



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD LEÓN**

**ODONTOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**TEMA:DESARROLLO DE UN COMPUESTO DE  
NANOHIPOXIPATITA PARA LA  
REMINEALIZACIÓN DE ESMALTE DENTAL:  
ESTUDIO *EX VIVO***

**MODALIDAD DE TITULACIÓN: INFORME DE  
TRABAJO PROFESIONAL SOBRE UN CASO  
CLÍNICO O UNA INVESTIGACIÓN CLÍNICA**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
ESPECIALISTA EN ODONTOLOGÍA  
PEDIÁTRICA**

**P R E S E N T A:**

**RAMÍREZ SALAS KAREN JAZMÍN**

**TUTOR: MTRO.ABRAHAM MENDOZA  
QUINTANILLA**

**ASESORES: DR. RENÉ GARCÍA CONTRERAS  
DRA. DULCE ARACELI GUZMAN ROCHA  
ESP.BENJAMÍN ARANDA HERRERA**



**LEÓN, GUANAJUATO, MÉXICO.**

**MARZO 2025**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ÍNDICE:

DEDICATORIAS-----	04
AGRADECIMIENTOS-----	05
RESUMEN-----	06
ABSTRACT-----	07
INTRODUCCIÓN -----	08
MARCO TEÓRICO -----	09
LESIONES CARIOSAS -----	09
CLASIFICACIÓN DE LAS LESIONES CARIOSAS-----	10
ODONTOLOGÍA MÍNIMAMENTE INVASIVA -----	13
NANOHIĐROXIAPATITA-----	14
TÉCNICAS DE OBTENCIÓN DE NANOHIĐROXIAPATITA-----	16
ANTECEDENTES-----	23
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA -----	26
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN -----	29
JUSTIFICACIÓN -----	29
HIPÓTESIS -----	30
HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN-----	30
HIPÓTESIS NULA -----	30
OBJETIVOS-----	30
OBJETIVO GENERAL-----	30
OBJETIVOS ESPECÍFICOS-----	30
MATERIALES Y MÉTODOS-----	31
TIPO DE ESTUDIO -----	31
UNIVERSO DE ESTUDIO-----	31
MUESTRA-----	31
TAMAÑO DE MUESTRA -----	31
TIPO DE MUESTRA -----	31
CRITERIOS DE SELECCIÓN	
CRITERIOS DE INCLUSIÓN -----	31
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN -----	31
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN -----	31
VARIABLES-----	32
PREPARACIÓN DE LA MUESTRA-----	32
FASE DESMINERALIZANTE-----	34
CARACTERIZACIÓN DE NANOHIĐROXIAPATITA-----	35
SOLUCIÓN REMINERALIZANTE-----	37
FASE REMINERALIZANTE-----	37
EVALUACIÓN DE LA REMINERALIZACIÓN-----	39
RESULTADOS-----	39
EVALUACIÓN POR SEM-----	39
EVALUACIÓN POR EDS-----	41
EVALUACIÓN POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X-----	44

EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE IONES DE Ca-----	45
DISCUSIÓN-----	49
CONCLUSIONES-----	52
PERSPECTIVAS A FUTURO-----	52
REFERENCIAS-----	53

## DEDICATORIA

A mis padres, por permitirme crecer en mi carrera profesional.

A mí, por desarrollar mis capacidades y destrezas en el ámbito metodológico.

A la comunidad odontológica en general, para poder realizar investigaciones que  
brinden o favorezcan la curiosidad de mis colegas en el ámbito metodológico.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme estar en el momento y lugar indicado.

A mis padres, por su ayuda y apoyo incondicional.

A Yair, por mantenerme centrada aún y cuando todo es caos.

A mí, por mi pasión, dedicación, perseverancia y amor a mi profesión.

A mis hermanos y abuelos, por estar pendiente de mí y apoyarme a cumplir esta meta.

**¡GRACIAS!**

# RESUMEN

## **DESARROLLO DE UN COMPUESTO DE NANOHIPOXIAPATITA PARA LA REMINERALIZACIÓN DE ESMALTE DENTAL: ESTUDIO *EX VIVO***

La hidroxiapatita, es un biocerámico con alto grado de biocompatibilidad y una gran similitud estructural y química con la hidroxiapatita presente de forma nativa en el esmalte y huesos humanos. Las partículas de nanohidroxiapatita han registrado la capacidad de cubrir las fosas o defectos generados por el proceso de desmineralización de las lesiones cariosas.

La presente investigación tiene como objetivo; Desarrollar una solución de nanohidroxiapatita que favorezca la remineralización en superficies desmineralizadas en lesiones cariosas iniciales del esmalte dental humano

Con esta finalidad se desarrolló una metodología, la cual consta de 3 grupos experimentales, sometidos a una fase desmineralizante, seguida de una fase remineralizante con una solución de nanohidroxiapatita al 1% y 3%; Finalmente la eficacia fue evaluada a partir de; La evaluación selectiva de calcio, Evaluación por microscopia electrónica de barrido (SEM), Espectroscopia de rayos X por dispersión de energía (EDS) y difracción de rayos X.

