



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

**“Efecto del Láser Er:YAG y remineralizantes en
la prevención de caries dental en fosas y fisuras”**

TESIS

Para Obtener el Grado de:

Doctora en Ciencias de la Salud

Presenta:

Mtra. en C. O. Alma Yadira Ceballos Jiménez

Comité Tutorial:

Dra. en C. S. Laura Emma Rodríguez Vilchis

Tutor Académico

Dra. en O. Rosalía Contreras Bulnes

Tutor Interno

Dr. en C. Jesús Ángel Arenas Alatorre

Tutor Externo

Toluca, Estado de México, Junio de 2018.



VOTOS APROBATORIOS



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

Fecha: 7 Junio de 2018.

Comisión Académica del Doctorado en Ciencias de la Salud

DICTAMEN DE VOTOS APROBATORIOS TESIS

Los docentes que integran el **COMITÉ DE TUTORES** de la maestra: Alma Yadira Ceballos Jiménez, egresada del programa del Doctorado en Ciencias de la Salud de la generación 2015A-2017B, quien realizó el trabajo de tesis titulado: **"Efecto del Láser Er: YAG y Remineralizantes en la Prevención de Caries Dental en Fosas y Fisuras"**, bajo la Tutoría Académica de la **Dra. en C.S. Laura Emma Rodríguez Vilchis**, ha sido dirigido, revisado y discutido, por lo que se ha considerado **DICTAMINARLO COMO APROBADO**, ya que reúne los requisitos que exige el Artículo 75 del Reglamento de Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO

"2018, Año del 190 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México"

Dra. en C.S. Laura Emma Rodríguez Vilchis
Tutora Académica

Dra. en O. Rosalía Contreras Bulnes
Tutora Interno

Dr. en C. Jesús Ángel Arenas Alatorre
Tutor Externo

Paseo Tolloccan s/n esq. Jesús Carranza
col. Moderna de la Cruz. C.P. 50180
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 2706270 / 2702357
feyo@uaemex.mx





Universidad Autónoma del Estado de México
 Facultad de Enfermería y Obstetricia
 Coordinación del Doctorado en Ciencias de la Salud

ACTA DE VOTOS APROBATORIOS DE TESIS

Fecha: 7 de Junio 2018

Nombre del Alumno (a): Alma Yadira Ceballos Jiménez
 Título de la tesis: Efecto del Láser Er: YAG y Remineralizantes en la Prevención de Caries Dental en Fosas y Fisuras

Nombre	Dictamen (Aprobado o Rechazado)	Observaciones
Laura Emma Rodríguez Vilchis	<u>Aprobado</u>	
Rosalía Contreras Bulnes	<u>Aprobado</u>	
Jesús Ángel Arenas Alatorre	<u>Aprobado</u>	

Laura Emma Rodríguez Vilchis
 TUTOR ACADÉMICO
 Nombre y firma

Rosalía Contreras Bulnes
 TUTOR INTERNO
 Nombre y firma

Jesús Ángel Arenas Alatorre
 TUTOR EXTERNO
 Nombre y firma



Paseo Tolloacan s/h esq.- Jesús Carranza
 col. Moderna de la Cruz. C.P. 50180
 Toluca, Estado de México
 Tel. (722) 2706270 / 2702357
 feyo@uaemex.mx

ÍNDICE

	Pág.
Introducción	
1. Antecedentes	1
2. Planteamiento del problema	12
3. Justificación	14
4. Hipótesis	15
5. Objetivos: General y específicos	16
6. Diseño metodológico	17
6.1 Diseño del estudio	17
6.2 Universo y Muestra	17
6.3 Procedimientos	17
6.4 Criterios de inclusión	23
6.5 Criterios de exclusión	23
6.6. Instrumentos	23
6.7 Recolección de datos	23
6.8 Análisis de datos	27
6.9 Aspecto ético	27
7. Resultados	29
7.1 Artículo aceptado	29
7.1.1 Título del artículo	29
7.1.2 Página frontal del manuscrito	29
7.1.3 Carta de aceptación	30
7.2 Artículo enviado	31
7.2.1 Título del artículo	31
7.2.2 Carta de envío	31
8. Discusión general	32
9. Conclusiones generales	38
10. Bibliohemerografía	39
11. Anexos	51

INTRODUCCIÓN

Las superficies dentales consideradas de mayor riesgo a caries, son las fosas y fisuras oclusales de los molares permanentes, por lo que es importante incrementar la resistencia del esmalte al ataque ácido, para evitar la aparición de lesiones de caries. Diversos métodos han sido utilizados desde hace muchos años, para evitar la aparición de caries en esas áreas; entre los cuales se encuentran los selladores de fosas y fisuras, sin embargo, es posible que ocurra la pérdida parcial o total de estos y requiera constantes revisiones clínicas. Por otra parte, el fluoruro ha demostrado ser muy efectivo en las superficies lisas, pero no tan efectivo en fosas y fisuras oclusales. Existen actualmente otros agentes remineralizantes a los cuales se les ha agregado fluoruro, con el fin de complementar y mejorar la capacidad del fluoruro, al restaurar el equilibrio mineral de la estructura dental e inhibir eficazmente la desmineralización del esmalte, sin embargo, dichos agentes remineralizantes continúan siendo estudiados debido a que, su uso es controvertido. Además, se ha reportado que la absorción del fluoruro se incrementa con la irradiación previa con láser Er:YAG, sin embargo, no existen suficientes estudios que combinen el uso de Er:YAG y agentes remineralizantes. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del láser Er:YAG, de remineralizantes y del tratamiento combinado en la prevención de caries dental en esmalte de fosas y fisuras. Los resultados obtenidos mostraron incrementos en el % at. de Ca, P y relación Ca / P en todos los grupos irradiados, lo que sugiere que la estructura química del esmalte podría verse favorecida, respecto a la resistencia al ataque ácido, en los grupos NaF y láser Er:YAG + NaF se tuvo una reducción del 30% en la pérdida de calcio en comparación al grupo control.

1. Antecedentes

1.1. Caries

1.1.1. Generalidades

La caries una enfermedad bacteriana transmisible de los dientes que afecta a la población mundial,¹ de acuerdo con la OMS, la caries sigue siendo un problema importante de salud pública, afectando entre 60-90% de la población escolar y a la mayoría de los adultos.² Se caracteriza por la desintegración progresiva de sus tejidos calcificados, puede conducir a la cavitación y a posibles complicaciones clínicas; y cuya dinámica se centra en la desmineralización y remineralización de los tejidos dentales.^{1,3,4}

El fenómeno de desmineralización-remineralización es un ciclo continuo, variable y normal de las estructuras duras del esmalte, causado por la producción ácida bacteriana que se origina principalmente por la ingesta de carbohidratos que al metabolizarse en la placa dental resulta en glucólisis anaeróbica y en la producción de ácido (láctico, acético, fórmico y propiónico).¹

En condiciones fisiológicas normales el pH salival es de 6.3. En esta condición los cristales de apatita se encuentran estables, pero cuando el pH salival desciende (debido a los ácidos resultantes del metabolismo bacteriano) hasta 5.5 (pH crítico), el esmalte inicia la desmineralización, estos cristales se van a disociar y difundirse hacia el medio externo. Este no es un proceso que ocurre de manera incesante, ya que la saliva tiene una capacidad buffer que ayuda a la estabilización de los cristales de hidroxiapatita, amortigua los ácidos, proporciona una solución saturada de calcio y fosfato para inhibir la desmineralización y produce remineralización, tiene varios componentes antibacterianos y transporta calcio en un estado de complejo soluble.^{5,6}

La desmineralización se puede entender como la pérdida de minerales de apatita de la estructura del esmalte y generalmente es vista como el paso inicial en el proceso de caries.¹

La desmineralización depende de dos factores principales: el pH de la placa y la saturación de los minerales del diente. Si los niveles de saturación y del pH se encuentran altos la desmineralización no ocurrirá.⁵

Si los iones fluoruro están presentes en la superficie del cristal en suficiente concentración antes o durante la desmineralización, estos iones pueden adsorberse sobre la superficie de los cristales e inhibir marcadamente la desmineralización.⁷ El ión fluoruro fuertemente adsorbido y altamente electronegativo puede proteger, al menos parcialmente, contra la desmineralización por ácido. Este fenómeno es uno de los mecanismos de acción del fluoruro cuando está disponible tópicamente en los dientes y en la placa.^{1,3,8}

La remineralización ocurre bajo un pH neutro, Es el proceso de reparación natural de las lesiones cariosas no cavitadas subsuperficiales,^{1,9} consiste en el remplazo de los minerales que el diente ha perdido previamente. El proceso de remineralización permite que la pérdida previa de iones de fosfato, calcio y otros minerales, puedan ser remplazados por los mismos o por otros iones similares provenientes de la saliva, una fuente externa o del tejido mineralizado.^{1,5} La remineralización produce una mayor resistencia a una nueva disolución ya que, durante la remineralización, los componentes se sustituyen con sustancias menos solubles que el mineral de hidroxiapatita carbonatado original.^{1,10}

El balance en el proceso de desmineralización y remineralización se ha considerado como la forma única o natural de mantener los dientes sanos, generando con esto un impacto muy importante en la prevención de la caries dental.¹

1.1.2. Caries de fosas y fisuras

Se ha reportado que en los dientes permanentes la caries en fosas y fisuras oclusales representa la mayoría de las lesiones de caries, en comparación con la caries de superficies interproximales y lisas.¹¹⁻¹⁵ Este hecho ilustra la necesidad de tratamiento invasivos de caries en estas superficies, por lo que la evaluación de riesgo individual es necesario para la aplicación de las medidas preventivas.

La morfología de las superficies oclusales se caracterizan por presentar sitios con fosas y fisuras que ofrecen nichos perfectos para que proliferen microorganismos; debido a que estos no son fáciles de limpiar, se tornan altamente cariogénicos,^{12,16,17} son áreas difíciles para prevenir o tratar de manera conservadora. Añadido a esto, otro factor a considerar es el período de erupción de los primeros molares permanentes que se da entre los 6-7 años, edad de poca madurez para realizar una higiene bucal adecuada.¹⁵ Por otra parte, cuando los dientes erupcionan están anatómicamente completos pero cristalográficamente incompletos, lo cual se da a partir del intercambio iónico salival; este proceso termina hasta aproximadamente dos años después de su erupción, por lo cual, es un período de susceptibilidad a caries, debido a que no han adquirido su mineralización completa.¹⁸

Es necesario tener en cuenta que dentro de las medidas preventivas que pueden ser aplicadas se encuentran: control de la placa dental, control de dieta, uso de fluoruros sistémicos y/o tópicos y finalmente los selladores de fosas y fisuras.¹⁸⁻²⁰ Sin embargo, con relación a estos últimos, se ha reportado que es común que ocurra la pérdida completa o parcial del sellador, y pueda resultar en caries.²¹⁻²³

Por lo tanto, se observa la necesidad de nuevas estrategias y medidas preventivas contra la caries de superficies oclusales, tal es el caso del uso de otros agentes remineralizantes y de

la tecnología láser, ambos tratamientos han sido estudiados y actualmente siguen en proceso de investigación.

1.2. Agentes Remineralizantes

1.2.1. Generalidades

Un agente remineralizante es aquella sustancia capaz de proveer de minerales a la estructura dental (promueve la remineralización). En la actualidad además del fluoruro existen una variedad de agentes remineralizantes tales como el complejo de fosfopéptidos de caseína-fosfato de calcio amorfo, fosfosilicato de calcio y sodio, fosfato tricálcico, vidrio bioactivo, hidroxiapatita, xilitol, entre otros, usados como métodos preventivos. La efectividad de estos agentes remineralizantes, se debe a que inhiben la formación y el crecimiento del biofilm sobre el diente y son capaces de liberar calcio y fosfato a la cavidad oral, para así promover el proceso de remineralización del diente.²⁴⁻²⁷ Hoy en día los nuevos agentes afrontan el desafío de proteger, remineralizar y reparar la estructura dentaria.

