

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
ESCUELA DE GRADUADOS



UNIVERSIDAD
DE CHILE

“Efecto en la rugosidad superficial de bloques de esmalte sometidos a ciclos erosivo-abrasivos, pre-tratados con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata y expuestos a pasta dental Opti-namel. Estudio *in vitro*”

VALERIA GÓMEZ GONZÁLEZ
TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS

Tutor de Tesis: Prof. Dr. Gonzalo Rodríguez Martínez
Co-Tutor: Prof. Dr. Rodrigo Cabello Ibacache
Co-Tutor: Prof. Dr. Mario Díaz Dosque

Adscrito a Proyecto FONDOR código 2022/02
Santiago - Chile
2023

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
ESCUELA DE GRADUADOS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS

Se informa al Consejo de la Escuela de Graduados de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, que la Tesis de Magíster en Ciencias Odontológicas presentada por la candidata

Valeria Gómez González

ha sido aprobada por la Comisión Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Ciencias Odontológicas, en examen rendido el

COMISIÓN INFORMANTE DE TESIS

Prof. Dr. Cristian Vergara Núñez

Prof. Dra. Ana Ortega Pinto

Prof. Dr. Eduardo Fernández Godoy
(Presidente Comisión de Examen)

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, les dedico las primeras líneas de este agradecimiento. A mis padres, quienes siempre han creído en mí y me alentaron a seguir mis sueños. A Cristian, agradezco por su apoyo incondicional, paciencia, comprensión y aliento constante. Gracias por compartir cada triunfo y desafío a lo largo de este camino académico. A mis suegros, su generosidad, cariño y aliento.

A mis tutores, les debo una deuda de gratitud que va más allá de las palabras. Su experiencia, orientación, dedicación, compromiso y apoyo en todo momento han sido cruciales en cada fase de este proyecto. Gracias por compartir su conocimiento y motivarme a alcanzar estándares más altos. A la Dra. Francisca Marro, agradezco enormemente la oportunidad que me brindó al recibirme en Bélgica. Su guía y experiencia han dejado una marca indeleble en mi formación académica.

En resumen, a todos aquellos que de una u otra manera han contribuido a este proyecto, gracias por formar parte de esta experiencia. Esta tesis es el resultado de un esfuerzo colectivo y refleja el apoyo y la dedicación de cada persona mencionada anteriormente.

PRODUCTOS DERIVADOS DE LA TESIS

Como consecuencia de esta tesis, tuve la oportunidad de llevar a cabo una estadía en la Universidad de Gent, en Bélgica. Durante este período, mi enfoque se centró especialmente en la ejecución de la fase experimental de este proyecto de investigación, permitiéndome adentrarme aún más en el ámbito académico y contribuir al avance del conocimiento en mi campo de estudio.

Adicionalmente, se destaca la participación en el 6to Encuentro Internacional de Cariología, celebrado en la ciudad de Valparaíso en octubre de 2023, donde se presentó de forma detallada el desarrollo de la Unidad de Investigación previa a este proyecto. La exposición se llevó a cabo mediante un formato de póster, ofreciendo una plataforma para compartir y discutir los avances y logros alcanzados hasta ese momento frente a un panel de expertos.

ÍNDICE

Introducción.....	1
Hipótesis.....	21
Objetivos.....	22
Materiales y métodos.....	23
Resultados.....	37
Discusión.....	48
Conclusiones.....	59
Declaración de Conflictos de Interés.....	59
Referencias bibliográficas.....	61
Apéndice A. Resultados Unidad de Investigación.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Figura N°1 Interacción de factores de riesgo de desgaste dental erosivo.....	7
Figura N°2 Muestra embebida en acrílico de autocurado y pulida.....	24
Figura N°3 División de las zonas experimentales y control por muestra.....	25
Figura N°4 Distribución de muestras en grupos y etapas de experimentación.....	26
Figura N°5 Aplicación Booster de BlueRemin®.....	27
Figura N°6 Ciclos erosivo-abrasivos.....	30
Figura N°7 Baño Termoregulado.....	31
Figura N°8 Máquina de cepillado automática.....	31
Figura N°9 Preparación de Slurries.....	32
Figura N°10 Fijación de la muestra en bloque para soporte.....	32
Figura N°11 Perfilómetro.....	34
Figura N°12 Metalizado de las muestras con oro.....	36
Figura N°13 Comparación de la profundidad de lesiones erosivas entre los diferentes grupos.....	38
Figura N°14 Gráficos de rugosidad.....	40
Figura N°15 Gráfico de líneas combinado de rugosidad.....	41
Figura N°16 Identificación de la lesión erosiva en el perfil de la muestra.....	44
Figura N°17 Superficie de las muestras.....	45

Figura N°18 Surcos de perfilometría.....	46
Figura N°19 Espectro EDX.....	47
Figura A1 Medición de las muestras.....	71
Tabla N°1 Media y desviación estándar del parámetro Rt.....	37
Tabla N°2 Diferencias en la media del parámetro Rt entre los cuatro grupos.....	42
Tabla N°3 Distribución de datos del parámetro Rt en μm por Percentiles en el conjunto de muestras.....	43
Tabla A1 Resultados Unidad de Investigación.....	71

RESUMEN

Introducción: El desgaste dental erosivo es un proceso químico-mecánico que produce pérdida de los tejidos dentarios cuyo origen son ácidos del reflujo gastroesofágico y/o de la dieta. Su manejo se realiza controlando el agente etiológico y disminuyendo la solubilidad de los tejidos.

Objetivo: Establecer si la rugosidad superficial es menor en bloques de esmalte pretratados con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata comparado con bloques no pretratados, luego de ser expuestos a ciclos erosivo-abrasivos con pasta con fluoruro, estaño y quitosán *in vitro*.

Metodología: 52 muestras de esmalte humano se dividieron en 4 grupos: 2 experimentales, 1 pretratado con BlueRemin® y otro con Fluoruro Diamino de Plata; 1 grupo control positivo y uno negativo. Se sometieron diariamente, por 10 días, a 6 ciclos erosivos alternando 2 minutos en ácido cítrico al 0,5% con saliva artificial 1 hora, y a cepillado con pasta con fluoruro, estaño y quitosán, excepto el control negativo que fue cepillado con pasta sin flúor. La medición de la pérdida de tejido se realizó en micrones con perfilómetro.

Resultados: No se observó efecto potenciador del efecto preventivo de la pasta con fluoruro, estaño y quitosán al pretratar las muestras con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata.

ABSTRACT

Introduction: Erosive tooth wear is a chemical-mechanical process that results in the loss of dental hard tissues, originating from acids related to gastroesophageal reflux and/or to diet. Its management involves controlling the etiological agent and reducing the solubility of the tissues.

Objective: To determine whether the surface roughness is lower in enamel blocks pre-treated with BlueRemin® or Silver Diamine Fluoride compared to untreated blocks, after exposure to erosive-abrasive cycles with a toothpaste containing fluoride, tin, and chitosan *in vitro*.

Methodology: 52 samples of human enamel were divided into 4 groups: 2 experimental groups, one pre-treated with BlueRemin® and the other with Silver Diamine Fluoride; 1 positive control group and 1 negative control group. They were subjected daily, for 10 days, to 6 erosive cycles alternating 2 minutes in 0.5% citric acid with artificial saliva for 1 hour, followed by brushing with toothpaste containing fluoride, tin, and chitosan, except for the negative control group, which was brushed with fluoride-free toothpaste. Tissue loss was measured in microns using a profilometer.

Results: No enhancing effect of the preventive action of the fluoride, tin, and chitosan-containing toothpaste was observed when pre-treating samples with BlueRemin® or Silver Diamine Fluoride.

INTRODUCCIÓN

i. Desgaste Dental Erosivo. Definición y características clínicas

El desgaste dental erosivo (DDE) es un proceso químico-mecánico que tiene como resultado la pérdida acumulativa e irreversible de los tejidos duros del diente, no causado por bacterias (1). Cierta grado de desgaste en los dientes se considera fisiológico y relacionado con el proceso de envejecimiento, sin embargo, cuando la tasa de progresión no se correlaciona con la edad del individuo puede considerarse patológico y afectar negativamente en el pronóstico a largo plazo de los dientes (2). Signos típicos observados en los dientes con DDE son: pérdida de la morfología y contorno natural; aplanamiento de las cúspides y pérdida de la anatomía oclusal de dientes posteriores, la que en etapas avanzadas puede incluso desaparecer y formar depresiones (3,4). En caras libres algunos signos típicos son aplanamiento de las superficies convexas y formación de depresiones y concavidades. El DDE puede ocurrir tanto en dientes temporales como permanentes, abarcar esmalte y dentina y puede observarse como lesiones localizadas o generalizadas. En estadios moderado-severos como consecuencia del desgaste progresivo, los pacientes pueden presentar dolor e hipersensibilidad por exposición dentinaria y/o pulpar, puede producir deterioro de la apariencia estética y limitar las funciones orales debido a la pérdida de la anatomía normal, afectando la calidad de vida y bienestar psicológico de quienes la

padecen (4–6). Cuando se realiza el tratamiento restaurador de los dientes afectados por DDE, ya sea por razones estéticas o dolor, se observa una mejora significativa en la calidad de vida relacionada con la salud oral y la apariencia estética (7). Este tratamiento restaurador puede ser simple y consistir solo en la realización de restauraciones directas, o puede ser más complejo a nivel de la boca completa, lo cual implica la necesidad de llevar a cabo restauraciones mucho más complejas y extensas con altos costos económicos (8). Este tipo de tratamiento más complejo no solo implica un enfoque individualizado en cada diente afectado, sino que también requiere la colaboración de un equipo multidisciplinario que abarque especialidades como ortodoncia, endodoncia y rehabilitación oral. Esta colaboración, aunque sumamente beneficiosa, añade consideraciones de costo y tiempo para los sistemas de salud públicos y para los pacientes contribuyendo a un impacto mayor en su bienestar afectivo y general (8,9).

ii. Etiología

La etiología del DDE es multifactorial siendo la principal causa la exposición a ácidos de origen extrínseco provenientes de la dieta, y/o intrínseco, principalmente ácidos de reflujo gastroesofágico y/o vómitos (1,10). El DDE de origen intrínseco afecta más frecuentemente las superficies oclusales y caras palatinas de los dientes, mientras que la de origen extrínseco se inicia en las caras vestibulares de los dientes incisivos superiores (4).

La exposición a estos ácidos desencadena una disolución química del tejido mineral superficial de los dientes, generando un incremento en la rugosidad que se asemeja a un patrón de grabado ácido en el esmalte. Este proceso conduce al reblandecimiento del esmalte, causando una disminución en su microdureza superficial y, como consecuencia, una reducción en su resistencia mecánica (4). Esta combinación de factores químicos y mecánicos, como la abrasión y atrición, da lugar a un desgaste acelerado de los tejidos dentarios (11).

La exposición a ácidos de origen extrínseco incluye el consumo de alimentos ácidos, tales como jugos de fruta, bebidas de fantasía, vino, aderezo de ensaladas, bebidas energéticas y bebidas isotónicas; medicamentos ácidos, tales como ácido acetilsalicílico, tabletas de hierro y suplemento de vitamina C; y exposición de tipo ocupacional, tales como trabajadores industriales de baterías, nadadores profesionales y catadores de vino (12–14). La extensión de la pérdida de tejido duro dentario está determinada por el potencial erosivo de la solución, (determinada por su pH, capacidad búfer y concentración mineral) y también por su frecuencia y forma de consumo. Algunos hábitos como beber a pequeños sorbos, uso de bombilla en contacto con los dientes y enjuague intenso previo a la deglución, producen bajas de pH prolongadas en la cavidad bucal comparado con una ingesta más rápida de consumo aumentando el riesgo de DDE (15). Cuando se diagnostica DDE producido por factores de la dieta, se debe aconsejar a los pacientes restringir el

consumo de alimentos ácidos solo a las comidas principales y rápidamente disminuyendo su potencial erosivo (16).

Es importante destacar que el consumo mundial de alimentos y bebestibles ácidos tales como bebidas envasadas, jugos de frutas, bebidas deportivas y energéticas ha aumentado en las últimas décadas (17), situación que también se observa en Chile. Un estudio realizado por Popkin y col. muestra que Chile lideró el ranking mundial de consumo diario per cápita de estos bebestibles, observándose una tendencia al alza entre los años 2009 y 2014 (18).

El DDE producido por ácidos de origen intrínseco, es causado por ácidos provenientes de los jugos gástricos que entran en contacto con la cavidad bucal como es el caso de pacientes que padecen bulimia, enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) y consumo abusivo de alcohol (19). Debido a que el pH del ácido clorhídrico de los jugos gástricos es cercano a 1 y contiene gran cantidad de ácido libre, su potencial erosivo es mucho mayor que los ácidos de origen extrínseco (20). La prevalencia del DDE en pacientes con ERGE varía entre un 17% - 68% (21).

El consumo abusivo de alcohol se asocia con vómitos frecuentes y con ERGE e hiposalivación (22). Además, los pacientes alcohólicos consumen de forma regular bebestibles alcohólicos potencialmente erosivos. Se ha observado un aumento de la prevalencia de DDE en estos pacientes (23).

Por último, un estudio realizado en Chile muestra que el consumo de alcohol y el hecho de experimentar síntomas de ERGE, tales como esofagitis auto reportada e historia de síntomas gástricos se asocian con DDE severo (24).

Junto con el origen, tipo de ácido, frecuencia de exposición y hábitos de consumo, factores modificantes del hospedero determinan la extensión y progresión de las lesiones erosivas (Figura N°1). De esta manera se evidencia el origen multifactorial de esta condición. Diversos factores biológicos relacionados con los pacientes y su dieta interactúan con los tejidos dentarios, ya sea propiciando un aumento en la tasa de progresión del desgaste o, por el contrario, brindando protección contra el desgaste dental, todo ello en un equilibrio delicado. La interrelación entre estos factores es esencial para determinar la evolución y severidad del fenómeno. Dentro de los factores biológicos relacionados con los pacientes, se destacan la saliva, película adquirida y la estructura dental (25). De estos elementos, la saliva es el factor biológico más importante en la

prevención del DDE, debido a que juega un rol importante en la formación de la película adquirida y participa reduciendo la tasa de desmineralización y aumentando la de remineralización proveyendo calcio, fosfato y fluoruro al esmalte y dentina erosionada (26). No obstante, su impacto más significativo radica en el aumento de la tasa de flujo salival como respuesta a estímulos ácidos, potenciando así la capacidad tampón de la saliva y su eficacia en la dilución y clearance de sustancias erosivas (22). Por ello, la tasa de flujo salival es un buen indicador del rol protector de la saliva ante el DDE, debido a que todos los parámetros salivales dependen de ella (27). Un estudio demuestra que una tasa de flujo salival normal (sobre 0,7 ml/min de saliva estimulada), no se asocia con DDE, y, al contrario, un bajo flujo salival fue considerado un factor de riesgo para DDE (OR 3.8) (22).

Por último, desde edades tempranas los determinantes sociales como ingreso familiar, tipo de educación, ubicación del hogar y la ocupación pueden tener implicancias en el estilo de vida y comportamientos de los individuos pudiendo afectar su salud bucal (28). El nivel socioeconómico (NSE) es el término utilizado para describir estos factores. Una revisión sistemática con metaanálisis realizada por Entezami y col. concluye que el NSE se puede considerar un factor de riesgo de DDE con dirección dependiendo de la edad de los individuos (29) (Figura N°1). Adultos con alto NSE tienen menos posibilidades de desarrollar DDE que adultos de un NSE bajo, ya que tienden a consumir una dieta más saludable y mantener mejores prácticas de higiene oral (30). Una relación inversa se

presenta en relación con niños y adolescentes (29). Una de las principales causas de DDE en niños y adolescentes es el consumo de bebestibles ácidos, principalmente jugos y bebidas de fantasía. Tales hábitos de dieta pueden predisponer a niños de todos los NSE al riesgo de DDE, no obstante, aquellos de un NSE alto podrían estar más frecuentemente expuestos que su contraparte, debido al mayor acceso resultante de la abundancia en países de ingresos bajos y medios (29).