Los resultados evidenciaron la capacidad de la nanohidroxiapatita para generar remineralización en la superficie del esmalte a partir de una modificación en su conformación elemental y estructural, evidenciando mayor efectividad en la concentración al 1% al mostrar resultados similares a la conformación adamantina nativa.

**PALABRAS CLAVE:** Caries dental, nanohidroxiapatita y remineralización

## ABSTRACT

### **DEVELOPMENT OF A NANO-HYDROXYAPATITE COMPOUND FOR DENTAL ENAMEL REMINERALIZATION: AN *EX VIVO* STUDY**

Hydroxyapatite is a bioceramic with a high degree of biocompatibility and a strong structural and chemical similarity to the hydroxyapatite naturally present in human enamel and bones. Nano-hydroxyapatite particles have demonstrated the ability to fill pits or defects caused by the demineralization process of carious lesions.

This study aims to develop a nano-hydroxyapatite solution that promotes remineralization on demineralized surfaces in initial carious lesions of human dental enamel.

To achieve this, a methodology was designed consisting of three experimental groups subjected to a demineralization phase, followed by a remineralization phase using a 1% and 3% nano-hydroxyapatite solution. Finally, the effectiveness was evaluated through: selective calcium assessment, scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), and X-ray diffraction.

The results demonstrated the ability of nano-hydroxyapatite to promote remineralization on the enamel surface by modifying its elemental and structural composition. The 1% concentration showed greater effectiveness, yielding results similar to the native adamantine structure.

**KEYWORDS:** Dental caries, nano-hydroxyapatite, remineralization.

## INTRODUCCIÓN.

En el 2005 la administración de alimentos y medicamentos de los Estados Unidos, otorga la primera aprobación, para dispositivos médicos basados en nanotecnología, siendo Angstrom Médica®, con su producto NanOss, el primero en obtenerla (1). A partir de este momento, se origina una aceleración en la utilización de ensayos clínicos para la implementación de nano biomateriales siendo uno de los más utilizados la nanohidroxiapatita, debido a su gran biocompatibilidad y similitud con las características de la hidroxiapatita encontrada de forma natural en los huesos y en el esmalte dental (2); Las moléculas de hidroxiapatita son constituyentes en un 96% del esmalte dental y un 70% de constitución inorgánica en los huesos del cuerpo (3).

Dentro de la odontología se encuentran disponibles dos biomoléculas, la hidroxiapatita y la nanohidroxiapatita, siendo la segunda la biomolécula con propiedades superiores, principalmente por el tamaño de partícula y las características morfológicas que logran tener mayor similitud con la hidroxiapatita de constitución natural (4). Basado en esto, Sangi Co en 1978, lanzó la primera pasta dental con capacidad de reparación del esmalte comercialmente conocida como Apadent®, es así como comenzó a distribuirse por el área odontológica, generando una implicación importante en el área de cariología, debido a que se ha comprobado la efectividad de producir remineralización en lesiones cariosas iniciales. Las partículas de nanohidroxiapatita han registrado la capacidad de cubrir las fosas o defectos generados por el desequilibrio del proceso Des-Re (5). La evaluación actual de la nanohidroxiapatita está basada en su capacidad de generar una nueva capa mineral sobre el esmalte; permitiendo la aplicación de técnicas no invasivas para el tratamiento de lesiones cariosas no cavitadas.

Basados en lo mencionado anteriormente y en los conceptos de odontología actual mínimamente invasiva, este estudio pretende la creación de un compuesto con partículas de nanohidroxiapatita que promueva una remineralización en lesiones cariosas iniciales no cavitadas.

## MARCO TEÓRICO.

En 2022 la Asamblea mundial de la salud, aceptó la “Resolución sobre la salud bucodental” donde favorece la aplicación de prácticas preventivas para fomentar la salud y cuidado bucodental, esto a consecuencia, del aumento en la incidencia de caries dental; teniendo un estimado de 2,300 millones de personas en edad adulta afectadas a nivel global. Mientras que la estimación en menores de edad es de 530 millones de niños con lesiones cariosas no tratadas en dentición decidua. Basados en las estimaciones anteriores, es necesario la comprensión de la conceptualización actual de las caries dental para favorecer los procesos de intervención, diagnóstico y tratamiento de forma oportuna; Es así que La caries dental es descrita por la OMS como una “enfermedad no transmisible, mundial y prevenible con gran importancia médica, social y económica, la cual se ha asociado con determinantes de salud a nivel social. Es conceptualizada como la pérdida mineral a consecuencia de los ácidos producidos por las bacterias acumulados en la placa dental en una superficie dentaria, siendo consecuencia del metabolismo bacteriano de los azúcares de la dieta” (10).

Así mismo se ha descrito la caries dental como una disbiosis entre los procesos dinámicos de la cavidad bucal; Proceso de desmineralización–remineralización, cuando entre ambos existe un desequilibrio no compensatorio se genera una afectación de los tejidos minerales de los órganos dentales, propiciando en la aparición de lesiones cariosas (10)(11).

