BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADOS.

"CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE PRIMARIO SANO A DIFERENTES TIEMPOS DE GRABADO CON ÁCIDO CLORHÍDRICO AL 15% Y APLICACIÓN DE *RUMEX OBTUSIFOLIUS*"

Tesis que presenta

L.E. Carlos Rodríguez Olvera.
ID. 216450022

Tesis para obtener el título de
Maestro en Estomatología con Terminal en Pediatría.

Directora Metodológico: Dra. Carolina Sámano Valencia.
ID 100626470

Co-Director Metodológico: Dr. Alberto Vinicio Jerezano Domínguez.
ID. NSS524063

Director Disciplinario: EP. Mónica Sánchez Ortíz.
ID. 100526001

Asesora: Dra. Diana del Carmen Pazos Guarneros.
ID.100524009

Lector: Jennifer Antón Sarabia
ID. 100398199

Heroica Puebla de Zaragoza, Junio 2018

BUAP

Oficio No. FESIEP/405/2018

L.E. CARLOS RODRÍGUEZ OLVERA
MAT. 216450022
ALUMNO DE LA MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA
CON OPCIÓN TERMINAL EN PEDIATRIA
DE LA FE-B.U.A.P.
P R E S E N T E.

El que suscribe, MTRO. GABRIEL MUÑOZ QUINTANA, Secretario de Investigación y Estudios de Posgrado de la F.E.B.U.A.P., por este medio me permito informar que esta Secretaría aprueba la impresión de la Tesis titulada ***"CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE PRIMARIO SANO A DIFERENTES TIEMPOS DE GRABADO CON ÁCIDO CLORHÍDRICO AL 15% Y APLICACIÓN DE RUMEX OBTUSIFOLIUS"*** misma que presentará para realizar su examen profesional y obtener de grado de **Maestro en Estomatología con opción terminal en Pediatría.**

Sin más por el momento, deseándole lo mejor, le reitero mi distinguida consideración.

ATENTAMENTE.
"PENSAR BIEN PARA VIVIR MEJOR"
H. PUEBLA DE Z., A 20 DE JUNIO DE 2018.

M. en C. GABRIEL MUÑOZ QUINTANA

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA · 1578 ·

Nota: Este documento tiene validez de 90 días posteriores a la fecha.

Facultad de Estomatología
3, Poniente Norte, Col. Volcanes, Puebla, Pue. C.P. 72410
Tel. (222) 229 55 00 Ext. 5700

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL

Para obtener el Grado de:
Registro 2018055 Fecha: 22 de Enero 2018

Título de la Tesis (anexarlo impreso y CD) CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE PRIMARIO SANO A DIFERENTES TIEMPOS DE GRABADO CON ÁCIDO CLORHÍDRICO AL 15% y APLICACIÓN DE *RUMEX OBTUSIFOLIUS*.

Nombre del alumno: Carlos Rodríguez Olvera Matrícula 216150022

Domicilio: Rosendo Márquez número 10 interior 101. Colonia la Paz, Puebla

Tel: 2221144483

Fecha de ingreso a la Facultad: Enero 2016-2017 Firma:

Responsable del proyecto y Directora Metodológica: Dra. Carolina Sámano Valencia

Grado académico: Doctorado Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 10052647, Tel: 444 8191822. Firma:

Co-Director Metodológico: Dr. Alberto Vinicio Jerezano Domínguez.

Grado académico: Doctorado Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: N55524063, Tel: 2224269508. Firma:

Directora disciplinaria: ESP. Mónica Sánchez Ortiz.

Grado académico: Especialista Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 10057600, Tel: 2222177652. Firma:

Asesora: Dra. Diana del Carmen Pazos Guarneros

Grado académico: Doctorado Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 10052400, Tel: 5540806082 . Firma:

Lector: M.E.P Jennifer Antón Sarabia

Grado académico: *Maestría* Adscripción: Facultad de Estomatología

ID: 10039819 Tel: 2221584290

Fecha de Aceptación: 18 de junio 2018 Firma:

Nombre y firma de aprobación del presidente de la academia/Coordinador de la Maestría en Estomatología Opción terminal en Odontopediatría:

José Alberto Hadith Ortega

La Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado, autoriza la Impresión de la Tesis.

M. en C. Gabriel Muñoz Quintana

Fecha: 20/junio/2018 Sello:

Contenido

INTRODUCCIÓN 9
ANTECEDENTES 11
Esmalte. *11*
Generalidades Del Esmalte *11*
Estructuras Histológicas Del Esmalte. *11*
Composición Química. *12*
Grabado ácido *14*
Patrones de grabado ácido *15*
Grabado con ácido clorhídrico *17*
Resinas Infiltrativas. *17*
Presentaciones Comerciales. *18*
RUMEX OBTUSIFOLIUS 19
CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA 20
PERFILOMETRÍA DE SUPERFICIE *21*
MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB) *22*
MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA 23
ANTECEDENTES ESPECÍFICOS 24
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA. 27
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN 27
JUSTIFICACIÓN. 28
HIPÓTESIS 28
HIPÓTESIS NULA 28
OBJETIVOS 29
GENERAL *29*
ESPECÍFICOS *29*
MATERIALES Y MÉTODOS. 30
CRITERIOS DE SELECCIÓN 30
Criterios de inclusión *30*
Criterios de exclusión *30*
Criterios de eliminación *31*
DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO 31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO 32
CONCORDANCIA Y FIABILIDAD *33*
PROCEDIMIENTOS 34
TÉCNICA DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X 36
MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA LEICA DM 1000 LED 39
RECURSOS MATERIALES *41*
RECURSOS FINANCIEROS *42*
BIOÉTICA 42
RESULTADOS 43
TÉCNICA DE DRX 43
TÉCNICA DE EDS 44
DISCUSIÓN 55
CONCLUSIÓN 60
ANEXOS 61
ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO *61*

Índice de Figuras

Figura 1. Microfotografía electrónica de barrido tomada de Gahlil et al. que muestra el patrón de grabado Tipo I después de aplicar ácido fosfórico durante 1 minuto (Ampliación 1750x). 15
Figura 2. Microfotografía electrónica de barrido tomada de Gahlil et al. que muestra el patrón de grabado Tipo II después de aplicar ácido fosfórico durante 1 minuto (Ampliación 1750x). 16
Figura 3. Microfotografía electrónica de barrido tomada de Gahlil et al, que muestra el patrón de grabado Tipo III después de aplicar ácido fosfórico durante 1 minuto(ampliación 1750x). 16
Figura 4 Esquema de difracción de RX[42] 20
Figura 5.Difractograma de hidroxiapatita. Fuente Propia. 21
Figura 6. Esquema de la medida de Ra [46] 22
Figura 7. Esquema de la medida de Rz [46] 22
Figura 8. Esquema del funcionamiento del microscopio de fluorescencia[41] 23
Figura 9. Micrografía obtenida después de someter la muestra a resina infiltrativa ICON® con Rumex Obtusifolius al microscopio de fluorescencia. Fuente Propia. 23
Figura 10. Organización de muestras experimentales. Fuente Propia. 34
Figura 11.Elementos experimentales. Fuente Propia. 34
Figura 12. Probador de rugosidad de superficie portátil. Forma de medición SURFTEST Serie SJ-310. Fuente Propia 35
Figura 13.Muestras de esmalte montadas en PVS y expuestas con HCl al 15%. Fuente Propia. 35
Figura 14.Fragmentos de esmalte triturado para prueba de difracción de rayos X. Fuente Propia. 36
Figura 15. Esquema de difracción de rayos X.[41] 37
Figura 17.Análisis en diferentes puntos de esmalte permanente. Fuente Propia. 38
Figura 18.Análisis en diferentes puntos de esmalte primario. Fuente Propia. 38
Figura 19. Balanza analítica (Dehus, Pionner). Fuente Propia. 39
Figura 20. Frascos con RUMEX OBTUSIFOLIUS. Fuente Propia. 39
Figura 21.Fragmentos experimentales, observados en el microscopio e fluorescencia DM1000 LED. Fuente Propia. 40
Figura 22.Microscopio de Fluorescencia. Fuente Propia. 40
Figura 23.Histograma de resultados de cristalografía de esmalte temporal (a) esmalte permanente (b). Fuente Propia. 43
Figura 24.(A -B) Análisis químico del EDS mediante espectroscopia por dispersión de energía. Fuente Propia. 45
Figura 25. (a – b). Análisis químico del EDS mediante espectroscopia por dispersión de energía (EDS) de los rayos X característicos generados por los electrones al incidir sobre la muestra en un microscopio electrónico de barrido. En este espectro se registran los elementos calcio (Ca), Fosfóro (P), oxígeno (O), y carbono (C). En porcentajes minoritarios se tiene sodio (Na) y cloro (Cl) Fuente Propia.. 46
Figura 26. Micrografía electrónica de barrido de la superficie esmalte primario a 60 segundos (Aumentos 500x). Fuente Propia. 48

Figura 27. Micrografía electrónica de barrido de la superficie esmalte primario a 60 segundos (Aumentos 1000x). Fuente Propia. 48
Figura 28. Micrografía electrónica de barrido de la superficie esmalte primario a 60 segundos (Aumentos 2500x). Fuente Propia. 49
Figura 29. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 90 segundos (Aumentos 500x). Fuente Propia. 49
Figura 30. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 90 segundos (Aumentos 1000x) Fuente Propia. 50
Figura 31. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 90 segundos (Aumentos 2500x). Fuente Propia. 50
Figura 32. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 120 segundos (Aumentos 500x). Fuente Propia. 51
Figura 33.Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 120 segundos (Aumentos 1000x). Fuente Propia. 51
Figura 34. . Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 120 segundos (2500x). Fuente Propia. 52
Figura 35. Muestras de órganos primarios tratadas con resina. Fuente Propia. 52
Figura 36. Muestras observadas con filtro amarillo y rojo en Microscopio de fluorescencia (objetivo 10x,40x) de órganos primarios tratadas con resina infiltrativa al 95% combinada con 5% de Rumex obtusifolius. Fuente propia. 53
Figura 37. Muestras de órganos primarios tratadas con resina infiltrativa bajo el protocolo que indica la marca, combinada con 5% de Rumex obtusifolius, observadas en Microscopio de fluorescencia(objetivo 10x,40x). Fuente Propia 53
Figura 38. Muestras observadas con filtro azul, amarillo, verde y rojo en Microscopio de fluorescencia (objetivo 10x,40x) de órganos primarios tratadas bajo el protocolo de ICON® sumergido en extracto de Rumex obtusifolius por 12 horas. Fuente Propia. 54
Figura 39. Histograma de elementos encontrados en esmalte primario. Fuente Propia. 57
Figura 40. Histograma de elementos encontrados en esmalte permanente. Fuente Propia. . 58

Índice de tablas

Tabla 1. Diferencias estructurales del esmalte temporal y permanente. 13
Tabla 2. Componentes de la resina Infiltrativa ICON® 18
Tabla 3. Tabla de Variables. Fuente Propia. 32
Tabla 4. Resultados de cristalografía encontrados en las muestras analizadas. Fuente Propia 43
Tabla 5. Base de datos EDS Diente Primario. Fuente Propia. 44
Tabla 6. Resultados EDS Diente Temporal. Fuente Propia 44
Tabla 7. Base de datos EDS Diente Permanente. Fuente Propia 45
Tabla 8. Resultados EDS Diente Permanente. Fuente Propia 45
Tabla 9. Estadistica descriptiva de las medidas de rugosidad de la superficie de cada grupo (valor de RZ) después de diferentes acondicionamientos del esmalte primario. Fuente Propia. 46
Tabla 10. Tabla de resultados de perfilometría. Fuente Propia. 47
Tabla 11. El patrón de grabado obtenido en el número total de muestras para cada tiempo de grabado. Fuente Propia. 47
Tabla 12. Medias de valores de Ca/P de dientes temporales y permanentes. Fuente Propia 57

Abstract

INTRODUCTION. The initial caries lesions infiltration is an innovative non-invasive treatment method to avoid cavitation. Currently, a resin has been developed that by surface conditioning with 15% hydrochloric acid can penetrate the enamel, blocking the porosities of the lesion, which act as acid diffusion pathways decreasing the progression of caries. However, this product is used on permanent teeth, and there is not enough information about its use in primary teeth. So, it is important to consider the changes that may occur in the structure of the enamel and know the etching pattern that offers better penetration. OBJETIVE: to determine the time of etching with hydrochloric acid at 15% that produces the best conditioning of healthy primary enamel and resin infiltration with *Rumex obtusifolius.* MATERIALS AND METHODS: A total of 37 naturally exfoliated anterior primary teeth that met the criteria were included. 32 teeth were randomly assigned to one of three groups (n=11). The experimental groups were submitted to 60, 90 and 120 seconds' exposure to 15% hydrochloric acid and analyzed by profilometer and SEM. 5 teeth were selected as untreated controls and measured by profilometer. 2 controls' teeth were analyzed using X-ray diffraction, EDS and SEM. The 3 remaining teeth received and application of infiltrant resin combined with *Rumex obtusifolius* and were observed by fluorescence microscopy. RESULTS: the highest surface roughness was 21.465 $\pm$ 5.910 μm in the group exposed to 90 seconds with a type II etching pattern observed in SEM. The X-ray diffractograms and EDS analysis showed differences in the crystalline structure and composition between temporal and permanent enamel. The fluorescence microscopy showed the effectiveness of the combination between Rumex obtusifolius and the infiltrant resin to visualize the areas where the resin was applied. CONCLUSION: The results of profilometer provide that the ideal time of exposure of HCl to 15% on the surface of the primary enamel, is 90 s, this is supported by our observation in SEM, which shows a better conservation of the prism structures, as well as possible ideal penetration of the infiltrative resin. Besides, the mixing of the infiltrative resin with the ethanolic extract of *Rumex obtusifolius* turned out to be a good tool to check the infiltration of the resin by its chromatic components.

Resumen

INTRODUCCIÓN. La infiltración de lesiones iniciales de caries es un innovador método de tratamiento no invasivo para evitar la cavitación. Actualmente, se ha desarrollado una resina que mediante el acondicionamiento de la superficie con ácido clorhídrico al 15% puede penetrar en el esmalte, bloqueando las porosidades de la lesión, que actúan como vías de difusión de ácido disminuyendo la progresión de la caries. Sin embargo, este producto se usa en dientes permanentes y no hay suficiente información sobre su uso en dientes temporales. Entonces, es importante considerar los cambios que pueden ocurrir en la estructura del esmalte y conocer el patrón de grabado que ofrece una mejor penetración. OBJETIVO: determinar el tiempo de grabado con ácido clorhídrico al 15% que produce el mejor

acondicionamiento de esmalte primario sano y la infiltración de resina con Rumex obtusifolius. MATERIALES Y MÉTODOS: Se incluyeron un total de 37 dientes primarios anteriores exfoliados naturalmente que cumplían los criterios. 32 dientes fueron asignados aleatoriamente a uno de tres grupos (n = 11). Los grupos experimentales se sometieron a una exposición de 60, 90 y 120 segundos a ácido clorhídrico al 15% y se analizaron mediante un perfilómetro y SEM. 5 dientes fueron seleccionados como controles no tratados y medidos por perfilómetro. Se analizaron 2 dientes de control usando difracción de rayos X, EDS y SEM. Los 3 dientes restantes recibidos se realizó una combinación de resina infiltrativa con extracto con *Rumex obtusifolius debido a que presenta* Fluoróforos o fluorocromos capaces de emitir fluorescencia permitiendo una mejor observacion de la penetracion de la resina infiltrativa. RESULTADOS: La rugosidad superficial más alta fue 21.465 ± 5.910 μm en el grupo expuesto a 90 segundos con un patrón de grabado de tipo II observado en SEM. Los difractogramas de rayos X y el análisis EDS mostraron diferencias en la estructura cristalina y la composición entre el esmalte temporal y permanente. El microscopio de fluorescencia mostró la efectividad de la combinación entre *Rumex obtusifolius* y la resina infiltrante para visualizar las áreas donde se aplicó la resina. CONCLUSIÓN. Los resultados de perfilómetro aportan que el tiempo ideal de exposicion de HCl al 15 % en la superficie del esmalte primario, es de 90 s, esto se encuentra soportado por nuestra observación en MEB, que nos muestra una mejor conservación de las estructuras del prisma, asi como una penetración ideal de la resina infiltrativa. El mezclado de HCl al 15% con extracto de *Rumex obtusifolius* resulto ser una buena herramienta para comprobar la infiltración de la resina infiltrativa por sus componentes cromáticos.

