

ACTA ODONTOLÓGICA VENEZOLANA

ÓRGANO OFICIAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA-UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

Caracas, 15 de Febrero de 2012

Ciudadanos.

Robert Ramirez

Rosalinda Pulido Guerrero

Juan Pablo Pérez

Bexi Perdomo

Presentes.-

Me complace comunicarle que su trabajo titulado: 'Potencial de remineralización ultraestructural del vidrio bioactivo versus fluoruro estañoso', recibió la aprobación de los árbitros respectivos el 9 de Diciembre del 2011. Este artículo saldrá publicado en el Vol. 50 N° 4 del 2012.

Sin otro particular y agradeciendo su valiosa colaboración, queda de Ustedes.

Atentamente,

A handwritten signature in black ink is written over a circular stamp. The stamp contains the text "ACTA ODONTOLÓGICA VENEZOLANA" at the top and "UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA" at the bottom, with a stylized logo in the center.

*J.E. Troconis Ganimez
Director*

Potencial de remineralización ultraestructural del vidrio bioactivo versus fluoruro estañoso.

R. Pulido, Odontólogo. Libre Ejercicio (Mérida - Venezuela). e-mail: roslin21@hotmail.com

***R. A. Ramírez**, Odontólogo. Profesor Agregado de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes (Mérida - Venezuela). e-mail: robertramirez@ula.ve

J. P. Pérez, Odontólogo. Profesor Instructor de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes (Mérida - Venezuela). e-mail: juanp_odontoula@yahoo.com

B. J. Perdomo, Magister, Lic. Educación. Profesor Agregado de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes (Mérida - Venezuela). e-mail: bexi@ula.ve

***Autor para la correspondencia:** Facultad de Odontología Universidad de Los Andes. Edificio Rectorado Calle 24 entre Av. 2-3, planta baja, Cátedra de Operatoria Dental. Mérida – Venezuela, CP: 5101. Teléfono: 582742402394.

Agradecimiento al CDCHT de la ULA por el financiamiento y soporte prestado para hacer posible esta investigación (Códigos de proyectos O-229-08-07-F y parte de O-221-08-02-B).

Resumen:

El objetivo de esta investigación fue determinar el potencial de remineralización a nivel ultraestructural del vidrio bioactivo (VBio) en comparación al producido por el fluoruro estañoso (FSn). *Materiales y Métodos:* se recolectaron 10 molares humanos del servicio CAMIULA. Se dividieron en 4 partes con sierra de precisión: Grupo A (Superficie no tratada control), Grupo B (Superficie desmineralizada control), Grupo C (Superficie con VBio), Grupo D (Superficie con FSn). Los grupos B, C, D fueron sometidos a desmineralizaron en una solución acuosa de metilcelulosa al 8% (1500cP, 63 kDa) cubierta con un volumen igual de 0.1 mol/l de ácido láctico, pH ajustado con KOH; por un periodo de 5 días a un pH de 4.6 a 37 °C. Posteriormente el Grupo C fue sometido a régimen de remineralización con Biogran® (Biomet 3i™) a una concentración de 5wT% 2 veces al día por 15 días; igualmente el Grupo D se sometió de fluoruro estañoso Gel Kam (Colgate Palmolive®) al 0,4% 2 veces al día por 15 días. Las muestras de cada grupo fueron preparadas para SEM y para el análisis de elementos mediante EDS (O, P, Ca, Sn y Si). Los datos del EDS se analizaron con ANOVA Univariante para la diferencia en el porcentaje de elementos en 2 niveles (Elementos, Tratamiento). Los datos del SEM para las variables disminución de poros (DP) y espacios (DE) en función del tratamiento con prueba del chi-cuadrado (X^2), del paquete estadístico SPSS 19. El valor de alfa fue establecido en 0.05. *Resultados:* La diferencia en el porcentaje de elementos promedio de cada elemento y la desviación estándar (\pm SD) se muestran a continuación: Grupo VBio: O= -0,89 (6,19); P= -0,39 (1,26); Ca 0,99 (5,19); Si 0,07 (0,09) y Grupo FSn: O= -5,97 (8,4); P= -1,16 (1,4); Ca -5,14 (3,95); Sn 12,19 (5,66). El ANOVA, nivel Tratamiento $p= 0,977$, sin diferencias significativas. El nivel Elementos el valor de $p= 0,000$, con diferencias significativas. La variable DP con IC: 95%= 34,65 - 93,5% en ambos tratamientos, el X^2 $p=1$ sin diferencias significativas. La variable DE IC: 95%= 26,12 - 88% FSn y 18,57 - 81,42% VBio, el X^2 $p=0,653$ sin diferencias significativas. *Conclusión:* El potencial de remineralización a nivel ultraestructural del vidrio bioactivo es similar al que se produce con el fluoruro estañoso.