Sin embargo en el 2019, la *International Association for Dental, Oral, and Craniofacial Research (IADR)* realiza un consenso para la determinación de términos en el área de cariología, la finalidad era unificar y actualizar los conceptos relacionados con la caries dental. Uno de los grandes preámbulos expuestos por este consenso es la conceptualización actual de la caries dental como una enfermedad. Esto llevó al establecimiento de la definición actual de la caries dental como: enfermedad dinámica, no transmisible, multifactorial, mediada por biopelícula, modulada por la dieta, que produce pérdida neta de minerales de los tejidos duros dentales (12). Determinada por diversos factores entre ellos los biológicos, conductuales, factores psicosociales y ambientales” (13). Esta

enfermedad puede aparecer en cualquier etapa de la vida en el ser humano, tanto en dentición permanente como en dentición temporal.

Generando un impacto directo en la económica, y en el ámbito escolar y productivo de quien lo padece afectando todos los rangos de edad donde se presenta, (14) así mismo y de acuerdo el consenso del 2019 de la IADR, se ha generado la necesidad de tratamientos limitantes para la evolución del proceso carioso activo. Para esto, es necesaria la realización de un diagnóstico temprano, oportuno y correcto de las lesiones cariosas. De acuerdo con Machiulskiene y Cols (13), para la realización de un correcto diagnóstico es necesaria la aplicación de un juicio clínico para la integración de la información disponible a partir de la evaluación clínica de los signos presentes. Así mismo surgen nuevos sistemas estandarizados para el diagnóstico y manejo integral que favorecen el conocimiento de lesiones cariosas en fases iniciales o subclínicas para la realización de tratamiento no operatorio (15). Siendo uno de los más utilizados actualmente el sistema internacional de clasificación y manejo de caries ICCMS (16), el cual tiene como objetivos; 1) La prevención de nuevas lesiones cariosas 2) Evitar progresión de las lesiones preexistentes 3) La realización de tratamientos no operatorio y en casos necesarios la realización de manejo operatorio conservador. Basado en esto el sistema desarrolla 4 elementos clave para lograr los objetivos previamente planteados, expuestos en el gráfico 4: El primer elemento consiste en; La realización de una historia clínica odontológica, con enfoque en su enfermedad actual, la sintomatología y antecedentes médicos – odontológicos, que permita la clasificación del paciente dentro de un rubro de riesgo de acuerdo con las lesiones encontradas, su actividad y tratamientos previos encontrados en la primera cita. El segundo elemento consiste en la clasificación de las lesiones presentes (16), la evaluación es realizada a partir de un examen clínico visual para la determinación del estadio de caries y la evaluación clínica de restauraciones previas. Esta clasificación considera los siguientes estadios; El primero corresponde a superficies sanas, sin evidencia visible de caries dental posterior al secado durante 5 segundos, este estadio corresponderá al código ICDAS 0. El segundo estadio, es el estadio inicial de lesiones cariosas, donde podemos observar el primer cambio visible limitado al esmalte dental, este puede aparecer como una opacidad o una decoloración

visible, con una coloración blanca-café sin pérdida de la integridad del esmalte, este estadio corresponde al código ICDAS 1 y 2, Mientras que el estadio moderado de caries, se presenta como una mancha blanca-café con pérdida de la integridad del esmalte sin exposición de dentina o como una sombra latente en dentina, este estadio corresponde al código ICDAS 3 y 4. Finalmente el estadio Severo de caries dental que corresponde a una cavidad detectable en esmalte opaco o sin brillo con exposición dentinaria, siendo correspondiente al código ICDAS 5 y 6. En el gráfico 5 se presenta un esquema simplificado del índice ICDAS.

