

**Prevención de la desmineralización dental por uso de aparatología
ortodóntica fija y su remineralización**

Dra. en C.S. Edith Lara Carrillo, Facultad de Odontología UAEM

e-mail: elarac@uaemex.mx

Dr. en O. Toshio Kubodera Ito, Facultad de Odontología UAEM

e-mail: tkuboderai@uaemex.mx

Dr. en C.M. Raúl A. Morales Luckie, Facultad de Química UAEM

e-mail: ramoralesl@uaemex.mx

M. en C.O.O. Saraí López González, Facultad de Odontología UAEM

e-mail: sarailogo@hotmail.com

M. en End. Gabriel Arzate Sosa, Facultad de Odontología, Universidad Isidro

Fabela de Toluca

e-mail: arzategabriel@hotmail.com

Área del conocimiento: Ciencias de la Salud (Odontología)

Introducción

El fenómeno de la desmineralización-rem mineralización es un ciclo continuo pero variable, que se repite con la ingesta de los alimentos; específicamente los carbohidratos, que al metabolizarse en la placa dental, forman ácidos que reaccionan en la superficie del esmalte, la cual cede iones de calcio y fosfato y altera la estructura cristalina de la hidroxiapatita, tornándola más susceptible a ser remineralizada. Si no continúa la producción de ácidos después de 30 a 45 minutos, el pH sube y los minerales en forma iónica tienden a incorporarse a la estructura dentaria (Monterde, 2002).

La lesión de mancha blanca es la primera expresión clínica de la desmineralización, que ocurre sobre la superficie del esmalte, como resultado de alteraciones sucesivas del pH (Livas et al., 2008).

La formación de lesiones de mancha blanca durante el tratamiento de ortodoncia, se han asociado con la acumulación prolongada de placa bacteriana en las superficies del esmalte adyacentes a la aparatología fija, pues es un hecho que la remoción de la misma es muy complicada y es seguida de la producción de ácido y pérdida de la sustancia calcificada del diente (Livas et al., 2008).

Las características que alteran la superficie del diente pueden presentarse como un problema estético incluso más de 5 años después del tratamiento (Castellanos et al., 2013).

Generalmente para la prevención e inhibición de la desmineralización durante el tratamiento con aparatología fija, se recomienda el uso combinado de fluoruro, instrucciones de higiene oral y un control dietético del paciente, pero es muy cierto

que no todos los pacientes son cooperadores, por lo que se buscan día a día alternativas para combatir esta problemática.

Se ha comprobado el efecto remineralizante de la saliva natural, la saliva artificial y de sustancias con fases mineralógicas que contienen calcio y fosfato, lo que representa una esperanza para la conservación de la integridad de esta estructura y de las subyacentes (Ogaard et al., 2001).

La búsqueda de productos que sean biocompatibles y se incorporen a la estructura del esmalte, de forma que lo remineralicen y/o reparen, constituye un desafío para la investigación en odontología. Por tanto, con el desarrollo de la presente investigación se pretende evaluar alternativas de remineralización; así como de prevención en órganos dentales con aparatología fija.

Marco de referencia

Desmineralización y remineralización del esmalte dental

El fenómeno de la desmineralización-remineralización es un ciclo continuo, en el que específicamente los carbohidratos al metabolizarse en la placa dental, forman ácidos que alteran la estructura de la hidroxiapatita, tornándola más susceptible a ser remineralizada (Monterde, 2002).

El punto crítico para que ocurra la desmineralización se encuentra en un pH de 5.5 a 5.6 (Barrancos et al., 2006).

Los procesos de desmineralización y remineralización consisten: la primera en la disolución de iones de calcio y fosfato a partir de los cristales de hidroxiapatita,

éstos se pierden en la placa bacteriana y en la saliva. En la remineralización, el calcio, fósforo y otros iones presentes en la saliva y en la placa bacteriana se depositan de nuevo en las partes previamente desmineralizadas (Harris, 2001).

Sin embargo, la escasez de estos iones de calcio y fósforo puede ser un factor limitante para la remineralización del esmalte (Marchan de Alcaíno et al., 2007; Rabelo et al., 2010)

La desmineralización ocurre cuando los ácidos penetran en el esmalte, estos disuelven los cristales de apatita y liberan iones de calcio y fósforo 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, viéndose en forma de manchas blancas (Zhao et al., 2011).

Desmineralización durante el tratamiento de ortodoncia

Las manchas blancas de descalcificación y la formación de caries debajo y alrededor de las bandas de ortodoncia o los brackets son los problemas más comunes en ortodoncia (Xiaojun et al., 2009). Se han asociado con la acumulación prolongada de placa bacteriana en las superficies del esmalte adyacentes a la aparatología fija, seguidas de la producción de ácido por la presencia de *Streptococcus mutans* y *Lactobacilos* y pérdida de la sustancia calcificada del diente (Villareal et al., 2011). Se ha informado que los niveles de *S. mutans* pueden aumentar hasta cinco veces durante el tratamiento de ortodoncia (Silva et al., 2008).

La formación de las lesiones alrededor de los brackets puede ocurrir a las 4 semanas de haber iniciado el tratamiento, con una prevalencia entre 2 a 96%. Su presencia al final del tratamiento ortodóncico compromete los resultados estéticos del mismo y aunque en la actualidad existen diversas formas de prevenirlo continúa siendo un problema clínico (Rabelo et al., 2010). Los dientes más afectados son los incisivos maxilares, molares mandibulares y premolares (González et al., 2009). Algunas lesiones de mancha blanca pueden remineralizarse y en los casos más graves será necesario un tratamiento restaurador para su corrección (Simeone, 2010).

La mayoría de los pacientes de ortodoncia son adolescentes con higiene oral baja o deficiente, lo que aumenta la probabilidad de acumulación de placa, y que a su vez conduce a la desmineralización del esmalte sano (Hess et al., 2011).

Los pacientes con aparatos ortodóncicos fijos son muy susceptibles a la acumulación de placa debido a que los métodos convencionales de higiene oral son más difíciles de aplicar con la presencia de brackets, bandas, alambres y aditamentos utilizados durante el tratamiento ortodóncico (Silva et al., 2008).

Métodos para disminuir la desmineralización y promover la remineralización durante el tratamiento de ortodoncia

El término remineralización, se ha utilizado para incluir cualquier intento de precipitación de calcio, fosfato y otros iones, dentro o sobre la superficie del esmalte sano o parcialmente desmineralizado. Estos iones, pueden originarse de

la disolución inicial del tejido, de una fuente externa o por combinación de ambos (Marchan de Alcaino et al., 2007).

Hay varios métodos para reducir al mínimo o prevenir la desmineralización y la formación de lesión de mancha blanca en el paciente ortodóncico. Los pacientes deben recibir asesoramiento en la dieta que hace hincapié en un consumo mínimo de carbohidratos fermentables. El consumo frecuente de alimentos azucarados o bebidas hace que el pH de la placa caiga por debajo del nivel crítico de 5,5 (Silva et al., 2008).

