



UNIVERSIDAD DE MURCIA
FACULTAD DE MEDICINA

Influencia de Bifluorid[®] 12, Clinpro[™] White
Varnish y Profluorid[®] Varnish en la Adhesión
a Esmalte Desmineralizado

D. José Francisco Martínez Marco

2017



UNIVERSIDAD DE MURCIA

Facultad de Medicina

Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y Medicina Física

**INFLUENCIA DE BIFLUORID[®] 12, CLINPRO[™] WHITE VARNISH Y
PROFLUORID[®] VARNISH EN LA ADHESIÓN A ESMALTE DESMINERALIZADO**

JOSÉ FRANCISCO MARTÍNEZ MARCO

Director:

Dr. Antonio José Ortiz Ruiz

Murcia, 2017



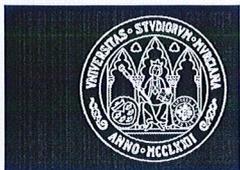
UNIVERSIDAD DE
MURCIA

D. **ANTONIO JOSÉ ORTIZ RUIZ**, Profesor Titular de Universidad del Área de ESTOMATOLOGÍA en el Departamento de DERMATOLOGÍA, ESTOMATOLOGÍA, RADIOLOGÍA Y MEDICINA FÍSICA, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada **“INFLUENCIA DE BIFLUORID® 12, CLINPRO™ WHITE VARNISH Y PROFLUORID® VARNISH EN LA ADHESIÓN A ESMALTE DESMINERALIZADO ”**, realizada por D. **JOSÉ FRANCISCO MARTÍNEZ MARCO**, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 17 de MAYO de 2017





D. **Fernando Chiva García**, Profesor Titular de Universidad del Área de Estomatología y Presidente de la Comisión Académica del programa de doctorado en **CIENCIAS ODONTOLÓGICAS Y ESTOMATOLÓGICAS***,
INFORMA:

Que una vez evaluado, de conformidad con el procedimiento establecido en el artículo 21 del Reglamento de doctorado de la Universidad de Murcia, el expediente completo de la tesis doctoral titulada **"Influencia de Bifluorid® 12, Clinpro™ White Varnish y Profluorid® Varnish en la adhesión a esmalte desmineralizado"**, realizada por D. **Jose Francisco Martínez Marco**, bajo la inmediata dirección y supervisión de D. Antonio José Ortiz Ruiz, esta Comisión Académica, en sesión celebrada en fecha **15/05/2017**, ha dado su autorización para su presentación ante la Comisión General de Doctorado.

Murcia, 15 de mayo de 2017

Doctorando: D. Jose Francisco Martínez Marco

**Informe del Departamento para alumnos del RD 778/1998.*

**Informe de La Comisión Académica del Programa para alumnos del RD 56/2005 y RD 1393/2007.*

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer a todas aquellas personas que me han ayudado a la consecución de esta tesis doctoral y en especial:

A mi director de tesis, el Profesor Doctor Antonio José Ortiz Ruíz, gracias por toda la ayuda y apoyo constante durante estos meses de arduo trabajo. Gracias por tu dedicación y empeño. Gracias por todo el tiempo que os he robado a ti y a tu familia. Gracias por ser mi referente en esta nuestra profesión. Pero, sobre todo, gracias por confiar en mí desde el principio. Gracias de todo corazón.

A Dietmar, por su inestimable ayuda durante la fase de investigación.

A Conchi y a mis compañeras de trabajo, por su apoyo y por las facilidades que me han dado para poder llevar a cabo esta tesis.

A Carmen, por su apoyo constante y por cuidarme como si fuera uno más de su familia.

A mis compañeros de carrera, por todo lo vivido durante esos maravillosos años.

A Pascual y José Antonio, lo mejor que me llevo de mis años de universidad. Gracias por vuestra amistad.

A todos y cada uno de mis amigos. Gracias por vuestra amistad durante todos estos años, mejores amigos no se puede tener.

A mis suegros, Mercedes y Pelayo, por quererme como si fuera su hijo.

A mi cuñada Laura, por su apoyo constante.

A mis tíos, Fede, Meli y Bea. Por estar siempre ahí. Sois un ejemplo de vida para mí.

A mis abuelos, porque sin vosotros no habría llegado hasta aquí.

A mi hermano Salva. Doy gracias a la vida porque no podría haberme dado un hermano mejor. Te quiero bro.

A mi padre, gracias por ser mi ángel de la guardia y por ser una fuente de inspiración para seguir progresando en esta vida. Espero que estés orgulloso de mí. SIEMPRE JUNTOS.

A mi madre, el pilar que sostiene mi familia. Ni en mil vidas podré darte las gracias por todo lo que has hecho, haces y harás por nosotros. Ojalá algún día pueda ser como tú. Te quiero.

A Merce, mi pasado, mi presente y mi futuro. Te quiero.

ABREVIATURAS

24h: 24 horas.

7d: 7 días.

21d: 21 días.

10-MDP: 10-metacriloiloxil-decil-dihidrogenfosfato.

4-META: 4- metacriloiloxietil-trimetilato-anhídrido.

ACP: Fosfato de calcio amorfo.

ACPF: Fosfato de calcio amorfo fluorado.

BF12: Bifluorid 12[®].

BHT: Butilhidroxitolueno.

Bis-GMA: Bisfenol-A-Diglicidil Metacrilato.

-TCP: -fosfato tricálcico.

-TCP: -fosfato tricálcico.

Ca⁺²: Iones calcio.

CaF₂: Fluoruro de calcio.

CPP-ACP: Fosfato de calcio amorfo estabilizado con proteínas derivadas de la caseína de la leche de vaca o Recaldent[™].

CO₃⁻²: Iones carbonato.

CPP: Fosfoproteínas de la caseína de la leche.

CSPS: Fosfosilicatos sódicos de calcio o vidrios bioactivos (NovaMin[®]).

CWV: Clinpro[™] White Varnish.

cols.: Colaboradores.

CQ: Canforoquinona.

DE: Demineralized enamel.

DESM: Desmineralizado.

ED: Esmalte desmineralizado.

EsD: Esmalte sin desmineralizar.

EWD: Enamel without demineralization.

fTCP: Fosfato tricálcico funcionalizado.

F⁻: Iones flúor.

FA: Fluorapatita.

FADH: Fractura adhesiva.

FCC: Fractura cohesiva de composite.

FCE: Fractura cohesiva de esmalte.

FHA: Fluorhidroxiapatita.

FM: Fractura mixta.

HA: Hidroxiapatita.

HEMA: 2-hidroxietil metacrilato.

Mg⁺²: Iones magnesio.

MEB: Microscopio electrónico de barrido.

mm: milímetro.

MPa: Megapascuales.

µm: micra.

N: Newtons.

Na⁺: Iones sodio.

nm: nanómetro.

OH: Iones hidroxilo.

P: Fósforo.

PFV: Profluorid[®] Varnish.

Phenyl-P: 2-(metacrililoiloxietil) fenil hidrogenofosfato.

PMDM: P-dimetacrilato piromelítico ácido.

PPD: 1-fenil-1,2 propanodiol o fenilpropanodiona.

PO₄⁻³: Iones fosfato.

PUL: Pulido

RFC: Resistencia a las fuerzas de cizalla.

S: Significaciones estadísticas.

SBS: Shear bond strength.

SEM: Scanning electron microscope.

SIN BAR: Sin barniz.

TBB: Tributilborano.

TEGDMA: Trietilenglicol dimetacrilato.

UDMA: Uretano dimetacrilato.

ÍNDICE

1. RESUMEN / ABSTRACT	1
RESUMEN	2
2. INTRODUCCIÓN.....	6
2.1 ESMALTE DENTAL HUMANO	7
A. GENERALIDADES.....	7
B. COMPOSICIÓN QUÍMICA	8
C. ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE.....	10
D. PROCESO DE DESMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE.....	11
E. PROCESO DE REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE.....	13
2.2. AGENTES REMINERALIZANTES	15
A. SALIVA.....	15
B. FLÚOR.....	16
C. SISTEMAS DE CALCIO Y FOSFATO.....	18
c.1) Sistema de Calcio Amorfo Inestable (ACP/ACPF).....	18
c.2) Sistemas de calcio amorfo estabilizado (CPP-ACP/CPP-ACPF).....	19
c.3) Sistemas de fosfato de calcio cristalino (β -TCP o β -fosfato tricálcico).....	21
2.3. ADHESIÓN Y SISTEMAS ADHESIVOS	23
A. FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LA ADHESIÓN.....	24
1. Grupos reactivos.....	25
2. Tensión superficial y energía superficial	25
3. Humectancia	26
4. Capilaridad.....	26
5. Sustratos	26
B. COMPOSICIÓN DE LOS ADHESIVOS.....	27
C. ADHESIVOS CONVENCIONALES O DE GRABADO TOTAL (ETCH & RINSE ADHESIVES)	28
D. ADHESIVOS AUTOGRABANTES (SELF-ETCH ADHESIVES).....	30
E. ADHESIVOS UNIVERSALES	32
F. ADHESIÓN A ESMALTE NORMAL	34
G. ADHESIÓN A ESMALTE DESMINERALIZADO.....	36
H. ADHESIÓN A ESMALTE REMINERALIZADO	37
2.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	38
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	40
3.1 HIPÓTESIS	41
3.2 OBJETIVO PRINCIPAL.....	41
3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41

4. MATERIAL Y MÉTODOS	42
4.1 MATERIAL	43
A. DIENTES	43
B. SALIVA ARTIFICIAL.....	43
C. SOLUCIÓN DESMINERALIZANTE.....	44
D. MATERIALES USADOS EN LA ADHESIÓN	44
E. ESTUFA DE CALOR	45
F. AGENTES REMINERALIZANTES.....	45
G. ANÁLISIS DEL TIPO DE FRACTURA.....	47
H. ANÁLISIS DE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE.....	47
4.2 MÉTODOS.....	47
A. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	47
B. GRUPOS EXPERIMENTALES PARA CADA TIPO DE BARNIZ.....	48
C. PROCESO DE DESMINERALIZACIÓN/REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE.....	48
D. PROCEDIMIENTO ADHESIVO.....	49
E. TEST DE ADHESIÓN.....	50
F. MODOS DE FRACTURA	50
G. OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO	52
5. RESULTADOS	54
5.1 BIFLUORID 12®	55
5.2 CLINPRO™ WHITE VARNISH	58
5.3 BARNIZ PROFLUORID® VARNISH	61
5.4 INTERACCIONES DE LOS FACTORES GRADO DE MINERALIZACIÓN, TIPO DE BARNIZ Y TIEMPO.....	64
5.5 TIPO DE FRACTURA.....	67
5.6 MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB).....	74
A. GRUPOS CONTROL.....	74
B. BIFLUORID 12®.....	75
C. CLINPRO™ WHITE VARNISH	80
D. PROFLUORID® VARNISH.....	85
6. DISCUSIÓN	91
6.1 DISCUSIÓN DEL MÉTODO	92
6.2 DISCUSIÓN RESULTADOS	97
7. CONCLUSIONES	104
8. BIBLIOGRAFÍA	107
9. ANEXOS	121

1. RESUMEN / ABSTRACT

RESUMEN

Introducción.

La caries dental sigue siendo un gran problema de salud pública en los países desarrollados. En la actualidad, en niños de riesgo moderado, alto o extremo de padecer caries, los protocolos preventivos incluyen el uso de barnices de flúor con el objetivo de prevenir la desmineralización y fomentar la remineralización de las lesiones ya existentes.

Objetivo.

Evaluar el efecto de los barnices de flúor Bifluorid[®] 12 (BF12), Clinpro[™] White Varnish (CWV) y Profluorid[®] Varnish (PFV), a las 24 horas, 7 días y 21 días después de su aplicación, en la resistencia a las fuerzas de cizalla (RFC) de un adhesivo universal y de un composite nanohíbrido en esmalte sin desmineralizar (EsD) y esmalte desmineralizado (ED).

Material y métodos.

Un total de 924 incisivos temporales bovinos fueron distribuidos aleatoriamente en 14 grupos de 22 incisivos cada uno. Se realizó un procedimiento adhesivo usando el adhesivo universal Futurabond[®] M+ y el composite nanohíbrido Grandio[®]SO tras la aplicación del barniz a las 24 horas, 7 días y 21 días en EsD y ED. En algunos grupos, la superficie vestibular del diente fue pulida con el fin de eliminar el barniz antes del procedimiento adhesivo. Se midió la resistencia a las fuerzas de cizalla (RFC). Tras el proceso de cizalla, las muestras fueron examinadas con un estereomicroscopio para determinar el tipo de fractura. Dos muestras de cada grupo fueron observadas al microscopio electrónico de barrido (MEB) para estudiar el efecto de los barnices sobre la superficie del diente.

Resultados.

En EsD la aplicación de BF12 produce una reducción de la RFC a las 24 horas de su aplicación que se recupera a los 7 y 21 días. La aplicación de CWV produce una reducción de la RFC a las 24 horas y 21 días de su aplicación. La aplicación de PFV produce un incremento progresivo de la RFC que se hace significativo a los 21 días de aplicación.

En ED la aplicación de BF12 produce un incremento de la RFC a los 21 días de su aplicación. El CWV produce una reducción de RFC a las 24 horas y 21 días de su aplicación. El PFV produce un incremento de la RFC que se hace significativo a las 24 horas y se mantiene elevado a los 7 y 21 días.

El grado de mineralización determina el comportamiento de los barnices. Así el BF12 disminuye la RFC en el EsD y las incrementa en ED; el CWV reduce la RFC con independencia del tipo del grado de mineralización del esmalte y el PFV las incrementa.

El pulido de la capa de BF12 a las 24 horas en EsD y del CWV a las 24 horas y a los 21 días, tanto en ED como EsD, produce un incremento en la RFC. El pulido del PFV no tiene ningún efecto sobre la adhesión a esmalte.

La fractura cohesiva de esmalte es más frecuente en el ED, en los esmaltes sin barnizar, en los barnizados con BF12, en los esmaltes barnizados a las 24 horas y a los 7 días. Las fracturas adhesivas son más frecuentes en el EsD, en los tratados con CWV y PFV y en los tratados a 21 días.

Conclusiones.

El PFV presenta el mejor comportamiento: un incremento progresivo de la RFC desde las 24 horas hasta los 21 días, tanto en ED como EsD, con una mayor frecuencia de fracturas adhesivas.

ABSTRACT

Introduction.

Dental caries remains a major public health problem in developed countries. Nowadays, in children with moderate, high or extreme risk of developing tooth decay, preventive protocols include the use of fluoride varnishes in order to prevent enamel demineralization and promote remineralization in the existing lesions.

Objective.

To evaluate the effect of the fluoride varnishes Bifluorid[®] 12 (BF12), Clinpro[™] White Varnish (CWV) and Profluorid[®] Varnish (PFV) in the shear bond strength (SBS) of a universal adhesive and a nanohybrid composite in enamel without demineralization (EWD) and demineralized enamel (DE) at 24 hours, 7 days and 21 days after its application.

Methods.

A total of 924 temporary bovine incisors were randomly divided into 14 groups of 22 incisors. The bonding procedure was carried out with the universal adhesive Futurabond[®] M+ and the nanohybrid composite Grandio[®]SO at 24 hours, 7 days and 21 days after varnishing in EWD and DE. In some groups, the buccal surface was polish in order to eliminate the varnish before bonding. Later, SBS was measured. Following debonding, the samples were examined under a stereomicroscope to determine the mode of bond failure. Finally, two samples were observed under scanning electron microscope (SEM) in order to examine the effect of the varnish within the tooth surface.

Results.

In EWD, the application of BF12 results in a decrease of SBS at 24 hours after its application which is recovered at 7 and 21 days. The application of CWV results in a decrease of the SBS at 24 hours and 21 days after its application and the application of PFV results in a progressive increase of SBS that becomes significant at 21 days after its application.

In DE, the application of BF12 results in an increase of SBS at 21 days after its application. CWV results in a decrease of SBS at 24 hours and 21 days after its application. PFV results in an increase of SBS that becomes significant at 24 hours and remains high at 7 and 21 days.

The mineralization degree determines the behaviour of the varnishes. Thus, BF12 decreases the SBS in the EWD and increases them in DE. CWV decreases the SBS regardless the type of mineralization degree and PFV increases them.

The polished of the BF12 layer at 24 hours in EWD and the polished of CWV layer at 24 hours and at 21 days in both DE and EWD results in an increase of SBS. The polished of PFV layer has no effect on enamel adhesion.

The enamel cohesive fracture is more frequent in DE, in unvarnished enamels, in varnished enamels with BF12 and in varnished enamels at 24 hours and at 7 days. Adhesive fractures are more frequent in EWD, in those treated with CWV and PFV and in those treated at 21 days.

Conclusions.

PFV showed the best behaviour: a progressive increase of the SBS from 24 hours to 21 days with a higher frequency of adhesive fractures occurred in DE and EWD.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 ESMALTE DENTAL HUMANO

A. GENERALIDADES

El esmalte dental (también denominado tejido adamantino o sustancia adamantina) deriva embriológicamente del órgano dental u órgano del esmalte. Es de naturaleza ectodérmica y se origina de una proliferación localizada del epitelio bucal (**Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2009**). El esmalte es una estructura acelular, avascular y sin inervación; por tanto, incapaz de remodelarse o repararse (**Castellanos y cols., 2013**).

Recubre la dentina a modo de casquete en su parte coronaria, uniéndose a esta y al cemento en la unión amelodentinaria y en la unión amelocementaria, respectivamente. Su grosor varía según la localización, a nivel cervical y de fosas y fisuras los espesores son mínimos ya que son zonas que no están sometidas a mucho desgaste mientras que en las cúspides y bordes incisales, que son las superficies de trabajo, puede alcanzar grosores de 2,5mm (**West y Joiner, 2014**).

A nivel ultraestructural, el esmalte está constituido por largos prismas (o varillas) como unidad fundamental. Cada prisma se extiende desde la unión amelodentinaria hasta la parte más superficial del esmalte. Éstos pueden tener una anchura media de 4-5 micras y están formados por cristales de hidroxiapatita (HA) altamente estructurados. Los cristales (70nm de ancho por 30nm de grueso) están organizados en paquetes para formar los prismas del esmalte. Los cristales de hidroxiapatita están posicionados con sus largos ejes (c-) paralelos a los ejes largos de los prismas. En la periferia de cada prisma los cristales cambian la orientación y producen una interfase entre los prismas, donde tienden a crear un espacio intercrystalino. Los espacios entre los cristales están rellenos con material orgánico y agua para dar un 15% de volumen de espacio difusible, y permitirá el paso de pequeñas moléculas como ácido láctico y peróxido de hidrogeno, e iones como hidrogeno y calcio. La densidad de los cristales/prismas y su contenido mineral no es uniforme a través del esmalte y determina amplias variaciones en el comportamiento mecánico de la estructura dental. Por ejemplo, las superficies oclusales de un molar permanente tienen un módulo elástico mayor de 100GPa y una dureza mayor de 5GPa, mientras que cerca de la unión amelodentinaria el modulo

elástico es menor de 60GPa y la dureza menor de 3GPa (**He y Swain; 2008; West y Joiner, 2014**).

Según **Castellanos y cols. (2013)** podemos definir actualmente el esmalte dental como una biocerámica nanocompuesta que protege al diente de agresiones químicas y físicas que producen la pérdida de minerales. Dentro de estas agresiones que afectan al esmalte podemos destacar las fuerzas compresivas (hasta 700N), la abrasión, la atricción e importantes estímulos acídicos de la placa y dieta (erosión) [**Li y cols., 2014**].

B. COMPOSICIÓN QUÍMICA

El esmalte dental maduro es el tejido más mineralizado del cuerpo humano ya que se compone químicamente por un 95-96% de matriz inorgánica formada por cristales de hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], un 3% de agua y un 1-2% de matriz orgánica incluyendo proteínas y lípidos (**Li y cols, 2014; Teruel y cols., 2015**).

El **contenido inorgánico, o matriz inorgánica**, del esmalte maduro está constituido por sales minerales cálcicas, básicamente de fosfato y carbonato. El principal componente es la hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], compuesta por iones calcio (Ca^{+2}), iones fosfato (PO_4^{-3}) e iones hidroxilo (OH) en una relación estequiométrica 10:6:2. Estos iones permanecen unidos por enlaces iónicos debido a sus fuertes cargas eléctricas opuestas (**Saralegui Calvo y González Losada, 2015**).

Además de calcio y fosfato, pueden aparecer otros elementos como potasio, magnesio, flúor, manganeso y cobre, entre otros (**Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2009**). Debido a las características de microporosidad del esmalte y su intensa cinética de intercambio iónico con el medio, estos elementos pueden sustituir a los iones fosfato (PO_4^{-3}), calcio (Ca^{+2}) o hidroxilo (OH) de la hidroxiapatita. Por ejemplo, algunos de los iones hidroxilo (OH^-) pueden ser reemplazados por iones fluoruro (F^-) generando cristales de fluorapatita (FA) o fluorhidroxiapatita (FHA), los cuales son más resistentes a la desmineralización por los ácidos producidos por el metabolismo bacteriano (**Castellanos y cols., 2013**). Algunos iones de calcio pueden ser reemplazados por otros iones metálicos como sodio, magnesio y potasio, en una cantidad aproximada de un 1%, siendo el sodio el más frecuente. Sin embargo, la

sustitución más importante es la del carbonato (CO_3^{-2}), que sustituye algunos de los grupos fosfato (PO_4^{-3}). Las zonas de esmalte con déficit de calcio y las ricas en carbonatos son especialmente susceptibles a la desmineralización ácida, mientras que las regiones en las que el flúor sustituye a los iones hidróxilo (OH^-) aumentan la resistencia a la desmineralización ácida. Realmente, el esmalte estaría formado por una hidroxiapatita carbonatada deficiente en calcio (**Lussi, Hellwig y Klimek, 2012, West y Joiner, 2014**).

El **contenido orgánico, o matriz orgánica**, (1-2% en peso) se distribuye en los espacios libres que deja el material inorgánico y está representada fundamentalmente por proteínas y lípidos.

Las proteínas de esmalte están presentes como una cubierta muy delgada sobre los cristales individuales y comprenden aproximadamente la mitad del material orgánico. A diferencia de la matriz orgánica de otros tejidos calcificados, donde predomina la presencia de colágeno tipo I, la matriz orgánica del esmalte está compuesta por proteínas no colágenas llamadas en conjunto proteínas del esmalte (**Simmer y Hu, 2001**).

Las proteínas son secretadas activamente por los ameloblastos justo antes del comienzo de la biomineralización de la dentina. Entre las proteínas presentes en la matriz orgánica del esmalte destacan: amelogeninas, enamelinas, ameloblastinas o amelinas, tuftelina y parvalbúmina, siendo las amelogeninas (80-90% del total de las proteínas del esmalte), ameloblastinas (5-10%) y enamelinas (1-5%) las más importantes. Además de estas proteínas específicas, en la matriz orgánica del esmalte existen proteínas séricas, enzimas y pequeños porcentajes de condroitín 4-sulfato, condroitín 6-sulfato y lípidos (**Simmer y Hu, 2001**).

El **contenido de agua** (3% en peso y 12% en volumen) es suficiente para la difusión de ácidos y otros componentes (calcio y fosfato) dentro y fuera del diente durante el proceso de la desmineralización-reminerización (**Agrawal y cols., 2014; Shellis, Featherstone y Lussi, 2014**). Se localiza en la periferia del cristal constituyendo la denominada capa de hidratación o capa de agua adsorbida. El porcentaje de agua disminuye progresivamente con la edad (**Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2009**).

C. ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE

El esmalte es esencialmente una masa densamente empaquetada de cristales de hidroxiapatita. La mayor parte de sus características estructurales son el resultado de un patrón organizado de orientación cristalina.

La estructura histológica del esmalte está constituida por la denominada unidad estructural básica (prisma del esmalte) y por las denominadas unidades estructurales secundarias que se originan a partir de la anterior.

La **unidad estructural básica del esmalte** son los prismas, bastones o varillas del esmalte. Son estructuras compuestas por cristales de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Alrededor de cada prisma hay una capa muy fina de matriz orgánica denominada vaina del prisma del esmalte. Cada prisma también está rodeado de las áreas intervarilla, repitiéndose esta estructura ordenada en todo el espesor del esmalte (**Saralegui Calvo y González Losada, 2015**).

El conjunto de prismas del esmalte forma el **esmalte prismático** que constituye la mayor parte de esta matriz extracelular mineralizada. Tanto en la periferia de la corona como en la conexión amelodentinaria (CAD) existe el denominado esmalte aprismático en el que la sustancia adamantina mineralizada no constituye ni configura prismas (**Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2009**).

Al observar los prismas del esmalte al microscopio electrónico de barrido (MEB), en cortes longitudinales se observan como bastones irregularmente paralelos y en cortes transversales con una morfología en “ojo de cerradura de llave antigua”, con una zona redondeada o “cabeza” que se estrecha a nivel medio y vuelve a ensancharse en la “cola del prisma”. Esta morfología se debe a la diferente orientación que tienen los numerosos cristales de hidroxiapatita que forman cada prisma (**Llamas Cadaval R, 2003**).

El esmalte aprismático se localiza en la superficie externa del esmalte prismático y en las 5 μm más próximo a la unión amelodentinaria. Desde el punto de vista clínico, la estructura aprismática presenta un inconveniente cuando se utiliza el grabado ácido, ya que no se logran las microrretenciones que se logran con el esmalte prismático. Debido a esto, hay que aumentar el tiempo de grabado o eliminar el esmalte periférico (**Elkassas y Arafa, 2014**).

Las **unidades estructurales secundarias del esmalte** son aquellas estructuras o variaciones estructurales que se originan a partir de las unidades estructurales básicas como resultado de varios mecanismos:

- El cambio en el recorrido de los prismas: surgen las bandas de Hunter-Schreger y el esmalte nudoso.
- Interrelación entre el esmalte y la dentina subyacente o periferia medioambiental: surgen la conexión amelodentinaria, los husos adamantinos, los periquimatías, las líneas de imbricación de Pickerill y las fisuras o surcos del esmalte.
- Diferente grado de mineralización: surgen las estrías de Retzius y los penachos de Linderer (**Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2009, Saralegui Calvo y González Losada, 2015**).

D. PROCESO DE DESMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE

Para entender el proceso de desmineralización del esmalte, tendremos que entender previamente qué es una solución subsaturada. Es aquella en la que la concentración de iones está por debajo de la que se encuentra el cristal de hidroxiapatita, favoreciendo que el agua interactúe con cada ion y lo retire del cristal, donde está en mayor concentración. Así se produce la salida de iones hacia el medio y dirige el proceso hacia la pérdida de los mismos, es decir, hacia la desmineralización (**Castellanos y cols., 2013**).

La región más externa del esmalte dental está en íntimo contacto con la saliva y el fluido de la placa dental (biofilm), y los cristales de hidroxiapatita están en equilibrio dinámico con estas fases acuosas adyacentes. La integridad de los cristales de hidroxiapatita no sólo depende del pH sino también de la concentración de iones calcio (Ca^{+2}) y fosfato (PO_4^{-3}) en solución. A $\text{pH} < 5,5$ los cristales de hidroxiapatita se pueden disolver en el proceso conocido como desmineralización (**Li y cols., 2014**). El valor de $\text{pH} < 5,5$, conocido como valor crítico, fue sugerido por Stephan en 1944. Este valor fue adoptado por precaución ya que el trabajo pionero de Ericsson estimó un valor de 5,2. En una revisión reciente se ha considerado que el pH crítico se estima entre 4,5 y 5,5 (**West y Joiner, 2014**).

La desmineralización, o pérdida mineral, se produce por un aumento de iones hidrógeno (H^+) procedentes de la disociación de ácidos fuertes o débiles (placa bacteriana, ácidos de las bebidas carbonatadas, ácidos de la comida, ácidos procedentes del estómago), y, en menor medida, por aniones que pueden unirse o formar complejos con el calcio (quelantes: EDTA, etc) (Shellis, Featherstone y Lussi, 2014). Las bacterias del biofilm producen ácidos orgánicos (ácido láctico, ácido propiónico, ácido butírico, ácido succínico y ácido acético) debido a su intenso metabolismo. Estos ácidos orgánicos son capaces de liberar H^+ al medio (biofilm y saliva) produciendo un aumento de su concentración y, por tanto, disminuyendo el valor del pH. Este exceso de H^+ se une a los iones PO_4^{-3} para formar fosfatos primarios y secundarios hasta formar ácido fosfórico. Por otro lado, los iones OH^- también capturan H^+ para formar agua. En ambos casos se produce un descenso abrupto de las concentraciones de iones hidroxilo y fosfato libres y se generan condiciones de subsaturación que favorecen una mayor salida de otros iones que están aún en el complejo cristalino de la hidroxiapatita. De esta manera se produce pérdida de minerales y un proceso de desmineralización que si continúa durante varios días acabará provocando una lesión de caries visible. El Ca^{+2} que se libera del esmalte por la pérdida de los iones PO_4^{-3} y OH^- es capturado por las proteínas de la placa y de la saliva (Castellanos y cols., 2013). PO_4^{-3} , CO_3^{-2} , OH^- , F^- , Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^+ , etc se liberan desde la superficie de los cristales produciéndose el efecto que conocemos como “grabado ácido” (Shellis, Featherstone y Lussi, 2014).

Los cristales afectados en primer lugar son aquellos que hay en la sustancia interprismática. Posteriormente los ácidos difunden a través de los espacios intercristalinos e interprismáticos y, posiblemente, a través de defectos de desarrollo del esmalte, vías de mayor contenido en agua y materia orgánica. Después de penetrar todo el espesor del esmalte continúa por la dentina, afectando finalmente a la pulpa (Castellanos y cols., 2013).

La duración de la desmineralización depende del tiempo que se requiera para que el pH alrededor de la superficie del esmalte regrese a valores por encima del pH crítico. Esto se controla por medio de la cantidad de saliva, su composición y su capacidad amortiguadora (Simmer y Hu, 2001).

La saliva es rica en iones calcio y fosfato, por lo que puede actuar como amortiguador natural para neutralizar el ácido y restringir el proceso de disolución del mineral del esmalte. A $pH > 5,5$, junto con una alta concentración de iones de calcio y de fosfato, el

equilibrio se puede inclinar a favor de la formación de fosfato de calcio, que precipitaría sobre la superficie del esmalte y, de esta forma, los tejidos dentales desmineralizados se remineralizarían **(Li y cols., 2014)**.

La fórmula simplificada que refleja el proceso de mineralización/desmineralización es la siguiente:



E. PROCESO DE REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE

La remineralización del esmalte es un fenómeno que se conoce desde los inicios del siglo pasado, así como los efectos del flúor en él. Sin embargo, no fue hasta los años 60 cuando la remineralización se convirtió en un proceso aceptado y ampliamente estudiado por la comunidad dental. Esto se atribuye principalmente a los estudios de Koulourides, quien llevo a cabo muchos estudios intraorales y de laboratorio, y Backer Dirks, Groeneveld y colaboradores, los cuales demostraron remineralización en un estudio clínico **(Ten Cate JM, 1999)**.

El proceso de remineralización se define como aquel proceso donde los iones de calcio y fosfato son suministrados por una fuente externa al diente para promover el depósito de iones en los cristales “vacíos” del esmalte desmineralizado con el fin de producir una ganancia neta de mineral. El término “vacío” es usado para definir cualquier espacio accesible en el cristal causado por la pérdida de mineral en el proceso de desmineralización **(Cochrane y cols., 2010; Elkassas y Arafa, 2014)**.

El flúor es considerado la piedra angular en el proceso de remineralización, aunque su capacidad para promover la remineralización neta está limitada por la disponibilidad de iones calcio y fosfato, ya que por cada 2 iones flúor son requeridos 10 iones calcio y 6 iones fosfato para formar una celda unitaria de fluorapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$. Estos iones calcio y fosfato son asistidos por el flúor para reconstruir una nueva superficie en las lesiones subsuperficiales de los cristales que quedan después de la desmineralización. Estos cristales remineralizados son menos solubles al ácido que el mineral original **(Walsh LJ, 2009; Swarup y Rao, 2012; Elkassas y Arafa, 2014)**.

La remineralización del esmalte se puede estudiar desde diferentes perspectivas. Por un lado, la acción de la saliva como agente protector y portador de minerales durante el ataque ácido y, por otro, la remineralización de la lesión establecida (**Ten Cate JM, 2008**).

En condiciones fisiológicas, los fluidos orales (saliva, fluido del biofilm) tienen iones calcio y fosfato en concentraciones supersaturadas con respecto a la composición del esmalte y, como resultado, estos iones están continuamente depositándose en la superficie del esmalte o se redepositan en áreas del esmalte donde se han perdido. Esto se puede considerar como un fenómeno de defensa natural promovido por la saliva para preservar la estructura mineral del esmalte en la boca. Por lo tanto, la remineralización sería mejor definida como la redeposición de minerales perdidos por el esmalte. Sin embargo, la ganancia de calcio y fosfato es menor que la pérdida, y el resultado neto será una pequeña pérdida de mineral (**Cury y Tenuta, 2009**).

Alternativamente, la remineralización se estudia y se describe como la reparación de lesiones establecidas. Aunque dichas lesiones se hayan desarrollado durante un largo período, pueden llenarse con fosfatos de calcio cuando las condiciones externas favorecen la deposición de minerales. Cuando el mineral que precipita en la lesión es menos soluble que el tejido original, esta remineralización ayudará a prevenir o limitar la pérdida futura de tejido. La remineralización de las lesiones superficiales del esmalte está bien documentada en cientos de estudios realizados en numerosos laboratorios en el último siglo. Los estudios sobre el mecanismo básico de la remineralización y sobre los métodos para estimular este proceso han llevado a la conclusión de que el efecto preventivo del flúor sobre las caries está fuera de toda duda. Esto se atribuye en parte al efecto potenciador del fluoruro sobre la precipitación de fosfato de calcio (**Ten Cate JM, 2008**).