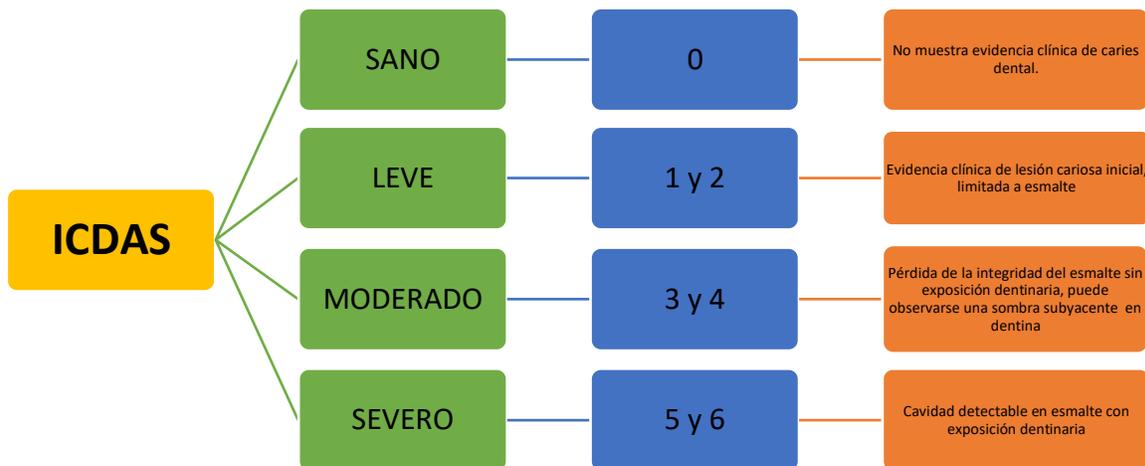
Por su parte la clasificación de Actividad estará determinada por la apariencia visual, sensación táctil, capacidad de retención de placa y el estado gingival. En este estadio, vamos a clasificar a las lesiones en activas e inactivas. Las lesiones activas, serán caracterizadas por superficies adamantinas opacas, con coloración blanca-amarillenta, cuando exista exposición de dentina se observará una consistencia suave de “cuero”, y las superficies pueden estar cubiertas de placa. Mientras que la caries Inactiva, es caracterizada por una superficie adamantina brillante, una coloración blanco, café o negro, el esmalte puede presentar un brillo y al tacto se percibe duro y liso, cuando hay exposición de dentina, generalmente se encuentra con resistencia al sondaje.

La conjetura realizada entre el primer y segundo elemento nos brindaran las herramientas para poder establecer el tercer elemento, basado en la toma de decisiones para el establecimiento de un diagnóstico individualizado por órgano dental el cual permite la creación del cuarto elemento; El manejo de la caries dental. Este debe de ser individualizado con enfoque en el comportamiento del paciente y basado en la prevención de nuevas lesiones cariosas, así como en la limitación de la progresión de las lesiones preexistentes. En caso de ser necesario tratamiento operatorio será basado con un manejo operatorio con preservación dental (15)

GRÁFICO 4: Elementos para el control de objetivos ICCMS



GRÁFICO 5: Índice ICDAS



Lo expuesto anteriormente permite estandarizar el manejo integral en cada paciente para lograr intervenciones en estadios tempranos que nos permitan la resolución de problemas con tratamientos mínimamente invasivos.

Para la comprensión de manejo mínimamente invasivo, es importante abordar la odontología de mínima intervención; siendo esta la corriente de manejo holístico de la caries dental, basado en el control de las lesiones cariosas presentes con la mínima intervención operatoria. Esta corriente tiene como principal objetivo lograr la preservación del tejido. Estando basados en la detección temprana de las lesiones cariosas, realización de tratamientos no operatorios y en caso de ser necesario un tratamiento operatorio, este debe de limitar la pérdida de estructura dental. Esta filosofía tiene como objetivo garantizar la funcionalidad de los órganos dentales el mayor tiempo posible en cada individuo (13) (17).

La utilización de conceptos mínimamente invasivos nace a partir de los estudios que evalúan el efecto de la fluoración del agua respecto a la progresión de las lesiones cariosas, dentro de esta información fue reportado que la fluoración del agua permitió una disminución de la prevalencia de lesiones cavitadas en un 50%, así mismo se permitió demostrar que su efecto principal es obtenido a largo plazo debido a que retrasa la progresión de las lesiones cariosas, evitando la cavitación de las mismas (18). Y es así como se comienza a cambiar diversos paradigmas en la utilización del flúor, como el establecimiento de su funcionalidad hasta la erupción dental y no antes, a partir del entendimiento de que esta acción realiza cambios en la saturación mineral de la superficie dental (19).

Así mismo y conforme se fueron desarrollando los sistemas adhesivos se fue encontrando sentido a la necesidad de disminuir la pérdida de tejido sano, para realizar tratamientos operatorios, llevando a la preparación de cavidades que permitan el mantenimiento de la mayor cantidad de estructura dental. Un preámbulo de la limitación del manejo quirúrgico de las lesiones cariosas fue lo expuesto por Fusayama en 1997, quien demostró que solo era necesario la eliminación de la dentina infectada o descompuesta a la hora de realizar la preparación de una cavidad y que la dentina desmineralizada tendría la capacidad de remineralizarse bajo una restauración correctamente sellada, con buen pronóstico de acuerdo con el seguimiento del órgano restaurado (20).

Así mismo el término de mínima invasión, involucra la realización de tratamientos de lesiones cariosas en estadios iniciales sin cavitación, lo cual permite la implementación de técnicas de manejo de caries basadas en biomateriales que interactúen con el sustrato dental y el medio bucal, favoreciendo el proceso de remineralización limitando la evolución de lesiones no cavitadas, hasta ahora podemos encontrar comercialmente disponibles, productos basados en altas concentraciones de flúor y en CPP ACP (fosfopéptido de caseína – fosfato de calcio amorfo), que han mostrado resultados favorables para el tratamiento no invasivo de lesiones iniciales de caries dental. Su efectividad está basada en el mantenimiento de una sobresaturación de iones en el biofilm dental, adherida a la superficie del esmalte que impide la desmineralización promoviendo la remineralización, Es decir al servir como reservorio de iones minerales el CPP ACP es capaz de limitar la progresión de las lesiones(10). Dentro de la gama de opciones comercialmente disponibles también encontramos los cristales de nanohidroxiapatita, con los cuales se ha demostrado que no solo permiten una remineralización de la superficie afectada, sino que se relaciona con la formación de una capa superficial que permite la eliminación de porosidades en la superficie del esmalte, generando la limitación del proceso evolutivo de la caries dental (21).