Las higiene oral y limpiezas regulares por parte del odontólogo han demostrado que disminuyen la probabilidad de desarrollar áreas de descalcificación; el cepillado de dientes eficaz (por lo menos dos veces al día) y el uso de hilo dental minimizará la cantidad de pérdida mineral dental (Silva et al., 2008).

El *Streptococcus mutans* es una de las principales bacterias implicadas en el proceso de formación de caries dental. La Clorhexidina es un agente antimicrobiano efectivo para reducir los niveles de *Streptococcus mutans*. Por lo tanto, un protocolo que utiliza un enjuague con Clorhexidina, gel, o barniz, puede ayudar en la prevención de la desmineralización (Silva et al., 2008).

Debido al uso omnipresente de fluoruro en nuestra sociedad, la progresión de la caries de esmalte es más lenta (Silva et al., 2008). Las fuentes de fluoruro incluyen dentífricos, enjuagues, espumas, geles, barnices, la liberación de fluoruro de agentes de unión y cementos, y la liberación de fluoruro en módulos elastoméricos y cadenas ortodóncicas.

El CPP-ACP (Casein Phosphopeptide–Amorphous Calcium Phosphate) interviene en el balance de la desmineralización y remineralización, tiene por objeto, reparar las pérdidas de mineral, es un péptido derivado de la caseína con calcio y fosfato que actúa como un reservorio de dichos elementos (Silva et al., 2008).

CPP-ACP se ha probado como un aditivo en una variedad de alimentos y productos de higiene oral, incluyendo: chocolates, gomas sin azúcar, bebidas deportivas, pastillas, cementos de ionómero de vidrio, dentífricos, enjuagues bucales, y MI Paste™ / Tooth Mousse™ (Silva et al., 2008).

El calcio y el fosfato se unen débilmente a la zona de la superficie dentaria, cuando se produce el ataque ácido hay una pérdida de mineral de la superficie dentaria y los enlaces que son débiles se rompen, liberando el calcio y el fosfato. La placa bacteriana y la saliva se saturan con calcio y fosfato y actúan como una reserva mineral, y a partir de esa reserva, la superficie dental se remineraliza (Laurence, 2008).

Existen tres sistemas de remineralización a base de fosfato de calcio (Aguirre et al., 2010).

La primera tecnología implica fosfopéptidos de caseína que estabiliza el fosfato de calcio amorfo (RECALDENT™ (CPP-ACP), donde se afirma que el fosfopéptido de caseína (CPP) ayuda a estabilizar las altas concentraciones de iones de calcio y fosfato (Aguirre et al., 2010).

La segunda tecnología usa el fosfato de calcio amorfo no estabilizado (ACP o ENAMELON™) donde sales de calcio y fosfato se liberan en la cavidad bucal independientemente formándose en ésta ACP. Estudios realizados han

manifestado que la rápida formación de ACP no estabilizado se transforma a fase cristalina en el ambiente bucal y por lo tanto podría promover cálculos dentales (Aguirre et al., 2010).

La tercera tecnología es un vidrio bioactivo que contiene sodio y calcio fosfosilicato (NOVAMIN™). Los fabricantes afirman que este principio bioactivo libera iones de calcio y fosfato intra-oral para promover la remineralización (Aguirre et al., 2010).

El NovaMin® originalmente fue desarrollado para el tratamiento de la hipersensibilidad por la oclusión física de los túbulos dentinarios; estudios recientes han demostrado un potencial de éste para prevenir la desmineralización y/o remineralización de las superficies dentales. El modo de acción resulta de la interacción con soluciones acuosas. Cuando es introducida en el ambiente oral, el material libera sodio, calcio, e iones fosforo, éstos interactúan con los fluidos y ocurre la formación de cristales de hidroxiapatita en la superficie, siendo ésta estructuralmente y químicamente similar al mineral natural del diente (Burwell et al., 2009; Golpayegani et al., 2012).

Un método recientemente utilizado para combatir la desmineralización durante el tratamiento de ortodoncia es la terapia láser. El uso del láser debería abrir nuevas expectativas en el tratamiento de la hipersensibilidad y la desmineralización. Los láseres usados para el tratamiento de la hipersensibilidad dentinaria son divididos en 2 grupos: de baja potencia (He-Ne o diodo láser) y mediana potencia (argón, KTP, diodo, Nd:YAG, Er:YAG, ErCr:YSGG, y CO₂) (Goharkhay et al., 2007).

Tres longitudes de onda (780, 830 y 900 nm) de GaAlAs (diodo) han sido usadas para el tratamiento de la hipersensibilidad dentinaria. La irradiación de este láser a

su máxima potencia de 60 mw no afecta la superficie del esmalte o la dentina morfológicamente, pero una pequeña fracción de la energía láser es transmitida a través del esmalte o la dentina para llegar al tejido pulpar, disminuyendo la hipersensibilidad (Goharkhay et al., 2007).

Aunque la alta intensidad del diodo láser es relativamente nueva en odontología, hay muchas características interesantes que lo hacen muy popular para muchos dentistas, su bajo costo, pequeña dimensión y fácil aplicación en la cavidad oral, son importantes características que favorecen su uso en la práctica clínica y alienta nuevos estudios (Kato et al., 2006).

En este trabajo se pretende valorar el efecto del láser terapéutico, y NUPRO Sensodyne adicionado con Novamin® para conocer la capacidad de los mismos durante la remineralización *in vitro* en dientes premolares con aparatología fija y demostrar las ventajas y/o desventajas de éstos en comparación con los procedimientos anteriormente mencionados.

Prevención de la desmineralización

Se ha reportado que la desmineralización del esmalte puede ocurrir en un mes después de colocada la aparatología ortodóntica (Wiltshire, 1999).

Se han hecho varios intentos por prevenir o revertir este tipo de lesiones con la aplicación de fluoruros en diferentes presentaciones e incluso en la adición a módulos elásticos (Lacerda et al., 2013; Melo et al., 2014).

Módulos elásticos ortodónticos

Los módulos elásticos de poliuretano se han utilizado en la práctica ortodóntica desde 1960's para realizar diversos movimientos dentarios. Dentro de los usos más comunes en ortodoncia, se aplican en lugar de las ligaduras metálicas. Son fabricados por proceso de troquelado o de moldeo por inyección; sin embargo, su composición exacta es propiedad de cada casa comercial (Renick et al., 2004; Ahrari et al., 2010).

Las propiedades mecánicas de un material describen el modo en que este responde a la aplicación de una fuerza o carga:

- a. **Máxima fuerza:** es una medida de aceleración, basada en la aceleración que produciría la gravedad en un objeto cualquiera. Por lo que la máxima fuerza es el grado máximo de tensión que puede generar durante un esfuerzo único.
- b. **Tensión:** es la fuerza interna aplicada, que actúa por unidad de superficie o área sobre la que se aplica. También se llama tensión, al efecto de aplicar una fuerza sobre una forma alargada aumentando su elongación.
- c. **Desplazamiento:** es el cambio de posición de un cuerpo entre dos instantes o tiempos bien definidos. El desplazamiento también es considerado como la variación de la posición de un cuerpo.