El proceso de remineralización comienza una vez finalizado el ataque ácido, por el agotamiento de los H^+ . Los iones calcio y fosfato, junto con otros iones, precipitan en el esmalte produciendo el crecimiento de cristales de hidroxiapatita y la formación de nuevos cristales (**Conejo Fernández B, 2015**). Para la formación de nuevos cristales (o revertir la dirección de la ecuación de ácido-base de disolución de la hidroxiapatita) es necesario que alrededor de los mismos existan soluciones acuosas hipersaturadas de iones calcio y fosfato. Estas soluciones son la placa dental (biofilm) y la saliva; ambas juegan un papel fundamental en la remineralización de las lesiones en el esmalte. Esto se debe a su alto

contenido en calcio, fosfato y flúor, y a la actividad de algunas proteínas salivales que tienen afinidad para los iones Ca^{+2} y para la hidroxiapatita, que se hallan implicadas en el proceso de transporte y deposición de dicho mineral en el esmalte (**Agrawal y cols., 2014**).

La profundidad de la lesión cariosa puede ser limitante en la aplicación de los sistemas remineralizantes, existiendo un consenso en tratar las lesiones de forma restauradora cuando éstas sobrepasan la unión amelodentinaria ya que el fenómeno de remineralización sólo ocurre en un pequeño espesor de la superficie del esmalte (30-50 μm) (**Ten Cate JM, 2008**).

Desde hace algunas décadas se han desarrollado y utilizado productos para reducir la desmineralización del esmalte y promover la remineralización. Entre ellos se encuentran los que actúan sobre las soluciones acuosas peridentales incrementando la concentración de los iones pro-remineralizantes. Estos se pueden dividir en tres grandes grupos: aquellos que contienen fluoruro, los que contienen calcio y fosfato y los que contienen fluoruro y calcio, como agentes principales (**Barbour y cols., 2008**).

2.2. AGENTES REMINERALIZANTES

Existen distintos tipos de sistemas remineralizantes entre los que se encuentran la saliva, el flúor y los sistemas de calcio y fosfato.

A. SALIVA

La saliva es el agente remineralizante natural por excelencia gracias a su contenido en Ca^{+2} , PO_3^{-4} y F^- (**Palaniswamy y cols., 2016**). La sobresaturación de calcio y fosfato en la saliva con respecto al diente favorece el desarrollo de los cristales de hidroxiapatita en la fase de remineralización de las lesiones desmineralizadas. La saliva también participa en la maduración posteruptiva del esmalte al aportar los iones necesarios para su maduración (**Cochrane y cols., 2010; Lussi, Hellwig y Klimek, 2012**).

En condiciones fisiológicas, logra mantener de manera eficiente el equilibrio entre el diente y el biofilm y en condiciones adversas, en las que el pH disminuye, tiende a revertir el proceso de desmineralización. También se puede considerar un vehículo clave para fomentar la

remineralización del esmalte a través de otros agentes remineralizantes (**Castellanos y cols., 2013**).

La capacidad de la saliva para remineralizar cristales de esmalte desmineralizado proviene de su capacidad para suministrar iones de calcio y fosfato biodisponibles al diente. A un pH fisiológico la saliva esta supersaturada con respecto a mayoría de las fases sólidas de calcio. Sin embargo, la precipitación de fases de fosfato de calcio no ocurre normalmente en saliva debido a la presencia de proteínas salivares, particularmente la estaterina y fosfoproteínas ricas en prolina. El mecanismo de acción propuesto es que los segmentos de las proteínas que contienen residuos de fosfoseril, en particular la secuencia de la estaterina, se une a clústers de iones de calcio y fosfato, previniendo su crecimiento hasta el tamaño crítico requerido para la precipitación y transformación en fase cristalina. Esta estabilización crítica de los iones de calcio y fosfato asegura la deposición de los iones en superficie en forma de aglomerados y que los iones permanezcan biodisponibles para difundirse en lesiones deficientes de minerales y permitir la remineralización de los cristales desmineralizados. Sin embargo, la remineralización neta producida por la saliva es pequeña y es un proceso lento, con tendencia a una mayor ganancia mineral en la capa superficial de la lesión y menor en el interior de la misma, debido al bajo gradiente de concentración de iones desde la saliva hasta la lesión. Como consecuencia, otros sistemas de remineralización son necesarios para mejorar la regresión efectiva de la lesión (**Walsh LJ, 2009; Cochrane y cols., 2010**).

Dentro de estas destacan las glicoproteínas de la película que se adsorben a la superficie del esmalte formando una capa protectora, las fosfoproteínas, las estaterinas, las proteínas ácidas ricas en prolina, las histatinas y las cistatinas que exhiben también afinidad por las superficies minerales, interactúan con las bacterias e inhiben el crecimiento de los cristales de las sales de fosfato de calcio en las soluciones hipersaturadas (saliva) [**Walsh LJ, 2009**].

B. FLÚOR

El flúor es un importante adyuvante en la prevención y el tratamiento de las lesiones por desmineralización. Su uso está indicado en diferentes fases del tratamiento dental y especialmente en aquellos pacientes de alto riesgo (**Uysal y cols., 2011;; Da Silva Fidalgo y cols., 2012; Memarpour y cols., 2015**). Ejerce un papel protector sobre el esmalte al

disminuir su solubilidad ácida, ya que puede inducir la formación de FA [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$], o de fluorhidroxiapatita ([FHA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH}_x\text{F}_y)$]), mediante reacción directa con la HA, sustituyendo los iones OH^- , o también puede estimular la transformación de fases de fosfato de calcio (como el fosfato octacálcico, fosfato dicálcico dihidratado) a FA o FHA (**Reynolds EC, 2008; Tredwin y cols., 2014; Ladhe y cols., 2014**). Estos cristales son de mayor complejidad y con propiedades físicas y químicas más resistentes. Además, al ser menos soluble, el pH necesario para desmineralizar estos cristales tiene que ser más bajo o ácido (**Kecik y cols., 2008; Tabrizi y Cakirer, 2011; Al-Kawari y Al-Jobair, 2014**).

Desde los años 80 se sabe que el flúor controla el desarrollo de la lesión inicial de caries a través de su efecto en el proceso de desmineralización-rem mineralización en la interfase entre los fluidos orales y la superficie del diente. Exactamente en el medio líquido entre el fluido del biofilm y el esmalte. Al entrar en contacto con la capa de esmalte el ion F^- reacciona y forma una capa de fluoruro de calcio que actúa como reservorio protegiendo al esmalte del ataque ácido ya que, cuando baja el pH, la capa de fluoruro de calcio se libera suprimiendo o conteniendo la desmineralización. Con el aumento del pH ese flúor contribuye a la formación de sustancia mineral (**Wiegand y cols., 2007**).

Bajas concentraciones de flúor en la superficie del esmalte son suficientes para que se produzca deposición de HA o remineralización. Se han establecido cifras superiores a 4ppm como la concentración aceleradora del efecto estabilizador del flúor (**Li y cols., 2014**).

La capacidad remineralizante del flúor está en función de la disponibilidad de iones calcio y fosfato (**Reynolds EC, 2008; Featherstone JDB, 2008; Gurunathan y cols., 2012; Cochrane y cols., 2012; Frencken y cols., 2012; Memarpour y cols 2015**). Por lo tanto, en la aplicación de los sistemas remineralizantes de flúor, la disponibilidad de estos iones puede ser un factor limitante. La remineralización puede verse aumentada si se aportan niveles de calcio y fósforo adecuados junto con mínimas cantidades de flúor (<1ppm) (**Walsh LJ, 2009**).

El flúor se puede administrar de forma sistémica o de forma tópica. En el empleo sistémico, el flúor se incorpora al esmalte durante el periodo de maduración de los cristales y favorece la formación de cristales de fluorapatita y fluorhidroxiapatita, haciéndolo más resistente a la desmineralización (**Espasa y Boj, 2004b**). Respecto al flúor tópico, la aplicación tiene lugar

durante el proceso posteruptivo favoreciendo la maduración posteruptiva del esmalte, aportando mayor resistencia a la desmineralización del esmalte, mejorando el proceso de remineralización y disminuyendo el potencial cariogénico de la placa (**Espasa y Boj, 2004b; Gómez de Ferraris y Campos Muñoz, 2009**). Hay muchas maneras de emplear de forma tópica el flúor, pudiendo ser aplicado por el paciente (suplementos de flúor, dentífricos fluorados, colutorios o geles de autoaplicación), o por el profesional (gel de flúor, pastas o barniz de fluoruro de sodio) [**Leódidio y cols., 2012**].

Por todo lo expuesto, se estableció el flúor en sus diferentes fórmulas y aplicaciones como el principal agente remineralizador del esmalte y, consecuentemente, como agente de control de la progresión de la lesión cariosa (**Nóbrega y cols., 2016**). De hecho, **Damle y cols. (2016)** demostraron el potencial anticariogénico de los dentífricos que contienen más de 1000 ppm de fluoruro sugiriendo que su uso generalizado contribuye de manera significativa a la actual disminución de la caries dental en los países desarrollados.

C. SISTEMAS DE CALCIO Y FOSFATO

Los sistemas de calcio y fosfato se clasifican en: sistemas de calcio amorfo inestable, sistemas de calcio amorfo estabilizado y sistemas de fosfato de calcio cristalino (**Cochrane y cols., 2010; Mohd Said, Ekambaram y Yiu, 2017**).

c.1) Sistema de Calcio Amorfo Inestable (ACP/ACPF)

Se sabe que el calcio y el fosfato son minerales necesarios para el mantenimiento de la estructura dental por ser parte constituyente del diente. Estos minerales se encuentran habitualmente en la placa dental y en la saliva, y tienen una participación activa en los procesos de desmineralización-remineralización. Al igual que con el flúor, se ha encontrado una relación inversa entre la presencia de calcio en la placa y en saliva, y la incidencia de caries (**Li y cols., 2014**).

Teóricamente, pequeños cambios en la concentración de calcio provocarían grandes cambios en la concentración de fosfato. Se ha estimado, en varios estudios in vitro, que el calcio es veinte veces más potente que el fosfato en la inhibición de la disolución del esmalte y que una tasa óptima para la remineralización del esmalte se puede conseguir con una relación

de calcio/fosfato de 1:6. Sin embargo, en el fluido de la placa hay un exceso de fosfato presente, y la relación Ca/P es aproximadamente 0,3 (**Tanaka, Matsunaga y Kadoma, 2000**). Se ha encontrado también una relación lineal entre los niveles de flúor y calcio en la placa y se ha hipotetizado que la capacidad de la placa de retener flúor está determinada por la concentración de calcio en la misma (**Li y cols., 2014**).

El ACP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), es un precursor de la HA, ya que exhibe una gran solubilidad y se convierte inmediatamente en HA, lo que lo hace adecuado para ser agente mineralizante. La principal ventaja del ACP es su fácil formulación en fase sólida y su biocompatibilidad con tejidos duros y blandos, que es igual a la de la hidroxiapatita y varios fosfatos di-,tri- y tetracálcicos (**Gurunathan y cols., 2012**).

En los sistemas de fosfato de calcio amorfo (ACP) el mecanismo remineralizante está basado en la liberación de iones de Ca y P tras la disolución de las sales que contienen estos iones. La liberación de estos iones produce uniones entre los mismos que generan de nuevo ACP, que al exceder su solubilidad precipita, y en presencia de iones flúor forma fosfato de calcio amorfo fluorado (ACPF). En el medio oral estas fases de ACP y ACPF son muy inestables y pueden transformarse en una fase termodinámicamente más estable constituida por cristales de hidroxiapatita y fluorhidroxiapatita (fase cristalina). Antes de esta transformación cristalina los iones deben permanecer disponibles para promover la remineralización de la lesión subsuperficial (**Cochrane y cols., 2010**). Esta inestabilidad de los complejos ACP y ACPF puede generar una pobre fase soluble y el favorecimiento de cálculo dental, por ello se han desarrollado los sistemas estabilizados.

c.2) Sistemas de calcio amorfo estabilizado (CPP-ACP/CPP-ACPF)

Antes del desarrollo del CPP la principal dificultad para conseguir remineralización mediante la aplicación de sistemas de calcio y fosfato era la baja solubilidad de estos, especialmente en presencia de iones flúor. Esta baja solubilidad dificultaba su incorporación a la placa dental y a la superficie del esmalte. Por otro lado, se limitaba su aplicación a bajas concentraciones ya que, si se sobrepasaban, se volvía insoluble. Para superar todas estas dificultades, se desarrollaron los complejos CPP, que consiguen estabilizar los fosfatos de calcio (**Gurunathan y cols., 2012**).

El fosfato de calcio amorfo estabilizado con proteínas derivadas de la caseína de la leche de vaca o Recaldent™ (CPP-ACP) fue desarrollado por Reynolds y colaboradores en el año 1998 **(Reynolds EC, 2008; Walsh LJ, 2009)**.

El CPP es un complejo de péptidos derivados de la caseína que contiene la secuencia de aminoácidos [-Ser(P)-Ser(P)-Ser(P)-Glu-Glu-] y tiene la capacidad de estabilizar el calcio y el fosfato manteniéndolo en una forma amorfa o soluble denominada fosfato cálcico amorfo (ACP) **[Gurunathan y cols., 2012]**. Debido a esto, son empleados en los sistemas remineralizantes de ACP estabilizado, en los que el complejo fosfopéptido de la caseína (CPP) estabiliza altas concentraciones de calcio y fosfato en una solución metaestable sobresaturada con respecto a las fases sólidas del fosfato de calcio **(Cochrane y cols., 2010)**. Esto permite que los iones del ACP difundan hacia las lesiones subsuperficiales del esmalte mediante gradientes de concentración, facilitando su transformación en HA. Las fosfoproteínas de estos productos actúan de forma similar a como lo hacen las estaterinas en la saliva o las fosfoproteínas en el diente, de manera que, al producirse desmineralización de los tejidos duros, las fosfoproteínas liberan los iones que actúan remineralizando la estructura **(Walsh LJ, 2009)**. Además, dificulta la colonización bacteriana de las superficies dentales, es decir, el CPP-ACP tiene propiedades similares a los fluoruros: inhibe la desmineralización, induce la remineralización, tiene un efecto bactericida y bacteriostático, y ejerce un efecto tampón **(Imran y cols., 2013)**. Son numerosos los estudios, ensayos clínicos y revisiones sistemáticas acerca de las acciones remineralizantes del CPP-ACP **(Adebayo, Burrow y Tyas, 2007; Hegde y cols., 2012; Park y cols., 2013; Shadman y cols., 2015)**.

Cuando el CPP-ACP interacciona con el flúor, se forma una nueva fase, el CPP-ACPF. El uso de dentífricos que contienen CPP-ACPF favorece la remineralización de la lesión subsuperficial, con un aumento en la formación de cristales de fluorapatita y fluorhidroxiapatita aumentando la resistencia del esmalte a este nivel **(Jayarajan y cols., 2011; Hegde y cols., 2012; Patil y cols., 2013)**.

El CPP-ACP se encuentra incorporado en chicles como el Trident White® (Cadbury Adams USA LLC) y pastas dentales como el GC Tooth Mousse™ (GC America Inc) y MI Paste™. La presentación con 900 ppm de flúor es GC Tooth Mousse Plus™ (GC America Inc) y GC MI Paste Plus™ (GC America Inc). También se encuentra en barniz GC MI Varnish™ (5% NaF) (GC America Inc) y pastillas como el Recaldent Mints™ (Cadbury Adams USA LLC).

Recientemente se han desarrollado composites con nanopartículas de fosfato de calcio amorfo capaces de liberar iones calcio y fosfato y, así, poder neutralizar los ácidos. Además, estos nanocompuestos serían capaces de remineralizar in situ lesiones del esmalte y reducir, en gran medida, la formación de caries (**Zhang y cols., 2016**).

c.3) Sistemas de fosfato de calcio cristalino (β -TCP o α -fosfato tricálcico)

El fosfato tricálcico es un fosfato de calcio cristalino cuya fórmula química es $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Existe en dos formas, alfa y beta. El β -TCP se forma cuando el esmalte humano se calienta a altas temperaturas. Es un material relativamente insoluble en entornos acuosos. El β -TCP cristalino puede formarse combinando carbonato de calcio y fosfato de calcio hidrogenado calentando la mezcla a más de 1000°C durante 1 día, para dar un polvo escamoso y rígido. El tamaño medio de las partículas de TCP puede entonces ser ajustado por fresado. Típicamente, las partículas varían de 0,01 a 5 micras de tamaño. El β -TCP es menos soluble que α -TCP y, por lo tanto, en una forma no modificada es menos probable que proporcione calcio biodisponible. Se emplea en cirugía para la remodelación ósea en los procedimientos maxilofaciales y para tratamientos ortopédicos, en productos como Cerasorb[®], Bio-Resorb[®] y Biovision[®] (**Karlinsey y Pfarrer, 2012**).

En los últimos años ha empezado a usarse en odontología el f TCP, resultante del acoplamiento del β -TCP con restos orgánicos y/o inorgánicos como el lauril sulfato de sodio, el ácido fumárico, silicatos y urea. (**Karlinsey y Pfarrer, 2012**).

La forma funcionalizada del fosfato tricálcico (f TCP) fue desarrollada como un medio para evitar las interacciones prematuras entre el fosfato tricálcico y el flúor y por tanto mantenerlo más estable en solución y suspensión (**Walsh LJ, 2009**). Esto es necesario ya que un problema importante del β -TCP es la formación de complejos de fosfato de calcio o, si están presentes fluoruros, la formación de fluoruro de calcio que inhibiría la remineralización subsuperficial al reducirse los niveles de iones biodisponibles.

Entre las primeras medidas que se tomaron para evitarlo fue la reducción de la concentración de TCP (<1%), y su combinación con una cerámica como óxido de titanio u otros óxidos metálicos (**Walsh LJ, 2009**).

El fTCP lo podemos encontrar en forma de:

- Pasta dentífrica: 3M ESPE Clinpro™ Tooth Creme (con 950 ppm de ion flúor) y 3M ESPE Clinpro™ 5000 (con 5000ppm de flúor). Ambas utilizan el lauril sulfato de sodio para estabilizar el TCP.
- Barniz: 3M ESPE Clinpro™ White Varnish al 5% (con 22.600ppm de F⁻). Utiliza el ácido fumárico para estabilizar el TCP.

Una variación de los fosfatos cristalinos son los **fosfosilicatos sódicos de calcio (CSPS)**, también llamados **vidrios bioactivos**. Estos han sido ampliamente utilizados en odontología tanto para regeneración ósea como para el tratamiento de la sensibilidad. Los últimos estudios se centran en su capacidad de remineralizar el esmalte mediante pastas o como componente de adhesivos y composites. El vidrio de fosfosilicato de aplicación dental empleado, se comercializa bajo el nombre de NovaMin® (**Jones JR, 2013**). Este material, en contacto con un medio acuoso, libera sílice e iones sodio, calcio y fósforo. La liberación de calcio aumenta el pH y favorece la formación de complejos de calcio y fósforo. Estos complejos acaban formando una capa de calcio y fosfato sobre la superficie dental. Conforme avanza la reacción, esta capa se organiza en cristales de hidroxiapatita de calcio carbonatada (**Golpayegani y cols., 2012; Metha y cols., 2014**).

El **xilitol** es un polialcohol poco metabolizado por los microorganismos bucales que ha demostrado tener una influencia importante en el control de los factores de riesgo y en la prevención de caries dental. Entre sus posibles mecanismos de acción destacan: inhibir la desmineralización; mediar en la remineralización; estimular el flujo gingival; disminuir los niveles del Streptococos Mutans en la placa y en la saliva, y su adhesión al diente; y estabilizar la caries (**Maguire y Rugg-Gunn, 2003**). A pesar de esto, hay incertidumbre sobre el mecanismo de acción real del xilitol en el control de la caries (**Cardoso y cols., 2016**).

La frecuencia en el uso de xilitol es más importante que la cantidad, en la prevención de la caries dental, ya que el xilitol se elimina rápidamente de la cavidad oral después de su aplicación en vehículos como el chicle. Por lo tanto, los barnices dentales podrían ser una alternativa para su modo de aplicación, debido al contacto a largo plazo con la superficie del esmalte.

Existen en experimentación barnices con xilitol al 20% que parecen ser buenos candidatos para el control de caries y la remineralización del esmalte in situ (**Cardoso y cols., 2016**).

La **clorhexidina**, antimicrobiano catiónico de amplio espectro, es el método químico más efectivo para reducir la placa bacteriana. De hecho, la administración de clorhexidina reduce el recuento bucal de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*.

Su mecanismo de acción viene determinado por la reducción de la formación de la película adquirida y por su efecto bacteriostático. Provoca una disminución de la adhesión microbiana a la superficie dental, previene la transmisión de microorganismos cariogénicos, reduce la producción de ácidos en la placa bacteriana y, por lo tanto, la desmineralización dental (**Núñez y García Bacallao, 2010**).

2.3. ADHESIÓN Y SISTEMAS ADHESIVOS

Según la Sociedad Americana de Materiales podemos definir adhesión como “el fenómeno por el cual dos superficies se mantienen unidas por fuerzas interfaciales que pueden ser físicas, químicas o ambas”. Las fuerzas que tienden a unir moléculas de dos materiales diferentes se les denominará “fuerzas de adhesión”, mientras que las que tienden a unir moléculas de un mismo material se denominarán “fuerzas de cohesión” (**García Barbero y García Gómez, 2015**).

Los sistemas adhesivos son el conjunto de materiales que sirven para realizar todos los pasos de la adhesión del material restaurador al diente, que son: preparación de la superficie de esmalte y dentina, adhesión química y/ o micromecánica a esmalte y dentina y adhesión al material restaurador (**Macchi RL, 2000a**).

La “adhesión química” se produce cuando ponemos en contacto íntimo dos materiales cuyos átomos de superficie son capaces de reaccionar y unirse mediante enlaces covalentes, iónicos o metálicos (enlaces atómicos primarios) o por puentes de hidrogeno o fuerzas de Van der Waals (enlaces atómicos secundarios). Para que esto se pueda conseguir en la superficie dental los adhesivos utilizados deben reaccionar químicamente con el calcio del esmalte y dentina y el colágeno de la dentina. Por el contrario, en la “adhesión mecánica” la unión de

dos materiales se produce por medio de una traba que las mantiene en contacto gracias a la penetración de una de ellas, o de las irregularidades que presenta, en la otra (**Marshall y cols., 2010**). La traba puede ser:

- Macromecánica: Las superficies quedan trabadas en función de la morfología macroscópica (tallados cavitarios, paredes retentivas, surcos, pines, etc).
- Micromecánica: Las superficies quedan trabadas en función de la morfología microscópica de ellas. Se basa en 2 estructuras muy importantes: la capa híbrida y los “tags” intratubulares en la dentina y la capa híbrida y los micropocillos en el esmalte (**Macchi RL, 2000a**).

En la adhesión para odontología siempre entran en juego, al menos, dos sustratos diferentes: el diente y el material odontológico (de obturación, prótesis, ortodoncia, etc.). Al colocar el adhesivo entre ellos se crean dos interfases: La primera, entre el adhesivo y el diente y la segunda, entre el adhesivo y el material restaurador. El mecanismo de adhesión más importante que se crea entre estos materiales es una adhesión micromecánica ya que la resina del adhesivo se infiltra por las porosidades dejadas por el grabado ácido en la superficie de esmalte y dentina dando lugar a la denominada “capa híbrida” (**García Barbero y García Gómez, 2015**).

A. FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE LA ADHESIÓN

La adhesión en Odontología depende de las características de los sustratos que se van a unir. Son determinantes los siguientes factores:

1. Grupos reactivos
2. Tensión superficial y energía superficial.
3. Humectancia.
4. Capilaridad
5. Sustratos

1. Grupos reactivos

Los grupos reactivos son los “elementos dispuestos a reaccionar”. Los adhesivos están formados por distintos tipos de resinas, alguna de las cuales tienen que llevar en su composición radicales $=CH_2$ para que puedan unirse a los $=CH_2$ de las resinas compuestas ya que los terminales $=CH_2$ son sus grupos reactivos. Por este motivo, la resina tipo Bis-GMA casi siempre está presente en los adhesivos. Para que esta unión se produzca de manera química se tienen que romper esos dobles enlaces. Sin embargo, los grupos reactivos que ofrece el diente para su unión al adhesivo [grupos hidroxilo (OH^-) e iones calcio (Ca^{+2}) de la HA] no son capaces de establecer uniones químicas fuertes con las moléculas de resina del adhesivo. Otro componente importante de la estructura dentaria es el colágeno, el cual tiene grupos reactivos carboxilo ($-COOH$), amino ($-NH_2$) y amido ($-CONH_2$) que tampoco son muy propensos a reaccionar con los grupos reactivos del adhesivo. Por eso la unión del adhesivo a los tejidos dentarios va a ser fundamentalmente micromecánica (**Phillips, 1993b**).

2. Tensión superficial y energía superficial

La adhesión requiere un íntimo contacto de los materiales que van a ser unidos. Puesto que la superficie de un material es diferente de su interior, comprender las características de superficie de los materiales es esencial para comprender y facilitar la adhesión. En el interior los átomos y las fuerzas interatómicas entre los átomos adyacentes en la estructura del cristal están en equilibrio. En la superficie no hay interacciones interatómicas en la parte externa de los átomos. Los átomos que quedan en la superficie mantienen una energía no contrarrestada ya que al estar rodeados por otros átomos solamente por un lado quedan con fuerzas sin compensar. La energía libre de superficie representa la diferencia entre la energía de un átomo en superficie y la de un átomo en el interior (**Marshall y cols., 2010**). En los líquidos, esta energía no contrarrestada se llama tensión superficial, y en los sólidos, energía superficial. Para que haya adhesión entre un líquido y un sólido debe haber un íntimo contacto entre las dos superficies y, para ello, la tensión superficial del líquido debe ser menor que la energía libre del sólido (**Phillips, 1993a**).

3. Humectancia

Se denomina humectancia a “la capacidad de un líquido para mojar un sólido”. Depende de las energías de superficie de cada uno de los sustratos, ya que la tensión superficial tiende a mantener el líquido en forma de gota, mientras que la energía superficial del sólido tiende a que se extienda. A mayor humectancia, mayor capacidad de mojar, es decir, mayor capacidad de que el líquido se extienda por la superficie del sólido (**Phillips, 1993a**).

El método más común para observar la humectancia es medir el ángulo de contacto que forma la tangente a la gota con la superficie del sólido. Este ángulo de contacto representa el equilibrio energético entre las fases sólida, líquida y gaseosa implicadas. En la mayoría de los casos la fase gaseosa es aire y se centra simplemente en la gotita líquida y el sustrato sólido porque la fase gaseosa en la interfase microscópica sólida / líquido / gas está siempre totalmente saturada con el vapor del líquido. Por tanto, cuanto mayor es ese ángulo, menos extendida está la gota y, por tanto, menor es la humectancia (**Marshall y cols., 2010**).

4. Capilaridad

Fenómeno por el que cuando un líquido se pone en contacto con un tubo de pequeño diámetro, este tiende a introducirse por él. Está relacionado directamente con la tensión superficial. Cuanto más baja sea ésta, mayor será la tendencia a introducirse por el capilar (**Phillips, 1993a**).

5. Sustratos

Esmalte. Posee un alto contenido en materia inorgánica y poco contenido en materia orgánica y en agua, por tanto, tiene una alta energía superficial. Cuando el esmalte es grabado con ácido ortofosfórico al 37% aumenta su energía superficial y se crean unas microporosidades que actúan a modo de capilares dando lugar a zonas retentivas para el adhesivo (**García Barbero y García Gómez, 2015**).

Dentina. Como sustrato para la adhesión es mucho peor que el esmalte ya que tiene mayor contenido de materia orgánica y de agua, por tanto tiene una baja energía superficial y es de naturaleza hidrofílica. Presenta gran cantidad de túbulos que pueden actuar como capilares, pero al haber en su interior fluido dentinario a una determinada presión, esto condiciona de

forma importante la posibilidad de penetración de la resina en su interior. A medida que la dentina se aleja de la cámara pulpar el número y diámetro de los túbulos disminuye (**García Barbero y García Gómez, 2015**).

Resina. Debe tener unas características adecuadas (tensión superficial, humectancia, capilaridad y fluidez) que le permita adherirse a las estructuras dentarias. Para unirse a la dentina deberán ser, en lo posible, hidrofílicas ya que el contenido en agua es elevado. No hay que olvidar que estas resinas deberán unirse también a las resinas compuestas, y que, por lo tanto, sus características deberán permitir también esta unión (**García Barbero y García Gómez, 2015**).

B. COMPOSICIÓN DE LOS ADHESIVOS

- a) Resina hidrofílica: HEMA, 4-META, PMDM.
 - Son las encargadas de conseguir la adhesión a dentina impregnando la capa híbrida y formando “tags” aprovechando la humedad de la dentina.
- b) Resina hidrofóbica: Bis-GMA, UDMA, TEGDMA.
 - Tiene doble función:
 - Conseguir una buena unión al composite (también hidrofóbico).
 - Conseguir que la capa de adhesivo tenga un grosor suficiente para que la interfase dentina-resina soporte el estrés al que va a ser sometida.
- c) Resinas ácidas: Phenil-P, MDP.
 - Son las resinas que se utilizan en adhesivos autograbantes y universales.
 - Los monómeros que la forman realizan simultáneamente procesos de desmineralización e infiltración.
- d) Solventes: Agua, alcohol etílico, acetona.
 - Son fundamentales para conseguir una adecuada capa híbrida ya que facilitan la difusión de la resina por el entramado de colágeno.
 - Se eliminan con facilidad (**Luque-Martínez y cols., 2014; Irmak y cols., 2016**).
- e) Iniciadores o activadores.
 - Son los encargados de desencadenar la reacción de polimerización.

- Hay 2 tipos: Fotoiniciadores (CQ y PPD) y quimioiniciadores (complejo amina-peróxido)
- f) Catalizadores: TBB.
- Algunos adhesivos lo necesitan para poner en marcha alguna reacción química.
- g) Relleno inorgánico: vidrio o sílice coloidal.
- Se utilizan para fortalecer la interfase y compensar la contracción de polimerización.
 - Hoy en día se están introduciendo nanopartículas.
- h) Radiopacificadores: Aluminio, silicato de bario, aluminio borosilicato de bario, etc. **(Macchi RL, 2000b; Van Landuyt y cols., 2007).**

C. ADHESIVOS CONVENCIONALES O DE GRABADO TOTAL (ETCH & RINSE ADHESIVES)

El mecanismo de adhesión fundamental de los sistemas adhesivos a base de resina para el esmalte y la dentina se basa esencialmente en un proceso de intercambio, en el que los minerales extraídos de los tejidos duros dentales son reemplazados por monómeros de resina que tras la polimerización se traban micromecánicamente en las porosidades creadas. Este proceso, denominado hibridación, implica la infiltración y posterior polimerización in situ de la resina dentro de las porosidades creadas sobre la superficie de sustratos dentales, y por lo tanto es un proceso basado principalmente en la difusión **(Van Meerbeek y cols., 2011; Yoshida e Inoue, 2012).**

Entendemos por “adhesión convencional”, aquella que se basa en la técnica de aplicar de forma independiente el ácido de grabado y las resinas del adhesivo. Este tipo de adhesión se puede llevar a cabo de diferentes formas: grabando independientemente esmalte y dentina, grabándolos a la vez pero aplicando las resinas adhesivas en pasos consecutivos, o aplicando las resinas adhesivas en un solo componente. Estos sistemas adhesivos son los que se corresponden a las primeras cinco generaciones de adhesivos **(García Barbero y García Gómez, 2015).**

La unión adhesiva comienza por el grabado ácido, cuya finalidad es aumentar la permeabilidad del esmalte y la dentina a las resinas. Nakabayashi y colaboradores fueron los

primeros en demostrar la formación de la verdadera “capa híbrida” en dentina grabada (**Nakabayashi, Kojima y Masuhara, 1982**). La “capa híbrida” es una estructura mixta formada por el colágeno de la dentina y la resina del adhesivo que encontramos en la entrada de los túbulos dentinarios y en la superficie de dentina intertubular (**Martín Hernández J., 2004**). Se forma gracias a que el grabado ácido con ácido fosfórico al 37% desmineraliza completamente de 5-8 micras la superficie de la matriz de dentina intertubular para crear porosidades de tamaño nanométrico dentro de la matriz de colágeno subyacente. Esto permite la infiltración de comonomeros solvatados dentro y alrededor de las fibras colágenas para ganar retención para los composites de resina (**Pashley y cols., 2011**). Para que la capa híbrida funcione y se forme correctamente se deben dar estos 2 factores: impregnación adecuada de las fibras de colágeno y adecuado grosor de la capa de adhesivo.

Después de acondicionar la superficie de la dentina, se ha recomendado que esta superficie se mantenga en un estado húmedo antes de la adhesión; esta técnica clínica se denomina comúnmente "adhesión húmeda" (**Van Meerbeek y cols., 2003; Manuja, Nagpal y Pandit, 2012**). Se cree que el agua que queda sobre la superficie de la dentina mantiene la banda de colágeno expuesta flexible y permeable para la posterior infiltración del monómero. Se ha demostrado que un secado excesivo con aire de las superficies de dentina acondicionadas hace que la banda de colágeno no soportada se contraiga y se colapse, impidiendo que los monómeros del primer y la resina adhesiva humedezcan e infiltren eficientemente la superficie acondicionada (**Muñoz y cols., 2013**). Sin embargo, la técnica de adhesión húmeda puede garantizar la interdifusión de resina eficaz sólo si toda el agua restante en la superficie de la dentina se elimina completamente y se sustituye por monómeros de resina durante el siguiente paso de imprimación. Cuando el agua dentro de la red de colágeno no está completamente desplazada la polimerización de la resina dentro de la capa híbrida puede verse afectada o, al menos, el agua restante competirá por el espacio con la resina dentro de la dentina desmineralizada. El riesgo de que toda la humedad en la superficie de la dentina no sea reemplazada completamente por los monómeros fue documentado ultramorfológicamente como el fenómeno de la "sobremojado" (**Yoshida e Inoue, 2012**). Bajo tales condiciones de sobremojado, el exceso de agua que no se elimina durante la imprimación parece causar la separación de fases de los componentes del monómero, dando como resultado un debilitamiento del enlace y los túbulos incompletamente sellados. Esta es una de las limitaciones de los adhesivos de grabado total (**Yoshida e Inoue, 2012**).

Los **tags de resina**, 2ª estructura de unión micromecánica en importancia tras la “capa híbrida”, son prolongaciones resinosas que aprovechan los túbulos dentinarios para conseguir microrretención. En la formación de los tags pueden influir factores como la hidrofilia, fluidez y carga de la resina, el tiempo de aplicación de la resina y el tipo de dentina (**Martín Hernández J, 2004**).