La nanohidroxiapatita es un biocerámico que presenta una configuración química basada en iones fosfato, hidroxilo y calcio en un porcentaje en peso de 56.77%, 3.39% y 39.84% respectivamente. Así mismo presenta una relación catiónica de 1,67 Ca/P, similar al biológico, siendo una característica que le brinda estabilidad dentro del cuerpo humano (22). El término “Apatita” deriva del griego “Apatáo” que hace referencia al término “confundido”, este término fue acuñado por Abraham Gottlob Werner, Geólogo alemán en 1786, por la confusión que se generaba con la apatita y otros minerales como berilo y fluorita (22)(23). Es catalogada como un biocerámico que puede presentarse estructuralmente con una simetría hexagonal con grupo espacial P63/m o bien con una condición estructural monoclinica, ambas comparten los mismos elementos estructurales, pero la organización de los grupos hidroxilos es quien marca la diferencia en su conformación estructural. Así mismo se habla de que la conformación pura de la apatita es de forma monoclinica y al ser expuesta a temperaturas superiores a 250°C se genera la

modificación a conformación hexagonal (22). Es el segundo derivado de fosfato de calcio más estable en un PH de 4 a 12 y menos soluble, solo después de la fluorapatita (23) (24), y es considerado como la cerámica más estable en un ambiente acuoso, a un PH de 4.2-8 (25). La nanohidroxiapatita forma parte de la porción inorgánica de los componentes estructurales de hueso y dientes en un 70% en peso y 50% en volumen (26). Se conoce que la hidroxiapatita se encuentra en la fase final de la mineralización de los huesos, así mismo se ha determinado su presencia en dientes, escamas de pescado (23). Su fórmula general es  $[Ca_{10}(PO_4)_6](OH)_2$  y dentro de sus propiedades encontramos la biocompatibilidad, bioactividad y actividad osteoconductoras en condiciones fisiológicas ambientales (23) (24). Eliaz & Metoki (23) establecen las propiedades físico- químicas, biológicas y mecánicas de la hidroxiapatita resumidas en la siguiente tabla:

**TABLA 1: Propiedades físico-químicas de la hidroxiapatita.**

<b>PROPIEDAD</b>	<b>VALOR</b>
<b>Conductividad térmica</b>	0.013W /(cm-K)
<b>Densidad relativa</b>	95%-99.5%
<b>Temperatura de descomposición</b>	>1000°C
<b>Punto de fusión</b>	1614°C
<b>Resistencia a la tracción</b>	38-300MPa
<b>Resistencia Compresiva</b>	120-900MPa
<b>Resistencia a la flexión</b>	38-250MPa
<b>Módulo de elasticidad</b>	35-120GPa

<b>Resistencia a la fractura</b>	0.7 -1.2 MPa-m <sup>1/2</sup>
<b>Dureza Vickers</b>	3-7 GPa
<b>Biocompatibilidad</b>	Alta
<b>Bioactividad</b>	Alta
<b>Compatibilidad Celular</b>	Alta
<b>Osteoconducción</b>	Alta
<b>Biodegradación</b>	Baja
<b>Osteoinducción</b>	Nula

Fuente: Eliaz & Metoki (23)

De acuerdo con la tabla anterior se verifican las características previamente descritas por Kruse 2011 (26), dentro de las que encontramos; fragilidad, dureza, elevado punto de fusión y alta conductividad térmica. Un punto importante sobre su morfología es que se ve influenciada por el método de síntesis y tiene un impacto directo sobre sus propiedades físicas. Estas características son esenciales para permitir el intercambio iónico de reemplazo. Es ampliamente utilizada con un fin multipropósito en el ámbito de la medicina y la odontología por sus beneficios remineralizantes, osteoinductores, osteregeneradores, biocompatibles al permitir la adsorción, adhesión y proliferación celular (23) (27) (28). Estas propiedades le permiten ser utilizadas en diversos ámbitos como periodoncia, cariología, ortopedia, regeneración tisular y en los estudios recientes se ha comprobado su efectividad como pellet al implementarse su uso concomitante con diversos medicamentos, obteniendo una acción de liberación prolongada (28).

Existen diversas metodologías para la obtención de las partículas de nanohidroxiapatita entre ellas encontramos: Sol-gel, coprecipitación, reacción húmeda, hidrotermal, deposición térmica y reacción en estado sólido (28).