Los módulos elásticos forman parte del tratamiento de ortodoncia, estos módulos se deterioran normal y gradualmente en el medio bucal al ser sometidos a fuerzas tensionales al momento de ser modificada su estructura molecular y a otros factores aunados como el pH y la degradación de microorganismos que afectan éstas (Kahru et al., 2010; López et al., 2011; Josell et al., 1997).

La adición de nanopartículas de plata a los módulos elásticos presenta una alternativa para que la interacción de éstos con el medio bucal tengan un efecto bactericida que proporcione mejor control de la placa dentobacteriana, sobretodo en pacientes que por largo tiempo se someten a un tratamiento ortodóntico.

Las nanopartículas de plata (Np-Ag) son ampliamente utilizadas en las ciencias médicas. Son materiales nanoestructurados cuya base precursora son las sales de plata. El efecto antibacteriano de las sales de plata es conocido desde la antigüedad y actualmente la plata está siendo utilizada para inhibir el crecimiento bacteriano en una variedad de aplicaciones, incluyendo la odontología (Cobo et al., 2010; Sung et al., 2007; Wu et al., 2008).

Existen reportes que sugieren que el efecto bactericida es debido a una acción electrostática entre la carga negativa de las células bacterianas y la carga positiva de las Np-Ag. Se cree que su alta afinidad por los grupos sulfuros y fosfóricos de la membrana celular es la clave para la propiedad bacteriana, seguido además de la liberación de iones plata que contribuye a la actividad antimicrobiana. Las nanopartículas de plata se unen a la superficie de la membrana celular, interfiriendo en sus actividades principales; permeabilidad y respiración. La bacteria pierde la capacidad de replicación de su ADN y las proteínas celulares se inactivan (Fabrega et al., 2001; Sung et al., 2007).

Sin embargo, se desconoce si las propiedades físicas de los módulos elásticos pueden alterarse después de que son impregnados de nanopartículas de plata, lo cual puede afectar el desarrollo del adecuado tratamiento del paciente, por lo cual como parte del presente trabajo se evaluaron los cambios en cuanto a

propiedades físicas de los módulos después de la reducción *in situ* de nanopartículas de plata con diferentes reductores y tiempos de inmersión.

Marco metodológico

ETAPA I REMINERALIZACIÓN EN LESIONES DE MANCHA BLANCA

Tipo de estudio: experimental, comparativo, longitudinal y prospectivo.

Muestra: 20 premolares libres de caries extraídos por razones ortodóncicas o problemas periodontales.

Criterios de inclusión: premolares sin defectos a nivel del esmalte, sin presencia de restauraciones ni caries en la cara bucal, sin tratamiento previo con agentes químicos.

Criterios de exclusión: premolares con defectos en la corona clínica como: hipoplasia del esmalte, fluorosis dental y restos de cementación de brackets, o caries; que presentaron fractura del esmalte dental; que presentaron alguna restauración.

Criterios de eliminación: premolares que resultaron dañados durante el proceso.

Procedimiento

Primera Etapa: basal

Se almacenaron los 20 premolares a temperatura ambiente en solución bidestilada y cristales de Timol al 0.1% en un recipiente con tapa para evitar volatilización del material e inhibir la proliferación bacteriana.

Los dientes fueron lavados con agua corriente, eliminando restos de tejido blando. La raíz del diente fue perforada con una fresa de carburo de baja velocidad 701L para poder ser abrazada con un alambre redondo de acero inoxidable calibre 0.018"; la base de este alambre fue fijada con acrílico a la tapa del frasco, cada grupo utilizó un color diferente de acrílico para facilitar su identificación.

Se lavó y pulió la superficie vestibular de cada diente con pasta profiláctica libre de flúor Proxyt (Ivoclar Vivadent, México) y motor de baja velocidad; posteriormente fueron lavados con agua corriente y secados con aire comprimido libre de aceite. Cada muestra fue barnizada en sus caras lingual, mesial, distal, oclusal así como la raíz con esmalte transparente a excepción de la cara vestibular.

Los dientes se dividieron aleatoriamente en 4 grupos de 5 dientes cada uno, 3 experimentales y uno control.

Grupo A: grupo control, no se le aplicó ningún tratamiento.

Grupo B: tratado con NUPRO® Sensodyne® Prophylaxis Paste adicionada con Novamin® (Densply International, USA).

Grupo C: tratado con Láser Terapéutico Dentalaser LV KVT-106UP (Lasertech TM, Alemania).

Grupo D: tratado con NUPRO® Sensodyne y Laser terapéutico.

En la superficie vestibular de cada órgano dentario se colocó una tela adhesiva (3M™ Micropore™ Cinta médica de papel) con una perforación del tamaño y forma exacta de la base del bracket, con el objetivo de delimitar la superficie de grabado y no contaminar la superficie del esmalte alrededor del mismo.

Posteriormente se colocó *primer* auto grabable Transbond™ Plus Self Etching Prime (3M Unitek, USA) durante 3 segundos en cada diente, como lo indica el fabricante.

Se colocaron los brackets estándar Mini Uni Twin™ Bracket Standard Edgewise (3M Unitek, USA) de acero inoxidable, slot 0.018", cementados con Transbond XT™ (3M Unitek, USA), de acuerdo con las instrucciones del fabricante; se fotocuró con lámpara Ortholux™ Luminous de (3M Unitek, USA) durante 10 segundos por cada superficie interproximal y finalmente se retiró la tela adhesiva.

Las muestras fueron preparadas para su observación basal en Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) (INCA Penta Fet x3, Oxford Instruments, England).

La corona clínica de cada órgano dentario se cortó con un disco de carburo, de tal forma que la zona a evaluar quedara paralela a la base del portaobjetos (Figura 1).

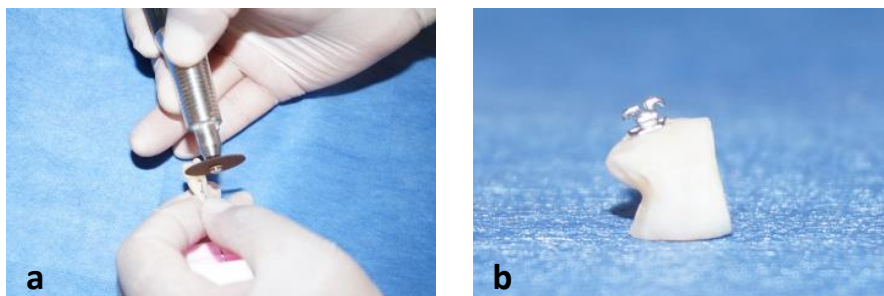


Figura 1. a) Se muestra la técnica utilizada para seccionar los órganos dentarios y B) la muestra ya seccionada.

Segunda Etapa: lesión inicial

Las muestras se fijaron nuevamente a una tapa de polietileno, repitiendo el proceso anteriormente descrito, pero esta vez fijando solo la corona, pues ya se había eliminado la raíz.

Para la creación de la lesión inicial o desmineralización, los cuatro grupos fueron sumergidos en una solución desmineralizante (2.2 mM CaCl₂, 2.2 mM KH₂PO₄,

0.05 M ácido acético, pH 4.4) durante 96 horas a 37°C. Posteriormente las muestras fueron lavadas con agua corriente y secadas con aire comprimido libre de aceite.