INTRODUCCIÓN

El grabado del esmalte es la base de unión de las resinas compuestas , ya que aumentan la energía y el área superficial del esmalte.[1] El ácido grabador produce microporosidades en las que el adhesivo puede formar una estructura conocida con el término de tags, los cuales son la penetración de los monómeros resinosos por los túbulos y canalículos formando prolongaciones de resina y anastomosis [2], mejorando su retención micromecánica y creando en conjunto una capa reforzada de dentina por la infiltración de la resina conocida como capa híbrida.[3] Se ha demostrado que la profundidad de formación de los tags de resina varía entre 5 y 50 µm y el aumento de la longitud de estos contribuye a la unión. [4,5,6]

El acondicionador de superficies con ácido fosfórico produce un patrón de grabado preferente dependiendo de la dirección de las varillas de esmalte. Los dos patrones más comunes son el tipo I donde el centro de los prismas se disuelve y el tipo II donde la periferia del prisma se disuelve. Un tercer patrón también existe donde ninguna estructura de prisma es evidente. Existen diferencias en el patrón de grabado dependiendo de si el esmalte se encuentra sano o ha sido tratado. En el esmalte maduro, hay un gradiente de mineralización, que aumenta desde el esmalte interno al exterior, y también puede haber diferencias en la composición del esmalte debido a la edad del paciente, las propiedades de la saliva, la concentración de fluoruro en el agua potable, etc. En un diente sano permanente, la capa más externa del esmalte es aprismática, es decir, más condensada. Además, los iones salivales de calcio pueden mineralizar el esmalte y los iones de fluoruro pueden transformar la hidroxiapatita en fluorapatita. Por lo tanto, la capa superficial del esmalte es generalmente más dura que el esmalte interno. El resultado del grabado del esmalte sano depende de las características del área específica del esmalte y puede no ser uniforme en toda su área.[7]

Como se mencionó previamente el uso del ácido grabador es fundamental en ciertos tratamientos que involucran el uso de resinas compuestas por ejemplo las resinas infiltrativas que se proponen como un método alternativo para tratar las lesiones de caries, que no se esperan remineralizar o detener mediante medidas no invasivas. Este tratamiento pretende ocluir los poros dentro del cuerpo de la lesión que actúan como vías de difusión para los ácidos y los minerales disueltos sellando así la lesión sin un revestimiento de resina que lo cubra. Sin embargo, si la superficie ha sido previamente tratada con ácido fosfórico como suele hacerse con fines adhesivos, el adhesivo penetra sólo superficialmente en lesiones naturales (aproximadamente 25 µm). Las penetraciones bajas pueden explicarse por la existencia de una capa superficial altamente mineralizada en lesiones de caries del esmalte, que impiden la penetración capilar de las resinas en el cuerpo de la lesión subyacente. Se ha demostrado una gran variación en el espesor de las capas superficiales en lesiones naturales, eliminando parte de la capa superficial por grabado ácido, se obtiene una mayor porosidad de la superficie permitiendo el acceso de los iones minerales al cuerpo de la lesión para finalmente promover la remineralización en lesiones subsuperficiales.[8]

La eliminación o perforación de la capa superficial se postula favorable para una infiltración más profunda del adhesivo al cuerpo de la lesión. Se ha demostrado que el grabado con gel de ácido clorhídrico al 15% (HCl) durante 2 min es el tiempo más eficaz en comparación con el gel de HCl al 5% y el gel de ácido fosfórico al 37% (H_3PO_4), al erosionar la capa superficial de las lesiones naturales del esmalte en dientes permanentes. Sin embargo, incluso con este régimen de grabado, un adhesivo sólo penetró superficialmente (58 µm) en lesiones naturales.[8,9] Por lo tanto, el uso de gel de HCl al 15% e infiltrantes genera mayor penetración en lesiones naturales, debido a las diferencias estructurales entre los dientes permanentes y primarios, pero no es claro si este régimen de grabado muestra un efecto erosivo similar de la capa superficial de lesiones de caries en la dentición decidua[10].

El extracto de *Rumex obtusifolius* ó "Lengua de vaca" es una planta común en la región Teziutlán, Puebla que pertenece a la familia *Polygonaceae*. Es originaria de Europa, crece en casi cualquier tipo de suelo, pero prefiere suelos ricos en hierro y cursos de agua, estanques y humedales cercanos y áreas de bosque sombrío en general. En nuestro estudio mezclamos la resina infiltrativa con este extracto, debido a que presenta configuraciones moleculares particulares conocidas como Fluoróforos o fluorocromos, capaces de absorber fotones y emitir fotones de menor energía (mayor longitud de onda) responsable de la emisión de la fluorescencia lo que podria permitir una mejor observacion de la penetracion de la resina infiltrativa.[11]

El propósito del presente proyecto será evaluar el tiempo ideal de exposición del esmalte de órganos dentarios temporales sanos al gel de HCl al 15% que nos permita determinar un patrón de grabado por medio de la observación y de los cambios micromorfológicos. Además de realizar la combinación de resina infiltrativa con el extracto etanólico de *Rumex obtusifolius* como una innovación que podría mejorar las propiedades del material. Los beneficios directamente ligados a este proyecto de investigación serán para los profesionales en formación una alternativa para restaurar órganos dentarios temporales con procesos iniciales de desmineralización con el uso de resina infiltrativas y establecerlo como una alternativa en tratamientos restauradores pediátricos.

ANTECEDENTES

Esmalte.

El esmalte dentario recubre a la dentina coronaria y está compuesto principalmente en un 95% por una matriz inorgánica rica en fosfato y carbonatos de calcio que forman cristales de hidroxiapatita y el 5% restante se puede encontrar agua y matriz orgánica (proteínas no colágenas); debido a este alto contenido mineral el esmalte es el tejido más duro y frágil del cuerpo humano.[12]

Generalidades Del Esmalte.

El esmalte está hecho principalmente por hidroxiapatita mineral, que es el fosfato de calcio cristalino. Tiene una superficie brillante y varía de color de amarillo a claro o blanco grisáceo. Está compuesto por millones de varillas de esmalte en forma de prismas hexagonales que tienen un diámetro de 3-5 µm.[13] El esmalte varía en grosor y densidad sobre la superficie del diente, es más grueso y más duro en las cúspides o bordes masticatorios, sin embargo, en dientes temporales es menos duro y de menor espesor comparado con los dientes permanentes.[14]

El esmalte humano es el tejido más resistente que cualquier otro, lo que sugiere que su matriz orgánica e inorgánica y el agua tienen un efecto de endurecimiento significativo sobre el tejido.[15] También se han observado diferencias significativas en la dureza del esmalte debido a la orientación de las varillas de esmalte.[14,16] lo que sugiere que la organización estructural también contribuye a sus propiedades mecánicas.[14]

Estructuras Histológicas Del Esmalte.

Esmalte Aprismático: Sustancia adamantina mineralizada carente de prismas que se encuentra en la periferia de la corona y la conexión amelodentinaria.

Husos: Son estructuras con aspecto de clavas irregulares que se encuentran a nivel de la CAD (conexión amelodentinaria). Corresponden a formaciones tubulares con fondo ciego que alojan en su interior a las prolongaciones de los odontoblastos que discurren por los túbulos dentinarios y la función de los mismos se relaciona con la transmisión de estímulos.

Vainas del esmalte: Poseen alto grado de calcificación, no son de forma continua y regular, pero permiten la unión de los cristales entre sí para ofrecer una estructura más resistente a la fractura.

Línea Neonatal o estría gigante: línea de separación del esmalte prenatal y el esmalte postnatal, producto de cambio repentino en las condiciones nutritivas y ambientales del recién nacido.

Estrías de Retzius: Líneas del esmalte producidas por la interrupción o perturbación de la calcificación. Se localizan en dirección oblicua con respecto a la superficie del esmalte en la cual forman una ligera depresión o imbricación poco profunda.

Bandas de Hunter Schreger: Actúan como un medio cementante, que permite resistir con éxito las fuerzas que tienden a fracturar el esmalte, está constituido por manojos de 6 a 8 prismas paralelos que cambian de dirección.[12,13,17]

Composición Química.

El esmalte de dientes temporales y permanentes tiene una composición química similar, sin embargo, algunos estudios indican algunas variaciones en el contenido de los carbonatos. La sustitución de carbonato en los cristales de hidroxiapatita cambia la carga superficial y la solubilidad de la superficie del esmalte temporal.[18] De acuerdo a lo anteriormente mencionado, se pueden observar diferencias entre el esmalte temporal y permanente.

Espacios interglobulares de Czermak: Frecuente en la dentina prenatal, preferente en la dentina de manto, mineralizada por un mecanismo de tipo lineal, a partir de la fusión de calcosferitos.[13,14]

Tabla 1. Diferencias estructurales del esmalte temporal y permanente.

	Propiedades físicas	Propiedades químicas	Histología
Dientes permanentes	**Dureza:** 3.1 y 4.7 Gpa. **Radioopacidad:** Estructura más radiopaca por su alto grado de mineralización 92%. **Elasticidad:** 87.5± 2.2 GPa (paralelo). 72.7± 4.5 GPa (perpendicular). **Permeabilidad:** Extremadamente escasa, pero permite la difusión de agua y iones. En la parte coronal presenta una gruesa capa de esmalte mayormente mineralizada pero un menor volumen de poros.	**Contenido orgánico:** -Naturaleza proteica (no colágena). -Proteínas en un 58%. -Lípidos en un 42%. **Contenido inorgánico:** -Minerales en un 95%. -Agua en un 4%. -Proteínas en el 1%. -Volumen de porosidad 0.1%al 0.2% sales minerales 92% del volumen dental	**Presencia de:** -Prismas del esmalte -Sustancia interprismática con diámetro entre 3μm en el límite amelodentinario y 4μm en la superficie final del diente. -Estrías de Retzius en dirección oblicua en la superficie del esmalte -Bandas de Hunter Schreger. -Husos en las cúspides dentarias. -Penachos de Linderer
Dientes temporales	**Dureza:** ligeramente inferior **Radioopacidad:** Esmalte blanquecino y opaco. Debido a que en la parte coronal presenta una capa fina capa de esmalte menos mineralizada[2] **Elasticidad: 87 GPa** **Permeabilidad:** mayor debido al mayor volumen de poros.	**Contenido orgánico:** -Sales minerales en el 88%. -Volumen de porosidad: 1 al 5% **Contenido inorgánico:** -Esmalte aprismático. -Banda laminada sin prismas -Vainas de los prismas -Mayores cantidades de calcio y fósforo. -Ausencia de Varillas. -Husos adamantinos. -Túbulos remantes en el tercio interno del esmalte continuo. -Ausencia de espacios interglobulares de Czermak	Presencia de: -Bandas de Hunter Schreger -Línea neonatal evidente·
Frank et al. 1967; Eanes et al. 1979; Kakaboura et al.1989; Koenigswald et al. 1997; Gómez de Ferraris et al 2004; Mooney et al. 2006; Valencia et al. 2015; Abdelazis et al. 2016.			

En el cuadro anterior se observa que existen diferencias estructurales entre los dientes temporales y permanentes, las cuales pueden ser un factor determinante en el acondicionamiento de la superficie del esmalte por medio de un ácido grabador.

Grabado ácido

Los experimentos de adhesión de resinas acrílicas al esmalte y a la dentina comenzaron a principios de los años cincuenta en Inglaterra con el Dr. Oskar Hagger el cual desarrolló un monómero a base de dimetacrilato de ácido glicerofosfórico que se preservó químicamente con ácido sulfúrico. Esto se demostró en una patente suiza (nº 211116, 1951) para unirse a la estructura dental. Su trabajo condujo al desarrollo de Sevitron, un adhesivo comercial temprano. [15, 16]

En los Estados Unidos, el Dr. Michael Buonocore hizo el segundo y más importante avance en la odontología adhesiva, demostrando que el grabado ácido del esmalte llevó a mejorar los enlaces de resina-esmalte usando formulaciones de resina tipo Sevitron. Los resultados de su trabajo fueron muy polémicos en ese momento, muchos investigadores consideraron el enfoque del Dr. Buonocore como poco convencional e imprudente porque abogaba por el uso de ácidos peligrosos, de resistencia industrial en la cavidad oral. Durante los próximos 10 años, muchos investigadores confirmaron la utilidad del grabado acido del esmalte para aumentar la resistencia de unión resina-esmalte. [17]

La concentración del ácido fosfórico se redujo posteriormente al 50%, y más recientemente al 32-37%, con el reconocimiento de que las superficies del esmalte de los dientes primarios eran en gran medida aprismática, los tiempos de grabado de 120 segundos se utilizaron comúnmente para los procedimientos de unión de dientes primarios, estos tiempos de grabado se han reducido a 60 segundos y, más recientemente, 20-30 segundos para el esmalte aprismático para la unión de selladores de fosas y fisuras y brackets ortodónticos.[18,19]A pesar de la disponibilidad de éteres alternativos tales como el ácido pirúvico, cítrico, oxálico, nítrico o maleico, el ácido fosfórico sigue siendo el agente de elección, con la adopción contemporánea de un tiempo de grabado reducido a 15 segundos para el esmalte prismático y aprismático. Las soluciones utilizadas para grabar el esmalte también se hicieron en geles para permitir un mejor control de estos ácidos.[20]

Los objetivos del grabado son: limpiar la película orgánica superficial del esmalte, eliminar la capa de esmalte biselado y disolver parcialmente los cristalitos minerales para crear patrones de retención para los materiales resinosos. Existe un consenso general de que el ácido grabador aumenta la energía superficial disminuyendo el ángulo de contacto de la resina en el esmalte; sin embargo, se ha demostrado que el esmalte grabado durante 15 segundos crea una retención micromecánica suficiente que es comparable a la obtenida con 60 segundos de grabado, sin comprometer la microfiltración a lo largo de la superficie del esmalte. Se ha demostrado que el enlace entre esmalte-resina se podría lograr siempre y cuando la superficie grabada este limpia y libre de contaminación por saliva.[20, 21]

El aumento de la longitud de los tags de resina no contribuye sustancialmente al aumento del área de superficie acumulada que se crea por grabado ácido, esto se atribuye a la capacidad de la resina para penetrar en las microporosidades que se crean dentro del esmalte parcialmente desmineralizado, consiguiendo un marcado

aumento de la superficie mediante la creación de estas microporosidades entre los cristalitos de apatita, en los que la resina puede infiltrarse y dar lugar a la formación de una capa de material compuesto esmalte-resina que consiste en la encapsulación de resina inter e intracristalina.[22] Generalmente, el esmalte superficial aprismático es más resistente al ataque químico debido a la disposición paralela de los cristales de apatita que permiten una alta densidad de empaste de estos cristalitos. Tampoco hay sustancia orgánica que el ácido pueda difundir fácilmente para efectuar el ataque subsuperficial. El grabado estático resulta en la retención de la mayor parte del esmalte aprismático que demuestra un patrón de ataque químico menos agresivo similar a un coral que se caracteriza por la presencia de pozos de superficie que aparecen al azar en la superficie del esmalte aprismático grabado. Dependiendo del espesor de la capa original de esmalte aprísmático, sólo pueden aparecer en la superficie islas esporádicas de esmalte grabado aprisionado, con el esmalte prismático subyacente expuesto en mayor medida. [23] Sin embargo, el aumento de las microporosidades creadas con el uso de ácido grabador crea una superficie de alta energía que es óptima para la infitración de resina dando como resultado capas híbridas de 8-10 µm de espesor. El grabado ayuda a desalojar islas de esmalte grabado dando como resultado una eliminación casi completa del esmalte aprismático de la superficie. Este proceso expone más el esmalte prismático subyacente que demuestra patrones de grabado mínimos o suaves. La disolución de los cristalitos de la apatita superficial da como resultado una disolución preferente de los núcleos del cristalito ricos en carbono, formando regiones de agujeros centrales que permiten la infiltración de la resina.[23]

Patrones de grabado ácido

Tipo I: Un cristal se disuelve preferentemente desde los extremos al centro, por lo que en una determinada superficie se van a desmineralizar las cabezas de las varillas.

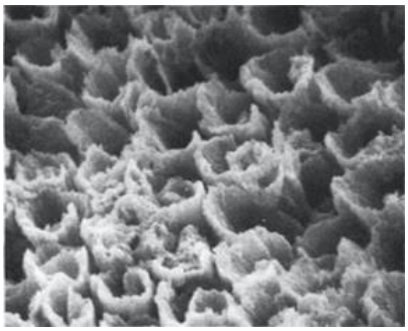


Figura 1. Microfotografía electrónica de barrido tomada de Gahlil et al. que muestra el patrón de grabado Tipo I después de aplicar ácido fosfórico durante 1 minuto (Ampliación 1750x).

Tipo II: Existen zonas en las que se desmineralizan las colas de las varillas.

Figura 2. Microfotografía electrónica de barrido tomada de Gahlil et al. que muestra el patrón de grabado Tipo II después de aplicar ácido fosfórico durante 1 minuto (Ampliación 1750x).

Tipo III: Otras zonas presentan áreas de desmineralización totalmente irregulares. Sin embargo, de acuerdo a lo reportado en la literatura se menciona que el que da mejor anclaje es el de tipo II, por ser más angosto. El patrón de grabado depende de la orientación cristalina dentro del prisma. El patrón de tipo III ha sido predominante en regiones donde las varillas están más desorientadas, como en el esmalte temporal.[23, 24]

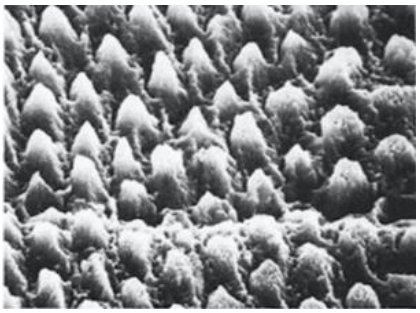


Figura 3. Microfotografía electrónica de barrido tomada de Gahlil et al, que muestra el patrón de grabado Tipo III después de aplicar ácido fosfórico durante 1 minuto(ampliación 1750x).

Aunque la técnica de grabado ácido tiene más de 65 años, todavía se buscan respuestas a algunas de las preguntas básicas sobre la técnica. Se han realizado numerosos estudios para examinar el efecto del grabado ácido sobre superficies de esmalte, varios estudios llevados a cabo en la década de los ochentas desafiaron la técnica de Silverstone en 1974 sobre el tiempo de grabado a 60 segundos. [24]

Grabado con ácido clorhídrico

El ácido clorhídrico es una disolución acuosa de cloruro de hidrógeno. El nombre de ácido muriático, con el que también se le conoce, fue dado por Lavoisier, basado en el hecho de que "muriato" indicaba la presencia de cloro en los compuestos inorgánicos. Es un líquido de color amarillo (por presencia de trazas de fierro, cloro o materia orgánica) o incoloro con un olor penetrante.

Está presente en el sistema digestivo de muchos mamíferos y una deficiencia de éste, provoca problemas en la digestión, especialmente, de carbohidratos y proteinas; en exceso provoca úlceras gástricas. La disolución acuosa grado reactivo contiene aproximadamente 38 % de HCl. Es utilizado en la refinación de minerales, en la extracción de estaño y tántalo, para limpiar metales, como reactivo químico, en la hidrólisis de almidón y proteinas para obtener otros productos alimenticios como catalizador disolvente en síntesis orgánica.