Una de las ventajas de este sistema de 3 pasos es su capacidad de obtener una resistencia de adhesión adecuada para esmalte y dentina lográndose unos valores de resistencia de unión de aproximadamente 31 MPa (**Scherrer, Cesar y Swain, 2010; Mandri, Aguirre Grabre de Prieto y Zamudio, 2015**).

D. ADHESIVOS AUTOGRABANTES (SELF-ETCH ADHESIVES)

Los adhesivos autograbantes, o autograbadores, fueron introducidos con el objetivo de eliminar la técnica altamente sensible del grabado ácido. En general, estos adhesivos tienen la ventaja de desmineralizar e infiltrar la superficie dental simultáneamente a la misma profundidad asegurando, teóricamente, una completa penetración del adhesivo (**Van Meerbeek y cols., 2010**). Gracias a la eliminación del grabado ácido, el tiempo de aplicación de estos adhesivos es mucho más corto y la sensibilidad de la técnica mucho menor (**De Munck y cols., 2005; Masarwa y cols., 2016**). A diferencia de los adhesivos de grabado total, estos adhesivos no sólo no eliminan el barrillo dentinario sino que lo incorporan a la capa híbrida. Además, algunos estudios informan de una menor incidencia en la sensibilidad postoperatoria después de la realización de una restauración de composite (**Muñoz y cols., 2015**), debido a la interacción más superficial con la dentina y por la obstrucción de los túbulos dentinarios con el barrillo dentinario (**Van Meerbeek y cols., 2011**). Con el fin de permitir el autograbado todos los adhesivos autograbantes contienen agua como medio ionizante.

Las características morfológicas de la interfase diente-adhesivo producida por los adhesivos autograbantes dependen de la manera en la que sus monómeros funcionales interactúan con el sustrato dental. Dependiendo del pH de los adhesivos autograbantes, la profundidad de interacción en dentina variará desde: (a) unos pocos cientos de nanómetros en los adhesivos ultrasuaves ($\text{pH} > 2,5$); (b) una profundidad de interacción de alrededor de 1 micra en los

adhesivos suaves (pH 2); (c) una profundidad de interacción entre 1-2 micras en los adhesivos intermedio-fuertes (pH 1-2) y (d) hasta una interacción de varias micras de profundidad en los adhesivos fuertes (pH 1) (**Van Meerbeek y cols., 2011**). Por lo tanto, las capas híbridas de los adhesivos suaves son más finas que aquellas generadas por adhesivos autograbantes fuertes y que los adhesivos grabado total, aunque el grosor de la capa híbrida no tiene mayor importancia en la eficacia de unión (**Giannini y cols., 2015**).

Mientras que su capacidad de adhesión a dentina ha ido mejorando respecto a los primeros autograbantes de un solo paso debido a la mejora en la interacción química, la adhesión a esmalte todavía sigue siendo insatisfactoria. Por lo tanto, hay que llevar a cabo un grabado ácido selectivo del esmalte antes de la aplicación del adhesivo autograbante, especialmente cuando se usan adhesivos autograbantes con un pH medio (**Van Meerbeek y cols., 2011**).

El grabado ácido de la dentina antes de la aplicación de los autograbantes mejora significativamente la morfología de la interfase infiltrada, generando unas capas híbridas más gruesas y unos tags de resina más largos, debido a la eliminación del barrillo dentinario y de los smear plugs, especialmente en autograbantes de pH suave (mild pH). **Van Meerbeek y cols. (2010)** obtienen valores de resistencia a las fuerzas de adhesión de aproximadamente 20 MPa.

Concepto adhesión/descalcificación.

El mecanismo por el que las moléculas autograbadoras interactúan con la HA de los tejidos ha sido denominado “concepto de adhesión/descalcificación o concepto A/D” (**Yoshida y cols, 2001; Yoshioka y cols., 2002**).

El grupo carboxilo o fosfato de los monómeros funcionales del adhesivo autograbador se unen químicamente (iónicamente) al calcio de la HA. En esta primera fase de adhesión también se produce la liberación de iones fosfato (PO_4^{-3}) e hidróxido (OH^-) desde la HA a la propia solución de tal forma que la superficie queda electro-neutral. Dependiendo de la velocidad de difusión de los complejos de calcio-ácido en solución pueden suceder dos cosas: (a) el ácido permanecerá unido a la superficie de HA mediante el enlace iónico hidrolíticamente estable, dando como resultado una sal de monómero calcio que puede

copolimerizar con los monómeros del adhesivo de resina provocando una descalcificación limitada o (b) el enlace iónico no es estable, dando lugar a la descalcificación y liberación de calcio y fosfato de la superficie del diente. Esto depende de la estabilidad de la unión formada con el calcio, o en otras palabras la estabilidad de la sal del calcio respectiva (**Yoshida y cols., 2001; Yoshioka y cols., 2002; Van Meerbeek y cols., 2011; Yoshida e Inoue, 2012**).

Moléculas como 10-MDP (monómero funcional en adhesivos autograbantes) y ácidos polialquenoicos (polímeros funcionales en ionómeros de vidrio) se unirán químicamente al calcio de la HA formando fosfato de calcio estable y sales de carboxilato de calcio, respectivamente, junto con un efecto de descalcificación superficial limitado. Los adhesivos autograbantes suaves (mild) y los ionómeros de vidrio solamente interactúan superficialmente con esmalte y dentina y apenas disuelven cristales de HA, pero los mantienen en su lugar dentro de una delgada capa híbrida submicrónica (**Yoshioka y cols., 2002**).

Por el contrario, moléculas como ácido fosfórico y ácido maleico y también los monómeros funcionales de adhesivos autograbantes como phenyl-P y fostafos-HEMA, se unirán inicialmente al calcio de la HA pero inmediatamente se desunirán. Los iones de fosfato cargados negativamente (o grupos carboxilo para monómeros/ácidos de base carboxil) eliminarán los iones calcio cargados positivamente desde la superficie, hasta una cierta profundidad dependiendo del tiempo de aplicación. Esto da lugar a una descalcificación severa o “efecto grabado”, como es bien conocido en el caso del ácido fosfórico que es usado como “agente grabador” como parte del enfoque de grabado total (**Yoshida y cols., 2001; Yoshioka y cols., 2002; Van Meerbeek y cols., 2011; Yoshida e Inoue, 2012**).

E. ADHESIVOS UNIVERSALES

Los “adhesivos universales o adhesivos multimodo” representan la última generación de adhesivos en el mercado. Están diseñados bajo el concepto de “todo en uno” ya existente en los adhesivos autograbantes de un solo paso, pero incorporando la versatilidad de adaptarlos a la situación clínica, aplicándolos bajo diferentes modo de grabado (**Wagner y cols., 2014**). Además de estar indicados para usarse en superficies dentales grabadas o intactas, también sirven como silano para cerámicas y composites indirectos y como primers adhesivos para aleaciones metálicas y óxido de zirconio (**Vermelho y cols., 2016**).

Incluyen en su fórmula química ácido polialquenoico, vinil-silano y monómeros acídicos bifuncionales (ésteres fosfatados principalmente).

El **ácido polialquenoico** es un ácido débil que también forma parte del líquido presente en la formulación de los ionómeros de vítreos y le confiere al adhesivo universal la característica de formar uniones químicas con la dentina gracias a la unión de los grupos carboxílicos del ácido con los iones de calcio del tejido dentario. Las sales así obtenidas son de baja resistencia mecánica, es suficiente para resistir el estrés masticatorio de baja intensidad (**Nicholson JW, 1998**).

El **vinil-silano, silano o “ceramic primer”**, es una molécula bifuncional con un extremo órgano-funcional y un extremo silico-funcional, lo que le confiere la propiedad de unir químicamente sustratos cerámicos con resinosos. Antiguas formulaciones requerían de la termoactivación del silano para su mejor desempeño, pero las actuales han superado este requerimiento, lo que posibilita su incorporación en el adhesivo (**Xie y cols., 2010**).

Los **monómeros acídicos, monómeros bifuncionales o “self-etching primers”**, son ésteres fosfatados con pH ácido (ultrasuave, suave, intermedio-fuerte y fuerte), lo que les permite actuar como agentes grabadores e imprimantes o solo como imprimantes, según sea la estrategia adhesiva elegida. Inicialmente formulados como agentes de unión para lograr adhesión química a metales no nobles a través de la unión a sus óxidos, recientemente se ha puesto el foco en su acción sobre los sustratos dentarios. Recientes publicaciones dan cuenta del mecanismo íntimo de adhesión involucrado en la unión de estos monómeros (10-MDP) a las estructuras dentarias, demostrando la formación de sales de muy baja solubilidad y alta resistencia mecánica, lo que explica la gran estabilidad de la interfase adhesiva a largo plazo (**Yoshida e Inoue, 2012; Wagner y cols., 2014; Vermelho y cols., 2016**).

Los adhesivos universales se pueden usar en 3 modalidades distintas:

- a) Acondicionar con ácido ortofosfórico el esmalte y la dentina cuando éstos se hallan involucrados en la preparación (Modalidad de grabado total).
- b) Acondicionar con ácido ortofosfórico solo el esmalte y aplicar el primer sobre esmalte grabado y dentina no grabada (Modalidad de grabado selectivo del esmalte).
- c) Aplicar el primer sobre esmalte y dentina no grabada (Modalidad autograbante).

Así, se puede concluir que los adhesivos universales pueden ser clasificados como de 5^a generación (adhesivos de grabado total de un paso) y de 7^a generación (adhesivos autograbantes de un paso).

Estos adhesivos deben aplicarse activamente, llevando monómeros de resina acídicos a una mayor profundidad, mejorando la desmineralización y las fuerzas de adhesión a esmalte y dentina (**Muñoz y cols., 2014**).

Un inconveniente de esta técnica es el grabado accidental de la dentina, que podría ocurrir en preparaciones cavitarias pequeñas o cuando el gel grabador usado tiene una baja viscosidad, resultando en una hibridación de dentina de calidad deficiente (**Loguercio y cols., 2015**).

F. ADHESIÓN A ESMALTE NORMAL.

El concepto de adhesión a esmalte ha ido evolucionando a lo largo de los años desde que Buonocuore, en 1955, utilizó el ácido ortofosfórico para incrementar la adhesión de las resinas acrílicas la superficie adamantina. En 1962 Bowen desarrolló el monómero Bis-GMA tratando de mejorar las propiedades físicas de las resinas acrílicas, cuyos monómeros permitían solamente la formación de polímeros de cadenas lineales (**Van Meerbeek y cols., 2003**).

Las modificaciones que se han ido produciendo sobre la técnica original han sido poco sustanciosas. En los años 70, Silverstone realizó trabajos en los que se obtenía un mejor resultado reduciendo la concentración del ácido al 30%. El tiempo de grabado ácido también ha ido variando con el paso de los años, reduciéndose hasta los 15 segundos que hoy en día se considera el tiempo idóneo (**Zhu y cols., 2014**).

Con el grabado ácido sobre el esmalte promovemos la humectabilidad del adhesivo (**Elzuhery y cols., 2013**) e incrementamos su energía superficial a más del doble de la que tiene el esmalte sin grabar debido a la disolución de minerales y a la creación de microporosidades en el área interprismática y en el núcleo de los prismas. Estas microporosidades son muy retentivas y, debido a las anfractuosidades que se generan, se produce un aumento de la superficie de contacto entre la resina y el diente en unas 2000

veces. De esta forma, se favorece enormemente las posibilidades de unión (**Vermelho y cols., 2016**).

Los efectos conseguidos en la superficie del esmalte pueden ser muy diferentes dependiendo de los siguientes factores:

- a) El tipo de ácido. El ácido ortofosfórico es el ideal.
- b) La concentración del ácido. La concentración ideal es entre el 35% y el 37%. Una concentración más baja no produce la suficiente descalcificación y, por lo tanto, no es capaz de configurar adecuadamente los microporos. Una alta concentración provoca un exceso de descalcificación, cuya consecuencia será una pérdida de la estructura porosa y un grabado poco efectivo.
- c) El tiempo de aplicación. Actualmente es de 15 segundos.
- d) La estructura del esmalte. La superficie intacta del esmalte suele ser más resistente al grabado, ya que en ella el esmalte es aprismático y con frecuencia tiene mayor cantidad de flúor (**Cehreli y cols., 2005**). Por ello el tallado o biselado del esmalte consigue un mejor grabado. Cuando el ácido ataca las cabezas de los prismas produce una descalcificación mayor en el centro que en la periferia, de forma que se crean unos microporos de 5 a 15 μm de profundidad que son altamente retentivos. Si el ácido entra en contacto con prismas cortados longitudinalmente, se crean unas erosiones lacunares que son mucho menos efectivas que los microporos.

Dependiendo de estos factores, Silverstone, en 1975, describió los tres tipos de grabado:

En el grabado tipo 1 se disuelve el interior de los prismas y se mantiene la periferia; en el grabado tipo 2 se mantiene el centro de los prismas y se disuelve la periferia; y en el grabado tipo 3 se mezclan los 2 tipos anteriores con zonas de desestructuración indefinida en los que no se aprecia estructura prismática (**Choi y cols., 2010**).

Esta clasificación no tiene gran valor porque en una misma pared cavitaria aparecen siempre mezclados los tres tipos de grabado, ya que la disposición de los prismas es en forma de haces que se curvan y retuercen arbitrariamente (**Zhu y cols., 2014**).

Después del grabado se debe llevar a cabo una fase de lavado muy importante, para eliminar el ácido y las sales de fosfato cálcico que se han formado por el ataque ácido a la HA, y una fase de secado de la superficie con chorro de aire seco y limpio sin llegar a desecar.

La aplicación del adhesivo debe hacerse lo antes posible para evitar que el esmalte grabado se contamine **(Pashley y cols., 2010)**.

Para que un adhesivo sea aceptable clínicamente la fuerza de unión mínima al esmalte o dentina debería ser de 15 a 25 MPa para resistir las fuerzas de contracción del composite **(Nogawa y cols., 2015)**.

G. ADHESIÓN A ESMALTE DESMINERALIZADO

El inicio de la desmineralización sólo se puede ver en el laboratorio, en dientes extraídos, con el microscópico electrónico. A medida que la desmineralización progresa, la pérdida mineral se hace más profunda en el esmalte, o en la dentina expuesta, hasta que puede ser detectada radiográficamente, visualmente o por métodos ópticos más recientes, como la fluorescencia inducida por láser. La primera señal clínica de que la caries dental está en progreso en la boca es la denominada “lesión de mancha blanca”. Este es el primer signo que puede ser visto por el ojo humano, aunque el proceso lleva sucediendo durante meses. **(Featherstone JDB, 2008)**.

Las lesiones de mancha blanca son definidas como “porosidades de la subsuperficie del esmalte debido a desmineralización producida por la caries” **(Baysal y Uysal, 2012)**. Reflejan una pérdida marcada de mineral por debajo de la capa de esmalte más externa, son más permeables que las del esmalte natural y pueden ser fácilmente afectadas por las condiciones ambientales **(Akin y cols., 2014)**. Aparecen con tendencia durante los tratamientos de ortodoncia con aparatología fija, por la dificultad en el mantenimiento de una buena higiene oral **(Ekyzer y cols., 2012)**.

Respecto a las fuerzas de adhesión sobre esmalte desmineralizado, está ampliamente descrito que son inferiores a las que se consiguen sobre esmalte intacto, probablemente debido a un mayor contenido en agua del esmalte poroso, que produce un defecto en la infiltración de la resina y una dilución de los monómeros de resina solubles en agua perdiéndose los tags de

resina que forma la traba micromecánica (**Kimura y cols., 2004; Williams y cols., 2006; Uysal y cols., 2011; Baysal y Uysal, 2012**).

Akin y cols. (2014) observaron que la desmineralización de la superficie del esmalte disminuyó la fuerza de adhesión de los brackets de ortodoncia. **Uysal y cols. (2011)** atribuyen este resultado a la pobre calidad de la superficie del esmalte y a la pérdida de los tags de resina para la formación de la traba micromecánica.

H. ADHESIÓN A ESMALTE REMINERALIZADO

En el proceso de remineralización se deposita el mineral de forma diferente a como ocurre durante la mineralización y maduración del esmalte en desarrollo, no rehaciendo la estructura prismática en su forma original. Esta precipitación de minerales sobre la superficie del esmalte proviene de los iones liberados a partir de soluciones sobresaturadas (**Reynolds EC, 2006; Ten Cate JM, 2008; Featherstone JDB, 2008; Walsh LJ, 2009; Cochrane y cols., 2010; Gurunathan y cols., 2012**).

Diferentes procedimientos de remineralización se usan en clínica para el manejo del esmalte desmineralizado. Entre ellos, podemos destacar: el uso de flúor, CPP-ACP, -TCP, BGA microabrasión del esmalte e infiltración de resina (**Baka y cols., 2016; Palaniswamy y cols., 2016**).

Casi en la totalidad de los estudios sobre las fuerzas de adhesión a esmalte tratado tópicamente con productos que contienen agentes remineralizantes están realizados con brackets. Algunos estudios detectan una reducción significativa de la fuerza de adhesión de los brackets al esmalte (**Tabrizi y Cakirer, 2011; Leódido y cols., 2012**). Otros un incremento (**Keçik y cols., 2008; Xiaojun y cols., 2009**) y algunos, en cambio, demostraron que los agentes remineralizantes no influyen en la resistencia de la unión del bracket al esmalte (**Bishara y cols., 2000; Al-Kawari y Al-Jobair, 2014**).

El pretratamiento de las superficies desmineralizadas artificialmente con productos remineralizantes parece que restaura los valores disminuidos de resistencia a las fuerzas de cizalla, lo cual estaba en concordancia con el estudio de (**Baysal y Uysal 2011; Uysal y cols., 2012; Baka y cols., 2016**).

2.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Hoy en día, con la mejora del conocimiento y el cuidado de la salud dental, los individuos mantienen su dentición natural durante mucho tiempo. Por tanto, los tejidos dentales deben resistir una mayor exposición a injurias fisicoquímicas que pueden dar lugar a la pérdida de tejido mineral del diente. El objetivo de la odontología moderna es gestionar las lesiones cariosas no cavitadas de manera no invasiva, en un intento de prevenir la progresión de la enfermedad y preservar la integridad de la estructura dental sana. La gestión no invasiva de las lesiones cariosas no cavitadas consta de varias estrategias; entre ellas la curación de lesiones desmineralizadas usando agentes remineralizantes o su sellado usando materiales con base resinosa (**Elkassas y Arafa, 2014**).

Además cada vez hay más estrategias preventivas destinadas a frenar la desmineralización dental y aumentar la resistencia de la estructura del diente administrando productos con componentes capaces de evitar o frenar esta pérdida mineral (**Barbour y cols., 2008**). Todas las guías de prevención publicadas incluyen el uso del flúor en la infancia. La prevención comunitaria se basa principalmente en la fluoración del suministro de agua, la auto-prevención incluye el uso de pasta de dientes y enjuagues bucales; mientras que las medidas profesionales implican la aplicación de fluoruro altamente concentrado en forma de gel o barniz dental (**William y cols., 2006; Cochrane y cols., 2010**). Cuando existe un riesgo moderado, alto o extremo de caries, y esto incluye a los niños que presentan caries o algún defecto del esmalte, se recomienda el uso de barniz de fluoruro durante un período de uno, tres o seis meses con el fin de prevenir la desmineralización o remineralizar las lesiones ya existentes (**Ramos-Gomez y cols., 2010**).

Las últimas generaciones de adhesivos que se utilizan en odontología restauradora tienen un comportamiento muy eficaz y estable. Diversos estudios evalúan las fuerzas de adhesión de brackets tras el uso de compuestos con flúor en una superficie desmineralizada. Algunos opinan que el mismo mecanismo por el que el flúor consigue que disminuyan las descalcificaciones, hace que aumente la resistencia del esmalte al grabado ácido y disminuya la fuerza de adhesión (**Leódido y cols., 2012; Attin y cols., 2012**). Hay autores que opinan que el flúor no afecta a la fuerza de adhesión del adhesivo al esmalte (**Baysal y Uysal, 2012; Ekyzer y cols., 2012; Al-Kawari y Al-Jobair, 2014**) y otros que registran un incremento (**Kecik y cols., 2008**).

Hasta donde nosotros conocemos no se han realizado estudios similares donde se evalué la adhesión de materiales usados en odontología restauradora a esmaltes desmineralizados tratados con barnices de flúor.

El uso cada vez más frecuente de estos barnices en los protocolos de remineralización del esmalte o en la prevención de la desmineralización, junto a la necesidad de realizar procedimientos restauradores sobre esas superficies tratadas, hace necesario estudiar cómo influye en las fuerzas de adhesión de los materiales dentales.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1 HIPÓTESIS

La remineralización del esmalte desmineralizado con barnices de flúor reduce la fuerza de adhesión de los adhesivos dentales universales.

3.2 OBJETIVO PRINCIPAL

Estudiar el efecto de los barnices de flúor sobre la adhesión a un esmalte desmineralizado.

3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estudiar el efecto de la aplicación de Bifluorid 12[®], Clinpro[™] White Varnish y Profluorid[®] Varnish sobre la resistencia a las fuerzas de cizalla de un adhesivo universal (Futurabond[®] M+) en esmalte sin desmineralizar, a las 24 horas, 7 días y 21 días.
2. Estudiar el efecto de la aplicación de Bifluorid 12[®], Clinpro[™] White Varnish y Profluorid[®] Varnish sobre la resistencia a las fuerzas de cizalla de un adhesivo universal (Futurabond[®] M+) en esmalte desmineralizado, a las 24 horas, 7 días y 21 días.
3. Estudiar la influencia del grado de mineralización y del tipo de barniz usado en la resistencia a las fuerzas de cizalla.
4. Estudiar el efecto que produce sobre la adhesión la eliminación de la capa de barniz de la superficie del esmalte.
5. Estudiar los tipos de fractura que se producen tras el test de cizalla.
6. Estudiar la morfología de la superficie del esmalte sin desmineralizar y desmineralizado, antes de la aplicación del barniz, tras la aplicación del barniz en los distintos tiempos (24 horas, 7 días, 21 días) y tras el pulido del barniz.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MATERIAL

A. DIENTES

Para la realización de este trabajo se utilizaron 924 incisivos inferiores temporales bovinos pertenecientes a animales con una edad inferior a 1 año, procedentes de un matadero industrial (El Cabezo, centro cárnico, Murcia, Spain), cuya superficie vestibular no presentó fracturas o defectos provocados por la extracción. Los utilizamos como sustitutos de los dientes humanos debido a la dificultad de disponer de incisivos humanos idóneos para la investigación y a la similitud que existe entre el esmalte de ambas especies (**Teruel y cols., 2015**).

B. SALIVA ARTIFICIAL

Con el fin de mantener los dientes hidratados y en una condición similar a la cavidad oral, se mantuvieron en saliva durante todo el procedimiento experimental a una temperatura de 37°C, en estufa. El pH de la saliva se ajustó a 6,57 y su composición se detalla en la tabla 1 (**Oncag y cols., 2005**).

Tabla 1. Composición de la saliva artificial
• Carmelosa sódica (1%)
• Sorbitol (3%)
• Cloruro potásico (0,12%)
• Cloruro sódico (0,084%)
• Cloruro de magnesio hexahidratado (0,015%)
• Potasio Fosfato dibásico (0,017%)
• Nipagin Sódico (0,1%)

C. SOLUCIÓN DESMINERALIZANTE

La desmineralización de las superficies vestibulares se llevó a cabo mediante una solución desmineralizante cuya composición se detalla en la tabla 2 (Patil y cols., 2013).

Tabla 2. Composición de la solución desmineralizante
• 2,2 mM cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
• 2,2 mM fosfato monosódico ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
• 0,05 M Ácido láctico

El pH final se ajustó a 4,5 con hidróxido sódico (NaOH) al 50%. Los dientes se introdujeron en la solución durante 48 h, a 37 °C.

D. MATERIALES USADOS EN LA ADHESIÓN

- Ácido Ortofosfórico al 37% (Dentaflux, Madrid, España).
- Adhesivo Universal Futurabond[®] M+ (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania).
- Composite nanohíbrido Grandio[®] SO, color A3, (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania).
- Lámpara de polimerizar LED SmartLite (Dentsply[®], EEUU) a 1250 W/cm².
- Tubos de polietileno de 3 mm de diámetro interno.
- Espátula de composite LM 48-702.
- Estufa de calor (JP Selecta S.A, Barcelona, España).

La composición de los materiales utilizados queda recogida en la tabla 3.

PRODUCTO	COMPOSICIÓN	
Dentaflux	<ul style="list-style-type: none"> • Ácido ortofosfórico • Excipientes 	<p style="text-align: right;">37%</p> <p style="text-align: right;">Hasta el 100%</p>
Futurabond [®] M+	<ul style="list-style-type: none"> • Metacrilato de 2-hidroxietilo • Bis-GMA • Etanol • Monómero adhesivo ácido • UDMA • Catalizador • Ácidos silícicos pirogénicos 	<p style="text-align: right;">10-25%</p> <p style="text-align: right;">10-25%</p> <p style="text-align: right;">10-25%</p> <p style="text-align: right;">2,5-5%</p> <p style="text-align: right;">2,5-5%</p> <p style="text-align: right;">< 2,5%</p> <p style="text-align: right;">< 2,5%</p>
Grandio [®] SO	<ul style="list-style-type: none"> • Bis-GMA • TEDGMA • Bis-EMA • EBPADA • DMABE • HT • Pigmentos inorgánicos • Iniciadores • Relleno inorgánico: partículas de vidrio cerámico (1 μm) y nanopartículas de dióxido de silicio (20-40 nm). 	<p style="text-align: right;">2,5-5%</p> <p style="text-align: right;">2,5-5%</p> <p style="text-align: right;">2,5-5%</p> <p style="text-align: right;">89% w/w</p>

E. ESTUFA DE CALOR

Para mantener las muestras durante todo el estudio a 37 °C, se empleó una estufa de calor (JP Selecta S.A, Barcelona, España).

F. AGENTES REMINERALIZANTES

Los productos remineralizantes empleados en el estudio fueron los siguientes (tabla 4):

1. Bifluorid 12[®] (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania)

Modo de empleo: agitamos la botella de Bifluorid 12[®] antes de cada uso para mezclar bien las partículas. Se colocó el barniz con un aplicador desechable sobre toda la superficie del esmalte y dejamos penetrar la laca durante 20 segundos, después de los cuales se secó con

aire comprimido. A continuación los dientes se introdujeron en saliva artificial y se mantuvieron en estufa a una temperatura de 37 °C.

2. Clinpro™ White Varnish (3M ESPE, Saint Paul, MN, USA)

Modo de empleo: se mezcló bien el barniz con el pincel aplicador y se colocó uniformemente sobre la superficie del diente. Tras la aplicación, esperamos 5 minutos y lo introdujimos en saliva artificial a una temperatura de 37 °C, en estufa.

3. Profluorid® Varnish (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania)

Modo de empleo: se mezcló el barniz y se aplicó una capa uniforme de modo que cubriera la superficie completa con una fina película. Tras la aplicación, esperamos 5 minutos y lo introdujimos en saliva artificial a una temperatura de 37 °C, en estufa.

Tabla 4. Composición agentes remineralizantes		
PRODUCTO	COMPOSICIÓN	
Bifluorid 12®	<ul style="list-style-type: none"> • Acetato de etilo • Nitrato de celulosa con alcohol • Isopentil propionato • Fluoruro sódico • Fluoruro cálcico • Piroxilina • Dióxido de silicio coloidal • Aceite de clavo • Eugenol 	50-100% 10-25% 10-25% 5-10%
Clinpro™ White Varnish	<ul style="list-style-type: none"> • Ester glicerol pentaeritritol de resina colofonia • Hexano • Etanol • Colofonía modificada • Fluoruro de sodio • Potenciador del sabor • Espesante • Sabor alimentario • Fosfato tricálcico modificado 	30-75%* 10-15%* 1-15%* 5%* 1-5%* 1-5%* 1-5%* 1-5%* 1-5%* < 5%*
Profluorid® Varnish	<ul style="list-style-type: none"> • Etanol • Fluoruro de sodio 	10-25% 2,5-5%

* Según la casa comercial la identidad química específica y/o el porcentaje exacto (concentración) de esta composición se ha retenido como secreto comercial.

G. ANÁLISIS DEL TIPO DE FRACTURA

Para el análisis del tipo de fractura que se produjo tras el test de cizalla se usó un estereomicroscopio SMZ-U ZOOM 1:10 (Nikon, Japón).

H. ANÁLISIS DE LA SUPERFICIE DEL ESMALTE

- Para el análisis de imagen de la superficie utilizamos un microscopio electrónico de barrido (MEB) JSM-6100 JEOL. Y, para la adquisición de imágenes, el programa de captación de imágenes digitales INCA Suite Versión 4.09 (Oxford Instruments plc, Tubney Woods, Abingdon, Oxon OX13 5QX, UK).
- Vaporizador de oro (BIO-RAD POLARON).
- Cámara de vacío (BIO-RAD POLARON).
- Platinas de aluminio.

4.2 MÉTODOS

A. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Tras la extracción, los dientes se limpiaron de restos orgánicos, se lavaron y se introdujeron en una solución de timol al 0,1% durante 24 horas. Posteriormente, se almacenaron en agua destilada que se cambiaba diariamente con el fin de minimizar el deterioro hasta el momento de su uso. Los dientes se utilizaron dentro de un período no superior a 6 meses tras su extracción siguiendo las normas ISO (**Internacional Organization for Standardization, TS 11405:2015**).

Antes de la asignación aleatoria a los grupos experimentales, las superficies vestibulares de todos los dientes se limpiaron con una copa de goma (Rubber polishing caps, Produits Dentaires SA, Vevey, Suiza) montada en un contraángulo (KaVo, INTRACompact 2068CHC, Biberach, Alemania) bajo refrigeración acuosa.

B. GRUPOS EXPERIMENTALES PARA CADA TIPO DE BARNIZ

Se usaron un total de 924 incisivos, 308 por cada barniz. Los dientes se dividieron aleatoriamente en 3 x 14 grupos (tabla 5), siendo el “n” de cada grupo de 22: 20 dientes estuvieron destinados al test de resistencia a las fuerzas de cizalla y 2 a la observación al MEB.

Tabla 5. Grupos experimentales
1. Esmalte sin desmineralizar sin barniz
2. Esmalte sin desmineralizar con barniz 24 horas
3. Esmalte sin desmineralizar con barniz 24 horas y superficie pulida.
4. Esmalte sin desmineralizar con barniz 7 días
5. Esmalte sin desmineralizar con barniz 7 días y superficie pulida
6. Esmalte sin desmineralizar con barniz 21 días
7. Esmalte sin desmineralizar con barniz 21 días y superficie pulida
8. Esmalte desmineralizado sin barniz
9. Esmalte desmineralizado con barniz 24 horas
10. Esmalte desmineralizado con barniz 24 horas y superficie pulida
11. Esmalte desmineralizado con barniz 7 días
12. Esmalte desmineralizado con barniz 7 días y superficie pulida
13. Esmalte desmineralizado con barniz 21 días
14. Esmalte desmineralizado con barniz 21 días y superficie pulida

C. PROCESO DE DESMINERALIZACIÓN/REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE

En los 7 grupos con el esmalte desmineralizado, la desmineralización se llevó a cabo introduciendo los dientes durante 48 horas en la solución desmineralizante anteriormente descrita.

Tanto en los grupos con el esmalte sin desmineralizar como en los de esmalte desmineralizado, la remineralización se realizó mediante los barnices Bifluorid 12[®], Clinpro[™]

White Varnish y Profluorid® Varnish, que se aplicaron siguiendo las instrucciones del fabricante de cada uno de ellos.

Los barnices se aplicaron los días 0, 7, 14 y 21 de la experimentación (ver figura 1). El procedimiento de adhesión se realizó los días 1, 8 y 22. El test de cizalla se realizó los días 2, 9 y 23 de la experimentación. De este modo todas las muestras que llevaron barniz fueron barnizadas el día anterior a la realización del procedimiento de adhesión. Los grupos “barniz 21 días” también fueron barnizados el día 14 de la experimentación.

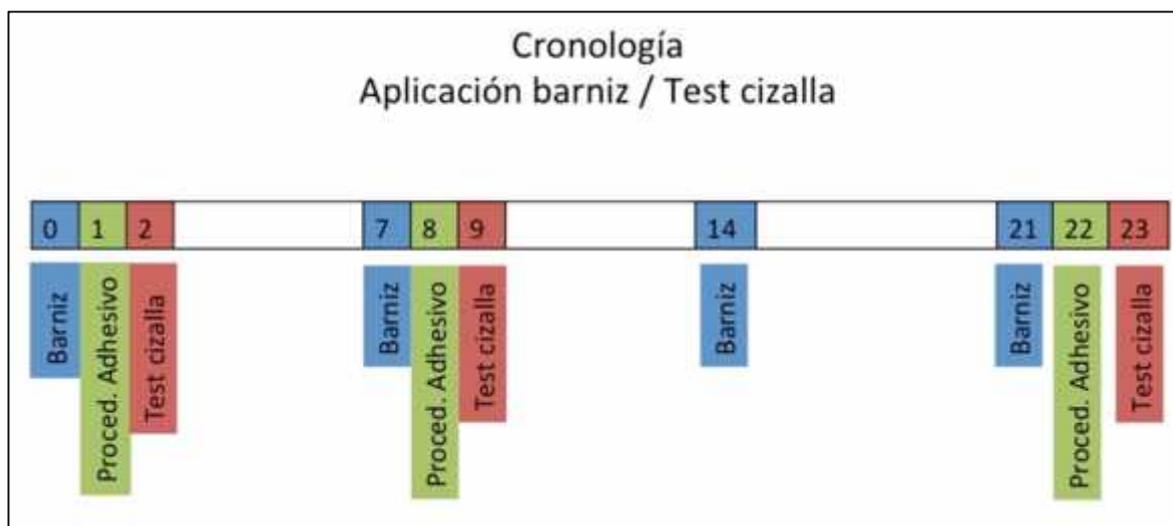


Figura 1. Cronología del procedimiento

D. PROCEDIMIENTO ADHESIVO

Antes de empezar con el procedimiento adhesivo se separaron 2 muestras de cada grupo para observarlas al MEB.

