



Universidad Autónoma del Estado de México

Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

**“Caracterización morfológica, química y fuerza de adhesión
de la dentina de dientes temporales irradiada con láser
Er: YAG”**

TESIS

Para Obtener el Grado de:
Doctora en Ciencias de la Salud

Presenta:

Mtra. en C.S. María de los Angeles Moyaho Bernal

Comité Tutorial:

Dra. en O. Rosalía Contreras Bulnes

Tutor Académico

Dra. en C.S. Laura Emma Rodríguez Vilchis

Tutor Interno

Dr. en I. Efraín Rubio Rosas

Tutor Externo



Toluca, Estado de México, Abril de 2018

Este trabajo se realizó en:

El Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología (C.I.E.A.O.)

“Dr. Keizaburo Miyata”

Facultad de Odontología

Universidad Autónoma del Estado de México

Laboratorio de Microscopía Electrónica

Centro Universitario de Vinculación

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Agradecimiento a:

La Universidad Autónoma del Estado de México (U.A.E.Méx.)

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)

El Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología (C.I.E.A.O.)

“Dr. Keizaburo Miyata”

Centro Universitario de Vinculación

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

por su apoyo en este proyecto.

Agradezco a todas las personas que contribuyeron en el desarrollo y elaboración de esta tesis.

Un agradecimiento muy especial para:

Dra. en O. Rosalía Contreras Bulnes

Dra. en C.S. Laura Emma Rodríguez Vilchis

Dr. en I. Efraín Rubio Rosas

Dr. en O. Rogelio Scougall Vilchis

M. en O. Claudia Centeno Pedraza

VOTOS APROBATORIOS



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Enfermería y Obstetricia

Doctorado en Ciencias de la Salud

Fecha: 29 de Enero, 2018

DICTAMEN DE VOTOS APROBATORIOS TESIS

Los docentes que integran el **COMITÉ DE TUTORES** de la maestro (a): María de los Angeles Moyaho Bernal, egresado(a) del programa del Doctorado en Ciencias de la Salud de la generación Agosto 2014 - Julio 2017, quien realizó el trabajo de tesis titulado: "Caracterización morfológica, química y fuerza de adhesión de la dentina de dientes temporales irradiada con láser Er:YAG", bajo la Tutoría Académica del(la) Dr(a). Rosalía Contreras Bulnes, 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. Rosalía Contreras Bulnes
Tutor Académico
(nombre y firma)

Dra. Laura Emma Rodríguez Vilchis
Tutor Interno
(nombre y firma)

Dr. Efraín Rubio Rosas
Tutor Externo
(nombre y firma)

Paseo Tollocan s/n 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
1. Antecedentes	2
2. Planteamiento del problema	22
3. Justificación	24
4. Hipótesis	25
5. Objetivos: General y específicos	27
6. Diseño metodológico	29
6.1 Diseño del estudio	32
6.2 Universo y muestra	32
6.3 Procedimientos	33
6.4 Criterios de inclusión	45
6.5 Criterios de eliminación	45
6.6 Instrumentos	46
6.7 Recolección de datos	46
6.8 Análisis de datos	46
6.9 Aspecto ético	47
7. Resultados	48
7.1 Artículo publicado	48
7.1.1 Título del artículo publicado	48
7.1.3 Carta de aceptación	49
7.2 Artículo enviado	50
7.2.1 Título del artículo enviado	50

7.2.2 Carta de envío y/o recepción del artículo	51
8. Resultados adicionales	52
9. Discusión general	53
10. Conclusiones generales	62
11. Bibliohemerografía	64
12. Anexos	74

INTRODUCCION

La dentina es el sustrato fundamental de la odontología restauradora, sus propiedades y características son factores determinantes para la adhesión adecuada de las resinas. La comprensión de su naturaleza tiene consecuencias importantes para los procedimientos de su acondicionamiento.

Convencionalmente el acondicionamiento de la dentina se realiza con el ácido fosfórico que ha sido utilizado desde 1955 para la eliminación del lodillo dentinario, desmineralización de la dentina intertubular y peritubular con la exposición de los túbulos dentinarios. Posteriormente con la finalidad de mejorar y evitar efectos adversos, surgió el sistema de autograbado, basado en el uso de monómeros ácidos polimerizables que acondicionan simultáneamente tanto esmalte como dentina, con la ventaja de un tiempo corto de aplicación y ser una técnica menos sensible.

Actualmente y con el desarrollo de la tecnología el láser, específicamente el Er: YAG emite una longitud de onda de $2,94\mu\text{m}$ que coincide con la mayor banda de absorción de agua, es bien absorbida por la hidroxiapatita, y se ha demostrado que elimina los tejidos dentales duros con mayor eficacia, con túbulos dentinarios abiertos, preservación de la estructura tubular, sin formación de lodillo dentinario ni efectos secundarios térmicos. Recientemente la Academia Americana de Odontología Pediátrica (AAPD) publicó las políticas del uso del láser en pacientes odontopediátricos. Sin embargo, existe escasa información científica sobre su aplicabilidad en esta área de la odontología, por lo que es relevante investigar y establecer los parámetros adecuados de su uso, específicamente en la dentina de dientes temporales.

1. Antecedentes

Generalidades de la dentina humana

La dentina es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que conforma el mayor volumen del mismo.¹ Determina la forma de la corona, que incluye las cúspides, rebordes, número y tamaño de las raíces.²

Su espesor varía según el diente: en los incisivos inferiores es mínimo de (1 a 1.5 mm), mientras que en caninos y molares es de 3 mm aproximadamente.¹ En cada diente en particular, el espesor es mayor en los bordes incisales o cuspídeos, y menor en la raíz. Debido al crecimiento aposicional que presenta (dentina secundaria), el espesor es mayor en dientes permanentes que en los elementos jóvenes.^{1, 3}

Física y químicamente la dentina se asemeja al hueso.² La dentina es menos mineralizada que el esmalte (96% en peso), pero más que el hueso o el cemento (aproximadamente 65% en peso).⁴ Está constituida por compuesto mineral en el 70%, matriz orgánica en un 20%, agua en peso 10% y en volumen es de 45%, 33% y 22%, respectivamente.⁵ La fase mineral de la dentina consiste principalmente de carbonato sustituido por hidroxapatita y la fase orgánica contiene proteínas fibrosas (colágeno tipo I) en el 90%, así como lípidos y proteínas de la matriz de colágeno en el 10%.^{6,7}

En su estructura se pueden distinguir dos componentes básicos: la matriz mineralizada y los túbulos dentinarios que la atraviesan en todo su espesor y que alojan a los procesos odontoblásticos. Dichos procesos son largas prolongaciones citoplasmáticas de las células especializadas llamadas odontoblastos, cuyos cuerpos se ubican en la región más periférica de la pulpa.^{1, 2, 7}

Estructuras histológicas de la dentina

Está constituida por unidades estructurales básicas y secundarias.

Las unidades estructurales están conformadas por: el túbulo dentinario y la matriz intertubular.^{1, 7}

Túbulos dentinarios

Los túbulos dentinarios son estructuras cilíndricas delgadas que se extienden por todo el espesor de la dentina desde la pulpa hasta la unión amelodentinaria o cementodentinaria. Su longitud promedio oscila entre 1.5 a 3 mm.^{1, 8}

La pared del túbulo está formada por dentina peritubular y está constituida por una matriz mineralizada que ofrece una estructura altamente calcificada o hipermineralizada, que hace que tenga una composición química característica.^{3, 7}

Los túbulos alojan en su interior la prolongación odontoblástica, entre el proceso odontoblástico y la pared del túbulo hay un espacio denominado periprocesal que está ocupado por el fluido dentinal (que proviene de la pulpa dental).⁹ El proceso odontoblástico y el fluido son los responsables de la vitalidad de la dentina.¹⁰ Este espacio permite que el fluido se difunda en forma bidireccional, utiliza la vía centrífuga para nutrir la periferia de la dentina y la vía centrípeta para conducir los estímulos (teoría de la hidrodinámica).^{1, 11} Una vez que la dentina está expuesta, los estímulos externos causan desplazamientos de fluidos a través de la dentina que activan los nervios de la pulpa y causa dolor, este movimiento del líquido dentro de los túbulos se conoce como permeabilidad transdental¹⁰ que es

responsable de la sensibilidad dentinaria, tanto de la dentina expuesta así como para algunos tipos de sensibilidad de la dentina restaurada.¹²

Densidad de los túbulos dentinarios

Existen muchos túbulos dentinarios por unidad de superficie en las zonas de dentina próximas a la pulpa (existen aproximadamente 45.000 a 60.000 por mm^2), en las regiones más externas de la dentina (15.000 a 20.000 por mm^2), en la dentina radicular, (24.000 por mm^2) cerca del área pulpar y de casi (12.000 por mm^2) en la región de la periferia.^{1, 4}

Los túbulos dentinarios están dispuestos en diferentes direcciones que dependen de la posición que presenten en el diente. En la zona coronal presentan la forma de S y en la radicular la forma de línea recta.^{4, 13}

Se ha demostrado que la densidad es mayor en la profundidad de la dentina de los dientes temporales (124.329 ± 43.594 por mm^2) comparado con los dientes permanentes (45.972 ± 21.098 por mm^2) y una disminución en el área de la dentina intertubular.^{14,15}

Diámetro de los túbulos dentinarios

El diámetro de los túbulos dentinarios incrementa desde la unión amelodentinaria hacia la pulpa, con un ancho de la dentina peritubular que se muestra de manera inversa.¹⁴

El diámetro de los túbulos también varía, son más anchos en la proximidad de la pulpa y alcanza hasta $5\mu\text{m}$ de diámetro (promedio $3.5\mu\text{m}$)⁸ y son más estrechos en la zona periférica ($1.2-1.7\mu\text{m}$).^{1,7} Algunos estudios han evaluado los diámetros de los túbulos dentinarios en diferentes zonas (superficial: $2.4 \pm 0.07\mu\text{m}$; media: $3.70 \pm 0.06\mu\text{m}$; profunda: $4.28 \pm 0.04\mu\text{m}$),

no existen diferencias entre los dientes temporales ($3.48 \pm 0.81\mu\text{m}$) y los permanentes ($3.47 \pm 0.73\mu\text{m}$).¹⁵

Con respecto a la dentina de los dientes temporales, presentan varios canalículos especialmente en la zona media.¹⁵ Sumikawa et al.,³ reportaron hallazgos de dichos canalículos en zonas interproximales cercanos a la zona media de incisivos centrales, laterales y caninos temporales. Las características que presentan éstos canalículos, son que se extienden desde la unión amelodentinaria hacia la pulpa, similar al curso que presentan los túbulos y son 5 a 10 veces más grandes al tamaño normal, que pueden llegar a incrementar localmente la permeabilidad.^{1,3}

Matriz intertubular

La formación de dicha matriz proporciona un modelo único de tres capas: 1) el estrato celular: odontoblastos y células de Hoehl, localizados en la periferia de la pulpa, 2) la capa de predentina inmadura: con un espesor de 15-20 micrómetros, y 3) la dentina mineralizada: que llega hasta la unión amelodentinaria.^{4, 14}

Se distribuye entre las paredes de los túbulos dentinarios y su componente fundamental son las fibras de colágeno que constituyen una malla fibrilar sobre la cual se depositan los cristales de hidroxiapatita semejantes a los existentes en la dentina peritubular.^{14, 16}

La dureza de la dentina intertubular varía significativamente entre la zona próxima a la unión amelodentinaria ($0.51 \pm 0.02\text{GPa}$) y la zona próxima a la pulpa ($0.15 \pm 0.03\text{GPa}$). En la matriz

intertubular pueden detectarse todos los componentes que constituyen la materia orgánica de la dentina.¹

Unidades estructurales secundarias de la dentina

Se definen como aquellas estructuras que se originan a partir de las unidades estructurales básicas por variaciones en la mineralización o como resultado de la interrelación de las unidades básicas con el esmalte o cemento periférico.^{1,17}

Líneas incrementales o de crecimiento

La dentina crece continuamente por aposición, este tipo de crecimiento determina la formación de líneas incrementales.² Hay dos tipos: las líneas de Von Ebner y las líneas de Owen.¹⁷ Las líneas menores de incremento de la dentina, denominadas líneas de imbricación o de crecimiento de Ebner son análogas a las estriaciones transversales del esmalte.^{1,2} La formación de la dentina no es un proceso continuo sino rítmico, periodos de formación que se alternan con periodos de descanso. Estas líneas se originan aproximadamente cada cinco días, en el que el material se deposita a un ritmo promedio de 4µm por día con variaciones entre 8µm en la zona de la corona, donde la formación es más rápida, y 3µm en la zona apical, en la cual la formación es más lenta.^{1,17}

Líneas de contorno o de Owen

Son alteraciones en el proceso de calcificación de la dentina, son líneas de hipomineralización más anchas que las líneas de Von Ebner y se presentan a intervalos irregulares y en número variable.¹

Dentina interglobular o espacios de Czermack

Aparecen en la periferia de la dentina coronaria y raramente en la dentina radicular (tercio cervical).¹⁴ Los espacios interglobulares son de tamaño variable, entre 150 y 300µm; se observan como zonas limitadas por contornos de esferas y se originan por un defecto de la mineralización de la dentina debido a la falta de fusión de los calcoferitos, pequeñas esferas o glóbulos de mineralización.¹

Zona granulosa de Tomes

Esta zona se encuentra en la periferia de toda la dentina radicular. Está formada por estructuras calcoferitas no fusionadas.⁴ El aspecto granular de esta zona se atribuyó a la existencia de numerosos espacios de dentina interglobular que se originarían por la falta de mineralización de los gruesos haces de fibras colágenas de la zona más periférica de la dentina radicular.¹⁷ La concentración de calcio y fósforo a nivel de la zona granulosa de Tomes es la más elevada dentro de las tres áreas hipomineralizadas que existen en la dentina (dentina interglobular y predentina).¹

Líneas o bandas dentinarias de Schreger

Estas formaciones son homologables a las bandas de Hunter-Schreger del esmalte. Representan el cambio de rumbo de los túbulos dentinarios al realizar la curvatura primaria. Cuanto más marcadas sean las dobles curvaturas de las S en la porción coronaria o la curva simple en la región radicular tanto más nítida aparecerá la banda de Schreger.^{1, 13}

Clasificación histotopográfica de la dentina

Se consideran tres zonas en la dentina:

- a) La dentina del manto es la primera que se forma y está ubicada periféricamente, constituye una capa de 20 μm de espesor ubicada por debajo del esmalte y cemento.^{1, 18} Esta capa es menos mineralizada y por lo tanto la dentina puede ser adaptada para disipar las presiones o fuerzas que pueden llegar a inducir fisuras y desprendimiento en el esmalte.⁴
- b) La dentina circumpulpar es el resto de la dentina producida y mineralizada. Esta forma el mayor volumen de dentina, y se extiende desde la zona del manto hasta la predentina.¹ Su espesor aumenta continuamente (4mm/día) a expensas del espacio inicialmente ocupado por la pulpa. Se presenta como una capa de dentina no homogénea. La parte más prominente de la dentina circumpulpar está formada por dentina intertubular.⁴
- c) La predentina, sin mineralizar de 20 a 30 μm de ancho, adyacente a los odontoblastos de la pulpa.^{1, 18}

Clasificación histogenética de la dentina

Se reconocen tres tipos de dentina: la dentina primaria, secundaria y terciaria.^{1, 14, 18, 19}

- a) La dentina primaria es la que se forma primero y delimita la cámara pulpar de los dientes ya formados.
- b) La dentina secundaria se produce después de que se ha completado la formación de la raíz del diente, se deposita más lentamente que la primaria, pero su producción continúa durante toda la vida.
- c) La dentina terciaria se forma más internamente. Esta dentina es producida por odontoblastos directamente implicados por el estímulo nocivo, de manera que sea posible aislar la pulpa de la zona afectada.