Su uso en odontología data desde 1916, donde el Dr. Walter Kane eliminó con éxito las manchas de fluorosis de los dientes aplicando ácido y calor. Más tarde en 1966, Mclnnes reportó usar cinco partes de ácido clorhídrico al 36%, peróxido de hidrógeno al 30% y una parte de éter para su uso como tratamiento tópico; pero los pacientes informaron que experimentaron una gran incomodidad por el uso de esta solución. El ácido clorhídrico se ha utilizado para eliminar el esmalte decolorado y la estética ha mejorado, recientemente se reportó su uso con piedra pómez de ácido clorhídrico sobre esmalte para eliminar todos los tipos de defectos de color intrínsecos superficiales con poca comprensión de los efectos de tal tratamiento sobre la superficie del esmalte.[26]

Todos estos estudios demostraron que el ácido clorhídrico es eficaz en la eliminación de las manchas superficiales del esmalte. Sin embargo, el efecto de tal tratamiento sobre la superficie del esmalte es desconocido. [27] Recientemente se ha demostrado que ácido clorhídrico 15% de gel durante 120 segundos conduce a una eliminación virtualmente completa de la capa superficial, por lo tanto parece ser más adecuado para el pretratamiento de la lesión natural del esmalte permanente antes de la infiltración de resina, de acuerdo como lo indica la ficha técnica ICON®

Resinas Infiltrativas.

La capacidad de las resinas de penetrar en el cuerpo de lesión porosa de las lesiones del esmalte se describió hace más de 30 años.[1] Desde entonces, la penetración y el arresto de lesiones artificiales por selladores dentales han sido investigados en varios estudios.[28,29] Sin embargo, los selladores dentales y los adhesivos no están optimizados para una alta penetración , por lo tanto, los estudios realizados hasta ese momento, sólo mostraron penetración superficial en lesiones naturales del esmalte.[30] Durante los últimos 10 años un grupo de investigadores de la Universidad de Charité (Berlín, Alemania) ha trabajado en desarrollar una resina

de baja viscosidad que pueda infiltrarse en el tejido dental desmineralizado más no cavitado, sin la necesidad de remover tejido sano.[31] Un método alternativo para detener las lesiones es la filtración de caries. En contraste con el sellado de caries convencional en el que se crea una capa de resina sobre la superficie del esmalte, la infiltración de la caries apunta a penetrar en el cuerpo de la lesión porosa con resinas especiales de baja viscosidad, que posteriormente se endurecen.[32,33] De esta forma se bloquean las porosidades de la lesión, que actúan como vías de difusión de los ácidos cariogénicos en la lesión, y se frena o incluso se detiene la progresión de la caries.

Presentaciones Comerciales.

Debido a su aplicación en superficies interproximales y libres, Icon® (DMG) viene en dos presentaciones. En ambas presentaciones se usan los mismos materiales, lo que varía es solo la forma de aplicación. Ambas presentaciones contienen tres materiales en presentación de jeringa.

Tabla 2. Componentes de la resina Infiltrativa ICON®

	Componente	Mecanismo de acción
Primera jeringa	Ácido clorhídrico al 15% (Icon-etch®).	Permite realizar un grabado en el esmalte.
Segunda Jeringa	Etanol (Icon-dry®).	Sirve como agente desecante de la superficie del esmalte, disminuye la viscosidad de la resina infiltrante, así como su ángulo de contacto, para incrementar el coeficiente de penetración.
Tercera jeringa	Resina fotopolimerizable, infiltrante de baja viscosidad a base de TEGDMA (Icon-Infiltrant).	Resina infiltrante con TEGDMA como la matriz orgánica principal, para dar un mayor coeficiente de penetración.
DMG Chemisch-Pharmazeutische Fabrik GmbH. www.dmg-dental.com		

A diferencia del resto de las resinas que existen en el mercado, *Icon*® utiliza como agente grabador ácido clorhídrico en gel al 15% (*HCl*) en vez de ácido fosfórico en gel al 37% (H_3PO_4). El uso de *HCl* a 15 %, es debido a que los estudios demuestran que tiene una penetración media de 37 µm aplicado por 120 segundos, comparada a los 11 µm de penetración que tiene en promedio el H_3PO_4 al 37% aplicado por el mismo tiempo.

RUMEX OBTUSIFOLIUS

El reino vegetal ha sido la principal fuente de medicina de la humanidad durante cientos de años y existe una gran acumulación de conocimientos heredados durante siglos. El interés científico en las plantas medicinales en los últimos 40 años ha llevado al descubrimiento de nuevas moléculas e ingredientes activos derivados de ellas, que dan respuesta a graves trastornos de salud. Muchas plantas y partes de ellas, generalmente secas, todavía se usan en todo el mundo como remedios caseros o como ingredientes en herbicidas, terapias espirituales, bebidas fermentadas, cataplasmas, ungüentos de terapeutas de la Medicina Herbal Tradicional (THM) por sus propiedades medicinales

El extracto de *Rumex obtusifolius* ó "Lengua de vaca" es una planta común en la región Teziutlán, Puebla que pertenece a la familia *Polygonaceae*, es originaria de Europa, donde crece en casi cualquier tipo de suelo, pero prefiere suelos ricos en hierro, cursos de agua, estanques, humedales cercanos áreas de bosque sombrío en general. Es utilizada (una o dos hojas frescas) como antipirético, también presenta actividad analgésica a altas dosis de extracto metanólico de *Rumex abyssunucus* que tiene una protección de hasta 70% en el dolor inducido en ratones en comparación con la aspirina y la morfina como controles positivos . Existen estudios de actividad antiviral de algunas moléculas aisladas de *Rumex acetosa*, actividad farmacológica potencial para epidemias recurrentes de influenza en México. Además, este extracto, presenta configuraciones moleculares particulares conocidas como Fluoróforos o fluorocromos capaces de absorber fotones y emitir fotones de menor energía (mayor longitud de onda) responsable de la emisión de la fluorescencia, lo que permitió en nuestro estudio una mejor observación de la penetración de la resina infiltrativa.

CARACTERIZACIÓN DE LA MUESTRA

DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Los rayos-X son una forma de radiación electromagnética de elevada energía y pequeña longitud de onda; del orden de los espacios interatómicos de los sólidos. Cuando un haz de rayos-X incide en un material sólido, parte de este haz se dispersa en todas direcciones a causa de los electrones asociados a los átomos o iones que encuentra en el trayecto, pero el resto del haz puede dar lugar al fenómeno de la difracción de rayos-X, que tiene lugar si existe una disposición ordenada de átomos y si se cumplen las condiciones que vienen dadas por la Ley de Bragg, que relaciona la longitud de onda de los rayos-X y la distancia interatómica con el ángulo de incidencia del haz difractado:

$$n \cdot \lambda = 2d \cdot \text{sen}\theta$$

Si no se cumple **la ley de Bragg**, la interferencia es de naturaleza no constructiva y el campo del haz difractado es de muy baja intensidad. Cuando la interferencia es constructiva obtenemos una respuesta, que se conoce con el nombre de difractograma, que nos proporciona información para identificar y cuantificar los componentes presentes en los materiales, ya que cada componente tiene un patrón/difractograma único, es decir, su huella dactilar. La difracción de rayos X puede revelar la naturaleza mineralógica de las fases presentes en el sólido. El principio es que un haz de rayos X penetra en la muestra, y luego es difractado por los planos cristalinos que contienen en la muestra. El ángulo y la intensidad de la difracción son característicos de una estructura cristalina. Todas las líneas de difracción se utilizan para identificar la naturaleza de los cristales.

Figura 4 Esquema de difracción de RX[42]

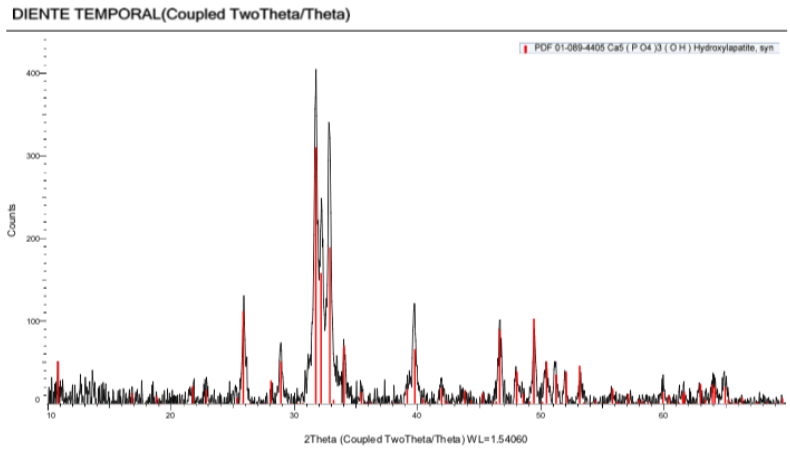


Figura 5.Difractograma de hidroxiapatita. Fuente Propia.

PERFILOMETRÍA DE SUPERFICIE

La rugosidad es una propiedad de superficie importante que puede aumentar el área superficial y proporcionar retención mecánica de materiales, como ocurre con el biofilm dental, ocasionando su acumulación en los dientes. En la Odontología se encuentra relacionada, especialmente, con la eficacia de procedimiento de acabado y pulido. Muchos métodos se emplearon para caracterizar la superficie, de acuerdo con su rugosidad, pero el más aceptado es el que determina el perfil a lo largo de una línea en la superficie del material, usando un trazado mecánico y expresando la rugosidad por las ondulaciones de este perfil.

El parámetro más utilizado para describir la superficie rugosa es el promedio de rugosidad de superficie (Ra), que es la medida aritmética de las salidas verticales del perfil de la superficie. La medición de la rugosidad superficial de las mediciones vertical y horizontal puede dar más detalles acerca de la estructura de la superficie.[36] El parámetro de rugosidad de superficie (Rz) es la media aritmética de los valores de rugosidad parcial Zi, donde Zi es la la mayor de las rugosidades parciales (Zi) que se presentan en el trecho de medición Lm (linea media) correspondientes a cada uno de los cinco módulos integrantes de la longitud de medición (el tramo individual de mayor Zi se designa como Rmáx).

El principio de operación del perfilómetro es simple: una punta fina que se pone en contacto con la superficie para analizar, mediante un barrido controlado en línea recta y las variaciones de alturas se convierten en señales eléctricas que proporcionan una imagen topográfica de su superficie; esto permite al usuario determinar la rugosidad de la muestra. [37]

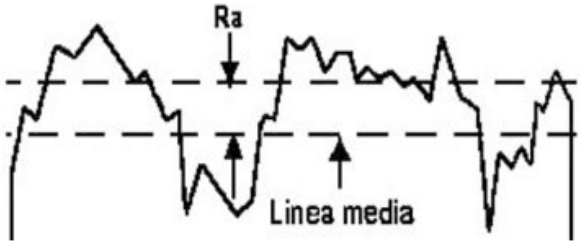


Figura 6. Esquema de la medida de Ra [46]

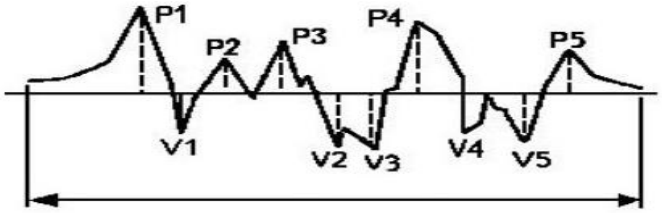


Figura 7. Esquema de la medida de Rz [46]

MICROSCOPÍA ELECTRÓNICA DE BARRIDO (MEB)

El microscopio electrónico de barrido (MEB) utiliza un haz enfocado de electrones de alta energía para generar una variedad de señales en la superficie de especímenes sólidos. Las señales que se derivan de las interacciones electrón-muestra revelan información sobre la muestra que incluye morfología externa (textura), composición química, estructura cristalina y orientación de los materiales que componen la muestra. En la mayoría de las aplicaciones, los datos se recopilan en un área seleccionada de la superficie generando una imagen bidimensional que muestra variaciones espaciales en estas propiedades. Las áreas que van desde aproximadamente 1 cm a 5 micras de ancho pueden formarse imágenes en un modo de escaneo utilizando técnicas convencionales de MEB (ampliación que varía desde 20x hasta aproximadamente 30,000x, resolución espacial de 50 a 100 nm). El MEB también es capaz de realizar análisis de ubicaciones de puntos seleccionados en la muestra; este enfoque es útil especialmente en composiciones químicas que determinan cualitativa o semicuantitativamente (usando EDS), estructura cristalina y orientaciones de cristal (usando EBSD). El diseño y la función del SEM es muy similar al EPMA y existe una considerable superposición de capacidades entre los dos instrumentos.[34]

MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA

Este microscopio hace uso de la fluorescencia que es la propiedad que tienen ciertos elementos químicos denominados fluoróforos o fluorocromos de emitir luz visible cuando sobre ellos incide una radiación intensa; es decir, absorben una luz de una longitud de onda determinada (por ejemplo luz ultravioleta o luz monocromática azul) y luego emiten otra luz de una mayor longitud de onda (de un determinado color, verde, rojo, amarillo). Es un fenómeno de luminiscencia de vida corta, emitida simultáneamente con la excitación. Mientras que el filtro de excitación selecciona las longitudes de onda que excitan un fluoróforo concreto dentro de la muestra, el filtro de emisión actúa como una especie de control de calidad, ya que solo permite pasar las longitudes de onda de interés emitidas por el fluoróforo. La función del espejo dicroico es reflejar luz en la banda de excitación y transmitir luz en la banda de emisión, lo que permite la iluminación clásica de luz incidente para epifluorescencia.

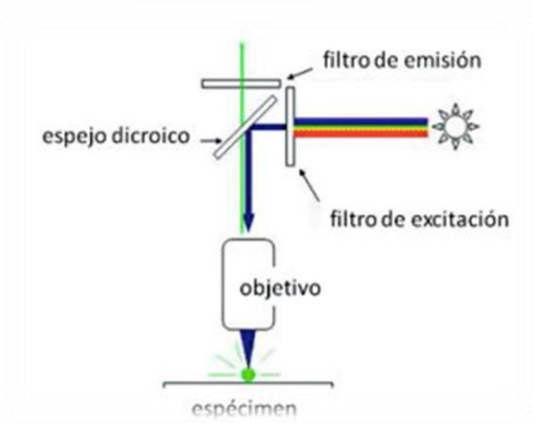


Figura 8. Esquema del funcionamiento del microscopio de fluorescencia[41]

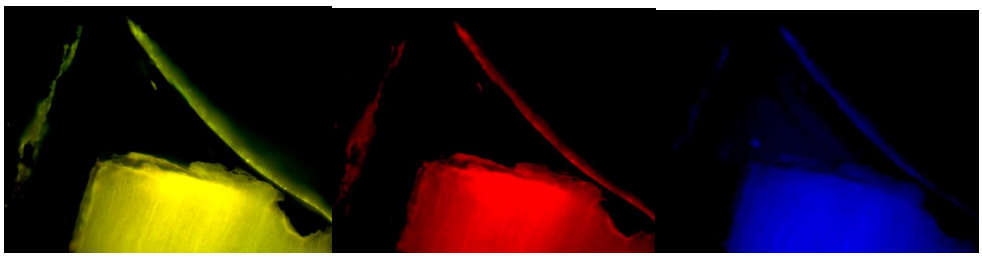


Figura 9. Micrografía obtenida después de someter la muestra a resina infiltrativa ICON® con Rumex Obtusifolius al microscopio de fluorescencia. Fuente Propia.

ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Un método alternativo para tratar las lesiones de caries que no se espera remineralizar o detener mediante medidas no invasivas podría ser la infiltración con resinas de baja viscosidad. Este tratamiento pretende ocluir los poros dentro del cuerpo de la lesión que actúan como vías de difusión para los ácidos y los minerales disueltos sellando así la lesión sin un revestimiento de resina que lo cubra.