Palabras clave: desmineralización, remineralización, vidrio bioactivo, fluoruro y esmalte dentario.

Abstract

Objective: to determine the potential for remineralization at an ultrastructural level of Bioactive glass (VBio) when compared to stannous fluoride (FSn). **Materials and methods:** 10 human molars were collected from CAMIULA (a dentistry service of the University of Los Andes, Venezuela). The teeth were divided in four parts with a precision saw: Group (untreated surface – control), Group B (demineralized surface - control), Group C (Surface with VBio), Group D (Surface with FSn). Groups B, C and D were submitted to demineralization in a 8% metilcelulose aqueous solution (1500cP, 63 kDa) covered with an equal volume of 0.1 mol/l of lactic acid, with an adjusted pH with KOH at 4.6 a 37 °C for a 5-days period. Later, Group C was exposed to a remineralization regime with Biogran® (Biomet 3i™) at a 5wT% concentration twice a day 2 for 15 days. Likely, Group D was exposed to a regime with stannous fluoride Gel Kam (Colgate Palmolive®) at 0,4% 2 twice a day for 15 days. The samples from each group were prepared for SEM and the elements analysis through EDS (O, P, Ca, Sn y Si). Data from EDS were analyses with Univariant ANOVA for the difference in the percentage of elements at two levels (Elements, Treatment). Data from SEM for the variables porosity diminish and spaces (DP and DE, respectively) in relation to treatment with Chi Squared X^2 , by using the statistics package SPSS 19. Significance level was established at 0.05. **Results:** differences in the percentage of average elements of each element and standard deviation (\pm SD) were as follow: VBio Group: O= -0,89 (6,19); P= -0,39 (1,26); Ca 0,99 (5,19); if 0,07 (0,09) and FSn Group: O= -5,97 (8,4); P= -1,16 (1,4); Ca -5,14 (3,95); Sn 12,19 (5,66). ANOVA results showed treatment level $p=0,977$, with no statistically significant differences. The Elements there were statistically significant differences ($p=0,000$). The variable DP with IC: 95%= 34, 65 - 93,5% for both treatment; $X^2 p=1$ showed no statistically significant differences. For the Variable DE, IC: 95%= 26,12 – 88% FSn y 18,57 – 81,42% VBio; $X^2 p=0,653$ with no statistically significant differences. **Conclusion:** The remineralization potential of the Bioactive Glass at the ultrastructural level is similar to the one produced by stannous fluoride.

Key words: demineralization, remineralization, bioactive glass, dental enamel and fluoride.

Introducción:

La caries dental es una de las enfermedades más comunes en el ser humano, con una de las mayores tasas de incidencia en toda la población¹. Esta enfermedad se describe como un proceso dinámico entre la desmineralización y remineralización que ocurre en las superficies dentarias como consecuencia del metabolismo bacteriano, que con el tiempo puede resultar en una pérdida de minerales y probablemente en una franca cavidad².