Una vez creada la lesión inicial, se cortó el alambre que sostenía las muestras y se llevaron a evaluar nuevamente al MEB, bajo los parámetros descritos.

Tercera Etapa: Aplicación de las variables

Conseguida la desmineralización de los órganos dentarios se fijaron nuevamente a las tapas de polietileno con alambre de acero inoxidable y se aplicaron los elementos remineralizantes correspondientes siguiendo las instrucciones dadas por el fabricante para cada uno.

Grupo A: grupo control, no se le aplicó ningún tratamiento.

Grupo B: tratado con NUPRO® Sensodyne® Prophylaxis Paste (adicionada con Novamin® Dentsply International, USA) sin diluir; se aplicó con copa de hule para profilaxis empapando la copa con la pasta y realizando movimientos oscilatorios en sentido de las manecillas del reloj durante 1 minuto alrededor del bracket; se dejaron reposar un minuto antes de enjuagar, las muestras se lavaron con agua destilada 30 segundos y se secaron con aire comprimido libre de aceite durante 30 segundos.

Grupo C: tratado con Láser Terapéutico Dentalaser LV KVT-106UP (Lasertech TM, Alemania) aplicando 4000 hertz durante 4 minutos por muestra, colocando el diodo a 2 mm de la superficie dental a tratar con un movimiento oscilatorio en sentido de las manecillas del reloj.

Grupo D: tratado con NUPRO® Sensodyne repitiendo el procedimiento del grupo 2 y antes de lavar, se realizó la aplicación de laser terapéutico de igual forma que en el grupo 3. Las muestras se lavaron con agua destilada 30 segundos y se secaron con aire comprimido libre de aceite durante 30 segundos.

Los 4 grupos fueron sometidos a un proceso de pH cíclico con duración de 7 días a 37°C para simular las condiciones del medio ambiente bucal.

1. Las muestras se sumergieron en una solución desmineralizante (2.0 mM Ca, 2.0 mM PO₄, 0.075 M acetato, pH 4.3, 40 mL/muestra) durante 6 horas al día.
2. Las muestras se lavaron con agua destilada durante 30 segundos y se secaron con aire comprimido libre de aceite durante 30 segundos.
3. Los dientes se sumergieron en una solución remineralizante (1.5mM Ca, 0.9 mM PO₄, 0.15 mM KCl, y 20 mM de regulador cacodilato, pH 7.0, 20 mL/muestra) en la que permanecieron durante 17 horas, se lavaron y secaron nuevamente. Este proceso se repitió 5 días.
4. Los días 6 y 7 las muestras permanecieron en la solución remineralizante.
5. Las soluciones fueron cambiadas cada 96 horas.
6. Una vez finalizado el ciclo, las muestras se lavaron con agua destilada y se secaron con aire comprimido libre de aceite durante 30 segundos.

Se realizó una segunda aplicación de agentes remineralizantes siguiendo el proceso anteriormente descrito. Una vez finalizado el segundo ciclo, las muestras se lavaron con agua destilada durante 30 segundos, se secaron durante 30

segundos con aire comprimido libre de aceite y permanecieron en agua deionizada hasta su evaluación.

Se cortó el alambre que sostenía las muestras y se llevaron a evaluar por última vez al MEB bajo los mismos parámetros descritos.

Análisis estadístico

Se aplicó el análisis de Bonferroni para comparar los cambios minerales durante las diferentes etapas del proyecto y la prueba de Tukey para comparar los promedios entre los grupos de estudio. Se utilizó el paquete estadístico SPSS v.19.

ETAPA II PREVENCIÓN DE LA DESMINERALIZACIÓN

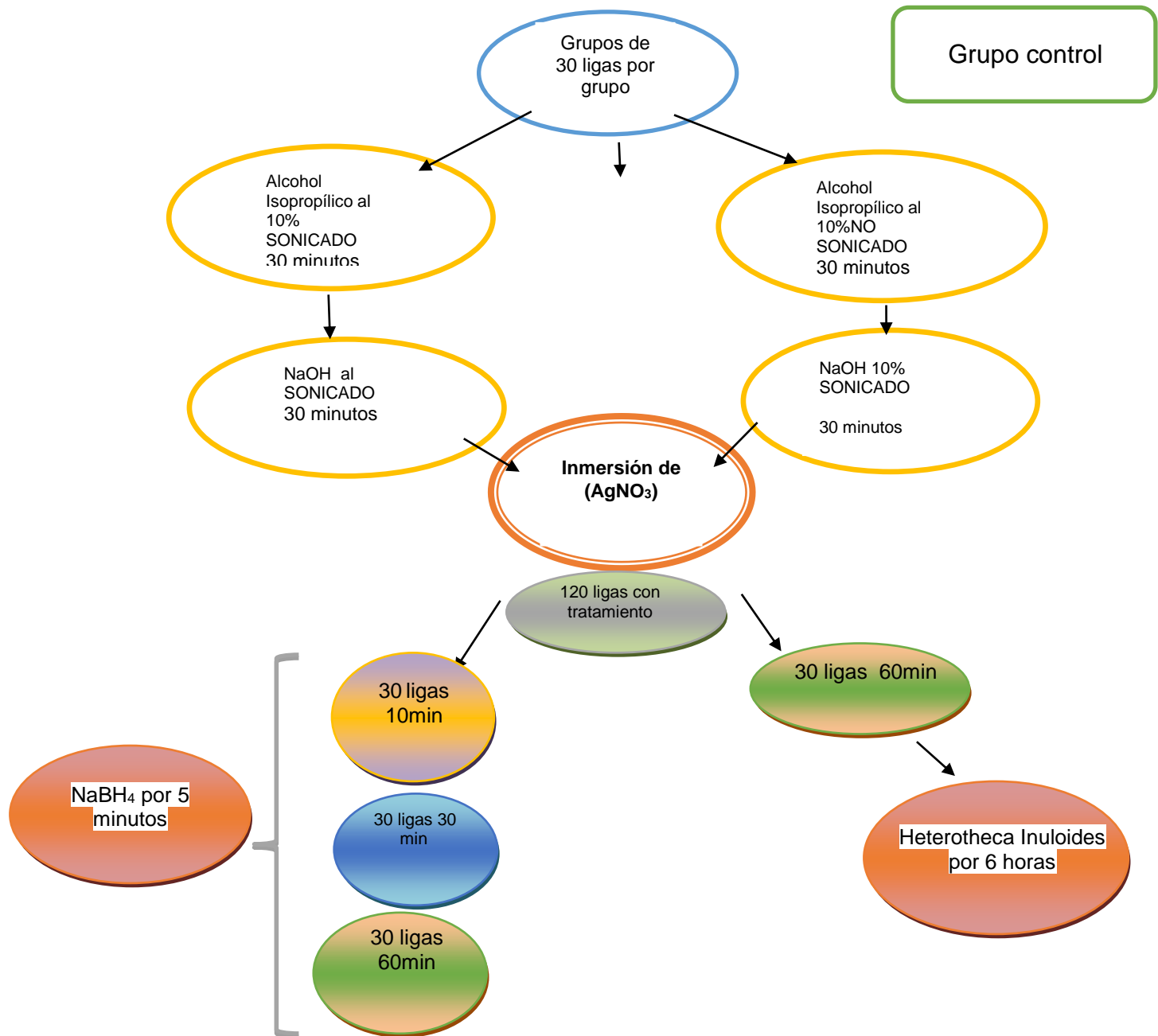
Diseño del estudio: descriptivo, comparativo y transversal.