Composición química de la dentina

La composición química de la dentina de los dientes temporales no difiere significativamente de la composición de las mismas estructuras en los dientes permanentes.¹⁴ Es aproximadamente de: 70% de materia inorgánica (principalmente de cristales de hidroxiapatita), 18-20% de materia orgánica (fibras colágenas) y 10-12% de agua.^{1,7}

La matriz orgánica está constituida principalmente por colágeno tipo I en el 90-92%, dicha matriz contiene además tres proteínas: fosforina dentinaria (DPP, por sus siglas en inglés), tras el colágeno es el componente más abundante de la dentina, la proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP1, por sus siglas en inglés) y la sialoproteína dentinaria (DSP, por sus siglas en inglés) y por proteínas no colágenas 8-9%.^{1, 13} Estas proteínas están implicadas como factores importantes en el proceso de mineralización de la dentina, estudios in vitro e

in vivo apoyan la hipótesis de que la proteína DMP1, participa en las fases iniciales de la formación de la dentina mineralizada.²⁰

En la fracción mineral de la dentina, además de los cristales de hidroxiapatita hay cierta cantidad de fosfatos amorfos, carbonatos, sulfatos y elementos traza como flúor (F), cobre (Cu), zinc (Zn), hierro (Fe), calcio (Ca), potasio (K), sodio (Na), fósforo (P) y magnesio (Mg). Este último se considera que influye en el proceso de mineralización, especialmente en el crecimiento de los cristales de hidroxiapatita.^{21, 22} Existen reportes en la literatura que dichos elementos disminuyen conforme el diente va envejeciendo.²³ Sin embargo, las diferencias esenciales están en el grado de mineralización, los estudios indican que el Ca y el P que están presentes en los cristales de hidroxiapatita son los principales componentes inorgánicos del tejido dental duro. La relación calcio-fósforo (ratio Ca/P) de la hidroxiapatita en la dentina, implica la composición básica del tejido duro de las superficies dentales, que dependen del tipo de cristal, la disponibilidad de Ca, localización anatómica, y la técnica de determinación.²¹ Otros estudios indican menores concentraciones de Ca y P en los dientes primarios y otros señalan valores básicamente semejantes.^{1, 21}

Algunos estudios bioquímicos indican diferencias en el contenido de Ca y P: 32.02 g/100 en esmalte y 28.09 g/100 en dentina para el calcio y 18.90 en el esmalte y 16.73 en dentina para el fósforo, lo que indica un patrón apatítico y mayor presencia de carbonatos.^{1, 6} Otros estudios reportan promedios de los pesos en porcentajes de los cinco elementos principales encontrados: Ca (21.554 ± 1.605), K (0.054 ± 0.013), Mg (0.587 ± 0.165), Na (0.646 ± 0.094), P (9.302 ± 0.734) y Ca/P (2.328 ± 0.220).²¹

Se ha comparado la fracción mineral de la composición química en el esmalte y dentina de los dientes temporales y los permanentes. Lakomaa et al.,²⁴ midieron las concentraciones de 12 elementos en la dentina y el esmalte de los dientes temporales y permanentes, demostraron que la mayoría de los elementos estaban presentes en concentraciones más altas en el esmalte que en la dentina. En comparación con los dientes permanentes, los dientes temporales contienen más K y Mn en el esmalte, K y Mg en la dentina, pero menos Na y Zn en el esmalte.

Adhesión dentinaria

El principio fundamental de la adhesión al diente está basado en el intercambio entre el material inorgánico del diente por una resina sintética.²⁵ Este proceso involucra dos fases: la primera que consiste en la remoción de los fosfatos de calcio, así la microporosidad queda expuesta en ambas superficies esmalte y dentina. La segunda fase es la de hibridación que consiste en infiltrar y fotopolimerizar a la resina dentro de la superficie microporosa.²⁶

La mayor deficiencia de las restauraciones adhesivas es su limitada durabilidad en la boca, las razones más citadas para el fracaso de los adhesivos son la pérdida de la retención y la adaptación marginal deficiente. Por otra parte, cuando la estructura del diente es cortada con una fresa o cualquier otro instrumento, los componentes residuales forman el lodillo dentinario, esta capa forma un recubrimiento en la entrada de los túbulos dentinarios.²⁷

El lodillo dentinario es poroso y permeable como resultado de canales submicrónicos que permiten que el flujo dentinario pase a través de este.¹² Su composición básica es la hidroxiapatita y el colágeno alterado con una superficie externa formada por colágeno desnaturalizado, que reduce la permeabilidad intradentinal de los monómeros de resina.^{12, 28}

La permeabilidad dentinaria es una de las propiedades de mayor importancia, es un parámetro de difusión y del transporte por el sistema de adhesión de los biomateriales, considerado como un fenómeno importante en la práctica clínica.^{12, 29} La dentina posee mayor permeabilidad que el esmalte debido a la presencia de los túbulos dentinarios, que permiten el paso a distintos elementos o solutos que la atraviesan con relativa facilidad¹ y ocasionar la progresión de la caries o hipersensibilidad.³⁰

Se realizó una revisión de la literatura con el objetivo de relacionar la permeabilidad dentinaria y la fuerza de adhesión. Los primeros agentes de unión fueron aplicados directamente sobre el lodillo dentinario, esto ocasionó que se diera una baja fuerza de adhesión (ca. 5MPa) ya que no penetraban bien en la dentina. Se ha reportado que la adición de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) a los agentes adhesivos mejoró la fuerza de adhesión para hacerla más hidrofílica y así facilitar su capacidad de esparcirse uniformemente sobre la superficie de la dentina y penetrar de manera más profunda dentro del lodillo dentinario.²⁷

Para desmineralizar la dentina se emplean sistemas totales de grabado, básicamente ácido fosfórico para disolver los componentes minerales, para exponer la red de fibras de colágeno.¹³ Visto desde esta perspectiva, la dentina puede considerarse como un compuesto biológico de la matriz de colágeno.³¹ Después de la solubilización de los cristales y la extracción de la fase mineral alrededor de las fibrillas de colágeno, estas son capaces de reemplazarlas con la resina. Si la resina no penetra dentro de los túbulos abiertos y no los sella, esto puede incrementar el riesgo de sensibilidad dentinaria e irritación pulpar por la microfiltración bacteriana.³⁰ La efectividad de la unión de un sistema adhesivo a la dentina puede ser medido

por lo bien que se adhiere a las superficies y sella la dentina. Sin embargo, la estructura de la dentina y sus superficies no son homogéneas y esto contribuye a la variabilidad reportada en la fuerza de adhesión y capacidad de sellado.¹²

Acondicionamiento dentinario

La dentina y su acondicionamiento son los principales determinantes para el éxito en el mecanismo de adhesión.³² En 1955, Buonocore³³ fue el primero en introducir el acondicionamiento del esmalte dental, y lo llamó técnica de grabado ácido, lo que posibilitó la simplificación de técnicas operatorias y conservación de tejido dental sano.

Grabado ácido

La dentina es tratada con un gel ácido (comúnmente ácido fosfórico a 30-40%) que remueve el lodillo dentinario y desmineraliza los cristales de hidroxiapatita más superficiales. Seguido de este grabado químico, una mezcla de monómeros de resina (primer/adhesivo) disuelto en un solvente orgánico se aplica al infiltrarse en la dentina grabada.³⁴ Los monómeros de resina impregnan los espacios llenos de agua entre las fibras de colágeno de la dentina adyacentes que solían estar ocupadas por los cristales de hidroxiapatita.¹⁵ Este infiltrado resulta en un tejido híbrido compuesto de colágeno, resina, hidroxiapatita residual y agua, conocida como capa híbrida.^{27, 28, 35}

Autograbado

El último desarrollo en la adhesión dental se basa en la simplificación y la reducción del tiempo de aplicación. Este adhesivo de autograbado no requiere un paso de grabado ácido por separado, así el acondicionamiento y el primer se realiza simultáneamente en el esmalte y la dentina lo que disuelve parcialmente los cristales de hidroxiapatita y el lodillo dentinario residual que generan una zona híbrida.^{27, 35}

De acuerdo con el grado de ácido presente, debe hacerse una distinción entre los adhesivos de autograbados suaves, medianos y fuertes. Los fuertes tienen un pH bajo (<1) con una profundidad de interacción de varios micrómetros, los medianos (>1.5) con una profundidad de interacción de 1 a 2µm y los suaves tiene un pH (+2) aproximadamente de 1µm, que disuelven parcialmente la superficie de la dentina de manera que una cantidad sustancial de hidroxiapatita permanece disponible dentro de una capa híbrida submicrónica.^{26-28, 35-37}

Grabado láser

Debido a su longitud de onda (2.940 nm) que coincide con el pico de absorción principal de agua (3.000 nm), y también con la hidroxiapatita (2.800 nm) absorbe agua y actúa sobre el sustrato dental mediante ablación termomecánica, la vaporización de su contenido de agua provoca expansión, seguido de microexplosiones que producen la expulsión de ambas partículas de tejido orgánicos e inorgánicos, con mínimo daño térmico a los tejidos circundantes, que proporciona una superficie con túbulos dentinarios abiertos y sin presencia de lodillo dentinario.³⁸⁻⁴⁰

Además interviene en la alteración de los minerales (radio Ca/P) ya que puede cambiar la relación original entre los componentes orgánicos e inorgánicos, modifica las características de permeabilidad y solubilidad de la dentina que afecta la adherencia de los materiales dentales a los tejidos duros, es efectivo en el tratamiento de la hipersensibilidad dentinaria, mediante la reducción de los diámetros de los túbulos dentinarios en condiciones específicas, destruye parcialmente los túbulos por debajo del tejido ablacionado.²² Conduce a la formación de compuestos más estables y menos solubles en el ácido, por lo que se ve disminuida la susceptibilidad al ataque ácido y la progresión de la caries, además de su efecto bactericida.^{22, 40, 42, 43}

Principios generales de la tecnología láser

La palabra “LASER” es un acrónimo de Amplificación de Luz por Emisión Estimulada de Radiación. El principio físico del láser fue desarrollado a partir de la teoría de Einstein y el primer dispositivo fue introducido por Mainman en 1960. Desde entonces, los láseres se han utilizado en muchas áreas diferentes en la medicina y la cirugía.³⁸

A mediados de 1970 la medicina comenzó a integrar los láseres para los procedimientos de tejidos blandos. El primer láser para uso odontológico fue el Neodimio: YAG (Nd: YAG) desarrollado en 1987 y aprobado a partir de 1990 por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés).^{37, 44}

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 suceda. 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 formará una luz con características especiales como la luz láser, que a diferencia de la luz normal tienen la misma longitud de onda, energía y color, una luz de un color y por lo tanto una única longitud de onda (monocromáticos), ondas sincrónicas (coherente) y rayos paralelos (colimada).^{39, 40}

Características de láseres de uso dental

Existen diferentes tipos de láseres que pueden tener aplicación en odontología y éstos pueden ser utilizados con diferentes fines.⁴⁴ Se clasifican en relación a su medio activo, según sea su longitud de onda, forma de emisión u otros criterios, los dos grandes grupos son; el láser de baja potencia: As, Ga (Arseniuro de Galio), As, Ga, Al (Arseniuro de Galio y Aluminio), He, Ne (Helio-Neón) y los láseres de alta potencia: Argón, Diodo, Nd: YAG, Nd: YAP, Ho: YAG, CO₂, Cr: YSGG, Er: YAG.^{38, 40}

La longitud de onda de un láser dental es el factor determinante del nivel al que la energía del láser es absorbida por el tejido. Cada tejido difiere en su afinidad para las longitudes de onda específicas de energía láser.⁴⁰ Por esta razón, la selección de un láser específico depende del tejido diana que se desea tratar. El efecto primario de un láser en los tejidos diana es fototérmica. Cuando el agua contenida en los tejidos diana se eleva por encima de 100°C, se produce la vaporización del agua, lo que resulta en la ablación del tejido blando. Dado que el tejido blando se compone de un alto porcentaje de agua, la escisión del mismo inicia a esta

temperatura. El tejido duro está compuesto de cristales minerales de hidroxiapatita que no logran la ablación a esta temperatura, pero el componente de agua se vaporiza y se dispersa en pequeñas partículas.^{38, 44}

Tabla 1. Características de láseres de uso dental.^{38, 40, 44}

Tipo de láser	Medio activo	Longitud de onda	Color	Aplicaciones
Dióxido de carbono CO ₂	Gas	10,600 nm	Infrarrojo	Tejidos blandos: incisión, escisión y ablación. Homeostático y bactericida.
Argón	Gas	488 nm	Azul	Tejidos blandos: incisión y ablación, fotopolimerizado de resinas, blanqueamiento y hemostático.
Arseniuro-Galio	Sólido	840 nm	Infrarrojo	Tejidos blandos: incisión y ablación, hipersensibilidad dentinaria, pulpotomía, desinfección radicular, eliminación de pigmentación por melanina.
Neodimio: YAG (Nd: YAG)	Sólido	1,064 nm	Infrarrojo	Tejidos blandos: incisión y ablación, eliminación de tejido cariado, hemostático.
Erbium: YAG	Sólido	2,940 nm	Infrarrojo	Grabado del esmalte, eliminación de tejido cariado, preparación cavitaria y preparación de canal radicular.