Actualmente, el interés de la odontología se ha centrado en la prevención, tratamiento y monitoreo del proceso carioso. La terapia preventiva consiste en revertir el proceso de desmineralización a favor de la remineralización, ya que por el desbalance, el diente es sometido a una pérdida aumentada de su contenido mineral³ lo que hace preciso el tratamiento temprano, pues puede evitar la cavitación y por ende tratamientos invasivos que disminuyen el ciclo de vida de un diente.^{3,4}

La desmineralización es la pérdida de minerales de la estructura dentaria, específicamente la salida de los iones calcio y fosfato (Ca^{++} PO_4) que son los principales componentes de esta estructura. El tratamiento de la enfermedad tiene un enfoque biológico en el cual se busca crear un escenario favorable para la reprecipitación de dichos iones. Esta terapéutica tiene el flúoruro como elemento principal en la reversión del proceso⁵, ya que ha estado presente en los programas de estrategias

preventivas de las últimas tres décadas⁶, además existe una fuerte evidencia que respalda su uso⁷. En el proceso existen otros elementos involucrados como lo son el Ca^{++} , PO_4 que en cantidades abundantes y constantes pueden favorecerlo⁸. Dentro de esa línea se conocen otras alternativas, entre las cuales existen la caseína fosfopeptidasa (CPP-ACP) probada como agente anticaries *in situ*, el cual muestra un gran potencial remineralizador⁹ y los materiales a base de vidrio bioactivo, que son compuestos de base de calcio, fosfato y silicio que actúa favoreciendo la reprecipitación de éstos elementos dentro de la estructura dentaria¹⁰.

El vidrio bio-activo es reconocido por su capacidad de osteoconducción en la regeneración del tejido óseo, su composición lo convierte en un candidato interesante como agente remineralizador de los tejidos dentarios ya que estudios previos así lo han asociado¹⁰⁻¹³.

Dentro de la sociedad tecnológica actual existen algunos métodos como el microscopio electrónico de barrido (SEM) con dispersión de rayos x (EDS), la fluorescencia láser y la microscopía láser Confocal que permiten medir la cantidad de elementos que componen un determinado material; no obstante, la demanda de nuevos métodos de mayor eficiencia, menor costo y menor complejidad en el manejo ponen en evidencia la necesidad de tener disponibles instrumentos de medición capaces de caracterizar las pequeñas modificaciones que pueden ocurrir sobre la estructura dentaria por acción bioquímica de la placa, a partir de los cuales se puedan desarrollar nuevas alternativas terapéuticas¹⁴.

Entre los métodos, el SEM es una herramienta analítica de notable importancia para el estudio y caracterización de las superficies de cualquier naturaleza y junto al microanálisis de elementos por dispersión de rayos X (EDS)¹⁵ constituyen instrumentos de indiscutible utilidad. La técnica combinada SEM – EDS permite observar superficies en rangos sub-micrónicos y obtener imágenes tridimensionales de la topografía de las superficies de las muestras¹⁶. La apariencia tridimensional de la muestra es un resultado directo de la gran profundidad de campo, así como el efecto de relieve producido en la imagen por los electrones secundarios y retro-dispersos. De hecho, esta capacidad para ver en tres dimensiones es citada en la bibliografía como la característica más valiosa para los usuarios de estos instrumentos. El SEM también es capaz de examinar objetos a muy bajos aumentos y de esa manera complementar la imagen óptica en campos como la arqueología ó la metalurgia¹⁴. Por su parte, el EDS permite determinar la presencia de elementos y la cantidad en determinado sitio de la muestra con gran precisión por lo que cualquier variación en la composición de la superficie puede ser determinada.

En esta investigación, el objetivo fue determinar el potencial de remineralización a nivel ultraestructural del vidrio bioactivo en comparación al producido por el fluoruro estañoso.

Materiales y Métodos:

Se seleccionaron 10 molares humanos sanos, los cuales fueron recolectados del servicio de cirugía del Centro de Atención Médico Integral de la Universidad de Los Andes (CAMIULA), Venezuela por razones de tratamiento ortodóntico. A los pacientes se les informó que el material biológico iba a ser usado con fines de investigación y ninguno presentó objeción al respecto. El tamaño de la muestra fue determinado tomando en consideración estudios previos^{13,17}.

Criterios de inclusión:

- Material biológico proveniente de pacientes entre 18 y 28 años de edad.
- Esmalte liso y pulido.
- Libres de lesiones cariosas.
- Libres de hipoplasia ó hipo mineralización.
- Libres de fracturas y de lesiones no cariosas como abfracción, abrasión y erosión.
- Libres de manchas ó pigmentaciones.