Figura N°1: Interacción de factores de riesgo de desgaste dental erosivo

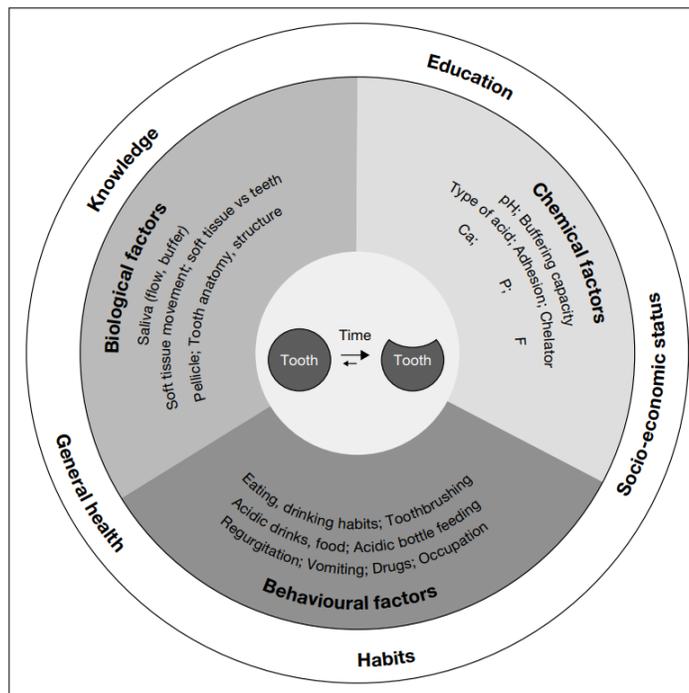


Ilustración obtenida de Lussi y col. (31) en la que se revelan los factores predisponentes y etiológicos del DDE. Varios factores biológicos, del comportamiento y factores químicos interaccionan con la superficie de los dientes lo cual puede producir progresión o protección frente al DDE en el tiempo, dependiendo de su balance. Los factores socioculturales presentes en el círculo más externo modularán todo el proceso de desarrollo de DDE.

iii. Prevalencia en Chile y el mundo

La prevalencia mundial del DDE en adultos varía entre 29% - 60% (32). En preescolares la prevalencia es cercana al 40%, según una revisión sistemática realizada por Yip y col., y, según Salas y col. en dientes permanentes de niños y adolescentes alcanza un 30,4% (34,35). En Chile, la información sobre la prevalencia y severidad de esta condición es sumamente limitada, siendo escasas las publicaciones al respecto. Hasta el momento solo existe un estudio publicado en 2016 realizado por Marro y col., realizado en adultos el cual reporta una alta prevalencia de 99,81%. Además, un 90,47% de la población estudiada presentaba desgaste severo. Se observó una correlación positiva entre edad y porcentaje de superficies con desgastes severos (33). La falta de investigaciones adicionales resalta la necesidad de profundizar en el conocimiento de esta condición en el contexto chileno.

Durante muchos años el DDE fue una condición de escaso interés clínico, sin embargo, debido a los cambios en la dieta y su alta prevalencia en niños y adultos, esta situación ha cambiado con el tiempo y actualmente se considera una gran área de investigación y preocupación diaria en la práctica clínica odontológica (36).

iv. Métodos de Estudio del desgaste dental erosivo

Los estudios *in vivo* son ideales para el estudio del DDE, pero debido a la baja precisión de las herramientas clínicas actuales para cuantificar pérdidas en micrones de tejido *in vivo* y, a que es necesario contar con extensos periodos de observación ya que su progresión es lenta (37), se han desarrollado y validado los modelos *in vitro* e *in situ* (38,39). Existen modelos *in vitro* de uno o múltiples desafíos erosivos (exposiciones a ácidos que causan erosión) y los modelos de ciclos de pH. En estos últimos, el objetivo es reflejar hábitos de dieta habituales, realizando diariamente (entre 5-10 días) múltiples desafíos erosivos a pH bajo, alternando con la exposición a una solución remineralizadora de pH neutro, que en la mayoría de los casos se acepta el uso de saliva artificial, según Gerrad y Winter (40), simulando el proceso de erosión y reparación que ocurre *in vivo* (41).

En estos modelos se pueden controlar variables tales como:

a) Tipo de Solución erosiva: Solución química utilizada para simular el ácido proveniente de reflujo gastroesofágico (ácido clorhídrico) o de los alimentos donde usualmente se utiliza ácido cítrico en concentraciones entre 0,3% - 6%, con un rango de pH entre 1,4 y 4,0 (42).

b) Duración del desafío erosivo: *in vivo* la mayoría de los desafíos erosivos ocurre en pocos minutos, por lo tanto, no debe realizarse extensos periodos de exposición (38,43).

c) Frecuencia de cepillado: existen modelos de ciclos erosivo-abrasivos los cuales incluyen el efecto de un abrasivo en el proceso de experimentación. El componente abrasivo habitualmente incluye el cepillado de las muestras con un cepillo de dientes, controlando que la presión no exceda los 3N, frecuencia de 2 veces al día y duración de 15 segundos por muestra, reflejando la situación clínica (44,45).

d) Temperatura y agitación: Se ha utilizado la temperatura corporal (36°C) o ambiental sugerida en 25°C ya que la tasa de erosión se ve afectada por la temperatura (38,41). Por otra parte, se sabe que una solución al ingresar en la boca no es estática. Estudios *in vitro* han demostrado que hay un aumento en la pérdida de tejido dental con el aumento de la agitación de las soluciones erosivas. Para controlar ambos parámetros temperatura y agitación, se puede usar un baño termorregulado, el cual controla la velocidad de agitación de las soluciones y su temperatura, siendo la frecuencia recomendada entre 30-70 RPM con movimientos horizontales (39).

La variable resultado en estos estudios es la pérdida de tejido dentario producto de la aplicación del modelo afectando a la rugosidad superficial de las áreas expuestas (41). La cuantificación de la pérdida de tejido se puede realizar a través de distintos métodos (46). Dentro de los métodos cuantitativos los más utilizados son la perfilometría de superficie y microdureza superficial. Dentro de los cualitativos o semicuantitativos, la

microscopía de luz transmitida, de fuerza atómica, electrónica de transmisión y barrido (41,47). Otra técnica utilizada para el estudio del DDE es la microtomografía computarizada (Micro-CT), la cual es útil para evaluar la pérdida o ganancia de contenido mineral de los tejidos duros del diente y sus dimensiones estructurales (47), pero no es ampliamente utilizada debido al costo que conlleva su uso.

v. Mecanismos terapéuticos y de prevención

Las estrategias preventivas son esenciales para el manejo y protección de los dientes frente al DDE, ya que la pérdida de tejido es de carácter irreversible y acumulativa (48). Estas estrategias de prevención y tratamiento deberían incluir dos aspectos: en primer lugar, el manejo de los factores de riesgo causales para disminuir la exposición a ácidos con el propósito de disminuir los periodos de desmineralización y la reducción de la dureza superficial. En segundo lugar, estrategias sintomáticas que tienen el propósito de disminuir la solubilidad de la superficie del esmalte cubriéndolo con una barrera protectora invisible, ácido resistente y retentiva (49).

vi. Uso de fluoruros para la prevención del desgaste dental erosivo

En la superficie del esmalte humano, menos del 5% de los sitios hidroxilos (OH-) de la hidroxiapatita son reemplazadas por fluoruros (50). La adsorción de fluoruros conlleva una conversión parcial del cristal de hidroxiapatita a fluorapatita produciendo disminución de su solubilidad, ofreciendo directa protección ante la desmineralización en el proceso de caries dental (51). Junto con esto, al aplicar compuestos fluorurados en las superficies dentarias, se produce la precipitación de materiales similares a fluoruro de calcio (CaF₂-like), los cuales son considerados un factor importante en la prevención de la desmineralización en el proceso de caries dental, actuando como reservorio de fluoruros liberándolos a pH bajo durante un ataque ácido y manteniéndose estable sobre el esmalte a pH neutro (52).

A pesar de la existencia de un efecto benéfico de estos precipitados en lo que respecta a caries dental, no se ha establecido de manera concluyente su impacto en la prevención de la erosión dental (53). Durante la exposición a ácidos de bajo pH, esta capa de CaF₂-like, tiene corta duración, lo cual limita el uso de fluoruros convencionales, tales como el fluoruro de sodio (NaF) y fluoruro de amina (AmF) (54). Para proteger completamente la superficie dentaria del desgaste erosivo, la capa de CaF₂-like que se produce superficialmente en el diente debería ser lo suficientemente densa para proveer de

una barrera física que proteja contra los ácidos y, además, lo suficientemente estable contra su disolución ácida (51). Sin embargo, bajo las mejores condiciones *in vitro*, solo un 40% de la superficie del esmalte se cubre con una capa de precipitados de CaF₂-like (53,55).

En relación con el efecto remineralizador, para caries dental la formación de CaF₂-like está íntimamente relacionada también con este, donde los cristales desmineralizados sirven de núcleo para la precipitación de minerales y los fluoruros aceleran este proceso, resultando en un mineral rico en flúor y pobre en carbonatos (56). Este es un proceso lento que solo ocurre en un área óptimamente protegida dentro de la lesión subsuperficial de la lesión de caries incipiente de esmalte. Este proceso de mineralización es diferente para las lesiones erosivas ya que no existen zonas protegidas, por lo que cualquier proceso de mineralización está limitado a la superficie o capa cercana a la superficie, exclusivamente a la zona reblandecida de esmalte (51).

Por todos estos motivos, se hace necesaria la búsqueda de preparaciones o componentes que formen precipitados distintos al CaF₂-like. Al respecto, se han estudiado las preparaciones con iones metálicos polivalentes, aminoácidos, péptidos o proteínas.

a. Iones metálicos polivalentes

El ion más estudiado es el estaño, el cual se ha incorporado a los productos de higiene oral para la prevención de caries, gingivitis y reducción de la sensibilidad dentinaria aumentada desde la década de 1960 (57). La fuente de estaño puede ser cloruro de estaño (SnCl_2) o fluoruro de estaño (SnF_2) (54). Modelos de ciclos alternados de desmineralización y remineralización *in vitro* que estudian el fluoruro de estaño, han demostrado que este elemento es incorporado en el esmalte y no solo forma un precipitado superficial. Su modo de acción preventivo está basado en la reacción entre los iones de estaño y el tejido duro del diente para formar sales de Sn_2OHPO_4 , $\text{Sn}_3\text{F}_3\text{PO}_4$ y $\text{Ca}(\text{SnF}_3)_2$, las cuales forman una capa estable más resistente a la disolución ácida que la hidroxiapatita, observada en dientes sanos y erosionados *in vitro* (53). En dientes sanos esta capa rica en estaño se observa limitada a la superficie, sin embargo, en dientes erosionados la presencia de estaño se observa hasta una profundidad de 20 μm (58). Por este motivo los depósitos de estaño son menos susceptibles a la disolución ácida y se ven reforzados con aplicaciones repetitivas logrando una mayor protección para los dientes con menos pérdida de la superficie ante futuros ataques ácidos (59). El estaño por sí solo es capaz de causar una reducción de la pérdida de mineral de un 65% en modelos de ciclos erosivos *in vitro*, sin embargo, cuando se combina con fluoruros (SnF_2 o AmF/SnF_2) en enjuagatorios la

inhibición de la pérdida de mineral es significativamente más eficiente entre el 60% - 90% (60,61). No obstante, su uso se ha asociado con tinción de dientes y lengua (61–63).

b. Pastas dentales

En el contexto del estudio de pastas dentales, se observa que el uso de pastas con estaño reduce significativamente la pérdida de minerales comparado con una pasta sin flúor o con fluoruro de sodio, reduciendo un 20% el desgaste dental (63).

Las pastas son parte establecida de la higiene oral diaria y se utilizan en todo el mundo (63). Debido a la alta prevalencia del DDE, la industria se ha esforzado en agregar un efecto antierosivo, lo que contribuiría significativamente a mejorar la salud oral. Los ingredientes activos de estas pastas, en particular fluoruros con cationes metálicos polivalentes como el estaño, no actúan como agentes para la remineralización, sino que interaccionan con la superficie de esmalte erosionado para crear una superficie menos susceptible a un nuevo desafío erosivo gracias a la precipitación de sales minerales en la superficie más ácido-resistentes en los micrones más superficiales de esmalte (63). Incorporar fluoruro de estaño en las pastas ha sido un reto ya que es inestable en el medio acuoso de las pastas, pero para compensar esta pérdida, se estabiliza por medio de

modificaciones en las formulaciones de las pastas tales como: exclusión de agua, uso de agentes quelantes tales como pirofosfato, gluconato, gantrez o fitato, los cuales son capaces de formar complejos solubles de estaño, o por medio la incorporación de otras sales de estaño tales como cloruro de estaño o pirofosfato de estaño como fuente de reserva de iones de estaño (64). La estabilización del estaño provee de niveles significativos de disponibilidad del producto activo a lo largo de la vida del elemento de higiene (64).

La evidencia con respecto al efecto benéfico del fluoruro de estaño en las pastas dentales está constituida principalmente de estudios *in vitro* e *in situ* en voluntarios sanos (65). Un estudio *in vitro* muestra que pastas dentales con estaño reduce un 97% el desgaste en ciclos erosivos al compararlo con un control negativo (66). Un estudio *in situ* muestra una reducción del desgaste erosivo entre un 34% - 26% al utilizar distintas pastas con fluoruro de estaño comparado con un control (cepillado con agua o con pasta con fluoruro de sodio) (67). Pastas dentales que contienen fluoruro de amina o de sodio entregan algún grado de protección contra la erosión en esmalte cuando son comparadas con un placebo. Otro estudio muestra que cuando se utiliza fluoruro de estaño se observa una reducción de un 55% - 95% de pérdida de tejido comparado con un control (63). En una revisión sistemática con metaanálisis de modelos *in situ*, se comparó la eficacia del fluoruro de estaño con distintos controles (fluoruro de sodio; monofluorfosfato de sodio/arginina; fluoruro de sodio/nitrato de potasio), y se observó una reducción de la profundidad de la

lesión erosiva equivalente al 83% de beneficio tras el uso de pastas con fluoruro de estaño versus el control (57), respaldado por otras revisiones sistemáticas con resultados similares (65,68).

Por este motivo el manejo *gold standard* actual del DDE es con pastas dentales que contengan fluoruro y estaño. En Chile ejemplos de pastas formuladas con fluoruro y estaño son: Encías Detox Sensitive Care Oral-B, Procter & Gamble (SnF₂ 1.100 ppm ion flúor), y de la compañía Glaxo Smith Kline: Sensodyne Alivio Rápido y Alivio Rápido Blanqueador (SnF₂ y NaF 1.427 ppm fluoruro); Sensodyne Complete Protection (SnF₂ 1.100 ppm fluoruro); Sensodyne Sensibilidad & encías y Sensibilidad & encías blanqueador (SnF₂ y NaF 1.427 ppm fluoruro).

c. Polímeros orgánicos

Otra estrategia para fortalecer la resistencia de los tejidos contra los ácidos consiste en la incorporación de polímeros orgánicos en los productos de higiene oral en combinación con fluoruro de estaño. Los polímeros actúan uniéndose a la superficie dental con la finalidad de formar una capa protectora contra los ácidos que producen DDE (69). Dentro de los más estudiados se encuentra el quitosán (70). El quitosán se presenta como

una cadena lineal de polisacárido y deriva de la quitina, presente de forma natural en conchas y exoesqueleto de crustáceos (71). Se ha observado entre un 68% - 100% de reducción del desgaste en ciclos erosivo-abrasivos al compararlo con un control negativo (71,72). La carga positiva del quitosán le permite interactuar electrostáticamente con la superficie del esmalte dental el cual tiene carga negativa. Esta interacción posibilita la formación de barreras protectoras en las superficies dentarias (73). Además, se ha observado que tiene la capacidad de aumentar la retención de estaño en el esmalte (70). Actualmente la pasta Opti-namel, Elmex, es la única disponible en el mercado europeo que integra formulaciones de fluoruro, estaño y quitosán al 0,5%, por lo que actualmente es usada como *gold standard* para el manejo y prevención de la erosión en Europa (74).

d. Otras preparaciones con fluoruros

Los fluoruros son una estrategia muy efectiva y *gold standard* para el control y remineralización de la caries dental, especialmente para pacientes con alto riesgo cariogénico. Para ellos se ha estudiado el concepto de Booster o Potenciador del efecto anticariogénico el que se refiere al uso de suplementos de fluoruros o libre de ellos, que tienen por objetivo potenciar el efecto benéfico de los fluoruros aplicados regularmente por medio de pastas dentales (75). No existen estudios donde se evalúe el efecto de un booster para potenciar el efecto de la pasta con fluoruro de estaño, para el manejo del DDE.