Meyer-Lueckel et al. (2007)., compararon la eficacia de tres diferentes geles de grabado en la remoción de la capa superficial a diferentes tiempos. Se utilizaron molares y premolares humanos con lesiones proximales de mancha blanca. Los dientes se limpiaron cuidadosamente de tejidos blandos y se almacenaron en solución de NaCl al 0,9% a 4ºC hasta su preparación. Después de la remoción de las raíces, se cortaron perpendicularmente las coronas a través de las desmineralizaciones, resultando en dos mitades de cada lesión. Un total de 96 mitades cumplieron los criterios y fueron asignados aleatoriamente a los doce grupos (n = 8 / grupo). Se aplicó gel de ácido fosfórico al 37% y geles experimentales de ácido clorhídrico al 15%, tanto a la lesión no protegida como al esmalte sano. Después de 30, 60, 90 o 120 s, respectivamente, los geles de grabado se enjuagaron durante 30 s y secaron con aire. No se encontraron diferencias significativas entre la erosión en las lesiones y en esmalte sano. En comparación con el gel de ácido fosfórico, la corrosión con gel de ácido clorhídrico al 15% durante 90-120 s fue considerablemente más eficaz en la erosión de la superficie para todos los tiempos de aplicación y condujo a una eliminación casi completa de la capa superficial. Con 37% de ácido fosfórico y 5% de gel de ácido clorhídrico, la capa superficial no se pudo eliminar de forma fiable. Se puede concluir que el 15% de gel de ácido clorhídrico es más adecuado para la erosión de la capa superficial de las lesiones de esmalte natural superficial que el gel de ácido fosfórico. Por lo tanto, este pretratamiento podría ser preferible para el acondicionamiento de lesiones de caries naturales del esmalte antes de la infiltración de resina.[37]

Paris et al. (2010) evaluaron el efecto de los geles de ácido fosfórico y ácido clorhídrico sobre en la reducción de la capa superficial de las lesiones naturales en dientes primarios. Seleccionaron 32 molares primarios extraídos o exfoliados con lesiones en esmalte. Los dientes se almacenaron en solución de cloramina al 1% antes de su uso, se limpiaron cuidadosamente de los tejidos blandos. Los dientes se almacenaron en solución de NaCl al 0,9%. Los dientes se cortaron perpendicularmente a la superficie a través de las desmineralizaciones, resultando en dos mitades de lesión que fueron observadas con un microscopio estéreo. Sólo se incluyeron lesiones iniciales de caries en esmalte sin cavidades obvias o daños superficiales y con profundidades similares. Se asignaron al azar 36 pares de mitades de lesión a cuatro subgrupos con respecto al tiempo de grabado (n = 9 para cada ácido). Las superficies cortadas fueron barnizadas con esmalte para uñas

(Betrix, Frankfurt/Main, Germany) .Posteriormente, las mitades de lesiones iniciales y las partes de esmalte sano se grabaron con un gel de ácido fosfórico al 37% y gel de ácido clorhídrico al 15% durante 30, 60, 90 y 120 s, respectivamente. Después de 2 min, el gel se enjuagó durante 30 s. Este estudio in vitro mostró que el grabado con H_3PO_4 resultó en una reducción incompleta de las capas superficiales en todos los grupos. Por el contrario, las capas superficiales podrían erosionarse casi por completo mediante grabado con HCl durante 120 s. Por lo tanto, este pretratamiento puede ser útil también para los dientes primarios antes de la infiltración de resinas de baja viscosidad para alcanzar profundidades de penetración altas, como se ha propuesto en los dientes permanentes.[38]

Paris et al. (2014)., evaluaron en estudios *in vitro* la penetración de un infiltrante en fisuras de esmalte en lesiones de caries no cavitadas, con la de un sellante convencional, ambos fueron aplicados según las recomendaciones del fabricante; así como la penetración del infiltrante después del grabado con ácido fosfórico 37%, en lugar de ácido clorhídrico 15%. Se utilizaron molares y premolares humanos extraídos, para eliminar los biofilms se limpiaron cuidadosamente los dientes con un cepillo giratorio y una pasta profiláctica. Los dientes se almacenaron en solución de timol al 0,1% hasta su uso. Los dientes fueron valorados con códigos ICDAS 0, 1, 2. Los dientes con códigos ICDAS 0, 1 (n = 20, cada uno) y 2 (n = 30) fueron asignados aleatoriamente en tres grupos de tratamientos (37% ácido fosfórico 60 s, 120 s y ácido clorhídrico al 15% por 120 s) como selladores de fisuras e infiltrantes. La técnica de doble fluorescencia permitió diferenciar las partes infiltradas del cuerpo de la lesión teñidas con RITC (rojo) y las partes no infiltradas y porosas teñidas con NaFl (verde). El tejido duro no poroso, tal como el esmalte sano o la capa superficial altamente mineralizada, no mostraron fluorescencia y, por lo tanto, se mostraron en negro. La erosión más intensa de la capa superficial resultó en una penetración más profunda comparada con el grabado utilizando ácido fosfórico en comparación con el grupo de "Soft-Etch-Infiltration". Concluyeron que en las manchas blancas no cavitadas (ICDAS 2), el uso de selladores da lugar a una penetración superficial de la resina, mientras que la resina infiltrativa da lugar a una penetración más profunda y que el pretratamiento con ácido clorhídrico parece ser más adecuado en comparación con el uso de un ácido fosfórico.[39]

Yim et al. (2014)., investigaron un método de pretratamiento alternativo para la infiltración de resina con ácido fosfórico al 37% con un aplicador de cepillo y evaluaron el efecto de penetración del infiltrante para enmascarar lesiones de mancha blanca en dientes humanos. Para este estudio se extrajeron 70 molares y premolares humanos con mancha blanca naturales, no cavitadas. Una parte de cada mancha blanca se cubrió con barniz de uñas, y las mitades se asignaron a uno de los dos grupos (n = 20). El grupo control implicó la aplicación de gel de *HCl* al 15% durante 120 s, mientras que el grupo experimental se aplicó ácido fosfórico al 37% por 30 s con un aplicador de cepillo. Después se lavaron durante 30 s con aire y agua. De cada grupo se seleccionaron 12 especímenes para evaluar el espesor de las capas superficiales eliminadas y los otros ocho especímenes se utilizaron para evaluar los cambios micromorfológicos en las superficies de la lesión.

Las 20 muestras se dividieron en dos grupos y se aplicaron dos pretratamientos diferentes sobre las capas superficiales de cada grupo (n = 10) antes de la tinción y la infiltración de resina. Después de enjuagar durante 30 s, la tinción se realizó tres veces, seguida de un blanqueo a dos pliegues, posteriormente se obtuvieron las imágenes antes y después de la infiltración de resina. Se puede concluir que la aplicación de un gel H_3PO_4 al 37% con un cepillo aplicador durante 30 s podría aumentar la permeabilidad y al mismo tiempo minimizar la eliminación de la capa superficial de las manchas blancas proximales naturales en los molares dentales. Por otra parte, el efecto de la infiltración de resina fue similar al grupo control que implicó la aplicación de gel de HCl al 15% durante 120s.[40]

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las diferencias de las estructuras dentales presentes en los dientes temporales con respecto a los dientes permanentes son un factor determinante para el grabado ácido, debido a que el esmalte de dientes temporales presenta un mayor volumen de poros internos. Actualmente el concepto de Mínima Intervención (MI) se describe adecuadamente en la literatura y resume la lógica clínica de las estrategias de prevención relacionadas con el manejo de la caries dental. La odontología actual tiene como propósito presentar un método de tratamiento MI centrado en el paciente y basado en evidencia, para uso en la práctica dental clínica rutinaria.[41] Sin embargo existe en el mercado una resina de baja viscosidad capaz de fluir a través de los poros del esmalte y limitar el progreso de caries, sin embargo dentro de sus indicaciones en su ficha técnica limita su uso en dientes permanentes, sin considerar que también se esta empleando en dientes primarios.

Existe escasa información en la literatura que ponga en evidencia el patrón de grabado y tiempo ideal con HCl al 15% que permita establecer las condiciones óptimas para utilizar estas resinas infiltrativas en esmalte temporal. Por lo anterior, el presente proyecto busca evaluar las características del esmalte temporal sano después de ser grabado con HCl al 15% en diferentes tiempos de exposición además de realizar una combinación entre la resina infiltrativa y el extracto de *Rumex obtusifolius* para la observación de su penetración, por lo que surge la siguiente pregunta de investigación:

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿CUÁL ES EL TIEMPO DE GRABADO CON ÁCIDO CLORHÍDRICO AL 15% QUE GENERE EL MEJOR PATRÓN DE GRABADO E INFILTRACIÓN DE RESINA CON *RUMEX OBTUSIFOLIUS* EN ESMALTE TEMPORAL SANO?

JUSTIFICACIÓN.

El esmalte temporal presenta diferencias estructurales comparativamente con los permanentes, sin embargo, no está claro, previo a una revisión bibliografica, cual es el tiempo de grabado con HCl al 15% que obtenga el mejor patrón de grabado de su capa superficial. Es de importancia establecer un tiempo ideal de exposición para el HCl al 15% que produzca un patrón de grabado que permita un mejor acondicionamiento de la superficie para el uso de resinas infiltrativas. Además de realizar una evaluación exploratoria de la infiltración de la resina combinada con *Rumex obtusifolius*. Los resultados obtenidos de este estudio servirán para establecer un tiempo de exposición ideal de HCl, que favorezca la adecuada penetración de la resina infiltrativa en órganos dentarios primarios.

HIPÓTESIS

Existe un mejor patrón de grabado e infiltración del esmalte temporal sano aplicando ácido clorhídrico al 15% a diferentes tiempos.

HIPÓTESIS NULA

No existe un mejor patrón de grabado del esmalte temporal sano aplicando ácido clorhídrico al 15% a diferentes tiempos.

OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar el tiempo de grabado con ácido clorhídrico al 15% que genere el mejor acondicionamiento de esmalte temporal sano e infiltración de resina con *Rumex obtusifolius.*

ESPECÍFICOS

- Determinar las condiciones de la superficie del esmalte temporal sano con ácido clorhídrico al 15% aplicado durante **120 s.** Utilizando MEB y perfilometría.
- Determinar las condiciones de la superficie del esmalte temporal sano con ácido clorhídrico al 15% aplicado durante **90 s.** Utilizando MEB y perfilometría.
- Determinar las condiciones de la superficie del esmalte temporal sano con ácido clorhídrico al 15% aplicado durante **60 s.** Utilizando MEB y perfilometría.
- Determinar las condiciones de la superficie del esmalte temporal sano sin **aplicación** de ácido clorhídrico al 15%. Utilizando MEB y perfilometría.
- Determinar la composición de la estructura de esmalte temporal y permanente sanos a través de la difracción de rayos X
- Observar la penetración de la Resina Infiltrativa con extracto Rumex después de la aplicación de HCl al 15% de acuerdo como lo indica el fabricante. Utilizando Microscopio de Fluorescencia.

MATERIALES Y MÉTODOS.

DISEÑO DEL ESTUDIO: Experimental, prospectivo, transversal, *in vitro*, *ex vivo*

UNIVERSO: Dientes deciduos sanos exfoliados humanos

MUESTRA: No probabilístico por conveniencia de Órganos dentarios temporales que cumplieron los criterios de selección.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de inclusión

- Dientes anteriores temporales sanos
- Dientes próximos a exfoliar extraídos ó exfoliados que se obtuvieron de la Clínica de Posgrado de Odontopediatría
- Sin Fracturas
- Sin lesión de mancha blanca
- Sin defectos en el esmalte
- Consentimiento informado
- Asentimiento informado
- Órganos dentarios sin presencia de fluorosís.

Criterios de exclusión

- Lesiones que se extendieron a la mitad de la dentina
- Presencia de caries
- Presencia de lesiones o defectos estructurales
- Sin consentimiento informado por el padre o tutor
- Sin Asentimiento informado por el niño
- Lesiones de mancha blanca
- Órganos dentarios con presencia de fluorosís

Criterios de eliminación

- Muestras que no puedieron ser observadas en el Microscopio Electrónico de Barrido.
- Muestras que sufrieron algún deterioro durante el transcurso del proyecto.

DISEÑO Y TIPO DE MUESTREO

- Aleatorio simple
- Órganos dentarios que cumplieron con los criterios de inclusión y que se recolectaron de Noviembre 2017 a Enero 2018

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tabla 3. Tabla de Variables. Fuente Propia.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	**Análisis estadístico**
Variable independiente					
Ácido clorhídrico	Gel incoloro, corrosivo, de olor fuerte al 15%.	Aplicación del ácido en gel en la superficie del esmalte temporal sano a dferentes tiempos.	Cualitativa Nominal	No aplica	No aplica
Variables dependientes					
Patrón de grabado	Pérdida de sustancia de manera superficial con una variación de 5 a 30 micrómetros dependiendo de la concentración del ácido.	Se aplicará el gel de HCl al 15% en la capa superficial durante 60s, 90s y 120s.	Cualitativa Ordinal	Tipo I Tipo II Tipo III	Estadística descriptiva. Estadística inferencial: H Kruskal Wallis
Rugosidad de la superficie grabada	Superficie que se obtiene después de la exposición del esmalte temporal sano al ácido clorhídrico	Formación de poros en el centro del prisma del esmalte	Cuantitativa	Micrómetros	Estadística descriptiva. Estadística inferencial: ANOVA
Observacion de la infiltracion de la resina combinada con Rumex obtusifolius	Determinación de la penetración de resina combinada con *Rumex obtusifolius*	Observación bajo el Microscopio de fluorescencia	Cualitativa	Observar la penetración de la resina combinada con *Rumex obtusifolius*	Estadística descriptiva.

CONCORDANCIA Y FIABILIDAD

El presente trabajo no desarrolló un nuevo procedimiento, en virtud de que el tesista esta estandarizado en el procedimiento de grabado de superficies dentarias. En lo que respecta a la aplicación del protocolo del manejo de resinas infiltrativas se utilizó como referencias los procedimientos realizados por Meyer-Lueckel et al. (2007), Paris et al. (2014)[37,38], y vuelto a corroborar por el Yim et al. (2014)[40]. Por lo tanto, se utilizó dicha técnica previamente estandarizada. El procedimiento se encuentra descrito en los antecedentes específicos. Para garantizar una adecuada realización de la técnica cada muestra se analizó por un investigador experto con el uso de microscopia MEB y Microscopio de fluorescencia Leica DM1000 LED a la par por otro investigador experto con el uso de PERFILÓMETRO.

UBICACIÓN ESPACIO - TEMPORAL.

Clínica de la Maestría en Estomatología con terminal en Pediatría.
Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología (**CUVyT)**
Laboratorio Multidisciplinario de la FEBUAP.
Laboratorio de Materiales y biomateriales dentales de la FEBUAP.
OTOÑO 2017.
Laboratorio de Neurofarmacología de la Facultad de Ciencias Químicas BUAP.

PROCEDIMIENTOS

Obtención de las muestras de materiales utilizados.

Estudio experimental *in vitro,* se utilizaron dientes anteriores primarios humanos exfoliados de manera natural. Un total de *37* mitades cumplieron los criterios y se asignaron aleatoriamente a los 3 grupos (n = 11 / grupo). Para crear controles no tratados, se seleccionaron 5 muestras de esmalte sano que fueron analizadas por perfilómetro. Los dientes se limpiaron cuidadosamente de tejidos blandos y se almacenaron en Suero Fisiológico (Solución CS Pisa) a 4 ° C hasta la preparación. Una vez eliminadas las raíces, se cortaron las coronas (Discos doble cara .010 grosor de diamante, 22 mm de diámetro) dando como resultado 4 fragmentos de esmalte dental que abarcaron los tercios medio e incisal; para después ser montados en PVS (3M) para un mejor manejo de las muestras.

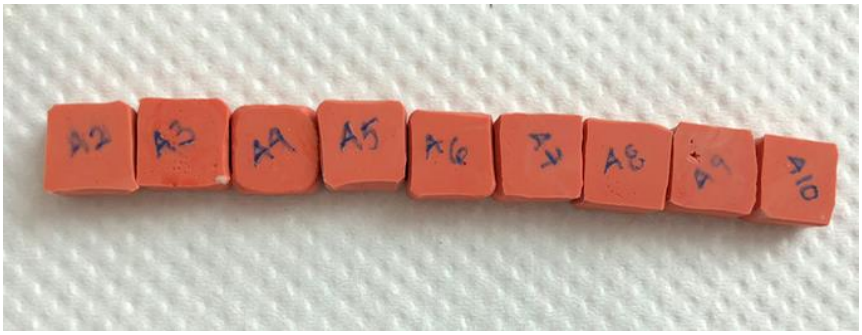


Figura 10. Organización de muestras experimentales. Fuente Propia.

Los fragmentos de esmalte fueron asignados de manera aleatoria para ser grabados en su superficie a diferentes tiempos: 60, 90 y 120 s con gel de HCl al 15 %. El procedimiento de grabado se realizó inmediatamente antes de que las muestras fueran observadas en los microscopios y el perfilómetro. Después de 60, 90 o 120 s, respectivamente, los geles de grabado se enjuagaron durante 30 s con una jeringa triple dental; posteriormente, las muestras se secaron con aire exento de aceite.

Figura 11.Elementos experimentales. Fuente Propia.

Para estimar la profundidad de la superficie del esmalte sin tratar, las mitades se se evaluarón por medio del perfilómetro (Marca Mitutoyo) en el laboratorio de Materiales y Biomateriales Dentales de la Facultad de Estomatologia de la BUAP. El perfil de rugosidad de superficie se analizó en el centro del área delimitada utilizando una perfilometría de superficie para cada muestra de esmalte, se tomaron 3 lecturas a través de la muestra antes del acondicionamiento del esmalte (T1) y después del acondicionamiento del esmalte (T2) a una longitud media de 0.8 mm. Aunque la precisión perfecta de reposicionamiento es imposible en el nivel de micra, la muestra estaba aproximadamente en la misma posición para cada medición. El parámetro de rugosidad analizado fue la rugosidad promedio (Rz), que es la media aritmética de los valores de rugosidad parcial Zi, donde Zi es la mayor de las rugosidades parciales (Zi) que se presentan en el trecho de medición Lm (linea media). El principio de operación del perfilómetro es simple: una punta fina que se encuentra en contacto con la superficie a analizar,realizando un barrido controlado (en línea recta) y las variaciones de alturas se convierten en señales eléctricas que proporcionan una imagen topográfica de su superficie; esto permite al usuario determinar la rugosidad de la muestra.[42]

Figura 12. Probador de rugosidad de superficie portátil. Forma de medición SURFTEST Serie SJ-310. Fuente Propia.

Figura 13.Muestras de esmalte montadas en PVS y expuestas con HCl al 15%. Fuente Propia.

Posteriormente, las muestras fueron observadas en el Microscopio Electrónico de Barrido. Este microscopio se encuentra en el laboratorio de Microscopía Electrónica

CESAT-ICBM, en el Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología (CUVyT). Cada muestra se montó en moldes de PVS (3M) se colocaron sobre una cinta de carbono, sin recubrimiento. Las muestras se observaron por triplicado por un experto a una magnificación de 500x,1000x y 2500x. Se organizaron los resultados obtenidos en tablas para ser analizados posteriormente.

TÉCNICA DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X

Para estudiar los cristales que conforman al prisma y debido a su escala nanométrica, se utilizó la técnica de difracción de rayos X (DRX). Para ser observadas se requirió que las muestras de esmalte tuvieran un espesor de 10 nm, aproximadamente. Se utilizó un esmeril (o la pieza de mano) para obtener el polvo del esmalte primario y permanente para la preparación de la muestra para posteriormente ser depositadas sobre un molde circular de 3 mm de diámetro. Este método de polvo permitió hacer el estudio estructural y químico de cristales individuales. Por otro lado, el método metalográfico permite, además, los estudios de la interface entre los cristales y la interacciones entre éstos.

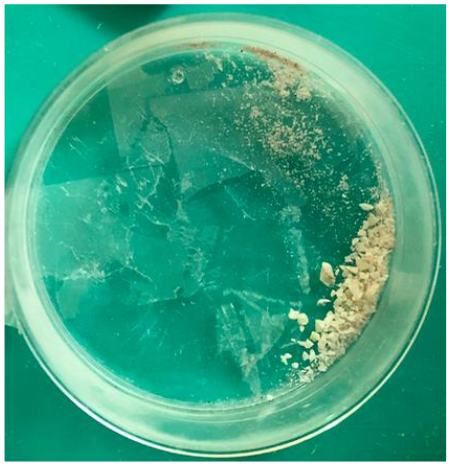


Figura 14.Fragmentos de esmalte triturado para prueba de difracción de rayos X. Fuente Propia.