1.2.2. Flúor

Es un mineral natural que tiene una distribución extensa en la naturaleza. Es el más electronegativo de todos los elementos químicos y por consiguiente, nunca se encuentra en el medio ambiente en su forma elemental.

En 1904 da inicio en Europa la investigación científica sobre los efectos anticaries de los fluoruros.²⁸ El fluoruro es un agente preventivo que ha sido investigado durante mucho tiempo y con su adecuado uso se ha logrado la reducción de la caries en los países con un alto desarrollo social y económico,²⁹ por lo que el fluoruro es una terapia establecida para el control de la desmineralización de los dientes y la prevención de caries.^{8,25,26,29}

1.2.2.1. Mecanismo de Acción

Los iones de fluoruro pueden ser incorporados en la estructura de hidroxiapatita del esmalte dental formando fluorapatita y fluoruro de calcio, sustituyendo los grupos hidroxilo, haciéndola menos soluble.^{8,25-27,29}

Mecanismos por los cuales el fluoruro reduce la caries:

- Incrementa la resistencia a la disolución ácida, formando cristales más grandes, con menos imperfecciones y estabilizándolos.
- Inhibe los sistemas enzimáticos bacterianos que convierten los azúcares en ácidos en la placa. En concentraciones altas el fluoruro es tóxico para las bacterias.
- Favorece la precipitación de iones de calcio y fosfato en forma de apatita más que en forma de fosfatos de calcio solubles.^{8,25-27}

La amplia investigación epidemiológica y de laboratorio sobre el mecanismo de acción del fluoruro en la prevención de caries indica que, el efecto predominante del fluoruro es tópico²⁸ y ocurre principalmente al reducir la disolución del esmalte y estimular la remineralización de las lesiones tempranas de caries.^{8,24-27}

Sin embargo, aunque el fluoruro ha logrado disminuir la ocurrencia de la caries, está lejos de ser una cura completa; esta necesidad ha redirigido la investigación para desarrollar nuevos agentes preventivos que pueden actuar como un complemento de fluoruro o de manera independiente al mismo. Recientemente, esto ha llevado a la introducción de nuevos materiales que aportan iones de calcio y fosfato.²⁴⁻²⁷

1.2.3 Complejo de Fosfopéptidos de Caseína-Fosfato de Calcio Amorfo (por sus siglas en inglés CPP-ACP)

En 1981 Eric Reynolds en conjunto con el Colegio de Ciencia Dental de la Universidad de Melbourne en Australia demostró que la leche, y sus derivados ayudaban a la prevención de caries dental. Además también descubrieron que era una parte en particular de la caseína, los fosfopéptidos de caseína (CPP), responsables de la actividad protectora del diente. En sus investigaciones demostraron que la secuencia de aminoácidos (-Ser(p)-Ser(p)-Ser(p)-Glu-Glu) tenía la capacidad para estabilizar iones de calcio y fosfato y mantenerlos en un estado amorfo soluble. Los cuales normalmente combinados formaban cristales de fosfato de calcio insoluble.^{30,31} A partir de este descubrimiento realizaron diversos experimentos en laboratorio (*in vitro*³¹⁻³⁶ e *in situ*^{30, 37-39}) y más tarde en ensayos clínicos,⁴⁰⁻⁴⁹ demostrando que el complejo de CPP-ACP funciona en la prevención de caries y reparación de los tejidos desmineralizados. El complejo CPP-ACP es capaz de aumentar los niveles salivales de calcio y fosfato en un pH ácido. También puede actuar como buffer para prevenir y contrarrestar las bajas de pH producidas por las bacterias acidogénicas.⁵⁰⁻⁵³

Por otra parte, se ha informado que CPP-ACP interactúa con iones de fluoruro. El efecto aditivo anticariogénico reportado de CPP-ACP y fluoruro puede ser atribuible a la localización de los novedosos nanoclusters de iones de calcio, flúor y fosfato en la superficie del diente, iones biodisponibles en la proporción molar correcta para formar fluorapatita.⁵⁰

El complejo CPP-ACP fue patentado por la Universidad de Melbourne, bajo el nombre de Recaldent®. En 1999 la FDA (Food and Drug Administration) acepta a Recaldent como “seguro”.

Actualmente se encuentran en el mercado, diversos productos que contienen CPP-ACP y CPP-ACP adicionado con fluoruro (geles, cremas dentales, enjuagues bucales, chicles, leche

yogurt y bebidas), pudiendo ser utilizado tanto por el profesional odontológico, como en tratamientos ambulatorios por el paciente.

1.2.4. Hidroxiapatita

La hidroxiapatita (HA) es un biocristal, formado por átomos de calcio, fósforo, e hidrógeno, de acuerdo con la fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{HO})_2$, estos iones se alinean para formar cristales hexagonales, que a su vez se van a empaquetar densamente. La HA está presente en dientes y huesos confiriéndoles su dureza característica. En la naturaleza las apatitas se pueden encontrar formando parte de las rocas sedimentarias y metamórficas. En los huesos está siempre acompañada de estructuras orgánicas como el colágeno.⁵⁴

Los principales componentes químicos de la hidroxiapatita son el calcio y el fosfato,^{54,55} sin embargo, la HA natural contiene porcentajes mínimos de sodio, cloro, carbonatos y magnesio. Las hidroxiapatitas sintéticas se obtienen a partir de fosfatos dicálcicos y tricálcicos. La HA es un biomaterial por excelencia. Las investigaciones acerca de la estequiometría y de la asociación con algunos elementos traza en las apatitas biológicas han sido de enorme relevancia para la investigación de biomateriales que se han utilizado en odontología.⁵⁴ Como biomaterial se realizan investigaciones para determinar sus formas óptimas de aplicación, una de ellas es el uso de pastas dentales, y se ha demostrado que posee propiedades de remineralización y/o reparación de la superficie del esmalte⁵⁴⁻⁵⁶ puede producir un recubrimiento biomimético en la superficie del mismo, en lugar de endurecer la capa existente con flúor.^{55,57}

El interés recientemente desarrollado por la nanotecnología en muchos campos, está produciendo interesantes aplicaciones en odontología. La nano-hidroxiapatita es un material con un amplio uso en odontología. Con respecto a campos preventivos, tiene notables efectos

remineralizantes en lesiones iniciales de esmalte, ciertamente más alto que los fluoruros tradicionales utilizados hasta ahora para este propósito. La nano-hidroxiapatita es, de hecho, una mejor fuente de Ca libre, y este es un elemento clave en lo que respecta a la remineralización, la protección contra la caries y la erosión dental. La nanohidroxiapatita tiene una gran capacidad para unirse con proteínas, así como con fragmentos de placa y bacterias, cuando están presentes en pastas dentales.^{55,56,58,59}

1.3. Tecnología Láser

1.3.1. Generalidades

La palabra láser es un acrónimo de “Light Amplification by the Stimulation Emission of Radiation” (amplificación de luz por emisión estimulada de radiación).⁶⁰ Un haz de luz está compuesto por paquetes de fotones, los cuales son producidos por un foco o cualquier otra fuente de luz. La luz láser se produce al estimular un átomo con una fuente externa de energía para emitir un fotón antes de que el proceso espontáneo ocurra. La emisión espontánea de un fotón por un átomo estimulado libera un segundo fotón, ambos fotones son capaces de estimular la emisión de más fotones y cada uno de ellos formara una luz con características especiales como es la luz láser, que a diferencia de la luz normal tienen una misma longitud de onda, energía, color (monocromáticos), ondas sincrónicas (coherente) y rayos paralelos (colimada).⁵⁴

Para llevar a cabo este procedimiento de amplificación de la luz se requiere de un medio activo para estimular la emisión de fotones, este medio puede ser un gas, líquido o un material sólido que contenga un tubo de cerámica o vidrio. La longitud de onda específica de cada uno de los equipos láser depende del estado de energía del electrón cuando el fotón es

liberado⁶¹⁻⁶⁴ y las características de cada láser dependen precisamente de la longitud de onda.⁶²

Cuando la luz del láser llega a un tejido puede ser reflejada (pequeña o ninguna absorción), dispersada (la luz viaja en diferentes direcciones con efectos térmicos menos intensos), absorbida (convertida en calor) o transmitida a los tejidos circundantes.^{61,63,65} El efecto térmico del calor generado producto de la absorción del láser por los tejidos, depende de la composición de los tejidos y del tiempo de exposición del tejido. El incremento en la temperatura del tejido, entonces puede producir cambios en su estructura y composición que van desde una desnaturalización, vaporización, carbonización e incluso a la fusión seguida por la recristalización en el caso de tejidos duros.⁶⁶

El primer dispositivo láser fue introducido en 1960s, desde entonces ha sido utilizado en diversas áreas de medicina (oftalmología, dermatología, cirugía entre otras). En odontología fue introducido en 1964.⁶⁷ Las primeras pruebas de laboratorio realizadas por Stern y Sognaes, se limitaron al uso de láser rubí.⁶² Posteriormente nuevos equipos láser son desarrollados como el láser Argón y CO₂ (1969) entre otros. Sin embargo no fue hasta 1990 que el Nd:YAG desarrollado por Myers y Myers fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA), es reconocido como el primer láser específicamente diseñado para odontología general.^{60,62}

En la actualidad existe una gran variedad de equipos láser para aplicación en odontología, y cuyos usos incluyen desde el diagnóstico de caries, eliminación de tejido cariado, preparación de cavidades, acondicionamiento, curado de resinas, blanqueamiento dental, procedimientos quirúrgicos entre otros.^{60,61,66}

1.3.2. Láser y la Prevención de Caries

El primer estudio con láser (rubí) en mostrar *in vitro* un incremento de la resistencia a la desmineralización, fue el realizado por Stern y cols.⁶⁸

Se ha observado que la irradiación láser en los tejidos dentales duros modifica la relación Ca/P, reduce el carbonato y conduce a la formación de compuestos más estables y menos solubles en ácido, reduciendo la susceptibilidad al ataque ácido y a la caries. Los estudios de laboratorio han indicado que las superficies del esmalte expuestas a la irradiación con láser son más resistentes a los ácidos que las superficies sin láser.⁶⁹⁻⁷¹ Se ha informado que el grado de protección contra la caries proporcionada por el tratamiento con láser por una única vez es comparable al tratamiento diario con un dentífrico con fluoruro.⁷²

Actualmente otras investigaciones han demostrado resultados satisfactorios usando diferentes tipos de láser como lo son: Nd: YAG,^{16,17,73,74} CO₂^{16,17,75-77} y más recientemente con el grupo de Er, Cr: YSGGB^{78,79} y Er:YAG.^{16,17,79-83} Sin embargo, el mecanismo real de resistencia a los ácidos por irradiación con láser aún no está claro y se requieren estudios, particularmente *in vivo*, para probar esas afirmaciones.