Se secaron las superficies vestibulares de todos los dientes con aire comprimido seco. En los grupos en los que el barniz fue eliminado, éste se pulió con cepillo de nylon (Dentaflux, Madrid, España) 10 segundos. Los grupos de pulido se introdujeron en un baño de ultrasonidos durante 60 minutos para eliminar los restos que quedaran sobre la superficie del esmalte. Se grabó la zona donde se iba a realizar la adhesión durante 20 segundos con ácido ortofosfórico al 37%. Se lavaron con abundante agua en espray durante 20 segundos y se secaron hasta alcanzar la superficie un color blanco mate. Se colocó el adhesivo Futurabond® M+ con un aplicador desechable frotando la superficie durante 20 segundos. Se eliminó el

disolvente con aire seco sin aceite durante 5 segundos. Se polimerizó durante 10 segundos con la lámpara LED SmartLite. A continuación se colocó composite grandio[®]SO, color A3, en dos capas de dos milímetros usando un cilindro de polietileno de 3 mm de diámetro interno (área 7,06 mm²) y 4 milímetros de altura. Cada capa se polimerizó durante 20 segundos con la lámpara LED SmartLite a 1250 W/cm². Seguidamente las muestras se almacenaron a 37°C en agua destilada durante 24 horas (Internacional Organization for Standarization, TS 11405:2015).

E. TEST DE ADHESIÓN

Pasadas 24 horas, los incisivos se montaron en cilindros de 3 cm de diámetro interno y 4 cm de altura sumergiendo sus raíces en yeso tipo IV. El test de resistencia a las fuerzas de cizalla se realizó en una máquina universal de ensayos AGS-1 KND (Schimadzu, Japón) ejerciendo una fuerza en sentido inciso-cervical y de forma perpendicular a la interfase composite-superficie dentaria con un vástago de acero con una terminación en bisel de 30°. La célula de carga fue de 1KN y la velocidad de la cabeza de la máquina de 1 mm/min (Internacional Organization for Standarization, TS 11405:2015). La fuerza que se necesitó para producir el descementado del material se registró en Newtons (N) y, posteriormente, se transformó en Megapascales (MPa) al dividirla por el área de adhesión (7,06 mm²) de acuerdo con la fórmula: $MPa=N/mm^2$.

F. MODOS DE FRACTURA

Con el propósito de establecer el modo de fractura por el que se produjo el descementado las superficies de la fractura se examinaron con un estereomicroscopio.

El modo de fractura se clasificó en una de estas cuatro categorías (**Burke y cols., 2002**).

1. Fractura cohesiva de esmalte: >50% de fractura dentro del esmalte (Figura 2).
2. Fractura cohesiva de composite: >50% de fractura dentro del composite (Figura 3).
3. Fractura adhesiva: >50% de fractura en la interfase adhesiva (Figura 4).
4. Fractura mixta: 50% de fractura en esmalte e interfase adhesiva, 50% de fractura en composite e interfase adhesiva o 50% de fractura en esmalte y composite (Figura 5).

Para una mejor caracterización de los modos de fractura observamos al MEB una muestra de cada tipo de fractura.

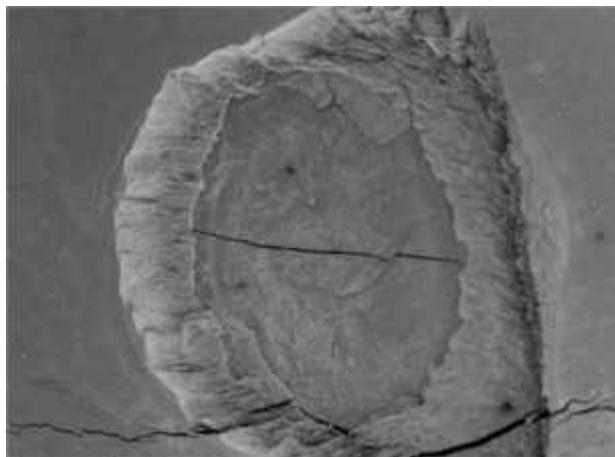


Figura 2. Fractura cohesiva del esmalte al MEB

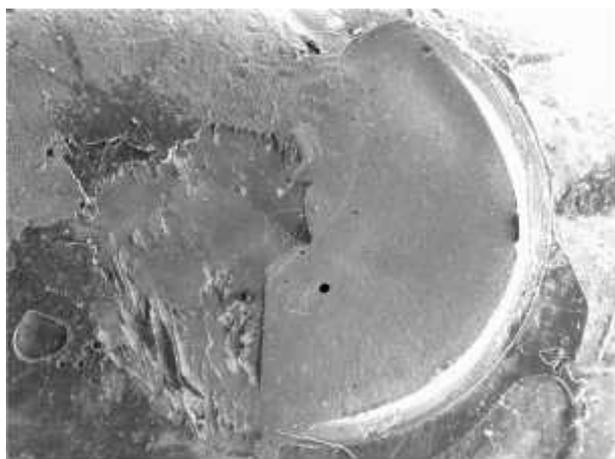


Figura 3. Fractura cohesiva de composite al MEB

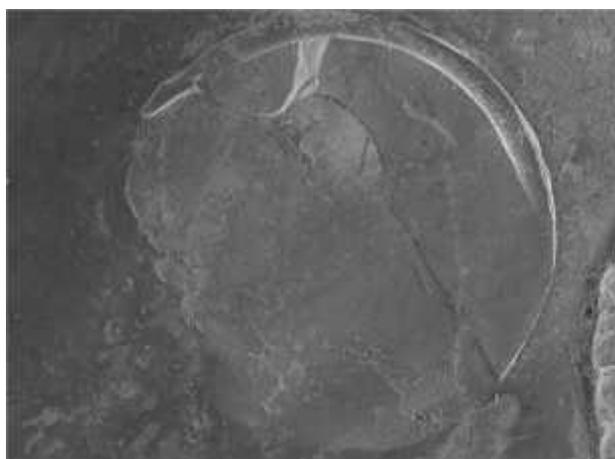


Figura 4. Fractura adhesiva al MEB

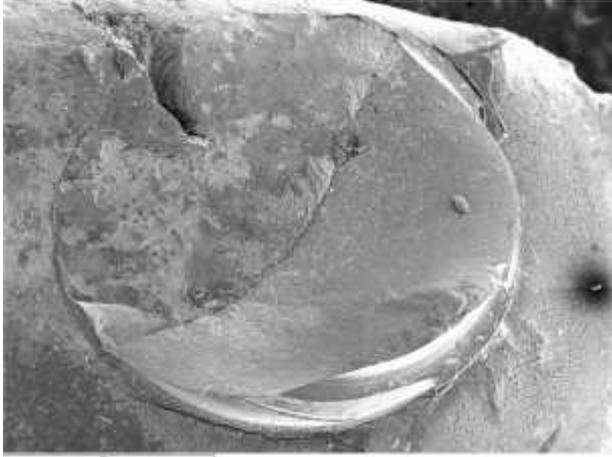


Figura 5. Fractura mixta al MEB

G. OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

Se observaron al MEB las superficies del esmalte de 84 dientes, 2 por grupo. Para ello las raíces de los incisivos se eliminaron usando un disco de diamante (Komet Dental, Gebr. Brasseler GmbH & Co. KG, Lemgo, Germany) montado en una pieza de mano y con abundante refrigeración acuosa. Las coronas se limpiaron con agua destilada en spray y se secaron. Se dejaron a temperatura ambiente para su deshidratación. Posteriormente se colocaron ordenadamente en platinas y las superficies a observar se bañaron con una delgada capa de oro (BIO-RAD POLARON) y se introdujeron en una campana de vacío a un voltaje de 2,5 kilovoltios (Kv) y una intensidad de 20 miliamperios (mA). El tiempo de recubrimiento a que se sometió cada platina fue de 4 minutos.

Posteriormente se introdujeron en el MEB (JSM-6100 JEOL) y se procedió a su observación a 20 kV. Para la adquisición de imágenes utilizamos el programa de captación de imágenes digitales INCA microanalysis suite. Se seleccionaron las imágenes más representativas para su posterior estudio.

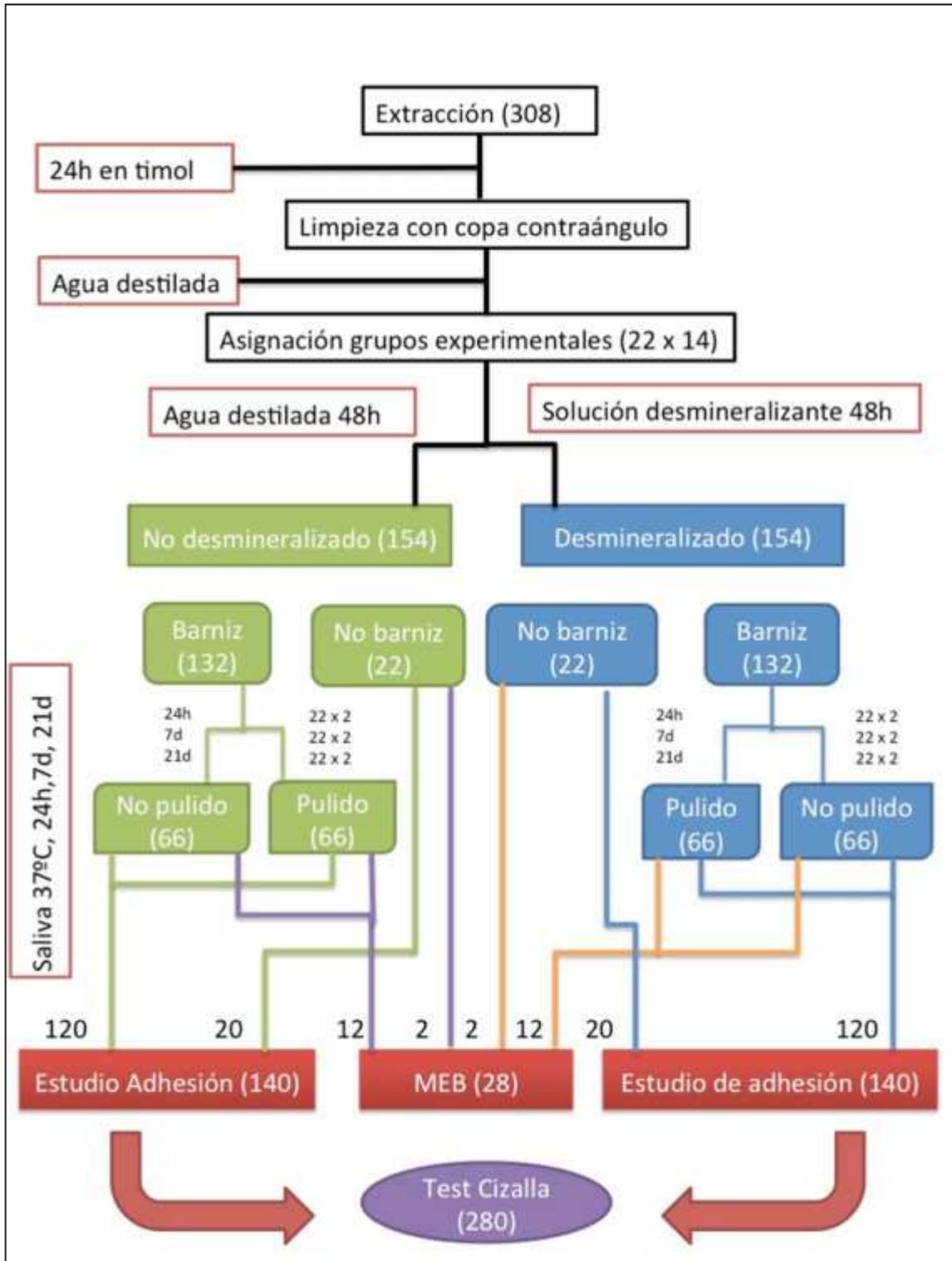


Figura 6. Procedimiento del estudio in vitro

5. RESULTADOS

5.1 BIFLUORID 12[®]

El grupo de dientes con esmalte sin desmineralizar y sin tratamiento con barniz mostró una resistencia a las fuerzas de cizalla de 46,56 MPa. El grupo de esmalte desmineralizado y sin tratamiento con barniz mostró una resistencia a las fuerzas de cizalla de 37,94 MPa, existiendo entre ellos una diferencia estadísticamente significativa $p=0,006$. Estos son los valores basales de los que partimos antes de colocar los barnices y ver la influencia de los mismos sobre la fuerza de adhesión del adhesivo Futurabond[®] M+ (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania) para adherir el composite Grandio[®] SO A3 (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania).

Efecto del tiempo en el esmalte sin desmineralizar (Tabla 6; figura 7)

A las 24 horas de haber barnizado los dientes se produce un descenso significativo de la fuerza de adhesión ($46,56 \pm 2,39$ MPa vs $35,06 \pm 2,05$ MPa; $p<0,001$). La fuerza de adhesión vuelve a los valores basales a los 7 días -segunda aplicación del barniz- ($44,66 \pm 2,08$ MPa; $p=0,005$) y a los 21 días -cuarta aplicación del barniz- ($43,53 \pm 1,16$ MPa; $p=0,016$).

Tabla 6. Efecto del tiempo en el esmalte sin desmineralizar

Grupo	Media \pm EE	S
BF12 SIN BAR	$46,56 \pm 2,39$	
BF12 + 24h	$35,06 \pm 2,05$	a
BF12 + 7d	$44,66 \pm 2,08$	b
BF12 + 21d	$43,53 \pm 1,16$	b

S: significación estadística. a: $p<0,05$ vs basal; b: $p<0,05$ vs 24 horas; c: $p<0,05$ vs 7 días

Efecto del pulido de la superficie del esmalte sin desmineralizar (Tabla 7; figura 7)

El pulido de la superficie del esmalte, con la eliminación de la capa de barniz, produce un efecto significativo sobre la fuerza de adhesión solo a las 24 horas de su aplicación, consiguiendo una recuperación de los valores de adhesión. Así, los $35,06 \pm 2,05$ MPa, que se obtuvieron con la capa de barniz sobre el esmalte, pasaron a $42,83 \pm 1,75$ MPa cuando esta se

eliminó ($p=0,007$). Sin embargo en los tiempos 7 días y 21 días no se observaron cambios en las fuerzas de adhesión con el pulido de la superficie ($44,66 \pm 2,08$ MPa vs $44,81 \pm 1,56$ MPa; $p=0,952$) ($43,53 \pm 1,16$ MPa vs $43,03 \pm 1,25$ MPa; $p=0,773$).

Tabla 7. Efecto del pulido de la superficie del esmalte sin desmineralizar

Grupo	n	Media \pm EE	Grupo	n	Media \pm EE	p
BF12 + 24h	20	$35,06 \pm 2,05$	BF12 + 24h + PUL	20	$42,83 \pm 1,79$	$p=0,007$
BF12 + 7d	20	$44,66 \pm 2,08$	BF12 + 7d + PUL	20	$44,81 \pm 1,56$	$p=0,952$
BF12 + 21d	20	$43,53 \pm 1,16$	BF12 + 21d+ PUL	20	$43,03 \pm 1,25$	$p=0,773$

Efecto del tiempo en el esmalte desmineralizado (Tabla 8; figura 7)

A las 24 horas de haber barnizado los dientes se produce una disminución de la fuerza de adhesión respecto del valor basal que no es significativa ($37,94 \pm 1,63$ MPa vs $35,71 \pm 2,00$ MPa; $p=0,397$). La fuerza de adhesión vuelve a los valores basales a los 7 días -segunda aplicación del barniz- ($38,03 \pm 2,30$ MPa). A los 21 días -cuarta aplicación del barniz- alcanza una diferencia significativa respecto de las 24 horas ($p=0,009$) y supera el valor basal ($42,62 \pm 1,14$ MPa; $p=0,022$).

Tabla 8. Efecto del tiempo en el esmalte desmineralizado

Grupo	Media \pm EE	S
BF12 DESM SIN BAR	$37,94 \pm 1,63$	
BF12 DESM + 24h	$35,71 \pm 2,00$	
BF12 DESM + 7d	$38,03 \pm 2,30$	
BF12 DESM + 21d	$42,62 \pm 1,14$	a, b

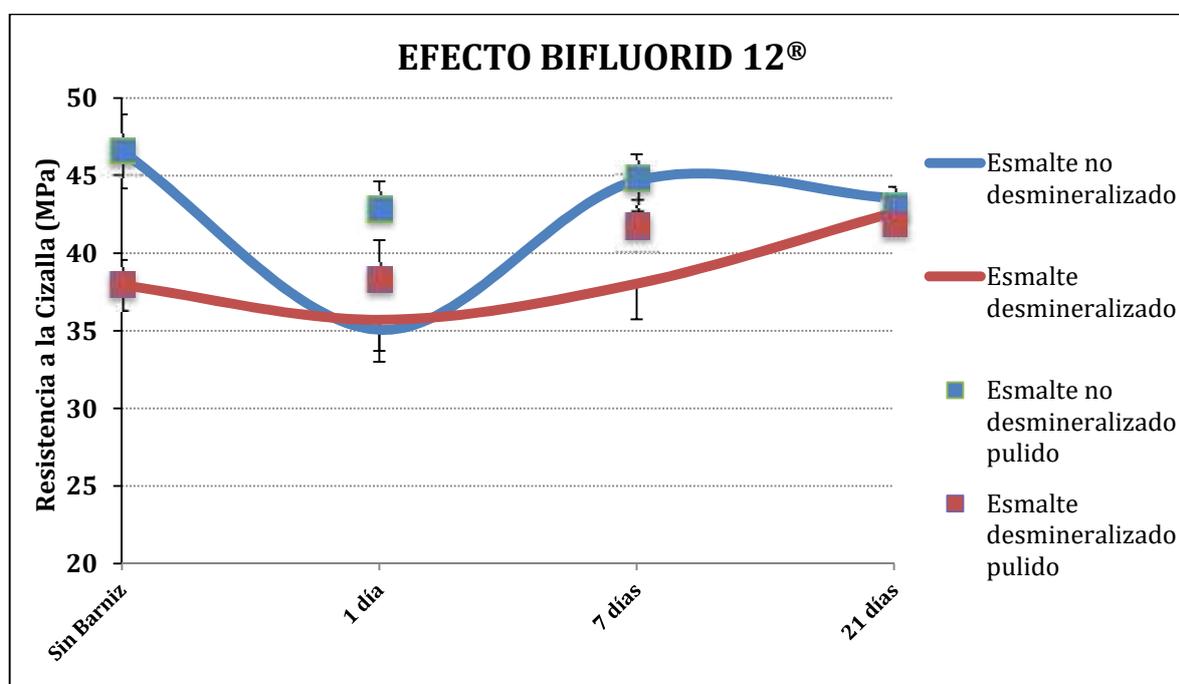
S: significación estadística. a: $p<0,05$ vs basal; b: $p<0,05$ vs 24 horas; c: $p<0,05$ vs 7 días

Efecto del pulido de la superficie del esmalte desmineralizado (Tabla 9; figura 7)

El pulido de la superficie del esmalte, con la eliminación de la capa de barniz, produce un incremento no significativo sobre la fuerza de adhesión a las 24 horas ($35,71 \pm 2,00$ MPa vs $38,27 \pm 2,56$ MPa; $p=0,438$), y a los 7 días ($38,03 \pm 2,30$ MPa vs $41,71 \pm 1,74$ MPa; $p=0,211$) de su aplicación. A los 21 días de la aplicación los valores son similares en el grupo de no pulido y el pulido ($42,62 \pm 1,14$ MPa vs $41,88 \pm 1,01$ MPa; $p=0,633$).

Tabla 9. Efecto del pulido de la superficie del esmalte desmineralizado

Grupo	n	Media \pm EE	Grupo	n	Media \pm EE	p
BF12 DESM + 24h	20	$35,71 \pm 2,00$	BF12 + 24h + PUL	20	$38,27 \pm 2,56$	$p=0,438$
BF12 DESM + 7d	20	$38,03 \pm 2,30$	BF12 + 7d + PUL	20	$41,71 \pm 1,74$	$p=0,211$
BF12 DESM + 21d	20	$42,62 \pm 1,14$	BF12 + 21d + PUL	20	$41,88 \pm 1,01$	$p=0,633$

**Figura 7.** Resistencia a las fuerzas de cizalla BF12

5.2 CLINPRO™ WHITE VARNISH

El grupo de dientes con esmalte sin desmineralizar y sin tratamiento con barniz mostró una resistencia a las fuerzas de cizalla de $40,35 \pm 1,53$ MPa. El grupo de esmalte desmineralizado y sin tratamiento con barniz mostró una resistencia a las fuerzas de cizalla de $34,75 \pm 1,13$ MPa, existiendo entre ellos una diferencia estadísticamente significativa $p=0,006$. Estos son los valores basales de los que partimos antes de colocar los barnices y ver la influencia de los mismos sobre la fuerza de adhesión del adhesivo Futurabond® M+ (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania) para adherir el composite Grandio® SO A3 (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania).

Efecto del tiempo en el esmalte sin desmineralizar (Tabla 10; figura 8)

A las 24 horas de haber barnizado los dientes se produce un descenso significativo de la fuerza de adhesión ($40,35 \pm 1,53$ MPa vs $31,10 \pm 2,39$ MPa; $p=0,002$). La fuerza de adhesión vuelve prácticamente a los valores basales a los 7 días -segunda aplicación del barniz- ($38,07 \pm 2,25$ MPa; $p=0,019$). A los 21 días -cuarta aplicación del barniz- los valores de resistencia a las fuerzas de cizalla vuelven a descender bruscamente ($24,12 \pm 1,93$ MPa) existiendo diferencias significativas con los datos basales ($p<0,001$), a las 24 horas ($p=0,019$) y a los 7 días ($p<0,001$).

Tabla 10. Efecto del tiempo en el esmalte sin desmineralizar

Grupo	Media \pm EE	S
CWV SIN BAR	$40,35 \pm 1,53$	
CWV + 24h	$31,10 \pm 2,39$	a
CWV + 7d	$38,07 \pm 2,25$	b
CWV + 21d	$24,12 \pm 1,93$	a, b, c

S: significación estadística. a: $p<0,05$ vs basal; b: $p<0,05$ vs 24 horas; c: $p<0,05$ vs 7 días

Efecto del pulido de la superficie del esmalte sin desmineralizar (Tabla 11; figura 8)

El pulido de la superficie del esmalte, con la eliminación de la capa de barniz, produce un efecto significativo sobre la fuerza de adhesión a las 24 horas y a los 21 días de su aplicación, consiguiendo una recuperación de los valores de adhesión. Así, los $31,10 \pm 2,39$ MPa, que se obtuvieron con la capa de barniz sobre el esmalte a las 24 horas, pasaron a $39,717 \pm 1,77$ MPa cuando esta se eliminó ($p=0,006$) y de los $24,12 \pm 1,93$ MPa, que se obtuvieron con la capa de barniz sobre el esmalte a las 21 días, pasaron a $32,45 \pm 1,96$ MPa cuando esta se eliminó ($p=0,005$). Únicamente en el tiempo 7 días no se observó cambios en las fuerzas de adhesión con el pulido de la superficie ($40,01 \pm 2,156$ vs $38,07 \pm 2,25$; $p=0,482$).

Tabla 11. Efecto del pulido de la superficie del esmalte sin desmineralizar

Grupo	n	Media \pm EE	Grupo	n	Media \pm EE	p
CWV + 24h	20	$31,10 \pm 2,39$	CWV + 24h + PUL	20	$39,71 \pm 1,77$	$p=0,006$
CWV + 7d	20	$38,07 \pm 2,25$	CWV + 7d + PUL	20	$40,01 \pm 2,15$	$p=0,482$
CWV + 21d	20	$24,12 \pm 1,93$	CWV + 21d + PUL	20	$32,45 \pm 1,96$	$p=0,005$

Efecto del tiempo en el esmalte desmineralizado (Tabla 12; figura 8)

A las 24 horas de haber barnizado los dientes se produce una disminución significativa de la fuerza de adhesión respecto del valor basal ($34,75 \pm 1,13$ MPa vs $25,12 \pm 2,31$ MPa; $p<0,05$). La fuerza de adhesión vuelve a los valores basales a los 7 días -segunda aplicación del barniz- ($35,50 \pm 2,74$ MPa, $p<0,05$). A los 21 días -cuarta aplicación del barniz- vuelve a descender bruscamente a niveles de 24 horas ($23,73 \pm 1,86$) alcanzando diferencias significativas respecto de 7 días ($p<0,05$) y del valor basal ($p<0,05$).

Tabla 12. Efecto del tiempo en el esmalte desmineralizado

Grupo	Media \pm EE	S
CWV DESM SIN BAR	34,75 \pm 1,13	
CWV DESM + 24h	25,12 \pm 2,31	a
CWV DESM + 7d	35,50 \pm 2,74	b
CWV DESM + 21d	23,73 \pm 1,86	a, c

S: significación estadística. a: $p < 0.05$ vs basal; b: $p < 0.05$ vs 24 horas; c: $p < 0.05$ vs 7 días

Efecto del pulido de la superficie del esmalte desmineralizado (Tabla 13; figura 8)

El pulido de la superficie del esmalte, con la eliminación de la capa de barniz, produce un incremento significativo sobre la fuerza de adhesión a las 24 horas (25,12 \pm 2,31 MPa vs 38,16 \pm 1,10 MPa; $p < 0,001$), y a los 21 días (23,73 \pm 1,86 MPa vs 32,36 \pm 1,51 MPa; $p < 0,001$) de su aplicación. A los 7 días de la aplicación los valores son similares en el grupo de no pulido y el pulido (35,50 \pm 2,74 MPa vs 39,02 \pm 2,19 MPa; $p = 0,337$).

Tabla 13. Efecto del pulido de la superficie del esmalte desmineralizado

GRUPO	n	Media \pm EE	GRUPO	n	Media \pm	p
CWV DESM + 24h	20	25,12 \pm 2,31	CWV DESM+ 24h + PUL	20	38,16 \pm 1,10	$p < 0,001$
CWV DESM + 7d	20	35,50 \pm 2,74	CWV DESM+ 7d + PUL	20	39,02 \pm 2,19	$p = 0,337$
CWV DESM + 21d	20	23,73 \pm 1,86	CWV DESM+ 21d + PUL	20	32,36 \pm 1,51	$p < 0,001$

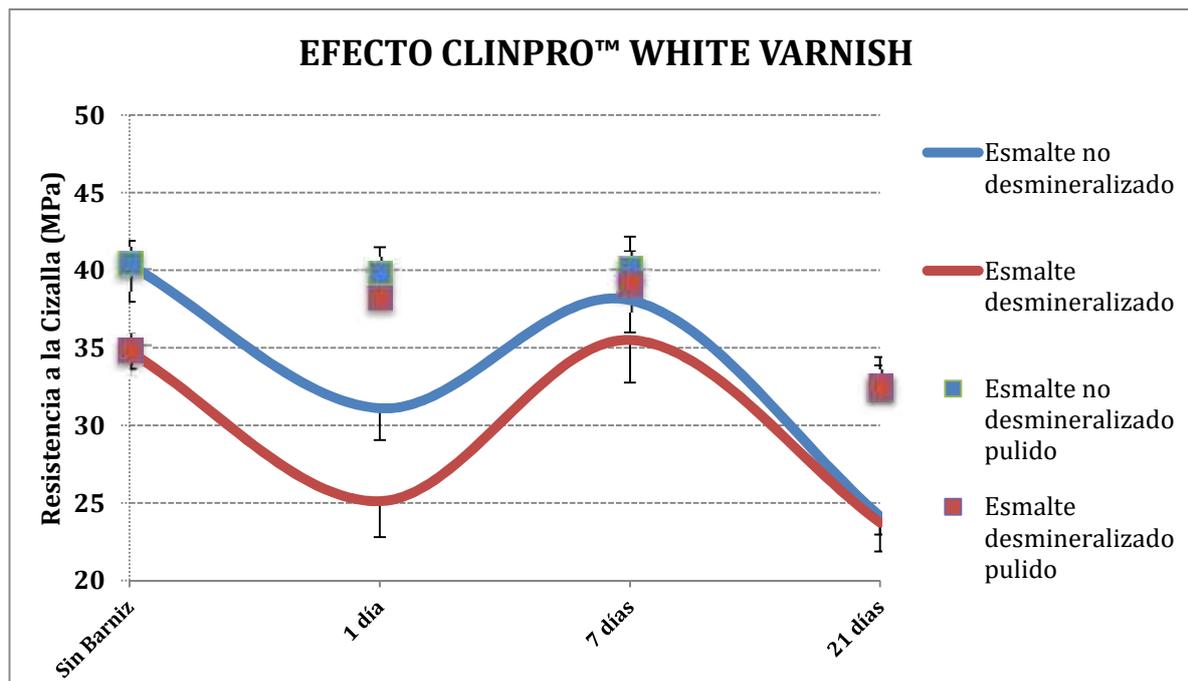


Figura 8. Resistencia a las fuerzas de cizalla CWV

5.3 BARNIZ PROFLUORID® VARNISH

El grupo de dientes con esmalte sin desmineralizar y sin tratamiento con barniz mostró una resistencia a las fuerzas de cizalla de $41,43 \pm 1,28$ MPa. El grupo de esmalte desmineralizado y sin tratamiento con barniz mostró una resistencia a las fuerzas de cizalla de $32,06 \pm 2,17$ MPa, existiendo entre ellos una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,002$). Estos son los valores basales de los que partimos antes de colocar los barnices y ver la influencia de los mismos sobre la fuerza de adhesión del adhesivo Futurabond® M+ (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania) para adherir el composite Grandio® SO A3 (Voco GmbH, Cuxhaven, Alemania).

Efecto del tiempo en el esmalte sin desmineralizar (Tabla 14; figura 9)

A las 24 horas y a los 7 días de haber barnizado los dientes los valores de fuerza de adhesión son similares a los basales ($41,43 \pm 1,28$ MPa vs $41,88 \pm 1,83$ MPa vs $42,42 \pm 1,55$; $p=0,038$). A los 21 días se produce un aumento de los valores de fuerza de adhesión ($46,79 \pm 0,92$ MPa) siendo significativo respecto a valores basales ($p=0,010$), 24 horas ($p=0,018$) y 7 días ($p=0,035$).

Tabla 14. Efecto del tiempo en el esmalte sin desmineralizar

Grupo	Media \pm EE	S
PFV SIN BAR	41,43 \pm 1,28	
PFV + 24h	41,88 \pm 1,83	
PFV + 7d	42,42 \pm 1,55	
PFV + 21d	46,79 \pm 0,92	a, b, c

S: significación estadística. a: $p < 0,05$ vs basal; b: $p < 0,05$ vs 24 horas; c: $p < 0,05$ vs 7 días

Efecto del pulido de la superficie del esmalte sin desmineralizar (Tabla 15; figura 9)

El pulido de la superficie del esmalte, con la eliminación de la capa de barniz, produce un descenso no significativo sobre la fuerza de adhesión a las 24 horas (41,88 \pm 1,83 MPa vs 39,84 \pm 2,05 MPa; $p=0,465$) y a los 7 días (42,42 \pm 1,55 MPa vs 40,46 \pm 1,04 MPa; $p=0,304$). A los 21 días no se produce ningún efecto significativo en las fuerzas de adhesión (46,79 \pm 0,92 MPa vs 46,69 \pm 1,51 MPa; $p=0,556$).

Tabla 15. Efecto del pulido de la superficie del esmalte sin desmineralizar

Grupo	n	Media \pm EE	Grupo	n	Media \pm EE	p
PFV + 24h	20	41,88 \pm 1,83	PFV + 24h + PUL	20	39,84 \pm 2,05	$p=0,465$
PFV + 7d	20	42,42 \pm 1,55	PFV + 7d + PUL	20	40,46 \pm 1,04	$p=0,304$
PFV + 21d	20	46,79 \pm 0,92	PFV + 21d + PUL	20	46,69 \pm 1,51	$p=0,556$

Efecto del tiempo en el esmalte desmineralizado (Tabla 16; figura 9)

Tras barnizar los dientes se produce un aumento significativo de la fuerza de adhesión respecto del valor basal ($32,06 \pm 2,17$ MPa), tanto a las 24 horas ($44,10 \pm 3,31$ MPa; $p=0,002$), como a los 7 días ($45,32 \pm 1,51$ MPa; $p<0,001$) y 21 días ($43,43 \pm 1,58$; $p=0,002$).

Tabla 16. Efecto del tiempo en el esmalte desmineralizado

Grupo	Media \pm EE	S
PFV DESM SIN BAR	$32,06 \pm 2,17$	
PFV DESM + 24h	$44,10 \pm 3,31$	a
PFV DESM + 7d	$45,32 \pm 1,51$	a
PFV DESM + 21d	$43,43 \pm 1,58$	a

S: significación estadística. a: $p<0,05$ vs basal; b: $p<0,05$ vs 24 horas; c: $p<0,05$ vs 7 días

Efecto del pulido de la superficie del esmalte desmineralizado (Tabla 17; figura 9)

El pulido de la superficie del esmalte, con la eliminación de la capa de barniz, produce un descenso no significativo de la fuerza de adhesión a las 24 horas ($44,10 \pm 3,31$ MPa vs $41,60 \pm 2,65$ MPa; $p=0,556$), a los 7 días ($45,32 \pm 1,51$ MPa vs $44,01 \pm 1,48$ MPa; $p=0,541$) y a los 21 días ($43,43 \pm 1,58$ MPa vs $41,20 \pm 1,63$ MPa; $p=0,333$).

