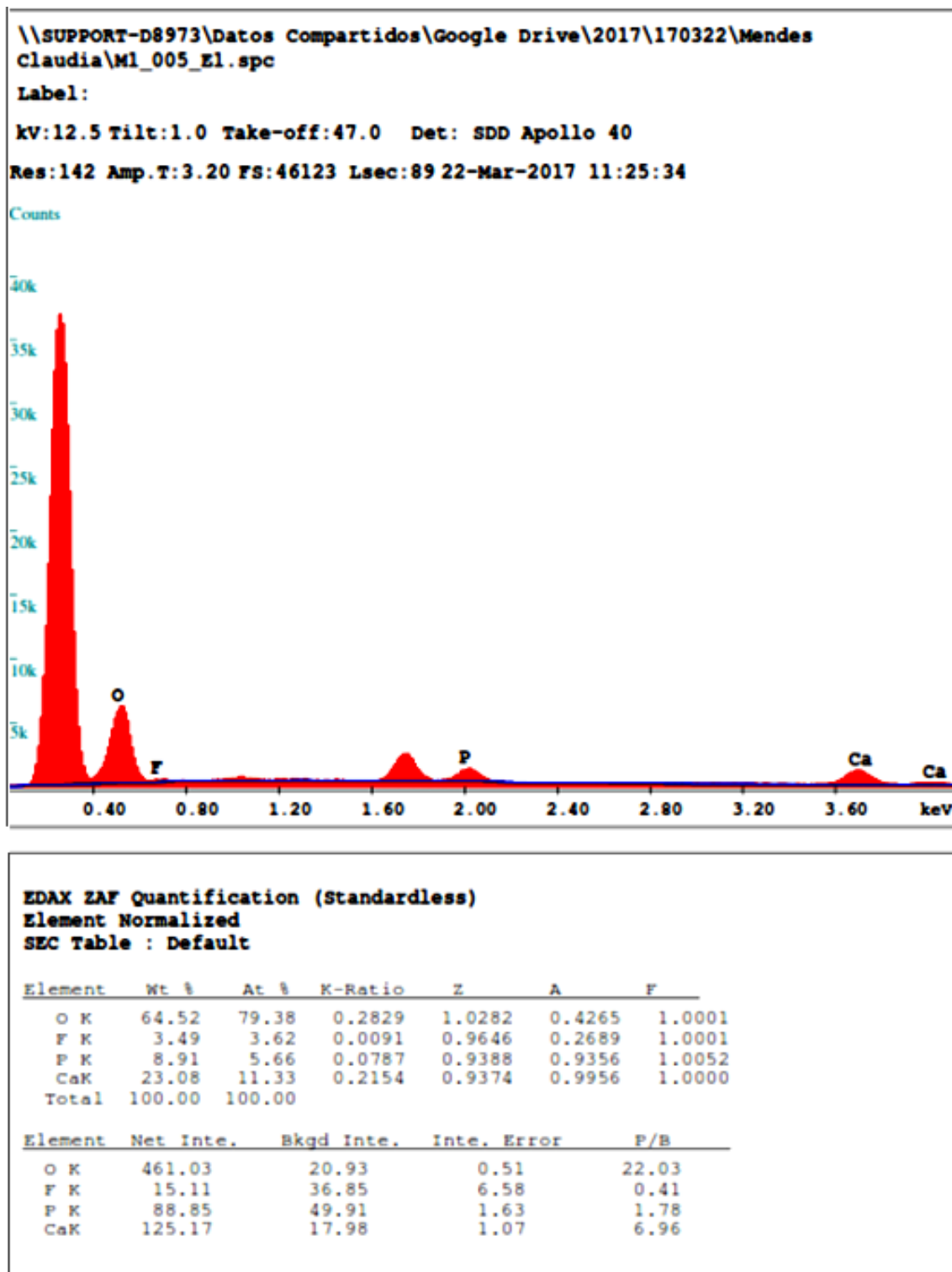


Gráfico 35 – Cuantificación a los 2 meses de retirado el barniz SEM 100x

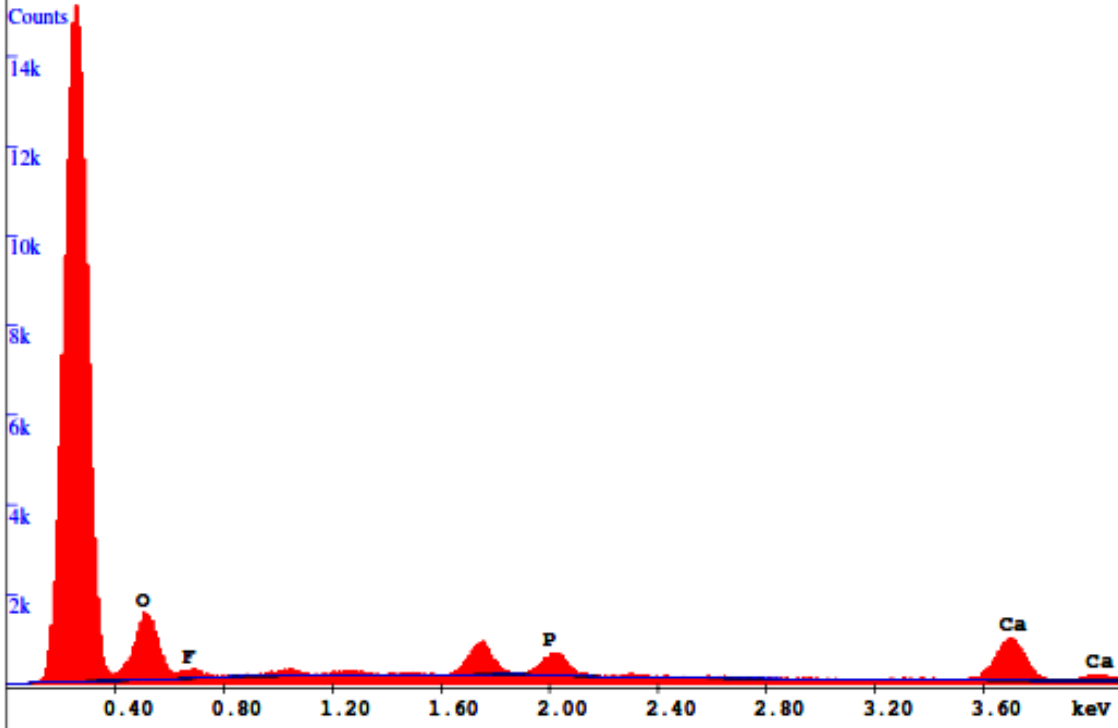


\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2017\170322\Mendes  
 claudia\M2\_006\_E1.spc

Label:

kV:12.5 Tilt:14.0 Take-off:58.4 Det: SDD Apollo 40

Res:142 Amp.T:3.20 FS:15544 Lsec:89 22-Mar-2017 11:42:57



**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**

Element Normalized

SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	42.06	60.57	0.1445	1.0473	0.3280	1.0002
F K	6.93	8.40	0.0218	0.9824	0.3197	1.0002
P K	10.04	7.47	0.0915	0.9576	0.9432	1.0094
CaK	40.98	23.56	0.3898	0.9563	0.9946	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	115.11	8.14	1.05	14.13
F K	17.58	14.07	4.06	1.25
P K	49.08	23.86	2.11	2.06
CaK	107.04	11.26	1.12	9.51

Gráfico 36 - Cuantificación a los 2 meses de retirado el barniz

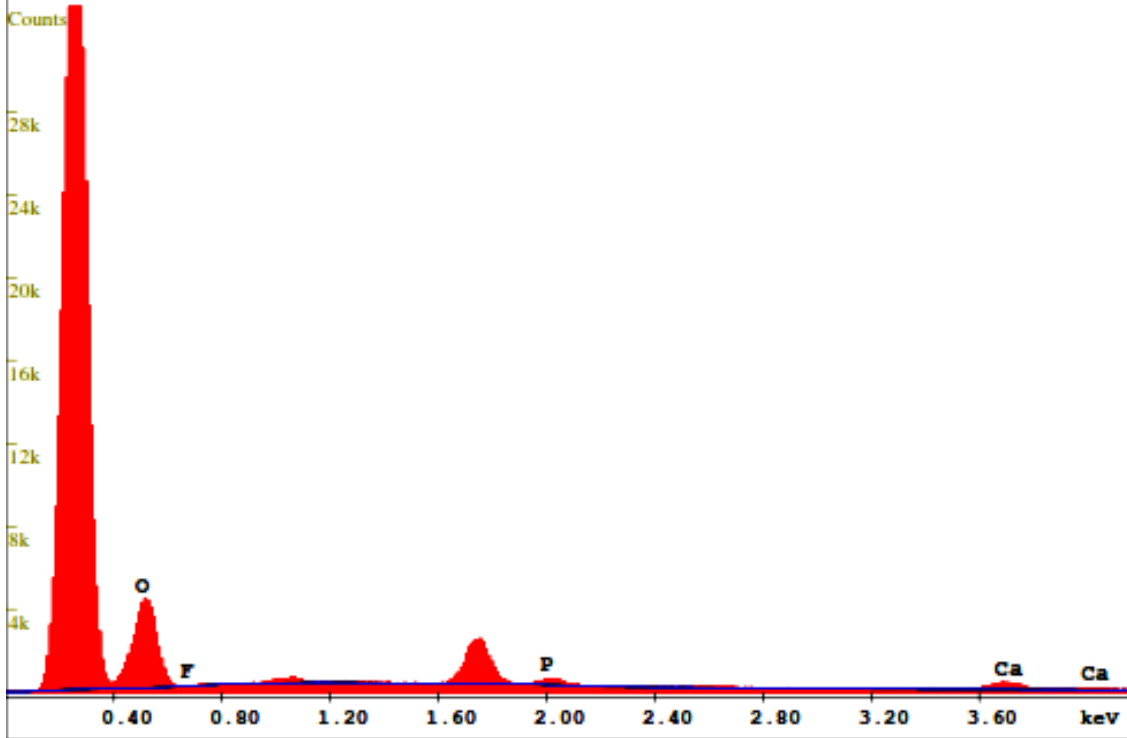


\\SUPPORT-D8973\Datos Compartidos\Google Drive\2017\170322\Mendes claudia\M4\_005\_E1.spc

Label:

kV:12.5 Tilt:0.0 Take-off:46.0 Det: SDD Apollo 40

Res:142 Amp.T:3.20 FS:33658 Lsec:89 22-Mar-2017 12:17:26



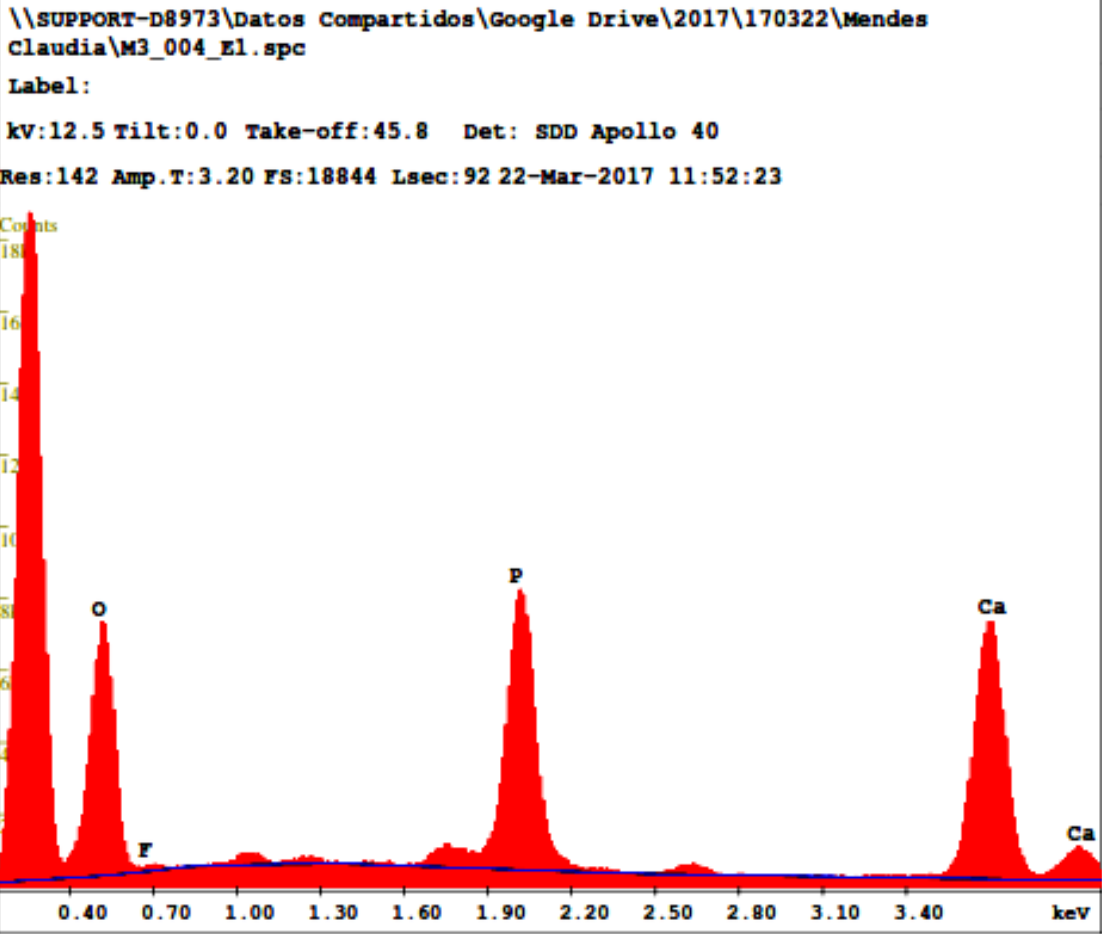
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**

Element Normalized  
SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	77.50	88.59	0.4204	1.0178	0.5330	1.0001
F K	0.63	0.61	0.0015	0.9549	0.2553	1.0001
P K	6.14	3.62	0.0535	0.9286	0.9350	1.0037
CaK	15.73	7.18	0.1456	0.9272	0.9985	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	331.96	17.96	0.61	18.48
F K	1.25	31.89	68.21	0.04
P K	29.35	41.73	3.82	0.70
CaK	41.14	16.69	2.22	2.46