Otra formulación de fluoruros ampliamente utilizada para la prevención de la caries dental es el Fluoruro Diamino de Plata (FDP), el cual es una solución transparente que combina el efecto antibacteriano de la plata y remineralizante del flúor y es un agente con efecto para la prevención y detención de lesiones de caries (76). Se encuentra disponible en concentraciones entre un 12% - 38%. Se ha visto una protección frente a lesiones de caries en dientes temporales reduciendo la incidencia de caries entre un 65% - 80% en permanentes, y de un 77% más eficaz para detener una lesión de caries para dientes temporales y primer molar permanente (77–79). El componente fluoruro refuerza la estructura dental bajo ataque ácido disminuyendo su solubilidad y afectando al biofilm al ser bactericida de microorganismos que causan un desequilibrio local que desmineraliza los dientes.

Son escasas las publicaciones que estudian el efecto del FDP sobre los dientes con DDE. Un estudio *in vitro* mostró que el FDP al 38% puede prevenir en un 50% el DDE en dentina aplicado previo a ciclos erosivo-abrasivos utilizando pasta sin flúor (80). Otro estudio *in vitro* muestra que usar FDP reduce significativamente la pérdida de iones fosfato del esmalte al ser erosionado (81). Dentro de los estudios citados no se evalúa el efecto de la aplicación previa de una solución de flúor, que podría actuar como booster o potenciador del efecto del tratamiento *gold standard* (uso de pasta dental con formulación de fluoruro, estaño y quitosán (F/Sn/Ch0,5%)), para el manejo del DDE.

El uso del FDP es seguro y efectivo, disminuye aproximadamente el 80% la incidencia de las lesiones de caries; es eficiente ya que puede ser aplicado en menos de un minuto, oportuno, centrado en el paciente ya que es mínimamente invasivo e indoloro, equitativo en su aplicación ya que es efectiva y asequible (76). Sin embargo, se han reportado efectos adversos menores con su uso, como irritación gingival transitoria y sabor metálico en un número menor de participantes. Su principal efecto secundario es que al detener la lesión de caries esta se tiñe oscura debido a la precipitación de subproductos de plata, lo cual limita su uso en zonas estéticas y afecta la satisfacción de los padres cuando se utiliza en niños (76,82). Para resolver esta última problemática se desarrolló BlueRemin® (BR), que basa su formulación en flúor (24.000 ppm), cobre (70.000 ppm) y grafeno, reuniendo propiedades bactericidas, cariostáticas y remineralizantes sin acción cáustica sobre los tejidos gingivales y sin alterar la estética dentaria tras su aplicación. En estudios *in vitro* ha demostrado que posee capacidad remineralizadora de lesiones de caries artificialmente generadas (83,84).

La pregunta de investigación de este estudio es ¿Existen diferencias en la rugosidad superficial entre bloques de esmalte pre-tratados con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata comparado con bloques de esmalte no pre-tratados, luego de ser expuestos a ciclos de erosión-abrasión con pasta dental Opti-namel, Elmex, *in vitro*?

HIPÓTESIS

La rugosidad superficial es menor en bloques de esmalte pre-tratados con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata comparado con bloques de esmalte no pre-tratados, luego de ser expuestos a ciclos de erosión-abrasión con pasta dental Opti-namel, Elmex, *in vitro*.

OBJETIVO GENERAL

Establecer si la rugosidad superficial es menor entre bloques de esmalte pre-tratados con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata comparado con bloques de esmalte no pre-tratados, luego de ser expuestos a ciclos de erosión-abrasión con pasta dental Opti-namel, Elmex, *in vitro*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la rugosidad superficial en bloques de esmalte pre-tratados con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata y bloques no pre-tratados, expuestos a ciclos de erosión-abrasión con pasta dental Opti-namel, Elmex, *in vitro*.
2. Comparar rugosidad superficial entre los grupos pre-tratados y no pre-tratados.
3. Comparar rugosidad superficial entre las muestras pre-tratadas con BlueRemin® y las pre-tratadas con Fluoruro Diamino de Plata

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente es un estudio experimental *in vitro*, que consistió en la reproducción de un modelo de ciclos erosivo-abrasivos desarrollado previamente por Luka y col. (74).

Preparación de las muestras:

Se recolectaron 25 terceros molares sanos, extraídos por indicación de ortodoncia, incluidos, sin contacto con la cavidad bucal previo a la extracción, y se obtuvieron 52 muestras de esmalte humano.

Utilizando una lupa aumento x4 se observó que los molares estuvieran sanos determinando la ausencia de cracks, tinciones, fluorosis y que estuvieran libres de cualquier tipo de lesión. Luego, se limpiaron con ultrasonido y escobilla de profilaxis con agua y se mantuvieron en una solución de timol 0,1% (pH 7,0) a -18°C de temperatura hasta la realización del estudio, sin posibilidad de volver a ser asignado a su donador.

Se cortó la cara vestibular o palatina/lingual de cada diente con discos de carburundum utilizando baja velocidad hasta lograr bloques cuadrados de 4x4x3 mm. A continuación, usando un molde de silicona por adición consistencia putty super soft (President the original, Coltene/Whaledent AG) se embebieron individualmente en resina

acrílica de autocurado (ALIKE™, GC America Inc.). Luego, se pulieron superficialmente con lija de carburo de silicio de grano 180 (UXCell, Hong Kong, China) y discos de pulido 90, 40, 9 y 7 μm , (Sof-Lex™, 3M, Minnesota, Estados Unidos) hasta conseguir una superficie uniforme y lisa con una ventana expuesta de esmalte de 3x3 mm. Para eliminar los restos de limalla se limpiaron con agua destilada (Figura N°2).

Figura N°2: Muestra embebida en acrílico de autocurado y pulida



La superficie de cada muestra se dividió en 3 zonas iguales, tal como se grafica en la Figura N°3: una zona central experimental expuesta y dos zonas laterales no experimentales, las cuales fueron cubiertas con dos capas de barniz de uñas (Maybelline New York, L'Oréal USA, Inc.) durante toda la etapa experimental. Se mantuvieron a 4°C hasta el inicio de la etapa experimental sumergidas en saliva artificial, preparada de acuerdo con Gerrard y Winter (40), la cual contiene una concentración de minerales similar a la saliva (4,08 mM H_3PO_4 , 20,10 mM KCl , 11,90 mM Na_2CO_3 , y 1,98 mM CaCl_2 , pH 6,8 (todos los reactivos Merck, Darmstadt, Alemania)).

Figura N°3: División de las zonas experimentales y control por muestra

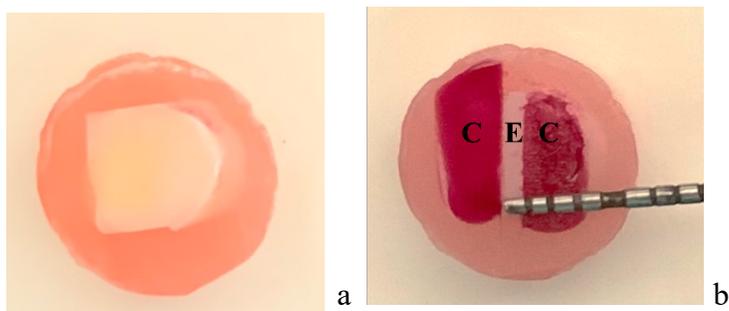


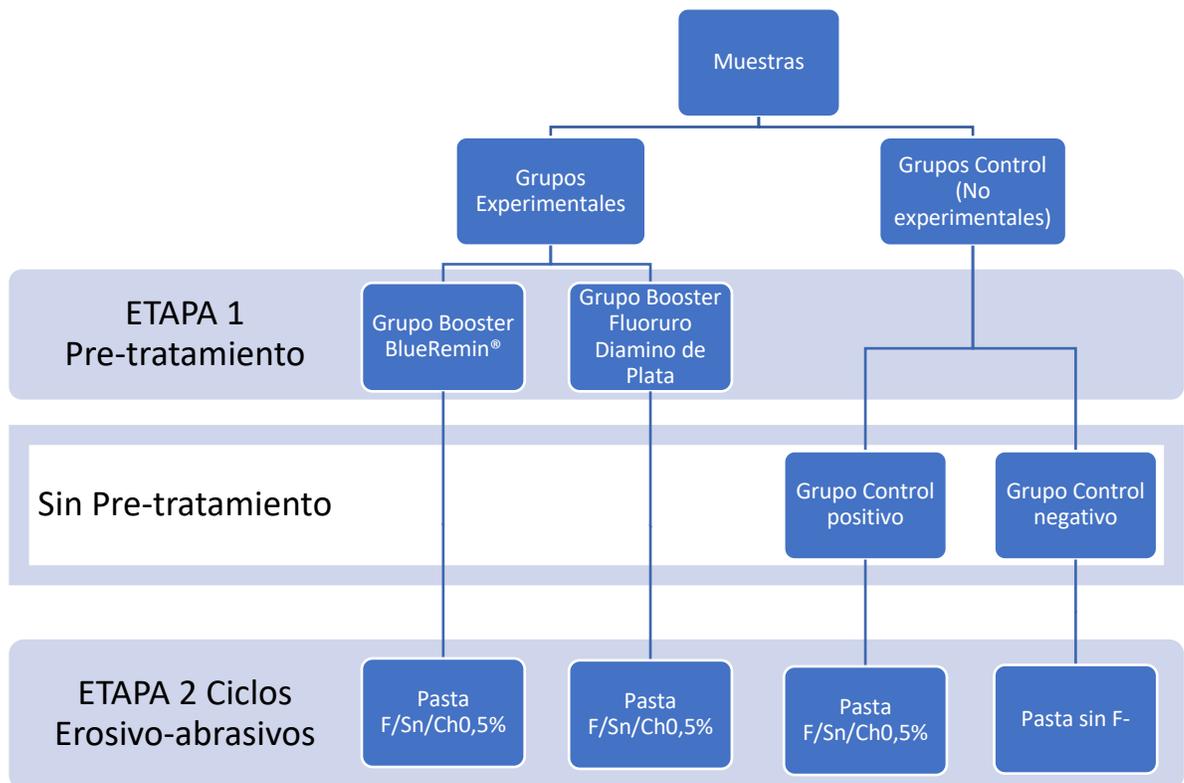
Figura 3-a: vista frontal de la superficie de la muestra embebida en acrílico y pulida, previo a la división de zonas. Figura 3-b: división de la superficie de la muestra: C: zona control no expuesta. E: zona experimental expuesta de ancho 1 mm medido con sonda periodontal Carolina del Norte

Las muestras ya preparadas fueron divididas aleatoriamente en dos grupos experimentales y dos grupos control con 13 muestras cada uno. El cálculo del tamaño muestral se realizó utilizando Granmo (Programa de Registre Gironí del Cor (REGICOR), IMIM, Barcelona) aceptando un riesgo alfa de 0,05 y un riesgo beta de 0,2 en un contraste unilateral, precisando así de 13 muestras en los grupos experimentales y 13 en los grupos control para detectar una diferencia igual o superior a 5 micrones. Se asume que la desviación estándar común es de 4,71 (Apéndice A: Resultados de Unidad de Investigación; datos contrastados con otro estudio (85)). Se ha estimado una tasa de pérdidas de seguimiento del 10%.

Fase de experimentación:

El estudio se llevó a cabo en dos etapas, tal y como se describe a continuación (Figura N°4):

Figura N°4: Distribución de muestras en grupos y etapas de experimentación



Distribución de las muestras en dos categorías principales: Grupos Experimentales y Grupos de Control (no Experimentales). Solamente los dos grupos experimentales fueron sometidos a la Etapa 1 de pre-tratamiento con un booster. Tanto los grupos experimentales y control fueron sometidos a la Etapa 2 de ciclos erosivo-abrasivos con pasta con F/Sn/Ch0,5% (Fluoruro, Estaño y Quitosán 0,5%), a excepción del grupo control negativo en el cual se utilizó pasta sin fluoruros ni quitosán.

Etapa 1: Las muestras experimentales se dividieron en dos grupos para realizar un tratamiento previo a los ciclos erosivo-abrasivos, de la siguiente manera:

1. **Booster BlueRemin (B-BR):** Sobre la superficie expuesta de las muestras se realizó una aplicación única de un booster de BlueRemin® (24.000 ppm fluoruro y 70.000 ppm ion cobre) con microbrush, durante un minuto que posteriormente fue retirado con agua destilada, según las indicaciones del fabricante (Figura N°5).

Figura N°5: Aplicación Booster de BlueRemin®



2. **Booster Fluoruro Diamino de Plata (B-FDP):** Sobre el área expuesta de las muestras se realizó una aplicación única de un booster de FDP al 38% (FAgamin®, Tedequim, Argentina, 44.800 ppm fluoruro y 253.870 ppm ion plata) con microbrush, durante un minuto y luego fue lavado con agua destilada, según las indicaciones del fabricante.

Grupos Control:

3. Control Negativo (CN): sin pre-tratamiento
4. Control Positivo (CP): sin pre-tratamiento

Posteriormente, todas las muestras fueron rotuladas según grupo asignándose un número a cada una y se mantuvieron en saliva artificial durante 24 horas hasta el inicio de la siguiente etapa.

Etapa 2 (Figura N°6): Para imitar las condiciones bucales durante el consumo de sustancias erosivas, todas las muestras se retiraron de la saliva artificial, se lavaron con agua destilada durante 30 segundos, se secaron suavemente con aire y fueron sometidas a seis ciclos diarios de desmineralización y remineralización, durante 10 días. Cada ciclo consistió en sumergir las muestras durante dos minutos en 30 mL de ácido cítrico al 0,5%, pH 2,4 (Oregon Chem Group, Chile), en baño termo regulado (HETO modelo TCVS-01, Dinamarca) con agitación constante en sentido horizontal (35 rpm/min) a temperatura ambiental (25°C). A continuación, se retiraron del ácido cítrico y se lavaron con agua destilada, se secaron con aire y se sumergieron en 30 mL de saliva artificial en baño termo regulado con los mismos parámetros utilizados anteriormente, durante una hora hasta el nuevo ciclo (Figura N°7).

Como parte del ciclo erosivo-abrasivo, las muestras fueron cepilladas dos veces al día, posterior a la primera y sexta desmineralización en ácido cítrico, durante 15 segundos en una máquina de cepillado automático (ZM-3; SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen - Westerham, Alemania) con un patrón lineal de movimiento, 200 gramos de fuerza, 10 mm de longitud de trayectoria y velocidad 60 mm/segundos, con un cepillo manual suave, (Orbis, Munster, Alemania) y sumergidas en el soporte de muestras con 10 mL de una dilución de pasta dental con agua destilada, denominada slurry (nombre predefinido en estudios en inglés) (17) (Figura N°8). Las muestras de los grupos B-BR, B-FDP y CP, fueron cepilladas sumergidas en un slurry fabricado con pasta dental Opti-namel (3.500 ppm Estaño, 700 ppm Fluoruro de Sodio, 700 ppm Fluoruro de amino y 0,5% quitosán, Elmex, Colgate Palmolive, Reino Unido). El grupo CN fue cepillado sumergido en un slurry realizado con una pasta dental sin flúor, Lavera Neutral Zahnger, (Lavera BmbH & Co.KG, Wennigsen, Alemania), utilizada en otros estudios previamente (74). Para preparar ambos slurries se utilizó una parte de pasta y tres partes de agua destilada, peso/peso (Figura N°9). Los slurries y las soluciones se renovaron al comienzo de cada día experimental y se controló el pH del ácido cítrico.

Para facilitar el proceso durante la segunda etapa de experimentación, las muestras se fijaron en parejas con adhesivo (Loctite Super Glue-3, Henkel, Alemania) en bloques planos Lego® que encajaban en el soporte de muestras de la máquina de cepillado. Esta

disposición garantizó que las muestras fueran cepilladas en una misma posición constante y evitó su desplazamiento durante proceso de cepillado (Figura N°10).