- Libres de tratamientos restauradores como endodoncias, amalgamas, resinas compuestas, etc.

Los molares fueron almacenados en Cloramina T (AcoFarma®) por un tiempo no mayor a 30 días, seguidamente se limpiaron para eliminar los restos de ligamento. Luego, cada molar se dividió en cuatro superficies y cada una de ellas pasó a formar parte de un sub – grupo, como se describe a continuación:

- Grupo 1 (n=10): Superficie control sin tratamiento
- Grupo 2 (n=10): Superficie control desmineralizada
- Grupo 3 (n=10): Superficie tratada con vidrio bioactivo
- Grupo 4 (n=10): Superficie tratada con fluoruro Sn

Los dientes se montaron individualmente en bloques de acrílico de autocurado para su mejor manipulación. Seguidamente, éstos se seccionaron en los planos longitudinales mesiodistal y buco-lingual usando una sierra de precisión (Isomet® 1000, Buehler). Cada uno de los fragmentos individualizados se acabaron con fresas diamantadas de grano ultra fino a alta velocidad, con refrigeración y luego se pulió con disco soft-lex (3M ESPE) color amarillo con la finalidad de crear una superficie plana de 3 x 3 mm y dejar esmalte virgen. Las muestras se lavaron con baño ultrasónico por 3 minutos y por último, se pintaron todas las superficies con barniz de uñas (Revlon # 163) excepto en las ventanas de esmalte tratado. (Ver Fig. #1)

En una primera fase se procedió a realizar las lesiones artificiales a los grupos 2 – 4 ya que el grupo 1 servía de control para el porcentaje de elementos. Para realizar el procedimiento las ventanas de esmalte de 3x3mm se desmineralizaron con una solución acuosa de metilcelulosa al 8% (1500cP, 63 kDa) cubierta con un volumen igual de 0.1 mol/l de ácido láctico y pH ajustado con KOH.

Todas las secciones se sumergieron por 5 días en la solución acuosa, en un pH de 4.6 a 37 °C en estufa, basando en el sistema de gel acidificado descrito por Lynch y Ten Cate¹⁸.

En una segunda fase se realizó el tratamiento remineralizador al grupo 3 con vidrio bioactivo y al grupo 4 con enjuague de fluoruro estañoso, en ciclos de remineralización y desmineralización dos veces al día por 15 días.

Para la remineralización con vidrio bioactivo se usó Biogran® (Biomet 3iTM), el cual se mezcló con agua destilada como vehículo a una concentración de 5wT%⁹, siguiendo el siguiente protocolo:

- Primera aplicación:
 1. Inmersión en solución de Bioglass® por 3 minutos.
 2. Inmersión en saliva artificial por 12 horas.
- A partir de la segunda aplicación:
 1. Desmineralización por 30 minutos.
 2. Lavado de solución agua destilada.
 3. Inmersión en la solución de Bioglass® por 3 minutos.
 4. Inmersión en saliva artificial por 12 horas.

Para la remineralización con fluoruro se aplicó un enjuague de fluoruro estañoso Gel Kam (Colgate Palmolive®) al 0,4%, de la siguiente manera:

- Primera aplicación:
 1. Inmersión en enjuague de fluoruro por 3 minutos.
 2. Inmersión en saliva artificial por 12 horas.
- A partir de la segunda aplicación:

1. Desmineralización por 30 minutos.
2. Lavado de solución agua destilada.
3. Inmersión en enjuague de fluoruro por 3 minutos.
4. Inmersión en saliva artificial por 12 horas.

Las muestras se desecaron por 24 horas, se orificaron y se observaron en el Microscopio Electrónico de Barrido a una magnificación de 2000x (Ver Fig. #2). Inmediatamente, se procedió a realizar el análisis EDS para la determinación de elementos (O, P, Ca, Sn y Si), en el Centro de Innovación Tecnológica (CITEC) de la Facultad de Ciencias de La Universidad de Los Andes en Mérida/ Venezuela.