Gráfico 37 – Cuantificación a los 2 meses del retiro del barniz



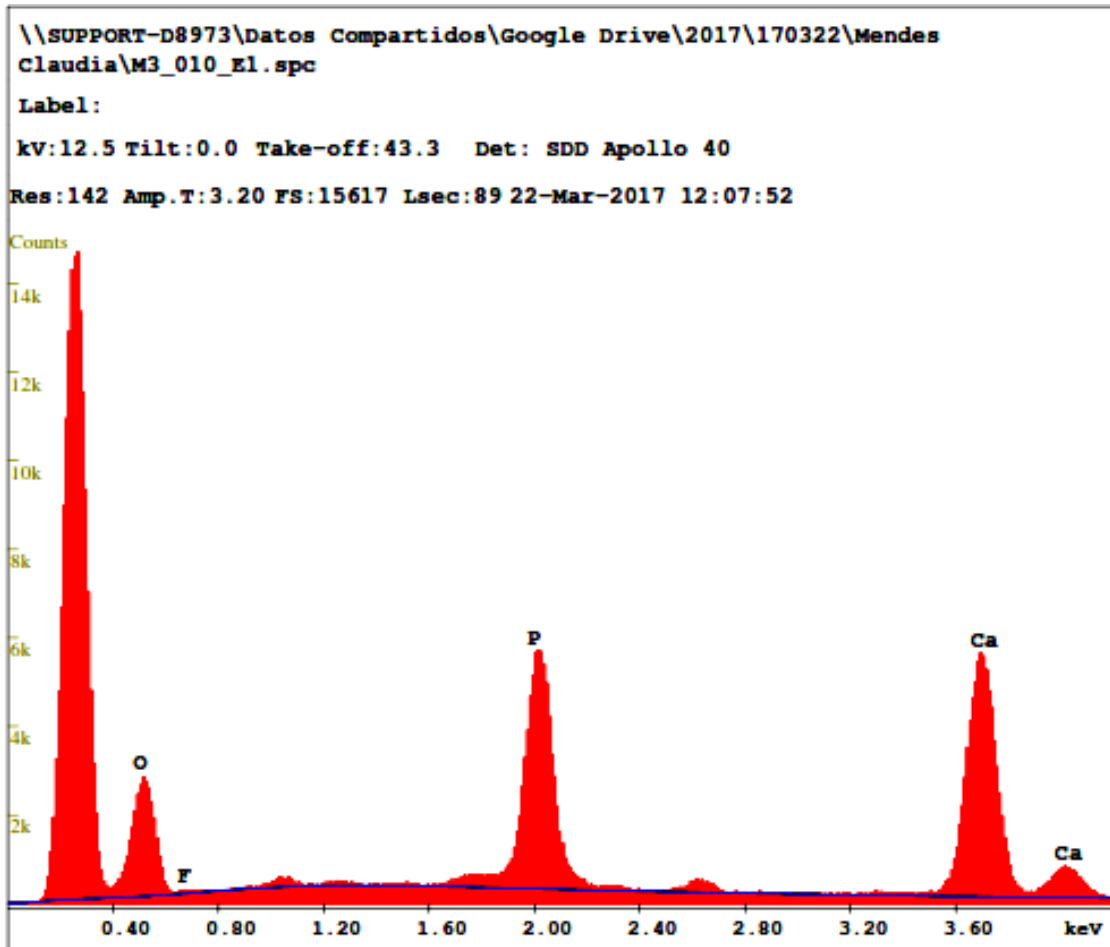
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	35.20	55.03	0.0951	1.0552	0.2560	1.0001
F K	0.89	1.17	0.0024	0.9898	0.2770	1.0003
P K	21.37	17.26	0.1957	0.9655	0.9407	1.0083
CaK	42.54	26.55	0.4036	0.9643	0.9840	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkqd Inte.	Inte. Error	F/B
O K	519.74	25.16	0.48	20.66
F K	13.62	44.55	7.72	0.31
P K	743.72	54.11	0.41	13.75
CaK	789.68	27.88	0.38	28.33

Gráfico 38 – Cuantificación a los 4 meses de retiro del barniz



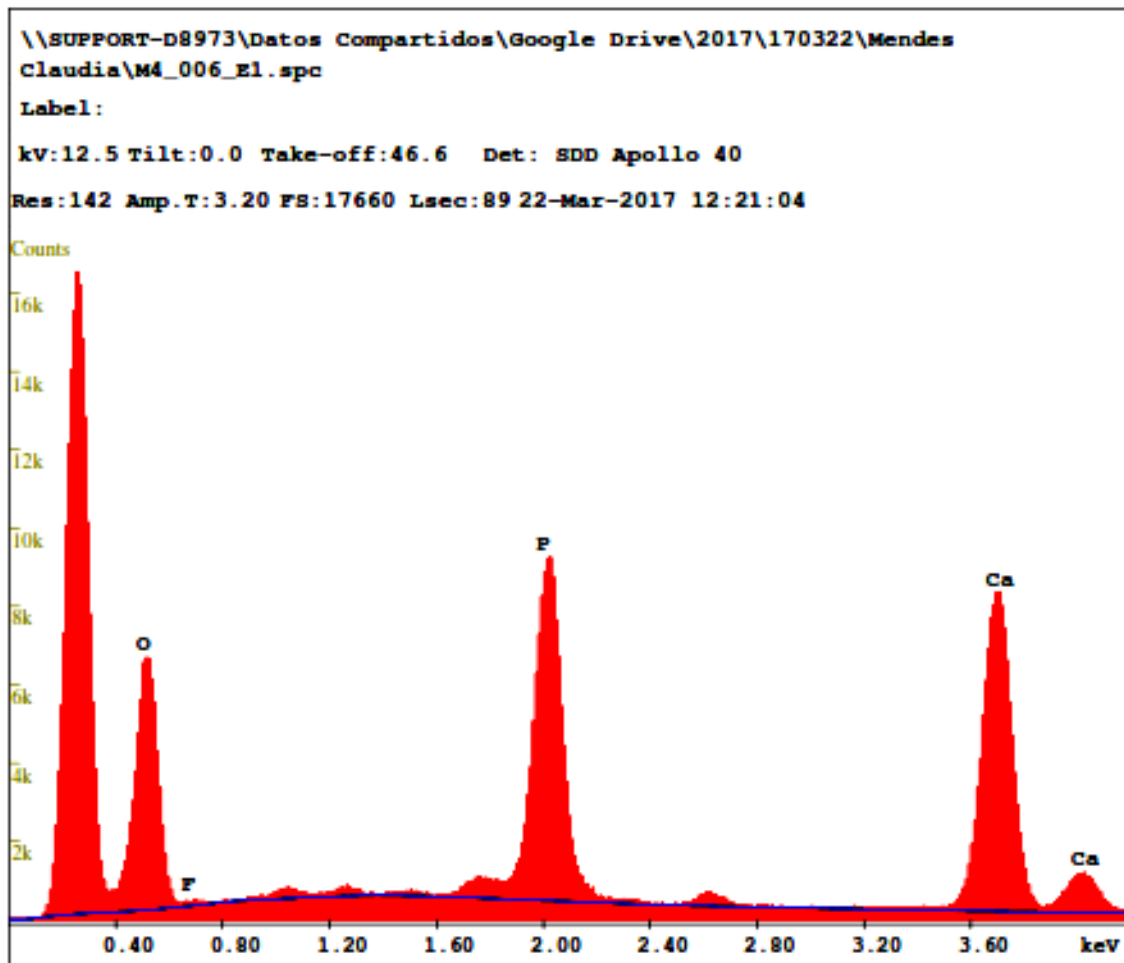
**EDAX ZAF Quantification (Standardless)**  
**Element Normalized**  
**SEC Table : Default**

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	25.15	43.33	0.0575	1.0650	0.2148	1.0001
F K	0.59	0.85	0.0016	0.9989	0.2697	1.0003
P K	23.41	20.84	0.2163	0.9752	0.9384	1.0095
CaK	50.85	34.98	0.4859	0.9740	0.9810	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	P/B
O K	209.70	14.20	0.78	14.77
F K	5.93	25.03	13.29	0.24
P K	552.46	40.86	0.48	13.52
CaK	639.95	21.70	0.43	29.49

Gráfico 39 - Cuantificación a los 4 meses de retiro del barniz



EDAX EAF Quantification (Standardless)  
Element Normalized  
SEC Table : Default

Element	Wt %	At %	K-Ratio	Z	A	F
O K	31.43	50.94	0.0814	1.0589	0.2446	1.0001
F K	0.63	0.86	0.0018	0.9932	0.2806	1.0003
P K	22.33	18.69	0.2056	0.9691	0.9417	1.0088
CaK	45.60	29.50	0.4340	0.9679	0.9832	1.0000
Total	100.00	100.00				

Element	Net Inte.	Bkgd Inte.	Inte. Error	F/B
O K	498.28	21.68	0.49	22.98
F K	11.04	38.45	8.96	0.29
P K	872.73	59.06	0.38	14.78
CaK	948.27	30.13	0.35	31.48

Gráfico 40 - Cuantificación a los 4 meses de retirado del barniz.

La espectrometría mostró valores elevados de calcio y fósforo en los gráficos obtenidos en las unidades experimentales, a los 4 meses del retiro del barniz.

#### 7.4- RECOLECCIÓN DE DATOS.

A partir de la obtención de los diferentes espectrometrías se procedió a la tabulación de los datos, tomando como parámetros de evaluación, las variables At%: cantidad de átomos en la fórmula química y Wt%: cantidad en peso en gramos de los diferentes elementos químicos de la tabla periódica.

<b>CANTIDAD DE PIEZAS DENTARIAS: 90</b>								
<b>UNIDADES DE ESTUDIO: 20 UE ESTUDIADAS A MICROSCOPIA ELECTRÓNICA, SEM 1000X</b>								
<b>ESMALTE SIN LESIONES CLÍNICAS: Evaluación de AT% Cantidad de átomos en la fórmula química</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>P K</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	55	2,9	0	19,14	24	0	0,29	0,8
UNIDAD 2	56	2,7	0	16,22	49	0,55	0,29	0,75
UNIDAD 3	54	2,81	0	17	51,99	0,55	0	0,75
UNIDAD 4	53	2,87	0	18	47	0,6	0	0,79
UNIDAD 5	55	2,88	0	16,8	48	0	0	0,89
UNIDAD 6	55	2,73	0	19,14	46,6	0,85	0	0,9
UNIDAD 7	52,2	2,57	0	16,8	47	0,5	0	0,9
UNIDAD 8	58	2,47	0	17,3	45	0,56	0	0,88
UNIDAD 9	57,5	2,79	0	18,99	45,5	0	0,22	0,68
UNIDAD 10	57,3	2,59	0	15,9	51,08	0,58	0	0,83
UNIDAD 11	56	2,89	0	15,6	47,14	0,65	0	0,98
UNIDAD 12	54,3	2,79	0	16,5	43	0,55	0	0,89
UNIDAD 13	58,1	3,11	0	16,5	39,6	0	0	0,97
UNIDAD 14	59,9	1,98	0	16,5	44	0,85	0,42	0,87
UNIDAD 15	48	2,22	0	16,5	42,3	0	0,43	0,96
UNIDAD 16	47	2	0	16,5	41,9	0	0	0,99
UNIDAD 17	36,4	2,74	0	19,14	45	0,7	0,29	0,87
UNIDAD 18	55	2,37	0	17	42	0,6	0	0,96
UNIDAD 19	55	2,87	0	16,26	39,5	0	0,51	0,99
UNIDAD 20	55	2,97	0	16,26	48	0	0,52	0,87

TABLA 3

<b>CANTIDAD DE PIEZAS DENTARIAS: 90</b>								
<b>UNIDADES DE ESTUDIO: 20 UE ESTUDIADAS A MICROSCOPIA ELECTRONICA. SEM: 1000X</b>								
<b>PIEZAS DENTARIAS, SURCOS CARIADOS: Evaluación de AT% Cantidad de átomos en la fórmula química</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>P K</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	55,22	0	0	5,21	12,11	0	0,29	7,24
UNIDAD 2	56,33	0	0	5,98	12,13	0	0,29	7,28
UNIDAD 3	54,34	0	0	5,39	12,13	0	2,16	7,52
UNIDAD 4	53,24	0	0	6,47	11,19	0	2,16	7,22
UNIDAD 5	55,25	0	0	8,98	9,49	0	2,79	7,33
UNIDAD 6	54,58	0	0	8,17	9,28	0	2,3	7,43
UNIDAD 7	52,27	0	0	7,65	7,28	0	0	1,56
UNIDAD 8	58,25	0	0	5,97	8,26	0	0	1,45
UNIDAD 9	57,58	0	0	5,54	8,23	0	0,22	1,75
UNIDAD 10	57,37	0	0	5,14	8,56	0	0	7,84
UNIDAD 11	56,24	0	0	5,45	8,59	0	0	7,84
UNIDAD 12	54,32	0	0	5,74	9,71	0	2,11	7,68
UNIDAD 13	58,17	0	0	5,44	9,77	0	0	1,55
UNIDAD 14	59,95	0	0	5,94	11,75	0	0,42	6,59
UNIDAD 15	48,25	0	0	5,34	11,86	0	0,43	62,9
UNIDAD 16	47,25	0	0	5,44	11,29	0	0	5,53
UNIDAD 17	36,44	0	0	5,64	12,34	0	0,29	5,58
UNIDAD 18	55,24	0	0	5,74	12,64	0	2,2	2,76
UNIDAD 19	55,25	0	0	5,84	12,15	0	0,51	2,73
UNIDAD 20	55,41	0	0	5,24	13,67	0	0,52	2,75