Figura N°6: Ciclos erosivo-abrasivos

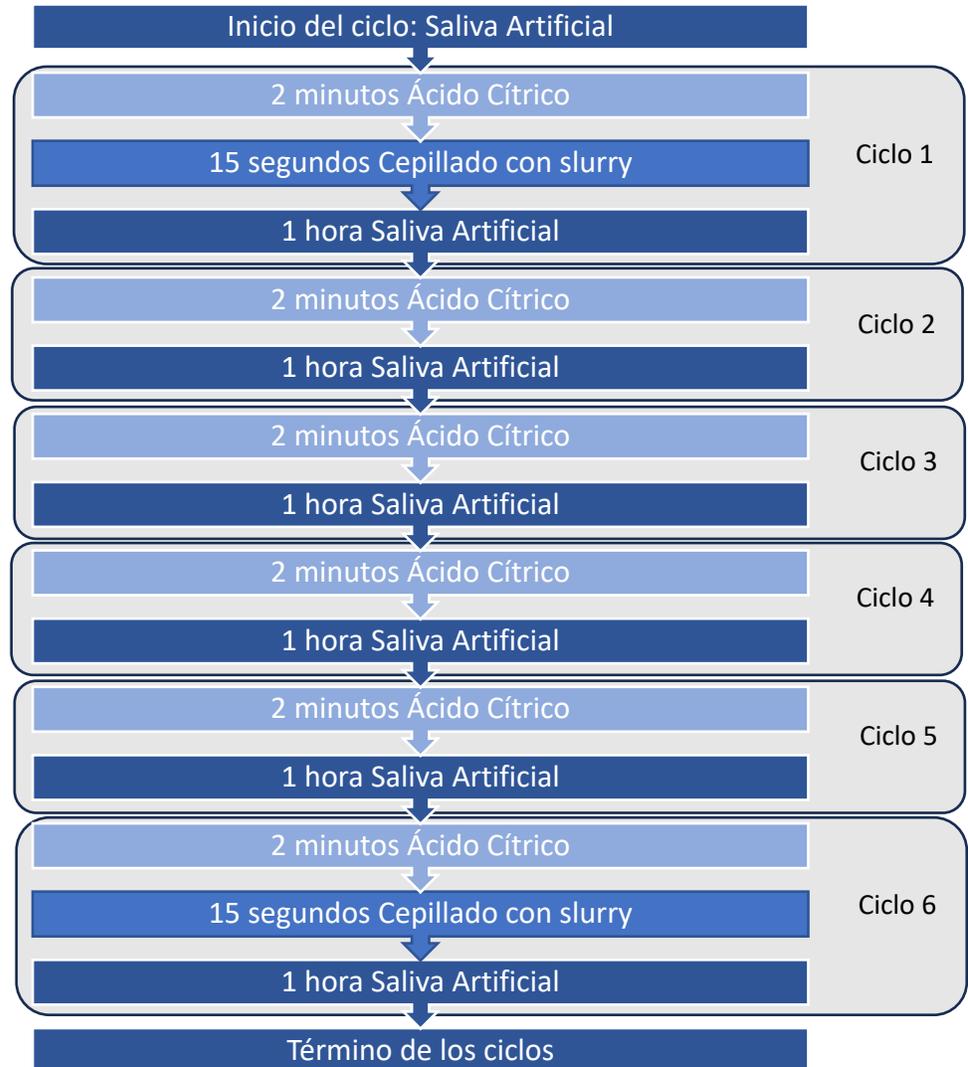


Ilustración de los 6 ciclos diarios erosivo-abrasivos. Cada ciclo consistió en inmersión de 2 minutos en ácido cítrico, seguido de 1 hora en saliva artificial. Además, de 2 cepillados diarios luego de la 1era y 6ta exposición a ácido cítrico

Figura N°7: Baño Termoregulado

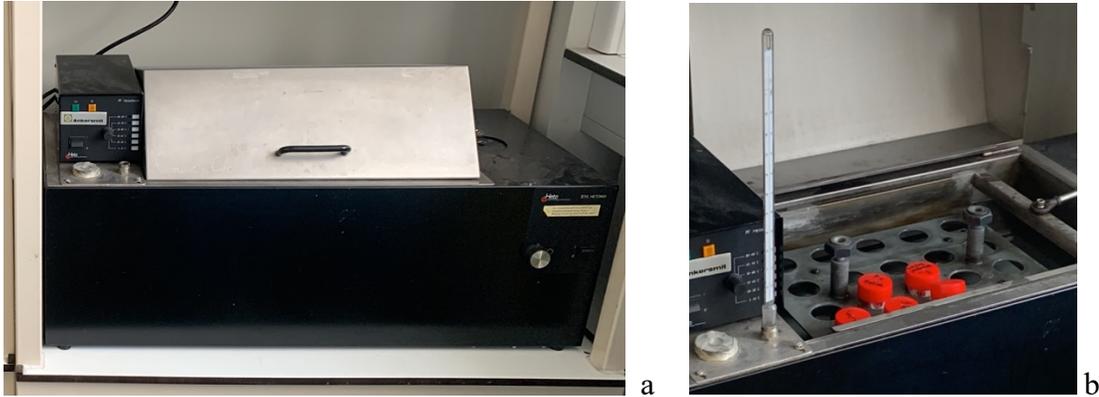


Figura 7-a: equipo de baño termoregulado. Figura 7-b: muestras posicionadas en tubos falcon sumergidas en su correspondiente etapa del ciclo, según los parámetros descritos.

Figura N°8: Máquina de cepillado automática



Cepillado de las muestras utilizando cepillos fijos a los soportes del cepillo ($n=8$). Los bloques dorados se utilizan para calibrar la presión aplicada durante el cepillado. En color naranja el soporte de las muestras con la muestra en su posición y sumergida en el slurry correspondiente

Figura N°9: Preparación de Slurries

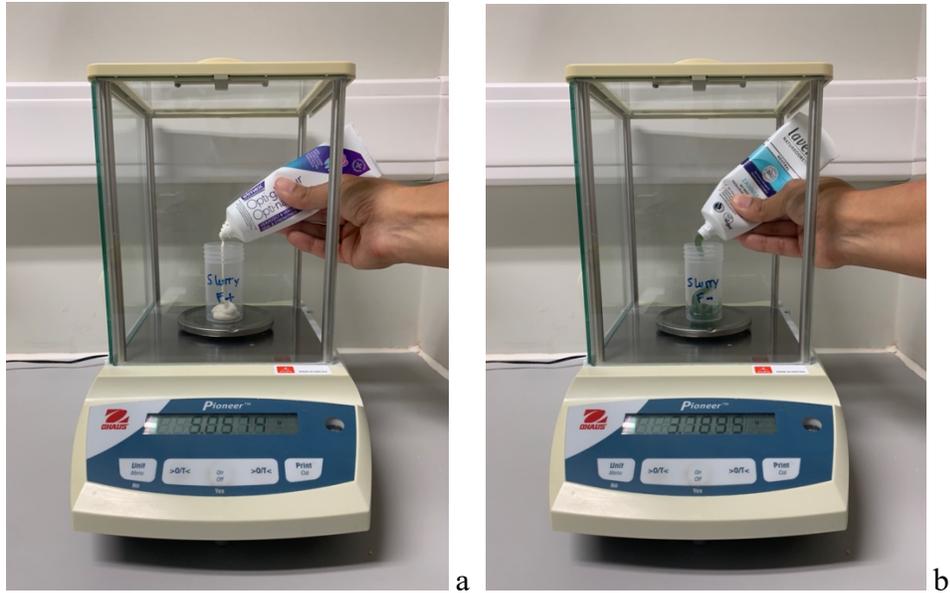
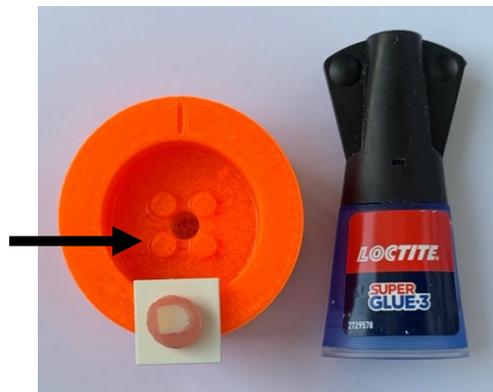


Figura 9-a preparación slurry de pasta Opti-namel (F/Sn/Ch0,5%), para los grupos experimentales y Control positivo. Figura 9-b preparación de slurry con pasta dental Lave sin fluoruros para el grupo Control negativo

Figura N°10: Fijación de la muestra en bloque para soporte



En color naranja: soporte de muestras de la máquina de cepillado automático, equipado con un acople (señalado por la flecha) para asegurar el bloque Lego®. En blanco, muestra adherida al bloque plano Lego®. Además, se observa Adhesivo utilizado para fijar las muestras

Una vez finalizado el periodo de experimentación, el esmalte de uñas de cada muestra se retiró con acetona dejando descubierta las zonas no expuestas y se analizó cuantitativamente la diferencia en la rugosidad superficial del tejido dentario de la zona experimental y control de cada muestra.

Perfilometría:

Se realizó análisis perfilométrico de todas las muestras utilizando un perfilómetro de contacto (Surftest SJ-310, Mitutoyo Corp, Japón) para evaluar la rugosidad superficial de las muestras, que da cuenta de la profundidad de la lesión erosiva definida en el perfil de la muestra cuantificando la diferencia vertical en la altura entre las zonas no expuestas con la zona expuesta (Figura N°11). Utilizando una aguja previamente calibrada, cuya punta mide 2 μ m de diámetro, se realizaron 3 recorridos al azar perpendiculares a la superficie de la muestra con una fuerza de 4 mN, en intervalos de 0,2 mm y de 2 mm de largo entre el área experimental y las dos áreas no expuestas y se obtuvo una media por cada muestra (86,87). Como variable cuantitativa, en cada recorrido se registró el valor del parámetro de rugosidad R_t el cual corresponde al valor de la distancia vertical entre el peak más alto de la superficie (ubicado en la zona control no experimental) y el valle más profundo (ubicado en la zona experimental) de todo el recorrido.

Todas las mediciones se realizaron utilizando los siguientes parámetros: temperatura ambiental, velocidad 0,5 mm/s, 2 mm de longitud libre de medición y cut-off de 0,25 mm. Para evitar posibles errores, la medición de la rugosidad superficial fue realizada por un solo operador. Las muestras se mantuvieron húmedas todo el tiempo hasta el momento de la lectura para prevenir la deshidratación del esmalte.

Figura N°11: Perfilómetro



Figura 11-a: Unidad de pantalla digital del equipo Perfilómetro. Figura 11-b detector sensible en forma de aguja analizando el perfil de la muestra entre áreas control y expuesta. La muestra está posicionada en una base porta micrómetro (en gris). Figura 11-c: Base de mármol trazador para realizar las mediciones, sobre ella trazador de altura mecánico que sostiene la Unidad del Detector que a su vez sostiene el detector.

Espectroscopía de Rayos-X por dispersión de energía y Microscopía electrónica de barrido:

Para evaluar cualitativamente la presencia de cambios estructurales, se seleccionaron al azar 8 muestras, dos de cada grupo en estudio, de las cuales 4 fueron

observadas superficialmente y las 4 muestras restantes se seccionaron transversalmente. Se observaron y analizaron utilizando microscopio electrónico de barrido (SEM) y espectroscopía de Rayos-X por dispersión de energía (EDX).

Para ambos análisis, EDX y SEM, las muestras se retiraron de la saliva artificial, se secaron y fueron metalizadas con una capa de oro de 10 nm utilizando un pulverizador catódico (Denton Vacuum Desk V, Estados Unidos; tiempo de pulverización: 120 segundos; amperaje: 45 mA) (Figura N°12). Las muestras fueron analizadas en un microscopio electrónico de barrido (Jeol modelo JSM-IT300 LV, Freising, Alemania) mediante la observación de electrones secundarios. Los análisis de EDX se obtuvieron mediante un detector de EDX (Oxford Instruments, Reino Unido), a través del software integrado Aztec. Todos los parámetros de adquisiciones se mantuvieron constantes (voltaje de aceleración de 20 kV, distancia de trabajo entre 8,8 y 11 mm, tiempo de exposición de 80 segundos). Se obtuvo un contenido relativo (porcentaje en peso, %) de los elementos calcio, fósforo, flúor, cobre, plata y estaño en las superficies.

Figura N°12: Metalizado de las muestras con oro



Muestras posicionadas por grupos en bandeja del pulverizador catódico luego del metalizado con oro

Análisis Estadístico

Se analizaron las medias del valor de R_t obtenidas como resultado de la perfilometría del total de las muestras. Se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para evaluar normalidad y se verificó que los datos no siguen una distribución normal. Para conocer si existen diferencias entre grupos se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y posteriormente, la corrección de Bonferroni para realizar comparaciones múltiples entre las medias de R_t y determinar exactamente cuáles grupos son diferentes entre sí.

RESULTADOS

Perfilometría

Los resultados de este estudio revelan que el grupo de Control negativo, sometido a desafíos erosivos y abrasivos utilizando pasta dental sin fluoruros, exhibió el valor más alto para la variable Rt, lo que indica la mayor rugosidad y más alta pérdida de tejido dentario medida en μm . A continuación, en orden descendente, se encuentran el grupo Booster Fluoruro Diamino de Plata, Booster BlueRemin y, por último, el grupo Control positivo, que mostró la menor pérdida de tejido (Tabla N°1 y Figura N°13).

Tabla N°1: Media y desviación estándar del parámetro Rt

Grupo	Media	DE
<i>Control negativo</i>	15,78	4,81
<i>Control positivo</i>	8,09	2,81
<i>Booster BR</i>	9,62	2,86
<i>Booster FDP</i>	11,32	3,95

Media por grupo \pm desviación estándar (DE) del valor de Rt que da cuenta de la pérdida de tejido cuantificado en μm . Control negativo: Ciclo erosivo-abrasivo sin F⁻. Control positivo: ciclo erosivo-abrasivo con F/Sn/Ch0,5%. Booster BR: ciclos erosivo-abrasivos con F/Sn/Ch0,5% y pretratamiento con BlueRemin®. Booster FDP: ciclos erosivo-abrasivos con F/Sn/Ch0,5% y pretratamiento con Fluoruro Diamino de Plata.