Láser Er: YAG

El láser Er: YAG se utilizó por primera vez en odontología por Hibst y Keller.⁴⁵ En 1997, la FDA aprobó su uso para la ablación de los tejidos duros.⁴⁴

Estudios afirman que la dentina tratada con láser es favorable en los procedimientos de adhesión. Ha sido evaluada la fuerza de adhesión de los adhesivos de grabado y lavado y autograbado de un solo paso tratados con diferentes métodos de eliminación de la caries. Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de que no hay diferencias en los valores de adhesión

con el uso de diferentes sistemas, pero la técnica utilizada para eliminar las caries si influye en la resistencia de la unión en la dentina temporal.⁴⁶

La microfiltración ha sido un tema de gran interés ya que se desconoce el efecto de la irradiación con láser en cavidades preparadas en dientes temporales y el uso de diferentes sistemas adhesivos, los estudios sugieren que ningún adhesivo previene la microfiltración, aunque la resina compuesta con el uso de un adhesivo de autograbado de uno o dos pasos ha mostrado valores aceptables para un buen sellado marginal comparado con el sistema rotatorio.^{46, 47}

Bahrololoomi et al.,⁴⁷ evaluaron el efecto de la preparación con láser Er: YAG y fresa de carburo en la microfiltración de dos adhesivos en dientes temporales. El estudio concluyó que las cavidades preparadas con láser mostraron mayores tasas de microfiltración que aquellas cavidades preparadas con fresa de carburo con el uso del sistema de lavado y enjuagado.

También se ha descrito la morfología de la dentina después del uso del láser Er: YAG, la literatura reporta que existen diferencias morfológicas y estructurales entre la dentina del diente temporal y permanente que pueden interferir tanto con la intensidad de ablación y la temperatura alcanzada después de la irradiación.^{48, 49}

En la dentina de dientes temporales se describe como un patrón circular superpuesto, con una apariencia similar distintiva, irregular y escamosa que exhiben túbulos abiertos y ausencia de

lodillo dentinario, así como dentina peritubular ablacionada. A diferentes densidades de energía, específicamente con el uso de bajas densidades (túbulos dentinarios bloqueados por el lodillo dentinario, superficies irregulares con cráteres y fisuras), por lo que la apariencia morfológica de la dentina irradiada con láser difiere de aquel sustrato grabado con ácido.⁵⁰

51

También se ha observado que a mayor tasa de repeticiones mayores son las irregularidades, debido a una mayor ablación de la dentina intertubular, presencia de protuberancias en la dentina peritubular, pequeñas grietas, disminución del lumen de los túbulos dentinarios, fisuras y grietas, además de un diseño amorfo de la dentina irradiada.⁴⁷

Se ha intentado resolver y normalizar los parámetros básicos viables en las densidades de energía ya que la adhesión puede verse afectada por el cambio en el contenido mineral de la dentina, se ha reportado que la alteración de la relación Ca/P puede cambiar la morfología de la dentina y así afectar de manera directa la adhesión a los tejidos duros, Guler et al.,²¹ usaron diferentes densidades de energía del láser Er: YAG, demostraron que la relación Ca/P no se ve afectada, aunque sí existe un aumento en la rugosidad de la superficie dentinaria con el uso de altas densidades de energía.

Otra característica que ha sido evaluada es la influencia que tienen las distancias empleadas en la irradiación con el láser Er: YAG y la fuerza de adhesión. Los estudios indican que los mayores valores de la fuerza de adhesión han sido mediante la irradiación del láser combinado con el ácido fosfórico al 37%, a una distancia focal de 20 mm en comparación con el acondicionamiento de autograbado.⁵²

La dentina temporal afectada por caries es diferente a la dentina sana, es más suave debido a la desmineralización parcial. Koyuturk et al.,³⁷ evaluaron los efectos del láser en la adhesión a la dentina temporal con y sin caries, concluyeron que no hubo diferencias en la fuerza de adhesión en ambos tipos de dentina con el uso de un adhesivo de autograbado con un pH moderado.

Políticas del uso del láser en odontopediatría

La Academia Americana de Odontología Pediátrica (AAPD, por sus siglas en inglés) reconoce el uso juicioso de los láseres como un instrumento beneficioso en los procedimientos de restauración de tejidos blandos y dentales para bebés, niños y adolescentes, que incluye a aquellos con necesidades especiales de salud. Esta política tiene por objeto informar y educar a los profesionales de la odontología en los fundamentos, tipos, aplicaciones diagnósticas y clínicas, beneficios y limitaciones de uso del láser en odontología pediátrica.

Declaración de las políticas para su uso:

1. La AADP, reconoce el uso del láser como un método alternativo y complementario para procedimientos dentales de tejidos blandos y duros para bebés, niños, adolescentes y personas con necesidades especiales.
2. Aboga por el profesional de odontología para recibir educación didáctica y experimental adicional y capacitación en el uso de rayos láser antes de aplicar esta tecnología en pacientes odontológicos pediátricos.
3. Alienta a los profesionales dentales para investigar, implementar y utilizar el láser para el procedimiento indicado.
4. Respalda el uso de gafas de protección para el paciente y el odontólogo durante el tratamiento dental.³⁹

2. Planteamiento del problema

La adhesión de los materiales dentales a la dentina es uno de los requisitos importantes para una adecuada restauración, sin embargo, los protocolos de acondicionamiento específicos para la dentina de dientes permanentes también son empleados para dientes temporales.⁵³

Existen importantes diferencias estructurales y químicas entre la dentina permanente y temporal, ésta última parece ser más reactiva a los acondicionadores ácidos, debido al menor grado de mineralización que presentan.³⁴

Existe escasa información científica sobre la aplicabilidad de los protocolos de acondicionamiento en dentina temporal, se desconocen los parámetros adecuados de empleo así como los cambios morfológicos y químicos que se producen después del uso de los diferentes protocolos de acondicionamiento.

Pregunta de investigación:

¿Cómo influyen el ácido fosfórico, adhesivo autograbado y el láser Er: YAG a dos densidades diferentes de energía en los cambios morfológicos en la dentina de dientes temporales?

¿Cómo influyen el ácido fosfórico, adhesivo autograbado y el láser Er: YAG a dos densidades diferentes de energía en los cambios químicos en la dentina de dientes temporales?

¿Cómo influyen el ácido fosfórico, adhesivo autograbado y el láser Er: YAG a dos densidades diferentes de energía en los diámetros de los túbulos dentinarios en la dentina de dientes temporales comparados con los permanentes?

¿Cómo influye el ácido fosfórico, adhesivo autograbado y el láser Er: YAG a dos densidades diferentes de energía en la adhesión a la dentina de dientes temporales?

3. Justificación

Debido a la utilización cada vez más generalizada de la odontología adhesiva en pacientes pediátricos y el creciente uso de diferentes protocolos de acondicionamiento en la práctica dental, es indispensable que se desarrollen nuevos estudios con el objetivo de investigar las diferentes alteraciones en la morfología y composición química, que producen el uso de diferentes protocolos de acondicionamiento para evitar la extrapolación de los resultados obtenidos de los dientes permanentes, que podrían dar lugar a diferencias en los mecanismos de adhesión.

Así como probar otros tiempos en el empleo del ácido fosfórico y parámetros de energía con respecto al láser Er: YAG, para ampliar los alcances y establecer el mejor protocolo para la aplicabilidad de esta tecnología en la odontología pediátrica ya que existe escasa información al respecto.

4. Hipótesis

Hipótesis de investigación

Fase I

- Los cambios morfológicos de la dentina de dientes temporales presentan diferentes patrones después del uso de los protocolos de acondicionamiento.
- Los cambios químicos de la dentina de dientes temporales son mayores con el uso del ácido fosfórico al 35%.
- Existe diferencias significativas en el porcentaje atómico (%at) de los elementos químicos y las relaciones calcio fósforo (Ca/P) que componen a la dentina temporal antes y después del uso de los diferentes protocolos de acondicionamiento.

Fase II

- Existe diferencias significativas en el diámetro de los túbulos dentinarios entre la dentina de dientes temporales y permanentes después del acondicionamiento con ácido fosfórico, agente adhesivo autograbado y láser Er: YAG.

Fase III

- La fuerza de adhesión de las resinas compuestas a la dentina de los dientes temporales después del acondicionamiento con láser Er: YAG a la mayor densidad combinado con ácido fosfórico es mayor a diferencia de los demás protocolos de acondicionamiento.

5. Objetivos

Objetivo General

Determinar la caracterización morfológica, química y la fuerza de adhesión en la dentina de dientes temporales producidos por la irradiación del láser Er: YAG a dos diferentes densidades de energía.

Objetivos Específicos

Fase I

- Describir la morfología en la dentina de dientes temporales antes y después del uso de diferentes protocolos de acondicionamiento.
- Cuantificar el porcentaje atómico de carbono (C), oxígeno (O), calcio (Ca) y fósforo (P) en la dentina de dientes temporales antes y después del uso de diferentes protocolos de acondicionamiento.
- Comparar el porcentaje atómico de carbono (C), oxígeno (O), calcio (Ca) y fósforo (P) en la dentina de dientes temporales antes y después del uso de diferentes protocolos de acondicionamiento.

Fase II

- Evaluar el diámetro de los túbulos dentinarios temporales y permanentes después del uso de los diferentes protocolos de acondicionamiento.

Fase III: Estudio piloto

- Determinar la fuerza de adhesión de la resina compuesta a la dentina del diente temporal después del uso de los diferentes protocolos de acondicionamiento.
- Clasificar los modos de falla de la adhesión de la resina compuesta a la dentina del diente temporal después del uso de los diferentes protocolos de acondicionamiento.

6. Diseño metodológico

6.1 Diseño del estudio

El estudio fue dividido en tres fases. Fase I (Figura 1.1), fase II (Figura 1.2) y fase III (Figura 1.3)