*TABLA 4*

<b>CANTIDAD DE PIEZAS DENTARIAS: 90</b>								
<b>UNIDADES DE ESTUDIO: 40 UE ESTUDIADAS A MICROSCOPIA ELECTRÓNICA. SEM 1000X</b>								
<b>PIEZAS DENTARIAS SURCOS CARIADOS, CON UNA APLICACIÓN DE MI VARNISH: Evaluación de AT% Cantidad de átomos en la fórmula química</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>P K</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	60,65	9,9	15,4	1,56	4,26	0	0	9,89
UNIDAD 2	56,36	9,8	14,9	1,23	3,99	0	0	9,63
UNIDAD 3	54,54	8,9	7,33	2,3	4,12	0	0	9,68
UNIDAD 4	78,55	8,3	7,99	1,14	4,13	0	0	6,69
UNIDAD 5	79,38	9,1	7,33	1,23	4,45	0	0	7,36
UNIDAD 6	79,64	11	8,21	1,23	4,25	0	0	7,85
UNIDAD 7	78,64	11,3	9,36	1,24	4,36	0	0	7,39
UNIDAD 8	77,52	10,1	8,35	1,25	3,85	0	0	7,58
UNIDAD 9	57,52	7,61	7,36	1,89	5,01	0	0	8,14
UNIDAD 10	62,52	7,65	8,25	1,87	4,66	0	0	9,36
UNIDAD 11	56,55	7,95	7,36	1,36	4,36	0	0	8,25
UNIDAD 12	54,31	8,96	4,56	2	5,01	0	0	7,36
UNIDAD 13	58,11	8,1	6,25	1,32	5,36	0	0	7,36
UNIDAD 14	61,61	8,3	5,32	1,01	3,89	0	0	8,21
UNIDAD 15	66,63	8,3	5,21	1,03	4,25	0	0	8,56
UNIDAD 16	63,35	9,2	4,35	0,9	4,9	0	0	9,12
UNIDAD 17	60,65	8,9	8,39	2,01	5,01	0	0	8,32
UNIDAD 18	63,35	9,1	9,35	1,01	4,22	0	0	8,32
UNIDAD 19	5,25	7,9	7,58	1,03	3,95	0	0	9,21
UNIDAD 20	61,18	9,99	8,39	1,06	4,89	0	0	7,89
UNIDAD 21	60,65	9,9	15,4	1,56	4,26	0	0	9,89
UNIDAD 22	56,36	9,8	14,9	1,23	3,99	0	0	9,63
UNIDAD 23	54,54	8,9	7,33	2,3	4,12	0	0	9,68
UNIDAD 24	78,55	8,3	7,99	1,14	4,13	0	0	6,69
UNIDAD 25	79,38	9,1	7,33	1,23	4,45	0	0	7,36
UNIDAD 26	79,64	11	8,21	1,23	4,25	0	0	7,85
UNIDAD 27	78,64	11,3	9,36	1,24	4,36	0	0	7,39
UNIDAD 28	77,52	10,1	8,35	1,25	3,85	0	0	7,58
UNIDAD 29	57,52	7,61	7,36	1,89	5,01	0	0	8,14
UNIDAD 30	62,52	7,65	8,25	1,87	4,66	0	0	9,36
UNIDAD 31	56,55	7,95	7,36	1,36	4,36	0	0	8,25
UNIDAD 32	54,31	8,96	4,56	2	5,01	0	0	7,36
UNIDAD 33	58,11	8,1	6,25	1,32	5,36	0	0	7,36
UNIDAD 34	61,61	8,3	5,32	1,01	3,89	0	0	8,21
UNIDAD 35	66,63	8,3	5,21	1,03	4,25	0	0	8,56
UNIDAD 36	63,35	9,2	4,35	0,9	4,9	0	0	9,12
UNIDAD 37	60,65	8,9	8,39	2,01	5,01	0	0	8,32
UNIDAD 38	63,35	9,1	9,35	1,01	4,22	0	0	8,32
UNIDAD 39	5,25	7,9	7,58	1,03	3,95	0	0	9,21
UNIDAD 40	61,18	9,99	8,39	1,06	4,89	0	0	7,89

*TABLA 5*

<b>CANTIDAD DE PIEZAS DENTARIAS: 90</b>								
<b>UNIDADES DE ESTUDIO: 40 UE ESTUDIADAS A MICROSCOPIA ELECTRÓNICA, SEM. 1000X</b>								
<b>UNIDADES EXPERIMENTALES: SEGUNDA APLICACIÓN DE MI VARNISH: Evaluación de AT% Cantidad de Átomos en la fórmula química</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>P K</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	71,22	2,66	30,34	0,24	4,5	0	0,29	3,54
UNIDAD 2	70,56	5,66	30,56	0,26	3,9	0,55	0,29	0,75
UNIDAD 3	70,33	2,66	31,58	0,45	4,3	0,55	0	0,75
UNIDAD 4	45,6	3,66	1,26	0,58	4	0,6	0	3,54
UNIDAD 5	42,33	5,77	3,65	0,56	4,3	0	0	3,69
UNIDAD 6	42,36	5,99	4,2	0,32	4,1	0,85	0	4,25
UNIDAD 7	43,6	5,66	31,12	0,25	5,3	0,5	0	4,87
UNIDAD 8	45,6	5,89	30,56	0,71	5,6	0,56	0	0,8
UNIDAD 9	48,9	5,99	30,45	0,56	9,1	0	0,22	0,6
UNIDAD 10	7,33	2,36	31,36	0,81	7,3	0,58	0	3,89
UNIDAD 11	72,35	2,45	30,3	0,98	4,3	0,65	0	0,9
UNIDAD 12	71,22	2,36	30,3	0,25	3,9	0,55	0	0,89
UNIDAD 13	79,46	5,85	30,34	0,24	39,6	0	0	0,88
UNIDAD 14	45,64	5,45	30,78	0,28	44	0,85	0,42	0,87
UNIDAD 15	43,66	5,69	30,54	0,59	42,3	0	0,43	0,96
UNIDAD 16	82,59	3,66	30,56	0,99	41,9	0	0	0,99
UNIDAD 17	76,13	5,87	31,2	0,98	45	0,7	0,29	0,87
UNIDAD 18	72,23	5,36	31,25	0,78	42	0,6	0	3,99
UNIDAD 19	79,29	5,37	35,89	0,65	39,5	0	0,51	3,54
UNIDAD 20	81,21	5,89	29,96	0,23	48	0	0,52	3,87
UNIDAD 21	71,22	2,66	30,34	0,24	4,5	0	0,29	3,54
UNIDAD 22	70,56	5,66	30,56	0,26	3,9	0,55	0,29	0,75
UNIDAD 23	70,33	2,66	31,58	0,45	4,3	0,55	0	0,75
UNIDAD 24	45,6	3,66	1,26	0,58	4	0,6	0	3,54
UNIDAD 25	42,33	5,77	3,65	0,56	4,3	0	0	3,69
UNIDAD 26	42,36	5,99	4,2	0,32	4,1	0,85	0	4,25
UNIDAD 27	43,6	5,66	31,12	0,25	5,3	0,5	0	4,87
UNIDAD 28	45,6	5,89	30,56	0,71	5,6	0,56	0	0,8
UNIDAD 29	48,9	5,99	30,45	0,56	9,1	0	0,22	0,6
UNIDAD 30	7,33	2,36	31,36	0,81	7,3	0,58	0	3,89
UNIDAD 31	72,35	2,45	30,3	0,98	4,3	0,65	0	0,9
UNIDAD 32	71,22	2,36	30,3	0,25	3,9	0,55	0	0,89
UNIDAD 33	79,46	5,85	30,34	0,24	39,6	0	0	0,88
UNIDAD 34	45,64	5,45	30,78	0,28	44	0,85	0,42	0,87
UNIDAD 35	43,66	5,69	30,54	0,59	42,3	0	0,43	0,96
UNIDAD 36	82,59	3,66	30,56	0,99	41,9	0	0	0,99
UNIDAD 37	76,13	5,87	31,2	0,98	45	0,7	0,29	0,87
UNIDAD 38	72,23	5,36	31,25	0,78	42	0,6	0	3,99
UNIDAD 39	79,29	5,37	35,89	0,65	39,5	0	0,51	3,54
UNIDAD 40	81,21	5,89	29,96	0,23	48	0	0,52	3,87

*TABLA 6*



<b>DATOS PARA ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>								
<b>CANTIDAD DE PIEZAS DENTARIAS: 90</b>								
<b>UNIDADES DE ESTUDIO: 20 UE ESTUDIADAS A MICROSCOPIA ELECTRÓNICA. SEM. 1000X</b>								
<b>ESMALTE SIN LESIONES CLÍNICAS: Evaluación WT% Cantidad en peso en gramos</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>Pk</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	4,59	0	0	19,14	74,94	1,32	0,29	0,8
UNIDAD 2	22,47	0	0	23,85	62,66	0,55	0,29	0,75
UNIDAD 3	22	0	0	23,87	51,99	1,33	0	0,75
UNIDAD 4	12,97	0	0	23,85	74,94	0,6	0	0,79
UNIDAD 5	35,2	0	0	23,66	75	1,32	0	0,89
UNIDAD 6	4,59	0	0	19,14	63,54	0,85	0	0,9
UNIDAD 7	22	0	0	22,95	52,16	1,34	0	0,9
UNIDAD 8	5,01	0	0	22,8	56,16	0,99	0	0,8
UNIDAD 9	4,59	0	0	18,99	74,94	1,32	0,22	0,6
UNIDAD 10	22,01	0	0	23,86	51,08	0,58	0	0,8
UNIDAD 11	12,98	0	0	19,14	25,35	0,65	0	0,9
UNIDAD 12	4,53	0	0	22,96	73,99	0,55	0	0,89
UNIDAD 13	15,3	0	0	22,33	39,6	1,32	0	0,97
UNIDAD 14	13,01	0	0	20,62	74,94	0,85	0,42	0,87
UNIDAD 15	16,32	0	0	23,02	65,24	1,22	0,43	0,96
UNIDAD 16	4,59	0	0	22,1	61,89	1,32	0	0,99
UNIDAD 17	36,4	0	0	19,14	61,85	0,7	0,29	0,87
UNIDAD 18	15,01	0	0	24,5	74,94	0,74	0	0,96
UNIDAD 19	36	0	0	22,36	39,5	1,32	0,51	0,99
UNIDAD 20	36,32	0	0	20	69,68	0	0,52	0,87

*TABLA 7*

<b>PIEZAS DENTARIAS, SURCOS CARIADOS (20 UE): Evaluación de Wt%</b>								
<b>Cantidad en peso en gramos</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>Pk</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	4,59	0	0	19,14	74,94	1,32	0,29	1,7
UNIDAD 2	22,47	0	0	23,85	62,66	0,55	0,29	1,7
UNIDAD 3	22	0	0	23,87	51,99	1,33	0	1,71
UNIDAD 4	12,97	0	0	23,85	74,94	0,6	0	1,75
UNIDAD 5	35,2	0	0	23,66	75	1,32	0	9,2
UNIDAD 6	4,59	0	0	19,14	63,54	0,85	0	9,6
UNIDAD 7	22	0	0	22,95	52,16	1,34	0	9,3
UNIDAD 8	5,01	0	0	22,8	56,16	0,99	0	3,7
UNIDAD 9	4,59	0	0	18,99	74,94	1,32	0,22	3,75
UNIDAD 10	22,01	0	0	23,86	51,08	0,58	0	9,8
UNIDAD 11	12,98	0	0	19,14	25,35	0,65	0	9,6
UNIDAD 12	4,53	0	0	22,96	73,99	0,55	0	9,85
UNIDAD 13	15,3	0	0	22,33	39,6	1,32	0	9,6
UNIDAD 14	13,01	0	0	20,62	74,94	0,85	0,42	9,3
UNIDAD 15	16,32	0	0	23,02	65,24	1,22	0,43	3,7
UNIDAD 16	4,59	0	0	22,1	61,89	1,32	0	3,75
UNIDAD 17	36,4	0	0	19,14	61,85	0,7	0,29	9,8
UNIDAD 18	15,01	0	0	24,5	74,94	0,74	0	9,6
UNIDAD 19	36	0	0	22,36	39,5	1,32	0,51	9,85
UNIDAD 20	36,32	0	0	20	69,68	0	0,52	9,6

*TABLA 8*

<b>PIEZAS DENTARIAS CARIADAS CON UNA APLICACIÓN DE MI VARNISH (40 UE): Evaluación de Wt% Cantidad en peso en gramos</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>Pk</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	48,04	7,16	21,6	2,06	8,9	0	0	11,23
UNIDAD 2	49	7,13	21,3	2,06	8,9	0	0	11,23
UNIDAD 3	48,01	7	20	2,01	9,9	0	0	11,23
UNIDAD 4	17,99	7,96	23,6	2,03	10	0	0	11,23
UNIDAD 5	46,32	8	23,3	1,99	7,9	0	0	7,31
UNIDAD 6	57,3	6,5	25	2,01	7,9	0	0	7,36
UNIDAD 7	57,8	6,5	21	2,03	7,8	0	0	8,1
UNIDAD 8	60	9,15	20	3,8	7,6	0	0	9,6
UNIDAD 9	39	9,66	19,9	2,3	6,9	0	0	7,3
UNIDAD 10	46	9,85	13	2,9	8,3	0	0	11,23
UNIDAD 11	48,01	9,64	13,3	1,9	8,1	0	0	7,31
UNIDAD 12	57,8	10	12,5	3,7	8,36	0	0	7,36
UNIDAD 13	57,8	8,56	9	2,9	8,45	0	0	8,1
UNIDAD 14	17,99	7,56	8	3,1	8,69	0	0	9,6
UNIDAD 15	46,32	6,33	8,9	1,75	9,65	0	0	7,3
UNIDAD 16	57,3	6,45	12	2,9	7,65	0	0	7,46
UNIDAD 17	57,8	6,58	12,2	2,8	7,25	0	0	7,46
UNIDAD 18	38,9	10	20,3	2,2	7,54	0	0	7,89
UNIDAD 19	38,9	9,99	20,3	3,1	7,41	0	0	9,65
UNIDAD 20	38,9	9,38	20,1	2,9	5,99	0	0	10,1
UNIDAD 21	46,03	9,75	21,3	1,88	8,99	0	0	10,6
UNIDAD 22	57,8	9,66	22,3	1,71	9,99	0	0	7,31
UNIDAD 23	57,8	8,15	9,6	3,9	9,65	0	0	7,36
UNIDAD 24	46,03	7,45	9,3	2,1	9,37	0	0	8,1
UNIDAD 25	45,66	8,3	12,1	2,9	9,36	0	0	9,6
UNIDAD 26	45,99	8,6	7,8	2,8	10,1	0	0	7,3
UNIDAD 27	48,6	7,01	12,3	3,9	9,65	0	0	7,46
UNIDAD 28	46,32	8,9	10,57	2,1	9,38	0	0	7,46
UNIDAD 29	57,3	5,9	10,56	3,3	9,8	0	0	7,89
UNIDAD 30	57,8	9,8	11,2	2,5	9,99	0	0	9,65
UNIDAD 31	55,12	9,99	10,58	1,9	9,6	0	0	10,1
UNIDAD 32	54,8	9,38	12,3	2,5	9,55	0	0	10,6
UNIDAD 33	56,43	9,75	12,8	2,2	12	0	0	8,7
UNIDAD 34	54,6	9,66	12,9	2,9	12,1	0	0	8,7
UNIDAD 35	59,33	8,15	13,6	3,3	13,3	0	0	8,7
UNIDAD 36	60,99	7,45	11,5	2,8	9,87	0	0	8,9
UNIDAD 37	52,6	8,91	10,57	3,9	10,5	0	0	9,7
UNIDAD 38	57,4	9,3	10,56	2,1	9,6	0	0	9,6
UNIDAD 39	56,4	9,6	11,2	3,3	9,6	0	0	9,3
UNIDAD 40	58,6	9,3	10,58	2,5	9,5	0	0	9,8