Figura N°13: Comparación de la profundidad de lesiones erosivas entre los diferentes grupos

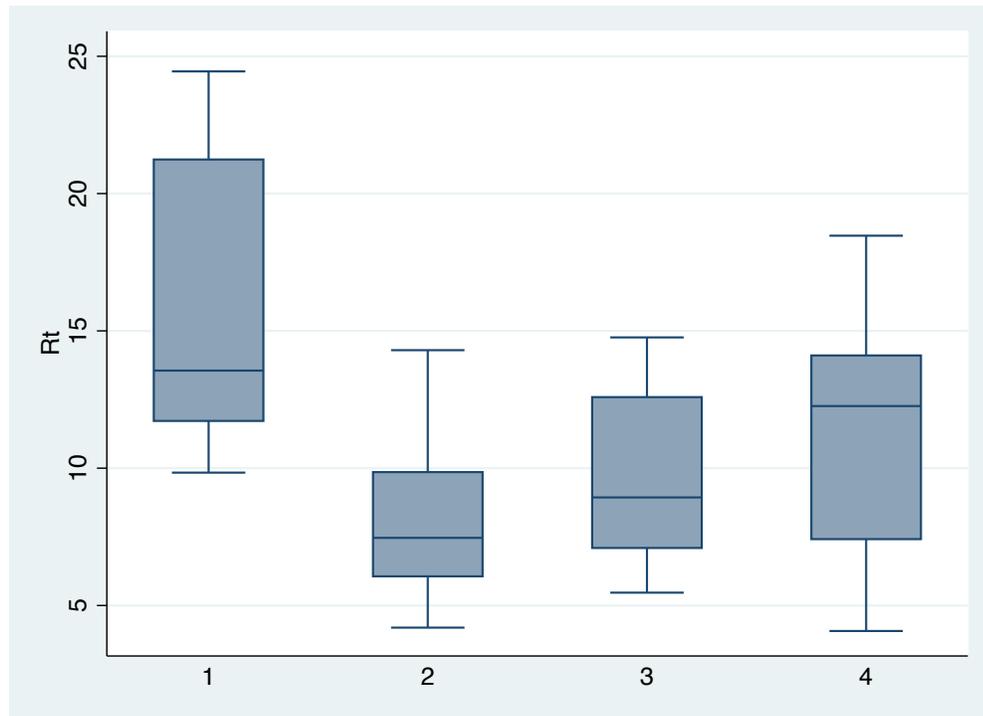
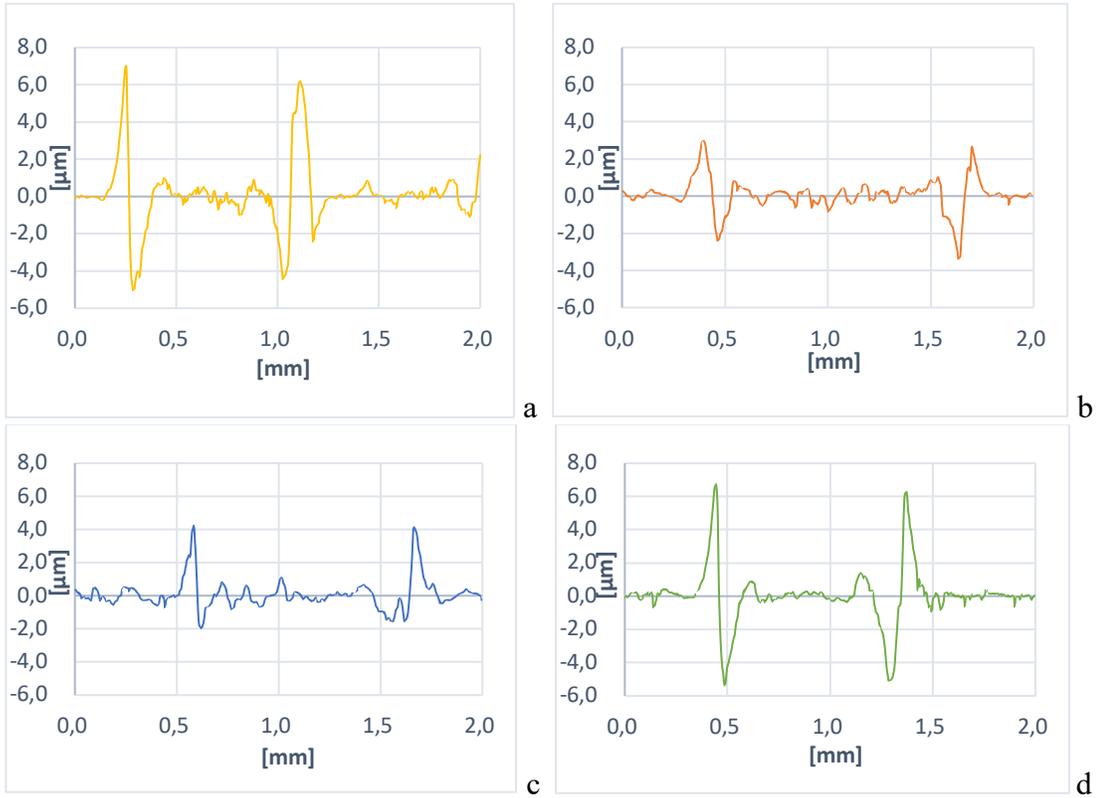


Diagrama de cajas y bigotes de la pérdida de tejido cuantificado en μm , utilizando el parámetro Rt. 1=Control negativo sin F^- ni $\text{Ch}0,5\%$. ; 2=Control positivo $\text{F}/\text{Sn}/\text{Ch}0,5\%$; 3=Booster BlueRemin + pasta $\text{F}/\text{Sn}/\text{Ch}0,5\%$; 4=Booster Fluoruro Diamino de Plata + pasta $\text{F}/\text{Sn}/\text{Ch}0,5\%$

En las Figuras N°14-a, b, c y d se presentan cuatro gráficos de rugosidad uno representativo de cada grupo estudiado. Cada gráfico refleja un escaneado topográfico realizado con perfilómetro de una muestra, el cual proporciona un valor correspondiente al parámetro de rugosidad Rt. En la Figura N°15 se aprecia la combinación de los cuatro gráficos de rugosidad, ajustados espacialmente en el eje horizontal con el propósito de

facilitar la comparación del patrón de rugosidad de los gráficos seleccionados. En general, se evidencia una similitud en la forma de los cuatro gráficos. Se observa que el gráfico del grupo Control negativo (amarillo) exhibe los valores de rugosidad más elevados, posicionándose en la región inferior del gráfico combinado que representa el incremento de la rugosidad, expresado en unidades de micrones. En contraste, el grupo Control positivo (anaranjado) exhibe los valores más bajos de rugosidad posicionándose en la parte superior del gráfico combinado que refleja menor rugosidad. Entre ambos grupos control se ubican los grupos Booster BlueRemin, más cercano al grupo Control positivo, y Booster Fluoruro Diamino de Plata, más cercano del grupo Control negativo.

Figuras N°14-a, b ,c ,d: Gráficos de Rugosidad



Gráficos de rugosidad representativos de un dato perteneciente a cada Grupo de estudio.

Figura 14-a: Control negativo. Figura 14-b: Control positivo. Figura 14-c: Booster BlueRemin. Figura 14-d: Booster Fluoruro Diamino de Plata. Eje x expresado en mm y eje y en micrones.

Figura N°15. Gráfico de líneas combinado de rugosidad

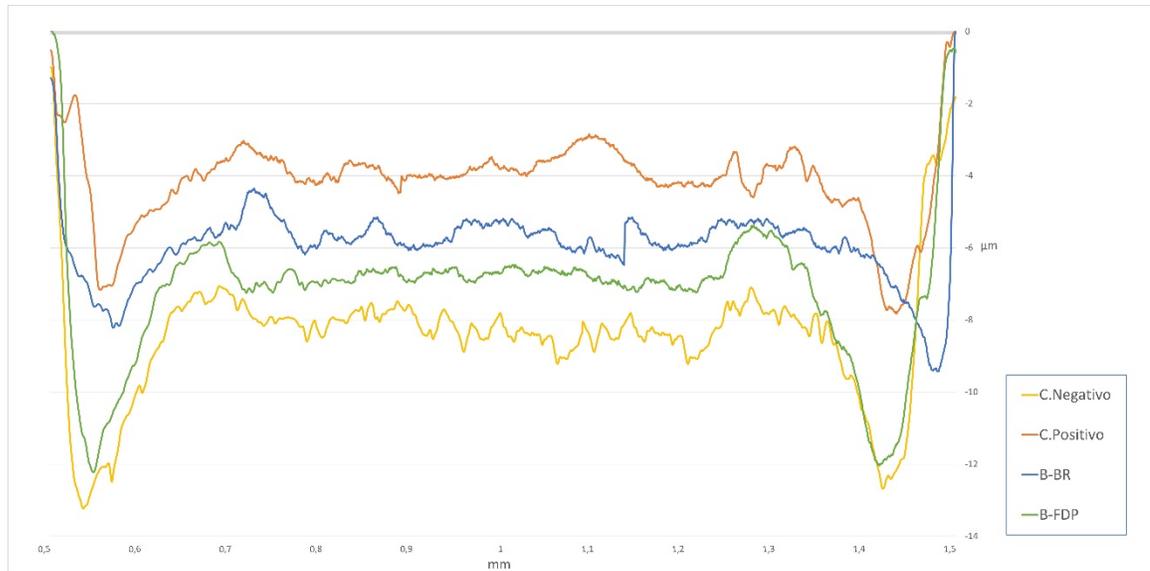


Gráfico de líneas combinado resultado de la superposición de los cuatro gráficos de perfilometría previamente descritos (Figuras N°14-a-b-c-d), ajustados para observar las variaciones entre grupos del área expuesta. Eje x expresado en milímetros ajustado para visualizar el área expuesta situada entre 0,5 y 1,5 mm. Las áreas control se han establecido en 0 en el eje y, expresado en micrones. Cada gráfico representa una medición perfilométrica con las siguientes designaciones de color: Control negativo: amarillo. Control positivo: anaranjado. Booster BlueRemin: azul. Booster Fluoruro Diamino de Plata: verde.

Existe una diferencia significativa ($p < 0,0001$) entre los grupos analizados en relación con la variable R_t . Se observan diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo Control negativo con los tres grupos restantes (Control positivo, Booster BlueRemin y Booster Fluoruro Diamino de Plata) ($p \leq 0,000$). Asimismo, se registran diferencias significativas entre el grupo Control positivo y el grupo Booster Fluoruro Diamino de Plata ($p \leq 0,001$). No existen diferencias estadísticamente significativas entre el

grupo Control positivo y el grupo Booster BlueRemin ($p=0,418$) ni entre el grupo Booster BlueRemin con el grupo Booster Fluoruro Diamino de Plata, ($p=0,265$) (Tabla N°2).

Estas diferencias fueron corroboradas mediante el uso de la prueba de Kruskal-Wallis seguida por la prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni

Tabla N°2: Diferencias en la media del parámetro Rt entre los cuatro grupos

<i>Grupo</i>	Control negativo	Control positivo	Booster BR
<i>Control positivo</i>	-7,69* ($p<0,000$)		
<i>Booster BR</i>	-6,159* ($p<0,000$)	1,531 ($p=0,418$)	
<i>Booster FDP</i>	4,459* ($p<0,000$)	3,232* ($p<0,001$)	1,7 ($p=0,265$)

Las diferencias significativas se presentan con * y se observan entre los Grupos: Control negativo y Control positivo, Control negativo y Booster BlueRemin, Control negativo y Booster Fluoruro Diamino de Plata, y Control positivo y Booster Fluoruro Diamino de Plata. No hay una diferencia significativa entre los Grupos Control positivo y Booster BlueRemin y Booster BlueRemin y Booster Fluoruro Diamino de Plata en esta variable.

Al analizar la distribución de datos según percentiles (Tabla N°3), se observa que en el grupo Control negativo las mediciones tienden a ser superiores en comparación con los otros grupos, para los percentiles 1, 50, 75 y 99%. Estos hallazgos refuerzan la existencia de diferencias significativas en la distribución de datos entre estos grupos. Además, en todos los percentiles, se aprecia que el Control positivo presenta los valores

más bajos de desgaste, seguido por el grupo Booster BlueRemin y el grupo Booster Fluoruro Diamino de Plata.

Tabla N°3: Distribución de datos del parámetro Rt en μm por Percentiles en el conjunto de muestras

<i>Percentile</i>	<i>Control negativo</i>	<i>Control positivo</i>	<i>B-BR</i>	<i>B- FDP</i>
1%	9,838	4,194	5,467	4,071
5%	10,022	4,394	5,481	4,924
10%	10,837	4,698	6,282	5,718
25%	11,72	6,061	7,093	7,415
50%	13,554	7,462	8,935	12,263
75%	21,241	9,856	12,587	14,105
90%	22,375	12,822	14,232	16,555
95%	24,279	13,717	14,55	17,301
99%	24,45	14,298	14,762	18,466

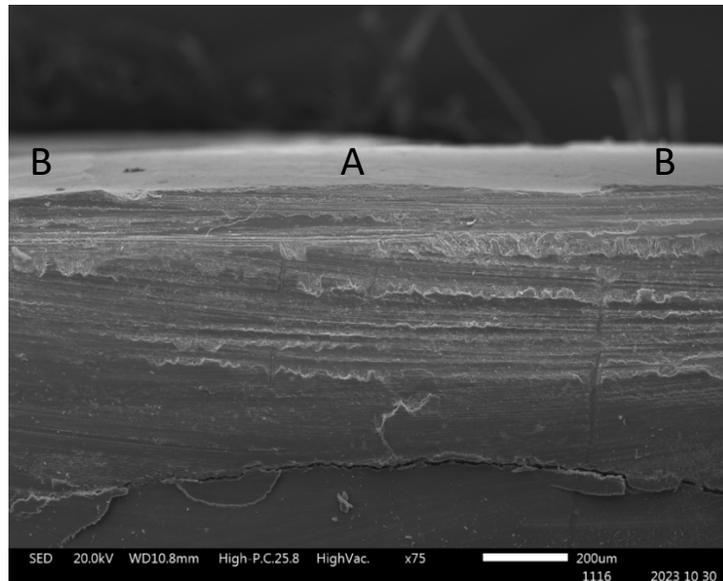
Distribución de datos según el acumulado en cada percentil para la variable profundidad de la lesión erosiva, valor Rt. Control negativo: Ciclo erosivo-abrasivo sin F⁻. Control positivo: ciclo erosivo-abrasivo con F/Sn/Ch0,5%. Booster BlueRemin: ciclos erosivo-abrasivos con F/Sn/Ch0,5% y pretratamiento con BlueRemin®. Booster Fluoruro Diamino de Plata: ciclos erosivo-abrasivos con F/Sn/Ch0,5% y pretratamiento con Fluoruro Diamino de Plata.

Microscopía Electrónica de Barrido

En los cortes transversales de todos los grupos se aprecia una diferencia en la altura entre las zonas no expuestas y la zona central expuesta a los ciclos erosivo-abrasivos (Figura N°16). En las muestras no seccionadas, se observa sobre la superficie de la zona

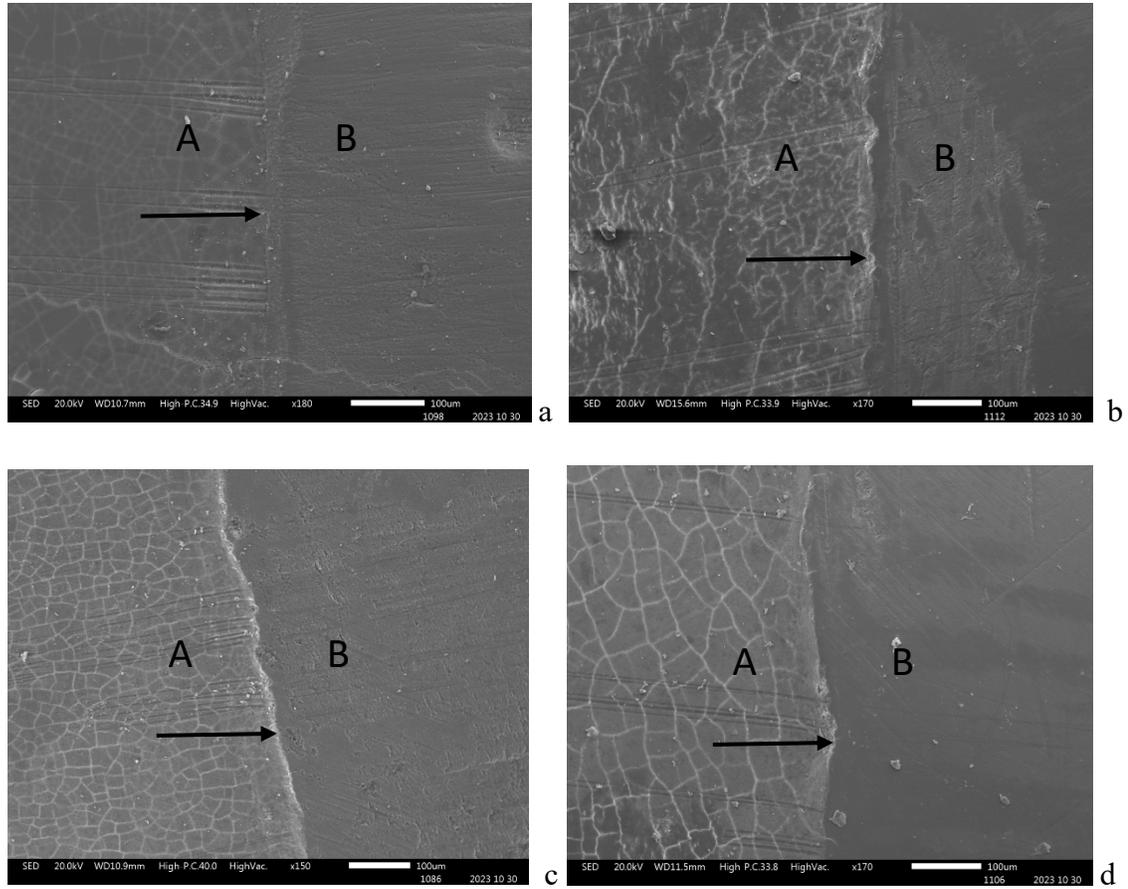
experimental un precipitado, posiblemente de pasta dental, barro de esmalte producido en el proceso de desmineralización y de las soluciones aplicadas como booster, en los cuatro grupos de estudio, sin diferencias cualitativas entre ellos (Figura N°17). Se observa, además, el registro de la punta del perfilómetro como huella de los recorridos realizados en cada muestra (Figura N°18).