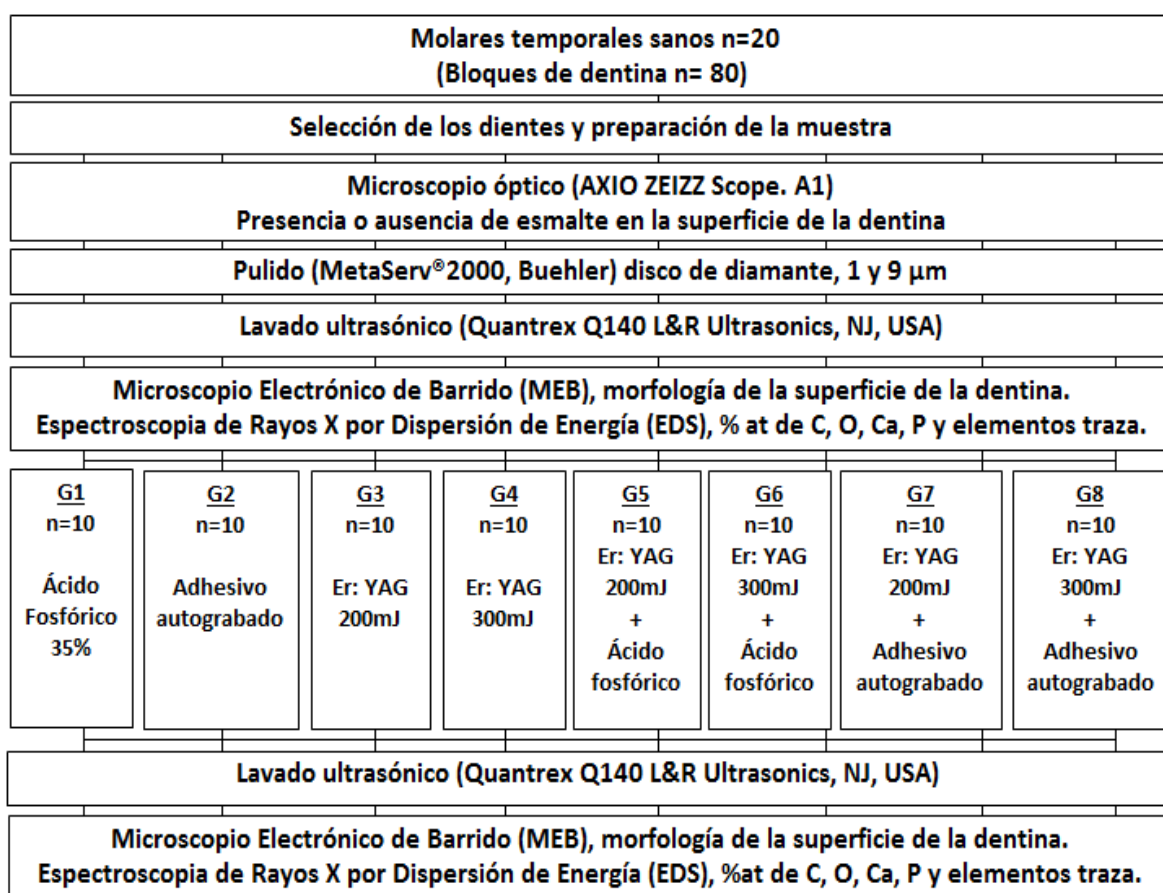


Fig. 1.1 Diagrama del Diseño del Estudio Fase I

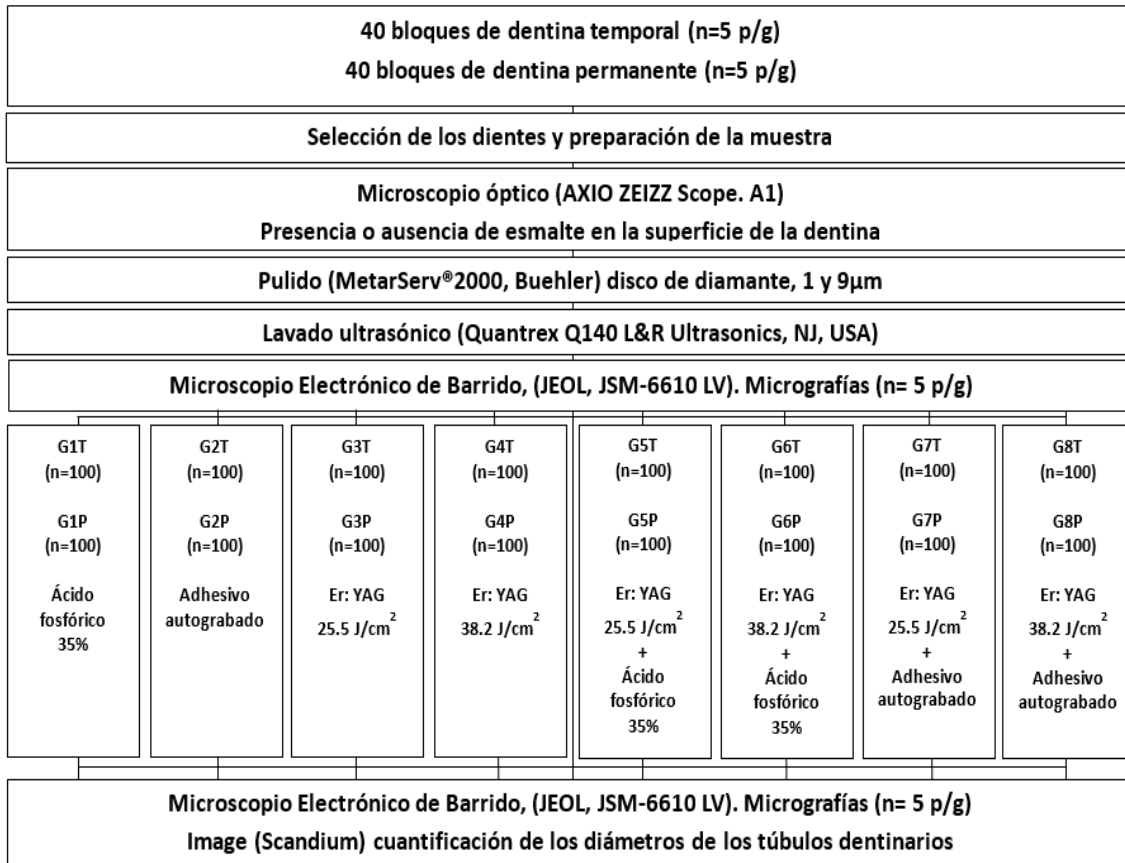


Fig. 1.2 Diagrama del Diseño del Estudio Fase II

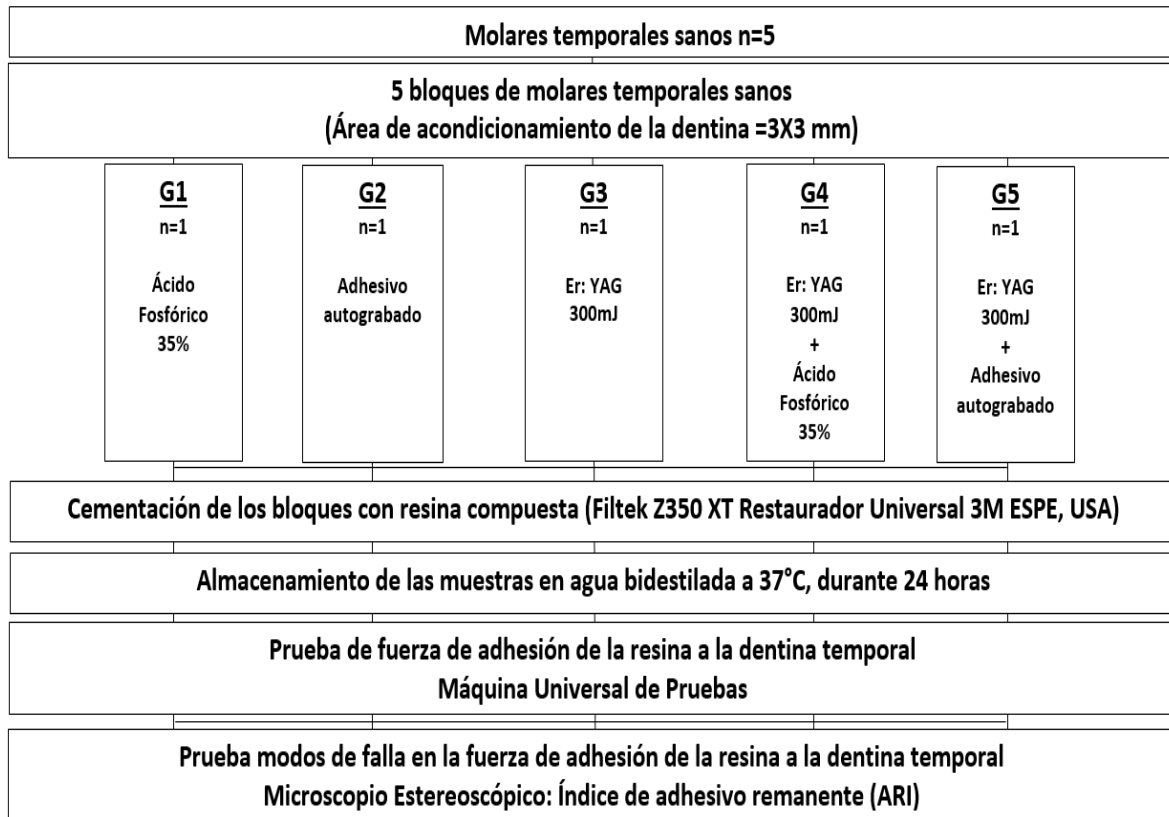


Fig. 1.3 Diagrama del Diseño de Estudio Piloto, Fase III

6.1 Diseño del Estudio

Experimental, prospectivo y longitudinal.

6.2 Universo y muestra

En la fase I se utilizaron molares temporales, en la fase II además se incluyeron terceros molares permanentes, en la fase III se emplearon molares temporales.

Método de Muestreo

En todas las fases el muestreo fue probabilístico, aleatorio simple.

Tamaño de Muestra

Fase I

El tamaño de la muestra fue de 80 bloques de dentina de molares temporales.

Fase II

El tamaño de la muestra fue de 40 bloques de dentina de molares temporales y 40 bloques de dentina de terceros molares.

Fase III

El tamaño de la muestra fue de 5 bloques de dentina de molares temporales.

6.3 Procedimientos

6.3.1. Procedimientos de la *Fase I*

Selección de los dientes y preparación de las muestras

Fueron incluidos molares temporales exfoliados o extraídos por persistencia en la cavidad oral, se obtuvieron de pacientes de la Clínica de Odontopediatria de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Las donaciones se realizaron mediante previo consentimiento informado de alguno de los padres/tutores (Anexo 1) y asentimiento informado de los menores de edad (Anexo 2). Los dientes fueron colocados después de ser lavados con agua corriente en un frasco con timol al 0.2% (wt/vol). Inmediatamente después de su recolección fueron transportados al laboratorio del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología Dr. Keizaburo Miyata.

Los tejidos blandos de los dientes temporales fueron removidos con una hoja de bisturí no. 12 y para eliminar los restos de sangre se utilizó un cepillo suave (Sulcus, Oral-B, México), posteriormente se enjuagaron con agua bidestilada. Las muestras fueron almacenadas en una solución de timol al 0.2% (wt/ vol) a 4°C hasta su uso.

Los molares fueron retirados de la solución, se enjuagaron con agua bidestilada y se secaron con aire comprimido durante 5 segundos.

Preparación de la muestra

En los molares que presentaron raíces se procedió a eliminarlas hasta la unión cemento-esmalte con discos de diamante (BesQual, New York, NY) y con un motor de baja velocidad (Brasseler, Savannah, GA). Se irrigó con agua bidestilada para evitar la deshidratación. Se procedió a fijar la corona con resina epóxica termoplastificada (Allied, Rancho Dominguez, CA) a un portaobjetos de cristal. El portaobjetos se colocó en la cortadora (IsoMet TM Low Speed Saw BUEHLER). Se realizaron los cortes con una rueda de diamante (South Bay Technology, Inc, San Clemente, CA). El esmalte de las superficies oclusal, mesial, distal, vestibular, lingual o palatino fue removido, posteriormente se realizaron cortes longitudinales en sentido mesiodistal y vestíbulo palatino o lingual. De cada molar se obtuvieron cuatro muestras de 3 mm largo x 3 mm ancho para obtener un total de 80 muestras. Se marcó un punto de referencia con una fresa de bola de un cuarto (S.S. White Burs Inc. Lakewood, New Jersey), con el uso de una pieza de alta velocidad (W&H, Bürmoos, Salzburg, Austria). Las muestras fueron lavadas con agua desionizada durante 10 minutos, en baño ultrasónico (Quantrex Q140 L&R Ultrasonics, NJ) para remover cualquier residuo que estuviera presente, después se secaron al medio ambiente para ser observadas en el microscopio óptico (Axio Zeiss Scope. A1, Germany) a una magnificación de 5X para confirmar la ausencia de esmalte. Para el análisis subsecuentemente en el Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) y la Espectroscopia de Rayos X por Dispersión de Energía (EDS) antes del tratamiento (AT). Todos los procedimientos fueron realizados en unidades experimentales aisladas.

Acondicionamiento de la dentina

Se emplearon 80 muestras de dentina temporal que fueron asignadas aleatoriamente a ocho grupos (n=10) y la superficie de la dentina fue acondicionada.

Grupo 1. Ácido fosfórico al 35% (n = 10) (Scotchbond Gel grabador 3M ESPE, USA). Se grabó 15 segundos, se lavó mediante irrigación con chorro de agua durante 15 segundos y se secó con aire comprimido durante 5 segundos.

Grupo 2. Agente adhesivo de autograbado (n = 10) (Single Bond Universal 3M ESPE; St. Paul, MN). Se aplicó el agente de autograbado de acuerdo a las instrucciones del fabricante, se lavó con acetona (J.T. Backer L29C54, USA) durante 15 segundos, se lavó con agua desionizada durante 10 minutos y se secó con aire comprimido durante 5 segundos.

Grupo 3. Láser Er: YAG 200mJ-25.5J/cm² (n = 10), (Lumenis OPUS DUO™ Er: YAG +CO², Yokneam, Israel). Para su manejo, las muestras se fijaron en una pinza cubierta con un protector y se irradiaron a un milímetro de distancia. El nivel de energía que se utilizó fue de 200mJ, repetición de pulso de 10 Hz, densidad de energía de 25.5J/cm², con tamaño de punta de zafiro de 1.0 mm, se empleó agua en spray como sistema de enfriamiento.

Grupo 4. Láser Er: YAG 300mJ-38.2J/cm² (n = 10), (Lumenis OPUS DUO™ Er: YAG +CO², Yokneam, Israel). Para su manejo, las muestras se fijaron en una pinza cubierta con un protector y se irradiaron a un milímetro de distancia. El nivel de energía que se utilizó fue

de 300mJ, repetición de pulso de 10 Hz, densidad de energía de 38.2J/cm², con tamaño de punta de zafiro de 1.0 mm, se empleó agua en spray como sistema de enfriamiento.

Grupos 5, 6, 7 y 8 (n = 10 p/g), se irradiaron con las densidades anteriormente mencionadas, posteriormente se acondicionaron con ácido fosfórico o agente adhesivo de autograbado.

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Antes y después del empleo de los diferentes protocolos de acondicionamiento, las muestras fueron fijadas a un porta muestras de aluminio con cinta doble cara adhesiva de carbón (SPI Supplies, EUA). No se requirió la aplicación de una capa conductora, ya que el análisis se efectuó en el Modo de Bajo Vacío (10 Pa de presión en la cámara). Se colocó en cada muestra un punto de referencia para realizar en el mismo sitio las mediciones antes y después y se observaron en el Microscopio Electrónico de Barrido (JEOL, JSM-6510LV, Japón) a tres magnificaciones diferentes (1000X, 2500X y 5000X), con un voltaje de aceleración de 20kV. Se utilizó el detector de electrones retrodispersados y la morfología de la superficie de la dentina fue descrita.

Espectroscopia de Rayos X por Dispersión de Energía (EDS)

La misma superficie de cada muestra fue visualizada mediante EDS a una magnificación estandarizada de 100x a una distancia de trabajo de 10 mm y toda el área de la imagen fue seleccionada para determinar los porcentajes atómicos (%at) de C, O, P, Ca y elementos traza, con el uso de un sistema detector de rayos X (Oxford Instruments, 7582, Reino Unido) acoplado a un Microscopio Electrónico de Barrido. Se empleó el software INCAEnergy (Oxford Instruments, Reino Unido).