*TABLA 9*

<b>PIEZAS DENTARIAS CARIADAS CON DOS APLICACIONES DE MI VARNISH (40 UE): Evaluación de Wt% Cantidad en peso en gramos</b>								
<b>OLIGOELEMENTOS</b>	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>Si K</b>	<b>Pk</b>	<b>Ca K</b>	<b>Cl K</b>	<b>Mg K</b>	<b>Na K</b>
UNIDAD 1	48,04	6,5	40,6	2,03	6,9	0	0	1,95
UNIDAD 2	49	6,5	40,8	1,99	8,3	0	0	1,95
UNIDAD 3	48,01	9,15	30,92	2,01	8,1	0	0	1,6
UNIDAD 4	17,99	9,66	30,56	2,03	8,36	0	0	1,61
UNIDAD 5	46,32	9,85	31,5	3,8	8,45	0	0	1,6
UNIDAD 6	57,3	9,64	30,9	2,03	8	0	0	4,3
UNIDAD 7	57,8	10	31,9	1,99	6,9	0	0	4,3
UNIDAD 8	60	2,85	31,5	2,01	8,3	0	0	4,5
UNIDAD 9	39	2,3	32,6	2,03	8,1	0	0	4,5
UNIDAD 10	76,36	7,16	31,4	3,8	8,36	0	0	4,8
UNIDAD 11	79,3	7,13	35,8	2,3	8,45	0	0	4,9
UNIDAD 12	78	7	36,6	2,9	8,69	0	0	0,9
UNIDAD 13	46,03	7,96	37,1	1,9	9,65	0	0	1,95
UNIDAD 14	57,8	8	41	3,7	7,65	0	0	1,96
UNIDAD 15	76,36	6,5	42,3	2,9	7,25	0	0	5,4
UNIDAD 16	79,3	6,5	40,6	3,1	7,54	0	0	5,9
UNIDAD 17	78	9,15	40,5	1,75	7,41	0	0	5,4
UNIDAD 18	79,9	9,66	40,8	2,9	5,99	0	0	6,1
UNIDAD 19	79,6	9,85	40,7	2,8	8,99	0	0	7,2
UNIDAD 20	80	9,64	41,2	2,2	5,75	0	0	3,5
UNIDAD 21	48,04	10	40,6	3,1	5,96	0	0	1,61
UNIDAD 22	49	8,56	40,9	2,9	5,74	0	0	1,6
UNIDAD 23	48,01	7,56	39,9	1,88	5,75	0	0	4,3
UNIDAD 24	17,99	6,33	40,8	2,01	5,96	0	0	4,3
UNIDAD 25	46,32	6,45	40,7	2,03	5,74	0	0	4,5
UNIDAD 26	57,3	6,58	41,2	3,8	4,96	0	0	4,5
UNIDAD 27	57,8	10	40,6	2,3	8,9	0	0	4,8
UNIDAD 28	60	9,99	40,9	2,9	8,36	0	0	4,9
UNIDAD 29	39	9,38	39,9	1,9	8,45	0	0	0,9
UNIDAD 30	46	9,75	41,2	3,7	8,69	0	0	1,95
UNIDAD 31	48,01	2,6	40,6	2,8	9,65	0	0	1,96
UNIDAD 32	57,8	2,86	40,9	2,2	7,65	0	0	4,5
UNIDAD 33	57,8	3,1	39,9	3,1	4,96	0	0	6,1
UNIDAD 34	17,99	2,6	40,8	2,9	8,9	0	0	3,3
UNIDAD 35	46,32	2,86	40,7	1,88	8,36	0	0	3,3
UNIDAD 36	57,3	3,1	41,2	2,01	8,45	0	0	4,2
UNIDAD 37	57,8	6,4	40,6	2,03	8,69	0	0	5,1
UNIDAD 38	38,9	6,3	40,9	3,8	9,65	0	0	5,6
UNIDAD 39	38,9	5,6	39,9	2,3	7,65	0	0	4,2
UNIDAD 40	38,9	4,1	4,5	2,9	8	0	0	4,12

*TABLA 10*

<b>MUESTRAS (20 UE). RETIRO DEL BARNIZ A LOS 2 y 4 MESES. EVALUACIÓN At%</b>				
	<b>OK</b>	<b>FK</b>	<b>PK</b>	<b>CAK</b>
UNIDAD 1	79,66	3,64	5,66	11,33
UNIDAD 2	79,36	3,62	5,98	1,99
UNIDAD 3	79,12	3,65	5,33	11,21
UNIDAD 4	79,45	3,64	5,87	11,33
UNIDAD 5	78,65	3,99	5,36	11,25
UNIDAD 6	78,35	2,99	5,98	10,99
UNIDAD 7	78,35	2,86	5,98	10,87
UNIDAD 8	78,34	2,87	5,78	11,23
UNIDAD 9	78,32	2,64	5,69	11,99
UNIDAD 10	79,34	2,35	5,45	11,89
UNIDAD 11	79,21	2,45	5,36	12,25
UNIDAD 12	79,46	2,45	5,98	12,01
UNIDAD 13	79,34	2,85	5,68	12,3
UNIDAD 14	78,34	3,69	5,37	12,5
UNIDAD 15	77,36	3,45	5,24	12,43
UNIDAD 16	77,36	3,75	5,36	11,45
UNIDAD 17	78,32	3,85	5,35	11,45
UNIDAD 18	79,64	3,76	5,38	11,56
UNIDAD 19	79,35	3,98	6,12	11,02
UNIDAD 20	79,31	3,72	6,2	11,24

*TABLA 11*

<b>MUESTRAS (20 UE). RETIRO DEL BARNIZ A LOS 2 y4 MESES. EVALUACIÓN Wt%</b>				
	<b>O K</b>	<b>F K</b>	<b>P K</b>	<b>CA K</b>
UNIDAD 1	64,05	3	8,97	23,45
UNIDAD 2	64,33	3,49	9,91	22,99
UNIDAD 3	65,01	3,21	9,32	23,46
UNIDAD 4	60,23	3,23	9,11	23,96
UNIDAD 5	63,32	3,36	9,23	23,56
UNIDAD 6	61,23	3,56	8,78	23,65
UNIDAD 7	63,33	3,45	8,75	22,99
UNIDAD 8	60,55	3,36	8,45	23,36
UNIDAD 9	64,55	2,99	7,99	22,21
UNIDAD 10	64,11	4,31	7,65	23,69
UNIDAD 11	64,35	4,31	8,99	24,11
UNIDAD 12	64,25	4,01	8,32	24,03
UNIDAD 13	63	3,68	8,35	23,99
UNIDAD 14	63,99	3,98	8,24	23,56
UNIDAD 15	59,35	3,87	8,55	23,88
UNIDAD 16	62,45	3,78	8,63	23,46
UNIDAD 17	64,36	3,89	8,21	23,47
UNIDAD 18	69,7	3,68	8,36	23,65
UNIDAD 19	59,36	3,45	8,9	23,5
UNIDAD 20	63,33	3,86	9,31	23,45

*TABLA 12*

## 7.5- ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS DATOS

Se utilizó como análisis estadístico la prueba de t-Student para grupos independientes y gráficos box plot (también conocido como caja y bigotes). A partir de las cuantificaciones obtenidas con espectrometría dispersa en energía fueron analizados el calcio (Ca) y el fósforo (P). Las muestras evaluadas fueron en piezas dentarias con esmalte sin evidencias clínicas, surcos cariados, unidades experimentales sometidas a la aplicación del barniz en estudio, Mi Varnish y su análisis a los 2 y 4 meses posteriores al retiro del barniz mecánicamente. Como así también los valores Flúor (F) y Sílice (Si). Siguiendo el esquema establecidos se tomó como referencia los valores At% (cantidad de átomos en la fórmula química) y Wt% (cantidad en peso en gramos), respectivamente.

La cuantificación de las muestras de esmalte sin evidencias clínicas y con caries permitió identificar su composición estructural dentro de los parámetros normales en las piezas dentarias respecto de su composición de calcio y fósforo, presentando valores de P (At%) sin diferencias significativas y para el Ca (At%) con diferencias significativas. Los valores de P (Wt%) y Ca (Wt%), no presentaron diferencias significativas (Páginas 162 a 164).

Las unidades experimentales cuantificadas con primera y segunda aplicación del material, analizadas con el barniz (Mi Varnish) según el tiempo de exposición a los 7 días y a los 15 días arrojó una diferencia significativa con respecto al fósforo y al calcio At% ( $p < 0,01$ ). En el análisis de de P (Wt%) se presentan valores semejantes entre 1ra y 2da aplicación, sin observarse diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). Registrándose variaciones en el Ca de ( $p < 0,001$ ) (Páginas 165 a 168).

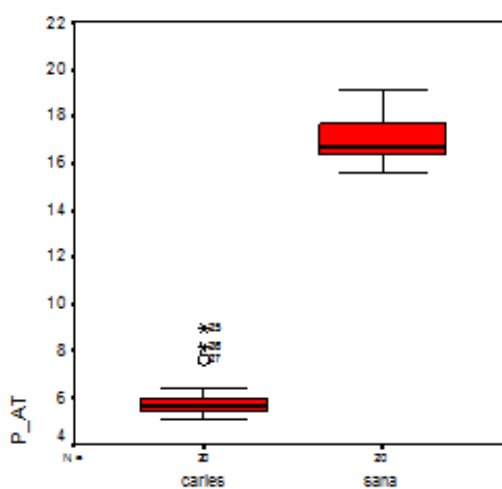
Las probetas de estudio, después del retiro del barniz, a los 2 y 4 meses, arrojaron datos para el P y Ca, más elevados a los 2 meses, siendo más homogéneos los valores a los 4 meses. Se observaron diferencias significativas ( $p < 0,001$ ) (Páginas 169 a 170).

El análisis de flúor en 20 piezas dentarias sanas y cariadas no registró valores del mismo. En las unidades experimentales con aplicación de barniz arrojó valores de flúor At% y Wt% menores en la segunda aplicación que en la primera. Con valores significativos para flúor At% (t: 15,25;  $p < 0,001$ ). Y valores de flúor Wt% (t: 3,23;  $p = 0,002$ ). No se observan valores extremos de flúor al momento de su retiro a los 4 meses (Páginas 171 a 174).

Se completó el estudio analizando el Sílice donde no se registraron valores en piezas sanas y cariadas, mientras que en las unidades experimentales sometida a la primera y segunda aplicación de barniz se observó en Sílice At% (segunda aplicación) valores altos con diferencias significativas (t:-11,25;  $p < 0,001$ ) como así en Sílice Wt% arrojando diferencias significativas de (t:-17,24;  $p < 0,001$ ) (Página 175-176).

De una muestra de 20 UE, Sanas y 20 con surcos Cariados, se analizaron valores de P (fósforo) \_At% que arrojaron los siguientes resultados:

Estadísticos (P)		sanas	caries
Media		17.10	6.01
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	16.57	5.50
	Límite superior	17.64	6.50
Error estándar		0.25	0.23
Mediana		16.65	5.69
Desviación estándar		1.14	1.04
Mínimo		15.56	5.14
Máximo		19.14	8.98
Rango		3.54	3.84



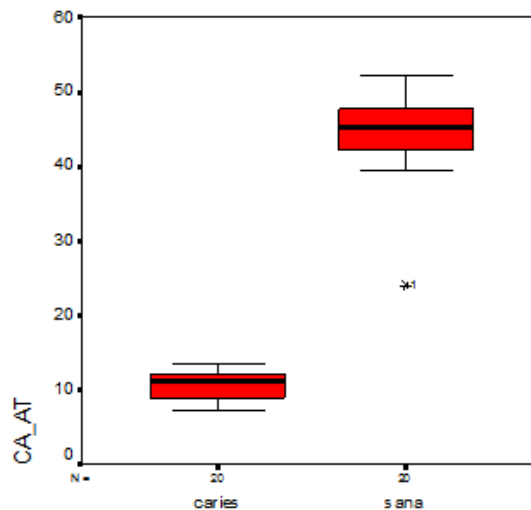
Se observan diferencias significativas entre P\_At% de sanas y caries

P_At%	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	729	.399	32.042	38	.000	110.870	0.34601	1.038.653	1.178.747
No se han asumido varianzas iguales			32.042	37.698	.000	110.870	0.34601	1.038.635	1.178.765



Sobre 20 UE, sanas y con caries se analizaron los valores de Ca\_At%.