Muestra: se conformaron por 270 módulos elásticos transparentes (Mini Stix ligatures ties non-coated, no. 383-921, TP Orthodontics, Inc., Indiana USA.) dividiéndose en grupos de estudio, cada grupo con 30 módulos (Figura 2).

Variables:

- Máxima fuerza
- Tensión
- Desplazamiento

Figura 2. Distribución de grupos



Grupos de estudio:

Grupo 1	Control
Grupo 2	Pre Tratamiento de Alcohol isopropilico Sonicado por 30 minutos
Grupo 3	Pre Tratamiento de Hidróxido de Sodio Sonicado por 30 minutos
Grupo 4	Pre Tratamiento de Alcohol isopropilico por 30 minutos NO Sonicado
Grupo 5	Pre Tratamiento de Hidróxido de Sodio NO Sonicado por 30 minutos
Grupo 6	Tratamiento sonicado 30 minutos con inmersión en AgNO_3 por 60 minutos con reducción con <i>Heterotheca inuloides</i> por 6 horas
Grupo 7	Tratamiento sonicado 1 minuto con inmersión en AgNO_3 por 10 minutos, reducidas con (NaBH_4) por 5 minutos
Grupo 8	Tratamiento sonicado 10 minutos con inmersión en AgNO_3 de 30 minutos reducidas con (NaBH_4) por 5 minutos
Grupo 9	Tratamiento sonicado 30 minutos con inmersión en AgNO_3 de 60 minutos reducidas con (NaBH_4) por 5 minutos

Procedimiento:

Etapa 1. Incorporación de nanopartículas de plata a módulos elásticos

Grupo A: Pretratamiento con hidróxido de sodio (NaOH) al 10%

GRUPO EXPERIMENTAL (A)

Paso 1. Se sonicó en NaOH 30 minutos.

Paso 2: Se enjuagó con agua desionizada.

GRUPO EXPERIMENTAL (B)

Paso 1.No se sonicó en NaOH 30 minutos.

Paso 2: Se enjuagó con agua desionizada.

Grupo B: Pretratamiento con alcohol isopropílico 10 %

GRUPO EXPERIMENTAL (C)

Paso 1. Se sonicó en alcohol isopropílico 10 % por 30 minutos.

Paso 2: Se enjuagó con agua desionizada.

GRUPO EXPERIMENTAL (D)

Paso 1.No se sonicó; se colocó en alcohol isopropílico 10 % 30 minutos.

Paso 2: Se enjuagó con agua desionizada.

GRUPO EXPERIMENTAL (A). SONICADO

Paso 1. Se sonicó en NaOH 30 minutos.

Paso 2: Se enjuagó con agua desionizada.

Paso 3. Se sonicó en alcohol isopropílico 10% 30 minutos.

Paso 4: Se enjuagó con agua desionizada.

Paso 5: Se hizo la agregación de $(\text{AgNO}_3) 1 \times 10^{-2}$ por 60 minutos.

Paso 6: Se enjuagó con agua desionizada.

Para la síntesis de nanopartículas de plata se partió de un agente precursor que son sales de nitrato de plata (AgNO_3) De la muestra de ligas se dividieron la mitad y se utilizaron dos agentes reductores diferentes.

Bioreductor: árnica (Heterotheca inuloides)

Se colocaron 100 ml de agua desionizada en una parrilla térmica hasta que llegó a ebullición, se colocó un gramo de bioreductor y se mantuvo en ebullición por 5

minutos; se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente se filtró con papel filtro Whatman no. 5. A la mitad de ligas que previamente se adicionaron (AgNO_3) por 60 minutos se le adicionó 2ml de *heterotheca inuloides* dejando que se lleve a cabo la bio-reducción por 6 horas. Por último se enjuagaron con agua desionizada.

Reductor químico: borohidruro de sodio (NaBH_4)

Se agregaron los diferentes grupos de ligas por tiempos y se redujeron con borohidruro por cinco minutos. Por último se enjuagaron con agua desionizada.

Etapa 2. Evaluación de las propiedades físicas de los módulos elásticos

Se colocaron los módulos elásticos mediante el uso de un aditamento adaptado a la máquina de ensayos universales (Autograph AGS-X, Shimadzu, Kyoto, Japan) (ver figura 3).

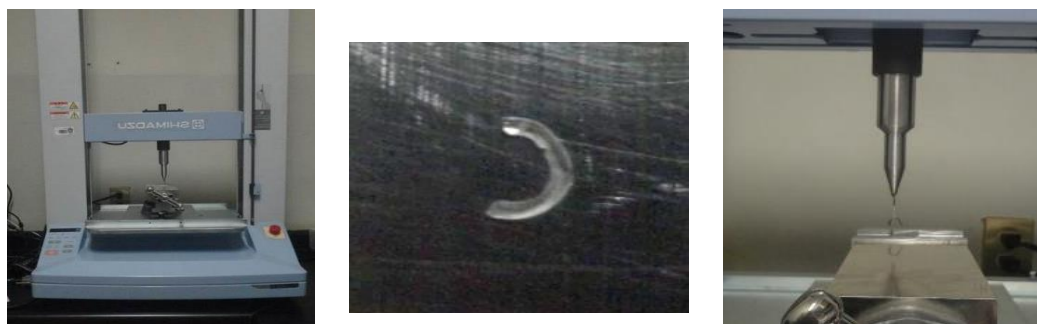


Fig. 3. a. Máquina de ensayos con el aditamento, b. Módulo elástico después de la prueba, c. Se observa el módulo elástico sometido a tracción a una velocidad de 100 mm/ min.

Se aplicó una fuerza de tracción con una velocidad de 100 mm por min, en superficie hemicircular, con un diámetro de 1 mm y un espesor de 1 mm también. La cual nos permitió determinar las variables antes mencionadas.

Análisis estadístico:

El análisis estadístico consistió en la obtención de medidas de tendencia central y de dispersión; así como la comparación de medias entre grupo control y los grupos de estudio, mediante la prueba t´Student para muestras independientes, utilizando el paquete estadístico SPSS versión 20.

Resultados

ETAPA I REMINERALIZACIÓN EN LESIONES DE MANCHA BLANCA

A continuación se presentan los porcentajes promedio de los minerales que se obtuvieron en cada etapa, para cada grupo de estudio (Tabla I).