1.3.3. Láser Er:YAG

Zharicov introduce el láser Er:YAG (Erbio: Itrio-Aluminio-Granate) en 1975. Es un láser dental versátil, con múltiples aplicaciones. El medio activo de este láser es un cristal sólido de itrio-aluminio-granate revestido con erbio, tiene una longitud de onda de 2940 nm (infrarrojo medio), que es bien absorbido por las moléculas de agua e hidroxiapatita, lo cual lo hace potencialmente útil en el tratamiento de los tejidos duros del diente.⁶⁴ En 1997, la FDA aprobó la comercialización del primer láser Er:YAG para ser utilizado en tejidos blandos y duros. Posteriormente se ha evaluado su seguridad y efectividad en la remoción de caries, preparación de cavidades y grabado del esmalte, obteniéndose resultados favorables.⁶⁰

El mecanismo de ablación de los tejidos mediante láser Er:YAG tiene que ver con su selectividad para ser absorbido por el agua y los componentes hídricos orgánicos de los tejidos, ocasionando la evaporación del agua y de los componentes orgánicos, como resultado de los efectos térmicos generados por el proceso de calentamiento (evaporación fototérmica). Cuando el rayo penetra los tejidos duros del diente, la temperatura aumenta y el calor generado provoca la evaporación del agua, lo cual aumenta la presión interna del tejido que causa una expansión explosiva denominada “microexplosión”. El efecto dinámico produce un colapso mecánico en los tejidos, resultando una ablación termomecánica o fotomecánica.^{63,84,85}

En lo que respecta a los estudios sobre prevención de caries dental, diversos estudios en esmalte de superficies lisas han reportado que la irradiación con láser Er:YAG favorece la resistencia a la desmineralización dental. Sin embargo estos efectos dependen de las condiciones de irradiación, tales como la densidad de energía, tiempo de irradiación, la distancia focal y uso de agua entre otros.⁷⁹⁻⁸³

Recientemente, existe un creciente interés en los cambios químicos que ocurren en el esmalte después de la irradiación con láser,^{81,82} esto debido a que no necesariamente se necesita el cambio morfológico para reducir la solubilidad del diente, posiblemente la alteración química es más importante que los cambios en la topografía de la superficie.⁸⁰

Varias técnicas de caracterización espectroscópica se han utilizado para evaluar los cambios en el componente inorgánico del esmalte de los dientes como son: la espectroscopia por dispersión de longitud de onda (WDS), espectroscopia de fotoelectrones de rayos-X (XPS) y la espectroscopia por dispersión de energía de rayos X (EDS).^{81,86}

2. Planteamiento del Problema

La caries dental continúa siendo el principal problema de salud bucal; de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, es un problema importante de salud pública, afectando al 60-90% de la población escolar y a la mayoría de los adultos,² sus consecuencias van desde la destrucción de los tejidos dentarios, inflamación e infección del tejido pulpar, o incluso la pérdida del órgano dentario, y por lo tanto alteraciones en la función estomatognática, y cambios en la estética facial.¹

En la actualidad las estrategias para la prevención y el manejo temprano de caries implican la consideración de métodos de prevención de la desmineralización y de aquellos que incrementan la remineralización de las lesiones incipientes, como es el caso del fluoruro y otros agentes remineralizantes.^{3,8,24-27}

A pesar de los esfuerzos que se han realizado hasta ahora por controlar la enfermedad, existe la necesidad de evaluar nuevas estrategias de prevención que mejoren la estructura dental, principalmente las zonas más susceptibles a caries como son las fosas y fisuras de las caras oclusales, que por sus características morfológicas favorecen el acumulo, maduración y retención de la placa dental. La tecnología láser se presenta como una de estas nuevas opciones potenciales en la prevención de la caries dental, pero existe controversia en cuanto a su utilización para este fin, respecto al aumento de la resistencia del tejido irradiado al ataque ácido, y a que dicho incremento se acompaña de daños colaterales como fracturas, cráteres y prismas expuestos como resultado del efecto térmico que implica su uso.^{80,87}

Por lo tanto, la aplicación de láser en la prevención de caries sigue siendo estudiada. Diversos estudios^{82,87-91} han demostrado que un tratamiento de fluoruro combinado con láser hace que el esmalte sea más resistente a la disolución ácida respecto de los tratamientos con láser o

fluoruro solo, lo cual podría ocurrir quizás de mejor forma con la aplicación de otros agentes remineralizantes junto con la irradiación láser, sin embargo existen pocos estudios sobre el tema.

Por lo que con el presente proyecto se pretendió responder a los siguientes cuestionamientos:

¿Qué cambios químicos son producidos en el esmalte de fosas y fisuras de la superficie oclusal por la irradiación con láser Er:YAG, la aplicación de remineralizantes y el tratamiento combinado?

¿Qué resistencia ácida se obtiene en el esmalte de fosas y fisuras de la superficie oclusal por la irradiación con láser Er:YAG, la aplicación de remineralizantes y el tratamiento combinado?

3. Justificación

La caries dental es la enfermedad bucal más frecuente que afecta a la población mundial. Las superficies oclusales son las más afectadas por esta enfermedad,¹¹⁻¹⁵ por lo cual, se hace necesaria la aplicación de medidas más efectivas para su prevención, con las que se beneficie a futuras generaciones, ya que, la primera lesión cariosa y la subsecuente restauración marcan el inicio de una serie de tratamientos que durante toda la vida del diente lo llevarán a procedimientos cada vez más complicados, costosos y que comprometen su vitalidad y conservación; por ello, el proceso de caries debe ser controlado tempranamente. Hoy en día, la misión de los sistemas de control de caries debe estar orientada a preservar los tejidos dentales y restaurar sólo cuando esté indicado.⁹²

La superficie oclusal ha recibido mucha atención ya que como se menciona representa la mayoría de las lesiones de caries, principalmente a causa de su morfología caracterizada por sitios de fosas y fisuras que ofrecen sitios perfectos para que proliferen microorganismos, y así mismo, por la dificultad para realizar la higiene en estas áreas, por lo que se consideran sitios altamente cariogénicos.^{12,16,17} Por lo anterior la prevención de lesiones cariosas en superficies oclusales de molares permanentes se hace necesaria. Los resultados de este estudio por lo tanto permitirán conocer la efectividad del láser Er:YAG, de los agentes remineralizantes y de la combinación de dichos tratamientos en la prevención de caries en el esmalte de fosas y fisuras de la superficie oclusal.

4. Hipótesis

Hipótesis de Investigación

Fase I

La composición química de los especímenes irradiados con láser Er:YAG combinado con un remineralizante será más favorable en la prevención de caries con respecto a los grupos de aplicación solo de remineralizante o láser y del grupo control.

Fase II

La resistencia a la disolución ácida será mayor en las muestras irradiadas con láser Er:YAG combinadas con un remineralizante con respecto de los grupos de aplicación solo de remineralizante o láser y del grupo control.

Hipótesis Nula

Fase I

La composición química de los especímenes irradiados con láser Er:YAG combinado con un remineralizante no será más favorable para la prevención de caries con respecto a los grupos de aplicación solo de remineralizante o láser y del grupo control.

Fase II

La resistencia a la disolución ácida será igual en las muestras irradiadas con láser Er:YAG combinadas con un remineralizante con respecto de los grupos de aplicación solo de remineralizante o láser y del grupo control.

5. Objetivos

Objetivo General

Determinar el efecto del láser Er:YAG y remineralizantes en la prevención de caries dental en esmalte de fosas y fisuras.

Objetivos Específicos

Fase I

- Evaluar la composición química del esmalte de la superficie oclusal con EDS previo y posterior a la aplicación de láser Er:YAG, remineralizantes o de la combinación.
- Obtener el porcentaje atómico (% at.) de carbono (C), oxígeno (O), cloro (Cl), flúor (F), calcio (Ca), fósforo (P) y de la relación Ca/P de las muestras previo y posterior a la aplicación del láser Er:YAG, remineralizantes o de la combinación.
- Comparar los porcentajes atómicos de C, O, Cl, F, Ca, P y de la relación Ca/P antes y después de los tratamientos y entre los grupos.

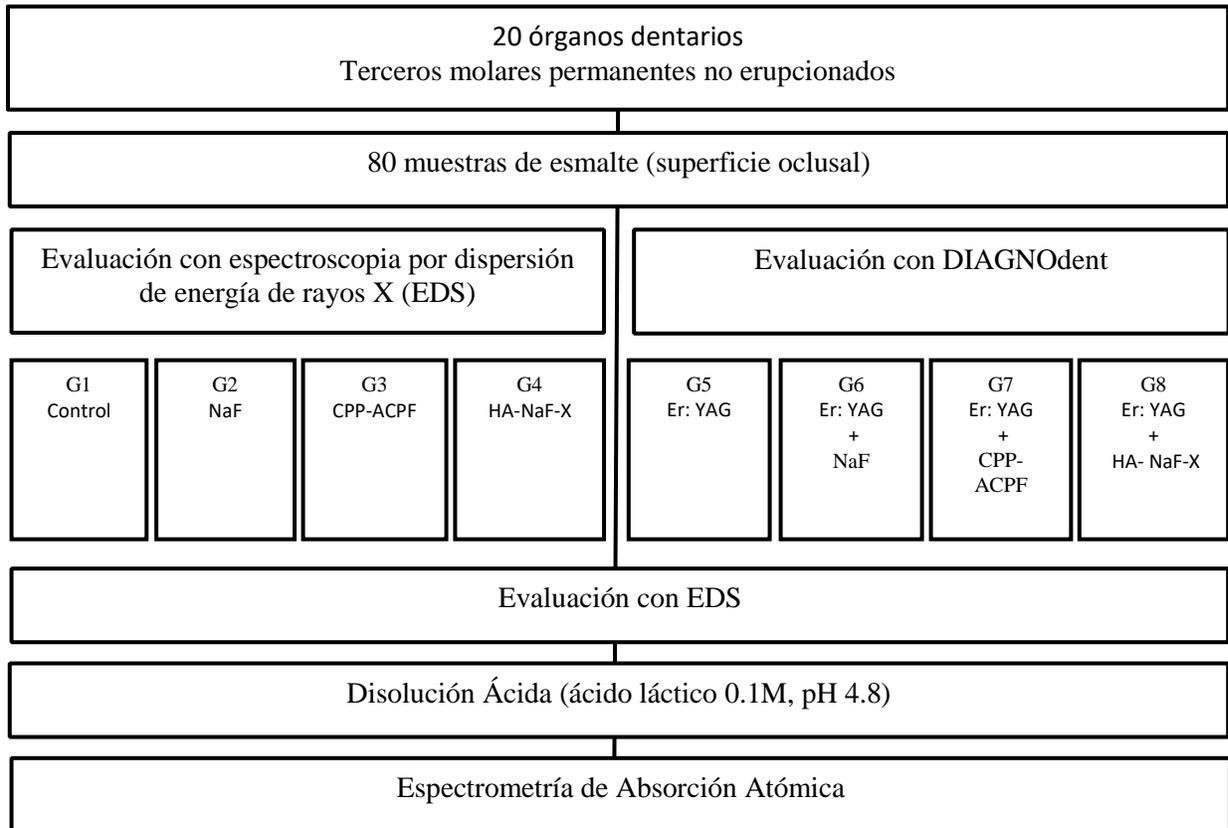
Fase II

- Obtener los mg/L de Ca de las muestras posterior a la disolución ácida por medio de Espectrometría de Absorción Atómica.
- Comparar los resultados de la pérdida de Ca en la solución ácida, de los grupos de estudio.
- Determinar la resistencia a la disolución ácida del esmalte después de los tratamientos.

6. Diseño Metodológico

6.1 Diseño del Estudio

Experimental



6.2 Universo y Muestra

Terceros molares no erupcionados, 80 bloques de esmalte de la superficie oclusal de 2 x 2 mm.

6.3 Procedimientos

Fase I

Obtención de la Muestra

La recolección de la muestra se llevó a cabo en Instituciones de salud bucal: en la clínica odontológica Morelos del Instituto de Seguridad Social del Estado de México y Municipios,

(ISSEMYM) y en clínicas privadas de atención odontológica, de la ciudad de Toluca, Estado de México. Todos los sujetos donadores de órganos dentarios firmaron un consentimiento informado (ver anexo 1).