Tabla 17. Efecto del pulido de la superficie del esmalte desmineralizado

Grupo	n	Media \pm	Grupo	n	Media \pm	p
PFV DESM + 24h	20	$44,10 \pm 3,31$	PFV DESM + 24h + PUL	20	$41,60 \pm 2,65$	$p=0,556$
PFV DESM + 7d	20	$45,32 \pm 1,51$	PFV DESM + 7d + PUL	20	$44,01 \pm 1,48$	$p=0,541$
PFV DESM + 21d	20	$43,43 \pm 1,58$	PFV DESM + 21d + PUL	20	$41,20 \pm 1,63$	$p=0,333$

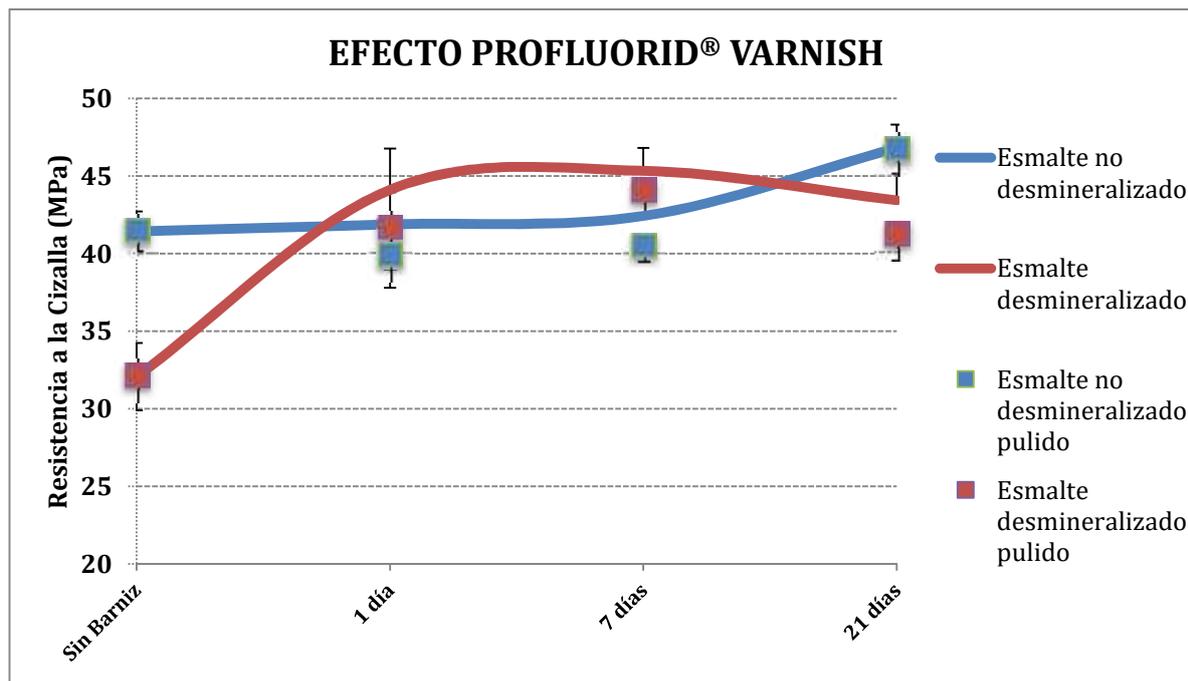


Figura 9. Resistencia a las fuerzas de adhesión PFV

5.4 INTERACCIONES DE LOS FACTORES GRADO DE MINERALIZACIÓN, TIPO DE BARNIZ Y TIEMPO

Grado de mineralización vs tipo de barniz (Figuras 10 y 11)

Existe una interacción estadísticamente significativa ($p=0,006$) entre el grado de mineralización y el tipo de barniz. El factor grado de mineralización determina un comportamiento significativamente diferente de cada uno de los tres barnices sobre la resistencia a las fuerzas de cizalla respecto del otro.

El efecto del barniz Clinpro™ White Varnish es el mismo tanto en esmalte sin desmineralizar como en esmalte desmineralizado ($p=0,104$), sin embargo el efecto de los barnices Bifluorid 12® y Profluorid® Varnish sobre la RFC son significativamente diferentes si el esmalte está sin desmineralizar o desmineralizado. Así, en esmalte desmineralizado Profluorid® Varnish induce un importante incremento de la RFC por encima del valor basal, mientras que en esmalte sin desmineralizar el incremento es muy ligero ($p<0,0001$). Bifluorid 12® produce una disminución de la RFC en el esmalte sin desmineralizar y un aumento en la RFC en el esmalte desmineralizado ($p<0,0001$).

Grado de mineralización vs tiempo (Figuras 10 y 11)

No existe interacción entre el factor grado de mineralización y el tiempo de aplicación de los barnices ($p=0,897$). Es decir, el efecto de los dos niveles de mineralización sobre la RFC no depende del factor tiempo, o lo que es lo mismo existe un mismo comportamiento. Así, tanto en el esmalte sin desmineralizar como en el desmineralizado, existen diferencias significativas entre las 24 horas y los siete días (sin desmineralizar $p<0,0001$; desmineralizado $p=0,004$), y no las hay ni entre las 24 horas y los 21 días, ni entre los 7 días y 21 días. Si observamos el comportamiento de la RFC en los diferentes tiempos atendiendo al grado de mineralización podemos decir que existen diferencias estadísticamente significativas entre el esmalte sin desmineralizar y el esmalte desmineralizado tanto a las 24 horas ($p<0,0001$), a los 7 días ($p<0,0001$) y a los 21 días ($p<0,0001$).

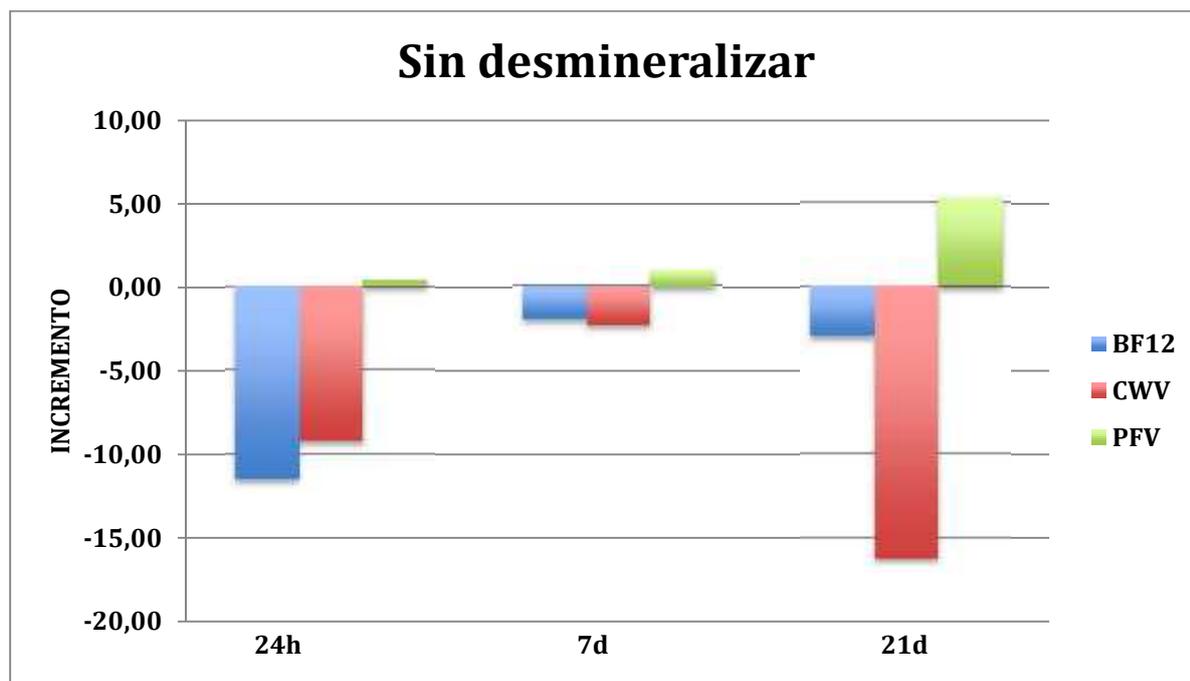


Figura 10. Interacciones de los factores grado de mineralización (esmalte sin desmineralizar), tipo de barniz y tiempo

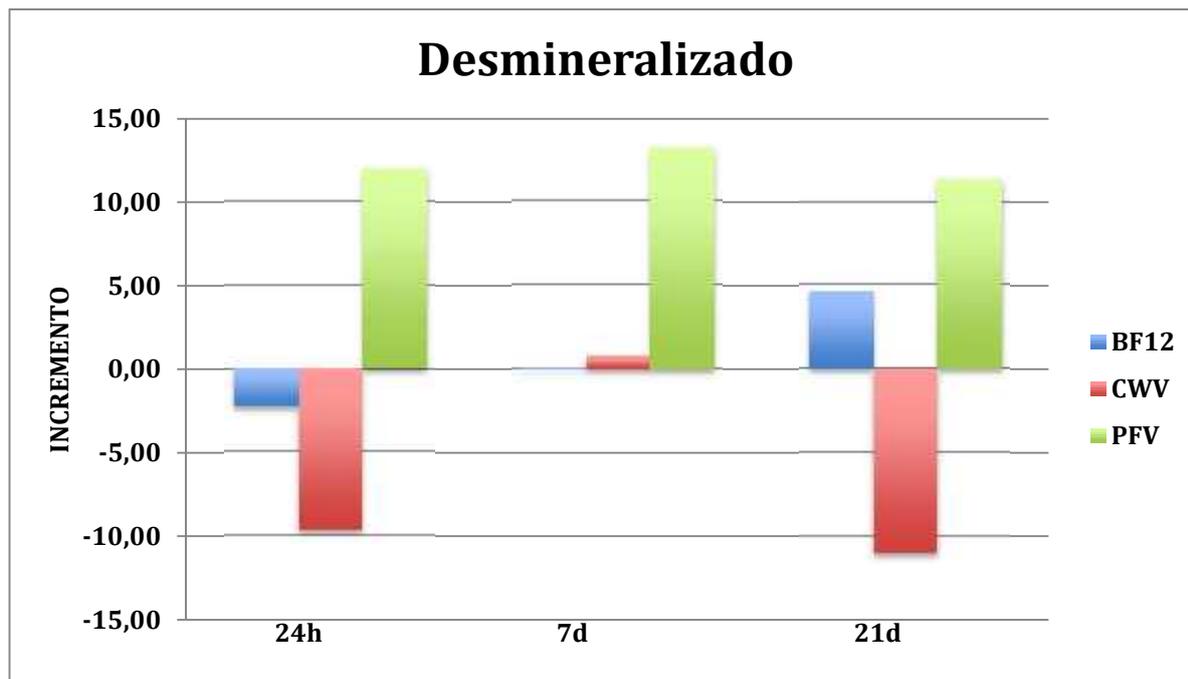


Figura 11. Interacciones de los factores grado de mineralización (esmalte desmineralizado), tipo de barniz y tiempo

Tipo de barniz vs tiempo (Figura 12)

Existe una interacción estadísticamente significativa entre el factor tipo de barniz y el factor tiempo ($p < 0,001$).

En los dientes tratados con Bifluorid 12[®] hubo diferencias estadísticamente significativas en los incrementos de RFC entre las 24 horas y los 7 días ($p = 0,003$), y entre las 24 horas y los 21 días ($p < 0,0001$), pero no entre los 7 días y los 21 días ($p = 0,379$).

En los dientes tratados con Clinpro[™] White Varnish hubo diferencias estadísticamente significativas en los incrementos de RFC entre las 24 horas y los 7 días ($p < 0,0001$), entre las 24 horas y los 21 días ($p = 0,033$), y entre los 7 días y los 21 días ($p < 0,0001$).

En los dientes tratados con Profluorid[®] Varnish no hubo diferencias estadísticamente significativas en los incrementos de RFC entre las 24 horas y los 7 días, entre las 24 horas y los 21 días, ni entre los 7 días y los 21 días. Es decir, los incrementos en la RFC respecto del valor basal son los mismos en los tres tiempos 24 horas, 7 días y 21 días.

A las 24 horas de su aplicación, el efecto sobre el incremento de la RFC de Profluorid® Varnish es estadísticamente diferente del efecto del Bifluorid 12® ($p<0,0001$) y Clinpro™ White Varnish ($p<0,0001$). Sin embargo el efecto sobre el incremento de la RFC del Clinpro™ White Varnish y del Bifluorid 12® no son diferentes ($p=0,189$). A los 7 días el comportamiento entre barnices es igual que a las 24 horas. A los 21 días el efecto sobre el incremento de la RFC de los tres barnices es estadísticamente diferente entre ellos ($p<0,0001$).

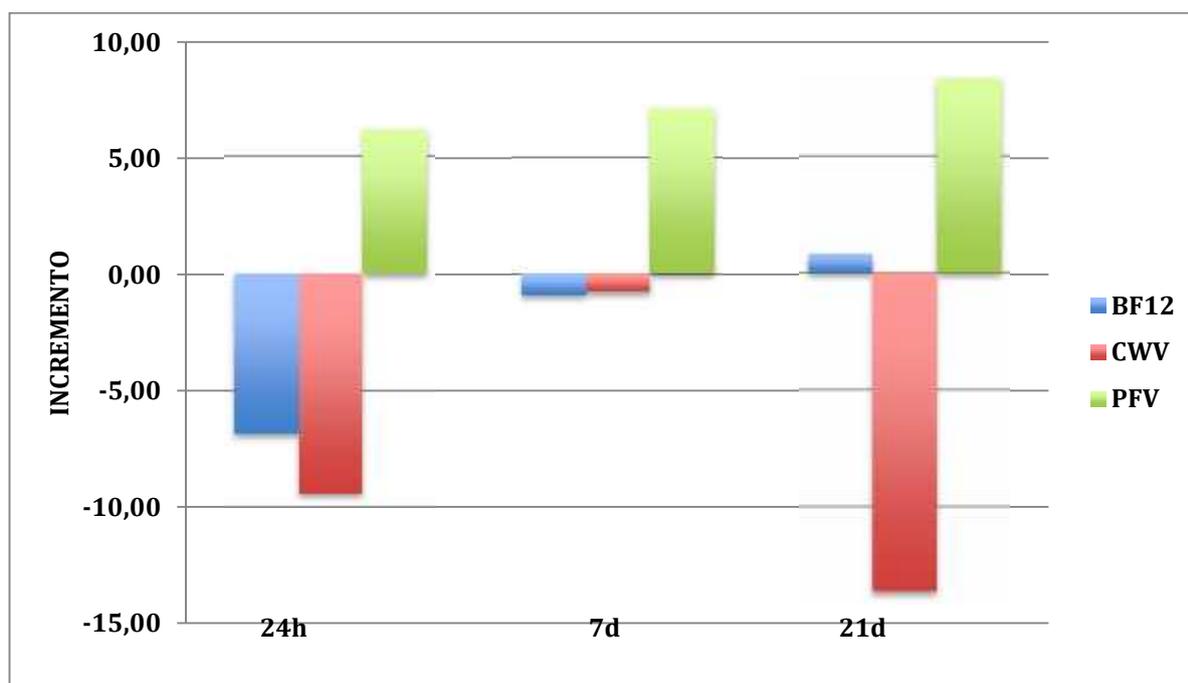


Figura 12. Interacción Tipo de barniz vs Tiempo

5.5 TIPO DE FRACTURA

BIFLUORID 12®

Los distintos tipos de fractura observados en los grupos experimentales tratados con el barniz Bifluorid 12® aparecen recogidos en la tabla 18.

Tabla 18. Porcentaje de tipos de fractura de BF12					
GRUPO		FCE	FCC	FADH	FM
Esmalte sin desmineralizar	Sin barniz	9/20 (45%)	3/20 (15%)	4/20 (20%)	4/20 (20%)
	Barniz 24 h	8/20(40%)	-	8/20 (40%)	4/20 (20%)
	Barniz 24h + PUL	6/20 (30%)	6/20 (30%)	8/20 (40%)	
	Barniz 7d	10/20 (50%)	5/20 (25%)	4/20 (20%)	1/20 (5%)
	Barniz 7d + PUL	10/20 (50%)	3/20 (15%)	4/20 (20%)	3/20 (15%)
	Barniz 21d	3/20 (15%)		14/20 (70%)	3/20 (15%)
	Barniz 21d + PUL	7/20 (35%)		12/20 (60%)	1/20 (5%)
Esmalte desmineralizado	Sin barniz	17/20 (85%)			3/20 (15%)
	Barniz 24h	14/20 (70%)	4/20 (20%)		2/20 (10%)
	Barniz 24h + PUL	16/20 (80%)	1/20 (5%)	2/20 (10%)	1/20 (5%)
	Barniz 7d	12/20 (60%)	1/20 (5%)	5/20 (25%)	2/20 (10%)
	Barniz 7d + PUL	12/20 (60%)	2/20 (10%)	4/20 (20%)	2/20 (10%)
	Barniz 21d	5/20 (25%)		13/20 (65%)	2/20 (10%)
	Barniz 21d + PUL	6/20 (30%)	1/20 (5%)	9/20 (45%)	4/20 (20%)
FCE: Fractura cohesiva de esmalte; FCC: Fractura cohesiva de composite; FADH: Fractura adhesiva; FM: Fractura mixta; PUL: Pulido					

En los grupos con esmalte desmineralizado se producen una mayor cantidad de fracturas cohesivas que en los grupos con esmalte sin desmineralizar. A medida que el esmalte se va remineralizando se reducen las FCE y detectamos mayor cantidad de FADH a los 21 días. Esto mismo ocurre en el esmalte sin desmineralizar, con el paso del tiempo se producen mayor cantidad de FADH.

CLINPRO™ WHITE VARNISH

Los distintos tipos de fractura observados en los grupos experimentales tratados con el barniz Clinpro™ White Varnish aparecen recogidos en la tabla 19.

Tabla 19. Porcentaje de tipos de fractura en CWV					
GRUPO		FCE	FCC	FADH	FM
Esmalte sin desmineralizar	Sin barniz	10/20(50%)	5/20 (25%)	3/20 (15%)	2/20 (10%)
	Barniz 24h	9/20 (45%)		7/20 (35%)	4/20 (20%)
	Barniz 24h + PUL	10/20 (50%)	3/20 (15%)	6/20 (30%)	1/20 (5%)
	Barniz 7d	8/20 (40%)		7/20 (35%)	5/20 (25%)
	Barniz 7d + PUL	5/20 (25%)	1/20 (5%)	11/20 (55%)	3/20 (15%)
	Barniz 21d	1/20 (5%)	2/20 (10%)	15/20 (75%)	2/20 (10%)
	Barniz 21d + PUL	5/20 (25%)		15/20 (75%)	
Esmalte desmineralizado	Sin barniz	13/20 (65%)		5/20 (25%)	2/20 (10%)
	Barniz 24h	5/20 (25%)		13/20 (65%)	2/20 (10%)
	Barniz 24h + PUL	13/20 (65%)		4/20 (20%)	3/20 (15%)
	Barniz 7d	6/20 (30%)		11/20 (55%)	3/20 (15%)
	Barniz 7d + PUL	13/20 (65%)		6/20 (30%)	1/20 (5%)
	Barniz 21d			17/20 (85%)	3/20 (15%)
	Barniz 21d + PUL	2/20 (10%)	2/20 (10%)	12/20 (60%)	4/20 (20%)
FCE: Fractura cohesiva de esmalte; FCC: Fractura cohesiva de composite; FADH: Fractura adhesiva; FM: Fractura mixta; PUL: Pulido					

En esmalte sin desmineralizar observamos una evolución similar a la de los grupos de BF12, ya que hay mayor cantidad de FCE a las 24 horas y van disminuyendo con el paso del tiempo y el efecto remineralizante del barniz, pasando de un 50% de FCE a un (5-25%) a los 21 días. En esmalte desmineralizado ocurre igual que en esmalte sin desmineralizar. Gracias al efecto del barniz se producen más FADH que FCE con el paso de los días.

PROFLUORID® VARNISH

Los distintos tipos de fractura observados en los grupos experimentales tratados con el barniz Profluorid® Varnish aparecen recogidos en la tabla 20.

Tabla 20. Porcentaje de tipos de fractura en PFV					
GRUPO		FCE	FCC	FADH	FM
Esmalte sin desmineralizar	Sin barniz	2/20 (10%)		18/20 (90%)	
	Barniz 24h	4/20 (20%)		15/20 (75%)	1/20 (5%)
	Barniz 24h + PUL	5/20(25%)		12/20 (60%)	3/20(15%)
	Barniz 7d	8/20 (40%)		11/20 (55%)	1/20 (5%)
	Barniz 7d + PUL	5/20 (25%)		14/20 (70%)	1/20 (5%)
	Barniz 21d	3/20 (15%)		13/20 (75%)	4/20 (15%)
	Barniz 21d + PUL	5/20 (25%)		14/20 (70%)	1/20 (5%)
Esmalte desmineralizado	Sin barniz	1/20 (5%)		19/20 (95%)	
	Barniz 24h	8/20 (40%)		12/20 (60%)	
	Barniz 24h + PUL	5/20 (25%)		12/20 (60%)	3/20 (15%)
	Barniz 7d	5/20 (25%)		11/20 (55%)	4/20 (20%)
	Barniz 7d + PUL	8/20 (40%)		8/20 (40%)	4/20 (20%)
	Barniz 21d	4/20 (20%)		13/20 (65%)	3/20 (15%)
	Barniz 21 d + PUL	8/20 (40%)		11/20 (55%)	1/20 (5%)
FCE: Fractura cohesiva de esmalte; FCC: Fractura cohesiva de composite; FADH: Fractura adhesiva; FM: Fractura mixta; PUL: Pulido					

Desde el tiempo 24 horas las FADH son mayores que los FCE Y FM.

Dependencia tipo de fractura / grado de mineralización (Figura 13)

Observamos una dependencia entre las variables tipo de fractura y grado de mineralización. Valor de $X^2=14,858$; $p=0,002$. Los esmaltes sin desmineralizar sufren con mayor frecuencia fracturas de tipo adhesivo y cohesivo del composite, mientras que las fracturas cohesivas del esmalte se asocian a esmalte desmineralizado.

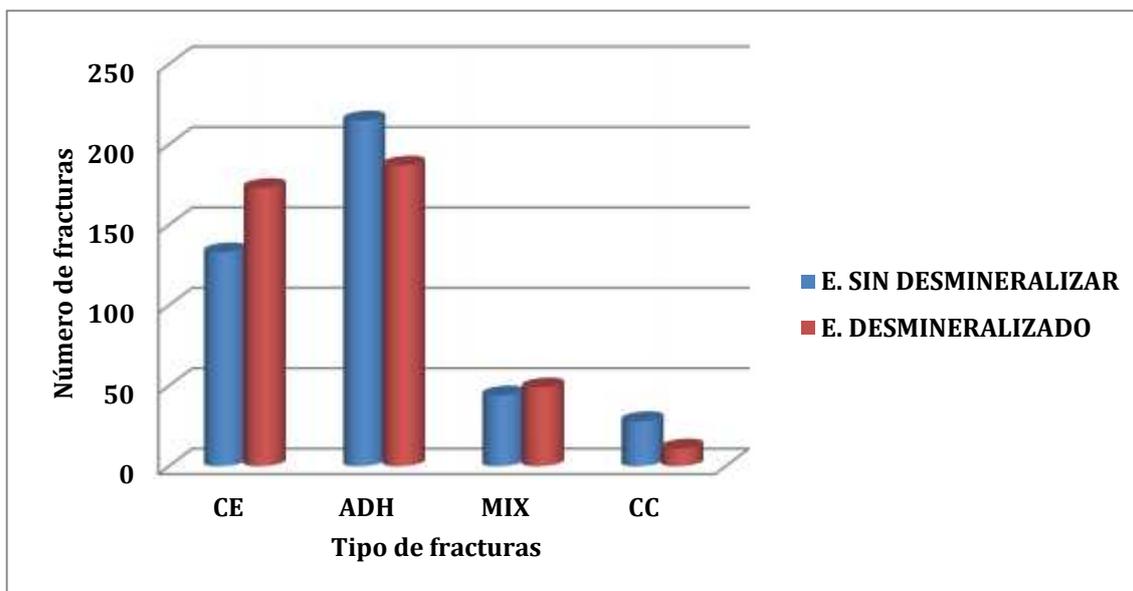


Figura 13. Dependencia tipo de fractura / grado de mineralización

Dependencia tipo de fractura / tipo de barniz (Figura 14)

Existe una dependencia entre el tipo de fractura y el tipo de barniz usado en nuestro estudio. Valor de $X^2=58,641$; $p<0,001$. Se establece una dependencia del esmalte no barnizado y del esmalte barnizado con Bifluorid 12[®] con fracturas cohesivas de esmalte y de composite y del esmalte barnizado con Clinpro[™] White Varnish y Profluorid[®] Varnish con fracturas adhesivas.

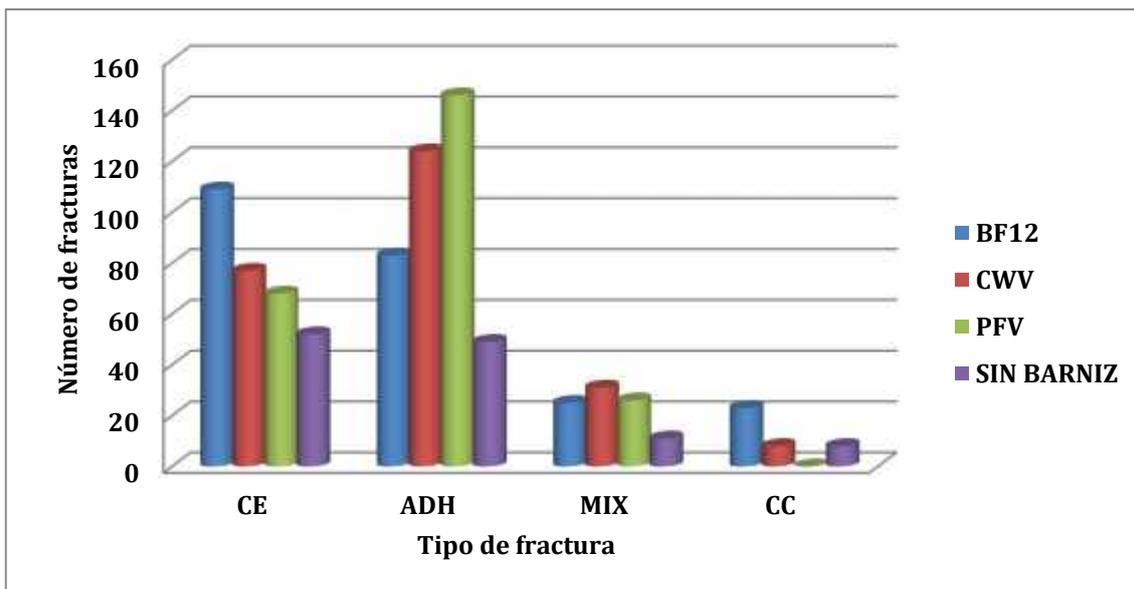


Figura 14. Dependencia tipo de fractura / tipo de barniz

Dependencia tipo de fractura / tiempo (Figura 15)

Existe una dependencia entre el tipo de fractura y el tiempo en que los barnices están sobre el esmalte. Valor de $X^2=52,796$; $p<0,001$. Se establece una dependencia de las fracturas cohesivas de esmalte y de composite con las 24 horas de estar los esmaltes barnizados. De fracturas cohesivas de esmalte y mixtas con los 7 días y de fracturas adhesivas con los 21 días.

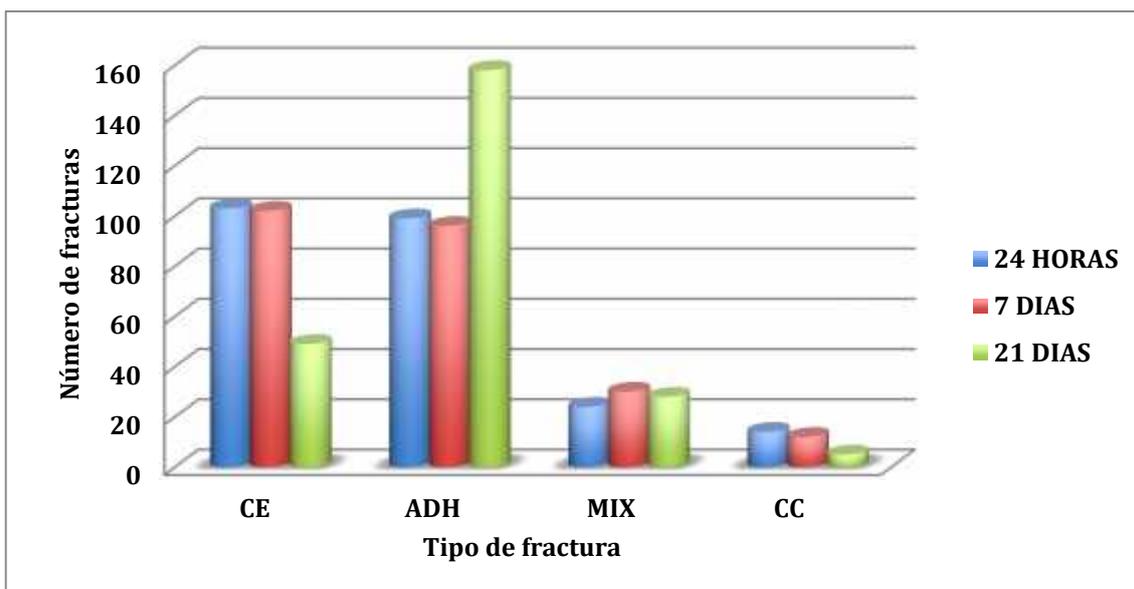


Figura 15. Dependencia tipo de fractura / tiempo

Dependencia tipo de fractura / pulido de la superficie del esmalte (Figura 16)

No existe una dependencia entre el tipo de fractura y el pulido o no pulido de la superficie del esmalte para eliminar el barniz. Valor de $X^2=7,657$; $p=0,054$.

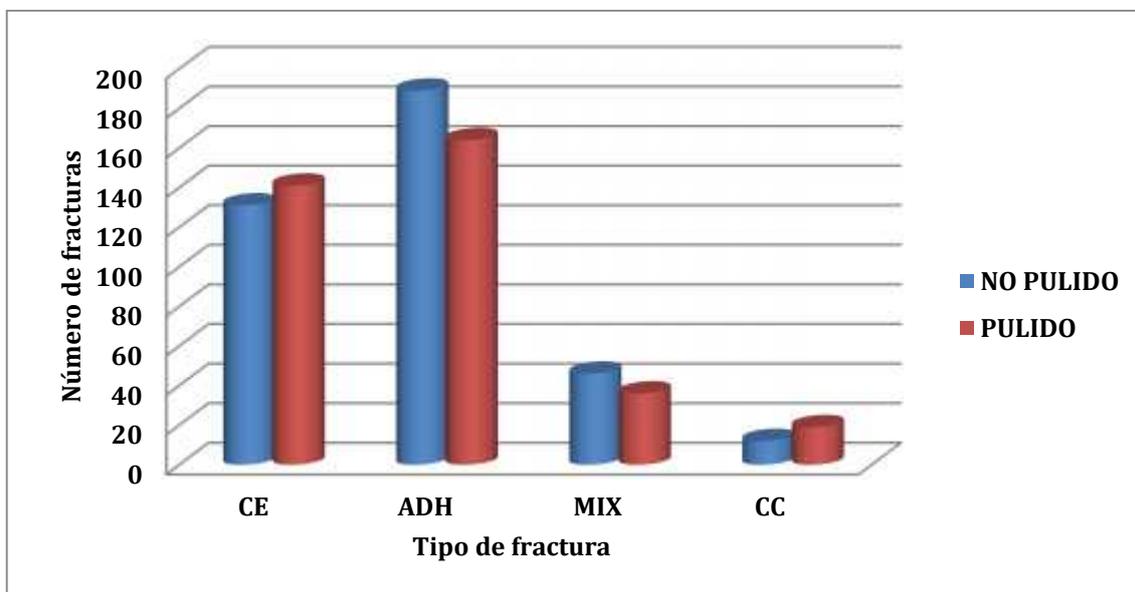


Figura 16. Dependencia tipo de fractura/pulido de la superficie del esmalte

5.6 MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (MEB)

A. GRUPOS CONTROL

La figura 17 muestra la superficie vestibular de un incisivo temporal bovino sin desmineralizar y sin barnizar (esmalte intacto). Se aprecia una superficie lisa y regular con textura uniforme y homogénea, con las características morfológicas típicas del esmalte superficial.

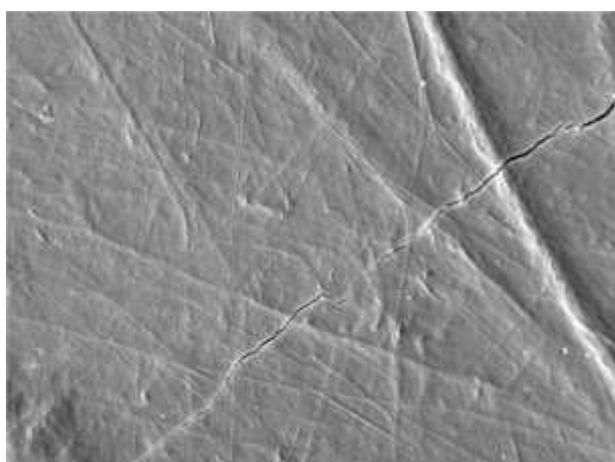


Figura 17. Esmalte sin desmineralizar y sin barniz (X1000)

La figura 18 muestra el efecto que produce la solución desmineralizante en la superficie vestibular del esmalte bovino. Se aprecia una superficie muy porosa con múltiples micropocillos.

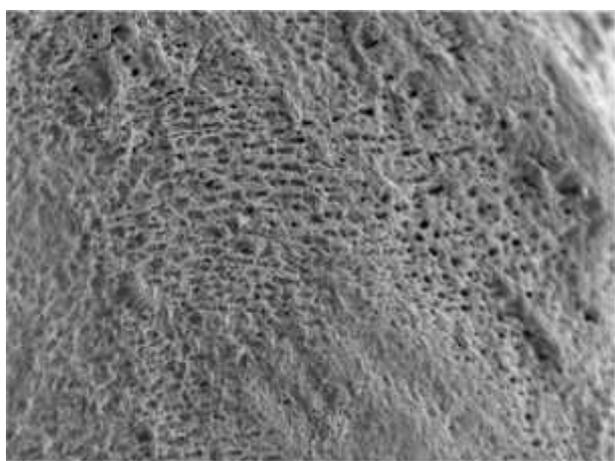


Figura 18. Esmalte desmineralizado y sin barniz (X1000)

B. BIFLUORID 12[®]**Grupos sin desmineralizar y superficie no pulida**

Las imágenes del MEB muestran la superficie vestibular de un esmalte sin desmineralizar tratado con barniz BF12 a las 24 horas (figura 19) donde se puede observar una capa homogénea que cubre la superficie. En ella se aprecian elementos globulares que se corresponden con fluoruro de calcio. A los 7 días (figura 20) podemos observar una capa más densa de barniz sobre el esmalte con contenidos globulares. A los 21 días (figura 21) observamos una capa de mayor grosor que en las anteriores.