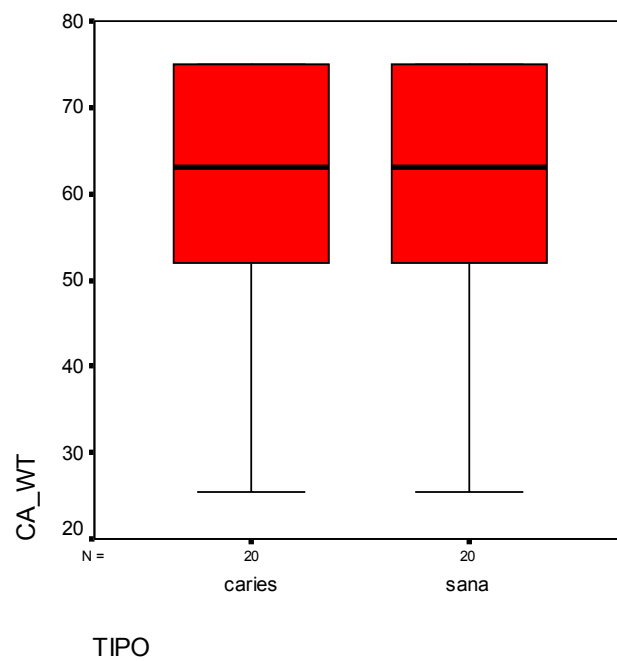
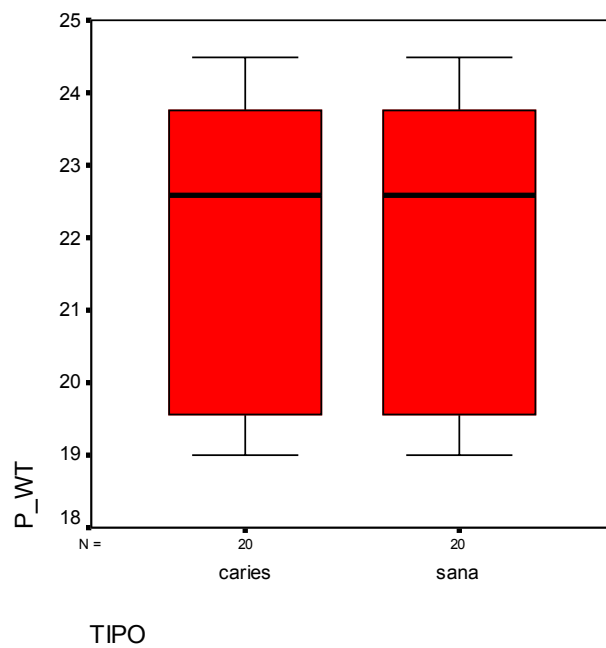
Estadísticos (Ca_At %)		sanas	caries
Media		44.38	10.62
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	41.62	9.75
	Límite superior	47.13	11.48
Error estándar		1.32	0.42
Mediana		45.25	11.24
Desviación estándar		5.88	1.84
Mínimo		24.00	7.28
Máximo		51.99	13.67
Rango		27.99	6.39



Se observan diferencias significativas entre Ca\_At% en piezas sanas y caries.

CA_AT%	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	5.128	.029	24.469	38	.000	337.590	137.967	3.096.600	3.655.200
No se han asumido varianzas iguales			24.469	22.683	.000	337.590	137.967	3.090.273	3.661.527

Gráficos de P\_Wt% y Ca\_Wt% Sobre 20 UE sanas y surcos cariados.



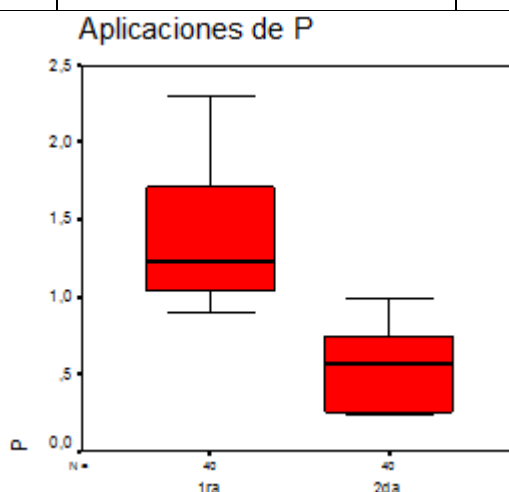
No presentaron diferencias significativas.

### Unidades experimentales con una y dos aplicación de barniz (Evaluación At %).

#### Resultados:

Sobre 40 UE, se realizó un análisis exploratorio de los datos. A continuación, se presentan la respectiva tabla, según una o dos aplicaciones de barniz, para Fósforo y Calcio:

Fósforo At%	Primera aplicación	Segunda aplicación
Media	1,40	0,54
Mediana	1,24	0,56
Desviación estandar	0,40	0,27
Mínimo	0,9	0,23
Máximo	2,3	0,99
Rango	1,4	0,76

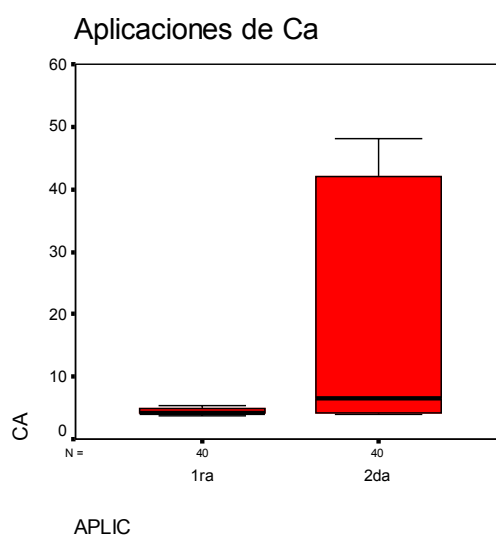


Con este gráfico box plot se observa que el fósforo presenta valores distintos entre la 1ra y 2da aplicación (At %).

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilatera)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
P	Se han asumido varianzas iguales	6,283	,014	11,055	78	,000	,8480	,07671	,69528	1,00072
	No se han asumido varianzas iguales			11,055	67,954	,000	,8480	,07671	,69493	1,00107

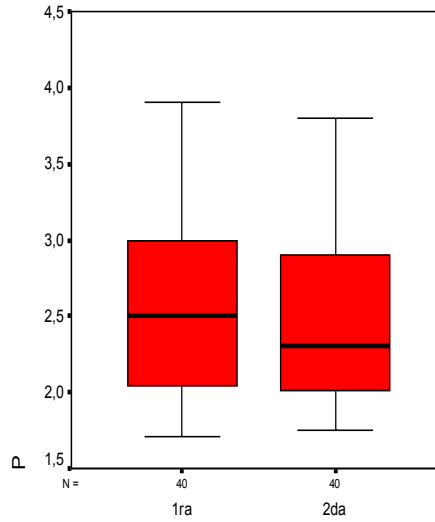
Utilizando la prueba de T de Student para comparación entre grupos se observan diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) con respecto a P entre la 1ra y la 2da aplicación (At %).

<b>Calcio At%</b>	<b>Primera aplicación 7 días</b>	<b>Segunda aplicación 15 días</b>
Media	4,45	20,15
Mediana	4,31	6,45
Desviación estandar	0,44	18,84
Mínimo	3,85	3,90
Máximo	5,36	48,00
Rango	1,51	44,10



A continuación, se presentan la respectiva tabla, según 1ra o 2da aplicación para Fósforo y Calcio Wt%:

<b>Fósforo Wt%</b>	<b>Primera aplicación 7 días</b>	<b>Segunda aplicación 15 días</b>
Media	2,62	2,56
Mediana	2,50	2,30
Desviación estandar	0,65	0,66
Mínimo	1,71	1,75
Máximo	3,90	3,80
Rango	2,19	2,05



APLIC

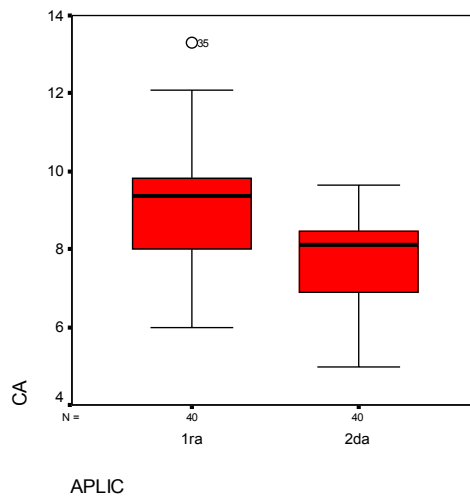
Con este gráfico box plot se observa que el fósforo presenta valores semejantes entre la 1ra y 2da aplicación.

Prueba de muestras independientes:

		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
P (WT %)	Se han asumido varianzas iguales. No se han asumido varianzas iguales	0,069	0,794	0,394	78	0,695	0,058	0,14728	-0,23522	0,35122
				0,394	77,998	0,695	0,058	0,14728	-0,23522	0,35122

Utilizando la prueba de T de Student NO se observan diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) con respecto a P entre la 1ra y la 2da aplicación (Wt%).

CalcioWt%	Primera aplicación 7 días	Segunda aplicación 15 días
Media	9,1273	7,6903
Mediana	9,3750	8,10
Desviación estandar	1,42643	1,29082
Mínimo	5,99	4,96
Máximo	13,30	9,65
Rango	7,31	4,69



Con este, gráfico box plot se observa que el calcio presenta valores menores en la 2da aplicación con respecto a la primera aplicación. En la primera aplicación se observa un valor alto (3,90) con respecto a los demás valores del grupo.

#### Prueba de muestras independientes.

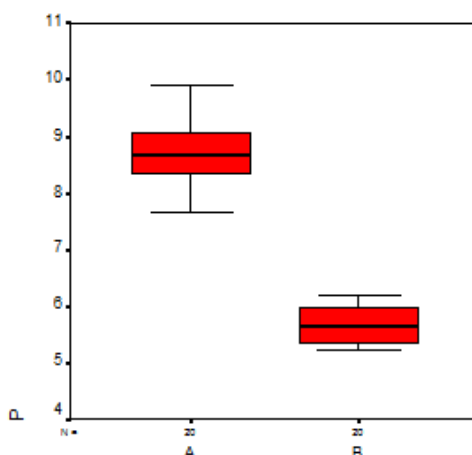
		Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
									Inferior	Superior
Ca (WT %)	Se han asumido varianzas iguales. No se han asumido varianzas iguales	0,034	0,853	4,724	78	0	1,437	0,30418	0,8314	2,04257
				4,724	77,234	0	1,437	0,30418	0,8313	2,04266

Utilizando la prueba de T de Student se observan diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) con respecto a Ca entre la 1ra y la 2da aplicación (Wt %).

Se analizaron 20 UE a los 2 meses y a los 4 meses, luego de retirado el barniz. Se realizó el análisis exploratorio de los datos P y Ca.

### Fósforo (P).

Estadísticos (P)		2 meses	4 meses
Media		8,70	5,66
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	8,45	5,51
	Límite superior	8,95	5,80
Error estándar		0,12	0,07
Mediana		8,69	5,67
Desviación estándar		0,53	0,31
Mínimo		7,65	5,24
Máximo		9,91	6,20
Rango		2,26	0,96



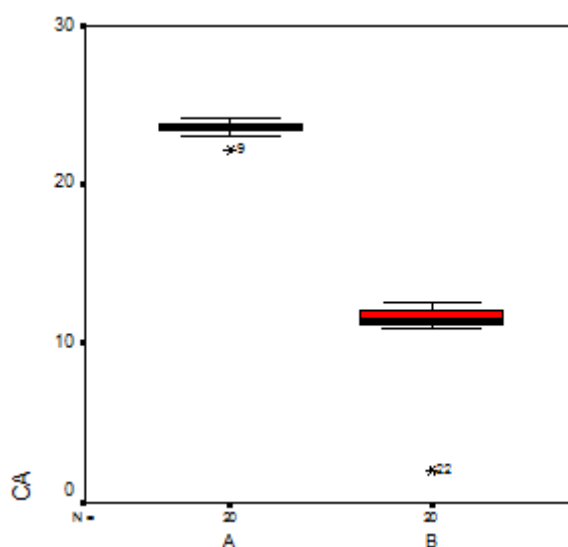
En este gráfico de caja y bigotes (box plot) se observa que para P, los datos a los 2 meses son más elevados que a los 4 meses, pero siendo más homogéneos en éste último.

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	4,29	0,045	22,1	38	0	3,045	0,138	2,7656	3,32436
No se han asumido varianzas iguales			22,1	30,5	0	3,045	0,138	2,7634	3,32662

Con el fin de detectar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre medias de P según fechas, se utilizó la prueba de Student. Se observa que las diferencias son significativas ( $p < 0,001$ ).

## Calcio (Ca).

Estadísticos (Ca)		2 meses	4 meses
Media		23,5210	11,11
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	23,3189	10,08
	Límite	23,7231	12,15
Error estándar		,09654	0,49
Mediana		23,53	11,39
Desviación estándar		0,43	2,21
Mínimo		22,21	1,99
Máximo		24,11	12,50
Rango		1,90	10,51



En este gráfico de caja y bigotes (box plot) se observa que para Ca los datos a los 2 meses son más elevados que a los 4 meses pero siendo los valores son más homogéneos que a los 2 meses.

	Prueba de Levene para la igualdad de varianzas		Prueba T para la igualdad de medias						
	F	Sig.	t	Gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Error típ. de la diferencia	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
								Inferior	Superior
Se han asumido varianzas iguales	2,258	0,141	24,7	38	0	12,4	0,502	11,39	13,42
No se han asumido varianzas iguales			24,7	20,5	0	12,4	0,502	11,36	13,45

Con el fin de detectar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre medias de Ca según fechas, se utilizó la prueba de Student. Se observa que las diferencias son significativas ( $p < 0,001$ ).