Almacenamiento de la Muestra

Los tejidos blandos de las piezas dentarias fueron removidos con una hoja de bisturí no. 12 (Aesculap, B. Braum, Melsungen, Alemania) y lavados con agua destilada para eliminar los restos de sangre. Posteriormente los órganos dentarios fueron almacenados individualmente en frascos estériles con timol al 0.2% y refrigerados a 4°C hasta la fase experimental.

Preparación de la muestra

Los órganos dentarios fueron removidos del timol, enjuagados con agua deionizada y después se eliminó la raíz de las piezas dentarias sobre la unión cemento-esmalte, mediante un corte en dirección transversal empleando discos de diamante (BesQual, Nueva York, NY) y un motor de baja velocidad (Brasseler, Savannah, GA), irrigando con agua deionizada para evitar la deshidratación de las muestras. Las coronas se fijaron con resina epóxica termoplastificada (Allied, Rancho Dominguez CA) a un portaobjetos de cristal sobre una plancha caliente. El portaobjetos se colocó en una cortadora, y se realizaron los cortes con una rueda de diamante (South Bay Technology, Inc.). Se inició con cortes en sentido bucolingual con irrigación constante, obteniendo cuatro especímenes por diente de 2 mm, en seguida con un disco de diamante y pieza de baja velocidad se marco una línea a 2 mm de la fisura central para delimitar la muestra de 2 x 2 mm. Los especimenes se examinaron con el dispositivo DIAGNOdent pen (Kavo, Biberach, Alemania), todas las muestras tuvieron, valores entre 0 y 13 que corresponde a esmalte sano (de acuerdo al fabricante).

Las muestras se dividieron aleatoriamente en los siguientes grupos (ver tabla 1):

Tabla 1. Grupos de estudio y tratamientos

Grupo	Tratamientos
G1 Control	Sin tratamiento
G2 NaF	Fluoruro de Sodio 1.1%
G3 CPP-ACPF	Fosfopéptidos de Caseína-Fosfato de Calcio Amorfo-Fluoruro de sodio (900 ppm)
G4 HA-NaF-X	Hidroxiapatita-Fluoruro de Sodio (1450 ppm)-xilitol
G5 Er:YAG	Láser Er:YAG (100 mJ, 12.7J/cm ² , 10 Hz con irrigación)
G6 Er:YAG + NaF	Láser Er:YAG (mismos parámetros G5) + Fluoruro de sodio 1.1%
G7 Er:YAG + CPP-ACPF	Láser Er:YAG (mismos parámetros G5) + Fosfopéptidos de Caseína-Fosfato de Calcio Amorfo-Fluoruro de sodio (900 ppm)
G8 Er:YAG + HA-NaF-X	Láser Er:YAG (mismos parámetros G5) + Hidroxiapatita-Fluoruro de sodio (1450 ppm)-xilitol.

Previo a los tratamientos las muestras se analizaran bajo la siguiente técnica:

Espectroscopia por dispersión de energía de rayos X (EDS por sus siglas en inglés)

Para el análisis se empleó un microscopio electrónico de barrido (SEM *por sus siglas en inglés*), (JEOL, JSM-5600LV, Japón). El área analizada de las muestras fue de 659 x 500 µm se visualizó a 200x de magnificación. Los porcentajes atómicos (% at.) de carbono, oxígeno, cloro, flúor, calcio, fósforo y relación Ca/P fueron analizados utilizando un sistema detector de rayos X (Thermo Scientific, 5225 Verona, Madison, USA) unido al microscopio. (ver fig. 1).

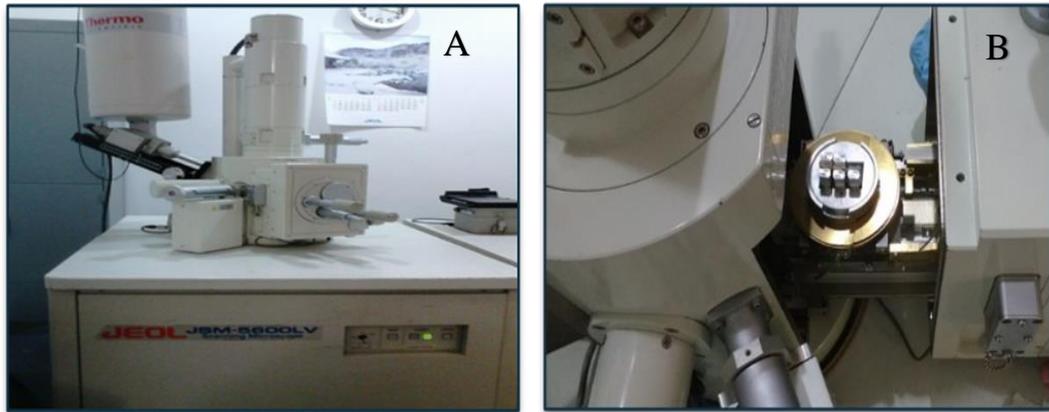


Figura 1. A) Microscopio electrónico de Barrido, B) Muestras en SEM

Fase I

Tratamientos

NaF

La superficie de la muestra se secó con aire, en seguida se aplicó fluoruro de sodio al 1.1% (Flor-Opal[®], Ultradent, Utha, EE.UU.) por 4 minutos.

CPP-ACPF

La superficie a tratar se secó con aire para aplicar CPP-ACPF en crema (MI Paste Plus TM, Tokyo, Japón) durante 4 minutos.

HA-NaF-X

La muestra se secó con aire para aplicar una crema que contiene Hidroxiapatita, fluoruro (1,450 ppm) y xilitol (Remin Pro, Voco, Cuxhaven, Alemania) durante 4 minutos.

Posterior a la aplicación de los remineralizantes las muestras se enjuagaron con agua deionizada durante 30 segundos y se dejaron secar al aire.

Irradiación con Láser Er:YAG

Para irradiar las muestras se utilizó un equipo láser Er:YAG (Lumenis OPUS DUO™ Er:YAG + CO², Yokneam, Israel). Los principales parámetros experimentales del láser fueron: una longitud de onda fija de 2.94μm, densidad de energía 100mJ (12.7 J/cm²), frecuencia de 10 Hz. y una punta con un diámetro de 1 mm. La energía de irradiación se calibró con los aditamentos que para tal fin incluye el equipo, mientras que la energía liberada se evaluó periódicamente con un medidor de potencia (Laser Mate-P, Coherent Co., Santa Clara, CA). La irradiación se realizó manualmente en una dirección tal que la punta de zafiro se colocó perpendicularmente a cada muestra, irradiando la superficie por 20 segundos. Para reducir el calentamiento, se irrigó con agua deionizada en spray (5.0 mL/min). La distancia entre la punta y la muestra fue de 1 mm, se fijó una hoja de acero inoxidable en la parte superior de la pieza de mano del láser para conservar dicha distancia. Para corroborar que tanto el diámetro de salida de la punta de zafiro como el del haz del láser fueran iguales, se usó una placa sensible al infrarrojo (Lumitek International, Inc., Ijamsville, MD, EE.UU.). El nivel de energía que se empleó y el uso de agua en spray como sistema de enfriamiento se definieron en base a la literatura y pruebas piloto.

Tratamiento Combinado

Las muestras se irradiaron con láser Er:YAG, inmediatamente después se aplicó el agente remineralizante (NaF, CPP-ACPF, HA-NaF-X), respectivo. Los parámetros de la irradiación láser y la técnica de aplicación del agente remineralizante fueron los mismos que los descritos anteriormente.

Posterior a los tratamientos las muestras se analizaron con EDS (técnica descrita previamente).

Fase II

Disolución Ácida

El área no tratada de cada una de las muestras se cubrió con barniz ácido-resistente. Después cada una de las muestras fue colocada en un tubo de ensayo de plástico, con 2ml. de una solución desmineralizante de ácido láctico (0.1M, pH 4.8). Posteriormente los tubos se colocaron en una gradilla y se incubaron a 37°C y 100% de humedad durante 24 horas. Inmediato a esto las muestras se retiraron de la solución ácida y se enjuagaron con agua deionizada durante 30 segundos para detener el proceso y eliminar el Ca de la superficie del esmalte, obteniendo un volumen de 6 ml en cada tubo. Todo esto con el fin de obtener la concentración de Ca eliminado de las muestras mediante Espectrometría de Absorción Atómica (AAS, por sus siglas en inglés).

Espectrometría de Absorción Atómica (AAS)

La solución recolectada fue depositada en un matraz de 10 ml y los tubos de ensayo se enjuagaron con agua deionizada, la cual se agregó al matraz de cada muestra, así también se agregó 1 ml de ácido nítrico concentrado y 1 ml de óxido de lantano y se aforo el matraz con agua deionizada. Cada matraz se selló con parafilm y se dejó reposar por 21 horas.

Para la lectura de las muestras se comenzó con la calibración del espectrómetro (PU9100X atomic absorption spectrometer, Philips, Europa) (ver Fig. 2), con soluciones patrón certificadas. Se realizó una curva de Ca (5-50ppm) para corroborar que las lecturas fueran adecuadas. Posteriormente se llevaron a cabo las lecturas de Ca de las muestras, tomando tres lecturas para cada muestra, se obtuvo el promedio y se verificó con una muestra de concentración conocida. El procedimiento se realizó en el Laboratorio de Instrumental, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México.



Figura 2. Espectrómetro de Absorción Átomica

6.4 Criterios de Inclusión

Terceros molares no erupcionados superiores o inferiores, no seccionados durante la extracción quirúrgica

6.5 Criterios de Exclusión

Terceros molares erupcionados

Fracturas o daños de la pieza dental que afecte la superficie oclusal del molar

Terceros molares no erupcionados superiores e inferiores que presenten fracturas durante el corte de la muestra

6.6 Instrumentos

Hojas de recolección de datos (ver anexos 2 y 3).

6.7 Recolección de Datos

Los datos obtenidos de las pruebas se integraron en Hojas de Control (ver anexos 2 y 3).

Variables de Estudio

Independientes

Fase I

Láser Er:YAG

Remineralizantes: Fluoruro de sodio, CPP-ACPF, Hidroxiapatita

Fase II

Solución ácida: ácido láctico (0.1M pH 4.8)

Dependientes

Fase I

Porcentaje atómico de Carbono, Oxígeno, Cloro, Flúor, Calcio, Fósforo y relación Ca/P

Fase II

Cantidad de Calcio (mg/L) en la solución ácida

Definición conceptual y operacional de las variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Tipo de Variable	Escala de medición	Análisis Estadístico
Variable Independiente					
Láser Er: YAG	Cantidad total de energía por superficie de área.	Es la cantidad total de energía liberada sobre un área específica de la superficie del esmalte expresada en J/cm ² .	Cualitativa	Nominal	–
Fluoruro	Remineralizante aplicado tópicamente en los órganos dentarios para incrementar su resistencia a caries.	Fluoruro de Sodio 1.1%	Cualitativa	Nominal	–
CPP-ACPF	Sistemas de remineralización basados en fosfato de calcio	Fosfopéptidos de Caseína- Fosfato de Calcio Amorfo + Fluoruro de Sodio 900 ppm (CPP-ACPF)	Cualitativa	Nominal	–
Hidroxiapatita	La hidroxiapatita (HAP) es un biocristal, formado por átomos de calcio, fósforo, e hidrogeno	Hidroxiapatita + Fluoruro de Sodio (1450 ppm) + Xilitol	Cualitativa	Nominal	–
Variables Dependientes					
Carbono	Elemento químico cuyo símbolo es C y de número atómico 6.	Elemento constituyente del esmalte el cual se determinará con EDS (% at.)	Cuantitativa Continua	Razón	<i>t</i> pareada y ANOVA (comparación entre etapas y grupos)
Oxígeno	Elemento químico cuyo símbolo es O y de número atómico 8.	Elemento constituyente del esmalte el cual se determinará con EDS (% at.).	Cuantitativa Continua	Razón	<i>t</i> pareada y ANOVA (comparación entre etapas y grupos)