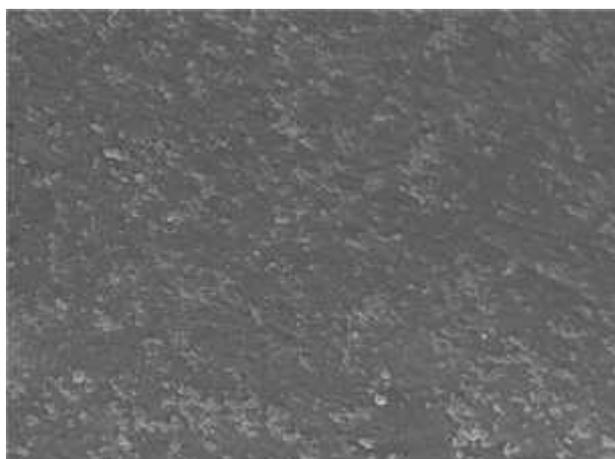


Figura 19. Esmalte sin desmineralizar con BF12 a las 24 horas (X1000) y superficie no pulida

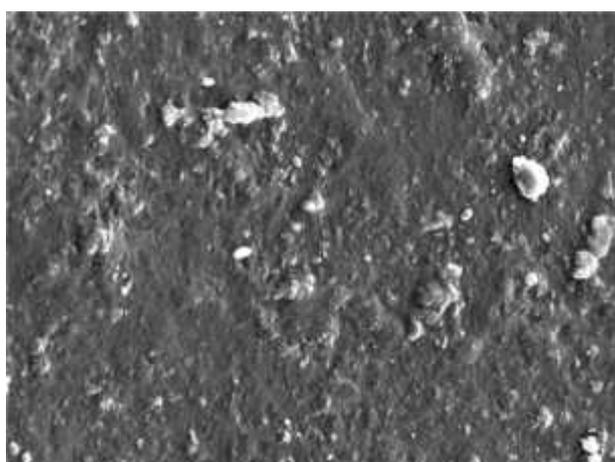


Figura 20. Esmalte sin desmineralizar con BF12 a los 7 días (X1000) y superficie no pulida

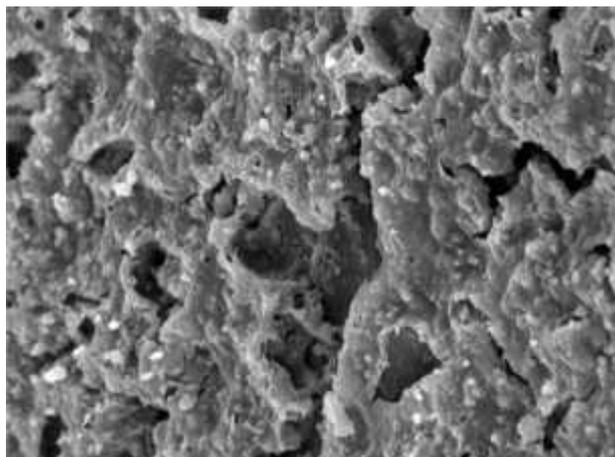


Figura 21. Esmalte sin desmineralizar con BF12 a los 21 días (X1000) y superficie no pulida

Grupos sin desmineralizar y superficie pulida

Las imágenes del MEB (figuras 22, 23 y 24) nos muestran una superficie de esmalte con zonas de barniz irregulares intercaladas con zonas sin barniz. Se aprecian las marcas del pulido. A los 21 días observamos que a pesar del pulido permanece una capa gruesa de barniz sobre la superficie del esmalte.

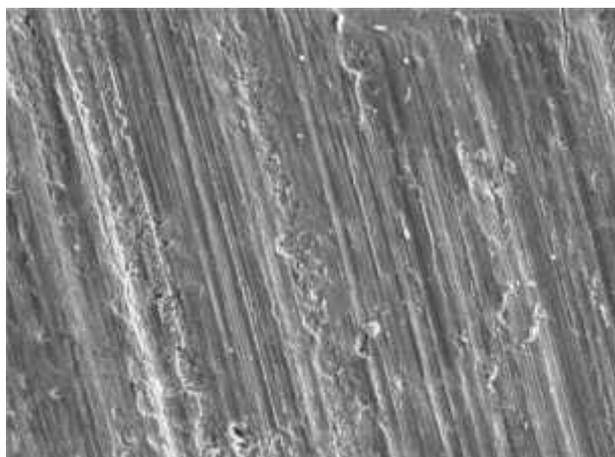


Figura 22. Esmalte sin desmineralizar con BF12 a las 24 horas (X1000) y superficie pulida

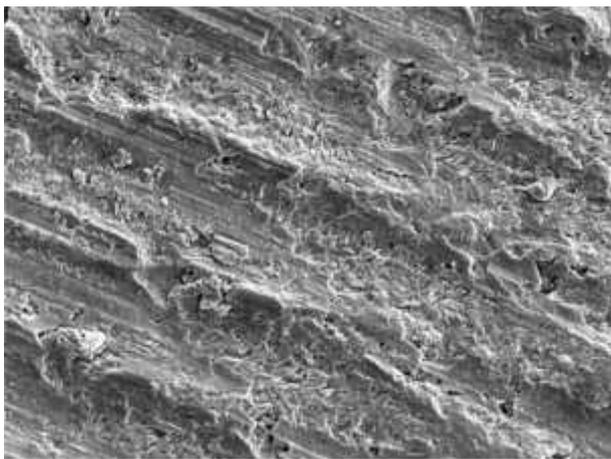


Figura 23. Esmalte sin desmineralizar con BF12 a los 7 días (X1000) y superficie pulida

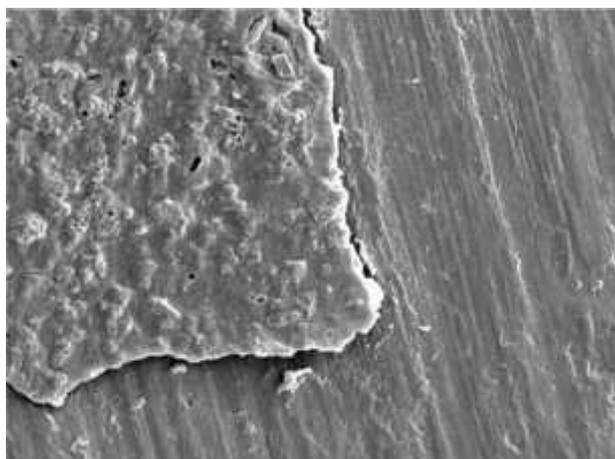


Figura 24. Esmalte sin desmineralizar con BF12 a los 21 días (X1000) y superficie pulida

Grupos desmineralizados y superficie no pulida

Las imágenes del MEB (figuras 25, 26 y 27) muestran la superficie vestibular de un esmalte desmineralizado tratado con barniz BF12 donde se puede observar una capa homogénea cubriendo totalmente la superficie desmineralizada. No se aprecian micropocillos de desmineralización en ninguno de los tiempos de aplicación (24 horas, 7 días y 21 días). A los 21 días (figura 28) observamos una capa de mayor grosor que en las anteriores.

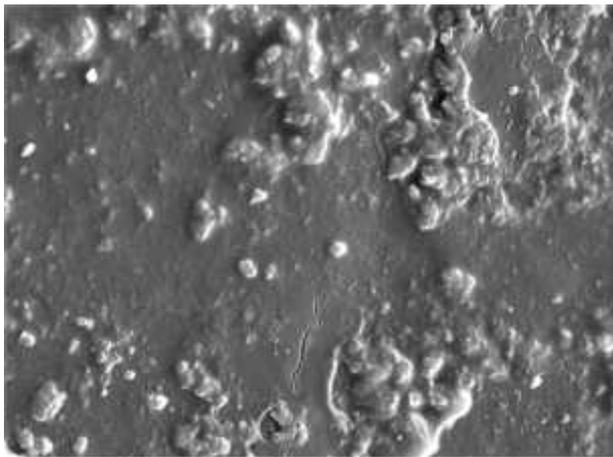


Figura 25. Esmalte desmineralizado con BF12 a las 24 horas (X1000) y superficie no pulida

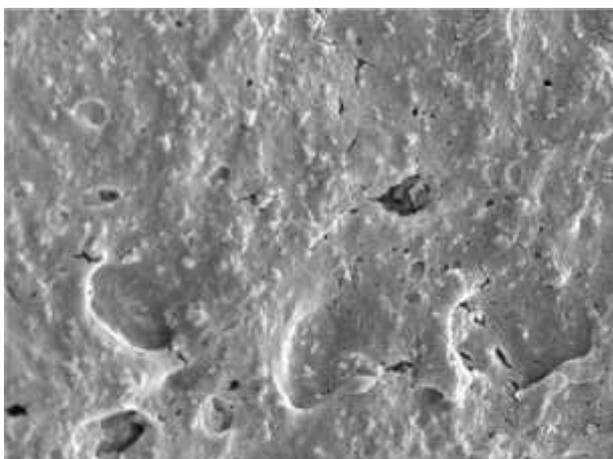


Figura 26. Esmalte desmineralizado con BF12 a los 7 días (X1000) y superficie no pulida

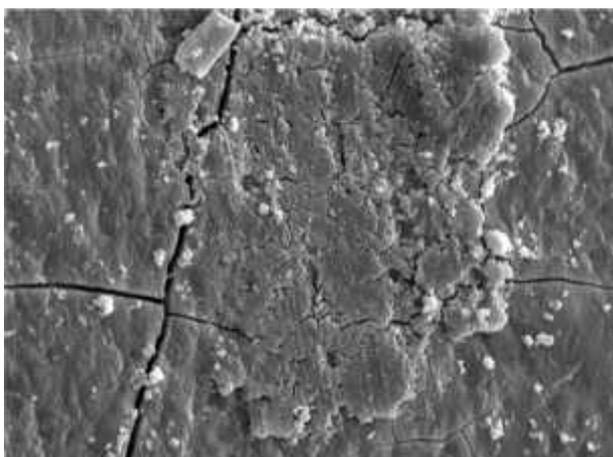


Figura 27. Esmalte desmineralizado con BF12 a los 21 días (X1000) y superficie no pulida

Grupos desmineralizados y superficie pulida

Las imágenes del MEB muestran un esmalte desmineralizado barnizado con BF12 y superficie pulida a las 24 horas (figura 28), 7 días (figura 29) y 21 días (figura 30). A las 24 horas se aprecian los micropocillos de desmineralización rellenos de barniz y rodeados por gránulos refringentes del mismo. Debido al pulido de la superficie, se aprecian zonas de esmalte cubierto casi totalmente por el barniz y otras descubiertas del mismo. A los 7 días, el barniz ha cubierto casi totalmente la superficie del esmalte exceptuando algunas zonas donde se aprecia el esmalte. A los 21 días, la superficie del esmalte está totalmente cubierta por barniz, y el pulido no ha sido capaz de dejar ninguna zona descubierta.

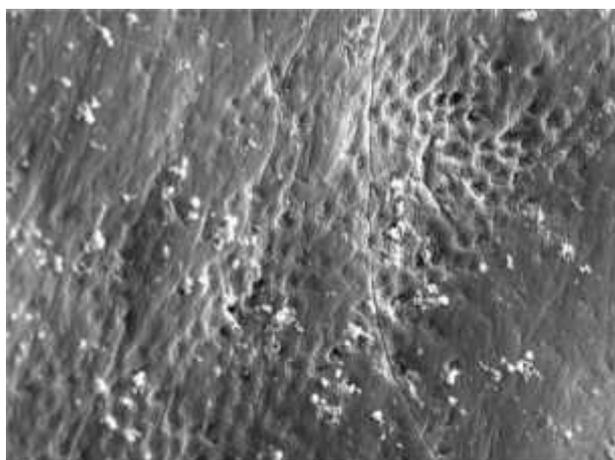


Figura 28. Esmalte desmineralizado con BF12 a las 24h (X1000) y superficie pulida

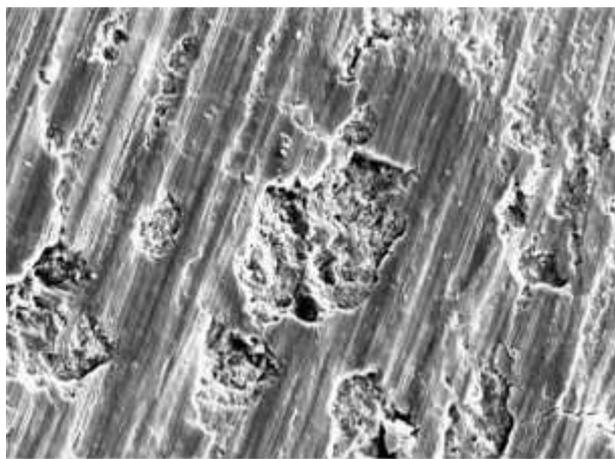


Figura 29. Esmalte desmineralizado con BF12 a los 7 días (X1000) y superficie pulida

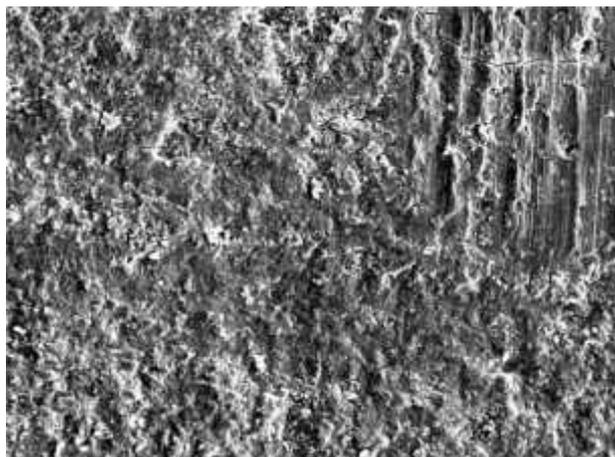


Figura 30. Esmalte desmineralizado con BF12 a los 21 días (X1000) y superficie pulida

C. CLINPRO™ WHITE VARNISH

Grupos desmineralizados y superficie no pulida

Las imágenes del MEB muestran la superficie de un esmalte sin desmineralizar barnizada con CWV a las 24 horas (figura 31), 7 días (figura 32) y 21 días (figura 33). A las 24 horas, la superficie del esmalte no está totalmente recubierta por el barniz, que tiene forma de cristales debido a su contenido en β -TCP. Según van pasando los días y las aplicaciones del barniz, observamos una capa de mayor grosor sobre la superficie del esmalte. A los 21 días (figura 33) el esmalte está cubierto totalmente por el barniz.

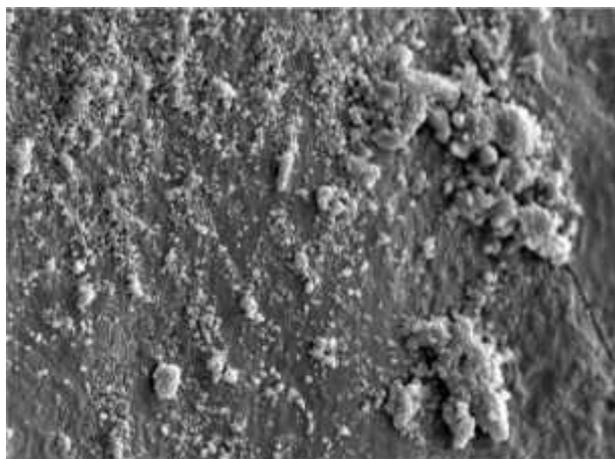


Figura 31. Esmalte sin desmineralizar con CWV a las 24 horas (X750) y superficie no pulida



Figura 32. Esmalte sin desmineralizar con CWV a los 7 días (X500) y superficie no pulida

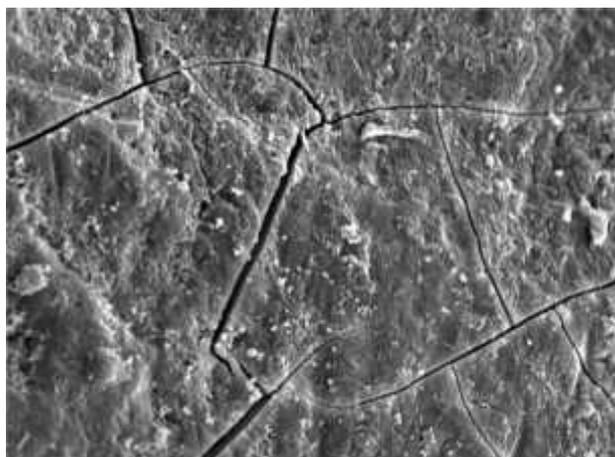


Figura 33. Esmalte sin desmineralizar con CWV a los 21 días (X1000) y superficie no pulida

Grupos sin desmineralizar y superficie pulida

Las imágenes del MEB (figuras 34, 35 y 36) nos muestran una superficie de esmalte con zonas de barniz irregulares intercaladas con zonas sin barniz. Se aprecian las marcas del pulido. A los 21 días observamos que a pesar del pulido permanece una capa gruesa de barniz sobre la superficie del esmalte.

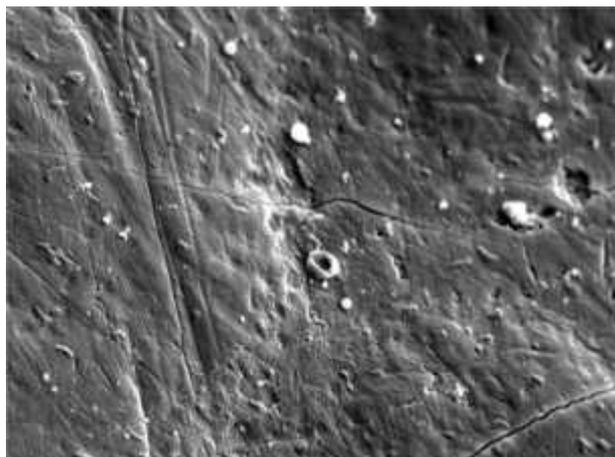


Figura 34. Esmalte sin desmineralizar con CWV a las 24 horas (X2000) y superficie pulida

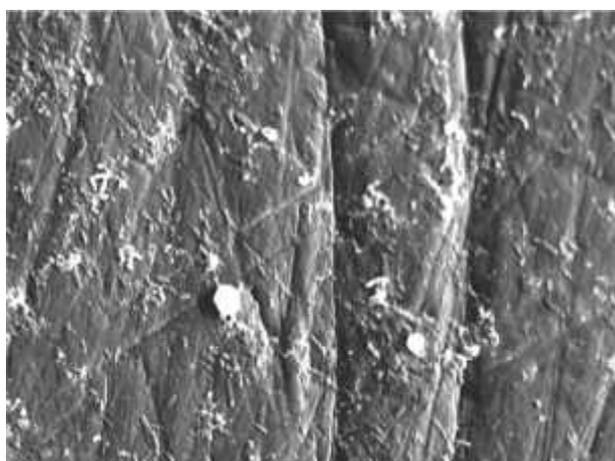


Figura 35. Esmalte sin desmineralizar con CWV a los 7 días (X1000) y superficie pulida



Figura 36. Esmalte sin desmineralizar con CWV a los 21 días (X1000) y superficie pulida

Grupos desmineralizados y superficie no pulida

Las imágenes del MEB muestran un esmalte desmineralizado a las 24 horas (figura 37), 7 días (figura 38) y 21 días (figura 39). A las 24 horas (figura 37), se aprecian los micropocillos de desmineralización característicos rellenos por el barniz de flúor. A los 7 días (figura 38), observamos una superficie esmalte con una mayor cantidad de barniz y, debido a esto, los micropocillos van desapareciendo y la superficie tiene una forma más homogénea. A los 21 días (figura 39), la superficie está totalmente cubierta por una placa de barniz y grandes acúmulos de este en forma globular.

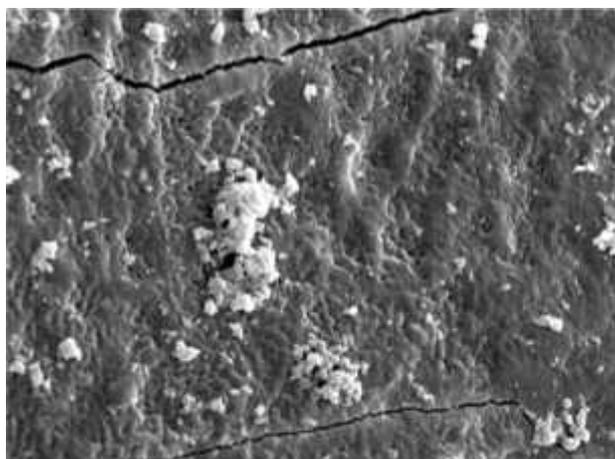


Figura 37. Esmalte desmineralizado con CWV a las 24 horas (X2000) y superficie no pulida

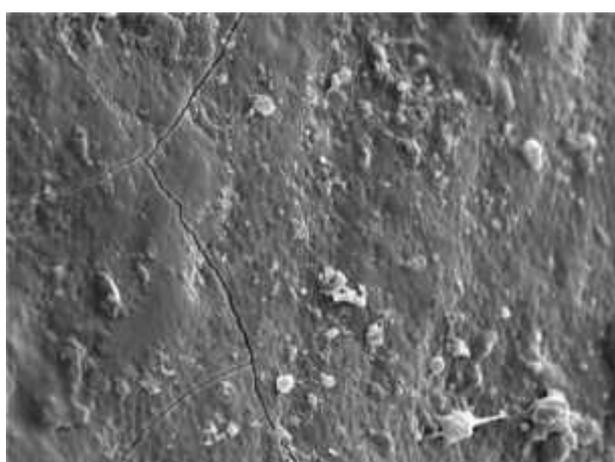


Figura 38. Esmalte desmineralizado con CWV a los 7 días (X500) y superficie no pulida

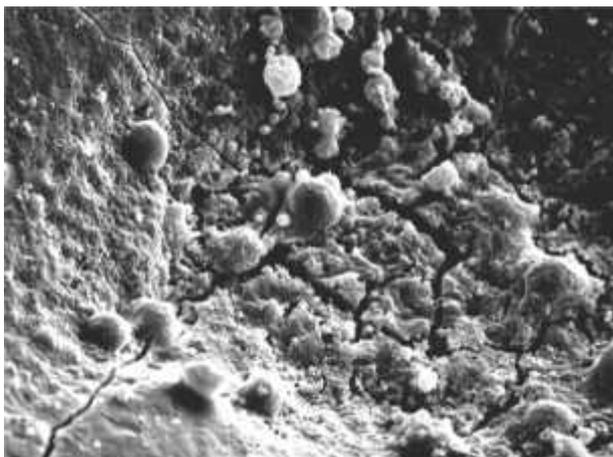


Figura 39. Esmalte desmineralizado con CWV a los 21 días (X1000) y superficie no pulida

Grupos desmineralizados y superficie pulida

Las imágenes del MEB muestran la superficie pulida de un esmalte desmineralizado a las 24 horas (figura 40), 7 días (figura 41) y 21 días (figura 42). A las 24 horas (figura 40) se aprecian los pocillos de desmineralización rellenos con barniz con mejor nitidez que a los 7 o 21 días. El efecto del pulido va disminuyendo según se van realizando más aplicaciones del barniz. A los 21 días (figura 42), prácticamente no se diferencian los pocillos de desmineralización al estar completamente cubiertos por el barniz.

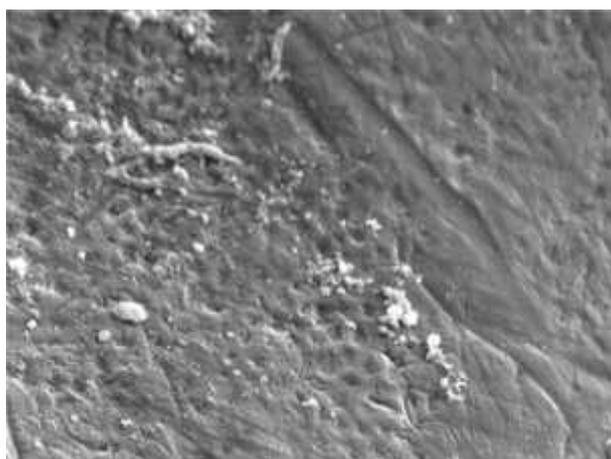


Figura 40. Esmalte desmineralizado con CWV a las 24h (X1000) y superficie pulida

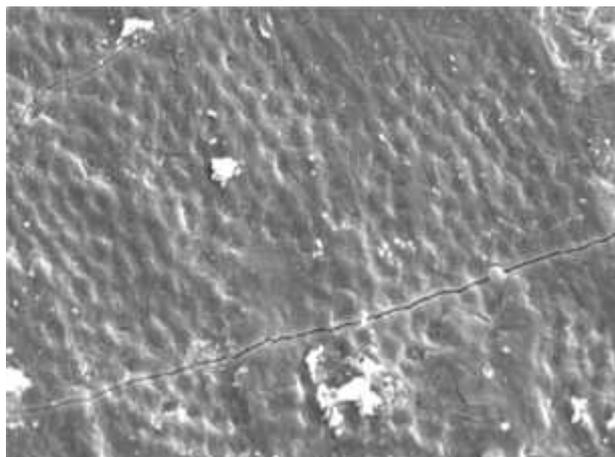


Figura 41. Esmalte desmineralizado con CWV a los 7 días (X1000) y superficie pulida

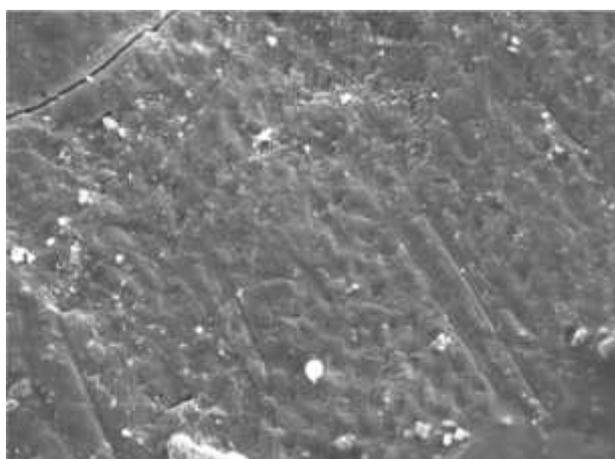


Figura 42. Esmalte desmineralizado con CWV a los 21 días (X1000) y superficie pulida

D. PROFLUORID[®] VARNISH

Grupos sin desmineralizar y superficie no pulida

Las imágenes del MEB muestran la superficie de un esmalte sin desmineralizar barnizado con PFV. A las 24 horas (figura 43) observamos que la superficie del esmalte está cubierta por el barniz pero no en su totalidad. La superficie tiene un aspecto rugoso con gránulos refringentes de barniz en forma globular. A los 7 días (figura 44), el acumulo de barniz es mayor, aunque sigue habiendo alguna zona de esmalte sin recubrir. A los 21 días (figura 45), la superficie está totalmente cubierta.

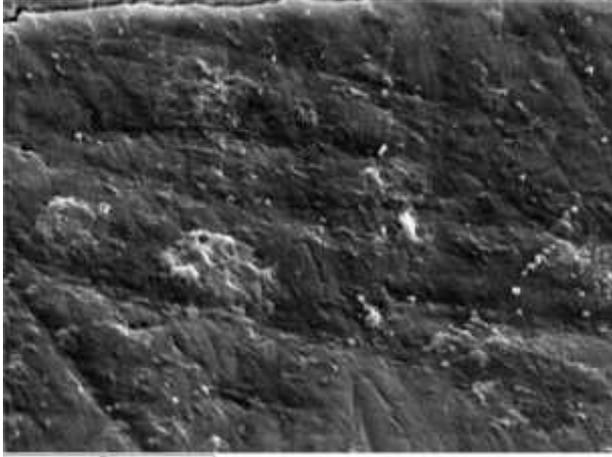


Figura 43. Esmalte sin desmineralizar con PFV a las 24 horas (X2000) y superficie no pulida

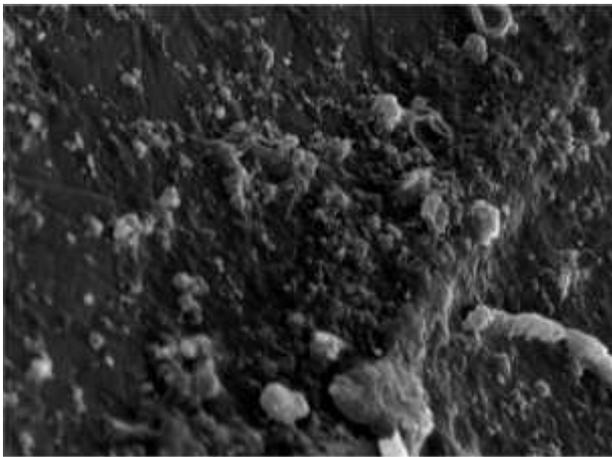


Figura 44. Esmalte sin desmineralizar con PFV a los 7 días (X2000) y superficie no pulida

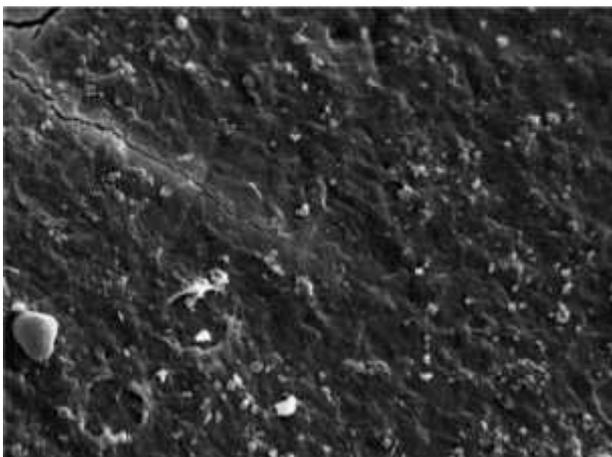


Figura 45. Esmalte sin desmineralizar con PFV a los 21 días (X2000) y superficie no pulida

Grupos sin desmineralizar y superficie pulida

Las imágenes del MEB (figuras 46, 47 y 48) nos muestran una superficie de esmalte con zonas de barniz irregulares intercaladas con zonas sin barniz. Se aprecian las marcas del pulido. A los 7 días (figura 47) se observa un aumento de la capa de barniz sobre la superficie del esmalte aunque aún se aprecian zonas sin barniz. A los 21 días observamos que, a pesar del pulido, permanece una capa gruesa de barniz sobre la superficie del esmalte dejándola prácticamente cubierta por él.

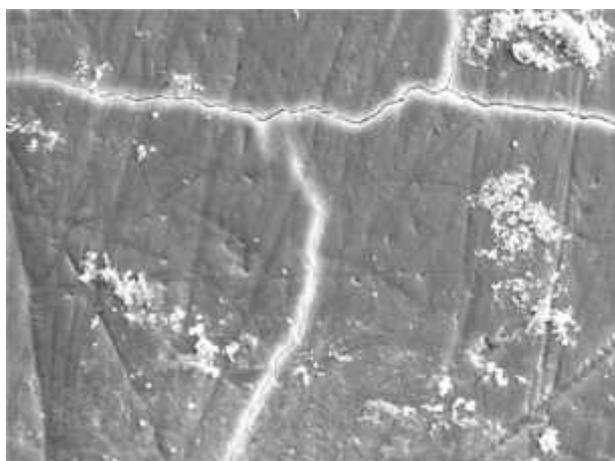


Figura 46. Esmalte sin desmineralizar con PFV a las 24 horas (X1000) y superficie pulida

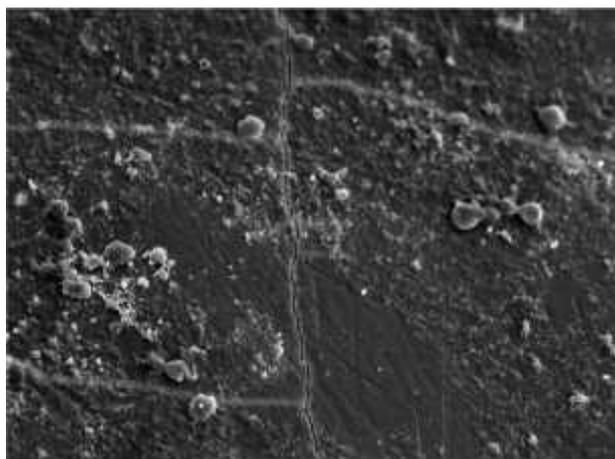


Figura 47. Esmalte sin desmineralizar con PFV a los 7 días (X500) y superficie pulida

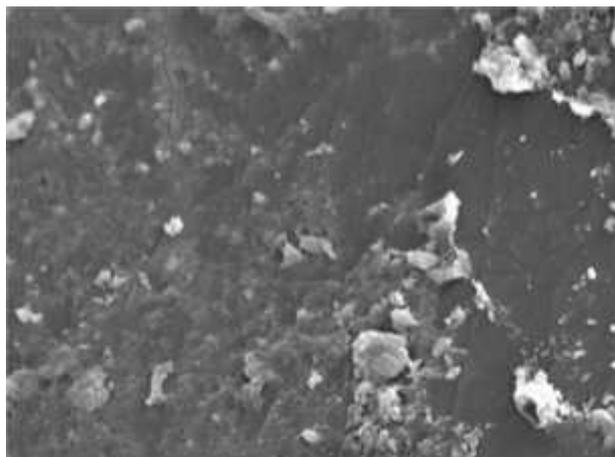


Figura 48. Esmalte sin desmineralizar con PFV a los 21 días (X2000) y superficie pulida

Grupos desmineralizados y superficie no pulida

Las imágenes del MEB muestran un esmalte desmineralizado barnizado con PFV a las 24 horas (figura 49), a los 7 días (figura 50) y a los 21 días (figura 51). En ellas apreciamos como los micropocillos de desmineralización están rellenos con restos de barniz y con el paso del tiempo se van cubriendo hasta desaparecer completamente a los 21 días, donde la superficie del esmalte está cubierta en su totalidad con gran cantidad de gránulos refringentes de barniz.