Tabla I. Porcentajes minerales de cada grupo, en cada etapa

Grupos	1ª Etapa			2ª Etapa			3ª Etapa		
	Ca	P	Na	Ca	P	Na	Ca	P	Na
A.	29.79	16.72	0.38	28.28	17.00	0.45	28.42	17.06	0.43
Control	(2.14)	(0.80)	(0.11)	(2.64)	(0.97)	(0.08)	(2.21)	(0.83)	(0.05)
B.	33.24	17.89	0.40	31.22	18.11	0.36	34.07	18.65	0.37
Nupro	(1.72)	(0.54)	(0.08)	(1.61)	(0.52)	(0.06)	(1.22)	(0.24)	(0.16)
C.	31.37	17.40	0.43	30.76	17.89	0.41	31.78	18.02	0.41
Laser	(1.00)	(0.51)	(0.01)	(1.71)	(0.51)	(0.04)	(2.51)	(0.59)	(0.19)
D. L y N	31.47	17.30	0.40	30.92	17.88	0.35	31.83	17.86	0.42
	(1.21)	(0.29)	(0.08)	(1.56)	(0.55)	(0.07)	(2.46)	(0.59)	(0.08)

Datos presentados como promedios (D.E.)

Descripción de las microfotografías

Además de la medición del porcentaje de minerales, también se tomaron microfotografías con una magnificación de 400X con el objetivo de hacer más visible la superficie de las muestras y poder observar los cambios ocurridos.

Etapa 1: etapa basal

Se observa gran variedad de características, en algunas los prismas del esmalte son poco visibles, presentan rayaduras y algunos elementos de carbono que pueden representar contaminación de la superficie (figura 4).

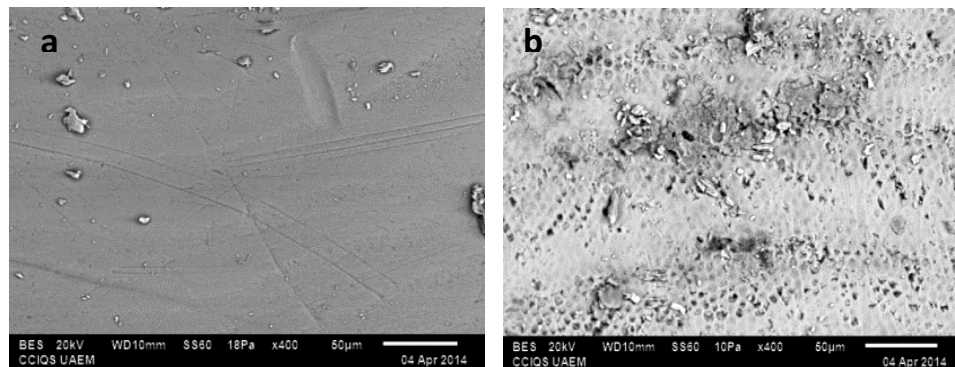


Figura 4: a) Muestra 5 (M5) del grupo A (GA) con rayaduras en la superficie b) Muestra 4 (M4) del grupo D (GD) con prismas altamente visibles y superficie contaminada. Magnificación 400X.

Etapa 2: Desmineralización

En esta etapa se observó un cambio notable, los restos de carbono que indicaban contaminación de la superficie fueron removidos al ser expuestos a la solución desmineralizante, los prismas del esmalte se hicieron más visibles por la erosión y algunas muestras presentaron micro fracturas de la superficie (Figura 5).

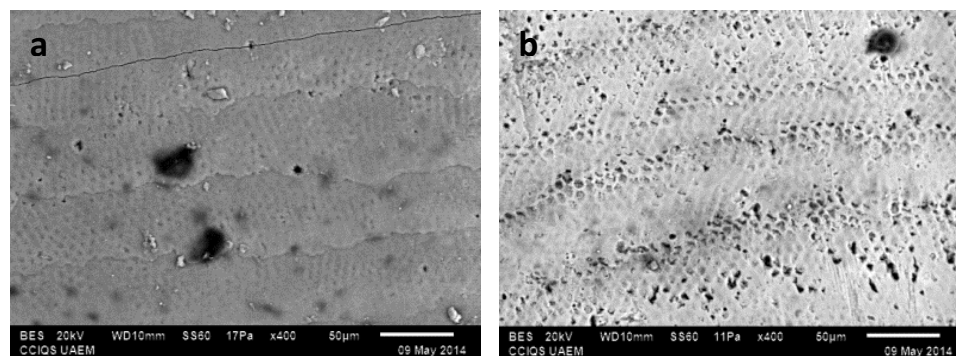


Figura 5. a) M3 GC, b) M4 GD después de ser sometidas a la solución desmineralizante.

Etapa 3: Remineralización

En esta etapa se pueden observar los prismas del esmalte visibles, uniformes y más compactos sobre todo en las imágenes del grupo B y del grupo C (Figura 6).

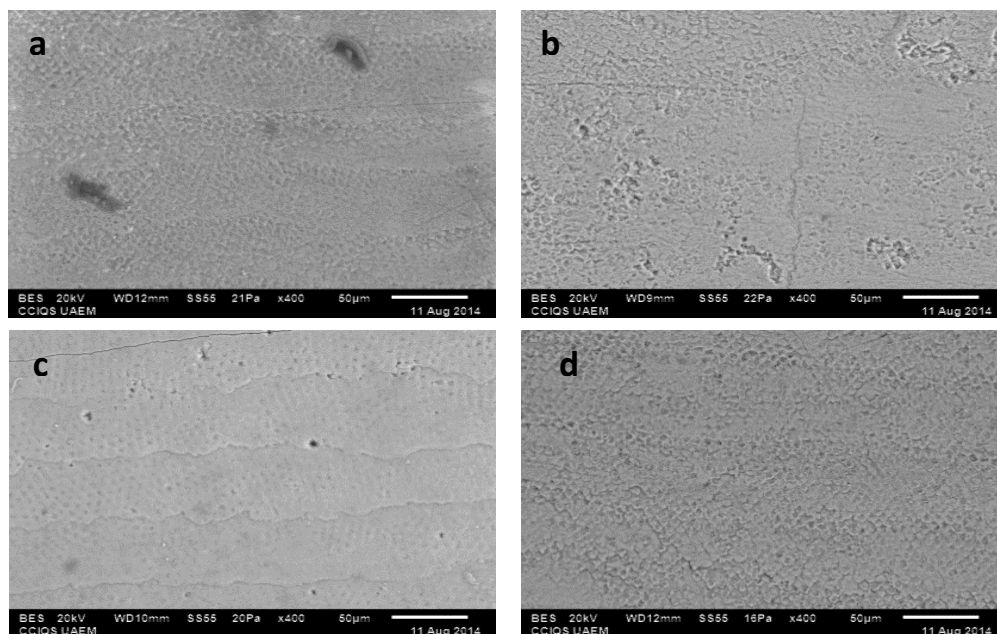


Figura 6. a) M5 GA b) M4 GB c) M3 GC d) M4 GD después de ser tratadas con los elementos remineralizantes y sometidas a pH cíclico.

De acuerdo al análisis de Bonferroni al determinar la concentración de calcio, se encontraron diferencias significativas entre la etapa 1 y 2 ($p=.025$), y entre las etapas 2 y 3 ($p=.019$). Al comparar la distribución de calcio, con la prueba de Tukey, se encontraron diferencias entre el grupo A y B ($p=.004$) (Tablas II y III).

Respecto a la concentración de fósforo, se encontraron diferencias estadísticas entre etapa 1 y 3 ($p=.013$). Al comparar la distribución de fósforo, con la prueba de Tukey, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo A y B ($p=.003$) (Tablas II y III).