Figura N°16: Identificación de la lesión erosiva en el perfil de la muestra



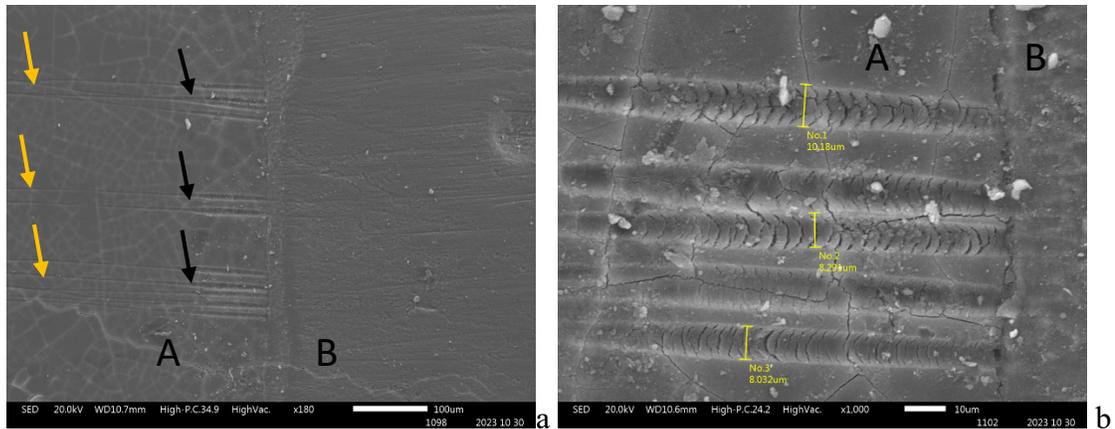
Corte transversal de la muestra vista en microscopio electrónico de barrido. A: lesión erosiva. B: zonas no expuestas de esmalte sano

Figura N°17: Superficie de las muestras



Microscopía electrónica de barrido de las superficies expuestas y no expuestas de las muestras. A: lesión erosiva cubierta con precipitado. B: zona no experimental de esmalte sano. Las flechas señalan el límite entre ambas zonas y representa la diferencia en la altura entre ambas. Figura 17-a: Grupo Control negativo. Figura 17-b: Grupo Control positivo. Figura 17-c: Booster BlueRemin y Figura 17-d: Booster Fluoruro Diamino de Plata

Figura N°18: Surcos de perfilometría



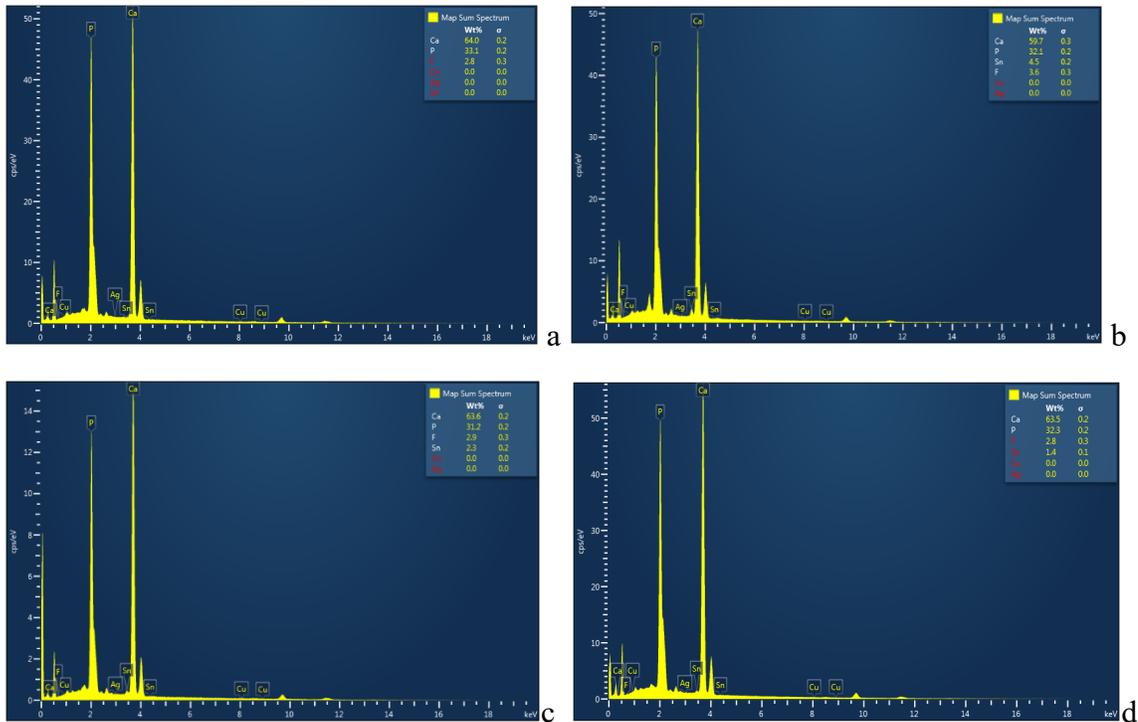
Superficie de la interfase entre la zona expuesta y no expuesta. A: lesión erosiva cubierta con precipitado. B: zona no experimental de esmalte sano. Figura 17-a: muestra de Control negativo con surcos generados por la medición del perfilómetro. Las flechas negras indican los trazados en la lesión erosiva, observándose que son más anchos en los micrones más cercanos al extremo con el esmalte sano y se vuelven más delgados hacia el centro de la muestra (flechas amarillas). Figura 18-b: aumento 1000x de los surcos de la perfilometría, los cuales tienen un ancho que oscila entre 8 y 10 micrones en las áreas más amplias.

Espectroscopía de Rayos-X por dispersión de energía

En todas las muestras se observa que los componentes en mayor proporción son calcio (60% - 64%) seguido de fósforo (31,2% - 33,1%). En el Control positivo se detectó 4,5% de estaño, observándose una mayor cantidad en la superficie y disminuyendo en profundidad. Se detectó un 3,6% de flúor de forma homogénea. El límite de detección del instrumento no logra registrar cobre ni plata. En el grupo Control negativo el límite de detección del instrumento no logra registrar flúor, cobre, plata ni estaño. En el grupo

Booster BlueRemin se detectó 2,3% de estaño y 2,9% de flúor. El límite de detección del instrumento no logra registrar cobre ni plata. En el grupo Booster Fluoruro Diamino de Plata se detectó 1,4% de estaño y 2,8% de flúor. No se logra detectar cobre ni plata (Figura N°19).

Figura N°19: Espectro EDX



EDX. Ca: calcio, P: fósforo, F: flúor, Sn: estaño, Cu: cobre y Ag: plata. En cada gráfico se observa el valor en porcentaje / peso de cada uno de los elementos estudiados. Figura 19-a: Grupo Control negativo; Figura 19-b: Grupo Control positivo; Figura 19-c: Booster BlueRemin y Figura 19-d: Booster Fluoruro Diamino de Plata

DISCUSIÓN

El propósito de este estudio fue observar la presencia de un posible efecto potenciador (booster) del efecto preventivo de la pasta dental utilizada como *gold standard* para el manejo del desgaste dental erosivo, utilizando dos agentes con comprobado efecto remineralizador y preventivo para caries dental BlueRemin® y Fluoruro Diamino de Plata, sobre muestras de esmalte humano sometidos a ciclos erosivo-abrasivos.

La metodología de este estudio se basa en la simulación de la exposición a ácidos provenientes de la dieta con alta frecuencia utilizando ácido cítrico a un pH bajo, similar al encontrado en alimentos de consumo frecuente, e higiene oral realizada dos veces al día con pasta dental y cepillo suave. Después de la aplicación de este modelo erosivo-abrasivo *in vitro* en muestras de esmalte humano, se evidencia la formación de lesiones erosivas en los cuatro grupos estudiados. Se observa que la media de la profundidad de estas lesiones es mayor en el grupo Control negativo ($15,78 \pm 4,81 \mu\text{m}$), en comparación con los otros tres grupos. Este hallazgo está en consonancia con los valores medios de profundidad en los grupos Control negativo de investigaciones previas que emplearon la misma metodología, como las realizadas por Pini y col. registrando una media de $13 \mu\text{m}$ (72); Schlueter y col., $12,1 \pm 3,5 \mu\text{m}$ (42); Ganss y col., $14,7 \mu\text{m}$ (88) y $20,2 \pm 3,8 \mu\text{m}$ (70); y Luka y col., $15,2 \pm 2,1 \mu\text{m}$. Cabe destacar que este último utilizó la misma pasta libre de flúor empleada en este estudio (74).

Al analizar la media de la profundidad del defecto erosivo en el grupo Control positivo ($8,09 \pm 2,81 \mu\text{m}$), expuesto a pasta dental con fluoruro, estaño y quitosán 0,5%, se aprecia una reducción de 48,73% en la profundidad de la lesión erosiva en comparación con el grupo Control negativo. Esta disminución se atribuye a la protección proporcionada por los componentes activos presentes en la pasta dental Opti-Namel sobre el esmalte humano, ampliamente estudiado (57,67,70,71). Estos resultados coinciden con las observaciones realizadas por Schlueter y col. quienes, utilizando la misma metodología, registraron una profundidad media de $6,6 \pm 3,5 \mu\text{m}$ en el grupo expuesto solo a una pasta con los mismos ingredientes activos que nuestro estudio, representando una reducción del 67,3% en la profundidad de la lesión erosiva (70). De manera similar, Ganss y col. obtuvieron un defecto medio de $7,7 \mu\text{m}$ lo que equivale a un 52,3% de reducción en la profundidad de la lesión erosiva utilizando la misma metodología y pasta con fluoruro, estaño y quitosán 0,5% (88). Además, Luka y col. evaluaron el efecto sobre esmalte humano utilizando una pasta sin fluoruros en conjunto con soluciones con fluoruro, estaño y quitosán 0,5% con 2 viscosidades experimentales: quitosán50 y quitosán500. Observaron que la profundidad media fue $6,9 \pm 2,0$ (45,3 % menos que el control negativo) y $6,0 \pm 2,0$ (39,4% menos que el control negativo) para quitosán50 y quitosán500, respectivamente (74).

La determinación del contenido de estaño mediante la técnica de EDX mostró ser coherente con lo reportado en la literatura. Como se esperaba, no se observó en el grupo

Control negativo, hecho respaldado por la evidencia en estudios previos (58,71). En el grupo Control positivo, la presencia de estaño se observó en el corte transversal a nivel superficial, con valores comparables a los hallazgos de Carvalho y col. (71). Estos valores disminuyeron hacia el interior, lo que coincide con otros estudios publicados que emplearon también modelos de ciclos erosivo-abrasivos, evaluados mediante EDX (58) y técnicas de ablación por láser (59).

Por último, en nuestro estudio se observó la presencia de un precipitado sobre la superficie expuesta utilizando SEM de los 4 grupos estudiados, de la misma forma en la que se evidencia en la literatura. Schlueter y col. observaron un precipitado amorfo de 500 nm con las mismas características morfológicas a lo observado en nuestro estudio (58).

La consistencia de los resultados observados en ambos grupos control, negativo y positivo, con investigaciones previas que emplearon el mismo modelo de ciclos erosivo-abrasivos, como el utilizado en nuestro estudio, confiere robustez y validez a la metodología empleada. Esta uniformidad en los hallazgos nos proporciona una base sólida para llevar a cabo comparaciones entre diferentes estudios de este tipo y para la interpretación más precisa de los efectos de los tratamientos evaluados en relación con la erosión y abrasión de los tejidos dentarios.

Con relación a los grupos experimentales, se estudió el efecto de BlueRemin® y Fluoruro Diamino de Plata al ser aplicados previos a los ciclos erosivo-abrasivo y usando pasta con fluoruro, estaño y quitosán. En cuanto al uso de la solución de BR, estudios han demostrado que tiene capacidad de remineralización similar al Flúor Silano y FDP, sobre bloques de esmalte y dentina humana previamente desmineralizados por medio de la aplicación de un modelo de biopelícula de *Streptococos mutans*, *in vitro* (83,84,89,90). En vista de lo anterior, en este estudio se evaluó si BR confiere un efecto potenciador del efecto preventivo contra el DDE que presenta la pasta dental con fluoruro, estaño y quitosán. Los resultados obtenidos revelan que no se detecta este efecto potenciador al ser aplicado sobre bloques de esmalte previo al uso de pasta dental Opti-namel, Elmex *in vitro* ya que no hay diferencias significativas entre la media en la profundidad en este grupo experimental y el grupo Control positivo.

Respecto a los vehículos de fluoruro, particularmente en forma de barnices o geles, se ha sugerido que la elevada concentración de este ion junto con una prolongada adherencia a las superficies dentales puede propiciar una mayor precipitación de CaF₂-like y, por ende, aumentar la protección, no obstante, es importante señalar que los productos con altas concentraciones de fluoruros podrían no ser seguros para su uso en casa, siendo más adecuados para aplicación profesional. Los estudios que investigan vehículos con altas concentraciones, generalmente los llevan a cabo con una única aplicación (91).

Carvalho y col. mostraron que el barniz fluorado libera fluoruros al ambiente y que una concentración alta de flúor no aumenta la formación de CaF_2 -like en la superficie del esmalte. Además, no promueve la remineralización ni previene el DDE ante futuras erosiones, de hecho, se sugiere que el aparente efecto protector del barniz puede deberse a la barrera mecánica producida por los restos de barniz (55). Contrariamente, una revisión sistemática con metaanálisis de estudios *in situ* sobre el efecto preventivo de DDE de los barnices de fluoruros en alta concentración realizada por Zanatta y col., compuesta por dos estudios, muestra que el uso de barnices de fluoruro de sodio con alto contenido de fluoruros tiene un efecto protector contra el DDE en modelos erosivo-abrasivos y solo erosivos *in situ* (68). En el primero de ellos, se concluyó que la aplicación de barnices y soluciones de NaF y tetrafluoruro de titanio (TiF_4) reducen un 25% el desgaste erosivo en comparación con un grupo control y placebo. Este efecto beneficioso se observó tanto en un modelo de erosión pura como en uno que combinaba erosión y abrasión, durante un periodo de cinco días, con cuatro desafíos erosivos y dos abrasivos diarios utilizando pasta sin flúor (92). El segundo estudio utilizó la misma metodología, y se observó una disminución entre 30% - 40% del desgaste erosivo utilizando un barniz de NaF a dos concentraciones (5% y 2,5%) y barniz de NaF al 2,5% reforzado con trimetafosfato de sodio, respectivamente, previo a la aplicación de un modelo de erosión pura y a uno que combinaba erosión y abrasión (93). Nuestros resultados con la solución de BR difieren de los hallazgos de estos estudios, probablemente debido a que ambos son estudios *in situ* y utilizaron saliva humana lo cual permite la formación de la película salival previo a los

desafíos erosivo-abrasivos, lo que puede tener un impacto en la reacción entre el fluoruro y la superficie dentaria, ya que las proteínas salivales y el fosfato pueden estabilizar el precipitado de fluoruro en el esmalte. En nuestro estudio se utilizó saliva artificial que considera solo la fase mineral de la saliva y no incluye proteínas. Además, mantuvieron el barniz en contacto con los bloques de esmalte durante 6 horas. Finalmente, el modelo erosivo-abrasivo aplicado en nuestro estudio considera un periodo de experimentación más extenso (10 días) y más desafíos erosivos diarios (seis) en contraposición a los estudios anteriores de cinco días y cuatro desafíos diarios.