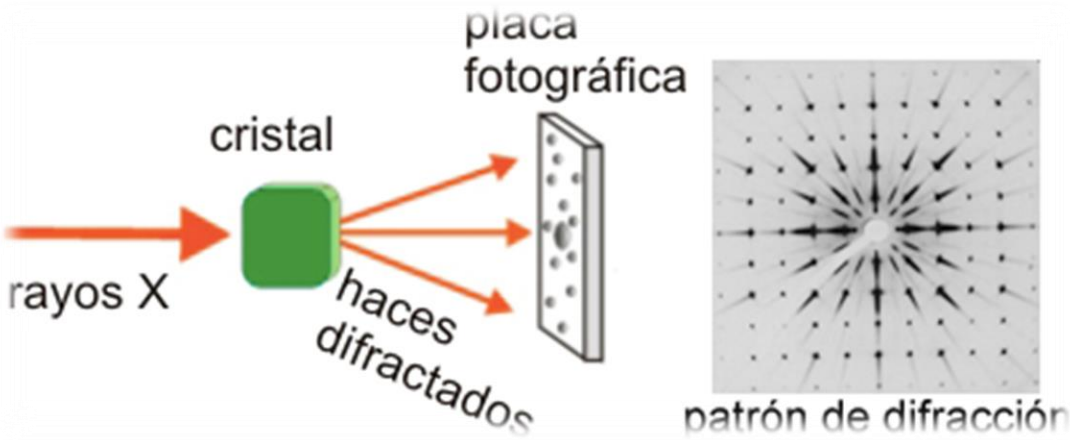


Figura 15. Esquema de difracción de rayos X.[41]

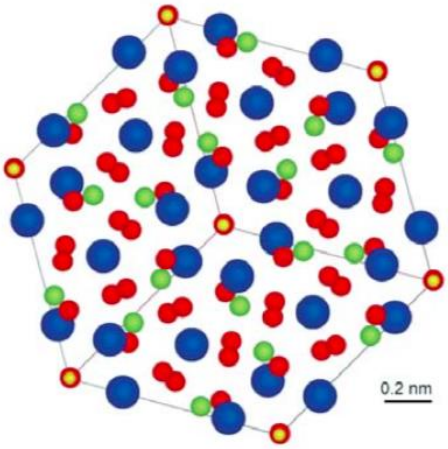


Figura 17. Representación esquemática de la celda unitaria hexagonal de la hidroxiapatita vista desde su plano basal con el arreglo atómico que presentan los átomos de calcio (Ca, en color azul), fosforo (P, en color verde), oxígeno (O, en color rojo) e hidrógeno (H,en color amarillo)dentro de ella.[42]

TÉCNICA DE EDS.

Las muestras se eliminaron de los medios de almacenamiento, se lavaron minuciosamente con agua desionizada y se secaron al aire a temperatura ambiente. Solo 2 muestras seleccionadas aleatoriamente se sometieron a tres ciclos de recubrimiento por pulverización catódica de oro y luego se transfirieron para la espectroscopia de rayos X de dispersión de energía (EDS). La composición elemental de los elementos principales Ca, P, C y O en la superficie de esmalte se cuantificó con un microscopio electrónico de barrido LEICA S440 (Leica Cambridge Ltd., Clifton Road, Cambridge, RU) equipado con un EDAX X - Detector MAX a 509 aumentos, 20 kV de tensión de aceleración, 35 ° de elevación y un tiempo de proceso de 5 segundos. Las mediciones se llevaron a cabo en las superficies labiales de esmalte primario de incisivos. Se realizaron dos mediciones aleatorias en las superficies labiales de un incisivo primario y un incisivo permanente. Se calculó el valor medio y se utilizó para el análisis estadístico. En total, se realizaron 5 mediciones de EDS en las superficies de cada muestra. Se calcularon los promedios y las desviaciones estándar de las proporciones de Ca / P (calcio / fósforo). Las proporciones de estos elementos se calcularon como porcentajes medios de cada elemento en toda la superficie del esmalte.

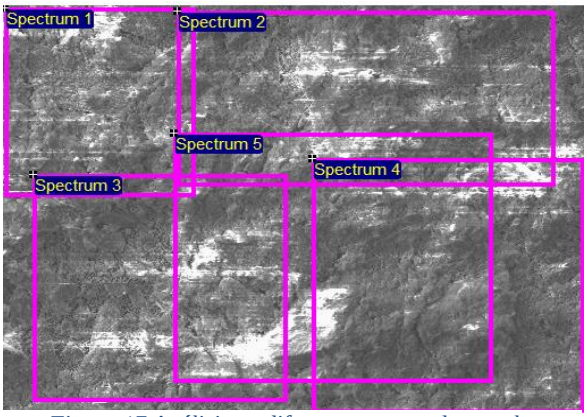


Figura 17.Análisis en diferentes puntos de esmalte primario. Fuente Propia.

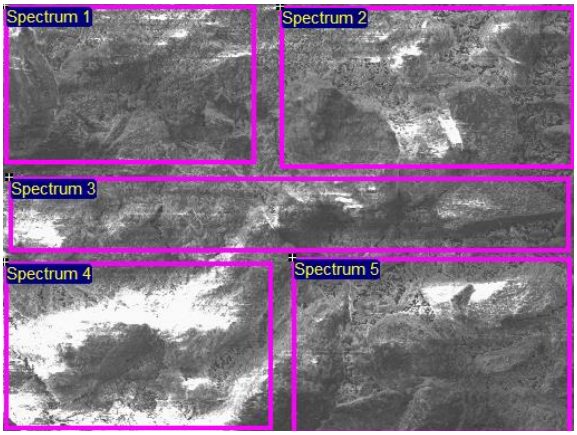


Figura 16.Análisis en diferentes puntos de esmalte permanente. Fuente Propia.

MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA LEICA DM 1000 LED

Para visualizar las estructuras de esmalte porosas con el microscopio de fluorescencia, la resina infiltrativa fue mezclada con extracto de *Rumex Obtusifolius*. La resina mezclada con el extracto penetró las estructuras porosas dentro de las muestras, marcando estas áreas para el microscopio de la fluorescencia. Para permitir la penetración de la resina desde la superficie de corte a las zonas de esmalte, se realizó el protocolo de grabado a 120 segundos que sugiere el fabricante. Posteriormente, las muestras se secaron con corriente de aire, se almacenaron en frascos de cristal sellados herméticamente sumergidos en extracto de *Rumex Obtusifolius* por 12 horas.

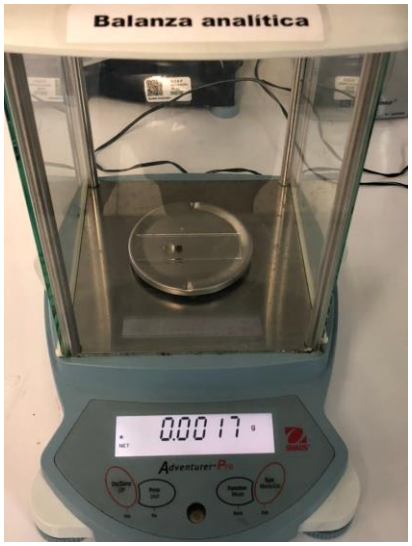


Figura 18. Balanza analítica (Dehus, Pionner). Fuente Propia.

Figura 19. Frascos con RUMEX OBTUSIFOLIUS. Fuente Propia.

Los fragmentos incrustados con resina se fijaron en portaobjetos (diaplus, Oststeinbek, Alemania), se colocaron paralelos a la superficie de corte y se pulieron hasta 4000 granos (Mikroschleifsystem, Exakt Apparatebau).

Figura 20.Fragmentos experimentales, observados en el microscopio e fluorescencia DM1000 LED. Fuente Propia.

Las muestras se observaron con un Microscopio de Fluorescencia Leica DM1000 LED. Este microscopio se encuentra en el Laboratorio de Neurofarmacología de la Facultad de Ciencias Químicas BUAP. La luz de excitación tenía una longitud de onda máxima a 400 a 600 nm. Para garantizar que solo se registrara la luz fluorescente, la luz emitida se pasó a través de un filtro de paso de 590 nm de longitud. El Contraste de Modulación Integrado (IMC) genera imágenes con relieve y se ha revelado como alternativa al contraste de interferencia diferencial (DIC) especialmente en el área de la micromanipulación. El IMC fue utilizado con objetivos usuales de 4x, 10x, 20x y 40x respectivamente. El análisis de la imagen se realizó utilizando el software Leica Application Suite (LAS). Las muestras se observaron con un Microscopio de fluorescencia (*DM1000 LED*, Leica, Heidelberg, Alemania) utilizando el objetivo 10, 20 y 40 en modo de fluorescencia doble con filtros rojo y amarillo, las superficies de esmalte primario fueron acondicionadas bajo el régimen que indica el fabricante, sin embargo, para nuestro estudio mezclamos la resina infiltrativa ICON® al 95% con 5% de extracto de Rumex *Obtusifolius.*

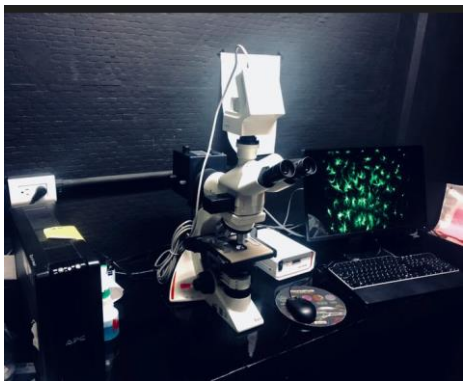


Figura 21.Microscopio de Fluorescencia. Fuente Propia.

RECURSOS MATERIALES

- Esmalte de cara labial de organos dentarios permanentes
- Caras labiales de órganos dentarios primarios
- PVS (3M)
- Discos de diamante (doble cara x .010 grosor x 22mm diametro)
- Lija de agua grano extra fino
- Resina infiltrativa ICON® (DMG)
- Frascos de cristal
- Loseta de vidrio de 15 x 10
- Pipeta volumétrica
- Balanza analítica (Dehus,Pionner)
- Agua
- Perfilómetro de superficie SURFTEST Serie SJ-310
- EDS (SEM) Scanning Electron Microscopy, marca JEOL JSM – 661OLV)
- Microscopio de fluorescencia Leica DM 1000 LED
- Pinzas de disección.
- Cajas de petrí
- Lámina De Oro Paladio
- Cámara Fotográfica Digital (Marca Cannon)
- Microscopio Electrónico de Barrido
- Portaobjetos
- Suero Fisiológico

RECURSOS FINANCIEROS

Proporcionados por los investigadores y el tesista. Oficio NPTC 567 Convenio 511-6/17-8017 ,SNI -CONACYT, 100526470- VIEP2018

BIOÉTICA

Esta investigación se realizó conforme a:
La Ley General de Salud de acuerdo al artículo 13: “En el cual prevaleció el criterio de respeto a la dignidad y protección de sus derechos, así como el bienestar de los sujetos que aceptaron donar sus dientes”.
Investigación con riesgo mínimo.

Consentimiento informado se obtuvo sin formularse por escrito por parte de los padres.
En el presente trabajo por tratarse de sujetos pediátricos se pidió consentimiento por parte del mismo para la donación voluntaria de sus dientes.

RESULTADOS

Técnica de DRX

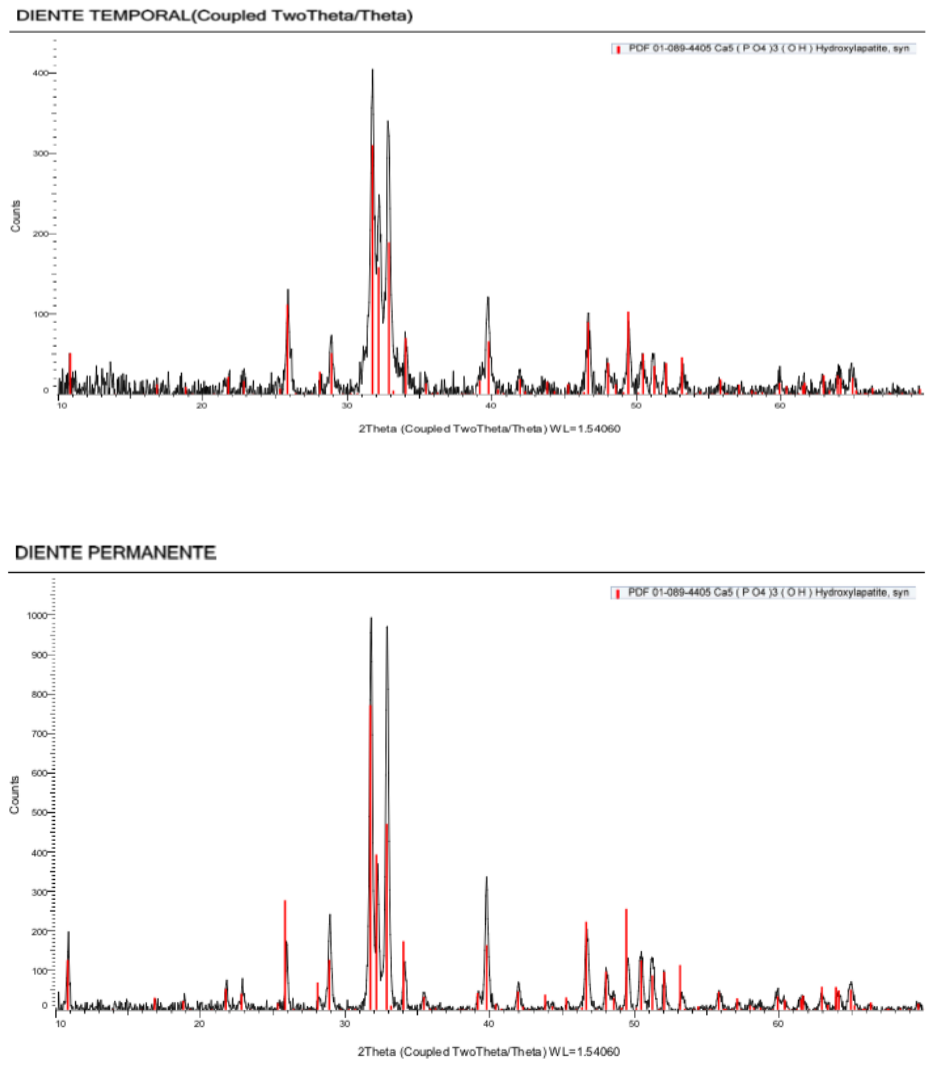


Figura 22.Histograma de resultados de cristalografía de esmalte temporal (a) esmalte permanente (b). Fuente Propia.

Tabla 4. Resultados de cristalografía encontrados en las muestras analizadas. Fuente Propia

Fórmula	$Ca_5(PO_4)_3(OH)$
Nombre	Calcium Phosphate Hydroxide
Nombre mineral	Hydroxylapatite, syn

De acuerdo a los Histogramas comparativos de esmalte primario y esmalte permanente, corresponden a hidroxiapatita ($Ca_5 (P O_4)_3 (O H)$. De acuerdo a la intensidad de los picos, la hidroxiapatita que se encuentra en el esmalte dental permanente presenta mayor cristalinidad comparativamente al esmalte primario, como se muestra en los histogramas (Fig. 25. A y B de la tabla 4)

Técnica de EDS

La tabla (5) Muestra la composición química de los cuatro elementos de la superficie de las muestras por medio de EDS. Para las diferentes muestras examinadas, los análisis se realizaron en diferentes puntos de la muestra seleccionados aleatoriamente, con tal de obtener una colección representativa de valores que describan la superficie.

Tabla 5. Base de datos EDS Diente Primario. Fuente Propia

Diente Temporal	C	O	P	Ca
Spectrum 1	8.13	**48.72**	**13.16**	**27.62**
Spectrum 2	6.94	**49.77**	**13.13**	**27.85**
Spectrum 3	6.04	**49.77**	**13.41**	**28.11**
Spectrum 5	6.23	**50.61**	**13.19**	**27.36**

Tabla 6. Resultados EDS Diente Temporal. Fuente Propia

Diente Temporal	C	O	P	Ca
Media	6.83	59.03	13.19	27.51
Desv. Stand	0.82	0.96	0.13	0.57
Max.	8.13	51.27	13.41	28.11
Min	6.04	48.72	13.05	26.63

Los elementos químicos de mayor proporción encontrados en el esmalte dental primario fueron Oxigeno, Fosfato y Calcio. Todos los espectros analizados presentaron Carbono, Sodio, Magnesio, Cloro y Galio. Solamente el cloro y el sodio, se encontró en menor proporción en cada una de las muestras.