Los datos obtenidos se recolectaron, archivaron y tabularon en hoja de cálculo Excel. Para poder determinar el potencial de remineralización del vidrio bioactivo, se hicieron 2 tipos de mediciones. En primer lugar, se comparó la diferencia entre el porcentaje promedio de los elementos (O, P, Ca, Sn y Si) vista en EDS del Grupo 3 y 4 con su respectivo grupo control (Grupo 1). La prueba estadística utilizada fue un ANOVA Univariable (Diferencia en el porcentaje de elementos de los grupos tratados menos su respectivo control) con dos factores fijos (Elementos, Tratamientos) y una co-variable (Diente), para el análisis se usó el paquete estadístico Statistic Package for the Social Sciences (SPSS) versión 19.

En segundo lugar se realizó un estudio comparativo de las imágenes SEM 2000x, en el cual de manera observacional se compararon las superficies del grupo 3 y 4 con su respectivo grupo control Grupo 2. Se analizaron dos variables dependientes (Disminución de Poros y Disminución de espacios) con respecto al factor fijo (Tratamientos) con la prueba del X^2 , del paquete estadístico SPSS 19. En ambos análisis el valor de alfa fue establecido en 0.05.

Resultados:

- Inicialmente se obtuvieron medidas de tendencia central con sus respectivas desviaciones típicas (Ver Tabla #1 y Gráfico #1) para los Tratamientos Fluoruro_Sny Vidrio_Bioactivo y los elementos en estudio.
- El ANOVA para la diferencia en el porcentaje de elementos de los grupos tratados menos su respectivo control el nivel 'Tratamientos' mostró un valor de $p=0,977$, sin diferencias estadísticamente significativas. En cuanto al nivel 'Elementos' el valor de $p=0,000$, lo cual muestra diferencias estadísticamente significativas. La covariable 'Diente' obtuvo un valor $p=0,975$ sin diferencias estadísticamente significativas. Finalmente, la Intersección Tratamiento/Elemento se adjudicó un valor $p=0,000$ con diferencias estadísticamente significativas. (Ver Tabla #2 ANOVA Univariable).
- El estudio comparativo de las imágenes SEM entre los Tratamientos y la variable en estudio "Disminución de Poros" mostró una respuesta positiva (Si) en un IC:95%= 34,65 - 93,5% para ambos tratamientos, en el X^2 el valor de $p=1$ sin diferencias estadísticamente significativas (Ver Tabla #3).
- El estudio comparativo de las imágenes SEM entre los Tratamientos y la variable en estudio "Disminución de Espacios" mostró una respuesta positiva (Si) en un IC: 95%= 26,12 – 88% para el Tratamiento Fluoruro_Sn y 18,57 – 81,42% para el Tratamiento Vidrio_Bioactivo, en el X^2 el valor de $p=0,653$ sin diferencias estadísticamente significativas (Ver Tabla #4).

Discusión:

Actualmente el uso de la microscopía electrónica de barrido (SEM) con dispersión de rayos X (EDS) es una herramienta analítica de gran importancia para el estudio de los materiales¹⁵. Está proporciona una obtención rápida, eficiente y simultáneamente información topográfica,

cristalográfica y composicional del área estudiada, aspecto que le da a esta técnica una preponderancia clara sobre las demás microscopias para la mayoría de las aplicaciones, especialmente en el campo de la Ciencia de Materiales, proporcionando además análisis cualitativos y cuantitativos rápidos de la composición de elementos de un material¹⁴, lo que permite identificar las posibles modificaciones que se le puedan realizar a un material en progreso. En el desarrollo de esta investigación se seleccionó dicho método por las cualidades descritas, así como, por su confiabilidad y alta calidad de imagen. Siendo ideal para evaluar el comportamiento y biocompatibilidad de los dos tratamientos en estudio.