En comparación con otras formulaciones, una revisión sistemática señala que los productos que incorporan fosfopéptido de caseína-fosfato de calcio amorfo (CCP-ACP) presentan resultados positivos en reducir el DDE, sin embargo, es relevante mencionar que estos estudios se realizaron en ratones y emplearon pasta dental con CCP-ACP y un modelo de ciclos erosivo-abrasivos (94). Un estudio *in vitro* realizado con dientes de bovino y modelo de ciclos erosivos puros de cinco días muestra que un barniz que contiene CCP-ACP y fluoruro de sodio al 1% - 8% tiene un efecto preventivo frente a la erosión ya que logró menores valores de microdureza superficial al compararlo con el control positivo (solo se aplica el modelo de ciclos erosivos) (95). En este mismo estudio, además, demostraron que dos barnices de flúor basados en fluoruro de sodio aplicados previo a modelo de ciclos erosivo de cinco días, también tienen efectos positivos para la prevención de la erosión (95). Otro estudio demostró que la aplicación previa de un barniz con CCP-

ACP a un único desafío erosivo con Coca Cola, previene la erosión de esmalte humano (96). Resultados similares fueron obtenidos por Al Saady y col. quienes demostraron un 75% de reducción de las lesiones erosivas luego de 10 ciclos erosivos utilizando slurry con pasta con CCP-ACP y Sn/F (97). La diferencia fundamental en los resultados obtenidos en estos estudios utilizando CCP-ACP con nuestro estudio, es que fueron realizados por periodos más cortos de tiempo, por tanto, menor cantidad de desafíos erosivos y no incluyen el componente abrasivo del cepillado con slurries, el cual genera más desgaste (44).

En una revisión sistemática y metaanálisis realizada por Lins y col. de estudios *in vitro*, se comparó la efectividad del TiF_4 y NaF en formato de solución y barniz, tanto en esmalte como en dentina, cuyos resultados indican que al aplicar TiF_4 como solución es más eficaz que NaF solo en esmalte, no así en dentina y no en su formato de barnices. En dentina no se observan diferencias significativas con ambos tipos de vehículos de fluoruros. La heterogeneidad entre estos estudios era alta (75-100%), lo que demuestra la diferencias en las metodologías de estos estudios *in vitro* (98)

Se debe considerar que algunos factores influyen en la eficacia de distintos vehículos de fluoruros contra la desmineralización tales como concentración de flúor, pH y frecuencia de aplicación (99).

En el contexto de este estudio, las formulaciones estudiadas como booster se caracterizaron por tener el mismo pH alcalino, cercano a 10, ser aplicadas ambas con la misma frecuencia de una ocasión durante un minuto, sin embargo, difieren en el contenido de fluoruros: BR contiene 24.000 ppm y FDP, 44.800 ppm de fluoruros. Dado que ambas soluciones se diferencian en el contenido de fluoruros, se podría esperar un efecto preventivo superior con FDP en comparación con BR, ya que el primero presenta un contenido mucho mayor. Sin embargo, en contraste con estas expectativas, se observó un aumento de un 17,7% en la media de profundidad de la lesión erosiva al aplicar previamente FDP en comparación con BR.

El efecto preventivo del FDP para caries dental está ampliamente reportado en la literatura (76,82,100,101). Sin embargo, la evidencia en relación con su efecto en el DDE es muy limitada. Nuestro estudio demostró que la aplicación de FDP no muestra un efecto preventivo del DDE cuando se complementa con el uso de una pasta dental con fluoruro, estaño y quitosán, al contrario, se produce un aumento de un 28,4% en la profundidad de la lesión erosiva comparado con el Control positivo (solo uso de pasta con fluoruro, estaño y quitosán). Estos resultados contrastan con lo reportado en un estudio realizado por da Cunha y col., quienes observaron que el FDP al 10% era eficaz en la prevención del DDE en esmalte debido a que luego de pretratar las muestras con FDP y realizar su inmersión en ácido cítrico al 1% y al 10%, se produce menor pérdida del elemento fósforo medido en la solución erosiva comparado con un control negativo y con muestras pre-tratadas con NaF

2% (81). Estas diferencias pueden explicarse ya que, a diferencia de nuestro estudio, no se llevó a cabo un modelo de ciclos erosivos y tampoco se incluyó un componente abrasivo. Además, si bien se observó que el contenido de fósforo en la solución erosiva era menor en las muestras pre-tratadas con FDP, no se observaron diferencias en el contenido de calcio en la solución de las muestras pre-tratadas con ambos agentes fluorurados, siendo este último elemento de gran importancia en los procesos de desmineralización (51,52). No obstante, otro estudio realizado por Ainoosah y col. (80) muestra resultados similares al presente estudio demostrando que el FDP no previene el DDE en esmalte luego de ser aplicado sobre muestras de esmalte y sometidas a ciclos erosivo-abrasivos. Sin embargo, al ser sometido solo a ciclos erosivos puros, sin abrasión, se registró un efecto preventivo estadísticamente significativo. Estos resultados podrían indicar que el FDP posee un efecto abrasivo importante sobre el esmalte dental, similar a lo observado en el presente estudio, del cual no hay evidencia en la literatura.

Cabe destacar que este estudio se realizó siguiendo un protocolo metodológico que cumple con estándares actuales ampliamente respaldado por la literatura científica, el cual, al ser aplicado condujo a la generación de lesiones erosivas de mayor magnitud para el caso de las muestras cepilladas con pasta sin fluoruros y de menor magnitud para aquellas cepilladas utilizando pasta con fluoruros, estaño y quitosán. La metodología se mantuvo consistente con la utilizada en la mayor parte de los estudios previos publicados, incluyendo el uso de muestras de esmalte proveniente de dientes humanos, mismos tiempos

de experimentación, reactivos, máquina de cepillado automática, pastas con y sin fluoruros, baño termoregulado y cepillos suaves, y no se presentaron inconvenientes durante su desarrollo, contribuyendo a la consistencia en los resultados.

Una limitación de los estudios *in vitro* es que no se puede replicar completamente las condiciones reales presentes en la cavidad bucal, lo que limita su aplicabilidad a situaciones en la vida real. Además, en relación con el esmalte dental, debe mencionarse que el comportamiento de disolución de los precipitados en la superficie podría estar influenciado por la presencia de la película adquirida y la saliva bajo condiciones *in vitro/in situ* (104), por lo que los resultados de este estudio deben considerar la naturaleza de la metodología empleada *in vitro* y ser interpretados con precaución.

Es importante tener en cuenta que el perfilómetro de contacto utilizado en este estudio para la medición de la profundidad de las lesiones erosivas, produce un daño de la muestra al entrar en contacto con las superficies observada utilizando SEM, principalmente de la lesión erosiva, la cual es más susceptible al efecto mecánico de la punta del perfilómetro debido a la desmineralización superficial de esta zona, especialmente en los micrones más cercanos a los límites de la lesión, donde los surcos creados por el perfilómetro son más pronunciados. En el esmalte sano apenas se observan estos surcos. Estudios *in vitro* han demostrado que la microdureza superficial del esmalte dental disminuye luego de un desafío erosivo y, dependiendo de las propiedades químicas de la

solución erosiva (tipo de ácido, pH, capacidad búfer, minerales, viscosidad), esta disminución será de mayor o menor magnitud (14,102,103).

Es relevante señalar que a pesar de que BlueRemin® no potencia el efecto preventivo del desgaste erosivo de la pasta dental con fluoruro, estaño y quitosán, tampoco se revela como un agente abrasivo, sin embargo, el FDP demostró ser más abrasivo sobre el esmalte dental que BR y la pasta Opti-namel, bajo las mismas condiciones de estudio. Por lo tanto, la implicancia clínica fundamental de este estudio es que BR puede seguir siendo una opción válida y segura para la prevención y remineralización de lesiones de caries sin efecto abrasivo secundario significativo sobre el esmalte dental.

A la luz de los resultados de este estudio sería de interés poder investigar el efecto de aumentar la frecuencia en las aplicaciones del producto BR en menores concentraciones en contraposición a su formato de aplicación única con alto contenido de fluoruros y cobre.

Además, sería interesante comparar la efectividad en la prevención del desgaste erosivo de la pasta *gold standard* en Europa con las pastas con fluoruros y estaño disponibles en el mercado chileno, ya que en la actualidad no se encuentra a la venta productos que contengan los 3 ingredientes, fluoruros, estaño y quitosán, en Chile.

CONCLUSIONES

La rugosidad superficial es menor en bloques de esmalte humano pre-tratados con BlueRemin® o Fluoruro Diamino de Plata, previo a la exposición a ciclos de erosión-abrasión con pasta Opti-namel, Elmex, comparado con bloques de esmalte no pre-tratados, expuestos a ciclos de erosión-abrasión con pasta sin fluoruro, estaño ni quitosán, *in vitro*.

No hubo diferencias en los valores de rugosidad superficial entre bloques pre-tratados con BlueRemin® y bloques no pre-tratados, luego de ser expuestos a ciclos de erosión-abrasión con pasta dental dental Opti-namel.

La rugosidad superficial de bloques pre-tratados con Fluoruro Diamino de Plata fue mayor en comparación con bloques no pre-tratados, luego de ser expuestos a ciclos de erosión-abrasión con pasta dental dental Opti-namel.

No se observaron diferencias entre los valores de rugosidad superficial en muestras pre-tratadas con BlueRemin® comparado con muestras pre-tratadas con Fluoruro Diamino de Plata luego de la exposición a ciclos de erosión-abrasión con pasta Opti-namel, Elmex.

La rugosidad superficial de las muestras no pre-tratadas y cepilladas con pasta Opti-namel, Elmex, fue menor en comparación con aquellas cepilladas con pasta sin fluoruros, estaño y quitosán.

DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores reconocen la existencia de posibles conflictos de interés derivados de su participación como co-creadores y poseedores de la patente en Chile, Estados Unidos, España y Europa de BlueRemin®, elemento de estudio en esta investigación (número de publicación internacional WO 2018/090156 A1).

Los autores comprenden la importancia de divulgar estos conflictos potenciales y aseguran que todos los esfuerzos han sido realizados para llevar a cabo este estudio de manera objetiva y transparente. La investigación se ha conducido de forma independiente, y los resultados se presentan con la máxima imparcialidad posible.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schlueter N, Amaechi BT, Bartlett D, Buzalaf MAR, Carvalho TS, Ganss C, et al. Terminology of Erosive Tooth Wear: Consensus Report of a Workshop Organized by the ORCA and the Cariology Research Group of the IADR. Vol. 54, Caries Research. 2020;54(1):2-6.
2. Ganss C. Is erosive tooth wear an oral disease? Monographs in Oral Science. 2014;25:16-21.
3. Shellis RP, Addy M. The interactions between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. Monographs in Oral Science. 2014;25:32-45.
4. Kanzow P, Wegehaupt FJ, Attin T, Wiegand A. Etiology and pathogenesis of dental erosion. Quintessence Int. 2016;47(4):275-278.
5. Kalsi H, Khan A, Bomfim D, Tsakos G, McDonald A V., Rodriguez JM. Quality of life and other psychological factors in patients with tooth wear. Br Dent J. 2021; 231(1):1-5
6. Al Omiri M, Lamey P, Clifford T. Impact of tooth wear on daily living. Int J Prosthodont 2006;19:601-605.
7. Sterenborg BMM, Bronkhorst EM, Wetselaar P, Lobbezoo F, Loomans BAC, Huysmans MCDNJM. The influence of management of tooth wear on oral health-related quality of life. Clin Oral Investig. 2018;22(7):2567-2573.
8. O'Toole S, Pennington M, Varma S, Bartlett DW. The treatment need and associated cost of erosive tooth wear rehabilitation—a service evaluation within an NHS dental hospital. Br Dent J. 2018;224(12):957-961.
9. Peutzfeldt A, Jaeggi T, Lussi A. Restorative therapy of erosive lesions. Monographs in Oral Science 2014;25:253-261.
10. Carvalho TS, Colon P, Ganss C, Huysmans MC, Lussi A, Schlueter N, et al. Consensus report of the European Federation of Conservative Dentistry: erosive tooth wear—diagnosis and management. Clin Oral Investig. 2015;19(7): 342-346.
11. Huysmans MCDNJ, Chew HP, Ellwood RP. Clinical studies of dental erosion and erosive wear. Caries Res. 2011;45(Suppl. 1):60-68.

12. Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Research*. 2004;38 (Suppl 1):34-44.
13. Wiegand A, Attin T. Occupational dental erosion from exposure to acids - A review. *Occupational Medicine*. 2007;57(3):169-176.
14. Lussi A, Megert B, Shellis P. The erosive effect of various drinks, foods, stimulants, medications and mouthwashes on human tooth enamel. *Swiss Dent J*. 2023;133(7–8):440-455.
15. Johansson AK, Lingström P, Birkhed D. Comparison of factors potentially related to the occurrence of dental erosion in high- and low-erosion groups. *Eur J Oral Sci*. 2002;110(3):204-211.
16. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM. Factors influencing the development of dental erosion in vitro: Enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil*. 1999;26(8):624-630.
17. Saads Carvalho T, Lussi A. Chapter 9: Acidic beverages and foods associated with dental erosion and erosive tooth wear. *Monographs in Oral Science*. 2020;28:91-98.
18. Popkin BM, Hawkes C. Sweetening of the global diet, particularly beverages: Patterns, trends, and policy responses. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. 2016;4(2):174-186.
19. Moazzez R a., Bartlett D. Intrinsic Causes of Erosion. *Monographs in Oral Science*. 2014;25:180-96.
20. Uhlen MM, Tveit AB, Refsholt Stenhagen K, Mulic A. Self-induced vomiting and dental erosion - a clinical study. *BMC Oral Health*. 2014;14(1):92-98.
21. Wilder-Smith CH, Materna A, Martig L, Lussi A. Gastro-oesophageal reflux is common in oligosymptomatic patients with dental erosion: A pH-impedance and endoscopic study. *United European Gastroenterol J*. 2015;3(2):174-181.
22. Alaraudanjoki V, Laitala ML, Tjäderhane L, Pesonen P, Lussi A, Ronkainen J, et al. Influence of Intrinsic Factors on Erosive Tooth Wear in a Large-Scale Epidemiological Study. *Caries Res*. 2016;50(5):508-516.
23. Robb ND, Smith BG. Prevalence of pathological tooth wear in patients with chronic alcoholism. *Br Dent J*. 1990;169(11):367-369.

24. Ramirez V, Lussi A, Freitte MLM, Vasquez P, Aránguiz V. Relationship between intrinsic and extrinsic factors with Erosive Tooth Wear in adults: a cross-sectional study. *Braz Oral Res.* 2022;36:1-8.
25. Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: A Multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monographs in Oral Science.* 2014;25:1-15.
26. Hara AT, Zero DT. The Potential of Saliva in Protecting against Dental Erosion. *Monographs in Oral Science.* 2014;25:197-205.
27. Tenovuo J. Salivary parameters of relevance for assessing caries activity in individuals and populations. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1997;25(1):82-89.
28. Hobdell MH, Oliveira ER, Bautista R, Myburgh NG, Lalloo R, Narendran S, et al. Oral diseases and socio-economic status (SES). *Br Dent J.* 2003;194(2):91-96.
29. Entezami S, Peres KG, Li H, Albarki Z, Hijazi M, Ahmed KE. Tooth wear and socioeconomic status in childhood and adulthood: Findings from a systematic review and meta-analysis of observational studies. Vol. 115, *Journal of Dentistry.* 2021;115:1-9.
30. Ahmed KE, Murray CA, Whitters CJ. A prospective survey of secondary care tooth wear referrals: Demographics, reasons for concern and referral outcomes. Vol. 216, *British Dental Journal.* 2014;216:1-5.
31. Lussi A. Erosive tooth wear - a multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monographs in Oral Science.* 2006;20:1-8.
32. Bartlett D, O'Toole S. Tooth Wear: Best Evidence Consensus Statement. *Journal of Prosthodontics.* 2021;30(S1):20-25.
33. Marró ML, Aránguiz V, Ramirez V, Lussi A. Prevalence of erosive tooth wear in Chilean adults, 2016: A cross-sectional study. *J Oral Rehabil.* 2020;47(4):467-472.
34. Salas MMS, Nascimento GG, Huysmans MC, Demarco FF. Estimated prevalence of erosive tooth wear in permanent teeth of children and adolescents: An epidemiological systematic review and meta-regression analysis. *Journal of Dentistry.* 2015;43:42-50.
35. Yip K, Lam PPY, Yiu CKY. Prevalence and Associated Factors of Erosive Tooth Wear among Preschool Children—A Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 10, *Healthcare (Switzerland).* 2022;10(3):491-512.