Tabla 7. Base de datos EDS Diente Permanente. Fuente Propia

Diente Permanente	C	O	Na	Mg	P	Cl	Ca
Spectrum 1	0.59	49.17	0.61	0.33	15.64	0.35	33.31
Spectrum 2	0.43	49.83	0.42	0.30	15.48	0.39	33.15
Spectrum 3	2.73	49.75	0.47	0.30	14.82	0.38	31.55
Spectrum 4	1.20	49.65	0.57	0.38	15.15	0.31	32.74
Spectrum 5	1.33	49.37	0.62	0.34	15.42	0.36	32.57

Tabla 8. Resultados EDS Diente Permanente. Fuente Propia

Diente Permanente	C	O	Na	Mg	P	Cl	Ca
Media	1.26	49.56	0.54	0.33	15.30	0.36	32.66
Desv. Stand	0.91	0.28	0.09	0.03	0.32	0.03	0.69
Max.	2.73	49.83	0.62	0.38	15.64	0.39	33.31
Min	0.43	49.17	0.42	0.30	14.82	0.31	31.55

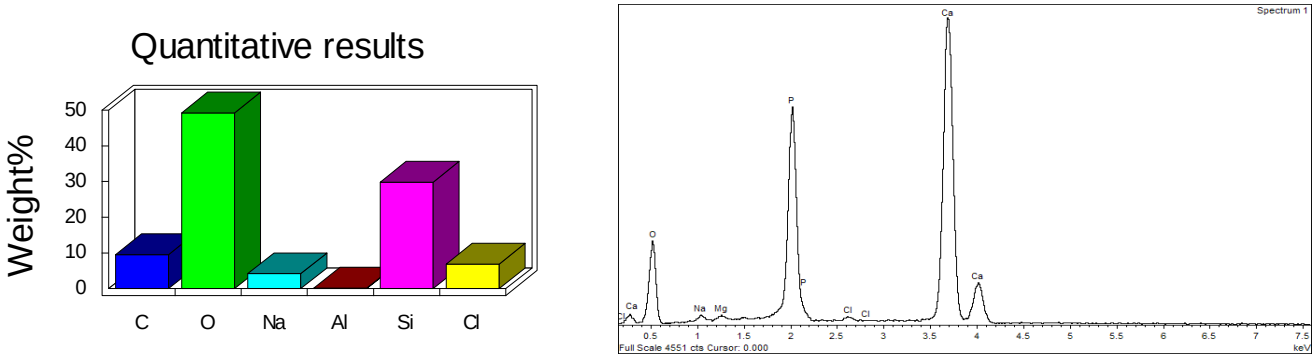


Figura 23.(A -B) Análisis químico del EDS mediante espectroscopia por dispersión de energía. Fuente Propia.

Análisis químico del EDS mediante espectroscopia por dispersión de energía (EDS) de los rayos X característicos generados por los electrones al incidir sobre la muestra en un microscopio electrónico de barrido. En este espectro se registran los elementos calcio (Ca), fosforo (P), oxígeno (O). En porcentajes minoritarios se tiene sodio (Na), magnesio (Mg) , cloro (Cl).

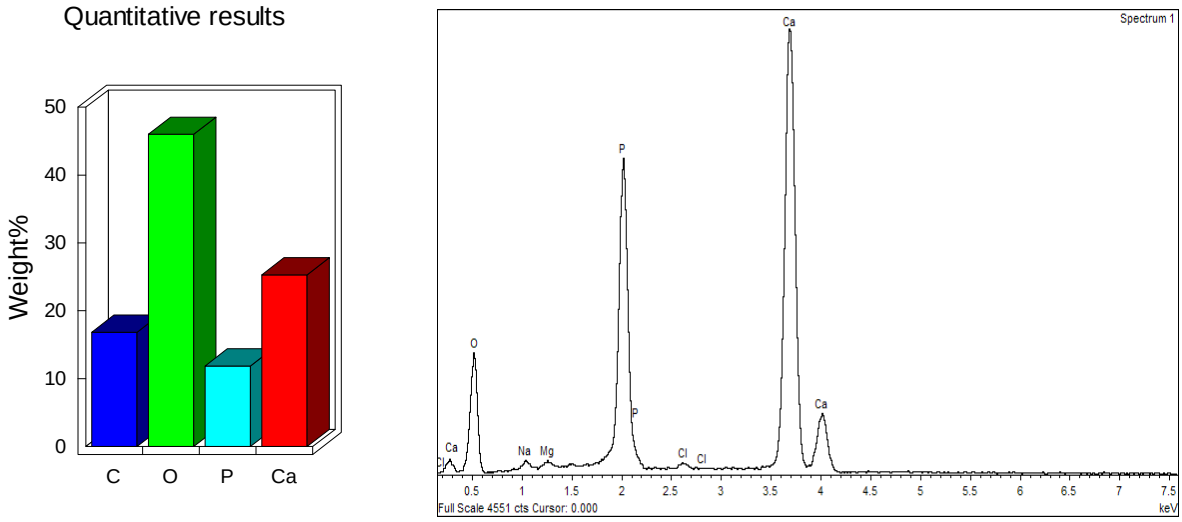


Figura 24. (a – b). Análisis químico del EDS mediante espectroscopia por dispersión de energía (EDS) de los rayos X característicos generados por los electrones al incidir sobre la muestra en microscopio electrónico de barrido. En este espectro se registran los elementos calcio (Ca), Fosfóro (P), oxígeno (O), y carbono (C). En porcentajes minoritarios se tiene sodio (Na) y cloro (Cl) Fuente Propia..

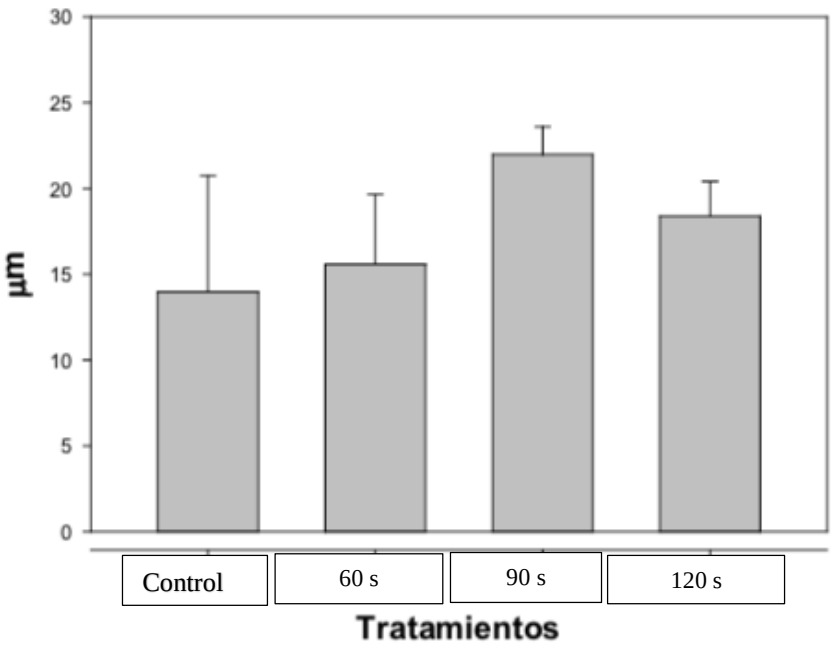
Técnica de Perfilometría de Superficie.

El parámetro de rugosidad analizado fue la rugosidad promedio (Rz). dichos valores y desviacion standard se observan en la siguiente tabla:

Tabla 9. Estadistica descriptiva de las medidas de rugosidad de la superficie de cada grupo (valor de RZ) después de diferentes acondicionamientos del esmalte primario. Fuente Propia.

Grupo CONTROL	Grupo 60 Segundos	Grupo 90 Segundos	Grupo 120 Segundos
13.984 ±6.775µM	15.416 ± 7.398µM	21.465 ± 5.910µM	18.427 ± 7.772µM

Tabla 10. Tabla de resultados de perfilometría. Fuente Propia.



Se encontraron diferencias significativas entre los valores medios de Rz entre grupos (ANOVA, P = 0,038). Posteriormente se realizó la prueba de Tukey encontrandose diferencia estadisticamente significativa (P< 0.05) entre los valores medios del grupo control y el grupo expuesto a 90 segundos. Entre los demás grupos no existió diferencia estadisticamente significativa.

Técnica de Microscopía Electrónica de Barrido.

En la observación de las muestras con microscopía electrónica de barrido se determinó el tipo de patrón de grabado de acuerdo a las características de la superficie. El patrón de grabado obtenido en el total de las muestras en cada uno de los tiempos se muestra en la tabla (tabla 11).

Tabla 11. El patrón de grabado obtenido en el número total de muestras para cada tiempo de grabado. Fuente Propia.

GRABADO POR 60 SEGUNDOS (N=11)	GRABADO POR 90 SEGUNDOS (N=11)	GRABADO POR 120 SEGUNDO N=(10)
Tipo I	Tipo II	Tipo III

Se realizó estadística descriptiva y comparativa utilizando la prueba de Kruskal Wallis con una significancia estadística de P<0.000 entre grupos.

Los valores de composición fueron analizados e interpretados en relación con la morfología de la micrografía de MEB, obteniendo las siguientes características:

GRUPO I. Exposición de HCl al 15% durante 60 segundos.

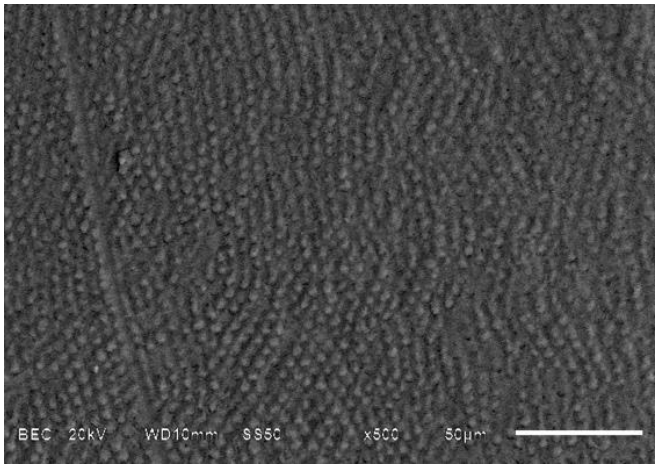


Figura 25. Micrografía electrónica de barrido de la superficie esmalte primario a 60 segundos (Aumentos 500x). Fuente Propia.

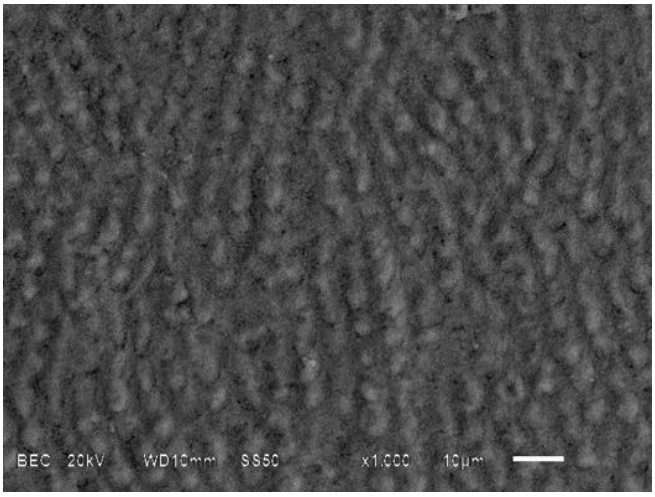


Figura 26. Micrografía electrónica de barrido de la superficie esmalte primario a 60 segundos (Aumentos 1000x). Fuente Propia.

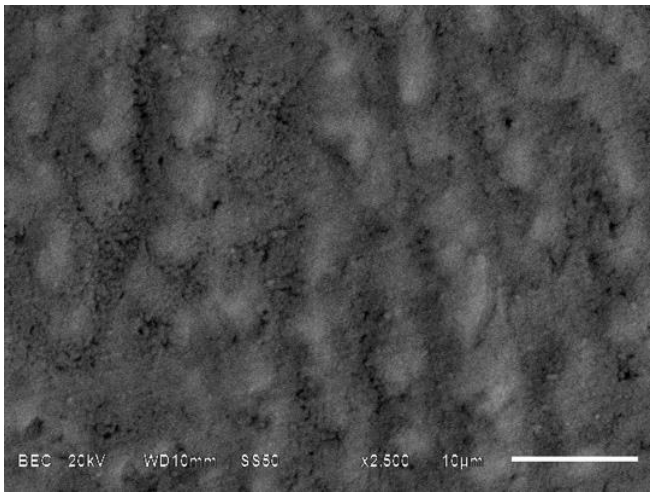


Figura 27. Micrografía electrónica de barrido de la superficie esmalte primario a 60 segundos (Aumentos 2500x). Fuente Propia.

En las micrografías representativas del Grupo I, con pretratamiento de HCl al 15% durante 60 segundos, se muestra una superficie lisa del esmalte, con presencia de algunos defectos naturales, como surcos de desgaste y fracturas, las cuales podrían ser resultado de la función del diente en la boca o del corte de la muestra, ésta presenta cierta erosión en el área, así como una ligera exposición de prismas expuestos del esmalte.

La secuencia de micrografías mostró una superficie del esmalte cada vez más lisa, los defectos naturales previamente evidenciados parecieron tener cierto desvanecimiento durante la secuencia de aumentos (500x, 1000x y 2500x),la disolución del núcleo del prisma y las periferias del prisma relativamente intactas que favorecen a un patrón de grabado tipo I.

GRUPO II. Exposición de HCl al 15% durante 90 segundos.

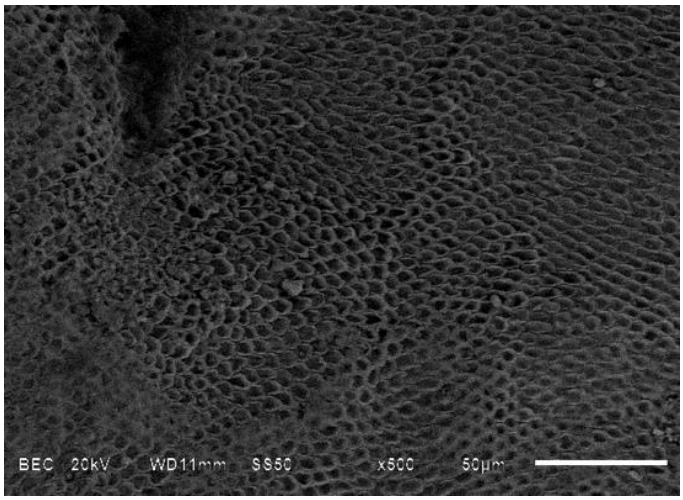


Figura 28. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 90 segundos (Aumentos 500x). Fuente Propia.

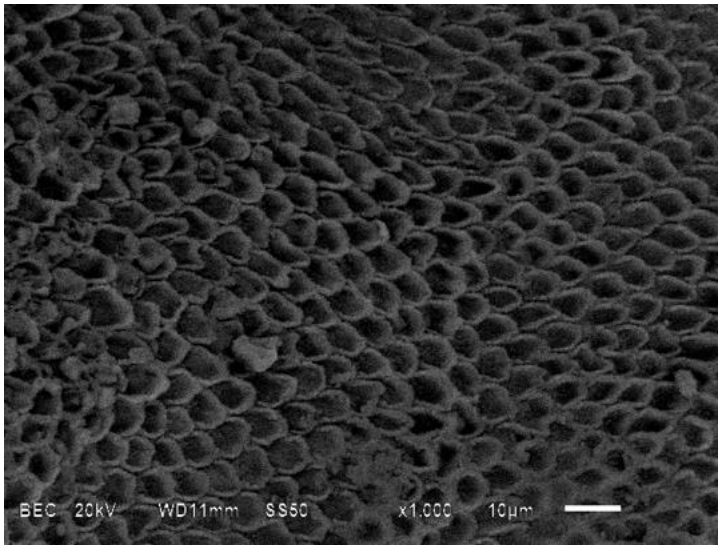


Figura 29. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 90 segundos (Aumentos 1000x) Fuente Propia.

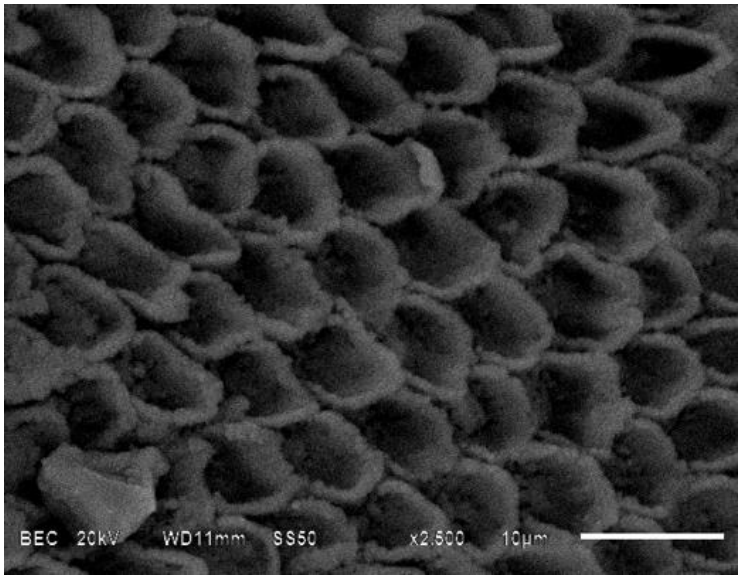


Figura 30. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 90 segundos (Aumentos 2500x). Fuente Propia.

En la secuencia de micrografías que se muestran correspondientes al Grupo II, se observan algunos prismas expuestos, así como la presencia de surcos naturales, previo al tratamiento con HCl al 15%. Después de la exposición de dicho ácido la secuencia correspondiente muestra una imagen típica de un cráter formado, con una exposición de prismas del esmalte mostrando una mayor variación en la

cantidad de disolución del núcleo del prisma y una menor disociación de la periferia del prisma; observándose una gran porosidad de la superficie, comparándose con un patrón de grabado del esmalte tipo II.

GRUPO III. Exposición de HCl al 15% durante 120 segundos.

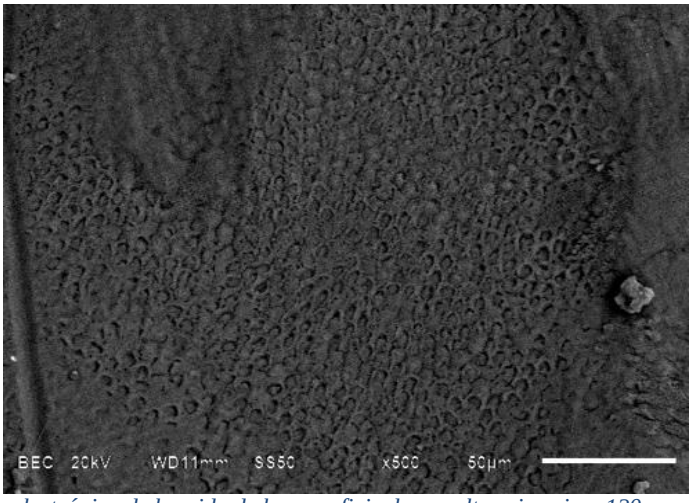


Figura 31. Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 120 segundos (Aumentos 500x). Fuente Propia.