6.3.2. Procedimientos de la *Fase II*

Selección de los dientes y preparación de las muestras

Siete molares temporales y siete terceros molares extraídos sin presencia de caries, fluorosis o fracturas, fueron obtenidos mediante el mismo procedimiento de consentimiento y asentimiento que en la *Fase I* del presente estudio, bajo las mismas consideraciones en cuanto a la recolección de los molares empleados en esta fase. Los molares fueron colocados después de ser lavados con agua corriente en un frasco con timol al 0.2% (wt/vol) inmediatamente después de su recolección fueron transportados al laboratorio del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología Dr. Keizaburo Miyata.

Los tejidos blandos de los molares fueron removidos con una hoja de bisturí no. 12 y para eliminar los restos de sangre se utilizó un cepillo suave (Sulcus, Oral-B, México), posteriormente se enjuagaron con agua bidestilada. Las muestras fueron almacenadas en una solución de timol al 0.2% (wt/ vol) a 4°C hasta su uso.

Los molares fueron retirados de la solución, se enjuagaron con agua bidestilada y se secaron con aire comprimidos durante 5 segundos.

Preparación de la muestra

Se retiraron las raíces de los molares temporales y terceros molares hasta la unión cemento-esmalte con discos de diamante (BesQual, New York, NY) y con un motor de baja velocidad (Brasseler, Savannah, GA). Se irrigó con agua bidestilada para evitar la deshidratación. Se procedió a fijar la corona con resina epóxica termoplastificada (Allied, Rancho Dominguez, CA) a un portaobjetos de cristal. El portaobjetos se colocó en la cortadora (IsoMet TM Low Speed Saw BUEHLER). Se realizaron los cortes con una rueda de diamante (South Bay Technology, Inc, San Clemente, CA). El esmalte de las superficies oclusal, mesial, distal, vestibular, lingual o palatino fue removido, posteriormente se realizaron cortes longitudinales en sentido mesiodistal y vestíbulo palatino o lingual. De cada molar se obtuvieron cuatro muestras de 3 mm largo x 3 mm ancho para obtener un total de 80 muestras. Las muestras fueron lavadas con agua desionizada durante 10 minutos, en baño ultrasónico (Quantrex Q140 L&R Ultrasonics, NJ) para remover cualquier residuo que estuviera presente, después se secaron al medio ambiente para ser observadas en el microscopio óptico (Axio Zeiss Scope. A1, Germany) a una magnificación de 5X para confirmar la ausencia de esmalte.

Acondicionamiento de la dentina

Se emplearon 80 muestras de dentina temporal y permanente que fueron asignados aleatoriamente a dieciseis grupos ($n = 5$ p/g) y la superficie de la dentina fue acondicionada.

Grupo 1. Ácido fosfórico al 35% (n = 5) (Scotchbond Gel grabador 3M ESPE, USA), se grabó 15 segundos en la dentina de dientes temporales y 30 segundos en la dentina de dientes permanentes, se lavó mediante irrigación con chorro de agua durante 15 segundos y se secó con aire comprimido durante 15 segundos.

Grupo 2. Agente adhesivo de autograbado (n = 5) (Single Bond Universal 3M ESPE; St. Paul, MN). Se aplicó el agente de autograbado de acuerdo con las instrucciones del fabricante, se lavó con acetona (J.T. Backer L29C54, USA) durante 15 segundos, se lavó con agua desionizada durante 10 minutos y se secó con aire comprimido durante 5 segundos.

Grupo 3. Láser Er: YAG 200mJ-25.5J/cm² (n = 5), (Lumenis OPUS DUO™ Er: YAG +CO², Yokneam, Israel). Para su manejo, las muestras se fijaron en una pinza cubierta con un protector y se irradiaron a un milímetro de distancia. El nivel de energía que se utilizó fue de 200mJ, repetición de pulso de 10 Hz, densidad de energía de 25.5J/cm², con tamaño de punta de zafiro de 1.0 mm, se empleó agua en spray como sistema de enfriamiento.

Grupo 4. Láser Er: YAG 300mJ-38.2J/cm² (n = 5), (Lumenis OPUS DUO™ Er: YAG +CO², Yokneam, Israel). Para su manejo, las muestras se fijaron en una pinza cubierta con un protector y se irradiaron a un milímetro de distancia. El nivel de energía que se utilizó fue de 300mJ, repetición de pulso de 10 Hz, densidad de energía de 38.2J/cm², con tamaño de punta de zafiro de 1.0 mm, se empleó agua en spray como sistema de enfriamiento.

Grupos 5, 6, 7 y 8. (n = 5 p/g) Se irradiaron con las densidades anteriormente mencionadas, posteriormente se acondicionaron con ácido fosfórico o agente adhesivo de autograbado.

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Después del empleo de los diferentes protocolos de acondicionamiento, para evaluar el diámetro de los túbulos dentinarios las muestras fueron fijadas a un porta muestras de aluminio con cinta doble cara adhesiva de carbón (SPI Supplies, EUA). No se requirió la aplicación de una capa conductora, ya que el análisis se efectuó en el Modo de Bajo Vacío (10 Pa de presión en la cámara). El diámetro de 20 túbulos de dentina fue medidos por cada micrografía en el Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) (JEOL, JSM-6510LV, Japón) a una magnificación de 2500X, con un voltaje de aceleración de 20kV. Se evaluaron un total de 100 túbulos dentinarios por grupos. Los túbulos obliterados no se incluyeron. El diámetro fue calculado de acuerdo con la barra de escala (μm) por un solo investigador con el uso de un software Image Tools Scandium (plataforma de imágenes SEM ScandiumM). Se realizó el registro y análisis de todas las imágenes y se obtuvo el promedio de los túbulos dentinarios por grupo.

6.3.3. Procedimientos de la *Fase III*

Selección de los dientes y preparación de las muestras

Cinco molares temporales extraídos, sin presencia de caries, fluorosis o fracturas, fueron obtenidos mediante el mismo procedimiento de consentimiento y asentimiento que en las *Fases I y II* del presente estudio, bajo las mismas consideraciones en cuanto a la recolección de los molares empleados en esta fase. Los molares fueron colocados después de ser lavados con agua corriente en un frasco con timol al 0.2% (wt/vol) inmediatamente después de su recolección fueron transportados al laboratorio del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Odontología Dr. Keizaburo Miyata.

Los tejidos blandos de los molares fueron removidos con una hoja de bisturí no. 12 y para eliminar los restos de sangre se utilizó un cepillo suave (Sulcus, Oral-B, México), posteriormente se enjuagaron con agua bidestilada. Las muestras fueron almacenadas en una solución de timol al 0.2% (wt/ vol) a 4°C hasta su uso.

Los molares temporales fueron retirados de la solución, se enjuagaron con agua bidestilada y se secaron con aire comprimido durante 5 segundos. Posteriormente se fijaron en un portaobjetos con resina termoplástica, fueron recortados en vestibular, lingual, mesial y distal con un disco de diamante (South Bay Technology, Inc., San Clemente, CA, USA) y una recortadora (Model 650, South Bay Technology, Inc., USA). Se realizaron unos ganchos con alambre 0.36, se colocó el agente adhesivo universal L-Pop en la parte cervical, se frotó la superficie durante 10 segundos y se fotopolimerizó por otros 20 segundos. Luego se colocó resina fluida hasta cubrir el alambre y se fotopolimerizó durante 20 segundos. Finalmente, los molares fueron fijados en el acrílico (Anexo 3).

Acondicionamiento de la dentina

Se emplearon 5 muestras de dentina temporal que fueron asignados aleatoriamente a cinco grupos (n = 1 p/g) y la superficie de la dentina fue acondicionada.

Grupo 1. Ácido fosfórico al 35% (n = 1) (Scotchbond Gel grabador 3M ESPE, USA), se grabó 15 segundos, se lavó mediante irrigación con chorro de agua durante 15 segundos y se secó con aire comprimido durante 5 segundos.

Grupo 2. Agente adhesivo de autograbado (n = 1) (Single Bond Universal 3M ESPE; St. Paul, MN). Se aplicó el agente de autograbado de acuerdo a las instrucciones del fabricante, se lavó con acetona (J.T. Backer L29C54, USA) durante 15 segundos, se lavó con agua desionizada durante 10 minutos y se secó con aire comprimido durante 5 segundos.

Grupo 3. Láser Er: YAG 300mJ-38.2J/cm² (n = 1), Lumenis OPUS DUO™ Er: YAG +CO², Yokneam, Israel). Para su manejo, las muestras se fijaron en una pinza cubierta con un protector z se irradiaron a un milímetro de distancia. El nivel de energía que se utilizó fue de 300mJ, repetición de pulso de 10 Hz, densidad de energía de 38.2J/cm², con tamaño de punta de zafiro de 1.0 mm, se empleó agua en spray como sistema de enfriamiento, se secó con aire comprimido durante 5 segundos.

Grupos 4 y 5. (n = 1 p/g) Se irradiaron con la densidad anteriormente mencionada, posteriormente se acondicionaron con ácido fosfórico o agente adhesivo de autograbado.

Cementado de la dentina

Enseguida y de acuerdo con las instrucciones del fabricante se cementó una superficie cúbica de 3×2×1.5 mm de resina compuesta (Filtek Z350 XT Restaurador Universal 3M ESPE, USA), calibrada con una plantilla especialmente diseñada para este fin, previamente fotopolimerizada durante 40 segundos.

Grupo 1. Después del adhesivo se aplicó resina fluida (Filtek Z350 Restaurador Fluido 3M ESPE, USA), se colocó el cubo de resina compuesta y se fotocuró un total de 20 segundos (10 segundos en la cara mesial del diente y 10 segundos en la cara distal).

Grupo 2. Se aplicó resina fluida, se cementó el cubo de resina compuesta y se fotocuró un total de 20 segundos (10 segundos en la cara mesial del diente y 10 segundos en la cara distal).

Grupo 3. Se aplicó el adhesivo en la superficie grabada, se fotocuró durante 10 segundos. Posteriormente se aplicó resina fluida, se cementó el cubo de resina compuesta y se fotocuró un total de 20 segundos (10 segundos en la cara mesial del diente y 10 segundos en la cara distal).

Grupos 4 y 5. Se aplicó resina fluida, se cementó el cubo de resina compuesta y se fotocuró un total de 20 segundos (10 segundos en la cara mesial del diente y 10 segundos en la cara distal).

Máquina Universal de Pruebas

La prueba de resistencia al desalajo se determinó según la norma ISO / TS 11405: 2003 con el uso de una máquina universal de pruebas (Zwick 010, Ulm, Alemania). A una velocidad de cruceta de 0,75 mm / min. Se colocó una barra en forma de cincel a una distancia de 200µm paralela al diente en la interfaz sustrato-adhesivo. La fuerza de adhesión fue calculada en mega pascales (MPa).

Índice de Adhesivo Remanente (Adhesive Remnant Index ARI)

Las muestras fueron inspeccionadas visualmente bajo un microscopio estereoscópico (Wild M420, LeicaHeerbrugg, Suiza). Se observaron a una magnificación de 10x, para determinar los modos de fractura. y se registró como:

0. Sin adhesivo en la superficie dental.
1. Menos de la mitad de adhesivo en la superficie dental.
2. Más de la mitad de adhesivo en la superficie dental.
3. Todo el adhesivo en la superficie dental.

6.4 Criterios de inclusión

Fase I, II y III

- Dientes temporales y permanentes superiores e inferiores (molares) extraídos por estar próximos a exfoliar o por indicación clínica.
- Sin caries, fracturas, obturaciones o daños observables a simple vista.
- Sin fluorosis dental.

6.5 Criterios de eliminación

Fase I, II y III

- Muestras que presenten algún tipo de contaminación y/o daño, durante su preparación o el análisis mediante las diferentes técnicas.

6.6 Instrumentos

- Dientes molares temporales y permanentes.
- Láser Er: YAG (Lumenis OPUS DUO™ Er:YAG+CO₂, Yokneam, Israel).
- Microscópio óptico (Axio Zeiss Scope. A1, Germany).
- Microscópio Electrónico de Barrido (JEOL, JSM-6510LV, Japón).
- Software Image Tools Scandium (plataforma de imágenes SEM ScandiumM).
- Máquina Universal de Pruebas.
- Baño ultrasónico (Quantrex Q140, L&R Ultrasonics, N.J., EUA).

6.7 Recolección de Datos

Los resultados se integraron en las hojas de control y en el programa excell.

6.8 Análisis de datos

Los datos se analizaron en el paquete estadístico, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 21 para Windows Statistical (IBM, New York, USA).

6.9 Aspecto ético

Esta investigación se realizó conforme a los principios éticos del Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas en colaboración con la Organización Mundial de la Salud: CIOMS/OMS (2016); y a parámetros de investigación médica por la Asociación Médica Mundial (World Medical Association: WMA por sus siglas en inglés), WMA (2017), así como también se apega a la Ley General de Salud en Materia de Investigación.

De acuerdo al artículo 13, prevalecerá el criterio de respeto a su dignidad y la protección de sus derechos, así como el bienestar de los sujetos que aceptaron donar sus dientes.

La presente investigación se encuentra en el esquema del Título Segundo, Capítulo I, artículo 17, inciso II: Investigación con riesgo mínimo: Estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes, dientes extraídos por indicación terapéutica, placa dental, cuyos datos serán vertidos en formatos específicos.

Por tratarse de una investigación con riesgo mínimo, y de acuerdo al artículo 23 del Capítulo II, 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 por tratarse de investigaciones sin riesgo, podrá dispensar al investigador la obtención del consentimiento informado. Por tratarse de sujetos pediátricos se pidió asentimiento por parte del mismo para la donación voluntaria de sus dientes temporales.

7. Resultados

7.1 Artículo publicado

7.1.1 Título del artículo publicado

Morphological and chemical changes in human deciduous dentin after phosphoric acid, self-etching adhesive and Er: YAG laser conditioning.