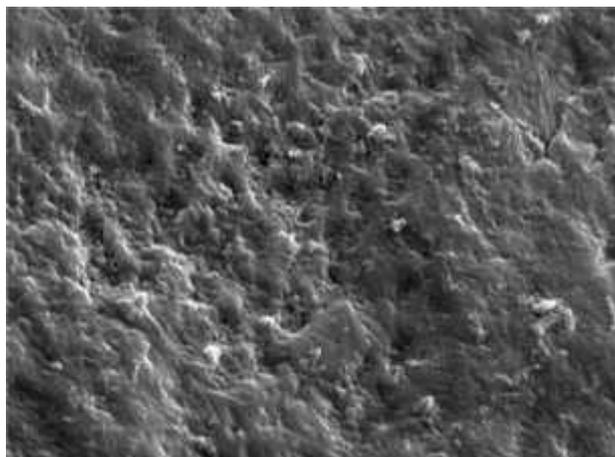


Figura 49. Esmalte desmineralizado con PFV a las 24 horas (X2000) y superficie no pulida

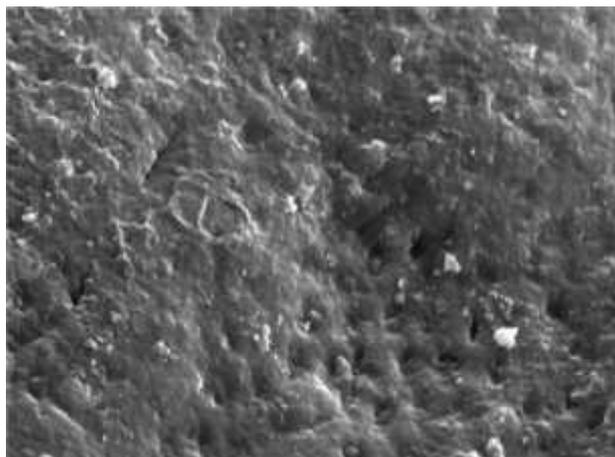


Figura 50. Esmalte desmineralizado con PFV a 7 días (X2000) y superficie no pulida

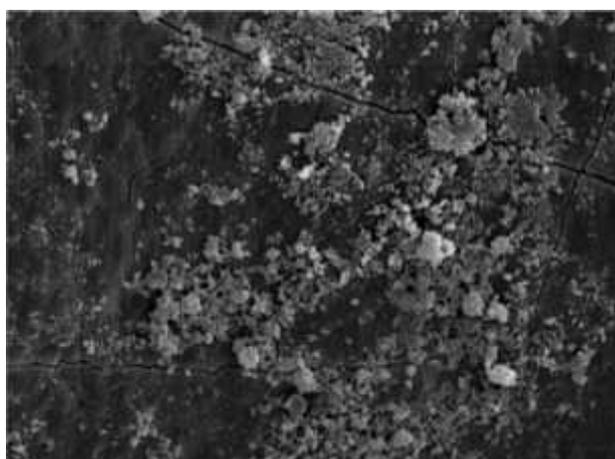


Figura 51. Esmalte desmineralizado con PFV a los y 21 días (X1000) y superficie no pulida

Grupos desmineralizados y superficie pulida

Las imágenes del MEB muestran la superficie pulida de un esmalte desmineralizado y barnizado con PFV a las 24 horas (figura 52), 7 días (figura 53) y 21 días (figura 54). A las 24 horas se aprecia una desmineralización completa del esmalte con los pocillos cubiertos de barniz. A los 7 días el barniz ha cubierto en mayor grado la superficie del esmalte, haciendo menos visibles los pocillos de desmineralización. A los 21 días, la superficie del esmalte está completamente cubierta de barniz haciendo poco visible los pocillos de desmineralización. No se aprecian gránulos de barniz, debido a que el barniz no es muy pegajoso y el efecto del pulido ha hecho que desaparezca completamente los excesos de la superficie.



Figuras 52. Esmalte desmineralizado con PFV a las 24 horas (X500) y superficie pulida



Figura 53. Esmalte desmineralizado con PFV a los 7 días (X500) y superficie pulida

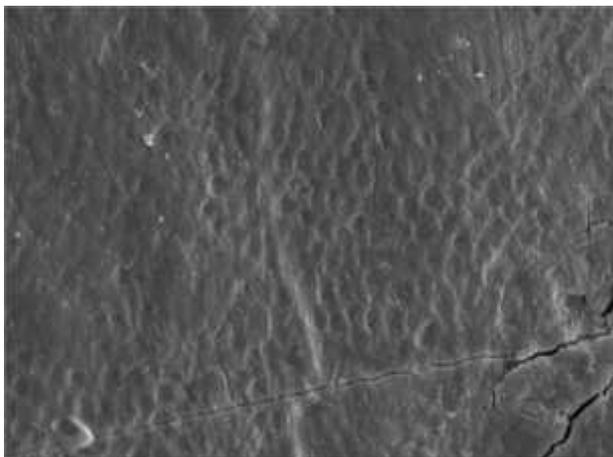


Figura 54. Esmalte desmineralizado con PFV a los 21 días (X700) y superficie pulida

6. DISCUSIÓN

6.1 DISCUSIÓN DEL MÉTODO

Para realizar nuestro estudio hemos usado dientes bovinos. Lo ideal sería utilizar dientes humanos extraídos, sin embargo, debido a la mayor concienciación social sobre salud bucodental y al éxito de la odontología preventiva y restauradora, cada vez es más difícil encontrar cantidad suficiente de dientes humanos extraídos y en perfecto estado para realizar estudios experimentales. A ello se le suma la dificultad para establecer una homogeneidad de la muestra, ya que no es fácil controlar la edad y la fuente de procedencia. Además, un aumento de la percepción del riesgo de infección cruzada y otros problemas éticos han llevado a mayores restricciones en su uso **(Yassen y cols., 2011)**.

Se han propuesto sustratos alternativos para experimentos dentales *in vitro*, como por ejemplo dientes bovinos, ovinos, porcinos y equinos. El principal criterio para la elección de los dientes animales sería el poseer unas características físico-mecánicas, estructurales y biológicas similares a los dientes humanos **(Teruel y cols., 2015; Soares y cols., 2016)**.

De entre todos los sustratos animales, los dientes bovinos han sido los más ampliamente usados como sustitutos de dientes humanos para la realización de estudios de investigación, ya que tanto su estructura macroscópica y microscópica como su composición son las más parecidas a los dientes humanos **(Oesterle, 1998; Krifka y cols., 2008; Teruel y cols., 2015; Soares y cols., 2016)**. Estudios previos han demostrado que las medidas de resistencia a las fuerzas de cizalla en el esmalte bovino fueron iguales o, dependiendo de los adhesivos testados, presentaron valores ligeramente diferentes a los del esmalte humano **(Kecik y cols., 2008; Wiegand y cols., 2011)**.

La mejor manera de probar la efectividad de un biomaterial sería la experimentación *in vivo* en ensayos controlados y aleatorizados. Sin embargo, los ensayos clínicos son muy costosos y requieren mucho tiempo y mediante la sola evaluación clínica es imposible estudiar el potencial de adhesión de un sistema de adhesión a esmalte o dentina y determinar la influencia de los muchos parámetros que influyen en la calidad o en la longevidad de una restauración **(Leloup y cols., 2001)**.

Así, las pruebas de laboratorio, los test *in vitro*, pueden aclarar los factores específicos que son más beneficiosos o perjudiciales para la eficacia a largo plazo, y ser usadas como pruebas

preclínicas con fines de cribado (**Paradella y Fava, 2007; Krifka y cols., 2008**). Para **Van Meerbeek y cols. (2010)** el objetivo final de una prueba de laboratorio debe ser recabar datos sobre la predicción del resultado clínico. Las pruebas *in vitro* representan una manera efectiva y rápida de evaluar los materiales dentales (**Atash y Van Den Abbeele, 2005**). En general, las ventajas de las pruebas de laboratorio son: la facilidad de realización (baja sensibilidad a la técnica); la posibilidad de medir un parámetro específico manteniendo constantes todas las demás variables; el poder comparar directamente el rendimiento de un material o de una técnica con el del "gold-standard"; la capacidad de probar simultáneamente muchos grupos experimentales; la utilización de protocolos e instrumentos de prueba relativamente poco sofisticados y económicos (**Van Meerbeek y cols., 2010**).

Pero los test *in vitro* también presentan algunas limitaciones a tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados. La complejidad del medio oral, con sus variaciones en humedad, acidez, temperatura y nivel de placa, hacen que sea difícil reproducir en el laboratorio las condiciones a las que están expuestas continuamente los materiales dentales (**Van Meerbeek y cols., 2010**).

Para que los resultados de las pruebas adhesivas puedan ser confiables deben realizarse de manera estándar (**Cardoso y cols., 1998**). La guía ISO TR 11405:2015 estandariza las pruebas de adhesión detallando cómo se deben realizar. Pero, a pesar de la existencia de las normas ISO, hay una gran variabilidad en los protocolos usados para los estudios de adhesión: sustratos utilizados (humano o bovino; deciduo o permanente), tipos de ensayo (cizalla, microcizalla, tensión, microtensión), método de conservación del diente postextracción, métodos *in vivo* o *in vitro*, materiales usados, intensidad y tiempo de la fotopolimerización, las condiciones de laboratorio (temperatura, humedad, iluminación), etc. Como consecuencia de todo esto es difícil comparar los resultados obtenidos en los distintos estudios y extrapolarlos; es decir, todos los valores de fuerza de adhesión deben considerarse significativos sólo en el contexto de cómo han sido obtenidos (**Leloup y cols., 2001; Mota y cols., 2003**).

Uno de los puntos importantes a la hora de comparar los resultados de la fuerza de adhesión entre los diferentes estudios es valorar el tipo de test de fuerza que ha sido utilizado. Para **Cardoso y cols. (1998)** y **Braga y cols. (2010)** en las publicaciones de los trabajos de investigación se debería proporcionar una descripción minuciosa del diseño de los

especímenes y de la configuración del test con el fin de permitir una comparación más precisa entre los diferentes estudios de investigación.

La fuerza de adhesión proporcionada por los sistemas adhesivos es la fuerza por unidad de área que se requiere para romper una unión por la interfase adhesivo/sustrato o cerca de ella (Atash y Van Den Abbeele, 2005; Paradella y Fava, 2007). Se obtiene a partir de la carga al fallo dividida por el área de la sección transversal de la interfase unida y se denomina “fuerza de unión nominal o media” (Plácido y cols., 2007). Dependiendo del tamaño del área de adhesión, la fuerza de adhesión se puede medir de forma estática utilizando ensayos “macro” (macrotracción, macrocizalla o push-out) o ensayos “micro” (microtracción, microcizalla o micro-push out). La denominación “macro” o “micro” dependerá del área de unión: mayor de 3 mm² en los ensayos “macro” y menor de 3 mm² en los ensayos “micro” (Van Meerbeek y cols., 2010; Sirisha y cols., 2014). Los ensayos más comúnmente empleados son los de microtracción y macrocizalla (Pashley y cols., 1995; Plácido y cols., 2007). El objetivo de una prueba de resistencia a la tracción, microtracción o resistencia a la cizalla es establecer un valor numérico para determinar cuán fuerte era esa unión (Paradella y Fava, 2007).

En los últimos años se han popularizado los ensayos “micro” debido a que estas pruebas permiten ejercer la fuerza exactamente en la zona adhesiva a evaluar, evitando las fracturas cohesivas que pudieran tener su origen en el sustrato o en el material restaurador (Van Meerbeek y cols., 2010; Sirisha y cols., 2014). De esta manera se obtienen datos de las fracturas exclusivamente adhesivas, permitiendo un análisis real de la resistencia de unión entre el material y la estructura dentaria (Sano y cols., 1994). Sin embargo los ensayos “micro” presentan unos inconvenientes: requieren de una técnica laboriosa y con alta sensibilidad, dificultad para medir fuerzas de adhesión muy bajas (<5 Mpa), las muestras tan pequeñas se pueden deshidratar y dañar fácilmente (Pashley y cols., 1995). Además, las fuerzas de microtensión tienden a ser mucho mayores (a menudo x2 ó x4) que los valores de macrotensión debido a la menor concentración de defectos en las pequeñas áreas de la interfase (Armstrong y cols., 2010).

A pesar del aumento en popularidad de los ensayos “micro” y la crítica soportada por los ensayos convencionales, el número de artículos publicados en los últimos años usando ensayos “macro” sigue siendo alto (Braga y cols., 2010). Según Van Meerbeek y cols.

(2010) el test de macrocizalla se utilizó en el 26% de los artículos científicos en los que se informa de fuerzas de adhesión. En nuestro estudio hemos utilizado el test de macrocizalla, ya que, además de ser la técnica más comúnmente usada en los estudios de investigación, presenta resultados confiables y el estrés por cizallamiento es el más representativo de una situación clínica (**Paradella y Fava, 2007**).

En los test de macrocizalla la fractura empieza siempre en el punto de inserción de la carga y la fuerza que provoca la fractura es una fuerza paralela a la superficie dental. Una peculiaridad de este tipo de test es que al emplear un espécimen para cada prueba, se produce una gran dispersión en los resultados originada en el elevado número de fracturas cohesivas. Se ha demostrado que se debe a una distribución no uniforme del estrés con una elevada dependencia de la geometría de la zona adherida y de la configuración de las cargas aplicadas durante el estudio (**Placido y cols., 2007**). Por otro lado, la máquina donde se realizan los ensayos mecánicos no puede reproducir fidedignamente la realidad del sistema estomatognático, ya que la fuerza ejercida es única, continua y unidireccional, no contempla el factor fatiga y no reproduce las fuerzas laterales y de torsión (**Monterde y Seara, 2003**). Sin embargo la gran ventaja de este tipo de ensayo es que es un procedimiento de prueba comparativamente simple y el punto de partida de la carga siempre es reproducible. Por lo tanto, la prueba de resistencia a las fuerzas de cizalla se incluyó en el ISO/TS 11405: 2015 y se considera la prueba más representativa de la situación clínica (**Atash y Van Den Abbeele, 2005; Krifka y cols., 2008**).

Una vez finalizado el test de cizalla analizamos los tipos de fractura con un estereomicroscopio a 10 aumentos y las clasificamos en fracturas “adhesivas” (>50% de fallo en la interfase adhesiva), “cohesivas de esmalte” (>50% de fractura dentro del esmalte), “cohesivas de composite” (>50% de fractura dentro del composite) y “mixtas” (50% de fractura en esmalte e interfase adhesiva, 50% de fractura en composite e interfase adhesiva o 50% de fractura en esmalte y composite) [figuras 2-5]. En la literatura no hay un protocolo estandarizado para el análisis del tipo de fractura. En cada estudio se utiliza una forma diferente de clasificar estos fallos. La clasificación que hemos usado en nuestro estudio, sencilla y fácil de reproducir, ya ha sido utilizada por otros autores (**Wagner y cols., 2014; Firoozmand y cols., 2015; Loguercio y cols., 2015**) usando diferentes magnificaciones.

Para estudiar la desmineralización del esmalte in vitro se han usado diversas soluciones y sistemas ácidos que provocan lesiones de caries artificiales que simulan lesiones naturales del esmalte. El principal inconveniente de utilizar lesiones cariosas artificiales es que son medidas estáticas de la progresión de la caries en un período de tiempo particular, mientras que el proceso carioso es dependiente del tiempo y está en un estado constante de equilibrio dinámico entre la desmineralización y la remineralización. Las dos principales ventajas de usar lesiones artificiales son la facilidad de evaluar los distintos parámetros de forma independiente y que estas lesiones están mejor estandarizadas que las lesiones naturales en esmalte humano (**Kudiyirickal y Ivancaková, 2008; Kecik y cols, 2008; Wiegand y cols, 2011**).

En nuestra investigación la desmineralización del esmalte se llevó a cabo mediante el protocolo descrito por **Patil y cols. (2013)**. Este protocolo ha demostrado producir lesiones iniciales en esmalte con características similares a las encontradas en lesiones iniciales de dientes humanos, aunque menos profundas. El esmalte bovino desmineralizado se utilizó para estudiar el efecto a medio plazo de varios agentes remineralizantes (Bifluorid 12[®], Clinpro[™] White Varnish y Profluorid[®] Varnish) sobre la adhesión a este tipo de esmalte.

Podemos encontrar, en la literatura científica, tres formas diferentes de remineralizar con flúor un esmalte desmineralizado cuando sobre él se va a realizar un procedimiento adhesivo: pre-tratamiento con el agente remineralizante antes del grabado ácido; incorporación del agente remineralizante al agente grabador, al adhesivo o al composite; o aplicación del agente remineralizante después del grabado ácido y antes de la aplicación del adhesivo (**Kecik y cols., 2008; Al-Kawari y Al-Jobair, 2014**). En nuestro estudio hemos utilizado la primera opción, remineralización del esmalte por medio de la aplicación del barniz de flúor antes del grabado ácido.

Después de la desmineralización y del tratamiento con los agentes remineralizantes las muestras se almacenaron en saliva artificial. Los sustitutos de la saliva utilizados han demostrado ser capaces de inducir la remineralización de las lesiones cariosas iniciales (**Cochrane y cols., 2010**).

El lapso de tiempo entre el tratamiento con los agentes remineralizantes y la realización del procedimiento adhesivo fue elegido para simular distintas condiciones temporales que se

podrían dar en la clínica a la hora de realizar un tratamiento restaurador sobre un esmalte remineralizado. Procedimiento adhesivo inmediato, tras 24 horas de la aplicación del agente remineralizante. Procedimiento adhesivo a corto plazo, 7 días de la aplicación del agente remineralizante, con dos aplicaciones. Procedimiento adhesivo a medio plazo, 21 días de la aplicación del agente remineralizante, con cuatro aplicaciones.

El protocolo adhesivo llevado a cabo en este estudio consta de la aplicación durante 20 segundos de ácido ortofosfórico al 37% antes de la aplicación del adhesivo universal Futurabond[®] M+ y el composite nanohíbrido Grandio[®]SO. El sistema adhesivo Futurabond[®] M+ puede ser utilizado de diferente forma, como un sistema adhesivo convencional (2 pasos) o como un sistema autograbante (1 paso) (Perdigão y cols., 2014; Giannini y cols., 2015). En nuestro estudio lo hemos utilizado con un grabado ácido previo ya que, según la literatura revisada (Hanabusa y cols., 2012; Wagner y cols., 2014; Loguercio y cols., 2015; Rosa, Piva y Silva, 2015; Vermelho y cols., 2016), se producen mayores fuerzas de adhesión con un grabado ácido previo del esmalte que si lo utilizamos como un sistema autograbante, sobre todo con los adhesivos autograbantes suaves y ultrasuaves. (Hanabusa y cols., 2012; Perdigão y cols., 2014; Firoozmand y cols., 2015). El adhesivo Futurabond[®] M+ puede ser clasificado como suave (pH=2,3) según la clasificación de Van Meerbeek (Van Meerbeek y cols., 2011). Además, en los grupos de esmalte sin desmineralizar, al no tallar la superficie del esmalte, la capa de esmalte aprismático está presente, por lo que si no grabamos previamente la superficie, estaríamos ejerciendo un impacto negativo en la adhesión, puesto que esta capa es más resistente a la disolución por los ácidos y la infiltración de la resina, y la formación de los tags estaría muy limitada (Firoozmand y cols., 2015).

6.2 DISCUSIÓN RESULTADOS

Los resultados de nuestro estudio reflejan que la resistencia a las fuerzas de cizalla en los grupos de esmalte sin desmineralizar y sin tratar (valor basal) fue significativamente mayor que la resistencia a las fuerzas de cizalla en los grupo de esmalte desmineralizado y sin tratar. Estas diferencias están en concordancia con la mayoría de los estudios sobre esmalte desmineralizado, en los que los valores de RFC sobre esmalte desmineralizado son significativamente menores que en el esmalte sin desmineralizar (Uysal y cols., 2011; Attin y cols., 2012; Baysal y Uysal, 2012; Akin y cols., 2014). Uysal y cols. (2011) atribuyeron

estos resultados a la pobre calidad de la superficie del esmalte y a la falta de tags de resina para la formación de la traba micromecánica. **Williams y cols. (2006)**, que también observaron una reducción significativa en la resistencia a las fuerzas de cizalla de los composites unidos a molares humanos con esmaltes hipomineralizados, sugirieron que podría ser debido a la humedad intrínseca del esmalte poroso que produce una infiltración de resina defectuosa y a una dilución de los monómeros de resina solubles en agua. Estudios más actuales implican otros factores adicionales como la inestabilidad de una interfase adhesiva que contendría una mayor cantidad de proteínas, la posible microfiltración alrededor de los bordes de la restauración debido a que esas zonas periféricas presentan una reducción de la concentración de minerales y una cantidad mayor de estructuras proteicas (**Ara y cols., 2013**). De hecho, la desproteinización con hipoclorito sódico (5%NaOCl) de la superficie de esmalte de dientes deciduos afectados por amelogénesis imperfecta hipocalcificada, caracterizada por esmalte hipomineralizado con alto contenido proteico, produjo un aumento significativo de la resistencia a las fuerzas de cizalla, mientras que el esmalte de un diente normal tratado con NaOCl no produjo ningún efecto en la resistencia a las fuerzas de cizalla (**Saroglu, Aras y Ötzas, 2006**).

En nuestro estudio, a pesar de la ya descrita mayor reducción de la resistencia a las fuerzas de cizalla en los grupos con esmalte desmineralizado, los valores de resistencia a las fuerzas de cizalla fueron altos (> 32MPa), mayores que los valores aceptados como suficientes para soportar las fuerzas generadas por contracción de polimerización y para asegurar una retención satisfactoria de las restauraciones de composite adheridas a dientes tanto anteriores como posteriores (17-24 MPa) [**Swift y cols., 1995**]. Esto podría ser debido a la composición del adhesivo usado. El adhesivo Futurabond[®] M+ es un adhesivo universal que puede ser usado mediante la técnica de grabado total o con una técnica de autograbado. Presenta alcohol en su composición, esto hace que reaccione con las moléculas de agua y las desplace; también contiene el monómero hidrofílico 2-hidroxietil metacrilato (HEMA) y otros monómeros adhesivos ácidos que forman una unión química con la hidroxiapatita y con las proteínas además de la unión micromecánica (**Yoshioka y cols., 2002**).

Las fracturas cohesivas de esmalte son más comunes en el esmalte desmineralizado comparado con los grupos sin desmineralizar, lo cual puede ser debido a la débil estructura del esmalte desmineralizado después de la formación de la mancha blanca (**Karami y cols.,**

2015). La presencia de alcohol como solvente y de monómeros de bajo peso molecular conceden al adhesivo Futurabond[®] M+ una gran penetrabilidad en un esmalte desmineralizado poroso. Esto es la causa, bajo nuestro punto de vista, de los altos valores de resistencia a las fuerzas de cizalla (RFC) en el esmalte desmineralizado, y podrían ser corresponsables de la asociación entre fracturas cohesivas del esmalte y el esmalte desmineralizado. Estos valores reflejarían realmente la fuerza cohesiva de un esmalte desmineralizado, más que la fuerza adhesiva del Futurabond[®] M+, que sería mucho mayor. De hecho, en el esmalte mineralizado, más resistente, los tipos de fractura observados fueron los adhesivos y, cuando la fuerza era muy alta, la fractura cohesiva del composite.

Cada barniz tiene un comportamiento diferente en función del grado de mineralización del esmalte. Globalmente, el Bifluorid 12[®] disminuye la RFC en esmalte sin desmineralizar y las incrementa en esmalte desmineralizado, el Clinpro[™] White Varnish presentó un mismo comportamiento en ambos tipos de esmalte reduciendo la RFC y el Profluorid[®] Varnish incrementa la RFC ligeramente en esmalte sin desmineralizar y mucho en esmalte desmineralizado. Específicamente, a las 24 horas de haber aplicado el Bifluorid 12[®], se produjo un descenso significativo de la RFC en esmalte sin desmineralizar pero no en esmalte desmineralizado. A los 7 días vuelve a valores basales tanto en esmalte el mineralizado como desmineralizado y se mantiene estable a los 21 días en esmalte mineralizado, mientras que en esmalte desmineralizado se produce un aumento significativo en los valores de adhesión superando el valor basal. En el barniz Clinpro[™] White Varnish, a las 24 horas se produjo un descenso significativo de la fuerza de adhesión en el esmalte sin desmineralizar y en el desmineralizado. A los 7 días se produjo en ambos una recuperación de las fuerzas de adhesión llegando casi a valores basales y un descenso brusco a los 21 días. Respecto al Profluorid[®] Varnish, en el esmalte sin desmineralizar el único aumento significativo se produce a los 21 días siendo significativo respecto a los valores basales, 24 horas y 7 días. En el esmalte desmineralizado el efecto producido por el barniz mejora los valores de adhesión significativamente con respecto al valor basal llegando a igualar los datos del grupo sin desmineralizar.

Cuando valoramos conjuntamente el tipo de barniz y el tiempo de aplicación observamos que existe una interacción positiva entre estos dos factores, es decir, cada barniz tiene un comportamiento diferente a lo largo del tiempo. El producto que ha demostrado un mejor

comportamiento, por ser este más uniforme, ha sido el Profluorid[®] Varnish. No tuvo ningún efecto negativo sobre la RFC, sino un incremento continuo a lo largo del tiempo, tanto en esmalte sin desmineralizar como en esmalte desmineralizado y presentó mayor efecto a las 24 horas y a los 7 días. Sin embargo, BF12 a las 24 horas y CWV a las 24 horas y 21 días presentaron disminuciones de las fuerzas de adhesión tanto en esmalte mineralizado como desmineralizado.

Nosotros creemos que esto es debido a la distinta composición y a las distintas características físicas de los productos, siendo de especial importancia la viscosidad. En efecto, uno de los factores que podrían explicar este comportamiento es el “*efecto barrera*” que podrían ejercer algunos barnices debido a su mayor viscosidad. Por eso decidimos someter a algunos grupos al pulido de la superficie con el objetivo de eliminar la capa de barniz y comprobar si era capaz de afectar la RFC.

Nosotros pudimos comprobar, a la hora del pulido de los barnices, cómo el CWV fue el barniz más viscoso de los tres, de tal forma que era difícil su completa eliminación de la superficie del esmalte. **Shen y cols. (2016)** demostraron que el CWV es más viscoso que el PFV y eso determinó que se necesitase más cantidad de barniz que con el PFV para cubrir la misma superficie, que la mayor fluidez del PFV favorecía la existencia de una capa más uniforme sobre la superficie del esmalte y que la menor humectabilidad del CWV produciría un menor efecto remineralizante.

Efectivamente cuando eliminamos la capa de CWV por el pulido se produce un incremento de las RFC significativo a las 24 horas y 21 días tanto en esmaltes desmineralizados como sin desmineralizar. Sin embargo los valores de RFC del grupo CWV nunca llegan a alcanzar los valores del esmalte normal, como sucede en los otros grupos, pudiendo ser este dato un índice indirecto de una peor remineralización del esmalte.

Aunque, hasta donde nosotros conocemos, no se han realizado estudios sobre los efectos de los barnices de flúor tópico en la adhesión de los materiales de restauración directa (adhesivos y composites), sí se ha estudiado ampliamente su efecto sobre las fuerzas de adhesión de brackets de ortodoncia a esmalte dental. Algunos autores como **Kecik y cols. (2008)** y **Xiaojun y cols. (2009)** observaron que, cuando el agente remineralizante es aplicado a esmalte antes de la adhesión del bracket, como un gel dentífrico que contenía CPP-ACP

(Recaldent™ Tooth Mousse) o 1,23 % de fosfato de calcio acidulado en forma de gel, se produjo un aumento significativo en la resistencia a las fuerzas de cizalla de los brackets ortodóncicos adheridos al esmalte. Otros autores como **Baysal y Uysal (2012)** y **Akin y cols. (2011)**, no encontraron diferencias significativas en la fuerza de adhesión de los brackets a esmalte entre el esmalte no tratado y el esmalte desmineralizado tratado con CPP-ACP (Recaldent™ Tooth Mousse). Mientras que, **Attin y cols. (2012)** demostraron que la aplicación de barniz de flúor a esmalte desmineralizado (Clinpro™ White Varnish, 2,23% F) o un gel de flúor (Elmex Fluid) redujo la fuerza de adhesión al bracket.

Tanto sobre esmalte normal como esmalte desmineralizado la aplicación de un barniz de flúor produce una captación de flúor que es cinco veces mayor si el esmalte está desmineralizado, probablemente porque la superficie expuesta al medio acuoso y su reactividad al fluoruro son mayores (**Schemehorn y cols., 2011**). Cuando se aplica fluoruro sobre la superficie del esmalte intacto o desmineralizado se forma hidroxiapatita fluorada que es más resistente al ataque ácido que la hidroxiapatita no-fluorada (**Ten Cate JM, 1999**). Pero el mayor efecto que se produce en la superficie del esmalte, normal o desmineralizado, cuando sobre él se aplica una capa de fluoruro es la precipitación de unos complejos globulares de fluoruro de calcio (CaF_2) denominados complejos de fluoruro de calcio contaminados con fosfato. Esta capa de fluoruro de calcio, que para muchos investigadores es un factor importantísimo en la prevención contra la caries, se incrementa cuando el pH de la solución de flúor disminuye, cuando se incrementa la concentración de flúor, se prolonga el tiempo de exposición, se graba la superficie del esmalte o se dispone de una concentración extra de iones calcio (**Lussi, Hellwig y Klimek, 2012**). Estos glóbulos de fluoruro de calcio u otros compuestos de flúor precipitarían en la subsuperficie del esmalte, en los espacios interprismáticos ocupados por el agua y las proteínas, reduciendo la permeabilidad del esmalte y por consiguiente el movimiento de fluidos (**Chersoni y cols., 2011**). El uso del ácido ortofosfórico para grabar podría aumentar la formación de compuestos de fluoruro de calcio y la reducción de la permeabilidad impediría que la penetración del adhesivo sea mayor. De este modo **Schmidlin y cols. (2004)** demostraron un incremento en la profundidad de los tags de resina en el esmalte desmineralizado y una reducción de esa profundidad cuando el esmalte fue remineralizado con una solución de fluoruro de amina.

Leódido y cols. (2012), observaron que el barniz de flúor a las 6 horas después de su aplicación tuvo un efecto negativo en las fuerzas de adhesión a brackets adheridos a esmalte intacto, mientras que **Kimura y cols. (2004)**, siguiendo un método similar al utilizado en este estudio para medir la resistencia a las fuerzas de cizalla en brackets de ortodoncia a esmalte tratado con barniz de flúor (CavityShield) durante 10 días, obtuvo la misma fuerza de adhesión que en esmalte no tratado.

Esta “normalización” de la adhesión que observamos en los valores de la RFC con el paso del tiempo con la remineralización del esmalte, también queda reflejada en los tipos de fractura. Así, las fracturas cohesivas y mixtas son típicas de las 24 horas y los 7 días tras haber aplicado el barniz y las fracturas adhesivas aparecen a los 21 días de aplicación, al igual que en un esmalte sin desmineralizar.

Para **Gateva y Dikov (2012)** los sistemas adhesivos con menores fuerzas de adhesión presentan un patrón de fractura principalmente adhesivo, mientras que los patrones cohesivos y mixtos ocurren en sistemas con grandes fuerzas de adhesión. **Perdigão y cols. (2000)** determinan que cuando la fuerza de adhesión es mayor de 17,40 MPa el patrón de fractura cohesivo empieza a aparecer. Sin embargo, **Watanabe y cols. (1996)** y **Montasser y Taha (2014)** indicaron que el patrón de fractura no está relacionado con la fuerza de adhesión.

La asociación de las fracturas adhesivas con los 21 días tras la aplicación del barniz se podría deber a la recuperación/desaparición de las microporosidades características del esmalte desmineralizado por la reparación de los cristales de hidroxiapatita y por la formación de glóbulos de fluoruro de calcio. De hecho, **Choi y cols. (2010)** observaron al microscopio electrónico de barrido que el pretratamiento con gel de APF disminuyó la formación de microporosidades en esmalte tanto de dentición temporal como permanente a partir de los 10 días.

Una cierta resistencia del esmalte al ácido tras la aplicación tópica de flúor podría ser otra causa del predominio de las fracturas adhesivas con el tiempo (**Gontijo y cols., 2007; Stecksén-Blicks y cols., 2007**) ya que el flúor se incorporaría poco a poco en el tejido dental para crear una capa de fluoruro de calcio ácido-resistente en la superficie del esmalte, creando una barrera química que interferiría con la capacidad del ácido fosfórico de grabar efectivamente la superficies del esmalte (**Bayrak y cols., 2016**). Los residuos de los barnices

entre los prismas del esmalte, tal como muestran las imágenes podrían ejercer también de barrera, aislando al prisma, impediría una mayor penetración del ácido y del adhesivo en la superficie del esmalte.

7. CONCLUSIONES

Conclusión 1. La aplicación de Bifluorid 12[®] en esmalte sin desmineralizar produce una reducción de la resistencia a las fuerzas de cizalla a las 24 horas de su aplicación que se recupera a los 7 y 21 días. La aplicación de Clinpro[™] White Varnish en esmalte sin desmineralizar produce una reducción de la resistencia a las fuerzas de cizalla a las 24 horas y 21 días de su aplicación. La aplicación de Profluorid[®] Varnish en esmalte sin desmineralizar produce un incremento progresivo de la resistencia a las fuerzas de cizalla que se hace significativo a los 21 días de aplicación.

Conclusión 2. La aplicación de Bifluorid 12[®] en esmalte desmineralizado produce un incremento de la resistencia a las fuerzas de cizalla a los 21 días de su aplicación. La aplicación de Clinpro[™] White Varnish en esmalte desmineralizado produce una reducción de la resistencia a las fuerzas de cizalla a las 24 horas y 21 días de su aplicación. La aplicación de Profluorid[®] Varnish en esmalte desmineralizado produce un incremento de la resistencia a las fuerzas de cizalla que se hace significativo a las 24 horas y se mantiene elevado a los 7 y 21 días.

Conclusión 3. El Bifluorid 12[®] disminuye la RFC en el esmalte sin desmineralizar y las incrementa en esmalte desmineralizado, el Clinpro[™] White Varnish reduce la RFC con independencia del tipo del grado de mineralización del esmalte y el Profluorid[®] Varnish las incrementa.

Conclusión 4. El pulido de la capa de Bifluorid 12[®] a las 24 horas en esmalte no desmineralizado y del Clinpro[™] White Varnish a las 24 horas y a los 21 días, tanto en esmalte desmineralizado como no desmineralizado, produce un incremento en la RFC. El pulido del Profluorid[®] Varnish no tiene ningún efecto sobre la adhesión a esmalte.

Conclusión 5. La fractura cohesiva de esmalte es más frecuente en el esmalte desmineralizado, en los esmaltes sin barnizar, en los barnizados con Bifluorid 12[®], en los esmaltes barnizados a las 24 y a los 7 días. Las fracturas adhesivas son más frecuentes en el esmalte sin desmineralizar, en los tratados con Clinpro[™] White Varnish y Profluorid[®] Varnish y en los tratados a 21 días.