### Presencia de sílice y flúor.

Se realizó el análisis de sílice y flúor, At% y Wt% en:

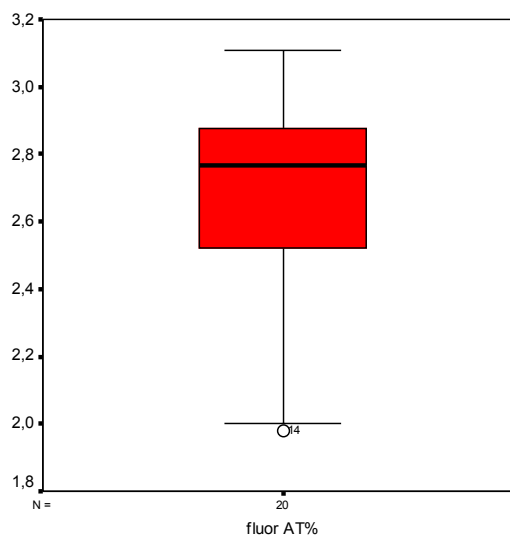
- Esmalte sin lesiones clínicas, sobre 20 (UE)
- Esmalte con lesiones clínicas, surcos cariados, sobre 20 (UE)
- Unidades experimentales (40) con una aplicación y dos aplicación de barniz en 40(UE).
- Unidades experimentales(20)con dos aplicaciones de barniz y analizados luego de su retiro, 10(UE) a los 2 meses y 10(UE), a los 4 meses arrojando los siguientes resultados:

### Flúor At%

Sobre 20 piezas dentarias cariadas no se registraron valores de flúor.

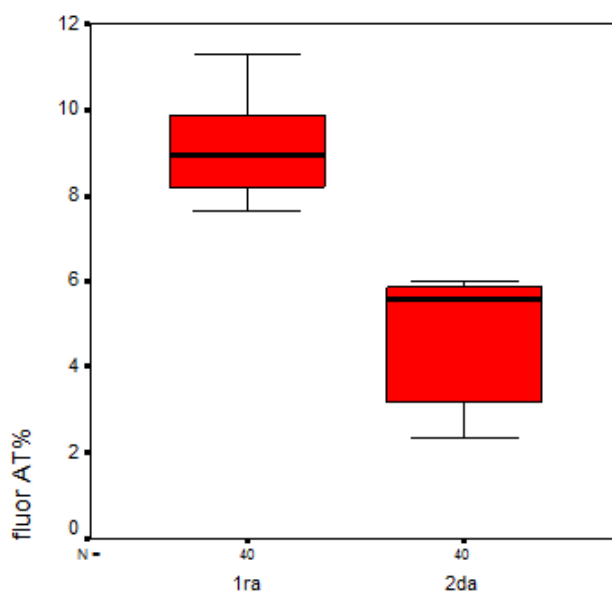
Las 20 (UE) sanas analizadas registraron los siguientes valores de flúor

Fluor AT%		Estadístico
Media		2,66
Error estándar		0,069
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	2,51
	Límite superior	2,8
Mediana		2,76
Desvío		0,31
Mínimo		1,98
Máximo		3,11
Rango		1,13



Sobre el análisis de 40 unidades experimentales con una y dos aplicaciones del barniz. Se registraron valores de flúor. A continuación se presentan los resultados:

Flúor At%		1º Aplicación	2º Aplicación
Media		9,02	4,71
Error estándar		0,16	0,22
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	8,68	4,25
	Límite superior	9,35	5,17
Mediana		8,93	5,55
Desv. típ.		1,04	1,44
Mínimo		7,61	2,36
Máximo		11,30	5,99
Rango		3,69	3,63



En la segunda aplicación los valores de flúor At% son menores que en la primera.

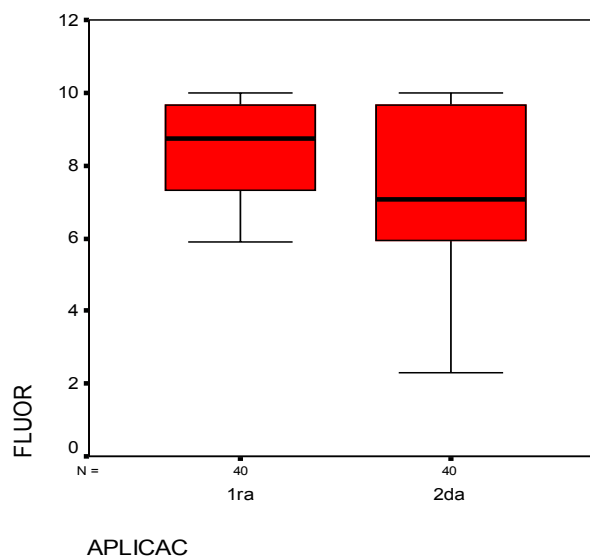
Para comprobar si hay diferencias entre los valores de flúor At% entre la 1ra y la 2da aplicación de barniz, se realizó la prueba de t ( $p < 0.05$ ). Se observan diferencias significativas ( $t: 15,25 ; p < 0,001$ ).

## Flúor Wt%

Sobre 20(UE) sanas y 20 unidades experimentales cariadas analizadas, no se registran valores de flúor.

Sobre 40 unidades experimentales observadas, luego de la primera y 2da aplicación de barniz, se registran valores de flúor. A continuación se presentan los resultados:

Flúor		1º Aplicación	2º Aplicación
Media		8,46	6,97
Error estándar		0,20	0,41
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	8,04	6,14
	Límite superior	8,87	7,80
Mediana		8,75	7,06
Desv. típ.		1,30	2,06
Mínimo		5,90	2,30
Máximo		10,00	10,00
Rango		4,10	7,70



Se observa que, en la 2da aplicación, los valores de flúor son menores que en la primera.

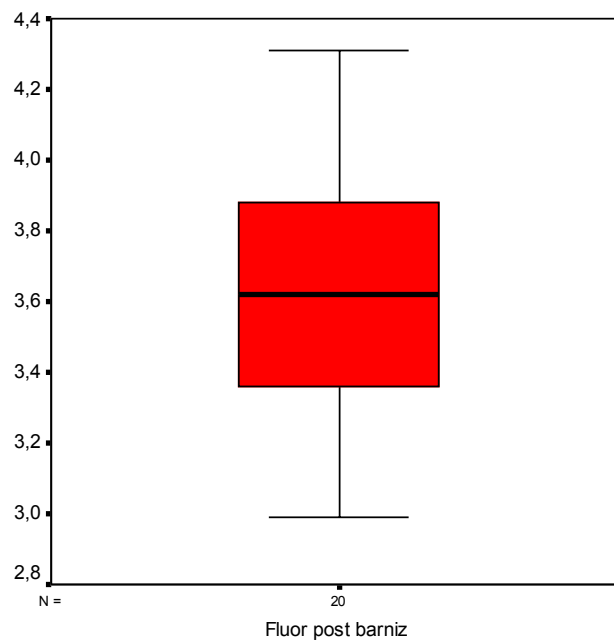
Para comprobar si hay diferencias entre los valores de flúor entre la 1ra y la 2da aplicación de barniz, se realizó la prueba de t ( $p < 0.05$ ).

Se observan diferencias significativas ( $t: 3,23$  ;  $p=0,002$ ).

### Análisis Flúor Post barniz.

Sobre 20 unidades experimentales analizadas, se presentan los resultados de flúor a los 4 meses.

Flúor post barniz		Estadístico
Media		3,62
Error estándar		0,08
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	3,44
	Límite superior	3,8
Mediana		3,62
Desv. típ.		0,38
Mínimo		2,99
Máximo		4,31
Rango		1,32



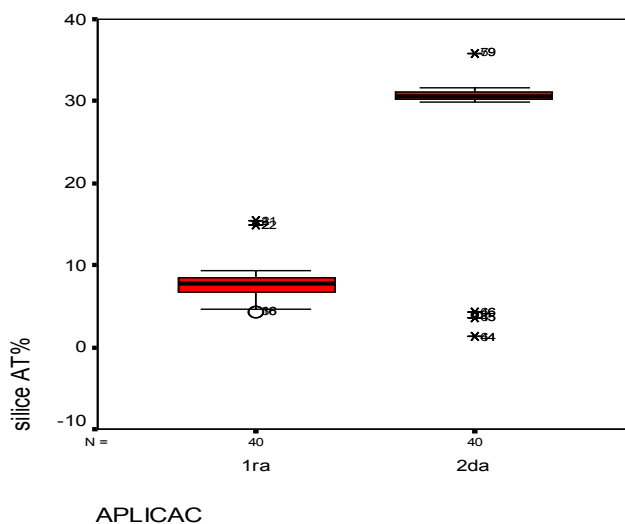
No se observan valores extremos en los datos de flúor post barniz.

## Sílice At%

Sobre 20 (UE) sanas y 20(UE) con caries analizadas, no se registran valores de sílice.

Sobre 40(UE) analizadas luego de la primera y segunda aplicación de barniz en las unidades experimentales, se registran valores de sílice. A continuación se presentan los resultados:

Sílice		1º Aplicación	2º Aplicación
Media		8,06	26,81
Error estándar		0,44	1,61
Intervalo de confianza para la media al 95%		Límite inferior	7,17
		Límite superior	8,95
Mediana		7,78	30,55
Desv. típ.		2,78	10,19
Mínimo		4,35	1,26
Máximo		15,40	35,89
Rango		11,05	34,63



En sílice At% se observan varios valores atípicos, tanto en la primera como en la segunda aplicación. En la segunda aplicación los valores de sílice son más altos.

Para comprobar si hay diferencias entre los valores de sílice entre la 1ra y la 2da aplicación de barniz, se realizó la prueba de t ( $p < 0.05$ ).

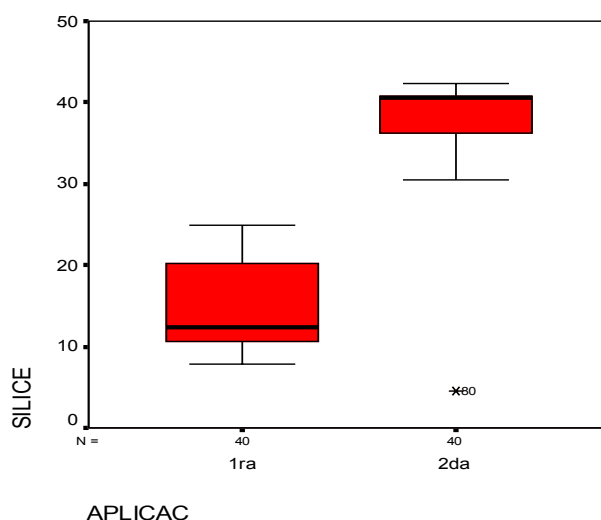
Se observan diferencias significativas ( $t: -11,25; p < 0,001$ ).

**Sílice Wt%:** (cantidad en peso en gramos).

Sobre 20(UE) sanas y 20 unidades experimentales cariadas analizadas, no se registran valores de sílice.

Sobre 40 unidades experimentales observadas, luego de la primera y 2da aplicación de barniz, se registran valores de sílice. A continuación se presentan los resultados:

Sílice		1° Aplicación	2° Aplicación
Media		14,72	37,65
Error estándar		0,83	1,04
Intervalo de confianza para la media al 95%	Límite inferior	13,05	35,54
	Límite superior	16,39	39,76
Mediana		12,40	40,60
Desv. tít.		5,23	6,58
Mínimo		7,80	4,50
Máximo		25,00	42,30
Rango		17,20	37,80



Para comprobar si hay diferencias entre los valores de sílice entre la 1ra y la 2da aplicación de barniz, se realizó la prueba de t ( $p < 0.05$ ).

Se observan diferencias significativas ( $t: -17,24; p < 0,001$ ).

## 8. DISCUSIÓN

Harper y col. (1987) plantearon que los productos lácteos, incluido la leche el queso y la caseína pueden reducir el potencial cariogénico de varios sustratos, evaluado por medio de sistemas in vitro en acidez de la placa y en animales y concluyeron que, aún cuando los mecanismos responsables de la protección no están completamente identificados sustancias que contienen calcio y fósforo, pueden contribuir al potencial protector reduciendo la desmineralización y promoviendo la remineralización del esmalte (88).

Reynolds y col (1995) retomaron esta línea de investigación y plantearon que los fosfopéptidos de la caseína estabilizan el fosfato de calcio por medio de la formación de un complejo de fosfato de fosfopéptidos de caseína-fosfato de calcio amorfo (FPC-FCA) (89).

Roberts en 1995 planteo la importancia de buscar alternativas al fluoruro como agente anticariogénico y discutió la extrapolación de los datos obtenidos en el laboratorio al campo clínico respecto de la eficacia anticaries de los fosfopéptidos obtenidos a partir de la caseína del trifosfato de sodio en combinación con los fluoruros. Finalmente recomendó una serie de estrategias para la evaluación apropiada de estudios de laboratorio (90).

Si bien los resultados obtenidos del siguiente trabajo de tesis, demostraron que no hubo una remineralización significativa, los datos obtenidos permitieron analizar que se mantuvieron los niveles de calcio y fosfato perdidos en la desmineralización, indicando un fomento hacia la remineralización a partir de la incorporación del flúor.

En 1996, Schupbach y cols investigaron el proceso del efecto protector de la leche y sus derivados contra la caries dental, con la hipótesis de que dicho efecto fuera mediado, por la caseína miselar o los derivados de péptido-caseína (91).

En 1997, Reynolds a partir de la hipótesis de que los fosfopéptidos de la caseína estabilizan el fosfato de calcio amorfo, realizó un estudio in vitro para demostrar la capacidad del FPC-FCA para remineralizar lesiones subsuperficiales de terceros molares humanos empleando soluciones de FPC-FCA, analizando el aumento de pH, la disminución de concentración de calcio y fosfato libre y el aumento de FPC unido al FCA (93). En este estudio aunque la mayoría de las soluciones remineralizantes estuvieron sobresaturadas respecto de las fases de fosfato de calcio cristalino y amorfo, las soluciones se estabilizaron con FPC para evitar la precipitación espontánea del fosfato de calcio. Después de 10 días, los especímenes fueron seccionados microradiografiados y el contenido mineral fue determinado por microdensitometría. Todas las soluciones se depositaron en el cuerpo de la lesión, los resultados revelaron que la solución al 1,0% de FPC-FCA (pH 7,0) reemplazaba un 63,9+/- 20,1% de la pérdida mineral. La capacidad remineralizante fue mayor para las soluciones con mayor nivel de iones de calcio y fosfatos libres estabilizados con FPC, pero no se relacionó significativamente con el grado de saturación de la hidroxiapatita del fosfato octocalcico o del FCA. Sin embargo resulto significativamente correlacionada con el grado de saturación del fosfato de calcio dihidrogenado, fenómeno atribuido a la relación significativa con los gradientes de actividad a partir de la solución de algunos iones, fosfato de calcio y iones pares. Es decir que el FPC por estabilización del fosfato de calcio en

solución mantiene altas concentraciones de iones de calcio y fosfato y de iones pares dentro de la subsuperficie y determina altos niveles de remineralización del esmalte (92).