7.1.2 Carta de aceptación

Dear María Moyaho-Bernal,

Article ID: JEMT23003
Article DOI: 10.1002/jemt.23003
Internal Article ID: 15052368
Article: Morphological and chemical changes in human deciduous dentin after phosphoric acid, self-etch adhesive and Er: YAG laser conditioning
Journal: Microscopy Research and Technique

Congratulations on the acceptance of your article for publication in Microscopy Research and Technique.

Your article has been received and the production process is now underway. We look forward to working with you and publishing your article. Using Wiley Author Services, you can track your article's progress.

Not registered on Wiley Author Services?

Please click below and use moyaho3@gmail.com to register to ensure you find the article in your dashboard. **NOTE:** Please don't forward this message to co-authors. This registration link can only be used once. Your co-authors have received their own invitation emails with unique links.

<http://authorservices.wiley.com/index.html#register-invite/NeD1fc1jfs-mm-lE3laR82S4ElbKstvd6SsR48nl9g=>

Already registered?

Please click below to login - if you are using a different email address to moyaho3@gmail.com, you will need to manually assign this article to your Dashboard (see How do I assign a missing article to My Dashboard?).

<https://authorservices.wiley.com/index.html#login>

If applicable, a list of available actions will appear below – check out your Author Services Dashboard for all actions related to your articles.

If you need any assistance, please click here to view our Help section.

Sincerely,

Wiley Author Services

7.2. Artículo enviado

7.2.1 Título del artículo enviado

Changes in deciduous and permanent dentinal tubules diameter after several conditioning protocols.

7.2.2 Carta de envío y/o recepción del artículo

Microscopy Research and Technique

Preview

From: jemt@wiley.com
To: rcontrerasb@uaemex.mx, rcb0209@yahoo.com.mx
CC:
Subject: MRT-18-036 successfully submitted
Body: 02-Feb-2018

Dear Dr. Contreras-Bulnes,

Your manuscript entitled "Changes in deciduous and permanent dentinal tubules diameter after several conditioning protocols" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in Microscopy Research and Technique.


Your manuscript number is MRT-18-036. Please mention this number in all future correspondence regarding this submission.

You can view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging into <https://mc.manuscriptcentral.com/mrt>. If you have difficulty using this site, please click the 'Get Help Now' link at the top right corner of the site.

Thank you for submitting your manuscript to Microscopy Research and Technique.

Sincerely,
Microscopy Research and Technique Editorial Office

Date Sent: 02-Feb-2018

 Close Window

8. Resultados adicionales

Resistencia al decementado de resina en dientes temporales posterior al acondicionamiento con ácido fosfórico, agente adhesivo de autograbado y láser Er: YAG. Estudio piloto.

Tabla 2. Resistencia al decementado e Índice de Adhesivo Remanente en los grupos de estudio

Grupos	Resistencia al decementado (Mpa)	Índice de Adhesivo Remanente (ARI)
G1 Ácido Fosfórico	2.4919	1
G2 Adhesivo de autograbado	0.9066	0
G3 Láser Er: YAG 300 mJ	8.1068	2
G4 Láser Er: YAG 300 mJ + ácido fosfórico	2.4767	1
G5 Láser Er: YAG 300 mJ + adhesivo de autograbado	1.6766	1

9. Discusión General

La información de la dentina temporal después de diversos protocolos de acondicionamiento es escasa y se limita a evaluar los cambios morfológicos producidos por el uso de la irradiación láser, mientras que la composición química de este tejido se ha estudiado solo en nacidos prematuros,⁵⁴ niños con cardiopatía congénita⁵⁵ o síndromes como Turner,⁵⁶ Ehlers-Danlos⁵⁷ y Down.⁵⁸ Para dicho propósito, se han empleado varias técnicas tales como microscopía electrónica de barrido ambiental y dispersión de energía de rayos X (ESEM / EDAX), Microanálisis de rayos X (XRMA) y espectrofotometría de dispersión de energía. Además, De Souza-Guerra et al.,⁵⁹ determinaron por espectroscopía de fluorescencia de rayos X (I-SRXRF) la presencia de microelementos en la dentina temporal. Sin embargo, información en relación con la evaluación por medio de dispersión de energía por rayos X (EDS) no está disponible en la literatura relevante. Así mismo, hay pocos estudios sobre los cambios morfológicos y químicos en dentina permanente después del acondicionamiento con ácido fosfórico,^{60, 61} agente adhesivo de autograbado^{60, 62} y láser Er: YAG.⁶¹⁻⁶⁵

Con respecto al experimento, para la recolección de la muestra fue necesario que los molares presentaran al menos un tercio de raíz para evitar que se perforaran durante el proceso de preparación, situación que se presentó durante las pruebas piloto. Además, cada muestra fue observada mediante el microscopio de luz óptica para confirmar la ausencia de esmalte con el fin de evitar sesgos durante la evaluación.

Todas las muestras fueron analizadas mediante SEM y EDS para obtener la caracterización de la morfología y composición química basal. Posteriormente se realizaron los protocolos de acondicionamiento y nuevamente las muestras fueron analizadas en SEM y EDS, este análisis secuencial fue la razón por la cual no se recubrieron con oro.

Con respecto a los agentes acondicionantes empleados en este estudio, se eligió el ácido fosfórico al 35% como agente convencional. Se decidió seleccionar un tiempo corto de acondicionamiento (15 segundos) acorde a estudios previos que han reportado este tiempo como apropiado para crear un sustrato dentinario similar al de los dientes permanentes.^{66, 67}

Para el agente adhesivo de autograbado, se decidió el uso del adhesivo universal de un solo paso (3M ESPE), debido a su popularidad y a la simplicidad de su uso, así como a la reducción de la hipersensibilidad dentinaria que produce.⁶⁸ Este nuevo material recibe el nombre de “universal” debido a la estrategia adhesiva y la cantidad mínima de pasos para la aplicación. Además, presenta un pH de 2.7 que es considerado dentro del rango correspondiente a los agentes de autograbado suave.⁶⁹ De acuerdo con las especificaciones del producto, su formulación es menos hidrofílica y, por lo tanto, menos propensa a experimentar degradación hidrolítica, lo cual ha sido atribuido al 2-hidroxietilo metacrilato (HEMA, por sus siglas en inglés), como ha sido previamente mencionado por Moszner et al.,⁷⁰ para agentes adhesivos de autograbado, mejorando la longevidad de la restauración, características que son muy importantes en odontología pediátrica.

En cuanto a la irradiación producida por el láser Er: YAG, no hay estudios previos que informen sobre parámetros para el acondicionamiento de la dentina temporal. En este estudio, se emplearon dos densidades de energía diferentes, los parámetros de irradiación fueron elegidos según los resultados de un estudio piloto llevado a cabo en el laboratorio, diseñado acorde a estudios previos en dientes temporales.^{49-51, 71, 72} Adicionalmente se irrigó con agua en spray como sistema de enfriamiento, con la finalidad de evitar el aumento de temperatura en el tejido dental.⁷³

En relación con los cambios químicos generados, el promedio de la relación Ca / P obtenido mediante EDS antes del tratamiento fue de 1.24. El-Hawary et al.,⁵⁵ reportaron el contenido

de Ca y P en la dentina temporal de dientes en niños sanos, y De Souza-Guerra et al.,⁵⁹ evaluaron los microelementos en dentina temporal; sin embargo, las técnicas de análisis, elementos cuantificados y las unidades de medida empleadas no son comparables con los métodos utilizados en este estudio. Sin embargo, en la presente investigación se decidió emplear como unidad de medida el porcentaje atómico, ya que es una forma directa de relacionar el número de átomos de cada elemento.⁷⁵ Eliades et al.,⁶² y Contreras et al.,⁷⁴ encontraron mediante análisis EDS, una relación de 1.04 y 1.40 Ca / P en dentina permanente, respectivamente.

Después de los tratamientos de acondicionamiento fueron evidentes diferentes patrones de cambios químicos en concordancia con el tipo de acondicionamiento o combinación de tratamiento usado en cada grupo. El cambio más evidente se observó en G1, que mostró modificaciones en todos los elementos evaluados. La disminución del porcentaje atómico de C, Ca, P y la relación Ca / P, es atribuible al efecto del muy bajo pH del ácido fosfórico, con la disolución resultante de la hidroxiapatita carbonatada $(Ca, Na, Mg)^{10} (PO_4, HPO_4, CO_3)_6(OH, Cl, F)^2$ previamente reportada.⁶ Parece que, bajo estas condiciones, el componente inorgánico es inestable y tiende a disolverse, y el ataque ácido se centra principalmente en el contenido mineral.

En G2 resultó un acondicionamiento menos agresivo. Presentó un comportamiento más estable con respecto a los cambios químicos de la dentina, probablemente debido al pH suave mencionado anteriormente, que elimina parte de la superficie de la dentina desmineralizada.³⁶ Adicionalmente, de acuerdo con la información del fabricante, este agente contiene monómero de fosfato (MDP, por sus siglas en inglés), lo cual podría explicar el aumento de fósforo en la estructura química de la dentina y la disminución de la relación Ca / P, a pesar de que el Ca aumentó.

Independientemente de la densidad de energía empleada, G3 y G4 (irradiación con láser Er: YAG) mostraron el mismo patrón de cambios. La disminución en el %at de C podría explicarse por la degradación térmica del colágeno después de la irradiación láser, la cual causa reducción y modificación del carbonato de la materia orgánica en la dentina irradiada con láser Er: YAG.⁶

Ceballos et al.,⁴² sugirieron que la fibra de colágeno derretida en la superficie de la capa subsuperficial puede dar como resultado una mayor resistencia a los ácidos, reduciendo la susceptibilidad al ataque ácido y la caries. Sin embargo, la relación Ca / P alcanzada en el G3 fue mayor que para G4, y parece que la dentina irradiada a una menor densidad de energía produjo una relación Ca / P por arriba de 1.67, que es la relación estequiométrica para hidroxiapatita pura $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Debido a que la relación Ca / P ha sido considerado como un indicador confiable de mineralización, esto permite el establecimiento de patrones de comportamiento, independientemente de las variaciones de otros elementos en los dientes.⁷⁶ Los hallazgos en G3 y G4 sugieren cambios químicos que mejoran el contenido mineral de la estructura de la dentina, especialmente para G3, a una densidad de energía de (25.5 J cm²).

Cuando se añadió un agente acondicionador después de la irradiación con láser Er: YAG, independientemente del agente utilizado, se produjo un aumento de la relación Ca / P observado en todos los grupos. Sin embargo, la reducción en el %at de P sólo fue observado en G5 y G6 (combinación con ácido fosfórico). Cuando un agente de acondicionamiento se añadió después de la irradiación con láser Er: YAG, independientemente del agente utilizado, se observó un aumento de la relación Ca / P en todos los grupos. El efecto del agente de autograbado después de la irradiación en G7 y G8 mostró un aumento en la relación Ca / P a expensas del incremento en ambos elementos (Ca y P). Esto probablemente se deba a la

combinación de la ácido resistencia creada por la irradiación con el láser Er: YAG⁴² y la composición del agente adhesivo de autograbado que se mencionó anteriormente.

Con respecto a la evaluación morfológica de la dentina, las observaciones en el SEM antes del tratamiento mostraron túbulos dentinarios con orificios circulares, las superficies de dentina intertubular y peritubular con apariencia homogénea y presencia de lodillo dentinario que cubre la superficie de la dentina, que es el típico patrón morfológico, hallazgos que coinciden con lo reportado por El-Hawary et al.,⁵⁵ en dentina temporal de niños sanos.

En cuanto a los cambios morfológicos después del tratamiento, G1 exhibió el patrón de grabado más agresivo. Ha sido reportado que el ácido fosfórico elimina el lodillo dentinario significativamente más rápido, causando desmineralización más profunda de la dentina intertubular y peritubular,^{12,67} así como la apertura e incremento en amplitud de la entrada de los túbulos.⁵¹

En G2, se observó la presencia de dentina peritubular con túbulos dentinarios amplios y abiertos sin presencia de lodillo dentinario. Sin embargo, no hay estudios previos que informen sobre los cambios morfológicos producidos por el agente adhesivo universal de autograbado empleado (3M ESPE).

Al igual que en la dentina permanente, el acondicionamiento con láser Er: YAG produjo el patrón típico, una superficie escamosa,⁶³ siendo ésta más pronunciada en el grupo de mayor densidad de energía, acorde a lo reportado por Brandão et al.,⁷⁶ con hallazgos tales como la ausencia de lodillo dentinario que resultó en túbulos dentinarios expuestos, superficies rugosas y protuberantes. Además, los hallazgos en cuanto a presencia de grietas fueron similares a otros estudios (Oliveira et al.,⁶⁰ Zhang et al.,⁷² aunque Kornblit et al.,⁴⁹) que no encontraron formación de dichas fallas.

Por otro lado, cuando la irradiación con láser Er: YAG se combina con el acondicionamiento con ácido fosfórico, pareciera que el fuerte efecto de este agente químico elimina la capa superficial modificada con láser. Esto podría deberse al uso complementario de ácido fosfórico seguido por el lavado con agua desionizada, que eliminó la superficie modificada por el láser,⁴² en contraste con lo observado en aquellos grupos combinados con el agente adhesivo de autograbado, donde esta capa es visible; sin embargo, no hay informes previos para compararlo.

Para evaluar el diámetro de los túbulos dentinarios temporales y permanentes después del empleo de ocho protocolos de acondicionamiento, se seleccionaron primeros y segundos molares temporales, así como terceros molares; debido a que éstos dientes son empleados comúnmente en pruebas de laboratorio para la adhesión.⁷⁷ Se decidió evaluar el tamaño del diámetro del túbulo, porque se presume que es un parámetro importante en los fenómenos de difusión y transporte a través de la dentina, así como la penetración del monómero de la resina adhesiva desde la superficie hacia el interior del túbulo¹², progresión de la caries o hipersensibilidad dentinaria.³⁰ Además, se utilizó el programa Image Tools Scandium para medir el diámetro de dichos túbulos, ya que proporciona precisión en los resultados, tiene una mayor capacidad de visión y velocidad en el cálculo de las mediciones; además, es fácil de usar.