Cloro	Elemento químico cuyo símbolo es Cl y de número atómico 17.	Elemento constituyente del esmalte el cual se determinará con EDS (% at.).	Cuantitativa Continua	Razón	<i>t</i> pareada y ANOVA (comparación entre etapas y grupos)
Flúor	Elemento químico cuyo símbolo es F y de número atómico 9.	Elemento constituyente del esmalte el cual se determinará con EDS (% at.).	Cuantitativa Continua	Razón	<i>t</i> pareada y ANOVA (comparación entre etapas y grupos)
Fósforo	Elemento químico cuyo símbolo es P y de número atómico 15.	Elemento constituyente del esmalte el cual se determinará con EDS (% at.).	Cuantitativa Continua	Razón	<i>t</i> pareada y ANOVA (comparación entre etapas y grupos)
Calcio	Elemento químico cuyo símbolo es Ca y de número atómico 20.	Elemento constituyente del esmalte el cual será liberado a la solución ácida y se determinará con EDS (% at.) y con AAS (mg/L).	Cuantitativa Continua	Razón	<i>t</i> pareada y ANOVA (comparación entre etapas y grupos)
Relación Ca/P	Relación existente entre la cantidad de calcio y la cantidad de fósforo.	Resultado del cálculo del porcentaje atómico de Ca, dividido entre el porcentaje atómico de P; determinados mediante EDS.	Cuantitativa Continua	Razón	<i>t</i> pareada y ANOVA (comparación entre etapas y grupos)
Cantidad de Ca (mg/L) en la solución ácida	Perdida de calcio del esmalte dental durante un proceso de desmineralización producido por un ataque ácido	Cantidad de calcio (mg/L) que se eliminó en la solución ácida.	Cuantitativa Continua	Razón	ANOVA (comparación entre etapas y grupos)

6.8 Análisis de Datos

Fase I

Todos los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SPSS (SPSS IBM, Nueva York, NY, EE.UU.), versión 19. La prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para el análisis de la distribución de los datos, también se realizó una prueba *t* pareada para comparar los porcentajes atómicos de los diferentes elementos antes y después del tratamiento. Posteriormente, se utilizó el análisis unidireccional de varianza (ANOVA) para la comparación entre grupos; cuando se encontraron diferencias significativas, se aplicaron las pruebas post-hoc de Bonferroni o T2 Tamhane, dependiendo de la prueba de homogeneidad de varianza de Levene.

Fase II

En la disolución ácida se empleó análisis de varianza (ANOVA) de una vía, para la comparación de los grupos.

El nivel de significancia para las pruebas aplicadas fue de $p \leq 0.05$.

6.9 Aspecto Ético

La presente investigación siguió los lineamientos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (64ª Asamblea General de octubre del 2013) y vertidos en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación.

Considerando que esta investigación se encuentra en el esquema del título segundo, capítulo I, artículo 17, inciso II: Investigación con riesgo mínimo, debido a que involucró la obtención de dientes extraídos por indicación terapéutica.

Por tratarse de una investigación con riesgo mínimo, y de acuerdo al título segundo, de los aspectos éticos de la investigación en seres humanos capítulo I, artículo 23 que menciona que en el caso de investigaciones con riesgo mínimo, la comisión de ética, por razones justificadas, podrá autorizar que el consentimiento informado se obtenga sin formularse por escrito, y tratándose de investigaciones sin riesgo, podrá dispensar al investigador la obtención del consentimiento informado. En el presente trabajo, se obtuvo el consentimiento informado de los donadores de órganos dentarios.

El protocolo de la presente investigación fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Centro de Investigación y Estudios Avanzados de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM).

7. Resultados

7.1 Artículo Aceptado

7.1.1 Título del Artículo Aceptado

Chemical Changes of Enamel Produced by Sodium Fluoride, Hydroxyapatite, Er: YAG

Laser and Combined Treatments

7.1.2 Página Frontal del Manuscrito

Names of authors:

Alma Yadira Ceballos-Jiménez DDS, MDSc, ¹Laura Emma Rodríguez-Vilchis* DDS, MSD, PhD, ¹Rosalía Contreras-Bulnes DDS, PhD,

¹Jesús Ángel Arenas Alatorre PhD, ²Rogelio José Scougall-Vilchis DDS, MDSc & Orthod., PhD¹, Ulises Velazquez-Enriquez DDS, MDSc, PhD¹ and María de los Angeles Moyaho-Bernal DDS, MMSc¹

1. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Odontología, Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología, Jesús Carranza esq. Paseo Tollocan, Col. Universidad, C.P. 50130, Toluca, Estado de México, México. Telephone and fax: 52 722 2 12 43 51, extensions 110, 111, 113, and 120

2. Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Física, Departamento de Materia Condensada, Circuito Exterior s/n, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX, México. Facultad de Ciencias UNAM

***Corresponding author**

E-mail: Laura Emma Rodríguez-Vilchis

Telephone, fax 52 722 2 12 43 51 Ext. 117 and e-mail address: rovilaster@gmail.com or lerodriguezv@uaemex.mx

- Alma Yadira Ceballos-Jiménez: Telephone and fax 52 722 2 12 43 51 Ext. 117
aceballosj@hotmail.com
- Laura Emma Rodríguez-Vilchis: Telephone and fax 52 722 2 12 43 51 Ext. 117
rovilaster@gmail.com or rovila@uaemex.mx
- Rosalía Contreras-Bulnes: Telephone and fax 52 722 2 12 43 51 Ext. 118
rcb0209@yahoo.com.mx or rcb@uaemex.mx
- Jesús Ángel Arenas-Alatorre: Telephone and fax 52 55 56 22-5163 jarenas@fisica.unam.mx
- Rogelio José Scougall-Vilchis Telephone and fax: 52 722 2 12 43 51, Ext. 113;
rogelio_scougall@hotmail.com
- Ulises Velazquez-Enriquez Telephone and fax: 52 722 2 12 43 51 ulisesvelazqu@hotmail.com
- María de los Angeles Moyaho-Bernal moyaho3@gmail.com

Short Title: Chemical Changes of Enamel with Sodium Fluoride, Hydroxyapatite, Er:YAG Laser

Keywords: Chemical Changes, Enamel, Sodium Fluoride, Hydroxyapatite, Er:YAG Laser, EDS.

7.1.3 Carta de Aceptación

6750217: Your manuscript has been accepted

Recibidos x



Annette Wiegand jspec@hindawi.com a través de amazonses.com

15 feb. ☆



para mí, annette.wiegand, aceballosj, rjb, jarenas, rogelio_scouga, ulisesvelazqu, moyaho3

Dear Dr. Rodríguez-Vilchis,

The review process of Research Article 6750217 titled "Chemical Changes of Enamel Produced by Sodium Fluoride, Hydroxyapatite, Er: YAG Laser and Combined Treatment" by Alma Yadira Ceballos-Jiménez, Laura E. Rodríguez-Vilchis, Rosalia Contreras-Bulnes, Jesús Arenas-Alatorre, Rogelio J. Scougall-Vilchis, Ulises Velazquez-Enriquez and María de los Angeles Moyaho-Bernal submitted to Journal of Spectroscopy has been completed. I am pleased to inform you that your manuscript has now been accepted for publication in the journal.

The special issue for which the paper is being processed is "Application of Spectroscopic Analysis in Dentistry"

The publication process of your manuscript will be initiated upon the receipt of electronic files. Please log in to the Manuscript Tracking System at the link below using your username and password, and upload the electronic files of your final accepted version within the next 2-3 days.

http://mts.hindawi.com/author/6750217/upload_files/

The electronic files should include the following:

- 1- Source file of the final accepted manuscript (Word or TeX/LaTeX).
- 2- PDF file of the final accepted manuscript.
- 3- Editable figure files (each figure in a separate EPS/PostScript/Word file) if any, taking into consideration that TIFF, JPG, JPEG, BMP formats are not editable.

Thank you again for submitting your manuscript to Journal of Spectroscopy.

Best regards,

Annette Wiegand

annette.wiegand@med.uni-goettingen.de

7.2 Artículo Enviado

7.2.1 Título del Artículo Enviado

Acid Resistance of Dental Enamel Treated with Remineralizing Agents, Er:YAG Laser and Combined Treatments

7.2.2 Carta de Envío del Artículo

From: **Dental and Medical Problems** <kontakt@editorialsystem.com>
Date: 2018-06-05 14:46 GMT-05:00
Subject: New manuscript received by Editorial Office (DMP-00664-2018-01)
To: Laura Rodríguez-Vilchis <rovilaster@gmail.com>

Dear Laura Rodríguez-Vilchis,

Thank you for your manuscript: Acid Resistance of Dental Enamel Treated with Remineralizing Agents, Er: YAG Laser and Combined Treatments.

The following number has been assigned to it: DMP-00664-2018-01.

The manuscript will be checked by Editors and then sent to the Reviewers.
You will be informed by email about any further decisions on this article.

Thank you for submitting your work to our journal.

Yours sincerely,
prof. dr hab. Tomasz Konopka
Editor-in-Chief
Dental and Medical Problems

Editorial System is available here: <https://www.editorialsystem.com/dmp/>

8. Discusión General

La caries dental sigue siendo un problema importante de salud oral en la mayoría de los países, afectando al 60-90% de los escolares y la gran mayoría de los adultos.² Las caries de la superficie oclusal es la forma más común de esta enfermedad¹³ y los primeros molares permanentes son los dientes más susceptibles, lo que se debe principalmente a su compleja morfología oclusal caracterizada por numerosas fosas y fisuras.^{12,93} La prevención de caries en la superficie oclusal continúa como un desafío en odontología. En esta investigación se trabajó en la superficie oclusal y se obtuvieron muestras de terceros molares no erupcionados que no habían estado expuestos al ambiente oral asociado a las variaciones en los ciclos de pH, desmineralización y remineralización. Se asignaron consecutivamente a los grupos para garantizar que no hubiera más de una muestra del mismo diente para cada grupo; este paso fue requerido para evitar el sesgo entre los cambios producidos para cada protocolo de tratamiento.

Existen escasos informes sobre el contenido elemental del esmalte dental en la misma área, durante fases experimentales consecutivas (antes y después del tratamiento bajo varios protocolos preventivos).^{81, 82} Tales análisis permiten la medición objetiva de los cambios químicos que ocurren. En la primera fase de este trabajo, los cambios en C, O, Cl, F, Ca, P y la relación Ca / P se evaluaron mediante EDS como porcentajes atómicos (% at.), lo que nos permite determinar directamente el número presente de átomos por elemento, a diferencia del porcentaje en peso (% en peso), que varía por elemento; de esta manera, los cambios en la composición química se pueden observar fácilmente.

Se seleccionaron tres agentes remineralizantes, NaF que representa a los fluoruros como la piedra angular de la prevención de caries y que ha sido ampliamente estudiado.⁸ Como

métodos alternativos se emplearon CPP-ACPF y HA-NaF-X, ambos adicionados con fluoruro.

MI Paste Plus™ (CPP-ACPF) se incluyó en este estudio, porque el complejo de CPP-ACP en un pH ácido separará el fosfato de calcio amorfo (ACP) del fosfopéptido de caseína (CPP), aumentando así los niveles de calcio y fosfato salival y favorece la remineralización de la lesión inicial de caries,⁵¹ también está presente en el producto, el NaF (900 ppm) y como es bien sabido, el ion flúor se puede intercambiar con el grupo hidroxilo en el cristal de apatita para formar fluorapatita, que es más estable y menos soluble.²⁷

Se seleccionó Remin Pro® (HA-NaF-X) porque la hidroxiapatita es un importante biomaterial, fuente de calcio y fosfato, favorece la remineralización de las áreas de esmalte desmineralizadas,⁵⁶ además contiene xilitol, que ayuda en la remineralización del esmalte dental,²⁷ y NaF (1.450 ppm).