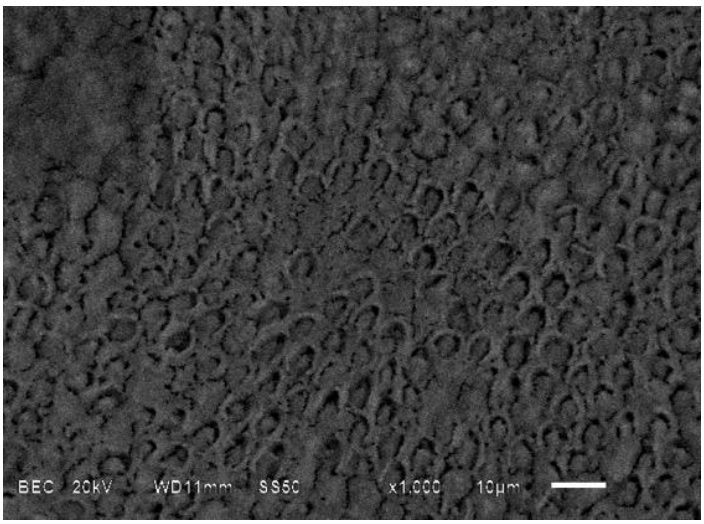


Figura 32.Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 120 segundos (Aumentos 1000x). Fuente Propia.

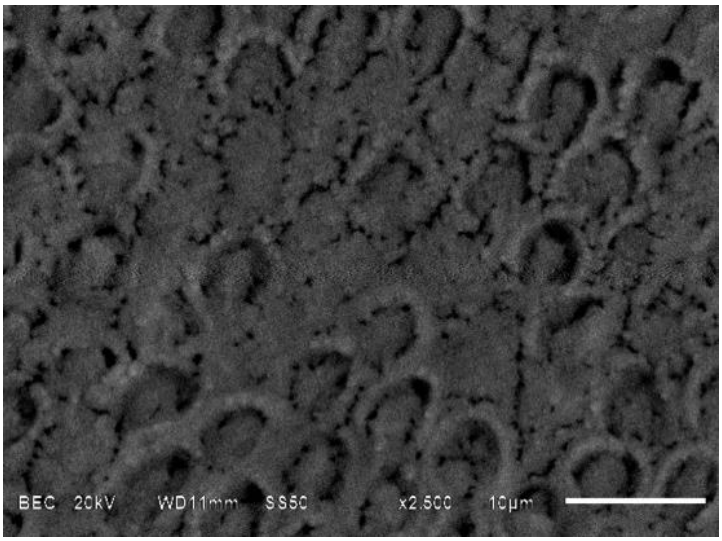


Figura 33. . Micrografía electrónica de barrido de la superficie de esmalte primario a 120 segundos (2500x). Fuente Propia.

En el Grupo III, se observaron prismas del esmalte completamente disueltos, previos al tratamiento con HCl al 15%. Posteriormente se observaron patrones geométricos con aparente desplazamiento de bloques de superficie con reducción de la periferia y el núcleo de los prismas del esmalte. Durante la secuencia de aumentos (500x, 1000x y 2500x), La micrografía reveló el desprendimiento o remoción de los bloques suspendidos en la superficie del esmalte, mostrando una disolución variable del núcleo del prisma y la periferia del prisma comparándose con un patrón de grabado del esmalte tipo III.

Técnica Microscopía de Fluorescencia

Las imágenes obtenidas muestran una línea fluorescente intensa en la superficie del esmalte, que es causada por la absorción de la luz de excitación que eleva la molécula del fluorocromo a un estado de excitación con un mayor contenido de energía, capaz de emitir fluorescencia, permitiendo una mejor observación de la ubicación de la resina infiltrativa (Figs. 39 y 40)

Figura 34. Muestras de órganos primarios tratadas con resina. Fuente Propia.

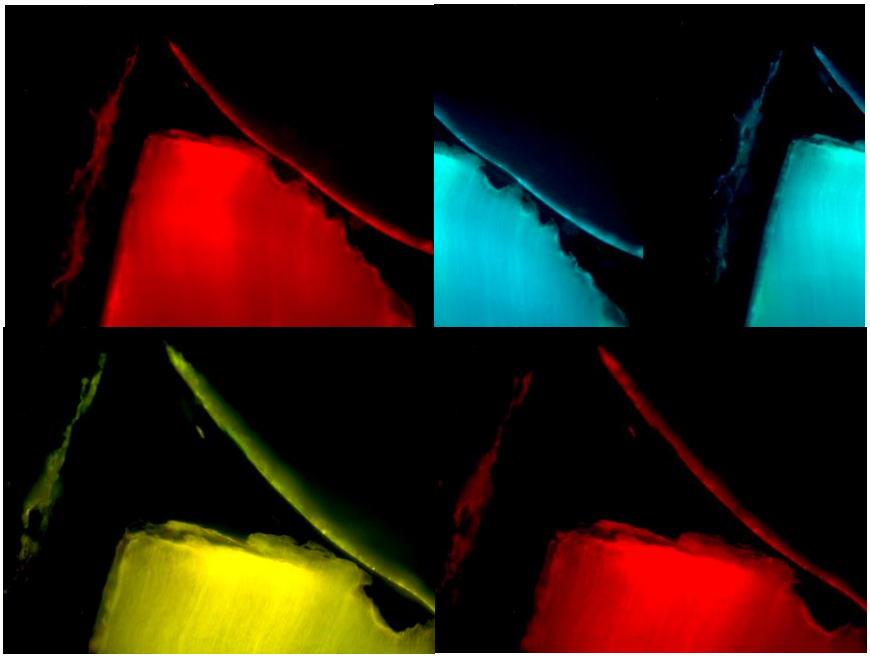


Figura 35. Muestras observadas con filtro amarillo y rojo en Microscopio de fluorescencia (objetivo 10x,40x) de órganos primarios tratadas con resina infiltrativa al 95% combinada con 5% de Rumex obtusifolius. Fuente propia.

En esta prueba *in vitro* se aprecia una mayor fluorescencia en la fisura de la muestra la cual fue acondicionada a 90 segundos con HCl al 15% y siguiendo el resto del protocolo que indica el fabricante de resina infiltrativa ICON®, posteriormente las muestras fueron sumergidas en extracto de *Rumex* o*btusifolius* por 12 horas, mostrando que en lesiones naturales no cavitadas en los molares primarios pueden estar profundamente infiltradas. Sin embargo, se pudo observar una considerable variación de fluorescencia debido a que el extracto de *Rumex* o*btusifolius* no produjo el mismo efecto sobre la superficie del esmalte entre las muestras tratadas .(Figs. 41 y 42)

Figura 36. Muestras de órganos primarios tratadas con resina infiltrativa bajo el protocolo que indica la marca, combinada con 5% de Rumex obtusifolius, observadas en Microscopio de fluorescencia(objetivo 10x,40x). Fuente Propia

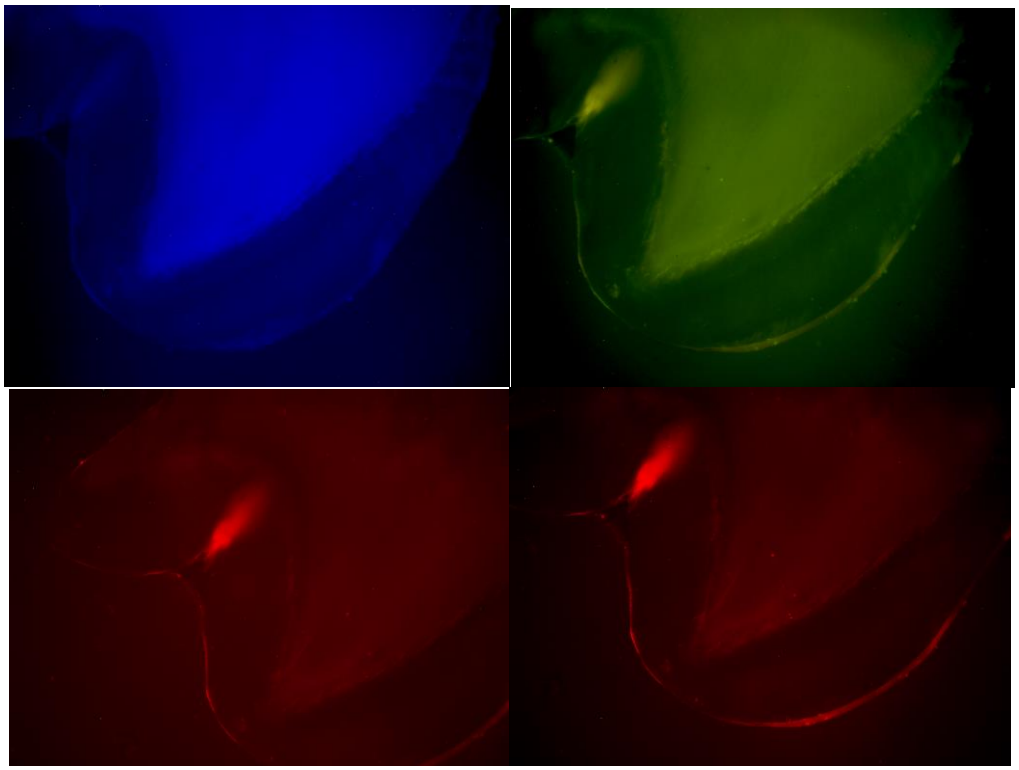


Figura 37. Muestras observadas con filtro azul, amarillo, verde y rojo en Microscopio de fluorescencia (objetivo 10x,40x) de órganos primarios tratadas bajo el protocolo de ICON® sumergido en extracto de Rumex obtusifolius por 12 horas. Fuente Propia.

DISCUSIÓN

Actualmente en la clínica el uso de resinas infiltrativas es empleado en lesiones iniciales de caries para evitar el progreso de la lesión. Ismail et al. en 2007, mencionan que el codigo ICDAS II, código 2, que se refiere a distintos cambios visuales en el esmalte húmedo, ya que en esta etapa, la lesión es macroscópicamente no cavitada y se puede observar cuando la superficie del diente está húmeda (pero aún debe ser visible cuando está seca) . El examén clínico visual se ha considerado el mejor método para diagnosticar procesos iniciales de desmineralización.[44]

Van Croonenburg et al. en 2007, mencionan que el enfoque del tratamiento convencional de las lesiones de la mancha blanca se basa en la restauración, que en la mayoría de los casos, es bastante invasiva. Se han realizado intentos para la conservación de los tejidos del diente mediante el uso de altas concentraciones de fluoruro tópico, porque las soluciones de fluoruro altamente concentradas hipermineralizan la superficie de la lesión, dejándolas más resistentes a los ataques con ácido. Desafortunadamente, como estas soluciones no penetran dentro de la lesión, no eliminan su aspecto opaco y blanquecino, lo que compromete la estética. [45]

Gray y Shellis en 2002, mencionan que la infiltración de las lesiones naturales del esmalte parece ser una prometedora alternativa terapéutica o un complemento de los conceptos comúnmente aceptados de remineralización y tratamiento rehabilitador. Sin embargo, la ausencia de pretratamiento de la capa superficial limita la penetración de la resina. Por lo anterior, la erosión completa de la capa superficial y la exposición del cuerpo de la lesión deben ser el objetivo de un procedimiento de acondicionamiento previo a la infiltración de resinas de baja viscosidad.[46]

Existen en el mercado diferentes geles acondicionadores de superficie a base de distintos ácidos tales como; ácido fosfórico al 37% o ácido clorhidrico al 15%, entre otros, con la finalidad de lograr una reducción controlada de la capa superficial mediante grabado ácido.

Paris et al. en 2013, mencionan que en la técnica de infiltración, comercialmente existe una resina infiltrativa (ICON®) la cual requiere de un preacondicionamiento de la superficie con ácido clorhídrico al 15%, que elimina aproximadamente 40 µm de superficie del esmalte, para asegurar la penetración de la resina. De esta manera, el espesor del esmalte eliminado para la infiltración de resina es similar a la microabrasión. La ficha técnica del producto esta indicada en dientes permanentes, demostrando su eficacia en el acondicionamiento del esmalte con lesión, sin considerar los posibles daños que puede causar el uso de gel de ácido

clorhidrico al 15% en la superficie de esmalte sano circundante a la lesión. No existen ensayos clínicos que evalúen el patrón de grabado ideal en dientes primarios sanos que nos permitan conocer los cambios estructurales por la aplicación de gel de HCl al 15%.[47]

Para entender el proceso del grabado es importante conocer las diferencias estructurales entre el esmalte temporal y el esmalte permanente. La reactividad del gel de HCl al 15%, a diferentes tiempos de exposición (60,90,120 s), presenta una variación en la estructura de la hidroxiapatita y podemos inferir que puede tener un efecto profundo en el comportamiento de la apatita, especialmente con respecto a su solubilidad a pH bajos causados por agentes ácidos como el gel HCl al 15%.[48]

Kay et al. en 1964, mencionaron que el esmalte de los órganos dentarios permanentes está compuesto por 80-90% de hidroxiapatita carbonatada, la estructura de este mineral es importante para entender el comportamiento del tejido cuando se somete a disolución ácida. La parte inorgánica de un diente humano se conforma principalmente de un fosfato cálcico llamado hidroxiapatita (Ca_{10} $(PO_4)_6$ $(HO)_2$); El componente mineral del esmalte es básicamente una hidroxiapatita de calcio sustituida, la fórmula estequiométrica para la hidroxiapatita es Ca_{10} (PO_4) $_6$ (OH) $_2$. Sin embargo, esta hidroxiapatita no es pura como se presenta en algunos minerales en su estado natural, sino que se encuentra con impurezas de sodio, magnesio y cloro, principalmente. Con el análisis químico del diente humano por medio de la difraccion de rayos X, generado al incidir un haz de electrones sobre la muestra, se obtienen las señales características del calcio, fósforo, oxígeno, sodio, magnesio y cloro. En la presente tesis, se utilizó el microanálisis de rayos X de polvos (XRD) debido a su alta sensibilidad a los elementos principales de los tejidos duros dentales, con dos muestras únicas (esmalte primario y esmalte permanente) para conocer la cristalinidad del componente estructuralmente más abundante; $Ca_5(PO_4)_3$ (OH) (hidroxiapatita). La difracción de rayos X muestra una diferencia en la cristalinidad de la hidroxiapatita presente en el esmalte, la hidroxiapatita de diente permanente es más cristalina con respecto a la estructura de la hidroxiapatita del diente primario. [49]

La espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (EDS) reveló diferencias en las muestras únicas entre esmalte primario y esmalte permanente grabados a 90 s con gel de HCl al 15%. La relación Ca / P significa el nivel de mineralización de los tejidos duros. En la tabla 8 se muestran los valores medios de Ca para las muestras de dientes temporales 27.51% y diente permanente 32.6%, los valores medios de P fueron 13.19% para el diente temporal y 15.3% par el diente permanente, que se encuentran en el rango con los valores del grado de mineralización previamente informados por Robinson et al., donde obtuvo los valores para Ca/P 2,00 $\pm$ 0.327. El valor alto de 2.13, en la relación Ca / P en el diente permanente presumiblemente significa un mejor grado de mineralización en el esmalte de los dientes permanentes, versus el valor de 2.08 en la relación Ca / P en el diente temporal, que puede desempeñar un papel importante durante el ataque ácido en esmalte. Sin embargo, no se puede llegar a ninguna conclusión sobre la

base de la relación Ca / P sola, ya que su papel en la composición aún no está del todo claro.[49]

Tabla 12. Medias de valores de Ca/P de dientes temporales y permanentes. Fuente Propia

Muestra	Ca	P	Media
Diente temporal	27.51%	13.19%	2.08
Diente Permanente	32.66%	15.30%	2.13

El componente mineral del esmalte es hidroxiapatita, con una estructura reticular hexagonal, que tiene la fórmula general Ca_{10} [PO] $_4$ [OH] $_2$. La apatita en el esmalte y en todos los demás tejidos mineralizados exhibe numerosas variaciones, incluidos iones faltantes, particularmente calcio e hidroxilo. Se ha informado que el esmalte tiene un 20% a un 30% menos de Hidroxilo en comparación con la apatita estequiométrica. Los iones extraños como el carbonato, el fluoruro, el sodio y el magnesio también se encuentran con frecuencia dentro de la estructura del cristal como se observa en las figuras 39,40. Tales incorporaciones y sustituciones (presentes en el cristal de hidroxiapatita debido a las sustituciones por iones extraños) tienen un profundo efecto sobre el comportamiento de la apatita, especialmente con respecto a su solubilidad a pH bajo.

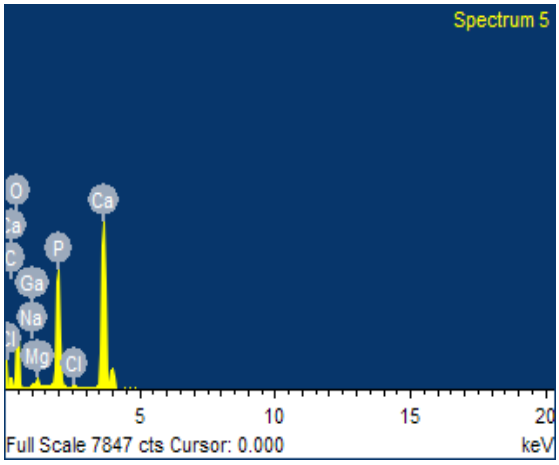


Figura 38. Histograma de elementos encontrados en esmalte primario. Fuente Propia.