En 1998, Reynolds realizó una revisión sobre el tema y concluyó que los estudios efectuados con el complejo FCP-FCA poseen actividad anticariogénica. El FPC se produce a través de la digestión de la proteína de la leche con el agregado de fosfato de calcio y purificación por ultrafiltración. El FPC tiene una marcada habilidad para estabilizar el fosfato de calcio en solución y aumentar sustancialmente el nivel de fosfato de calcio en la placa dental. El mecanismo propuesto para el FCP-FCA es el siguiente: localización del FCA en la placa dental, con actividad neutralizadora del fosfato y el calcio, mantenimiento del estado de sobresaturación respecto del esmalte dentario desmineralizado y estímulo de la remineralización (93).

A diferencia del fluoruro, el compuesto FPC-FCA puede adicionarse a los alimentos que contienen sacarosa y adquiere un fuerte valor comercial sobre su potencial empleo en alimentos pastas dentales y enjuagues para el control de caries.

Los estudios de Reynolds y cols (2000) confirmaron la mejor capacidad remineralizante comparada con el fosfato de calcio no estabilizado y las condiciones de dosis respuesta del compuesto. La investigación incluyó observación de placa dental por microscopía electrónica de transmisión donde a partir del FPC estabilizó el FCA y puede ser usado para ubicarlo en la placa dental manteniendo el estado de sobresaturación respecto del mineral adamantino, reduciendo la desmineralización y fomentando la remineralización (94).

Rosé (2000) desarrolló un estudio para investigar éstos efectos midiendo la acción del FPC-FCA sobre la difusión del calcio en la placa. Utilizó un sistema de efusión de Dibdín para medir la difusión del calcio en un modelo de placa estreptocócica y demostró que al proveer un gran sitio de unión posible para el calcio, el 0.1% del FCP-FCA reduce el coeficiente de difusión de calcio en un 65% en un Ph de 7 y en un 35% a un Ph de 5, permitiendo la unión del FPC Y EL FCA a la placa, proveyendo un reservorio de calcio dentro de la misma y reduciendo la filtración del calcio libre. Esto restringe la pérdida mineral durante los episodios cariogénicos y provee un potencial fuente de calcio para la remineralización. Es decir que el FPC-FCA puede restringir el proceso de caries (95) (96).

Siguiendo sus líneas de estudios Reynolds (2008), teniendo en cuenta la opinión de varios autores, determinó que el flúor posee un poder limitante, pues su capacidad de acción está ligada a la biodisponibilidad de iones calcio y fosfato provenientes de la saliva, los mismos que muchas de las veces son insuficientes (97) (98).

Además, según Walsh (2008) la aplicación tópica de este producto a altas concentraciones fomenta la formación de una capa superficial hipermineralizada que impide la difusión de los agentes remineralizantes hacia el cuerpo de la lesión (99) (100). De allí que Ten Cate et al. (2008) en varios de sus estudios han concluido que la remineralización es muy lenta y la completa ganancia de minerales a niveles óptimos posiblemente tomaría varios años (101) (102) (103).

Por todo lo expresado, teniendo en cuenta las referencias bibliográficas de los mencionados autores, a partir de la línea de investigación realizada, la incorporación de este nuevo complejo remineralizante “Fosfopéptido de caseína – fosfato de calcio amorfo fluorado” hecho a base de una proteína de la leche la “caseína” con calcio, fosfato y flúor añadido al 5% (Barniz, Mi Varnish) ofrece la posibilidad de complementar y mejorar la capacidad del flúor (104).



Se observó que el barniz fluorado Mi Varnish a base de CPP-ACP es capaz de remineralizar (104) de manera significativa las lesiones incipientes de caries a partir de las 16 semanas de tratamiento especialmente aquellas lesiones tipificadas según el sistema ICDAS II (105) (106) como 3 activas, mientras que en las lesiones localizadas en superficies lisas la remineralización se evidencia antes; a la cuarta semana de tratamiento según bibliografías consultadas.

## 9. CONCLUSIONES

El sistema de análisis ICDAS II “International Caries Detection and Assessment System” permitió detectar y evaluar los diferentes estadios de la caries dental desde sus fases tempranas, justificando las acciones llevadas a cabo, permitiendo la implementación de un tratamiento no invasivo (utilización de barniz, My Varnish), capaz de detener las lesiones incipientes, haciendo hincapié en los procesos de desmineralización – remineralización, eje de este estudio.

Se contempló códigos 1, 2 y 3 establecidos según protocolo de evaluación sistema ICDAS II.

Los resultados de las variaciones de la microdureza del esmalte y dentina a través del microdurómetro permitieron evaluar las propiedades de los diferentes componentes microestructurales arrojando una diferencia significativa respecto del esmalte y dentina indicando la posibilidad de absorción del material en estudio (Mi Varnish).

La dureza adamantina decrece desde la superficie libre a la conexión amelodentinaria determinando, que el esmalte presenta una mayor dureza o impronta respecto a la dentina, permitiendo concluir que existe una relación directa con la posibilidad de lograr la remineralización.

El análisis de los estudios de **Espectrofotometría** demostró:

1- Se observan diferencia entre los espectros del diente sin tratar y tratado con barniz correspondiendo con picos de absorción del barniz, por lo que podría atribuirse a restos del mismo.

2- La magnitud de la diferencia es muy baja, lo que puede deberse a un efecto de dilución de la zona tratada en la masa total de diente molido.

La espectrometría dispersa en energía demostró un aumento significativo de los porcentajes de calcio y fósforo, a los cuatro meses posteriores al retiro de barniz.

El análisis realizado con **microscopía electrónica**, nos muestra:

1- Las unidades experimentales, observadas en el sector de esmalte sano, mantienen el porcentaje de calcio y fósforo.

2- La observación de esmalte con surcos cariados, demostraron diferencias significativas con la disminución del porcentaje de los diferentes oligoelementos, indicando una desmineralización del esmalte.

3- El análisis de los surcos cariados con una primera aplicación de barniz, mantuvieron los niveles bajos de porcentaje de calcio y fósforo, característico de todo proceso de desmineralización.

4- La observación de las unidades experimentales con una segunda aplicación de barniz, mostraron un incremento en la incorporación de flúor y elevó en forma no significativa los porcentajes de calcio y fósforo.

5- Los valores de calcio y fósforo no aumentaron en el momento de retiro del barniz a los 2 meses, sino que se mantuvieron en sus porcentajes iniciales dada por la incorporación de flúor.

6- El sílice no se encuentra, persé en las piezas dentarias, solo se registró, algunas unidades experimentales con bajo porcentaje según el análisis con microscopía electrónica y espectrometría dispersa en energía, aumentando luego en la primera y segunda aplicación considerablemente, sugiriendo, su presencia debido al sílice presente en el silicagel (medio de mantenimiento) que se utilizó para conservarlas, libres de humedad, para su posterior metalización, condición necesaria para ser analizadas.

Esto, expresa, que la aplicación de Mi Varnish sería efectivo por la incorporación de fluoruro de sodio (componente del mismo, al 5%), manteniendo los niveles de calcio y fosfato (disminuidos por la desmineralización), sugiriendo así la posibilidad de ser utilizado como un cariostático, sellador de fosas y fisuras en los surcos cariados (código 3, según ICDAS II) deteniendo la desmineralización, manteniendo los niveles de calcio y fósforo en las diferentes unidades experimentales.

## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- 1- McDonald R, Avery D. Odontología Pediátrica y del adolescente, Caries dental en el niño y el adolescente. Amolca 2014 cap10, pag177 a201.
- 2- Cameron, Angus C; Widmer, Richard P; Abbott, Paul. Manual de Odontología Pediátrica. 3a. ed. Barcelona: Elsevier, c2010. (Ubicación D27 - C 3).
- 3-Bordoni, Noemí; Escobar Rojas, Alfonso; Castillo Mercado Ramón. Odontología pediátrica: la salud bucal del niño y el adolescente en el mundo actual. Buenos Aires: Médica Panamericana, c2010. (Ubicación D27 - B 6).
- 4 Boj, Juan R. Boj varios. Odontopediatria. Barcelona. Masson. España. 2005.
- 5- Ten Cate, J. (2008). Remineralization of deep enamel dentine caries lesions. *Australian Dental Journal*, 53(3), 281-285. doi:10.1111/j.1834-7819.2008.00063.x
- 6- Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization system: scientific evidence? *Aus Dent J* 2008; 53:268-73.
- 7- Newbrun E, Cariology, Quintessence Books, Chicago 1989
- 8- Fejerskov O. Changing Paradigms in concepts on dental caries: Consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004; 38:182-91
- 9- Bordoni, Escobar Rojas. Castillo Mercado. Diagnostic code caries. Edit. Panamericana, cap. 9 pag, 265.
- 10- McDonald R, Avery D. Odontología Pediátrica y del adolescente, Higiene oral mecánica y quimioterapéutica en el hogar. Amolca 2014. cap11, pag205-221.
- 11- Biondi Ana M, Cortese, Silvina G, Odontopediatria: Fundamentos y practicas para la atención integral personalizada, Ed. Alfaomega 1 ed. 2010. Pag, 141.
- 12- Lussi A, Hibst R, Paulus R. DIAGNOdent: An optical method for caries detection. *J Dent Res* 2004; 83(spec IssC):C80-C83.
- 13- Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, Pitts NB. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007; 35:170-8
- 14- Kudiyirickal MG, Ivančáková R. Early enamel lesion. Part II. Histo-Morphology and prevention. *Acta Medica* 2008; 51:151-6.
- 15- Barder JD, Shugars DA, Bonito AJ. A systematic review of selected caries prevention and management methods. *Commun Dent Oral Epidemiol* 2001; 29:399-411, 38:859-67.
- 16- Barder JD, Shugars DA, Bonito AJ. A systematic review of the performance of methods for identifying carious lesions. *J Public Health Dent* 2002; 62:201-13
- 17- Silverstone LM, Johnson NW, Hardie JM *et al.* Dental caries: Aetiology, Pathology and Prevention. London: Macmillan Press Ltd; 1981. The Swedish Council on Technology Assessment in Health Care: Caries diagnosis, risk assessment and non-invasive treatment. A systematic review. Summary and conclusions. Report N°188 2007. ISBN: 978-91-85413-21-8.
- 18- Nocchi Conceicao, Ewerton. Odontología restauradora: salud y estética. 2a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2008. (Ubicación D2 - N 60).
- 19- Nagano T Relation between the form of pit and fissure and the primary lesions of caries. *Dent Abstr* 1961; 6:426.
- 20- Penning C, Van Amerongen JP, Seef RE, Ten Cate JM. Validity of probing for fissure caries diagnosis. *Caries Res* 1992; 26:445-9.
- 21- Cross KJ, Huq NL, Reynolds EC. Casein Phosphopeptides in oral health- chemistry and clinical applications. *Curr Pharm Des* 2007; 13:793-800.
- 22- Anusovice, K. Ciencias de los materiales dentales de Phillips. 10° edición. Mc Graw-Hill Interamericana. México 1996.

- 23- Higashida Hirse E, Bertha Yoshiko. Odontología preventiva. 2a. ed. México: McGraw-Hill, 2009. (Ubicación D5 - H 38).
- 24- Roberson, Theodore M.; Heymann, Harald O.; SWIFT, Edward J. Sturdevant arte y ciencia de la odontología conservadora. 5a. ed. Barcelona: Elsevier, c2007. (Ubicación D2-R 60).
- 25- Gomez de Ferraris, María Elsa. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 3a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2009. (Ubicación D1 - G 62).
- 26- Gomez de Ferraris, María Elsa. Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental. 2a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2009. (Ubicación D17- N 20).
- 27- Segura Egea, Juan José: Embriología e Histología Dental. Catedrático de Patología y Terapéutica Dental Dpto de Estomatología, Univ de Sevilla .2010.
- 28- Geneser, Finn: Histología, edit. Panamericana. 3ra edición (2009).
- 29- Abramovich, A, Histología y Embriología dentaria. Editorial Médica Panamericana S.A Argentina, (1984) pp118-149.
- 30- Carrillo. S.C. (2010) Desmineralización y remineralización. El proceso en balance y la caries dental. *Revista ADM*. enero-febrero. vol. LXVII. Número 1; 67 (1): 30-2 <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2010/od101g.pdf>
- 31- García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface. The role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *JADA* 2008; 139: 25S-35S.
- 32- Nyvad B, Fejerskov O. Clinical and histological features observed during arrestment of active enamel carious lesions. *Scand J Dent Res* 1987; 95:297-307.
- 33- Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries enamel structure and the caries process in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 2). *J Clin Pediatr Dent* 2004; 28:119-24.
- 34- González-Cabezas C. The Chemistry of caries: Remineralization and demineralization events with direct clinical relevance. *Dent Clin N Am* 2010; 54:469-78.
- 35- Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaiz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization. *J Clin Pediatr Dent* 2004; 28:203-14.
- 36- Léa Assed Bezerra da Silva, Tratado de Odontología Pediátrica. Tomo 1. Amolca 2010, cap4-Flúor, pag. 113.
- 37- Bordoni, Escobar Rojas. Castillo Mercado. Usos de fluoruros y tecnología de remineralización. Edit. Panamericana, cap 15. Pag 317
- 38- Giordano, S, Usos y Efectos del Fosfato de Calcio Amorfo (FCA) en la Odontología Restauradora y Preventiva, *Acta Odontológica Venezolana*- Vol. 48 N° 3/2010.
- 39- Huang S, Gao S, Cheng L, Yu H. Remineralization potential of Nanohydroxyapatite on initial enamel lesions: An *in vitro* study. *Caries Res* 2011; 45:460-8
- 40- Cochrane NJ, CAI F, Huq NL, Burow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res* 2010; 89: 1187-97.
- 41- Negroni, Marta. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica 7-
- 42- Loyo K, Balda R, González O, Solórzano AL, González M. Actividad cariogénica y su relación con el flujo salival y la capacidad amortiguadora de la saliva. *Acta Odontol Venez* 1999; 3.
- 43- Batellino L J. Factores Salivales de defensa no inmunoglobulínicos. *Rev. Dent. de Chile* 1997; 88 (1): 22-27.