Los parámetros de irradiación se eligieron de acuerdo con los resultados de un estudio piloto que se diseñó después de una revisión de la literatura.^{80,81,89,94,95} La resistencia del esmalte al ataque ácido lograda varía según el tipo de láser utilizado para este fin, que tienen parámetros específicos. Para el láser Er:YAG, Liu y cols. sugirieron que la energía óptima del láser para prevenir la desmineralización del esmalte es 12.7 J/cm².⁹⁴ Esta densidad de energía con irrigación (como se empleó en este estudio) también se considera segura para la protección de la pulpa.^{89,96}

Los resultados de la primera fase mostraron cambios químicos específicos que dependían del protocolo preventivo aplicado. El grupo 2 NaF mostró cambios significativos en todos los elementos evaluados, y la mayoría mostró una disminución (O, Cl, Ca y P). Esto podría haber ocurrido a expensas de aumentos en el % at. de C y F. Estos resultados son comparables con

los reportados por Zamudio-Ortega y cols.⁸² que aplicaron fluoruro de fosfato acidulado (APF), aunque su estudio se realizó en las superficies lisas de dientes temporales. Se ha reportado que las soluciones neutras de NaF con concentraciones de flúor de 100 ppm o menos resultaron principalmente en la formación de fluorapatita, mientras que concentraciones más altas de fluoruro dieron como resultado la formación de fluoruro de calcio en la superficie del esmalte.⁹⁷ El producto de NaF aplicado en este estudio tiene un pH de 6.5 según el fabricante, cerca del pH neutro y altas ppm (más de 5000), esto podría explicar por qué se produjeron aumentos en el %at. de F, solo en este grupo de estudio. Se recomiendan estudios adicionales para determinar qué compuesto a base de fluoruro se forma bajo estas condiciones.

No se encontraron cambios químicos para el grupo 4 HA-NaF-X, sin embargo, Gjorgievska y cols.⁵⁶ sugieren que las partículas de HA en la pasta de dientes reaccionan con la superficie del esmalte, y el aumento de las concentraciones de Ca y P resulta en la reparación de superficies desmineralizadas. Además, los remanentes presentes como depósitos en la superficie del esmalte se pueden usar como fuentes de Ca y P si se producen futuros ataques de ácido. Sin embargo, parece que sola una aplicación de HA-NaF-X no es suficiente para lograr este objetivo. Gravila y cols.⁵⁸ informaron valores más altos de Ca y P (% en peso) cuando se aplicó HA con fluoruro dos veces al día por 14 días en comparación con productos fluorados. La falta de aumento en el % at. de F podría deberse a la menor concentración de fluoruro (1450 ppm) y al pH de 8.1 del producto empleado en este grupo, en contraste con el grupo 2 NaF.

Los grupos irradiados con láser Er:YAG exhibieron patrones similares de cambios químicos a excepción de O. En tratamientos combinados o únicos, este elemento muestra un patrón

paralelo según el agente remineralizante empleado. Los grupos irradiados mostraron una disminución del % at. de C, esto podría explicarse por la teoría de la disminución de solubilidad del esmalte, que implica cambios en la ultraestructura, como reducciones en los contenidos de agua y carbonato, un aumento en el contenido de iones hidroxilo, formación de pirofosfato y descomposición de proteínas.⁸⁹ En relación con la falta de cambios en el % at. de F en los grupos irradiados, parece que los parámetros de irradiación láser empleados no favorecen la absorción de NaF en la estructura del esmalte cuando se realiza una única aplicación de fluoruro. Sin embargo, Liu y cols.⁹⁰ informaron que la irradiación con láser Er:YAG a baja energía junto con el tratamiento de NaF al 2.0% puede inhibir la desmineralización del esmalte a través de una mayor deposición de fluoruro en la superficie del esmalte, entre otros mecanismos asociados.

Además, los aumentos en el % at. de Ca, P y relación Ca / P en todos los grupos irradiados sugieren que la estructura química del esmalte dental podría verse favorecida. Esto coincide con lo realizado por Díaz-Monroy y cols.⁸¹ quienes informaron que los cambios químicos después de la disolución ácida mostraron una relación Ca / P atómica estable o aumentada entre los grupos irradiados con láser Er:YAG. Estos grupos mostraron una reducción del Ca liberado en la solución ácida asociada con una mayor resistencia del esmalte a los ácidos. El tratamiento combinado de láser y NaF produjo el aumento más evidente en la relación Ca / P, que probablemente se produjo a expensas de un gran aumento de % at. de Ca. Esto es similar a los resultados obtenidos cuando se aplicó un tratamiento combinado de láser Er:YAG (39,8 J / cm²) y fluoruro de fosfato acidulado al esmalte primario.⁸² En este grupo de estudio, la relación Ca / P fue más alta que la relación estequiométrica para la hidroxiapatita pura (1.67). La relación Ca / P se considera como un indicador confiable de la

mineralización de los dientes, independientemente de los cambios en otros elementos de la estructura dental.⁸²

También hay otras estrategias prometedoras para la prevención de la caries y la erosión. Varios estudios han demostrado que el láser CO₂ es muy eficaz para la prevención de la caries dental y la erosión dental bajo parámetros previamente establecidos en comparación con el láser Er:YAG.^{76,98,99} Sin embargo, en base a los cambios químicos favorables observados se podría mejorar la estructura del esmalte y proteger las áreas susceptibles a la caries.

En la segunda fase experimental del presente trabajo, se evaluó la resistencia del esmalte al ataque ácido (con espectrometría de absorción atómica) después de la aplicación de los tratamientos.

Algunos estudios han probado la irradiación con láser Er:YAG a menores densidades de energía y han demostrado una inhibición significativa de la desmineralización del esmalte.^{83,90} Sin embargo, existen escasos informes sobre la aplicación de tratamientos que combinen el láser más un agente remineralizante¹⁰⁰⁻¹⁰² en la prevención de caries de la superficie oclusal.^{100,101}

Como se mencionó en este estudio, todos los grupos recibieron solo una aplicación del tratamiento empleado, este hecho podría explicar por qué no se observaron diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control. Parece que una sola aplicación de estos agentes remineralizantes a la estructura dental no es suficiente para aumentar la resistencia a los ácidos. Sin embargo, se observó una reducción del 30% en la pérdida de contenido de calcio en los grupos 2 NaF y 6 L + NaF con respecto al grupo control, lo cual podría tener una significancia clínica. Como resultado en la primera fase, un aumento

en la relación Ca / P para el tratamiento con L + NaF, L + HA-NaF-X, L y NaF, en orden decreciente, respectivamente.¹⁰³

Sin embargo, Comar y cols.¹⁰⁴ informaron que la pasta con fluoruro (0,2% de NaF) sigue siendo la mejor opción para reducir la desmineralización dental in vitro en comparación con HA, CPP-ACP y CPP-ACPF. Por lo tanto, es posible que el uso de láseres en combinación con CPP-ACPF y HA-NaF-X también sea un tratamiento prometedor, ya que mostraron una resistencia superior cuando se aplicaron como tratamientos combinados, donde la reducción del calcio liberado posterior a la aplicación de ambos agentes remineralizantes fue de 5,75% y 3,65% respectivamente, hasta una reducción del 22% para ambos al combinarse con láser Er:YAG, esto en comparación con el grupo control.

La irradiación con láser Er:YAG como tratamiento único presentó un menor efecto preventivo en comparación con el grupo NaF y todos los grupos combinados. Se sugiere que, bajo las condiciones estudiadas, se aplique en combinación con los agentes remineralizantes empleados. Contrario a los resultados obtenidos en este estudio, Díaz-Monroy y cols.⁸¹ reportaron una mayor resistencia a la disolución ácida cuando las muestras fueron irradiadas a una densidad de 12.7 J / cm²; sin embargo, no usaron irrigación durante la irradiación. Cecchini y cols.⁸⁰ encontraron que la irradiación con láser Er:YAG a energías más bajas puede disminuir la solubilidad del esmalte sin alteraciones graves de la estructura del diente, incluso bajo el efecto de enfriamiento del flujo de agua. Bevilacqua y cols.⁸⁹ concluyeron que la irradiación con láser Er:YAG combinada con la aplicación tópica de fluoruro (gel de fluoruro de fosfato acidulado) mostró un efecto favorable sobre la resistencia del esmalte al ataque ácido; sin embargo, informaron que a mayor densidad de energía (31.84 J / cm²), mayor resistencia a la pérdida de mineral. Los hallazgos de Liu y cols.⁹⁰ mostraron que la

combinación de NaF (2% / 9,047 ppm) y Er:YAG (5.1 J/cm²) logró un mayor efecto preventivo para la desmineralización del esmalte dental humano, seguido por la irradiación láser per se (41.2%) y del tratamiento solo de fluoruro (28,9%); sin embargo, los protocolos de tratamiento difieren de los utilizados en este estudio, así como las técnicas para evaluarlos. De acuerdo con los resultados obtenidos, se requieren estudios adicionales para profundizar el conocimiento en esta área explorada de agentes remineralizantes en combinación con láser Er:YAG, se sugiere la evaluación de tratamientos combinados con aplicaciones consecutivas del agente remineralizante, así como el uso de densidades de energía más altas para la irradiación con láser Er:YAG.

9. Conclusiones generales

Cada protocolo preventivo produjo cambios químicos específicos.

La aplicación de NaF al 1.1% aumento significativamente el % at. de F en la estructura dental, y se observó una relación Ca / P estable.

La aplicación de HA-NaF-X no produce ningún cambio cuando se usa como tratamiento único. Sin embargo, en combinación con el láser Er:YAG, muestra un patrón similar al de los grupos irradiados.

La irradiación láser sola o en tratamientos combinados podría favorecer el contenido mineral de la estructura del esmalte, al aumentar el % at. de Ca, P y de la relación Ca / P.

La combinación de láser Er:YAG + NaF y la aplicación única de NaF fueron superiores en comparación con los otros grupos, en la resistencia a la desmineralización del esmalte dental. CPP-ACPF y HA-NaF-X mostraron una mayor resistencia a los ácidos cuando se combinaron con láser Er: YAG.

10. Bibliohemerografía

1. Featherstone JDB: Dental caries: a dynamic disease process. *Aust Dent J.* 2008;53:286-291.
2. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupidan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral disease and risk to oral health. *Bulletin of the World Health Organization* 2005;(9):661-669.
3. Hicks J, García GF, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of remineralization and remineralization. *J Clin Pediatr Dent* 2004;28(3):203-14.
4. West NX, Joiner A. Enamel mineral loss. *J Dent.* 2014;42:s2-s11
5. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. *Dental caries: The disease and its clinical management*, Wiley Blackwell, John Wiley & Sons Ltd, 3th ed. 2015.
6. Yamazaki H, Margolis HC: Enhanced enamel remineralization under acid conditions *in vitro*. *J Dent Res* 2008;87(6):569-574.
7. Larsen MJ, Pearce EI: Saturation of human saliva with respect to calcium salts. *Arch Oral Biol.* 2003;48(4):317-22.
8. Jones S, Burt BA, Petersen PE, Lennon MA. The effective use of fluorides in public health. *Bulletin of the World Health Organization.* 2005;83:670-676.
9. ten Cate JM, Featherstone JDB: Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991;2:283-296.
10. Cochrane NJ, Zero DT, Reynolds EC: Remineralization models. *Adv Dent Res* 2012;24(2):129-132.
11. Hannigan A, Mullane DMO, Barry D, Schäfer F, Roberts AJ: A caries susceptibility classification of tooth surfaces by survival time. *Caries Res* 2000;34:103-108.