Conclusión 6. El esmalte desmineralizado es un esmalte poroso. La aplicación de los tres barnices a las 24 horas, 7 días y 21 días produce una morfología similar. Las porosidades se van cubriendo progresivamente en lo que sería el proceso de remineralización.

Rechazamos la hipótesis de nuestro trabajo, ya que la remineralización del esmalte desmineralizado con barnices de flúor no reduce la fuerza de adhesión de los adhesivos dentales universales.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Adebayo OA, Burrow MF, Tyas MJ. Effects of conditioners on microshear bond strength to enamel after carbamide peroxide bleaching and/or casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) treatment. *J Dent.* 2007;35(11):862-70.
2. Agrawal N, Shashikiran ND, Singla S, Ravi KS, Kulkarni VK. Atomic force microscopic comparison of remineralization with casein-phosphopeptide amorphous calcium phosphate paste, acidulated phosphate fluoride gel and iron supplement in primary and permanent teeth: An in-vitro study. *Contemp Clin Dent.* 2014;5(1):75-80.
3. Akin M, Baka ZM, Ileri Z, Basciftci FA. Can demineralized enamel surfaces be bonded safely?. *Acta Odontol Scand.* 2014;72(4):283-9.
4. Al-Kawari HM, Al-Jobair AM. Effect of different preventive agents on bracket shear bond strength: in vitro study. *BMC Oral Health.* 2014;14:28.
5. Aras S, Küçüke men C, Küçüke men HC, Sönmez IS. Deproteinization treatment on bond strengths of primary, mature and immature permanent tooth enamel. *J Clin Pediatr Dent.* 2013;37(3):275-9.
6. Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of "micro" bond strength test methods. *Dent Mater.* 2010;26(2):e50-62.
7. Atash R, Van den Abbeele A. Bond strengths of eight contemporary adhesives to enamel and to dentine: an in vitro study on bovine primary teeth. *Int J Paediatr Dent.* 2005;15(4):264-73.
8. Attin R, Stawarczyk B, Keçik D, Knösel M, Wiechmann D, Attin T. Shear bond strength of brackets to demineralize enamel after different pretreatment methods. *Angle Orthod.* 2012;82(1):56-61.
9. Baka ZM, Akin M, Ileri Z, Basciftci FA. Effects of remineralization procedures on shear bond strengths of brackets bonded to demineralized enamel surfaces with self-etch systems. *Angle Orthod.* 2016;86(4):661-7.
10. Barbour ME, Shellis RP, Parker DM, Allen GC, Addy M. Inhibition of hydroxyapatite dissolution by whole casein: the effects of pH, protein concentration, calcium, and ionic strength. *Eur J Oral Sci.* 2008;116(5):473-8.
11. Bayrak S, Tuloglu N, Ozer F, Blatz MB. Effect of fluoride varnish with added casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on bond strength to enamel. *Journal of Adhesion Science and Technology.* 2016;31(6):581-90.

12. Baysal A, Uysal T. Do enamel microabrasion and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate affect shear bond strength of orthodontic brackets bonded to a demineralized enamel surface?. *Angle Orthod.* 2012;82(1):36-41.
13. Bishara SE, VonWald L, Olsen ME, Laffoon JF. Comparisons of two approaches for removing excess adhesive during the bonding procedure. *Angle Orthod.* 2000;70(2):149-53.
14. Braga RR, Meira JB, Boaro LC, Xavier TA. Adhesion to tooth structure: a critical review of "macro" test methods. *Dent Mater.* 2010;26(2):e38-49.
15. Burke FJ, Shortall AC, Combe EC, Aitchison TC. Assessing restorative dental materials: I. Test methods and assessment of results. *Dent Update.* 2002;29(4):188-94.
16. Cardoso CA, Cassiano LP, Costa EN, Souza-E-Silva CM, Magalhães AC, Grizzo LT, y cols. Effect of xylitol varnishes on remineralization of artificial enamel caries lesions in situ. *J Dent.* 2016;50:74-8.
17. Cardoso PE, Braga RR, Carrilho MR. Evaluation of micro-tensile, shear and tensile tests determining the bond strength of three adhesive systems. *Dent Mater.* 1998;14(6):394-8.
18. Castellanos JE, Marín Gallón LM, Úsuga Vacca MV, Castiblanco Rubio GA, Martignon Biermann S. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Univ Odontol.* 2013;32(69):49-59.
19. Cehreli SB, Sar C, Polat-Özsoy O, Unver B, Ozsoy S. Effects of a fluoride-containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate complex on the shear bond strength of orthodontic brackets. *Eur J Orthod.* 2012;34(2):193-7.
20. Cehreli ZC, Kecik D, Kocadereli I. Effect of self-etching primer and adhesive formulations on the shear bond strength of orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005;127(5):573-9.
21. Chersoni S, Bertacci A, Pashley DH, Tay FR, Montebugnoli L, Prati C. In vivo effects of fluoride on enamel permeability. *Clin Oral Investig.* 2011 Aug;15(4):443-9.
22. Choi S, Cheong Y, Lee GJ, Park HK. Effect of fluoride pretreatment on primary and permanent tooth surfaces by acid-etching. *Scanning.* 2010;32(6):375-82.
23. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, and Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res.* 2010;89(11):1187-97.

24. Cochrane NJ, Ratneser S, Woods MG, Reynolds EC. Effect of different orthodontic adhesive removal techniques on sound, demineralized and remineralized enamel. *Aust Dent J.* 2012;57(3):365-72.
25. Cochrane NJ, Reynolds EC. Calcium phosphopeptides--mechanisms of action and evidence for clinical efficacy. *Adv Dent Res.* 2012;24(2):41-7.
26. Conejo Fernández B. Caries: fisiopatología, patogenia y anatomía patológica. En: García Barbero J. Patología y terapéutica dental. 2ª ed. Barcelona: Elsevier España SL; 2015. p. 65-77.
27. Cury JA, Tenuta LM. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions?. *Braz Oral Res.* 2009;23(Suppl 1):23-30.
28. Da Silva Fidalgo TK, Pithon MM, do Santos RL, de Alencar NA, Abrahão AC, Maia LC. Influence of topical fluoride application on mechanical properties of orthodontic bonding materials under pH cycling. *Angle Orthod.* 2012;82(6):1071-7.
29. Damle SG, Bector A, Damle D, Kaur S. Effect of dentifrices on their remineralizing potential in artificial carious lesions: An in situ study. *Dent Res J (Isfahan).* 2016;13(1):74-9.
30. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res.* 2005;84(2):118-32.
31. Ekizer A, Zorba YO, Uysal T, Ayrikcila S. Effects of demineralization-inhibition procedures on the bond strength of brackets bonded to demineralized enamel surface. *Korean J Orthod.* 2012;42(1):17-22.
32. Elkassas D, Arafa A. Remineralizing efficacy of different calcium-phosphate and fluoride based delivery vehicles on artificial caries like enamel lesions. *J Dent.* 2014;42(4):466-74.
33. Elzuhery H, Fahmy OI, Elghandour IA, Ezzat MA, Abdalla AI. Bond strength and morphological interface of self-etching adhesives to demineralized and remineralized enamel. *J. Dent. Sci.* 2013; 83:287–295
34. Endo T, Ishida R, Komatsuzaki A, Sanpei S, Tanaka S, Sekimoto T. Effects of long-term repeated topical fluoride applications and adhesion promoter on shear bond strengths of orthodontic brackets. *Eur J Dent.* 2014;8(4):431-6.

35. Espasa E, Boj JR. Caries dental en el niño. En: Boj JR, Catalá M, Garcia-Ballesta C, Mendoza A. Odontopediatría. 1ª Ed. Barcelona: Masson; 2004a.p.125- 32.
36. Espasa E, Boj JR. Odontopediatría preventiva. En: Boj JR, Catalá M, García Ballesta C, Mendoza A, Odontopediatría. 1ª Ed. Barcelona: Masson; 2004b.p.133-141.
37. Farokh Gisovar E, Hedayati N, Shadman N, Shafiee L. Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate and Shear Bond Strength of Adhesives to Primary Teeth Enamel. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 2015;17(2):e11167.
38. Featherstone JDB. Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J*. 2008;53(3): 286-91.
39. Firoozmand LM, Noleto LE, Gomes IA, Bauer JR, Ferreira MC. Effect of Fluoride and Simplified Adhesive Systems on the Bond Strength of Primary Molars and Incisors. *Braz Dent J*. 2015;26(4):368-73.
40. Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan VV, Eden E. Minimal intervention dentistry for managing dental caries - a review: report of a FDI task group. *Int Dent J*. 2012;62(5):223-243.
41. García Barbero J, García Gómez LM. Adhesión. En: García Barbero J. Patología y terapéutica dental. 2ª ed. Barcelona: Elsevier España SL;2015. p.321-39.
42. Gateva N, Dikov V. Bond strength of self-etch adhesives with primary and permanent teeth dentin- in vitro study. *J IMAB*. 2012;18(2):168-73.
43. Giannini M, Makishi P, Ayres AP, Vermelho PM, Fronza BM, Nikaido T, Tagami J. Self-etch adhesive systems: a literature review. *Braz Dent J*. 2015;26(1):3-10.
44. Golpayegani MV, Sohrabi A, Biria M, Ansari G. Remineralization effect of topical NovaMin versus sodium fluoride (1.1%) on caries-like lesions in permanent teeth. *J Dent (Shiraz)*. 2012;9(1):68-75.
45. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. Embriología dentaria (odontogénesis). En: Gómez de Ferraris ME. Histología y embriología bucodental. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana;2009a. p.270-315.
46. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. Glándulas salivales. En: Gómez de Ferraris ME. Histología y embriología bucodental. 2ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana;2009b. p.151-87.
47. Gontijo L, Cruz Rde A, Brandão PR. Dental enamel around fixed orthodontic appliances after fluoride varnish application. *Braz Dent J*. 2007;18(1):49-53.

48. Gurunathan D, Somasundaram S, Kumar SA. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: a remineralizing agent of enamel. *Aust Dent J.* 2012;57(4):404–8.
49. Hanabusa M, Mine A, Kuboki T, Momoi Y, Van Ende A, Van Meerbeek B, De Munck J. Bonding effectiveness of a new 'multi-mode' adhesive to enamel and dentine. *J Dent.* 2012;40(6):475-84.
50. He LH, Swain MV. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2008;1(1):18-29.
51. Hegde MN, Devadiag D, Jermsily PA. Comparative evaluation of effect of acidic beverage on enamel surface pre-treated with various remineralizing agents: an In vitro study. *J Conserv Dent.* 2012; 15(4): 351-56.
52. Imran Farooq, Imran A. Moheet, Zonera Imran, Umer Farooq. A review of novel dental caries preventive material: Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP–ACP) complex. *King Saud University Journal of Dental Sciences.*2013;4(2):47-51.
53. International Organization for Standarization. ISO /TS 11405. Dental materials-guidance on testing of adhesion to tooth structure. Geneva: Switzerland; 2015.
54. Irmak Ö, Baltacıo lu H, Ulusoy N, Ba ı YH. Solvent type influences bond strength to air or blot-dried dentin. *BMC Oral Health.* 2016;16(1):77.
55. Jayarajan J, Janardhanam P, Jayakumar P, Deepika. Efficacy of CPP-ACP and CPP-ACPF on enamel remineralization- an in vitro study using scanning electron microscope and diagnodent. *Indian J Dent Res.* 2011; 22(1):77-82.
56. Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater.* 2013; 9(1):4457-86.
57. Karami M, Shirani F, Kaveh S, Talae S, Salehi E. Shear Bond Strength of Composite to Primary Enamel Treated with Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate Using Total-Etch and Self-Etch Bonding Systems. *The Journal of Islamic Dental Association of IRAN (JIDA).* 2015;27(2):97-103.
58. Karlinsey RL, Pfarrer AM. Fluoride plus functionalized -TCP: A promising combination for robust remineralization. *Adv Dent Res.* 2012;24(2):48-52.

59. Keçik D, Cehreli SB, Sar C, Unver B. Effect of acidulated phosphate fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate application on shear bond strength of orthodontic brackets. *Angle Orthod.* 2008;78(1):129-33.
60. Kimura T, Dunn WJ, Taloumis LJ. Effect of fluoride varnish on the in vitro bond strength of orthodontic brackets using a self-etching primer system. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004;125(3):351-6.
61. Krifka S, Börzsönyi A, Koch A, Hiller KA, Schmalz G, Friedl KH. Bond strength of adhesive systems to dentin and enamel--human vs. bovine primary teeth invitro. *Dent Mater.* 2008;24(7):888-94.
62. Kudiyirickal MG, Ivancaková R. Early enamel lesion part II. Histo-morphology and prevention. *Acta Medica (Hradec Kralove).* 2008;51(3):151-6.
63. Ladhe KA, Sastri MR, Madaan JB, Vakil KK. Effect of remineralizing agents on bond strength of orthodontic brackets: an in vitro study. *Prog Orthod.* 2014;15(1):28.
64. Leloup G, D'Hoore W, Bouter D, Degrange M, Vreven J. Meta-analytical review of factors involved in dentin adherence. *J Dent Res.* 2001;80(7):1605-14.
65. Leódido G, Fernandes H, Tonetto M, Presoto C, Bandeca M, Firoozmand L. Effect of fluoride solutions on the shear bond Strength of orthodontic brackets. *Braz dent journal.* 2012;23(6):698-702.
66. Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *J Dent.* 2014;42(Suppl.1):S12-20.
67. Llamas Cadaval R. Embriología e histología dental. En: García Ballesta C, Mendoza Mendoza A. Traumatología oral en odontopediatría. 1ªed. Madrid: Ergon;2003.p.1-11.
68. Loguercio AD, de Paula EA, Hass V, Luque-Martinez I, Reis A, Perdigão J. A new universal simplified adhesive: 36-Month randomized double-blind clinical trial. *J Dent.* 2015;43(9):1083-92.
69. Luque-Martinez IV, Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Reis A, Loguercio AD. Effects of solvent evaporation time on immediate adhesive properties of universal adhesives to dentin. *Dent Mater.* 2014;30(10):1126-35.
70. Lussi A, Hellwig E, Klimek J. Fluorides, mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2012; 122(11):1030-42.
71. Macchi RL. Sistemas, materiales y adhesión. En: Macchi RL. Materiales dentales. X Ed. Madrid. Editorial Médica Panamericana; 2000a.p.35-42.

72. Macchi RL. Adhesión a los tejidos dentarios. En: Macchi RL. Materiales dentales. X Ed. Madrid. Editorial Médica Panamericana; 2000b.p.167-76.
73. Maguire A, Rugg-Gunn AJ. Xylitol and caries prevention--is it a magic bullet? *Br Dent J.* 2003;194(8):429-36.
74. Mandri MN, Aguirre Grabre de Prieto A, Zamudio M. Adhesives systems in Restorative Dentistry. *Odontoestomatología.* 2015;17(26):50-56.
75. Manuja N, Nagpal R, Pandit IK. Dental adhesion: mechanism, techniques and durability. *J Clin Pediatr Dent.* 2012;36(3):223-34.
76. Marshall SJ, Bayne SC, Baier R, Tomsia AP, Marshall GW. A review of adhesion science. *Dent Mater.* 2010;26(2):e11-6.
77. Martín Hernández J. Aspectos prácticos de la adhesión a dentina. *Av Odontoestomatologica.* 2004;20(1):19-32.
78. Masarwa N, Mohamed A, Abou-Rabii I, Abu Zaghan R, Steier L. Longevity of Self-etch Dentin Bonding Adhesives Compared to Etch-and-rinse Dentin Bonding Adhesives: A Systematic Review. *J Evid Based Dent Pract.* 2016;16(2):96-106.
79. Metha AB, Veena Kumari RJ, Izadikhah V. Remineralization potential of bioactive glass and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on initial carious lesion: An in-vitro pH-cycling study. *J Conserv Dent.* 2014;17(1):3-7.
80. Memarpour M, Fakhraei E, Dadaein S, Vossoughi M. Efficacy of fluoride varnish and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate for remineralization of primary teeth: A randomized clinical trial. *Medical principles and practice.* 2015;24:231-7.
81. Mohd Said SN, Ekambaram M, Yiu CK. Effect of different fluoride varnishes on remineralization of artificial enamel carious lesions. *Int J Paediatr Dent.* 2017;27(3):163-173.
82. Montasser MA, Taha M. Effect of enamel protective agents on shear bond strength of orthodontic brackets. *Prog Orthod.* 2014;15(1):34.
83. Monterde S, Seara A. Influencia del cemento en la resistencia a la cizalla en los dientes no vitales no restaurados con espigas prefabricadas. *Rev Eur Odonto Estom.* 2003;15(5): 246-250.
84. Mota CS, Demarco FF, Camacho GB, Powers JM. Tensile bond strength of four resin luting agents bonded to bovine enamel and dentin. *J Prosthet Dent.* 2003;89(6):558-64.

85. Moule CA, Angelis F, Kim GH, Le S, Malipatil S, Foo MS, Burrow MF, Thomas D. Resin bonding using an all-etch or self-etch adhesive to enamel after carbamide peroxide and/or CPP-ACP treatment. *Aust Dent J.* 2007;52(2):133-7.
86. Muñoz MA, Luque I, Hass V, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *J Dent.* 2013;41(5):404-11.
87. Muñoz MA, Luque-Martinez I, Malaquias P, Hass V, Reis A, Campanha NH, Loguercio AD. In vitro longevity of bonding properties of universal adhesives to dentin. *Oper Dent.* 2015;40(3):282-92.
88. Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez I, Szesz AL, Reis A, Loguercio AD, Bombarda NH, Perdigão J. Influence of a hydrophobic resin coating on the bonding efficacy of three universal adhesives. *J Dent.* 2014;42(5):595-602.
89. Nakabayashi N, Kojima K, Masuhara E. The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates. *J Biomed Mater Res.* 1982;16(3):265-73.
90. Nicholson JW. Chemistry of glass-ionomer cements: a review. *Biomaterials.* 1998;19(6):485-494.
91. Nóbrega DF, Fernández CE, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Cury JA. Frequency of Fluoride Dentifrice Use and Caries Lesions Inhibition and Repair. *Caries Res.* 2016;50(2):133-40.
92. Núñez DP, García Bacallao L. Bioquímica de la caries dental. *Rev haban cienc méd.* 2010;9(2):156-66.
93. Oesterle LJ, Shellhart WC, Belanger GK. The use of bovine enamel in bonding studies. *Am J Orthod dentofacial orthop.* 1998;114:514-9.
94. Oncag G, Tuncer AV, Tosun YS. Acidic soft drinks effects on the shear bond strength of orthodontic brackets and a scanning electron microscopy evaluation of the enamel. *Angle Orthod.* 2005;75(2):247-53.
95. Palaniswamy UK, Prashar N, Kaushik M, Lakkam SR, Arya S, Pebbeti S. A comparative evaluation of remineralizing ability of bioactive glass and amorphous calcium phosphate casein phosphopeptide on early enamel lesion. *Dental Research Journal.* 2016;13(4):297-302.
96. Paradella TC, Fava M. Bond strength of adhesive systems to human tooth enamel. *Braz Oral Res.* 2007;21(1):4-9.

97. Park S-Y, Cha J-Y, Kim K-N, Hwang C-J. The effect of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate on the *in vitro* shear bond strength of orthodontic brackets. *Korean Journal of Orthodontics*. 2013;43(1):23-28.
98. Pashley DH, Sano H, Ciucchi B, Yoshiyama M, Carvalho RM. Adhesion testing of dentin bonding agents: a review. *Dent Mater*. 1995;11(2):117-25.
99. Pashley DH, Tay FR, Breschi L, Tjäderhane L, Carvalho RM, Carrilho M, Tezvergil-Mutluay A. State of the art etch-and-rinse adhesives. *Dent Mater*. 2011;27(1):1-16.
100. Patil N, Choudhari S, Kulkarni S, Joshi SR. Comparative evaluation of remineralizing potential of three agents on artificially demineralized human enamel: an *in vitro* study. *J Conserv Dent*. 2013;16(2):116-20.
101. Perdigão J, Muñoz MA, Sezinando A, Luque-Martinez IV, Staichak R, Reis A, Loguercio AD. Immediate adhesive properties to dentin and enamel of a universal adhesive associated with a hydrophobic resin coat. *Oper Dent*. 2014;39(5):489-99.
102. Perdigão J, May KN Jr, Wilder AD Jr, Lopes M. The effect of depth of dentin demineralization on bond strengths and morphology of the hybrid layer. *Oper Dent*. 2000;25(3):186-94.
103. Pereira M, Cople L. Molar Incisor Hypomineralization: morphological, aetiological, epidemiological and clinical considerations, contemporary approach to dental caries. En: Ming-yu Li. Contemporary Approach to Dental Caries. 2012.p.423-46.DOI: 10.5772/37372. Available from: <https://www.intechopen.com/books/contemporary-approach-to-dental-caries/molar-incisor-hypomineralization-epidemiological-morphological-and-clinical-considerations->.
104. Phillips RW. Estructura de la material. Adhesión. En Phillips RW. La ciencia de los materiales dentales de Skinner. X ed. Mexico. Editorial Interamericana: McGrawHill;1993a. p.11-28.
105. Phillips RW. Resinas para restauraciones. En Phillips RW. La ciencia de los materiales dentales de Skinner. X ed. Mexico. Editorial Interamericana: McGrawHill;1993b. p.219-254.
106. Placido E, Meira JB, Lima RG, Muench A, de Souza RM, Ballester RY. Shear versus micro-shear bond strength test: a finite element stress analysis. *Dent Mater*. 2007;23(9):1086-92.

107. Ramos-Gomez FJ, Crystal YO, Ng MW, Crall JJ, Featherstone JD. Pediatric dental care: prevention and management protocols based on caries risk assessment. *J Calif Dent Assoc.* 2010;38(10):746-61.
108. Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence?. *Aust Dent J.* 2008;53(3):268–73
109. Rosa WL, Piva E, Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2015;43(7):765-76.
110. Sano H, Shono T, Sonoda H, Takatsu T, Ciucchi B, Carvalho R, Pashley DH. Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength--evaluation of a micro-tensile bond test. *Dent Mater.* 1994;10(4):236-40.
111. Saralegui Calvo y González Losada. Histología dentaria. En: García Barbero J. Patología y terapéutica dental. 2ª ed. Barcelona: Elsevier España SL;2015.p.3-16.
112. Sarolu I, Aras S, Ozta D. Effect of deproteinization on composite bond strength in hypocalcified amelogenesis imperfecta. *Oral Dis.* 2006;12(3):305-8.
113. Schemehorn BR, Wood GD, McHale W, Winston AE. Comparison of fluoride uptake into tooth enamel from two fluoride varnishes containing different calcium phosphate sources. *J Clin Dent.* 2011;22(2):51-4.
114. Scherrer SS, Cesar PF, Swain MV. Direct comparison of the bond strength results of the different test methods: a critical literature review. *Dent Mater.*2010;26(2):e78-93.
115. Shadman N, Ebrahimi SF, Shoul MA, Sattari H. *In vitro* evaluation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate effect on the shear bond strength of dental adhesives to enamel. *Dental Research Journal.* 2015;12(2):167-172.
116. Shellis RP, Featherstone JDB, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:163–79.
117. Shen P, Bagheri R, Walker GD, Yuan Y, Stanton DP, Reynolds C, Reynolds EC. Effect of calcium phosphate addition to fluoride containing dental varnishes on enamel demineralization. *Australian dental journal.* 2016;61(3):357-365.
118. Schmidlin PR, Zehnder M, Pasqualetti T, Imfeld T, Besek MJ. Penetration of a bonding agent into de- and remineralized enamel in vitro. *J AdhesDent.* 2004;6(2):111–5.
119. Simmer JP, Hu JC. Dental enamel formation and its impact on clinical dentistry. *J Dent Educ.* 2001;65(9):896–905.

120. Sirisha K, Rambabu T, Shankar YR, Ravikumar P. Validity of bond strength tests: A critical review: Part I. *J Conserv Dent*. 2014;17(4):305-11.
121. Sirisha K, Rambabu T, Ravishankar Y, Ravikumar P. Validity of bond strength tests: A critical review-Part II. *J Conserv Dent*. 2014 Sep;17(5):420-6.
122. Soares FZ, Follak A, da Rosa LS, Montagner AF, Lenzi TL, Rocha RO. Bovine tooth is a substitute for human tooth on bond strength studies: A systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Dent Mater*. 2016;32(11):1385-93.
123. Stecksén-Blicks C, Renfors G, Oscarson ND, Bergstrand F, Twetman S. Caries-preventive effectiveness of a fluoride varnish: a randomized controlled trial in adolescents with fixed orthodontic appliances. *Caries Res*. 2007;41(6):455-9.
124. Swarup JS, Rao A. Enamel surface remineralization: Using synthetic nanohydroxyapatite. *Contemp Clin Dent*. 2012;3(4):433-6.
125. Swift EJ Jr, Perdigão J, Heymann HO. Bonding to enamel and dentin: a brief history and state of the art, 1995. *Quintessence Int*. 1995;26(2):95-110.
126. Tabrizi A, Cakirer B. A comparative evaluation of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate and fluoride on the shear bond strength of orthodontic brackets. *Eur J Orthod*. 2011;33(3):282-7.
127. Tanaka M, Matsunaga K, Kadoma Y. Correlation in inorganic ion concentration between saliva and plaque fluid. *J Med Dent Sci*. 2000;47(1):55-59.
128. Ten Cate JM. Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand*. 1999;57:325-9.
129. Ten Cate JM. Remineralization of deep enamel dentine caries lesions. *Aust Dent J*. 2008;53(3):281-5
130. Teruel J de D, Alcolea A, Hernández A, Ruiz AJO. Comparison of chemical composition of enamel and dentine in human, bovine, porcine and ovine teeth. *Arch Oral Biol*. 2015;60(5):768-75.
131. Tredwin CJ, Young AM, Abou Neel EA, Georgiou G, Knowles JC. Hydroxyapatite, fluor-hydroxyapatite and fluorapatite produced via the sol-gel method: dissolution behaviour and biological properties after crystallisation. *J Mater Sci Mater Med*. 2014;25(1):47-53.
132. Uysal T, Baysal A, Uysal B, Aydinbelge M, Al-Qunaian T. Do fluoride and casein-phosphopeptide-amorphous calcium phosphate affect shear bond strength of

- orthodontic brackets bonded to a demineralized enamel surface?. *Angle Orthodontist*. 2011;81(3):490-5.
133. Van Landuyt KL, Snauwaert J, De Munck J, Peumans M, Yoshida Y, Poitevin A, Coutinho E, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Systematic review of the chemical composition of contemporary dental adhesives. *Biomaterials*. 2007;28(26):3757-85.
134. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent*. 2003;28(3):215-35.
135. Van Meerbeek B, Peumans M, Poitevin A, Mine A, Van Ende A, Neves A, De Munck J. Relationship between bond-strength tests and clinical outcomes. *Dent Mater*. 2010;26(2):e100-21.
136. Van Meerbeek B, Yoshihara K, Yoshida Y, Mine A, De Munck J, Van Landuyt KL. State of the art of self-etch adhesives. *Dent Mater*. 2011;27(1):17-28.
137. Vermelho PM, Reis AF, Ambrosano GM, Giannini M. Adhesion of multimode adhesives to enamel and dentin after one year of water storage. *Clin Oral Investig*. 2016 Oct 7. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27714528.
138. Wagner A, Wendler M, Petschelt A, Belli R, Lohbauer U. Bonding performance of universal adhesives in different etching modes. *J Dent*. 2014;42(7):800-7.
139. Walsh LJ. Contemporary technologies for remineralization therapies: a review. *Int Dent SA*. 2009;11(6):6-16.
140. Watanabe LG, Marshall GW Jr, Marshall SJ. Dentin shear strength: effects of tubule orientation and intratooth location. *Dent Mater*. 1996;12(2):109-15.
141. West NX, Joiner A. Enamel mineral loss. *J Dent*. 2014;42(Suppl 1):S2-11.
142. Wiegand A, Buchala W, Attin T. Review on fluoride releasing restorative materials, fluoride release and uptake characteristics, antibacterial activity and influence on caries formation. *Dent Mater*. 2007;23(3):343-62.
143. Wiegand A, Stawarczyk B, Kolakovic M, Hämmerle CH, Attin T, Schmidlin PR. Adhesive performance of a caries infiltrant on sound and demineralised enamel. *J Dent*. 2011;39(2):117-21.

144. William V, Messer LB, Burrow MF, Molar incisor hypomineralization: review and recommendations for clinical management. *Pediatr. Dent.* 2006;28: 224-32.
145. Xiaojun D, Jing L, Xuehua G, Hong R, Youcheng Y, Zhangyu G, Sun J. Effects of CPP-ACP paste on the shear bond strength of orthodontic brackets. *Angle Orthod.* 2009;79(5):945-50.
146. Xie Y, Hill CA, Xiao Z, Militz H, Mai C. Silane coupling agents used for natural fiber/polymer composites: A review. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing.* 2010;41(7):806-819.
147. Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci.* 2011;53(3):273-82.
148. Yoshida Y, Inoue S. Chemical analyses in dental adhesive technology. *Japanese Dental Science Review.* 2012;48(2):141-52.
149. Yoshida Y, Van Meerbeek B, Nakayama Y, Yoshioka M, Snauwaert J, Abe Y, Lambrechts P, Vanherle G, Okazaki M. Adhesion to and decalcification of hydroxyapatite by carboxylic acids. *J Dent Res.* 2001;80(6):1565-9.
150. Yoshioka M, Yoshida Y, Inoue S, Lambrechts P, Vanherle G, Nomura Y, Okazaki M, Shintani H, Van Meerbeek B. Adhesion/decalcification mechanisms of acid interactions with human hard tissues. *J Biomed Mater Res.* 2002;59(1):56-62.
151. Zhang K, Cheng L, Weir MD, Bai YX, Xu HH. Effects of quaternary ammonium chain length on the antibacterial and remineralizing effects of a calcium phosphate nanocomposite. *Int J Oral Sci.* 2016;8:45-53
152. Zhu JJ, Tang AT, Matinlinna JP, Hägg U. Acid etching of human enamel in clinical applications: a systematic review. *J Prosthet Dent.* 2014;112(2):122-35.

9. ANEXOS

Anexo 1

Tabla 21. Estadística descriptiva y resistencia a las fuerzas de adhesión (MPa) de los diferentes grupos de BF12							
Grupo		n	Media	Error	Mediana	25%	75%
Esmalte sin desmineralizar	Sin barniz	20	46,564	2,391	44,979	42,238	52,652
	Barniz 24h	20	35,063	2,053	35,997	29,668	40,629
	Barniz 24h + PUL	20	42,831	1,795	43,635	39,038	48,939
	Barniz 7d	20	44,662	2,085	44,837	38,207	50,743
	Barniz 7d + PUL	20	44,819	1,562	44,342	41,885	50,177
	Barniz 21d	20	43,530	1,164	42,882	40,156	48,088
	Barniz 21d + PUL	20	43,035	1,250	43,732	38,244	47,663
Esmalte desmineralizado	Sin barniz	20	37,942	1,632	35,644	33,027	43,069
	Barniz 24h	20	35,711	2,006	37,199	27,847	41,708
	Barniz 24h + PUL	20	38,278	2,561	38,861	34,194	45,969
	Barniz 7d	20	38,033	2,301	37,907	28,059	45,757
	Barniz 7d + PUL	20	41,714	1,748	44,059	38,472	47,578
	Barniz 21d	20	42,624	1,143	44,157	38,739	45,680
	Barniz 21d + PUL	20	41,887	1,017	41,395	38,173	45,255

Anexo 2

Tabla 22. Estadística descriptiva y resistencia a las fuerzas de adhesión (MPa) de los diferentes grupos de CWV

Grupo		n	Media	Error	Mediana	25%	75%
Esmalte sin desmineralizar	Sin barniz	20	40,354	1,539	39,093	35,800	44,370
	Barniz 24h	20	31,108	2,397	27,373	21,884	38,314
	Barniz 24h + PUL	20	39,717	1,773	40,439	33,888	44,547
	Barniz 7d	20	38,077	2,255	40,404	29,639	47,592
	Barniz 7d + PUL	20	40,014	2,156	38,810	31,303	49,540
	Barniz 21d	20	24,129	1,936	24,788	16,395	27,727
	Barniz 21d + PUL	20	32,450	1,965	30,807	26,629	35,482
Esmalte desmineralizado	Sin barniz	20	34,756	1,137	33,959	30,772	39,093
	Barniz 24h	20	25,120	2,310	25,000	17,741	31,232
	Barniz 24h + PUL	20	38,162	1,109	38,208	36,119	42,210
	Barniz 7d	20	35,506	2,748	37,783	22,627	44,724
	Barniz 7d + PUL	20	39,023	2,193	41,714	36,544	45,503
	Barniz 21d	20	23,739	1,860	22,982	17,387	31,374
	Barniz 21d + PUL	20	32,364	1,518	30,120	26,346	38,102

Anexo 3

Tabla 23. Estadística descriptiva y resistencia a las fuerzas de adhesión (MPa) de los diferentes grupos de PFV							
Grupo		n	Media	Error	Mediana	25%	75%
Esmalte sin desmineralizar	Sin barniz	20	41,431	1,288	41,926	36,190	44,016
	Barniz 24h	20	41,880	1,834	41,254	36,013	48,371
	Barniz 24h + PUL	20	39,844	2,057	37,854	34,490	46,707
	Barniz 7d	20	42,422	1,555	42,351	37,712	46,671
	Barniz 7d + PUL	20	40,467	1,048	41,112	39,129	43,732
	Barniz 21d	20	46,792	0,929	47,805	42,882	50,744
	Barniz 21d + PUL	20	46,696	1,517	48,796	42,139	51,593
Esmalte desmineralizado	Sin barniz	20	32,064	2,172	32,011	25,000	39,589
	Barniz 24h	20	44,105	3,312	46,105	37,500	52,249
	Barniz 24h + PUL	20	41,608	2,659	41,501	35,977	51,239
	Barniz 7d	20	45,326	1,514	44,299	40,935	50,992
	Barniz 7d + PUL	20	44,019	1,482	42,670	39,873	48,265
	Barniz 21d	20	43,435	1,583	43,555	38,385	49,681
	Barniz 21d + PUL	20	41,204	1,637	41,431	36,544	46,034