Con respecto a los sistemas de acondicionamiento, para el ácido fosfórico se emplearon los mismos parámetros que los recomendados en la dentina de dientes temporales, mencionados con anterioridad.^{66, 67} Para los permanentes se emplearon los parámetros que marca el fabricante. Para el agente adhesivo de autograbado y las densidades del láser Er: YAG fueron empleados los mismos de la fase I.

Los resultados del diámetro de los túbulos dentinarios, mostraron variaciones en el tamaño según el tipo de dentina (temporal o permanente) y el sistema de acondicionamiento empleado. Independientemente del protocolo de acondicionamiento, los túbulos dentinarios temporales mostraron un mayor diámetro con respecto a los túbulos dentinarios permanentes, a excepción del protocolo combinado en G6D y G6P.

El mayor diámetro del túbulo observado constantemente en la dentina temporal podría explicarse debido a un menor contenido mineral de la dentina peritubular e intertubular,⁷⁸ lo que podría producir un mayor efecto de eliminación de la dentina dentro del túbulo. Sin embargo, la única excepción, en el caso de irradiación con láser Er: YAG a 300 mJ (38,2 J / cm²) + ácido fosfórico al 35%, podría deberse al hecho de que el uso de esta mayor densidad de energía en la superficie de dentina temporal mejora su resistencia ácida; por lo que se requieren estudios adicionales para evaluarlo.

En cuanto a la dentina temporal, mostró un mayor diámetro de los túbulos cuando se empleó ácido fosfórico al 35%, debido al ataque preferencial en la dentina peritubular.^{67,79} Además, el grupo del agente adhesivo de autograbado, los grupos de láser Er: YAG + ácido fosfórico al 35% y el grupo de láser Er: YAG a 38.2 J / cm² de irradiación + agente adhesivo de autograbado mostraron un efecto moderado, similar entre ellos. La exposición de los túbulos dentinarios dio como resultado entradas más estrechas cuando se aplicó irradiación con láser Er: YAG de baja densidad + agente adhesivo de autograbado, así como irradiación con láser Er: YAG únicamente. Específicamente, se observó el diámetro más estrecho para el grupo de irradiación láser con la densidad de energía más baja, el cual no se recomienda para uso clínico debido a una probable falta de retención mecánica del material restaurador.

En relación a la dentina permanente, aunque Ceballos et al.,⁴² informaron que después de la irradiación con láser Er: YAG en tercer molar, la fibra de colágeno fundido en la capa

subsuperficial puede dar como resultado un aumento de la resistencia al ácido reduciendo así la susceptibilidad al ataque ácido, se observó un mayor diámetro de los túbulos dentinarios cuando se empleó la irradiación con láser Er: YAG a ($38,5 \text{ J / cm}^2$) + ácido fosfórico en la dentina permanente con respecto a la temporal, bajo el mismo protocolo de acondicionamiento.

Por otro lado, la menor densidad de energía ($25,5 \text{ J / cm}^2$) en combinación con ácido fosfórico mostró diámetros de los túbulos dentinarios similares al protocolo con ácido fosfórico únicamente, por lo que este protocolo combinado no es recomendable, así como irradiación con láser Er: YAG + agente de autograbado debido a que la dentina presentó un tamaño más estrecho en el diámetro de los túbulos, lo que podría explicarse por la incorporación del lodillo dentinario dentro de la interfase de unión, representa una zona débil ya que puede dar lugar a defectos de unión como se informó anteriormente.⁵³

Los protocolos de tratamiento no combinados como el autograbado adhesivo o la irradiación con láser Er: YAG dieron como resultado túbulos dentinarios de diámetro intermedio, que también pueden no ser adecuados para una adhesión exitosa y la consecuente retención a largo plazo del material restaurador.

Los resultados sugieren que el diámetro de los túbulos dentinarios varía de acuerdo con el protocolo de acondicionamiento, con características específicas para cada uno. Es posible que diferentes procedimientos, incluido el tipo de agente, el tiempo de aplicación, entre otros, puedan influir en la eliminación de la dentina intertubular en todos los protocolos de acondicionamiento.⁸⁰ Cabe resaltar que al comparar ambos tejidos dentinarios (temporal y permanente), no reaccionaron de manera similar cuando se aplicaron los mismos protocolos de acondicionamiento,⁸¹ mostrando túbulos dentinarios más abiertos o cerrados bajo diferentes protocolos, probablemente influenciado por su estructura química, lo que justifica

un ajuste de los parámetros de acondicionamiento para cada tipo de dentición, independientemente del protocolo que se use. Así mismo la dentina temporal presentó cambios en la morfología de superficie y en la composición química que varían de acuerdo con el protocolo de acondicionamiento, con características específicas para cada uno que podría tener implicaciones clínicas en la retención de materiales adhesivos y rendimiento en la fuerza de adhesión como han sido reportados recientemente en terceros molares humanos.⁷⁶

Adicionalmente, en base a los resultados de los cambios químicos y morfológicos, así como el menor tamaño de los dientes temporales, se realizó un estudio piloto para examinar la viabilidad de determinar la fuerza de adhesión de la resina compuesta a la dentina del diente temporal después del uso de los diferentes protocolos de acondicionamiento. Se seleccionaron 5 grupos: ácido fosfórico, adhesivo autograbado, láser Er: YAG a 300 mJ, y la combinación con ácido fosfórico o agente adhesivo de autograbado, respectivamente, ya que presentaron las mejores características que podrían favorecer la adhesión, observándose que la preparación de las muestras fue adecuada, obteniendo los mejores resultados el G3 (láser), en cuanto a la resistencia al decementado, con más de la mitad de adhesivo en la superficie dental.

Sin embargo, se requieren estudios adicionales in vitro sobre en la fuerza de adhesión con la finalidad de evaluar nuevos protocolos antes del uso clínico en odontología pediátrica, y así establecer mediante estudios futuros, una propuesta de un protocolo adhesivo innovador.

9. Conclusiones Generales

Fase I

El grupo de ácido fosfórico reveló el protocolo de acondicionamiento más agresivo de acuerdo con los cambios en la composición morfológica y química, específicamente en la reducción del contenido mineral.

El autograbado produjo los cambios morfológicos menos agresivos y probablemente actuaría como un proveedor de P para la estructura de la dentina temporal.

La irradiación con láser Er: YAG per se o en protocolos combinados mejoró la estructura mineral de la dentina temporal a través de un aumento en la relación Ca / P, además de producir cambios morfológicos retentivos.

Fase II

Todos los protocolos de acondicionamiento de dentina produjeron túbulos dentinarios con mayor apertura (tamaño de diámetro) en dentina temporal con respecto a los permanentes.

Los túbulos dentinarios más abiertos (tamaño de diámetro) se presentaron con el ácido fosfórico como protocolo único o en combinación después de la irradiación con láser Er: YAG, en dentina temporal y permanente, respectivamente.

La irradiación con láser Er: YAG (25,5 J / cm²) como protocolo único dio como resultado el menor tamaño de los diámetros en los túbulos dentinarios, en ambas denticiones.

Los protocolos con el uso del láser Er: YAG combinados con un agente químico produjeron la mayor apertura de los túbulos dentinarios, sobretodo cuando el ácido fosfórico se colocó después de la irradiación.

Fase III

El protocolo de irradiación con láser Er: YAG logró la mayor resistencia al decementado de resina en dientes temporales.

La preparación de las muestras resultó ser adecuada para la prueba de resistencia al decementado. Sin embargo, hace falta mayor tamaño de muestra para poder realizar el análisis estadístico y obtener resultados confiables.

10. Bibliohemerografía

1. Gómez de Ferraris M.E, Campos M.A. Histología y embriología bucodental. 2ed. Madrid: Panamericana; 2007.
2. Bhaskar S.N. Histología y embriología bucal, De Orban. 11ed. ST. Louis, Missouri U.S.A, editorial Prado 2000.
3. Sumikawa DA., Marshall GW., Gee L., Marshall SJ. Microstructure of primary tooth dentin. *Pediatr Dent* 1999; 21:439-444.
4. Goldberg M., Kulkarni AB., Young M., Boskey A. Dentin: Structure, Composition and Mineralization: The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*; 3: 711–735.
5. Marshall GW. Dentin: Microstructure and characterization. *Quintessence International* 1993, 24: 606-617.
6. LeGeros RZ. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. *Chemical Reviews* 2008, 108: 4742-4753.
7. Xu C., Wang Y. Chemical composition and structure of peritubular and intertubular human dentin revisited. *Arch Oral Biol.* 2012, 57 (4): 383-391.
8. Ingle JL., Bakland LK., & Baumgartner JC. *Ingle's endodontics 6*. Ontario: PMPH-USA 2008, p. 638.
9. Kinney JH., Balooch M., Marshall SJ., Marshall GW., & Weihs TP. Hardness and Young's modulus of human peritubular and intertubular dentine. *Archives of Oral Biology* 1996, 41(1), 9–13.

10. Pashley DH., Ciucchi B., Sano H. And Homer JA. Permeability of dentin to adhesive agents. *Quintessence International* 1993, 249: 618-631.
11. Garberoglio R and Brännström M. Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules. *Arch Oral Biol* 1976, 21: 355-362.
12. Pashley DH., Carvalho RM. Dentine permeability and dentine adhesion. *J. Dent.* 1997, 25 (5): 355-372.
13. Pongprueksa P., Senawongse P., Vongphan N. Effect of dentinal tubule orientation on the modulus of elasticity of resin infiltrate demineralized dentin. *Dental Materials Journal* 2014; 33(1): 54-58.
14. Marshall GW., Marshall SJ., Kinney JH., Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent.* 1997, 25(6):441-58.
15. Lenzi TL., Guglielmi C., Arana-Chavez VE., Raggio DP. Tubule density and diameter in coronal dentin from primary and permanent human teeth. *Microsc. Microanal.* 2013, 19: 1445-1449.
16. Bertasonni LE., Orgel JPR., Antipova O., Swain MV. The dentin organic matrix – limitations of restorative dentistry hidden on the nanometer scale. *Acta Biomaterialia* 2012, 2419–2433.
17. Weiner S., Veis A., Beniash E., Arad T., Dillon JW., Sabsay B., Siddiqui F. Peritubular Dentin Formation: Crystal Organization and the Macromolecular Constituents in Human Teeth. *Journal of Structural Biology* 1999, 126: 27–41.
18. Szabó J., Trombitás K and Szabó I. Scanning electron microscopy of the walls of tubules in human coronal dentine. *Archs oral Biol.* 1985, 30: 705-710.

19. Mjor IA and Fejerskov O. *Histology of the Human Tooth*, 2nd edn. Munksgaard, Copenhagen, 1979.
20. Martini D., Trirè A., Breschi L., Mazzoni A., Orsini G., Teti G, Falconi M., Ruggeri A. Dentin matrix protein 1 and dentin sialophosphoprotein in human sound and carious teeth: an immunohistochemical and colorimetric assay. *European Journal of Histochemistry* 2013, 57(32): 216-223.
21. Guler C., Malkoc MA., Gorgen VA., Dilber E., Bulbul M. Effects of Er: YAG laser on mineral content of sound dentin in primary teeth. *The Scientific World Journal*. 2014, 578342.
22. Dilber E., Malkoc MA., Ozturk AN., Ozturk F. Effect of various laser irradiations on the mineral content of dentin. *European Journal of Dentistry* 2013, 7: 74-80.
23. Kumagai A., Fujita Y., Endo S., Itai K. Concentrations of trace element in human dentin by sex and age. *Forensic Science International* 2012, 219: 29-32.
24. Lakomaa EL., Rytömaa I. Mineral composition of enamel and dentin of primary and permanent teeth in Finland. *Scand J Dent Res* 1977, 85(2):89-95.
25. Nakabayashi N., & Saimi Y. Bonding to intact dentin. *Journal of Dental Research* 1996, 75: 1706–1715.
26. Meerbeek BV., De Munck J., Yoshida Y., Inoue S., Vargas M., Vijay P., Landuyt KV., Lambrechts P., Vanherle G. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Operative Dentistry* 2003, 28(3): 215-235.
27. Peumans M., Kanumilli P., De Munck J., Landuyt KV. Clinical effectiveness of contemporary adhesives: A systematic review of current clinical trials. *Dental Materials* 2005, 21: 864-881.

28. Perdigão J. New developments in dental adhesion. *Dent Clin N Am* 2007, 51: 333-357.
29. Pashley DH. Dentin-predentin complex and its permeability: physiologic overview. *J Dent Res* 64 (Special Issue): 1985, 613-20.
30. Arends J., Stokroos I., Jongebloed WG & Ruben J. The diameter of dentinal tubules in human coronal dentine after demineralization and air drying. *Caries Research* 1995, 29: 118-121.
31. Ziskind D., Hasday M., Cohen SR., & Wagner HD. Young's modulus of peritubular and intertubular human dentin by nano-indentation tests. *The Journal of Structural Biology* 2011, 174(1): 23–30.
32. Bordin-Aykroyd S., Sefton J., & Davies EH. In vitro bond strengths of three current dentin adhesives to primary and permanent teeth. *Dental Materials: Official Publication of the Academy of Dental Materials* 1992, 8: 74–78.
33. Buonocore MG. A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces. *Journal of Dental Research* 1955, 34: 849–853.
34. Hosoya Y., Tay FR., Ono T., Miyazaki M. Hardness, elasticity and ultrastructure of primary tooth dentin bonded with a self-reinforcing one-step self-etch adhesive. *Journal of dentistry* 2010, 38: 214–221.
35. Muñoz MA., Luque I., Hass V., Reis A., Loguercio AD., Bombarda NH. Immediate bonding properties of universal adhesives to dentine. *Journal of Dentistry* 2013, 41: 404-11.
36. Van Meerbeek B., Yoshihara K., Yoshida Y., Mine A., De Munck J., Van Landuyt K.L. State of the arte of self-etchadhesives. *Dental Materials* 2011, 27: 17-28.