Desde el punto de vista clínico es importante valorar las propiedades terapéuticas y preventivas de las de los tratamientos biológicos, como lo son el uso de fluoruro de estaño y el vidrio bioactivo, en esta investigación pudimos observar que el grado de modificación mineral producido por ambos tratamientos a través de un análisis EDS no muestra diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y entre los fragmentos de dientes que conformaban las muestras. Sin embargo, se encontró una diferencia dentro de los elementos que se incorporaron en la estructura del esmalte, posiblemente porque en el caso del tratamiento con fluoruro el elemento asociado fue el estaño, el cual puede que se incorpore en las ubicaciones del calcio principalmente, el fósforo ó quedar asociado al fluoruro en la ubicación del hidroxilo, ya que se evidencio que tanto el calcio, el fósforo y el oxígeno disminuyen con respecto a la superficie control. El estaño al ser un elemento que no se encuentra naturalmente en la estructura del esmalte podría causar las pigmentaciones que ocurren con frecuencia al utilizar este agente como remineralizador¹⁹, como se pudo evidenciar por los altos niveles del metal presentes en las muestras tratadas con el gel de fluoruro de estaño.

Así mismo, en el tratamiento remineralizador con vidrio bioactivo se encontró cierta cantidad de elementos como sílice posiblemente por ser un vidrio altamente reactivo que le sirve de vehículo al resto de elementos, además se observo un notable aumento de la proporción de calcio con respecto al grupo control y al grupo tratado con fluoruro de estaño. Esto pudiera ser el resultado del micro ambiente de la superficie desmineralizada que al estar saturada con el ion calcio se pudiera promover su rápida incorporación.

Bajo las condiciones en las que se desarrolló este estudio se observó que el vidrio bioactivo funciona en el tratamiento remineralizador del esmalte dentario, lo que se corresponde con lo reportado por Alauddin¹³, sin embargo no parece ser mejor que el fluoruro de estaño. Es importante destacar que a nivel ultraestructural la ventaja sería el depósito de un mayor porcentaje de calcio que de alguna manera estaría disponible en los momentos ácidos de la placa dental²⁰⁻²². Alauddin¹³ halló un mayor efecto remineralizador con el vidrio bioactivo, posiblemente porque las partículas eran de menor tamaño (nanométricas) al mismo tiempo su método de análisis fue diferente, ya que él se baso en una prueba de microdureza. Adicionalmente, la utilización de un vidrio bioactivo con particulado micrométrico, como el que se utilizó en este estudio pudo haber influenciado el grado y la velocidad de remineralización. Esto coincide con lo demostrado por Vollenweider¹⁰, el cual reporta que el tamaño de las partículas del vidrio es un factor que influye en el proceso de remineralización dental. De esta forma, según éste autor, las partículas nanométricas se difunden con mayor facilidad que las partículas micrométricas a través de las estructuras dentarias, y de esa manera se facilita el proceso de precipitación de los elementos perdidos.

Para el análisis de la superficie se utilizaron las imágenes SEM a un aumento de 2000x, ya que con esta magnificación se pudieron observar de manera limpia y nítida las características ultraestructurales del esmalte dentario humano. Desde esta perspectiva al analizar la superficie con un instrumento de recolección validado por expertos, pudimos observar que no habían diferencias en las características de la superficies tratadas con ambos tratamientos, pero si con respecto al grupo Control 2, que correspondía a las superficies desmineralizadas, esto sugiere que existe un aumento de masa en la superficie tratada. Dada la importancia y relevancia clínica del tema estudiado se

hace necesario continuar investigando el mismo. Un aspecto que pudo tener un efecto en el análisis de los resultados podría ser el número de muestras (n=10), por lo que los intervalos de confianza se hacen amplios con la consecuente baja de precisión en el efecto del tratamiento. Sin embargo, el tamaño muestral se determinó siguiendo estudios previos^{13, 17}. Adicionalmente, se cuidó de que todos los tratamientos tuvieran sus grupos controles que provenían del mismo diente para evitar la presencia de variables intervinientes o sesgos en la muestra.

Conclusión:

El potencial de remineralización a nivel ultraestructural del vidrio bioactivo es similar al que se produce con el fluoruro estañoso.