12. Demirci M, Tuncer S, Yuceokur AA: Prevalence of Caries on Individual Tooth Surfaces and its Distribution by Age and Gender in University Clinic Patients. *Eur J Dent* 2010;4:270-279.
13. Carvalho JC. Caries process on occlusal surfaces: involving evidence and understanding. *Caries Res.* 2014;48:339-346.
14. Desai VC, Reddy RE, Manjula M, Hussain SS: Prevalence of dental caries in first and second permanent molars. *Int J Res Med Sci* 2014;2(2):514-520.
15. Jurić H Concurrent possibilities in occlusal caries management. *Acta Med Acad* 2013;42:216-222.
16. Correa-Afonso AM, Ciconne-Nogueira JC, Pécora JD, Palma-Dibb RG. In vitro assessment of laser efficiency for caries prevention in pits and fissures. *Microsc Res Tech* 2012;75(2):245-52.
17. Correa-Afonso AM, Pécora JD, Palma-Dibb RG. Influence of Laser Irradiation on Pits and Fissures: An *In Situ* Study. *Photomed Laser Surg* 2013;31(2):82-9.
18. Axelsson P. Diagnosis and risk prediction of dental caries. Germany: Quintessence 2000:151-162.
19. Pine C, Harris R, editors. Community oral health. Germany: Quintessence; 2007:173.
20. Burt BA, Eklund SA. Dentistry, dental practice, and the community. 6th ed. USA: Elsevier; 2005:366
21. Jones RS, Staninec M, Fried D. Imaging artificial caries under composite sealants and restorations. *J Biomed Opt.* 2004;9(6):1297-304.

22. Mazzoleni S, De Francesco M, Perazzolo D, Favero L, Bressan E, Ferro R, Stellini E. Comparative evaluation of different technique of surface preparation for occlusal sealing. *Eur J Paediatr Dent* 2007;8:119-123.
23. Agrawal A, Shigli A. Comparison of six different methods of cleaning and preparing occlusal fissure surface before placement of pit and fissure sealant: an in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2012;30:51-55.
24. Tyagi SP, Gard P, Sinha DJ, Singh UP: An update on remineralizing agents. *J Inter Dent* 2013;3:151-158.
25. Jindal S, Gupta N, Gupta P, Arora V, Mehta N: Reverse the adverse: A review. *Int J Adv Health Sci* 2015;1:21-24.
26. Mittal R, Relhan N, Tangri T: Remineralizng agents: a comprehensive review. *Int J Clin Prev Dent* 2017;13:1-4.
27. Venkatesan K, Ranjan M. Remineralizing agents in dentistry: A review. *J Dent Med Sci.* 2014;13:57-60.
28. Manual para el uso de fluoruros dentales en la República Mexicana; Secretaria de Salud 2003.
29. Splieth CH, Christiansen J, Foster Page LA. Caries epidemiology and community dentistry: chances for future improvements in caries risk groups. Outcomes of the ORCA Saturday afternoon symposium, Greifswald, 2014. Part 1. *Caries Res.*2016;50:9-16.
30. Reynolds EC: The prevention of sub-surface demineralization of bovine enamel and change in plaque composition by casein in an intra-oral model. *J Dent Res* 1987;66:1120-7.

31. Reynolds EC, Cain CJ, Webber FL, Black CL, Riley PF, Johnson IH, Perich JW: Anticariogenicity of calcium phosphate complexes of tryptic casein phosphopeptides in the rat. *J Dent Res* 1995;74:1272-9.
32. Reynolds EC: Remineralization of enamel subsurface lesions by casein phosphopeptide-stabilized calcium phosphate solutions. *J Dent Res* 1997;76: 1587-95.
33. Yamaguchi K, Miyazaki M, Takamizawa T, Inage H, Moore BK. Effect of CPP-ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device. *J Dent*. 2006;34(3):230-6.
34. Kumar VL, Ittagarum A, King NM: The effect of casein phosphopeptides amorphous calcium phosphate on remineralization of artificial caries-like lesions: an in vitro study. *Aust Dent J* 2008;53:34–40.
35. Jo SY, Chong HJ, Lee EH, Chang NY1, Chae JM, Cho JH, Kim SC, Kang KH: Effects of various toothpastes on remineralization of white spot lesions. *Korean J Orthod* 2014;44:113-8.
36. Yap J1, Walsh LJ, Naser-Ud Din S, Ngo H, Manton DJ: Evaluation of a novel approach in the prevention of white spot lesions around orthodontic brackets. *Aust Dent J* 2014r;59:70-80.
37. Iijima Y1, Cai F, Shen P, Walker G, Reynolds C, Reynolds EC: Acid resistance of enamel subsurface lesions remineralized by a sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *Caries Res* 2004;38:551-6.
38. Cai F, Manton DJ, Shen P, Walker GD, Cross KJ, Yuan Y, Reynolds C, Reynolds EC: Effect of addition of citric acid and casein phosphopeptideamorphous calcium phosphate to a sugar-free chewing gum on enamel remineralization in situ. *Caries Res* 2007;41:377-83.

39. Vanichvatana S, Auychai P: Efficacy of two calcium phosphate pastes on the remineralization of artificial caries: a randomized. *Int J of Oral Sci* 2013;5:224- 8.
40. Shen P, Cai F, Nowicki A, Vincent J, Reynolds EC: Remineralization of enamel subsurface lesions by sugar-free chewing gum containing casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J Dent Res* 2001;80:2066-70.
41. Andersson A, Sköld-Larsson K, Hallgren A, Petersson LG, Twetman: Effect of a dental cream containing amorphous cream phosphate complexes on white spot lesion regression assessed by laser fluorescence. *S. Oral Health Prev Dent* 2007;5:229-33.
42. Morgan MV, Adams GG, Bailey DL, Tsao CE, Fischman SL, Reynolds EC: The anticariogenic effect of sugar-free gum containing CPP-ACP nanocomplexes on approximal caries determined using digital bitewing radiography. *Caries Res* 2008;42:171-84.
43. Rao SK, Bhat GS, Aradhya S, Devi A, Bhat M: Study of the efficacy of toothpaste containing casein phosphopeptide in the prevention of dental caries: a randomized controlled trial in 12-to-15 year old high caries risk children in Bangalore, India. *Caries Res* 2009;43:430-5.
44. Bröchner A, Christensen C, Kristensen B, Tranaeus S, Karisson L, Sonnesen L, Twetman S: Treatment of post-orthodontic white spot lesions with casein phosphopeptide-stabilised amorphous calcium phosphate. *Clin Oral Invest* 2011;15:369-73.
45. Sitthisettapong T, Phantumvanit P, Huebner C, Derouen T: Effect of CPP-ACP paste on dental caries in primary teeth: a randomized trial. *J Dent Res* 2012;91:847-52.
46. Wang J, Yan Y, W X: Clinical evaluation of remineralization potential of casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate nanocomplexes for enamel decalcification in orthodontics. *Chin Med J* 2012;125:4018-21.

47. Akin M, Basciftci FA: Can white spot lesions be treated effectively?. *Angle Orthod* 2012;82:770-5.
48. Fredrick C, Krithikadatta J, Abarajithan M, Kandaswamy D: Remineralisation of occlusal white spot lesion with a combination of 10% CPP-ACP and 0.2% sodium fluoride evaluated using Diagnodent: a pilot study. *Oral Health Prev Dent* 2013;11:191-6.
49. Li J, Xie X, Wang Y, Yin W, Antoun JS, Farella M, Mei L. Long-term remineralizing effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on early caries lesions in vivo: A systematic review. *J Dent* 2014;42:769-777.
50. Reynolds EC: Calcium phosphate-based remineralization systems. Scientific evidence?. *Aust Dent J* 2008;53:268-73.
51. Reynolds EC. Casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. *Adv Dent Res*.2009;21:25-29.
52. Azarpazhooh A, Limeback H: Clinical efficacy of casein derivatives: a systematic review of the literature. *J Am Dent Assoc* 2008;139:915-24.
53. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel. *J Dent Res* 2010;89(11):1187-97.
54. Garcia Garduño MV Reyes Gasga: La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 2006;9(2):90-5.
55. Pepla E, Kostantinos BL, Palaia G, Tenore G, Migliau G: Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Annali di stomatologia* 2014;3:108-114.

56. Gjorgievska ES, Nicholson JW, Slipper IJ, Stevanovic MM: Remineralization of demineralization enamel by toothpastes: A scanning electron microscopy, energy dispersive X- ray analysis, and three-dimensional stereo-micrographic study. *Microsc Microanal* 2013;5:1-9.
57. Lelli M, Putignano A, Marchetti M, Foltran I, Mangani F, Procaccini M, Roveri N, Orsini G: Remineralization and repair of enamel Surface by biomimetic Zn-Carbonate hydroxyapatite containing toothpaste: and comparative in vivo study. *Front Physiol* 2014;5:1-7.
- 58, Swarup JS, Rao A: Enamel surface remineralization: using synthetic nanohydroxyapatite. *Contemp Clin Dent* 2012;3:433-436.
59. Gravila L, Maxim A, Balam A, Stoleriu S, Sandu AV, Serban V, Savin C: Comparative study regarding the effec of different remineralizing products on primary and permanent teeth *Enamel Caries Lesions Revista Chimie* 2015;8:1159-1161.
60. Sulewski JG: Historical survey of laser dentistry. *Dent Clin North Am* 2000;44:717-52.
61. Stabholz A, Zeltser R, Sela M, Peretz B, Moshonov J, Zinskind D, et al.: The use of laser in dentistry: principles of aperation and clinical applications. *Compend Contin Educ Dent* 2003;24:935-948.
62. Parker S: Introduction, history of lasers and laser light production. *Brit Dent J* 2007;202:21-31.
63. Aoki A, Sasaki KM, Watanabe H, Ishikawa I: Laser in nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology* 2000;36:59-97.
64. Ishikawa I, Aoki A. Takasaki AA: Potential applications of Erbium:YAG laser in periodontics. *J Periodont Res* 2004;39:275-285.

65. Kutsch VK: Lasers in dentistry: comparing wavelengths. J Am Dent Assoc 1993;124(2):49-54.
66. Dederich DN, Bushick RD: Lasers in dentistry: Separating science from hype. J Am Dent Assoc 2004;135:204-212.
67. Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B: Impact of the laser on dental caries. Nature 1964;203:417.
68. Stern RH, Sognaes RF, Goodman F: Laser effect on in vitro permeability and solubility. J Am Dent Assoc 1966;73:838-843.
69. Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Yamada Y, Ito M, Matsumoto K: Caries preventive effect of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. J Clin Laser Med Surg 2000;18(2):61-65.
70. Apel C, Schafer C, Gutknecht N: Demineralization of Er:YAG and Er, Cr: YSGG laser-prepared enamel cavities in vitro. Caries Res 2003;37:34-37.
71. Husein A: Applications of lasers in dentistry: a review. Arch Orofac Sci 2006;1:1-4.
72. Featherstone JDB: Caries detection and prevention with laser energy. Dent Clin North Am 2000;44(4):955-969.
73. Hossain M, Nakamura Y, Kimura Y, Yamada Y, Kawanaka T, Matsumoto K. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin J Clin Laser Med Surg 2001;20:77-82.
74. Raucci-Neto W, de Castro-Raucci LM, Lepri CP, Faraoni-Romano JJ, Gomes da Silva JM, Palma-Dibb RG: Nd:YAG laser in occlusal caries prevention of primary teeth: A randomized clinical trial. Lasers Med Sci 2015;30(2):761-768.