### **SÍNTESIS POR COPRECIPITACIÓN**

La obtención de un precipitado, hace referencia a un sólido que se produce en una disolución a consecuencia de una reacción química. Los precipitados se pueden presentar cuando una sustancia insoluble se forma en disolución o bien es sobresaturada. Y al no poder aceptar más soluto y tampoco poder ser disuelto, se produce un precipitado (29).

La síntesis de nanohidroxiapatita por coprecipitación que muestra entre sus ventajas su bajo costo, su simplicidad y rendimiento (28). Esta reacción se basa en la disolución de Nitrato de calcio  $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ , por goteo a la solución de fosfato de amonio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) con una agitación constante durante 40 minutos a una temperatura promedio de  $75^\circ\text{C}$ . Un punto importante es este punto es el control del pH durante la mezcla, variando de 7 a 11 durante el proceso de incorporación con el ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) hasta lograr su precipitación. Una vez obtenida la precipitación se mantiene la solución en reposo de 24 a 72 horas. Se continúa con la separación del sólido y del líquido, y se somete a un proceso de secado durante 24 horas. Iniciando con una temperatura de  $600^\circ\text{C}$  con aumento de  $100^\circ\text{C}$  hasta llegar a una temperatura de  $1000^\circ\text{C}$  para la obtención de los cristales.

Es importante conocer que el factor del pH en este método de obtención de la nanohidroxiapatita tiene un papel clave para el mantenimiento de la proporción Ca/P, cuando se mantiene un pH alcalino y una temperatura menor a  $750^\circ\text{C}$  se obtiene la formación de nanohidroxiapatita en su forma pura, mientras que a un pH menor a 7 se genera una alteración en la proporción Ca/P en el polvo resultante. Obteniendo una mezcla de nanohidroxiapatita con otros fosfatos de calcio. Así mismo la adición de los diversos compuestos debe de realizarse a una velocidad de 1 a 5 ml por minuto. Esta técnica permite la obtención de partículas de nanohidroxiapatita con mayor pureza

Se ha reportado la obtención de nanohidroxiapatita pura por el método de coprecipitación, a partir de un pH de 10 a 11, con una temperatura de 700°C durante 14 horas para la obtención de un tamaño de partícula de 20nm. (28)(30)

### **SÍNTESIS SOL-GEL**

El proceso Sol-Gel, recibe su nombre de la transformación de una solución coloidal a otra, en este caso de Sol a gel. Entendiendo que Sol, será entendida como una solución coloidal que presenta la fase continua en estado líquido y la fase dispersa en estado sólido. Mientras que Gel, será entendido como una solución coloidal en la que la fase continua se encuentra en estado sólido y la fase dispersa se encontrará en estado líquido. En esta metodología se presentan dos reacciones básicas, la hidrólisis y la condensación, quienes permiten la formación de Sol y Gel. Esta reacción puede realizarse a temperatura ambiente (29).

La síntesis por Sol-Gel, consiste en la disolución en alcohol de los componentes orgánicos para que pueda producirse la polimerización. Esta reacción se genera a partir de la disolución de Nitrato de calcio  $[Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O]$  y fosfato de amonio  $[NH_4H_2PO_4]$ , en alcohol etílico a una temperatura de 60°, ambas soluciones se mezclan durante una agitación constante de 24 horas a temperatura ambiente. El pH tendrá un aumento de 2 a 9 con el agregado de  $NH_4H_2PO_4$ , una vez iniciada la reacción se espera la obtención del gel. Cuando se genera el gel a partir de la reacción inicial de la mezcla. Se deja reposar de 24 a 40 horas a temperatura ambiente. Posteriormente será necesario un ciclo de secado a 80°C de 24 a 72hrs. Para iniciar con la cristalización a partir de los 600°C, llegando a una temperatura máxima de 1000°C en un tiempo promedio de 16 horas. Para finalmente la obtención de los cristales.

Esta metodología mantiene una constante en el polvo obtenido independientemente de las fluctuaciones obtenidas en el pH. Sin embargo se genera un aumento en el tamaño de partícula en función al aumento de la temperatura y el tiempo expuesto a la misma, por lo que requiere el control preciso de los factores temperatura y tiempo para favorecer los cristales obtenidos (30) (31).

### **SÍNTESIS HIDROTHERMAL**

El término de reacción hidrotermal, se refiere a una reacción química realizada a partir de la incorporación de un solvente, con el control de los factores temperatura y presión. La técnica se realiza a partir de un aumento de la temperatura, mayor a la ambiental y con una presión mayor a la atmosférica; dicha reacción se realiza en un sistema cerrado (32)

Para esta metodología es necesario Nitrato de calcio hexahidratado  $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ ,  $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$  y agua desionizada. Para generar soluciones a concentraciones de 0.5M. Así mismo se utiliza Ácido etilendiaminotetracético (EDTA) como surfactante. Se realiza la disolución de los tensioactivos a  $60^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Para posterior a esto añadir por técnica de goteo el nitrato de calcio, manteniendo la agitación constante. El pH se deberá de ajustar a 11 añadiendo NaOH 1.5 M. La solución se debe de mantener en agitación constante durante 30 minutos. Posterior a esto la solución debe ser sometida a un proceso en autoclave durante 15 horas a  $200^\circ\text{C}$ , generándose aquí la reacción hidrotermal. El polvo obtenido se lava con agua destilada y se centrifuga por 15 minutos a 4000 rpm. Finalmente se secan en el horno a  $100^\circ\text{C}$  por 8 horas (33).