- 44- Pdf.Saliva artificial Huca 2 de abril 2009
- 45- Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997;76:1587-95
- 46- El Sayad I, Sakr A, Badr Y. Combining casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate with fluoride: synergistic remineralization potential of artificially demineralised enamel or not?. *J Biomed Opt* 2009; 14:044039(1-6).
- 47- Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbass AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite tooth pastes. *J Dent* 2011; 39:430-7.
- 48- Marinho VCCC, Higgins JPT, Logan S, Sheiham A. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; 4:CD002782.
- 49- Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds AC. Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2001; 80:2066-70.
- 50- Cai F, Shen P, Morgan MV, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by sugar-free lozenges containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Aust Dent J* 2003; 48:240-3.
- 51- Reynolds EC. The prevention of subsurface desmineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res* 1987; 66:1120-7.
- 52- Aimutis WR. Bioactive properties of milk protein with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr* 2004; 134:989S-995S.
- 53- Poggio C, Lombardini M, Dagna A, Chiesa M, Bianchi S. Protective effect on enamel desmineralization of a CPP-ACP paste: an AFM *in vitro* study. *J Dent* 2009; 37: 949-54.
- 54- Oshio M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, Ando S, Miyazaki M. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci* 2007; 2:115-20.
- 55- Rao SK, Bhat GS, Aradhya S, Devi A, Bhat M. Study of efficacy of toothpaste containing casein phosphopeptide in the prevention of dental caries: A randomized controlled trial in 12-15 year-old high caries risk children in Bangalore, India. *Caries Res* 2009; 43:430-5.
- 56- Walker GD, Cai F, Shen P, Bailey DL, Yuan Y, Cochrane NJ, Reynolds C, Reynolds EC. Consumption of milk with added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralizes enamel subsurface lesions *in situ*. *Aust Dent J* 2009;54: 245-9.
- 57- Gjorgievska E, Nicholson JW. A preliminary study of enamel remineralization by dentifrices based on Recaldent™ (CPP-ACP) and NovaMin® (calcium sodium phosphosilicate). *Acta Odontol Latinoam* 2010; 3:234-9.
- 58- Walker GD, Cai F, Shen P, Bailey DL, Yuan Y, Cochrane NJ, Reynolds C. Consumption of milk with added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate remineralizes enamel subsurface lesions *in situ*. *Aust Dent J* 2009 Sep.;54(3):245-9. PubMed PMID: 19709113
- 59- Cedillo, J. (2012). Uso de los derivados de caseína en los procedimientos de remineralización. *Asociación Dental Mexicana*, 69(4), 191-199. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2012/od124i.pdf>
- 60- Simeone G.S. "Uso y efectos del Fosfato de Calcio Amorfo (FCA) en la Odontología Restauradora y Preventiva". *Acta Odontológica Venezolana* – (Volumen 48) N°3/2010 pág. 2:3:9
- 61- Cross JK, Huq NL, Bicknell W, Reynolds EC. Cation-dependent structural features of  $\beta$ -casein (1-25). *Biochem J* 2001; 356:277-86.-Mazzaoni SA, Burrow MF, Tyas MJ, Dashper SG, Eakins D, Reynolds EC.

- 62- Mazzaoni SA, BurrowMF, TyasMJ, DashsperSG, Eakins D, Reynolds EC. Incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate nanocomplexes. *J Biol Chem* 2005; 15:15364-9.
- 63- Reynolds EC. Anticariogenic phosphopeptides. 1995 US. Patent 5, 015, 628.
- 64- Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH *et al* Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995; 74:1272-9.
- 65- Ferrazzano GF, Cantile T, Ingenito A, Chianesa L. News strategies in dental caries prevention: experimental study on casein phosphopeptides. *Eur J Paediatr Dent* 2007; 4:183-7.
- 66- Juárez-López MLA, et al. CPP-ACPF, efecto preventivo y de remineralización. *Rev Invest Clin* 2014; 66 (2): 144-151
- 67- Llana, C., Forner, L., & Baca, P. (1 de Mayo de 2009). *Anticariogenicity of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate*. Recuperado el 22 de Noviembre de 2014, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19430620>
- 68- Reynolds, E. (2008). Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence. *Australian Dental Journal*, 53(3), 268-273. doi:10.1111/j.1834-7819.2008.00061.x
- 69- Reynolds, E. (2009). Casein phosphopeptide - amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Advances in Dental Research*, 21(1), 25-29. doi: 10.1177/0895937409335619
- 70- Simeone, S. (2010). *Usos y efectos del fosfato de calcio amorfo (FCA) en la odontología restauradora y preventiva*. Recuperado el 20 de Julio de 2014, de Acta Odontológica Venezolana: <http://actaodontologica.com/ediciones/2010/3/pdf/art24.pdf>.
- 71- Walker G, Cai F, Shen P *et al...* Increased remineralization of tooth enamel by milk containing added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dairy Res* 2006; 73:74-8.
- 72- Rojas, V., Marín, P., Sandoval, F., & Bader, M. (2014). Mecanismo de acción y evidencias actuales de CPP-ACP. *Revista BioMater*, 1(1), 46-59. Obtenido de <http://www.biomater.cl/wp-content/uploads/2014/05/Revista-Biomater-Volumen1-N%C3%BAmero1-2014.pdf>
- 73- Gutiérrez, B., Planelles, P. (2010) Actualización en odontología mínimamente invasiva: remineralización e infiltración de lesiones incipientes de caries. *Cient Dent*; 7; 3:185-187.
- 74- Pretty IA. Caries detection and diagnosis: Novel technologies. *J Dent* 2006; 34:727-39. International Caries Detection And Assessment System Coordinating Committee. Rationale and Evidence for the International Caries Detection And Assessment System (ICDAS II) 2005 September. Disponible en: [www.icdas.org](http://www.icdas.org)
- 75- Fernández R; S.M.Iriquin; M. Rimoldi; et al. La importancia del diagnóstico de caries: ICDAS II. Memorias de las Primeras Jornadas de Actualización en Prácticas Integradas S.E.P.O.I., ISBN 978- 950-34-1273-2, EDUFOLP. Pág., 11-12.
- 76- Iriquin, S.M.; Mendes, C.A.; Rancich, L.E.; Rimoldi, M.L.; Mazzeo, DA.; Oviedo Arévalo, J.J. Determinar la confiabilidad de los registros ICDAS II entre los integrantes de un trabajo de investigación. *Revista de la Facultad de Odontología. Publicación Informática y Científica*. N° 2 Año 2014 CAICYT/ CONICET ISSN 1514-6898. Pág. 10 FOUNLP.
- 77- Askeland, Ronald R. (2011). «6». *Ciencia e ingeniería de materiales* (6° edición). México, D. F.: Cengage Learning. pp. 223-226.
- 78- <http://scienceworld.wolfram.com/physics/FourierTransformSpectrometer.html>
- 79- [http://es.wikipedia.org/wiki/Espectrofot%C3%B3metro\\_de\\_transformada\\_de\\_Fourier](http://es.wikipedia.org/wiki/Espectrofot%C3%B3metro_de_transformada_de_Fourier)

- 80- Aurengo, André; Petitclerc, Thierry. Biofísica. 1a.ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 2008. (Ubicación 612.017\_89).
- 81- Glaser Roland. Biofísica. Zaragoza: Acriba, 2003. (Ubicación 612.017 - G 47).
- 82- Kang, Kyung W., Echarri, Juan M., Llorente, Carlos L. Laboratorio de Investigaciones de Metalurgia Física “Ing. Gregorio Cusminsky (LIMF) Servicio de Microscopia Electrónica de Barrido y Microanálisis del Limf-Facultad de Ingeniería-UNLP, Departamento de Mecánica, 2009 Facultad de Ingeniería, UNLP
- 83- Yengopal V, Mickenautsch S. Caries preventive effect of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate (CPP-ACP): a meta-analysis. *Acta Odontol Scand* 2009; 67:321-32.
- 84- Fingerman, G; Iriquin, S; Rancich, L; Rimoldi, M et. Al. Detección de caries en primeros molares inferiores permanentes en una población infantil según índice ICDAS. Edición Especial Publicación Informática y Científica. 14° Jornadas Científicas de la facultad de Odontología. 12° Jornadas para jóvenes investigadores. 4° Jornadas para estudiantes integrantes de proyectos. Secretaria de Ciencia y Técnica de la FOLP. Año 2015/CAICYT/CONICET/ ISNN 1514-6898. Universidad Nacional del Centro de la Pcia. De Bs. Aires y la Universidad de Passo Fundo. Abril de 2014, Tandil, Bs.As., Argentina.
- 85- Mendes, C, Fingerman, G; Iriquin, S; Rancich, L; Rimoldi: Detección de caries en primeros molares inferiores permanentes en una población infantil según índice ICDAS. 14° Jornadas Científicas de la facultad de Odontología. 12° Jornadas para jóvenes investigadores. 4° Jornadas para estudiantes integrantes de proyectos. La Plata, 25 de noviembre.
- 86- Revista de la Sociedad Odontológica de La Plata (SOLP) Año XIV Número 44, Mayo 2012, pág.25.
- 87- Martin, T & Wahlert, J. Preparing teeth for viewing with scanning electron microscope (SEM). June 1; 1999.
- 88- Harper DS, Osborn JC, Clayton R et al. Modification of food cariogenicity in rats by mineral-rich concentrates from milk. *J Dent Res* 1987 Jan 66(1): 42-5
- 89- Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL et al. Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995 Jun 74(6): 1272-9.
- 90- Roberts AJ. Role of models in assessing new agents for caries prevention-non fluoride systems. *Adv Dent Res* 1995 Nov; 9 (3):304-11
- 91- Schupbach, neeser jr, golliard m et al. Incorporation of casein glycomacropeptide and casein phosphopeptide into the salivary pellicle inhibits adherence of mutans streptococci, *J dent res* 1996, oct; 75(10): 1779-88
- 92- Reynolds EC. Remineralization of enamel lesions by casein phosphopeptide stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997 Sep; 76 (9) 1587-95
- 93- Reynolds EC. Anticariogenic complexes of amorphous calcium phosphate stabilized by casein phosphopeptides: a review. *Spec Care Dentist* 1998 Jan-Feb ;18 (1): 8-16
- 94- Reynolds EC, Cai F Shen Walker Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a or sugar-free chewing gum. *J Dent* 2000 Mar; 28(3):206.
- 95- Rose RK. Effects of an anticariogenic casein phosphopeptide on calcium diffusion in streptococcal model dental plaques. *Arch Oral Biol* 2000 Jul 45(7): 569-75.
- 96- Rose rk. Binding characteristics of streptococcus mutans for calcium and casein phosphopeptide. *Caries res* 2000g sep- oct ;43(5): 427-31.
- 97- Reynolds EC, Cai F, Cochrane NJ, et al... Fluoride and casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2008; 87:344-8.



- 98- Manton DJ, Walker GD, Cai F, Cochrane NJ, Shen P, Reynolds EC. Remineralization of enamel subsurface lesions in situ by the use of three commercially available sugar-free gums. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Jul; 18(4): 284-90
- 99- Walsh LJ. Evidence-based practice: here to stay. *Australas Dent Pract*. 2009; 40(2): 146-152.
- 100- Laurence J. Walsh .Contemporary technologies for remineralization therapies: A review *International Dentistry SA*, 11, NO. 6.
- 101- Ten Cate JM, Larsen MJ, Pearce EIF, Fejerskov O. Chemical interactions between the tooth and oral fluids. En: Fejerskov O, Kidd E, editors. *Dental caries: The disease and its clinical management*. Oxford: Blackwell; 2008. 13. Moradian-Oldak J. Protein-m
- 102- Ten Cate, J., Jongebloed, W., & Arends, J. (1981). Remineralization of artificial enamel lesions in vitro. IV. Influence of fluorides and diphosphonates on short and long-term remineralization. *Caries research*, 15(1), 60-69. Obtenido de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6937252>.
- 103- Ten Cate JM, Arends J. Remineralization of artificial enamel lesions in vitro: III. A study of the deposition mechanism. *Caries Res*. 1980 Nov; 14(6): 351-8.
- 104- Lata, S., Varghese, N, & Varughese, J. (2010). Remineralization potential of fluoride and amorphous calcium phosphate-casein phospho peptide on enamel lesions: an in vitro comparative evaluation. *Journal of conservative dentistry*, 13(1), 42-46. doi:10.4103/0972-0707.62634.
- 105- Iriquin, S.M.; Mendes, C.A.; Rancich, LE.; Rimoldi, M.L.; et.al. Correlación en el Diagnóstico de Caries entre el Índice ICDAS II y el Índice CPOD y el ceod. ..13° Jornadas Científicas de Investigación de la Facultad de Odontología. 11° para Jóvenes Investigadores. 3° Jornadas para Estudiantes Integrantes de Proyectos 24 de Octubre, La Plata Bs. As., Argentina. Publicación Informativa y Científica. Edición Especial. 13° Jornadas Científicas de la Facultad de odontología. Año 2014. ISSN 15146898, EDUFOLP. Pág.14- 19.
- 106- Braga MM, Mendes FM, Martignons, Ricketts DNJ, Ekstrand KR. In Vitro comparison of Nyvad's System an ICDAS II with lesion activity of occlusal caries lesions in primary teeth. *Caries Res* 2009; 43:405-12.