75. Schmidlin PR, Doring I, Lussi A, Roos M, Imfeld T: Co₂ laser irradiation through topically applied fluoride increases acid resistance of demineralised human enamel in vitro. *Oral Health Prev Dent.* 2007;5:201-8.
76. Esteves-Oliveira M, Zezell DM, Meister J, Franzen R, Stanzel S, Lampert F, Eduardo CP, Apel C: CO₂ laser (10.6 microm) parameters for caries prevention in dental enamel. *Caries Res,* 2009;43(4):261-268.
77. Tepper SA, Zehnder M, Paiarola GF, Schmidlin PR. Increased fluoride uptake and acid resistance by CO₂ laser-irradiation through topically applied fluoride on human enamel in vitro. *J Dent* 2004;32:635-41.
78. Geraldo-Martins VR, Lepri CP, Faraoni-Romano JJ, Palma-Dibb RG: The combined use of Er, Cr: YSGG laser and fluoride to prevent root dentin demineralization. *J Appl Oral Sci.* 2014;22(5):459-64.
79. Apel C, Meister J, Schmitt N, Graber HG, Gutknecht N: Calcium solubility of dental enamel following sub-ablative Er: YAG and Er: YSGG Laser Irradiation In Vitro. *Lasers Surg Med* 2002;30:337-341.
80. Cecchini RCM, Zezell DM, de Oliveira E, de Freitas PM, de P. Eduardo C: Effect of Er: YAG Laser on Enamel Acid Resistance: Morphological and Atomic Spectrometry Analysis. *Lasers Surg Med* 2005;37:366–372.
81. Díaz-Monroy JM, Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, García-Fabila MM, Rodríguez-Vilchis LE, Sánchez-Flores I, Centeno-Pedraza C. Chemical Changes Associated with Increased Acid Resistance of ER: YAG Laser Irradiated Enamel. *Scientific World Journal* 2014;27:1-6.

82. Zamudio-Ortega CM, Contreras-Bulnes R, Scougall-Vilchis RJ, Morales-Luckie RA, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE, García-Fabila MM. Morphological and Chemical Changes of Deciduous Enamel Produced by Er:YAG Laser, Fluoride, and Combined Treatment. *Photomed Laser Surg* 2014;32(5):252-9.
83. Liu Y, Hsu CY, Teo CM, Teoh SH. Subablative Er: YAG Laser Effect on Enamel Demineralization. *Caries Res* 2013;47(1):63-8.
84. Hibst R, Keller U: Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. *Lasers Surg Med* 1989;9:338-344.
85. Keller U, Hibst R: Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II. Light microscopic and SEM investigations. *Lasers Surg Med* 1989;9:345-351.
86. Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, Rodríguez-Vilchis LE, Scougall-Vilchis RJ, Centeno-Pedraza C. Structural Changes on Human Dental Enamel Treated with Er:YAG, CO₂ Lasers and Remineralizing Solution: EDS Analysis. *Oral Health Care-Prosthodontics, Periodontology, Biology, Research and Systemic Conditions* 2012;19:299-318.
87. Rodríguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Sánchez-Flores I, Samano EC. Acid Resistance and Structural Changes of Human Dental Enamel Treated with Er: YAG Laser. *Photomed Laser Surg* 2010;28(2):207-11.
88. Ana PA, Bachmann L, Zezell DM. Lasers effects on enamel for caries prevention. *Laser Physics*. 2006;16:865-875.

89. Bevilacqua FM, Zezell DM, Magnani R, da Ana PA, Eduardo C de P. Fluoride uptake and acid resistance of enamel irradiated with Er: YAG laser. *Lasers Med Sci.* 2008;23:141-147.
90. Liu Y, Hsu CY, Teo CM, Teoh SH. Potential mechanism for the laser-fluoride effect on enamel demineralization. *J Dent Res.* 2013;92:71-75.
91. Curylofo-Zotti FA, Solano TG, Zugliani AL, Milori CSA. The combined use of sodium fluoride and Er: YAG laser to control the progression of enamel caries. *Eur J Pharm Med Res.* 2016;3:01-05.
92. Ismail AI, Tellez M, Pitts NB, Ekstrand KR, Ricketts D, Longbottom C, Eggertsson H, Deery C, Fisher J, Young DA, Featherstone JDB, Evans RW, Zeller GG, Zero D, Martignon S, Fontana M, Zandona A: Caries management pathways preserve dental tissues and promote oral health. *Community Dent Oral Epidemiol* 2013;41:e12–e40.
93. Wright JT, Tampi MP, Graham L, Estrich C, Crall JJ, Fontana M, Gillette EJ, Novy BB, Dhar V, Donly K, Hewlett ER, Quinonez RB: Sealants for preventing and arresting pit and fissure occlusal caries in primary and permanent molars. *Pediatr Dent* 2016;38(4):282-294.
94. Liu J, Liu Y, Hsu ChS: Optimal Er:YAG laser energy for preventing enamel demineralization. *J Dent* 2006;34:62-66.
95. Fried D, Visuri SR, Featherstone JD, Walsh JT Jr, Seka WD, Glana RE, Mc Cormack SM, Wigdor HA: Infrared radiometry of dental enamel during Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation. *J Biomed Opt* 1996;1(4):455-465.
96. Zach L, Cohen G: Pulp response to extremely applied heat. *Oral Surg* 1965;19:515-530.
97. Harris NO, García-Godoy F, Nathe CN, Primary Preventive Dentistry, Pearson, United States of America, 8th edition, 2014.

98. Esteves-Oliveira M, Witulski N, Hilgers RD, Apel C, Meyer-Lueckel H, Eduardo C de P: Combined Tin-containing fluoride solution and CO₂ laser treatment reduces enamel erosion in vitro. *Caries Res* 2015;49(6):565-574.
99. Esteves-Oliveira M, Wollgarten S, Liebegall S, Jansen P, Bilandzic M, Meyer-Lueckel H, Fischer H, Stollenwerk J, Poprawe R: A new laser-processing strategy for improving enamel erosion resistance. *J Dent Res* 2017;96(10):1168-1175.
100. Zezell DM, Boari HG, Ana PA, Eduardo C de P, Powell GL: Nd:YAG laser in caries prevention: a clinical trial. *Lasers Surg Med.* 2009;41:31-35.
101. Rechmann P, Charland DA, Rechmann BM, Le CQ, Featherstone JD: In-vivo occlusal caries prevention by pulsed CO₂-laser and fluoride varnish treatment- A clinical pilot study. *Lasers Surg Med.* 2013;45:302-310.
102. Yassaei S, Shahraki N, Aghili H, Davari A: Combined effects of Er: YAG laser and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate on the inhibition of enamel demineralization: An in vitro study. *Dent Res J (Isfahan).* 2014;11:193-198.
103. Ceballos-Jiménez AY, Rodríguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, et al. Chemical Changes of Enamel Produced by Sodium Fluoride, Hydroxyapatite, Er:YAG Laser, and Combined Treatments. *J Spectroscopy*, 2018:1-7.
104. Comar LP, Souza BM, Gracindo LF, Buzalaf MA, Magalhães AC. Impact of experimental nano-HAP pastes on bovine enamel and dentin submitted to a pH cycling model. *Braz Dent J.* 2013;24:273-278.

11. Anexos



ANEXO 1

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología

CONSENTIMIENTO INFORMADO
Donación de órgano dentario

Estimado paciente:

Como es de su conocimiento, la caries dental es uno de los mayores problemas de la salud bucal en la población, por esta razón en la Facultad de Odontología, de la Universidad Autónoma del Estado de México se desarrollan proyectos de investigación, cuya finalidad es buscar nuevas alternativas para la prevención de dicha enfermedad. Por esta razón, solicitamos su apoyo y autorización para que la(s) pieza(s) dentaria(s) que le será(n) extraídas sean donadas y utilizadas en un proyecto de investigación. Los órganos serán tratados con agentes remineralizantes y láser Er:YAG y después se analizarán en laboratorio para verificar si son tratamientos eficaces en la prevención de caries.

Acepto

Nombre y firma del donante

Fecha

Nombre y firma del padre o tutor (en caso de menores de edad)

Fecha

Testigo 1

Fecha

Testigo 2

Fecha

ANEXO 2

Espectroscopia por Dispersión de Energía de Rayos X (EDS)

ANEXO 4



STATEMENT OF INSTITUTIONAL RESEARCH ETHICS COMMITTEE

The research "**Effect of the Er:YAG laser and remineralizers in the prevention of dental caries in pits and fissures**", developed by the authors Alma Yadira Ceballos-Jiménez, Laura Emma Rodríguez-Vilchis, Rosalía Contreras-Bulnes and Jesús Ángel Arenas-Alatorre was approved on November 27th, 2015 by The Research Ethics Committee at Dental Research and Advanced Studies Center, School of Dentistry at the Autonomous University of the State of Mexico (UAEM) with respect to scientific content and compliance research and human subject regulations.

This protocol was registered with the number: **CEICIEAO-2015-002**.



Edith Lara Carrillo, DDS, MDSc, PhD.
President

Research Ethics Committee
Dental Research and Advanced Studies Center, School of Dentistry
Autonomous University of the State of Mexico

FO
FACULTAD ODONTOLOGIA



ANEXO 5



LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ZACATECAS
“FRANCISCO GARCÍA SALINAS”
A TRAVÉS DE LA UNIDAD ACADÉMICA DE ODONTOLÓGÍA
Y LA SOCIEDAD NACIONAL DE INVESTIGADORES EN ODONTOLÓGÍA

Otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

A Alma Yadira Ceballos Jiménez, Laura Emma Rodríguez Vilchis, Rosalía Contreras Bulnes, Jesús Ángel Arenas Alatorre

Como AUTORES del Cartel

CAMBIOS QUÍMICOS DEL ESMALTE PRODUCIDO POR Er:YAG LÁSER, FLUORURO, HIDROXIAPATITA Y TRATAMIENTO COMBINADO

Presentada durante los trabajos del
XXV Encuentro Nacional y XVI Iberoamericano de Investigación en Odontología,
y las **IV Jornadas de Investigación en Odontología de la UAO/UAZ,**
celebrados del 8 al 10 de noviembre de 2017
en la ciudad de Zacatecas, Zac.

Dr. José Luis Elías Salazar
Director de la UAO/UAZ

Dr. Jorge Alanís Tavira
Presidente de la SNIO

ANEXO 6



La Universidad Autónoma del Estado de México a través de la
Facultad de Odontología,
el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología y el Cuerpo Académico Salud • Enfermedad Bucal

otorga la presente

Constancia

A: Alma Yadira Ceballos Jiménez, Laura Emma Rodríguez Vilchis, Rosalía Contreras
Bulnes y Jesús Ángel Arenas Alatorre

Por su presentación del trabajo en modalidad DOCTORADO titulado:
"Cambios Químicos del Esmalte Producido por Er: YAG Láser, Fluoruro, Hidroxipatita y
Tratamiento Combinado"



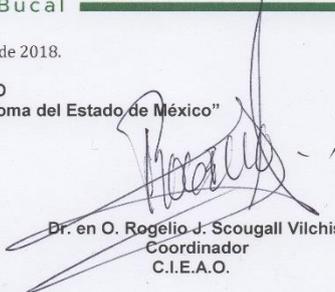
CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS
AVANZADOS EN ODONTOLÓGIA

IX Coloquio
Nacional
Salud • Enfermedad Bucal

Toluca, Estado de México a 8 de febrero de 2018.

PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
"2018, año del 190 Aniversario de la Universidad Autónoma del Estado de México"


Dra. en C.S. Edith Lara Carrillo
Directora
Facultad de Odontología


Dr. en O. Rogelio J. Scougall Vilchis
Coordinador
C.I.E.A.O.

CIEAO
Centro de Investigación y Estudios Avanzados
en Odontología "Dr. Keisaburo Miyata"



Cuerpo Académico
CASEB
Salud-Enfermedad Bucal