37. Koyuturk AE., Ozmen B., Cortcu M., Tokay U., Tosun G., Sari ME. Effects of Er: Yag Laser on Bond Strength of Self-etching Adhesives to Caries-Affected Dentin. *Microscopy Research and Technique* 2014, 77: 282-288.
38. Aoki A., Sasaki KM., Watanabe H., Ishikawa I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. *J Periodontol* 2000, 36: 59-97.
39. American Academy of Pediatric Dentistry. Policy on the use of lasers for pediatric dental patients. *Council on clinical affairs* 2013, 35: 613-14.
40. Nobuyuki K., Tetsuya A., Osuka K., Junji K., Yoshito H., Tetsuo K., Shigeo A. Bactericidal Effects of 2.94 μ m and 1.67 μ m Laser. *Bull Tokyo Dent Coll.* 2010, 51(4):185-192.
41. Brulat N., Fornaini C., Roca JP., Darque-Ceretti E. Role of Surface tension and roughness on the wettability of Er: YAG laser irradiated dentin: In vitro study. *Laser Therapy* 2013, 22(3): 187-194.
42. Ceballos L., Toledano M., Osorio R., Tay FR., Marshall GW. Bonding to Er-YAG-laser-treated Dentin. *J Dent Res.* 2002, 81(2): 119-122.
43. Yildiz E., Karaarslan S., Yegin Z., Cebe M.A., Tosun G. Effect of caries removal techniques on the bond strength of adhesives to caries-affected primary dentin in vitro. *European Journal of Paediatric Dentistry* 2013, 14 (3): 209-214.
44. Sulewski JG. Historical survey of laser dentistry. *Dental Clinics of North America* 2000, 44: 717-752.
45. 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 in Surgery and Medicine* 1989, 9: 338-344.

46. Baghalian A., Nakhjavani YB., Hooshmand T., Motahhary P., Bahramian H. Microleakage of Er: YAG laser and dental bur prepared cavities in primary teeth restored with different adhesive restorative materials. *Lasers Med Sci.* 2013, 28: 1453–1460.
47. Bahrololoomi Z., Heydari E. Assessment of Tooth Preparation via Er: YAG Laser and Bur on Microleakage of Dentin Adhesives. *Journal of Dentistry* 2014, 11(2): 172-178.
48. Bueno C., Giamatei MM., De Lima FA., Galo R., Marques A., Bachmann L., Borsatto MC. Thermal Alteration and Morphological Changes of Sound and Demineralized Primary Dentin After Er: YAG Laser Ablation. *Microscopy research and technique* 2012, 75: 126-132.
49. Kornblit R., Boss UM., Mari D., Rocca JP., & Polimeni A. Enamel and dentine of deciduous teeth Er: YAG laser prepared. A SEM study. *European Journal of Paediatric Dentistry: Official Journal of European Academy of Paediatric Dentistry* 2009, 10: 75–82.
50. Flury S., Koch Y., Peutzfeldt A., Lussi A. Micromorphology and adhesive performance of Er: YAG laser-treated dentin of primary teeth. *Lasers Med Sci.* 2012, 27: 529-535.
51. Monghini EM., Wanderley R., Pécora JD., Palma Dibb RG., Corona SAM., Borsatto MC. Bond Strength to Dentin of Primary Teeth Irradiated with Varying Er: YAG Laser Energies and SEM Examination of the Surface Morphology. *Lasers in surgery and medicine* 2004, 34: 254-259.
52. Scatena C., Paes C., Gomes-Silva JM., Martins MM., Pécora JD., Palma-Dibb RG., Borsatto MC. Shear strength of the bond to primary dentin: influence of Er: YAG laser irradiation distance. *Lasers Med Sci.* 2011, 26: 293–297.
53. Sardella TN., Alves de Castro FL., Sanabe ME., & Hebling J. Shortening of primary dentin etching time and its implication on bond strength. *Journal of Dentistry* 2005, 33: 355-362.

54. Rythén M., Sabel N., Dietz W., Robertson A., Norén J. Chemical aspects on dental hard tissues in primary teeth from preterm infants. *European Journal of Oral Sciences* 2010, 118: 389-395.
55. El-Hawary Y., El-Sayed B., Abd-Alhakem G., Ibrahim F. Deciduous teeth structure changes in congenital heart disease: ultrastructure and microanalysis. *Inter Med & Appl Sci* 2014, 111-117.
56. Keinan D., Smith P., Zilberman U. Microstructure and chemical composition of primary teeth in children with Down syndrome and cerebral palsy. *Archives of Oral Biology* 2006, 51: 836-843.
57. Klingberg G., Hagberg C., Norén JG., Nietzsche S. Aspects on dental hard tissues in primary teeth from patients with Ehlers-Danlos syndrome, *International Journal of Paediatric Dentistry* 2009, 19: 282-290.
58. Rizell S., Kjellberg H., Dietz W., Norén JG., Lundgren T. Altered inorganic composition of dental enamel and dentin in primary teeth from girls with Turner syndrome. *European Journal of Oral Sciences* 2010, 118: 183–190.
59. De Souza-Guerra J., Barroso RC., De Almeida A., Alves IT., Moreira S., Barbosa F. Anatomical variations in primary teeth microelements with known differences in lead content by micro-Synchrotron Radiation X-Ray Fluorescence (μ -SRXRF) A preliminary study. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2014, 28: 186-193.
60. Oliveira SA., Pugach MK., Hilton JF., Watanabe LG., Marshall SJ., Marshall GW. The influence of the dentin smear layer on adhesion: a self-etching primer vs. a total-etch system. *Dental Materials* 2003, 19: 758-767.

61. Perdigão J., Lambrechts P., Van Meerbeek B., Tomé AR., Vanherle G., Lopes AB. Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin. *Dental Materials* 1991, 12: 262-271.
62. Eliades G., Palaghias G., Vougiouklakis G. Surface reactions of adhesives on dentin. *Dental Materials* 1990, 6: 208-216.
63. Armengol V., Rohanizadeh JR., Hamel H. Scanning electron microscopic analysis of diseased and healthy dental hard tissues after Er: YAG laser irradiation: In vitro study. *Journal of Endodontics* 1999, 26: 138-141.
64. Delmé KIM., De Moor RJ. Scanning Electron Microscopic Evaluation of Enamel and Dentin Surfaces after Er: YAG Laser Preparation and Laser Conditioning. *Photomedicine and Laser Surgery* 2007, 25 (5):
65. De Moore
66. Bolaños CV., González LS., Briones LT., De Haro MC., De la Macorra JC. Effects of etching time of primary dentin on interface morphology and microtensile bond strength. *Dental Materials* 2006, 22: 1121-1129.
67. Nör JE., Feigal RJ., Dennison JB., Edwards CA. Dentin bonding SEM comparison of the resin-dentin interface in primary and permanent teeth. *Journal of Dental Research* 1996, 75: 1396-403.
68. Swift Jr EJ. Dentin/Enamel adhesives: review of the literature. *Pediatric Dentistry* 2002, 24: 456-461.
69. Chen C., Niu L-N., Xie H., Zhang Z-Y., Zhou L-Q., Jiao K., Chen J-H., Pashley DH., Tay FR. Bonding of universal adhesive to dentin-old wine in new bottles? *Journal of Dentistry* 2015, 43: 525-536.

70. Moszner N., Salz U., Zimmermann J. Chemical aspects of self-etching enamel-dentin adhesives: A systematic review. *Dental Materials* 2005, 21: 895-910.
71. De Oliveira Ortolan AS., Paes Torres C., Gomes-Silva JM., Hueb de Menezes-Oliveira MA., Djalma Pécora J., Guenka Palma-Dibb R., and Borsatto MC. Photomedicine and Laser Surgery 2009, 27(6): 885-890.
72. Zhang S., Tao Chen., Li-Hong Ge. Scanning electron microscopy study of cavity preparation in deciduous teeth using the Er: YAG with different powers. *Lasers in Medical Science* 2012, 27: 141–144.
73. Visuri SR., Walsh JT & Wigdor HA. Erbium laser ablation of dental hard tissue: effect of water cooling. *Lasers in Surgery and Medicine* 1996, 18: 294-300.
74. Contreras B., Rodríguez LE., Contreras R., Olea O., Scougall RJ., Centeno C. Chemical and morphological changes in human dentin after Er: YAG laser irradiation: EDS and SEM analysis. *Microscopy Research and Technique* 2015, 78: 1019-1025.
75. 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. *Photomedicine and laser surgery* 2014, 32: 252-259.
76. Brandão CB., Contente MM., De Lima FA., Galo R., Corrêa-Afonso AM., Bachmann L., Borsatto MC. Thermal alteration and morphological changes of sound and demineralized primary dentin after Er: YAG laser ablation. *Microscopy Research and Technique* 2012, 75: 126-32.
77. International Organization for Standardization, 2015. Dental materials – guidance on testing of adhesion to tooth structure. ISO/TS 11405 (E).

78. Alaghemand H., Nezhad Nasrollah F., Nokhbatolfoghahaei H., &Fekrazad R. An in vitro comparison of the bond strength of composite to superficial and deep dentin, treated with Er: YAG laser irradiation or acid-etching. *Journal of lasers in medical Sciences* 2016, 7: 167-171.
79. Hirayama A. Experimental analytical electron microscopic studies on the quantitative analysis of elemental concentrations in biological thin specimens and its application to dental science. *Shikwa Gakuho* 1990, 9: 1019-1036.
80. Osorio R., Aguilera FS., Otero PR., Romero M., Osorio E., García-Godoy F et al. Primary dentin etching time, bond strength and ultra-structure characterization of dentin surfaces. *J Dent* 2010, 38: 222-231.
81. Shilke R., Lisson JA., Bauß O., Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine by scanning electron microscopic investigation. *Arch Oral Biol* 2000, 45: 355-361.

11. Anexos

Anexo 1. Formato de consentimiento informado del padre o tutor del paciente menor de edad para la donación de dientes.



CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PADRE O TUTOR DEL PACIENTE MENOR DE EDAD PARA LA DONACIÓN DE ÓRGANOS DENTARIOS

Nombre(s) del padre o tutor Apellido paterno Apellido materno

como representante legal de _____, en
Nombre(s) del paciente Apellido paterno Apellido materno

forma voluntaria y sin alguna presión consiento que él (ella) done _____ órgano(s) dentario(s).

Autorizo que las muestras donadas sean utilizadas en algún proyecto de investigación del programa de Doctorado en Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de México, contribuyendo con esto en la búsqueda de nuevas alternativas para la prevención de la caries dental.

Declaro que no he percibido alguna retribución económica debido a la donación y es de mi conocimiento que las muestras no serán vendidas o distribuidas con fines de lucro. Se me ha hecho saber que mi identidad y la del paciente menor de edad al que represento serán guardadas en estricta confidencialidad. Además, he sido informado(a) acerca del proyecto de investigación vigente en el podrían ser incluidas las muestras donadas, he comprendido toda la información del presente documento y me han sido aclaradas todas las dudas acerca de éste.

Firma del padre o tutor

Ciudad:

Fecha:

Testigos:

Relación con el paciente: _____

Relación con el paciente: _____

Nombre: _____

Nombre: _____

Dirección: _____

Dirección: _____

Firma: _____

Firma: _____

Anexo 2. Formato de asentimiento informado del paciente menor de edad para la donación de dientes.



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Odontología

Folio:

Doctorado en Ciencias de la Salud

**ASENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE MENOR DE EDAD
PARA LA DONACIÓN DE ÓRGANOS DENTARIOS**

Nombre(s) del paciente

Apellido paterno

Apellido materno

en forma voluntaria y sin alguna presión asiento en donar _____ órgano(s) dentario(s).

Estoy de acuerdo en que estas muestras sean utilizadas en algún proyecto de investigación del Doctorado en Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma del Estado de México, y sé que con esto estaré contribuyendo en la búsqueda de nuevos métodos para prevenir la caries dental.

Declaro que no he recibido dinero por la donación que hago y sé que las muestras no serán vendidas o distribuidas con fines comerciales.

Se me ha hecho saber que todos mis datos personales serán guardados en secreto y confidencialidad.

He sido informado(a) acerca del proyecto de investigación vigente en el que podrían ser incluidos los dientes que dono, entiendo claramente toda la información de este documento y me han sido aclaradas todas las dudas que tenía sobre mi participación.

Además mi padre/madre _____

Nombre(s) del padre o tutor Apellido paterno Apellido materno

conoce las condiciones de la presente donación y cuento con su consentimiento informado por escrito.

Fecha de nacimiento del paciente: _____

Género: masculino femenino

Anexo 3. Resistencia al decementado con el uso de diferentes acondicionamientos en la dentina de dientes temporales

Material y métodos:

Metodología:

Se incluyeron 5 molares temporales exfoliados o extraídos sin caries, fracturas, obturaciones o daños a simple vista, sin fluorosis dental. Los dientes fueron lavados y se eliminaron los tejidos blandos, se colocaron en frascos con timol al 0.2%, posteriormente fueron retirados de la solución, se enjuagaron con agua bidestilada y secados al medio ambiente para su uso.

1. Preparación de la muestra

- Los molares temporales se fijaron en un portaobjetos con resina termoplástica, posteriormente se recortaron en vestibular, lingual, mesial y distal con un disco de diamante (South Bay Technology, Inc., San Clemente, CA, USA) y una recortadora (Model 650, South Bay Technology, Inc., USA).
- Se realizaron unos ganchos con alambre 0.36 para fijarlos en elacrílico (Figura 1), posteriormente se fijaron con el uso del adhesivo universal L-Pop, se frotó la superficie del diente durante 10 segundos y se fotopolimerizó por otros 20 segundos (figura 2). Luego se colocó la resina fluida para cubrir el alambre y quedó fijo en el molar (figura 3).
- Finalmente se colocóacrílico en unos moldes y se fijó el molar temporal (figuras 4 y 5).