Esta metodología permite la obtención de cristales con alto grado de cristalinidad y relación de Ca/P cercana al valor estequiométrico (32).

## **SÍNTESIS EN ESTADO SÓLIDO**

Este método consiste en la compactación de los reactivos sólidos, para después ser sometidos a altas temperaturas de calentamiento. La obtención de los polvos en masa, deben de ser molidos y calcinados a altas temperaturas. El precursor de esta reacción puede ser una sal de calcio-fósforo, que al ser llevado a temperaturas elevadas conduce a la formación de una estructura cristalina en este caso nanohidroxiapatita. La desventaja de este método es la heterogeneidad que se presenta en el polvo obtenido (28).

En la siguiente tabla expuesta por González R (29), se resumen las características de las principales metodologías para la síntesis de hidroxiapatita.

TABLA 2: Características de las metodologías para la síntesis de hidroxiapatita

Metodología	Tiempo	Costos	Tamaño de los cristales	Grado de pureza	Procedimientos adicionales
<b>Hidrotermal</b>	36 Horas	\$4,000 mx	50 nm – 100nm	Alto	Tratamiento térmico Lavado con agua y etanol
<b>Precipitación</b>	85 Horas	\$3,000 Mx	300 nm- 500nm	Alto	Calcinación
<b>Sol- Gel</b>	24 Horas	\$2,500 Mx	50nm- 1um	Alto Pueden existir residuos de óxido de calcio	Calcinación Lavado con agua destilada.

Fuente propia

Independientemente del método a utilizar para la síntesis de nanohidroxiapatita, es necesario realizar una caracterización del material obtenido para verificar La formación de los cristales, forma, tamaño y contenido de Ca/P. La caracterización se puede llevar a cabo a partir de las siguientes pruebas (26) (28).

Difracción de rayos X, para la identificación y determinación de la composición del polvo, así mismo nos permite obtener el tamaño de partícula. Con un tipo de análisis cualitativo.

Espectroscopia de absorción infrarroja: En la cual se permite identificar las vibraciones de los grupos hidroxilos, impurezas como hidrogenofosfato, agua. Para verificar la pureza del polvo obtenido. Cada grupo presenta un rango de vibración que permite diferenciarlos.

Microscopía electrónica de barrido (SEM), En el cual podremos obtener información de la morfología, análisis químico, tamaño y distribución de las partículas del polvo.

González (29), afirma que la síntesis de nanohidroxiapatita por precipitación ofrece mejores resultados, comparado con la muestra comercial y el hueso bovino.

La nanohidroxiapatita es un compuesto sumamente utilizado en biomateriales dentales a consecuencia de su similitud estructural y química con la hidroxiapatita presente de forma natural en el esmalte, sus características; un tamaño dentro de

la escala nanométrica de 1-100 nm(34)(35), sin embargo Subramani K & Ahmed W, determinan un tamaño específico para lograr una efectividad en el proceso de remineralización, siendo 5-20 nm de ancho por 60 nm de largo(1), su tamaño es una característica fundamental, debido a que le permite mantener una mayor superficie de unión con los compuesto o sustrato donde sea aplicado, así mismo le permite mayor hidratación, mejorando así sus características físicas y químicas (36). Su utilidad clínica está basada en su biocompatibilidad; que es determinada por el cuerpo al momento de exponerlo a este compuesto y su bioactividad (38); que se refiere a la capacidad de adherirse a un tejido. Estas capacidades clínicas, permiten que sea utilizada clínicamente en forma de polvo, bloque, polvo (1) y en combinación con otros compuestos, permitiendo su aplicación en jeringa (37).

En 2014 Sibte y Cols, realizaron la caracterización de nanohidroxiapatita, a partir de una reacción de precipitado químico húmedo, siendo mencionado por los autores que esta es la metodología con mayor tasa de reproductibilidad, simplicidad y económica, así mismo se obtiene un solo subproducto de reacción, agua. La generación de este compuesto bajo esta técnica debe realizarse con la incorporación de 1.42 mol/ 79.55g de CaO en polvo, que es agregado a 500ml de agua desionizada agitando vigorosamente a 1000 rpm a 20°C por 24 horas para hacer reaccionar y formar una suspensión de Ca(OH)<sub>2</sub>, en un exceso de agua desionizada, posteriormente se agrega 97.32g DE H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> al 85% y se agita durante 24 horas para ayudar a la etapa de maduración, se mantienen las revoluciones por minuto y se agrega 0.28mol/9.94g de NH<sub>4</sub>OH, se deja una periodo más de maduración y finalmente se busca la estabilización a un pH de 9, para lograr mantener una relación de Ca/P 1:67, se seca en un horno durante 1 hora a 100°C, y luego se sintetizan a 1200°C durante 1 hora, finalmente una vez que se enfrían, se muelen en un motor y una maja. En la evaluación, se determinó que al ser modificada la temperatura de calcinación, siendo mayor a 100°C, el material se calcinaba y el tamaño de las partículas aumentaba conforme se aumentaba la temperatura, llegando de 8.5nm en 100° C hasta 24.6 nm en una exposición de 800°C (38) estableciendo un patrón metodológico con fines de reproducibilidad para estudios clínicos *in vitro* posteriores. Es así que el área de nanomateriales se encuentra en completo desarrollo dentro del área odontológica, teniendo implicaciones positivas en diversas áreas clínicas: implantología, cirugía