Referencias Bibliográficas:

1. Lanata E. Operatoria dental estética y adhesión. Buenos Aires. Grupo Guía. 2005.
2. Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. Community Dent and Oral Epidemiol. 1997 Feb; 25(1):5-12.
3. Summitt J, Robbins J, Milton T, Schwartz R. Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach. 3ª ed. China: Quintessence Publishing Co, Inc. 2006.
4. Mount G. An atlas of glass ionomer cements. 3ra Ed. New York, United States: Martin Dunitz Ltd. 2002.
5. Seif T. Cariología: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento Contemporáneo de la Caries Dental. Caracas, Venezuela: Actualidades Médico Odontológicas Latinoamericanas. 1997.
6. Marinho VCC, Higgins JPT, Logan S, Sheiham A. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Syst Rev. 2004 (1): CD002780. Review.
7. Twetman S. Treatment protocols: nonfluoride management of the caries disease process and available diagnostics. Dent Clin North Am. 2010 Jul;54(3):527-40. Review.
8. Reynolds EC. Casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate: the scientific evidence. Adv Dent Res. 2009; 21 (1): 25 – 29. Review.
9. Zero DT. Recaldent – evidence for clinical activity. Adv Dent Res. 2009; 21 (1): 30-34.
10. Vollenweider M, Brunner T, Knecht S, Grass R, Zehnder M, Imfeld T. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. Acta biomater. 2007 Nov; 3(6):936-943.
11. Forsback A, Areva S, Salonen J. Mineralization of dentin induced by treatment with bioactive glass S53P4 in vitro. Acta Odont Scand [seriada en línea] 2004(feb); 62(1): [6 p.]. Disponible en:
<http://www.informaworld.com/smpp/section?content=a713803924&fulltext=713240928>
Consultado Noviembre 22, 2007.
12. Efflandt S, Magne P, Douglas W, Francis L. Interaction between bioactive glasses and human dentin. J Mater Sci Mater Med 2002; 13 (6):557-565.
13. Alauddin S. In vitro remineralization of human enamel with bioactive glass containing dentifrice using confocal microscopy and nanoindentation analysis for early caries defense [Master Tesis]. University of Florida; 2004 [62 p.]. Disponible en:
http://etd.fcla.edu/UF/UFE0007162/alauddin_s.pdf Consultado Marzo 20, 2008.
14. Almagro J. Nuevo microanálisis cuantitativo de metales empleando microscopia Electrónica de barrido con Dispersión de energías de rayos x [tesis doctoral]. Universidad Complutense de Madrid: 1999. [250 p.]. Disponible en:
<http://www.ucm.es/BUCM/tesis/19972000/X/0/X0034801.pdf>. Consultado abril 26, 2008.
15. Briggs D, Brady J, Newton B. Scanning electron microscopy and x-ray Microanalysis. 2000. Disponible en: <http://www.science.smith.edu/departments/SEM/Manual99.pdf>. Consultado abril 26, 2008.

16. William R, Nadeau G. Applications of scanning electron microscopy and energy dispersive spectroscopy (SEM/EDS) to practical tribology problems.(sf) Herguth Laboratories, Inc. Disponible en: <http://www.herguth.com/technical/SEM.pdf>. Consultado abril 26, 2008.
17. Arias F. El Proyecto de Investigación. Introducción a la Metodología Científica. 4^{ta} ed. Caracas: Episteme. 2004.
18. Lynch R, Ten Cate J. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behaviour. Caries Res. 2006; 40(6):530-5.
19. Faller RV, Eversole SL, Yan J. Anticaries Potential of a stabilized stannous-containing sodium fluoride dentifrice. Am J Dent. 2010. Sep; 23 Spec No B: 32B – 38B.
20. Llena C, Forner L, Baca P. Anticariogenicity of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate: a review of the literature. J Contemp Dent Pract. 2009 May 1; 10(3):1-9.
21. Wolff MS, Larson C. The cariogenic dental biofilm: good, bad or just something to control? Braz Oral Res. 2009; 23 Suppl 1:31-8.
22. Lodi CS, Manarelli MM, Sasaki KT, Fraiz FC, Delbem AC, Martinhon CC. Evaluation of fermented milk containing probiotic on dental enamel and biofilm: in situ study. Arch Oral Biol. 2010 Jan; 55(1):29-33. Epub 2009 Nov 28.