En la concentración de sodio, no se encontraron diferencias significativas al aplicar ambas pruebas (Tablas II y III).

Tabla II. Cambio de la concentración de minerales durante las etapas del estudio

	1	2	p	2	3	p	1	3	p
Ca	31.47	30.29	0.025*	30.29	31.52	0.019*	31.47	31.52	1.00
P	17.33	17.72	0.073	17.72	17.90	0.557	17.33	17.90	0.013*
Na	0.40	0.39	1.00	0.39	0.41	1.00	0.40	0.41	1.00

* P≤0.05 al análisis de Bonferroni.

Tabla III. Comparación entre grupos

Grupos de estudio		Ca	P	Na
A	B	0.004*	0.003*	0.580
	C	0.087	0.052*	1.000
	D	0.071	0.090	0.827
B	A	0.004*	0.003*	0.580
	C	0.408	0.459	0.645
	D	0.466	0.310	0.971
C	A	0.087	0.052*	1.000
	B	0.408	0.459	0.645
	D	1.000	0.991	0.877
D	A	0.071	0.090	0.827
	B	0.466	0.310	0.971
	C	1.000	0.991	0.877

Se presentan los valores de p para cada grupo comparado

* p≤0.05 al aplicar la prueba de Tukey

ETAPA II PREVENCIÓN DE LA DESMINERALIZACIÓN

Máxima fuerza

El grupo que presentó la media más alta fue el grupo 6 con una media de 23.36 (D.E 1.99). Del mismo modo el grupo 4 presentó una disminución de la misma variable con una media de 18.72 (D.E 0.99) respecto al grupo control (Tabla IV).

Tensión

Respecto a la variable tensión y el grupo control, fue el grupo 6 con una media de 20.59 (D.E 1.76) que presentó un incremento, y el grupo 5 el que mostró una disminución respecto al grupo control con media de 17.12 (D.E 1.11) (Tabla IV).

Desplazamiento

Del mismo modo, esta variable en el grupo 6 demostró una media de 10.40 (D.E. 0.47) que fue la más alta en relación a los demás grupos; mientras que el grupo 5 presentó una disminución con una media de 8.69 (D.E. 0.37) (Tabla IV).

Tabla IV. Análisis descriptivo de las propiedades físicas de los grupos de estudio

Variable	Grupos de estudio								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Máxima fuerza	19.48 (1.99)	21.00 (2.04)	21.52 (1.38)	18.72 (0.99)	19.43 (1.26)	23.36 (1.99)	22.54 (1.65)	22.38 (1.60)	22.76 (1.75)
Tensión	17.23 (1.81)	18.51 (1.79)	18.96 (1.22)	16.59 (1.12)	17.12 (1.11)	20.59 (1.76)	19.71 (1.25)	19.73 (1.41)	20.17 (1.52)
Desplazamiento	9.06 (0.64)	9.38 (0.42)	9.39 (0.43)	8.82 (0.34)	8.69 (0.37)	10.40 (0.47)	9.85 (0.34)	10.18 (0.49)	10.39 (0.67)

Datos presentados como promedios (Desviación estándar)

Se confrontaron los diferentes grupos de ligas que se sometieron a procedimientos de pretratamiento (previo a la agregación de nanopartículas de plata), tomando como referencia al grupo control (ver tabla V).

Respecto a la variable *máxima fuerza*, los grupos sonicados de alcohol isopropílico y de hidróxido de sodio mostraron diferencias estadísticamente significativas con el grupo control ($p=.045$ y $p=.005$, respectivamente).

Cuando se analizó la variable *tensión*, el grupo control demostró diferencias significativas del grupo sonicado con hidróxido de sodio ($p=.008$).

Y por último, con la variable *desplazamiento*, algunas diferencias se presentaron en la comparación del grupo sonicado de alcohol isopropílico con los grupos no sonicados ($p=.004$ y $p=.0001$, respectivamente).

Tabla V. Comparación entre grupos con pretratamiento y grupo control

Variables	Grupos de estudio									
	1 vs 2	1 vs 3	1 vs 4	1 vs 5	2 vs 3	2 vs 4	2 vs 5	3 vs 4	3 vs 5	4 vs 5
Máxima fuerza	.045*	.005*	.255	.936	.515	.005*	.053*	.000*	.002*	.181
Tensión	.061	.008*	.302	.856	.515	.010*	.052*	.000*	.002*	.305
Desplazamiento	.157	.146	.259	.090	.959	.004*	.001*	.005*	.001*	.429

*valores de $p \leq 0.05$, estadísticamente significativos.

Se probaron los grupos de módulos elásticos con los diferentes tiempos de inmersión (agregación de nanopartículas de plata), así como la comparación entre los diversos tratamientos de reducción (Tabla VI).

Referente a la variable *máxima fuerza*, todos los grupos con diferentes tiempos de inmersión y tipos de reducción mostraron diferencias estadísticamente significativas al compararse con el grupo control ($p=.000$).

Con la variable *tensión* se observó que el grupo control demostró diferencias estadísticamente significativas con todos los grupos con diferentes tiempos de inmersión y de reducción ($p=.000$).

Finalmente, el *desplazamiento*, también demostró diferencias entre el grupo control con todos los grupos a diferentes tiempos de inmersión y reducción ($p=.000$).

Tabla VI. Comparación entre grupos con diferentes tiempos de inmersión y medios de reducción

Variables	Grupos de estudio									
	1 vs 6	1 vs 7	1 vs 8	1 vs 9	6 vs 7	6 vs 8	6 vs 9	7 vs 8	7 vs 9	8 vs 9
Máxima fuerza	.000*	.000*	.000*	.000*	.114	.059*	.262	.721	.608	.386
Tensión	.000*	.000*	.000*	.000*	.042*	.059*	.371	.949	.204	.250
Desplazamiento	.000*	.000*	.000*	.000*	.000*	.121	.945	.004*	.000*	.184

*valores de $p \leq 0.05$, estadísticamente significativos.

Conclusiones

De este estudio *in vitro* sobre la remineralización dental y las bases científicas que provee cada producto utilizado podemos concluir lo siguiente:

El efecto de NUPRO Sensodyne adicionado con NovaMin® como remineralizante en las lesiones de mancha blanca tiene mayor efecto por sí sólo que en combinación con láser terapéutico.

El uso de láser terapéutico, ayuda a la remineralización de la superficie por sí sólo, pero en menor porcentaje que el obtenido con NUPRO Sensodyne

La combinación de ambos agentes no es señal de un mayor efecto remineralizante,

Así mismo, como método de prevención de la desmineralización dental, se logró la síntesis *in situ* de nanopartículas de plata sobre módulos elásticos ortodónticos, determinando que las propiedades mecánicas de los módulos elásticos se vieron afectadas positivamente bajo todas las condiciones de síntesis desarrolladas.

Las variables máxima fuerza, tensión y desplazamiento presentaron un incremento significativo en el grupo 6 respecto a los demás grupos; por lo cual se establecen las bases para concluir que el grupo tratamiento sonicado 30 minutos con inmersión en AgNO_3 por 60 minutos con reducción con *Heterotheca inuloides* por 6 horas, presenta mejoras significativas en sus propiedades físicas y de esta manera sea elegido para realizar posteriores estudio bacteriológicos.