36. Lussi A, Carvalho TS. Erosive tooth wear: A Multifactorial condition of growing concern and increasing knowledge. *Monographs in Oral Science*. 2014;25:1-15.
37. O'Toole S, Marro F, Loomans BAC, Mehta SB. Monitoring of erosive tooth wear: what to use and when to use it. *Br Dent J*. 2023;234(6):463-467.
38. West NX, Davies M, Amaechi BT. In vitro and in situ erosion models for evaluating tooth substance loss. *Caries Res*. 2011;45(Suppl. 1):43-52.
39. Mistry M, Zhu S, Moazzez R, Donaldson N, Bartlett DW. Effect of model variables on in vitro erosion. *Caries Res*. 2015;49(5):508-514.
40. Gerrard WA, Winter PJ. Evaluation of toothpastes by their ability to assist rehardening of enamel in vitro. *Caries Res*. 1986;20(3):209-216.
41. Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A. Methodology and models in erosion research: Discussion and conclusions. *Caries Res*. 2011;45(Suppl. 1):69-77.
42. Schlueter N, Lussi A, Tolle A, Ganss C. Effects of Erosion Protocol Design on Erosion/Abrasion Study Outcome and on Active Agent (NaF and SnF2) Efficacy. *Caries Res*. 2016;50(2):170-179.
43. Young A, Tenuta LMA. Initial erosion models. *Caries Res*. 2011;45(Suppl. 1):33-42.
44. Wiegand A, Attin T. Design of erosion/abrasion studies - Insights and rational concepts. *Caries Res*. 2011;45(Suppl. 1):53-59.
45. Ganss C, Schlueter N, Preiss S, Klimek J. Tooth brushing habits in uninstructed adults – Frequency, technique, duration and 64orcé. *Clin Oral Investig*. 2009;13(2):203-208.
46. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res*. 2011;45(Suppl. 1):13-23.
47. Roque-Torres GD, Kwon SR, Oyoyo U, Li Y. Measurement of erosion depth using microcomputed tomography and light microscopy. *Microsc Res Tech*. 2020;83(12):1450-1455.
48. Johansson AK, Omar R, Carlsson GE, Johansson A. Dental erosion and its growing importance in clinical practice: From past to present. *International Journal of Dentistry*. 2012;2012:1-17.

49. Faller R v., Eversole SL. Protective effects of SnF₂ - Part III. Mechanism of barrier layer attachment. *Int Dent J.* 2014;64 (Suppl 1):16-21.
50. Weatherell JA, Deutsch D, Robinson C, Hallsworth AS. Assimilation of fluoride by enamel throughout the life of the tooth. *Caries Res.* 1977;11(Suppl 1):85-115.
51. Lussi A, Hellwig E, Klimek J. Fluorides - mode of action and recommendations for use. *Schweiz Monatssch Zahnmed* 2012;122(11):1030-1042.
52. Tenuta LMA, Cerezetti R V., Del Bel Cury AA, Tabchoury CPM, Cury JA. Fluoride release from CaF₂ and enamel demineralization. *J Dent Res.* 2008;87(11):1032-1036.
53. Lussi A, Carvalho TS. The future of fluorides and other protective agents in erosion prevention. In: *Caries Research.* 2015;49(Suppl 1):18-29.
54. Lussi A, Buzalaf MAR, Duangthip D, Anttonen V, Ganss C, João-Souza SH, et al. The use of fluoride for the prevention of dental erosion and erosive tooth wear in children and adolescents. *European Archives of Paediatric Dentistry.* 2019;20(6):517-527.
55. Carvalho TS, Bönecker M, Altenburger MJ, Buzalaf MAR, Sampaio FC, Lussi A. Fluoride varnishes containing calcium glycerophosphate: fluoride uptake and the effect on in vitro enamel 65rosión. *Clin Oral Investig.* 2015;19(6):1429-1436.
56. Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *Journal of the American Dental Association.* 2000;131(7):887-899.
57. West NX, He T, Zou Y, DiGennaro J, Biesbrock A, Davies M. Bioavailable gluconate chelated stannous fluoride toothpaste meta-analyses: Effects on dentine hypersensitivity and enamel erosion. *Journal of Dentistry.* 2021;105:1-10.
58. Schlueter N, Hardt M, Lussi A, Engelmann F, Klimek J, Ganss C. Tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel: An in vitro tin-uptake, tissue-loss, and scanning electron micrograph study. *Eur J Oral Sci.* 2009;117(4):427-434.
59. Khambe D, Eversole SL, Mills T, Faller R V. Protective effects of SnF₂ – Part II. Deposition and retention on pellicle-coated enamel. *Int Dent J.* 2014;64 (Suppl 1):11-15
60. Ganss C, Schlueter N, Hardt M, Schattenberg P, Klimek J. Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro: A comparison of amine, sodium and stannous fluoride. *Caries Res.* 2008;42(1)2-7.

61. Schlueter N, Klimek J, Ganss C. Effect of stannous and fluoride concentration in a mouth rinse on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Arch Oral Biol.* 2009;54(5):432-436.
62. Lorenz K, Noack B, Herrmann N, Hoffmann T. Tooth staining potential of experimental amine fluoride/stannous fluoride mouth rinse formulations—a randomized crossover forced staining study. *Clin Oral Investig.* 2015;19(5):1039-1045.
63. Ganss C, Schulze K, Schlueter N. Toothpaste and erosion. *Monogr Oral Sci.* 2013;23:88-99.
64. Baig AA, Faller R v., Yan J, Ji N, Lawless M, Eversole SL. Protective effects of SnF₂ - Part I. Mineral solubilisation studies on powdered apatite. *Int Dent J.* 2014;64 (Suppl 1):4-10.
65. Fiorillo L, Cervino G, Herford AS, Laino L, Cicciù M. Stannous fluoride effects on enamel: A systematic review. *Biomimetics.* 2020;5(3):41.
66. Schlueter N, Duran A, Klimek J, Ganss C. Investigation of the effect of various fluoride compounds and preparations thereof on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Caries Res.* 2009;43(1):10-16.
67. Huysmans MCDNJM, Jager DHJ, Ruben JL, Unk DEMF, Klijn CPAH, Vieira AM. Reduction of erosive wear in situ by stannous fluoride-containing toothpaste. *Caries Res.* 2011;45(6):518-523.
68. Zanatta RF, Caneppele TMF, Scaramucci T, El Dib R, Maia LC, Ferreira DMTP, et al. Protective effect of fluorides on erosion and erosion/abrasion in enamel: a systematic review and meta-analysis of randomized in situ trials. *Arch Oral Biol.* 2020;120:104945.
69. Augusto MG, Scaramucci T, Campos TMB, Aoki IV, Schlueter N, Borges AB. Film-Forming Polymers for Tooth Erosion Prevention. *Polymers (Basel)* 2022;14(19):4225.
70. Ganss C, Von Hinckeldey J, Tolle A, Schulze K, Klimek J, Schlueter N. Efficacy of the stannous ion and a biopolymer in toothpastes on enamel erosion/abrasion. *J Dent.* 2012;40(12):1036-1043.

71. Carvalho TS, Lussi A. Combined effect of a fluoride-, stannous- and chitosan-containing toothpaste and stannous-containing rinse on the prevention of initial enamel erosion-abrasion. *J Dent.* 2014;42(4):450-459.
72. Pini NIP, Lima DANL, Luka B, Ganss C, Schlueter N. Viscosity of chitosan impacts the efficacy of F/Sn containing toothpastes against erosive/abrasive wear in enamel. *J Dent.* 2020;92:1-8.
73. Van Der Mei HC, Engels E, De Vries J, Dijkstra RJB, Busscher HJ. Chitosan adsorption to salivary pellicles. *Eur J Oral Sci.* 2007;115(4):303-307.
74. Luka B, Arbter V, Sander K, Duerrschnabel A, Schlueter N. Impact of mucin on the anti-erosive/anti-abrasive efficacy of chitosan and/or F/Sn in enamel in vitro. *Sci Rep.* 2021;11(1):5285.
75. Fontana M. Enhancing Fluoride: Clinical Human Studies of Alternatives or Boosters for Caries Management. *Caries Res.* 2016;50 (Suppl. 1):22–37.
76. Crystal YO, Niederman R. Evidence-Based Dentistry Update on Silver Diamine Fluoride. Vol. 63, *Dental Clinics of North America.* Dent Clin North Am. 2019;63(1):45–68.
77. Chibinski AC, Wambier LM, Feltrin J, Loguercio AD, Wambier DS, Reis A. Silver Diamine Fluoride Has Efficacy in Controlling Caries Progression in Primary Teeth: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Caries Research* 2017;51(5):527-541.
78. Llodra JC, Rodriguez A, Ferrer B, Menardia V, Ramos T, Morato M. Efficacy of silver diamine fluoride for caries reduction in primary teeth and first permanent molars of schoolchildren: 36-Month clinical trial. *J Dent Res.* 2005;84(8):721-724.
79. Oliveira BH, Rajendra A, Veitz-Keenan A, Niederman R. The effect of silver diamine fluoride in preventing caries in the primary dentition: A systematic review and meta-analysis. *Caries Res.* 2019;53(1):24-32.
80. Ainoosah SE, Levon J, Eckert GJ, Hara AT, Lippert F. Effect of silver diamine fluoride on the prevention of erosive tooth wear in vitro. *J Dent.*2020;103S:100015
81. da Cunha WA, Palma LF, Shitsuka C, Corrêa FNP, Duarte DA, Corrêa MSNP. Efficacy of silver diamine fluoride and sodium fluoride in inhibiting enamel erosion: an ex vivo study with primary teeth. *European Archives of Paediatric Dentistry.* 2021;22(3):387-392.

82. Nelson T, Scott JM, Crystal YO, Berg JH, Milgrom P. Silver diamine fluoride in pediatric dentistry training programs: Survey of graduate program directors. *Pediatr Dent.* 2016;38(3):212-217.
83. Jara M, Díaz-Dosque M, Cabello R, Palma P. Efecto remineralizante de un agente a base de flúor y grafeno sobre bloques de esmalte desmineralizados con un modelo de biopelícula de *Streptococcus mutans*. Facultad de Odontología Universidad de Chile; 2017.
84. Valdebenito E, Díaz Dosque M. Efecto remineralizante de un agente a base de fluor y grafeno sobre discos de esmalte desmineralizado con un modelo de biopelícula de *Streptococcus mutans* observado en microt. Facultad de Odontología Universidad de Chile; 2019.
85. Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N. Conventional and anti-erosion fluoride toothpastes: Effect on enamel erosion and erosion-abrasion. *Caries Res.* 2011;45(6):581–589.
86. Barac R, Gasic J, Trutic N, Sunaric S, Popovic J, Djekic P, et al. Erosive Effect of Different Soft Drinks on Enamel Surface in vitro: Application of Stylus Profilometry. *Medical Principles and Practice.* 2015;24(5):451-457.
87. Chuenarrom C, Benjakul P. Comparison between a profilometer and a measuring microscope for measurement of enamel erosion. *J Oral Sci.* 2008;50(4):475-479.
88. Ganss C, Möllers M, Schlueter N. Do Abrasives Play a Role in Toothpaste Efficacy against Erosion/Abrasion? *Caries Res.* 2017;51(1):52-57.
89. Padilla M, Palma P, Díaz M, Cabello R. Efecto remineralizante de un agente a base de fluor y grafeno, sobre bloques de dentina desmineralizada, con un modelo de biopelícula de *Streptococcus mutans*. Facultad de Odontología Universidad de Chile; 2017.
90. Ahumada J, Palma P, Díaz Dosque M, Cabello R. Efecto remineralizante de un agente a base de flúor y grafeno, sobre bloques de dentina desmineralizada, con un modelo de biopelícula de *Streptococcus mutans*. Facultad de Odontología Universidad de Chile; 2017.
91. Vieira A, Jager DHJ, Ruben JL, Huysmans MCDNJM. Inhibition of erosive wear by fluoride varnish. *Caries Res.* 2006;41(1): 61-67.

92. Comar LP, Wiegand A, Moron BM, Rios D, Buzalaf MAR, Buchalla W, et al. In situ effect of sodium fluoride or titanium tetrafluoride varnish and solution on carious demineralization of enamel. *Eur J Oral Sci.* 2012;120(4):342–348.
93. Moretto MJ, Delbem ACB, Manarelli MM, Pessan JP, Martinhon CCR. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion: An in situ/ex vivo study. *J Dent.* 2013;41(12):1302-1306.
94. de Sousa Né YG, Souza-Monteiro D, Frazão DR, Alvarenga MOP, Aragão WAB, Fagundes NCF, et al. Treatment for dental erosion: a systematic review of in vitro studies. *Peer J.* 2022;8:10:e13864
95. Bayrak S, Tuloglu N, Bicer H, Tunc E Sen. Effect of fluoride varnish containing CPP-ACP on preventing enamel erosion. *Scanning.* 2017;2017:1897825.
96. Gokkaya B, Ozbek N, Guler Z, Akman S, Sarac AS, Kargul B. Effect of a Single Application of CPP-ACPF Varnish on the Prevention of Erosive Tooth Wear: An AAS, AFM and SMH Study. *Oral Health Prev Dent.* 2020;18(1):311–318
97. Al Saady D, Hall C, Edwards S, Reynolds EC, Richards LC, Ranjitkar S. Erosion-inhibiting potential of the stannous fluoride-enriched CPP-ACP complex in vitro. *Sci Rep.* 2023;16;13(1):7940
98. Lins Rbe, Santi Mr, Noronha Mds, Sebold M, Cavalli V. Does Titanium Tetrafluoride Promote A Protective Effect On Eroded Tooth? A Systematic Review And Meta-Analysis. *J Evid Based Dent Pract.* 2022;22(1):101682
99. Saxegaard E, Rölla G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Eur J Oral Sci.* 1988;96(6):523-535.
100. Seifo N, Cassie H, Radford JR, Innes NPT. Silver diamine fluoride for managing carious lesions: An umbrella review. *BMC Oral Health.* 2019;12;19(1):145
101. Contreras V, Toro MJ, Eliás-Boneta AR, Encarnación-Burgos A. Effectiveness of silver diamine fluoride in caries prevention and arrest: A systematic literature review. *Gen Dent.* 2017;65(3):22-29.
102. Barbour ME, Finke M, Parker DM, Hughes JA, Allen GC, Addy M. The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. *J Dent.* 2006;34(3):207-213.

103. Larsen MJ, Nyvad B. Enamel Erosion by Some Soft Drinks and Orange Juices Relative to Their pH, Buffering Effect and Contents of Calcium Phosphate. *Caries Res.* 1999;33(1):81-87.
104. Ganss C, Schlueter N, Klimek J. Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions-A comparison of in vitro and in situ results. *Arch Oral Biol.* 2007;52(1):9-14.

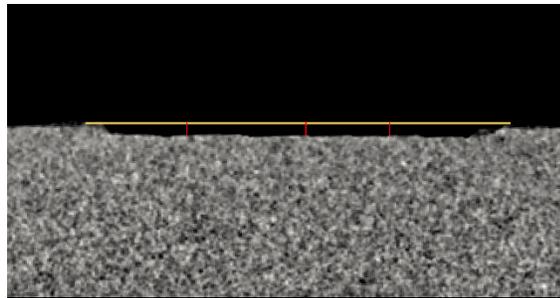
APÉNDICE A. RESULTADOS UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Tabla A1. Resultados Unidad de Investigación

Parámetro	Micrones
Media	18,08
Desviación Estándar	4,71

Valores obtenidos de la medición vertical de la profundidad de los defectos producidos en las muestras (n=8), luego de ser sometidos a seis ciclos erosivos diarios y dos cepillados con pasta dental sin fluoruros diarios, durante 10 días. La media de la pérdida de tejido fue de 18,08 μm , cuantificado mediante Microtomografía Computarizada (MicroCT Bruker modelo SkyScan 1272)

Figura A1. Medición de las muestras



En la imagen se puede apreciar la lesión erosiva artificialmente creada mediante el modelo descrito *in vitro*. Además, se observan las líneas trazadas utilizadas para la medición de la profundidad de los defectos.