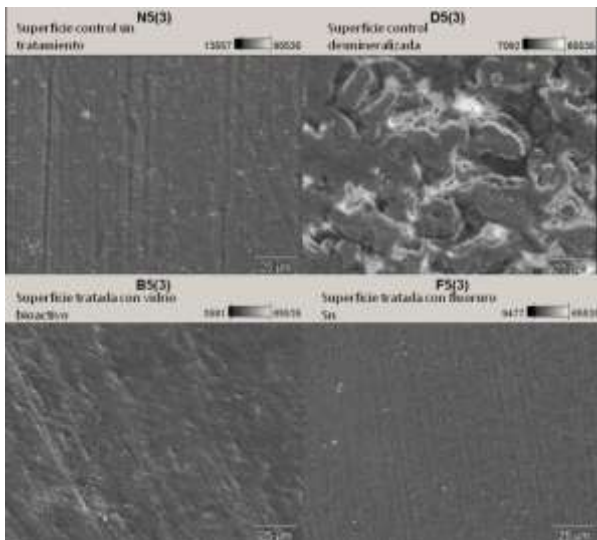


Figura #2 Imagen de SEM 2000x donde se muestran las cuatro superficies evaluadas de un mismo diente.

Tratamiento	Elemento	Media	Desviación típica	N
Fluoruro_Sn	O	-5,9680	8,40318	10
	P	-1,1640	1,40143	10
	Ca	-5,1440	3,95103	10
	Sn	12,1890	5,66468	10
	Si	,0000	,00000	10
Vidrio_Bioactivo	O	-,8880	6,18660	10
	P	-,3920	1,26383	10
	Ca	,9930	5,19497	10
	Sn	,0000	,00000	10
	Si	,0720	,09331	10

Tabla #1 Estadísticos descriptivos, Variable dependiente: Tratamientos- Control

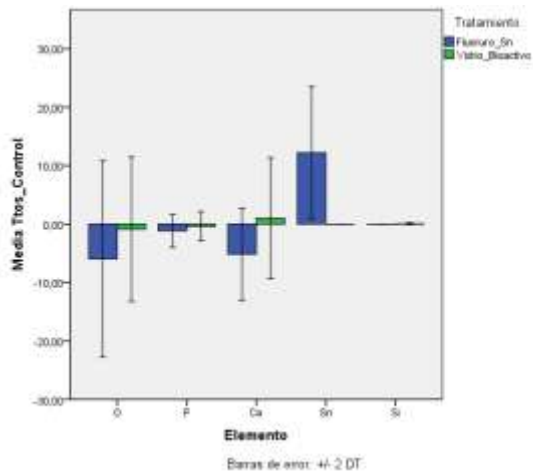


Gráfico #1 Estadísticos descriptivos

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2139,305a	10	213,931	11,304	,000
Intersección	,000	1	,000	,000	,996
Diente	,018	1	,018	,001	,975
Tratamiento	,016	1	,016	,001	,977
Elemento	1076,077	4	269,019	14,215	,000
Tratamiento * Elemento	1063,194	4	265,798	14,045	,000
Error	1684,282	89	18,925		
Total	3823,678	100			
Total corregida	3823,587	99			

Variable dependiente: Tratamiento-Control.

a. R cuadrado = ,560 (R cuadrado corregida = ,510)

Tabla #2 Pruebas de los efectos inter-sujetos. ANOVA Univariable.

Tabla de contingencia	Disminución Poros		Total	IC:	Pruebas de chi-cuadrado de Pearson.	
	No	Si				95%
Tratamiento	Fluoruro_Sn	3	7	10	34,65 - 93,5	1,000
	Vidrio_Bioactivo	3	7	10	34,65 - 93,5	
Total		6	14	20		

Tabla #3 Tratamiento * Disminución de Poros

Tabla de contingencia	Disminución Espacios		Total	IC:	Pruebas de chi-cuadrado de Pearson.	
	No	Si				95%
Tratamiento	Fluoruro_Sn	4	6	10	26,12 - 88	,653
	Vidrio_Bioactivo	5	5	10	18,57 - 81,42	
Total		9	11	20		

Tabla #4 Tratamiento * Disminución de Espacios