Bibliografía

Aguirre MP, Ayala GG, Barreda TB, Berrocal MC, Chacaltana HE, Cueto AK, et. al. (2010) "Uso de los Fluoruros y de los Derivados de la Caseína en los Procedimientos de Remineralización". [Tesis de Pregrado] Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Odontología. Lima, Perú.

Ahrari F, Jalaly T, Zebarjad M. (2010) "Tensile properties of orthodontic elastomeric ligatures". *Indian J Dent Res*;21:23-29.

Barrancos MJ, Barrancos PJ. (2006) "Operatoria Dental Integración clínica". 4ta reimpresión, Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. p 314-652.

Burwell AK, Litkowski LJ, Greenspan DC. (2009) "Calcim Sodium Phosphosilicate (NovaMin®): Remineralization Potential". *Adv Dent Res*; 22:35-39.

Castellanos JE, Marín LM, Úsuga VMV, Castiblanco RGA, Martignon BS. (2013) "La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental". *Univ Odontol*; 32: 49-59.

Cobo, L, Akyildiz I. (2010) "Bacteria-based communication in nanonetworks". *Nanocomunicacion*; 1:244-256.

Fabrega J, Luoma S, Tylrer C, Galloway T, Lead J. (2001) "Silver nanoparticles: behaviour and effects in the aquatic environment". *Environ Int*; 517-531.

Goharkhay K, Wernisch J, Schoop U, Moritz A. (2007) "Laser Treatment of Hypersensitive Dentin: Comparative ESEM Investigations". *J Oral Laser Applications*;7:211-223.

Golpayegani MV, Sohrabi A, Biria M, Ansari G. (2012) "Remineralization Effect of Topical NovaMin Versus Sodium Fluoride (1.1%) on Caries-like Lesions in Permanent Teeth". *J Dent*; 9:68-75.

González FAC, Garrocho RAJ, Pérez ZF, Pozos GA. (2009) "Eficacia de tres tratamientos para la remineralización de la lesión incipiente de caries o mancha blanca en paciente con ortodoncia". *Rev Mex Odon Clín*;12:4-8.

Harris NO. García GF. (2001) "Odontología Preventiva Primaria". Editorial Manual Moderno. p 33- 86.

Hess E, Campbell PM, Honeyman AL, Buschang PH. (2011) "Determinants of enamel decalcification during simulated orthodontic treatment". *Angle Orthod*; 81: 836-842.

Josell SD, Leiss JB, Rekow ED. (1997) "Force degradation in elastomeric chains". *Semin Orthod*; 3: 189–197.

Kahru A, Dubourguier H. (2010) "From ecotoxicology to nanoecotoxicology". *Toxicology*; 269: 105-119.

Kato IT, Kohara EK, Sarkis JES, Wetter UN. (2006) "Effects of 960-nm Diode láser irradiation on calcium solubility of dental enamel: an in vitro study". *Photomed Laser Surg*; 24: 689-693.

Lacerda Dos Santos Rogerio, et al. (2013) "Fluoride release/uptake from different orthodontic adhesives: a 30 month longitudinal study". *Braz Dent J*; 24: 410-414.

Laurence JW. (2008) "Aspectos Clínicos de Biología Salival para el Clínico Dental". *J Minim Interv Dent*; 1; 5-24.

Livas C, Kuijpers JAM, Bronkhorst E, Derks A, Katsaros C. (2008) "Quantification of White Spot Lesions around Orthodontic Brackets with Image Analysis". *Angle Orthod*; 78: 585-590.

López N, Vicente A, Bravo LA, Calvo JL, Canteras M. (2012) "In vitro study of force decay of latex and non-latex orthodontic elastics". *Eur J Orthod*; 34: 202-207.

Marchan de Alcaíno M. Rodríguez CAM. (2007) "Papel de las cremas dentales fluoruradas en la remineralización del cuerpo de la lesión de caries" [Tesis de Especialidad]. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Odontología. Caracas, Venezuela.

Melo et al. (2014) "Fluoride releasing and enamel demineralization around orthodontic brackets by fluoride-releasing composite containing nanoparticles". *Clin Oral Invest*; 18:1343-1350.

Monterde Coronel ME. (2002) "Desmineralización-remineralización del esmalte dental". *Rev ADM*;59:220-222.

Ogaard B, Larsson E, Henriksson T, Birhed D, Bishara SE. (2001) "Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients". *Am J Orthod Dentofacial Orthop*;120:28-35.

Rabelo BMA, Reis HA, Magalhaes AC, Ríos D, Marques HH, Botazzo DAC. (2010) "pH-cycling models for *in vitro* evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations". *J Appl Oral Sci*;18:316-334.

Renick MR, Brantley WA, Beck FM, Vig KWL, Webb ChS. (2004) "Studies of orthodontic elastomeric modules. Part 1: Glass transition temperatures for representative pigmented products in the as-received condition and after orthodontic use". *Am J Orthod Dentofacial Orthop*; 126: 337-342.

Silva QC, Takeo HA, Franco PLA, Aparecido CJ. (2008) "pH-Cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization". *Braz Dent J*;19:21-27.

Simeone GS. (2014) "Uso y efectos del Fosfato de Calcio Amorfo (FCA) en la Odontología Restauradora y Preventiva". *Act Odont Venez Revista electrónica*. [citado el 13 de agosto de 2014]; 48(3):2-9. Disponible en: <http://www.actaodontologica.com/ediciones/2010/3/art24.asp>

Sung J y cols. (2007) "Antimicrobial effects of silver nanoparticles". *Nanomedicine*; 1-6.

Villareal RLF, Barrera CJP, Arauz CA, Arciniegas BG. (2011) "Evaluación de la efectividad del flúor acidulado 5000 ppm y caseína al 10% en el control de la progresión de lesiones de caries en el esmalte alrededor del bracket. Estudio clínico". *Revista Latinoamericana de Ortodoncia y Odontopediatria* [Revista electrónica]. [citado el 17 de agosto de 2013]; 15: 3-14. Disponible en: <https://www.ortodoncia.ws/publicaciones/2011/art15.asp>

Wiltshire WA. (1999) "In vitro and in vivo fluoride release from orthodontic elastomeric ligatures ties". *Am J Orthod Dentofacial Orthop*; 115:288-292.

Wu y cols. (2008) "Biomolecule assisted synthesis of water soluble silver nanoparticles and their biomedical applications". *Inprg Chem*; 47: 5-8.

Xiaojun D, Jing L, Xuehua G, Hong R, Youcheng Y., Zhangyu G, Sung J. (2009) "Effects of CPP-ACP paste on the shear bond strength of orthodontic brackets". *Angle Orthod*;79: 945-950.

Zhao J, Yu L, Wei-bin S, Zhang H. (2001) "Amorphous calcium phosphate and its application in dentistry. *J Chem C Revista electrónica*]. [citado el 15 de agosto de 2013];5:40. Disponible en: <http://journal.chemistrycentral.com/content/5/1/40>.