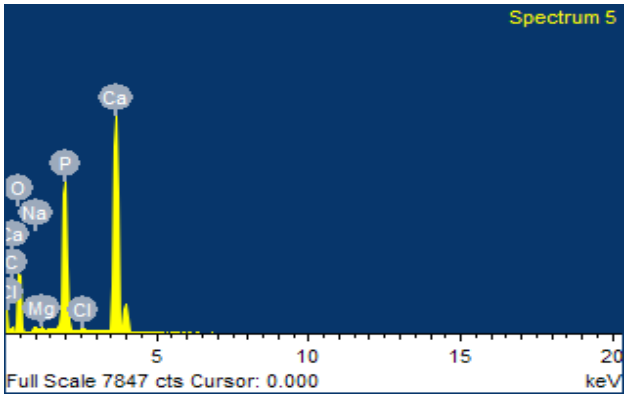


Figura 39. Histograma de elementos encontrados en esmalte permanente. Fuente Propia.

De acuerdo a los resultados obtenidos de la perfilometría se encontró que las muestras tratadas con HCl al 15% durante 60 segundos tuvieron un promedio de 15.68 ± 7.74 micras de profundidad a diferencia de estudios realizados por Quesada et al. en 2014, que utilizaron ácido fosfórico al 37% en dientes anteriores primarios obteniendo un promedio de rugosidad de 8.710 micras. Lo que demuestra que no se puede lograr una erosión completa de la capa superficial de las lesiones del esmalte en los dientes deciduos grabando con ácido fosfórico comercialmente disponible incluso con tiempos de grabado más largos de hasta 2 minutos. Una erosión casi completa de la capa superficial podría mostrarse mediante grabado con gel de ácido clorhídrico al 15% durante 2 minutos.

Silverstone et al. en 1973. Demostró que exiten tres patrones de grabado de esmalte dental , donde el más común es el patrón de grabado tipo I, donde el núcleo del prisma fue ligeramente removido dejando la periferia del prisma relativamente intacta, asi como el patrón de grabado tipo II donde el núcleo y la las periferia de los prismas parecen dañadas a lo largo del prisma. Lo anterior coincide con lo reportado en este estudio donde una exposición de ácido HCl al 15% a 90 segundos, provoca una menor disolución de los núcleos y periferia del prisma que podría favorecer la mayor penetración de la resina infiltrativa y que corresponde al patrón de grabado tipo II .[40]

Con respecto a la fluorescencia Mualla en 2016, mencionó que los agentes fluorescentes se han utilizado durante casi 50 años en diferentes campos de la investigación dental, para resolver una amplia variedad de cuestiones como microfiltración, características y estructuras de la restauración, adaptación de restauraciones unidas a las paredes preparadas, capa híbrida o la morfología entre diferentes tipos de materiales de restauración en la interfaz de la restauración dental.[41] Diaspro et al. en 2000, mencionó que para visualizar la presencia de un fluorocromo, se utiliza una fuente de luz de alta energía (como un rayo láser) para excitar el compuesto, haciendo que la imagen del objeto estudiado se vuelva visible contra un fondo oscuro. La luz de fluorescencia de imagen convencional conocida como microscopía de fluorescencia, se ha convertido en una de las técnicas de microscopía más comúnmente utilizadas en la investigación biológica.[42]

El uso de tintes fluorescentes en microscopía se considera una herramienta de investigación eficiente. Es por eso que en este estudio se decidió combinar la resina infiltrativa con extracto de *Rumex obtusifolius* para poder evaluar si la combinación permitía observar la penetración de la resina infiltrativa en esmalte primario bajo el protocolo de grabado a 90 segundos. En las imágenes obtenidas se observa una línea fluorescente sobre la superficie del esmalte, pero no se determinó la penetración de resina. Otros autores como Paris et al., Yim et al., Meyer-Lueckel et al., han evaluado la penetración de la resina por medio de microscopía confocal, sometiendo las muestras a diversos colorantes con buenos resultados, aunque esto implica un tratamiento más extenso de las mismas. En este estudio el colorante se combinó directamente con la resina sin lograr observar la penetración, de ahí que aunque se trate de una propuesta innovadora es necesario mejorar la técnica de preparación de las muestras para favorecer su observación, y aumentar el tiempo de exposición de la resina infiltrativa. Lo que podría llevar a obtener una mayor claridad de la penetración en la estructura del esmalte, posiblemente mejorando las propiedades de la resina.

CONCLUSIÓN

Con base a los resultados obtenidos en este proyecto se puede concluir que el esmalte temporal es menos cristalino y presenta una menor relación Ca/P que el esmalte permanente, aunque en ambos el componente principal es la hidroxiapatita. Los diferentes tiempo de exposición al HCl al 15% presentaron patrones de grabado de tipo I a III. Sin embargo, el tiempo que presentó la mayor rugosidad con 21.465 ± 5.910μm y el patrón de grabado tipo II en donde se conservó el núcleo y la periferia de la estructura del prisma fue **90 segundos** de exposición. Este tiempo presentó diferencias estadísticamente significativas con respecto al grupo control y es un tiempo menor a lo recomendado por el fabricante de la resina infiltrativa.
Con respecto a la combinación de la resina con el extracto etanólico de *Rumex obtusifolius* se logró observar la fluorescencia en las muestras y la ubicación de la resina aunque no se midió el nivel de penetración. La combinación de la resina infiltrante con el extracto etanólico de *Rumex obtusifolius* podría ser una buena herramienta para evaluar la infiltración de la resina y mejorar sus propiedades.

PERSPECTIVAS DEL TRABAJO:

Evaluar el nivel de penetración de la resina infiltrativa grabando la superfice a los diferentes tiempos.
Evaluar las caracterísiticas de la resina infiltrativa combinada con el extracto etanólico de *Rumex obtusifolius*.
Evaluar diferentes tiempos de exposición a la resina infiltrativa sobre la superficie del esmalte (hasta 5 min o más).

ANEXOS

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

INFORMACIÓN

Este Formulario de Consentimiento Informado se dirige a los padres de los pacientes que son atendidos en la clínica de la Maestría en Estomatología Pediátrica de la FEBUAP, y que se les invita a participar en la investigación:

"CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE PRIMARIO SANO A DIFERENTES TIEMPOS DE GRABADO CON ÁCIDO CLORHÍDRICO AL 15% Y APLICACIÓN DE *RUMEX OBTUSIFOLIUS*".

El propósito de esta Investigación es encontrar asociación científica *in vitro* de los órganos dentarios temporales sanos y el tiempo de grabado con ácido clorhídrico al 15% y la adherencia de la resina infiltrativa.

Estamos invitando a todos los pacientes que son atendidos en la clínica de la Maestría en Estomatología con terminal en Pediatría a participar en la investigación. La participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir que el órgano dentario de su hijo/tutorado sea empleado en la investigación o no. Tanto si elige participar o no, continuarán todos los servicios que reciba en esta clínica y nada cambiará.

Nosotros no compartiremos la identidad de aquellos que participen en la investigación. La información que recojamos por este proyecto de investigación se mantendrá confidencial.

Si tiene cualquier pregunta puede hacerlas ahora o más tarde, incluso después de haberse iniciado el estudio.

FORMULARIO DEL CONSENTIMIENTO

He sido invitado a que mi hijo/tutorado participe en la investigación. He sido informado de que los riesgos son mínimos o nulos y sé que puede que no haya beneficios para mi persona.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado.

Consiento voluntariamente que mi hijo/tutorado participe en esta investigación y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera.

Nombre y Firma del Participante

Fecha: _____

ANEXO 2. ASENTIMIENTO INFORMADO.

ASENTIMIENTO INFORMADO EN LA PARTICIPACIÓN EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN.

TÍTULO: "CARACTERIZACIÓN DE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE PRIMARIO SANO A DIFERENTES TIEMPOS DE GRABADO CON ÁCIDO CLORHÍDRICO AL 15% Y APLICACIÓN DE *RUMEX OBTUSIFOLIUS*"

Hola, mi nombre es Carlos Rodríguez Olvera estoy realizando un estudio en la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla para ver qué es lo que sucede en tu diente cuando le aplico un ácido y observar si hay algún cambio en el esmalte de tu diente; por eso quiero pedirte que me apoyes.

Si deseas participar, necesito 1 cosa: que me regales tu diente temporal próximo a exfoliar.

Tu participación en el estudio es voluntaria, aun cuando tus papas digan que puedes participar, si tu no quieres participar puedes decir que no. Toda la información que nos brindes y los resultados obtenidos con este estudio son confidenciales.

Si aceptas participar, pon una (✓) en el cuadro de abajo donde dice "SI DESEO PARTICIPAR" y escribe tu nombre en la línea.

Si NO quieres participar NO pongas nada, ni escribas tu nombre.

SÍ deseo participar.

Nombre: _____

Nombre y firma de quien obtiene el asentimiento: _____.

Fecha: _____.

BIBLIOGRAFIA

1. Dourado, A, Reis, A. Sistemas adhesivos. Revista de operatoria dental y biomateriales.2006;1(2): 13-28.
2. Carrillo, C. Capa Híbrida. Revista ADM. 2005;62(5): 181-184.
3. Bounocore, M, Matsui, A, Gwinnett, A. Penetration of resin dental materials into enamel surfaces to bonding. Archives of Oral Biology. 1968;13(1): 61 - 70.
4. Shinchi, M, Soma, K, Nakabayashi, N. The effect of phosphoric acid concentration on resin tag length and bond strength of a photocured resin to acid etched enamel. Dental Materials: Official Publication of The Academy of Dental Materials. 2000;16(5): 324-329
5. Fitzpatrick, D, Way, D. The effects of wear, acid etching, and bond removal on human enamel. American Journal of Orthodontics. 1977;72(6): 671 -681.
6. Retief, D. A comparative study of three etching solutions; effects on enamel surface and adhesive enamel interface. Journal Oral Rehabilitation. 1975;2(1): 75-96.
7. Johnson, N, Poole, D, Tyler, J. Factors affecting the differential dissolution of human enamel in acid and EDTA A scanning electron microscope study. Archives of Oral Biology.1971;16(1): 385-396.
8. Meyer Lueckel, H, Paris, S. Improved resin infiltration of natural caries lesions. Journal of Dental Research. 2008;87(12): 1112– 6
9. Paris, S, Bitter, K, Renz, H, Hopfenmuller, W, Meyer-Lueckel, H. Validation of two dual fluorescence techniques for confocal microscopic visualization of resin penetration into enamel caries lesions. Microscopy Research and Technique. 2009;72(7): 489– 94.
10. Paris, S, Dörfer, C, Meyer Lueckel, H. Surface conditioning of natural enamel caries lesions in deciduous teeth in preparation for resin infiltration. Journal of Dentistry.2010;38(1): 65-71.
11. Jerezano , A, Pazos , D, Rios , S, Tepancal, E. Some Traditional Medicinal Plants of North Region from Puebla, Mexico: Uses and Potential Pharmacological Activity of Rumex spp. Nat Prod Chem Res. 2016;4(4): 223-229.
12. Robinson, C. Filling without Drilling. Journal of Dental Research. 2011;90(11): 1261-1263.
13. Mooney, J, Barrancos, P. Histología dentaria. (15 ed.). México: Edit Panamericana;2006.
14. Gómez de Ferraris, M, Campos Muñoz, A. Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. (3 ed.). México: Edit Medica Panamericana; 2009.

15. Chun, K, Choi, H, Lee, J. Comparison of mechanical property and role between enamel and dentin in the human teeth. Journal of Dental Biomechanics. 2014;6(5): 51 -7.
16. Kramer I, Mclean, J. Alterations in the staining reaction of dentine resulting from a constituent of a new self-polymerizing resin. Br Dent J. 1952;92(1): 51 -7.
17. Mclean, J, Kramer, I. A clinical and pathologic evaluation of a sulfuric acid activated resin for use in restorative dentistry. Br Dent J. 1952;93(1): 255–269.
18. Warshawsky, H, Smith, C. A three-dimensional reconstruction of the rods in rat maxillary incisor enamel. The Anatomical Record. 1971;169(3): 585-591.
19. Quesada, J, Oliver , R, Hernández , T. Grabado del esmalte en dientes temporales: evaluación de microscopio electrónico de barrido. Revista Oral. 2014;15(48): 1138-1141.
20. Eidelman, E, Shapira, J, Houpt , M. The retention of fissure sealants using twenty-second etching time. J Dent Child. 1984;51(2): 422–424.
21. Triolo, P, Swift, E, Levine, A. Effects of etching time on enamel bond strengths. Am J Dent. 1993;6(6): 302–304.
22. Busscher, H, Retief, Z, Arends, J. Relationship between surface-free energies of dental resins and bond strengths to etched enamel. Dental Materials Official Publication of the Academy of Dental Materials. 1987;3(2): 60–63.
23. Gwinnett, A, Matsui, A. A study of enamel adhesives the physical relationship between enamel and adhesive. Archives of Oral Biology. 1967;12(12): 1615–1620
24. Hannig, M, Bock, H, Hoth-hannig, W. Intercrystallite nanoretention of self-etching adhesives at enamel imaged by transmission electron microscopy. European Journal of Oral Sciences. 2002;110(6): 464–470
25. Falian, H, Zhao, D, Jiang, W, Zhu, G. Bonding of resinous filling materials to acid-etched teeth: a scanning electron microscopic observation. Quintessence International. 1989;20(1): 27-30.
26. Chang C. Química General. Colombia: Editorial McGrall-Hill. 2010.
27. Mccloskey, R. A technique for removal of fluorosis stains. J Am Dent Assoc .1984;109(1): 63-4.
28. Olin, P, Leher, C, Hilton, J. Enamel surface modification in vitro using hydrochloric acid pumice: an SEM investigation. Quintessence International. 1988;19(10): 733 – 736.
29. Baldassarri, M, Margolis, H, Beniash, E. Compositional Determinants of Mechanical Properties of Enamel. Journal of Dental Research. 2008;87(7): 645–649.

30. Zalite, V, Locs, J. Characterization of Different Hydroxyapatite Particles for Tooth Enamel Remineralization. Key Engineering Materials. 2016;67(4): 2016.
31. Sánchez, C. Desmineralización y remineralización: El proceso en balance y la caries dental. Rev ADM. 2010;67(1): 30-2
32. Meyer-Lueckel, H, Paris, S, Kielbassa, A. Surface Layer Erosion of Natural Caries Lesions with Phosphoric and Hydrochloric Acid Gels in Preparation for Resin Infiltration. Caries Research. 2007;41(3): 223-230.
33. Eanes, E. Enamel apatite: chemistry, structure and properties. Journal of Dental Research. 1979;58(B): 829-836
34. Mahoney, P. Two dimensional patterns of human enamel thickness on deciduous (dm1, dm2) and permanent first (M1) mandibular molars. Arch Oral Biol. 2010;55(2): 115-26.
35. Abella, M, López, J, Badia, J, Adeva, P. Microscopía electrónica de barrido y microanálisis de rayos X. (1a Ed ed.). México: Ed Rueda; 1996.
36. Sahin, O, Magonov, S, Chanmin, S, Quate, C, Solgaard, O. An atomic force microscope tip designed to measure time varying nanomechanical forces. Nature Nanotechnology. 2007;2(8): 507-514.
37. Egilmez, F, Ergun, G, Cekic-Nagas, I, Vallittu, P, Lassila, L. Short and long term effects of additional post curing and polishing systems on the color change of dental nanocomposites. Dent Mater J. 2013;32(1): 107-114.
38. Stachowiak, G. Experimental Methods in Tribology. (1a Ed ed.). Netherland: Elsevier;2004.
39. Meyer-Lueckel, H, Paris, S, Kielbassa, A. Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. Caries Research. 2007;41(3): 223-230.
40. Paris, S, Dörfer, C, Meyer-Lueckel, H. Surface conditioning of natural enamel caries lesions in deciduous teeth in preparation for resin infiltration. Journal of Dentistry.2010;38(1): 65-71.
41. Mualla, S. Fluorescence and Dentistry. Journal of Dental and Medical Sciences .2016;15(3): 65-75.
42. Diaspro A, Robello M. Two-photon excitation of fluorescence for three-dimensional optical imaging of biological structures. Journal of Photochemistry and Photobiology B Biology 2000; 55:1–8.
43. Paris, S, Lausch, J, Dörfer, C, Meyer-Lueckel, H. Comparasion of sealant and infiltrant penetration in to pit and fissure caries lesions in vitro. Journal of Dentistry.2014;42(4): 432-438.
44. Doméjean, S, Banerjee , A, Gaucher, C.E, Milètic , I. Plan de Tratamiento de Mínima Intervención (MITP) – Implementación práctica en el ejercicio dental general. J Minim Interv Dent . 2009;2(2): 275 - 297.

45. Mitutoyo, “Rugosidad Superficial” Mitutoyo, Catalog Number E70. Taylor Hobson.
46. Tiznado, G, Garcia, R. Structural and thermal behavior of carious and sound powders of human tooth enamel and dentine. Journal of Physics D: Applied Physics. 2009;42(23): 235 - 408.
47. Ismail, A, Sohn, W, Tellez, M. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. Community Dent Oral Epidemiol. 2007;35(1): 170 - 178.
48. Ardu, S, Castioni, N, Benbachir, N. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. Quintessence Int. 2007;38(8): 633 - 636.
49. Gray, G, Shellis, P. Infiltration of resin into white spot caries-like lesions of enamel: an in vitro study. Eur J Prosthodont Restor Dent. 2002;10(1): 27- 32.
50. Paris, S, Schwendicke, F, Müller, W, Dörfer, C. Microhardness and mineral loss of enamel lesions after infiltration with various resins: influence of infiltrant composition and application frequency in vitro. J Dent . 2013;41(1): 543-548.
51. Bhaskar, D, Murugan, S, Jamaluddin, M. Comparison of The Chemical Composition Of Normal Enamel From Exfoliated Primary Teeth And Teeth Affected With Early Childhood Caries: An In Vitro Study. IAPD and John Wiley & Sons A/S. 2015;2(1): 20-25.
52. Yim H, Kwon, H, Kim, B. Modification of surface pre-treatment for resin infiltration to mask natural white spot lesions. Journal of Dentistry. 2014;42(5): 588-594.
53. Ghalil, A, Wright, Z. Acid etching patterns on buccal surfaces of permanent teeth. Pediatric Dentistry. 1979;1(4): 230 - 234.