maxilofacial, prevención y cariológia (39). Sin embargo su área de implementación no es limitada a odontología, sus características químicas le ha permitido tener una aplicación dentro de la medicina deportiva, ortopedia general y trauma de columna (1).

La nanohidroxiapatita ha ganado área dentro del mercado odontológico, siendo utilizada en el área de implantología como un material de cobertura de implantes, es considerado el biomaterial más utilizado para esta aplicación (40). Así mismo se ha incorporado la nanohidroxiapatita con hidrogeles, como el quitosano, esto le permite obtener una porosidad óptima para soportar la unión y crecimiento de células osteoblásticas, así mismo se hacen agregados metálicos como cobre y/o zinc que tiene una actividad antibacteriana (41). La nanohidroxiapatita es usado por sus características similares con los componentes básicos naturales por lo que puede usar como agente de reparación y protección anticaries (42), para la remineralización de la dentina y esmalte afectados por el ataque ácido proveniente del metabolismo ácido bacteriano, sin embargo esta baja de acidez afecta solamente la estructura inorgánica, sin afectar la red de colágeno, así es que las nanopartículas de hidroxiapatita actúan como reemplazo de los minerales afectados o perdidos.

Dentro de sus desventajas se encuentran sus bajas propiedades mecánicas, que pueden ser disipadas al combinarse con otros compuestos, para lograr mejoras en el área de materiales dentales. El proceso de como el esmalte logra penetrar las capas superficiales no es completamente claro, se sabe que las nanopartículas tienen la capacidad de adherirse al esmalte dental. Es conocido que el esmalte dental es permeable a los electrolitos, a pesar de ser un tejido denso y altamente mineralizado, es probable que el paso de estos iones se genere a partir de los espacios intercristalinos, así fue que Nguyen y Cols confirmaron la presencia de cierta permeabilidad innata en el esmalte al usar el método de adsorción de Brunauer-Emmett Teller (BET) Obteniendo datos del tamaño del poro aproximado de  $0.22\text{m}^2$ ,  $2.8\text{mm}^3$  y  $22\text{nm}$  respectivamente (43). Por lo que sugiere que las partículas de nanohidroxiapatita deben de cumplir con un tamaño menor a  $20\text{nm}$  (44). La técnica de unión de las partículas del nanohidroxiapatita aún no está

completamente determinada, pero se cree que es probable por fuerzas electrostáticas de Van Der Waals (44).

## ANTECEDENTES:

Tao J y Cols (45), en 2007 presentaron un modelo de formación estructurada de partículas de nanohidroxiapatita a partir del uso de fosfato de calcio amorfo, como medio de ensamblaje. Realizaron evaluación del ensamblaje de partículas de nanohidroxiapatita a partir de 3 preparaciones diferentes; 1: agregados de nanohidroxiapatita recubiertas con fosfato de calcio amorfo de 30 nm, 2: nanoesferas con núcleo de hidroxiapatita y esfera de fosfato de calcio amorfo 5nm, 3; nanoesferas de hidroxiapatita con medio supersaturado de calcio y fosfato. Así mismo la evaluación se realizó con diversas soluciones aditivas entre ellas amelogeninas, glicina y ácido poliacrílico.

Los resultados se evaluaron a partir de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución y espectroscopia de dispersión de rayos X. Los resultados arrojaron la formación de estructura mineralizada de forma organizada similar a la nativa en los grupos 1 y 3. En el caso del fosfato de calcio amorfo aunque de forma inicial se mantenía la capa superficial, se comprobó su papel como medio cohesivo para la agregación de las partículas. Así mismo se comprobó que las soluciones aditivas no tenían la capacidad de inducir la formación mineral, sin embargo ocupan un papel mediador de importancia.

En 2008 Li y Cols (42), evaluaron la efectividad de las nanopartículas de nanohidroxiapatita para la reparación de lesiones desmineralizadas en esmalte, en comparativa con partículas de fosfato de calcio amorfo y cristales de Hidroxiapatita convencionales. Ellos realizaron un protocolo de desmineralización en molares humanos extraídos, para posteriormente exponerlos a una suspensión acuosa con una concentración de partículas al 0.1% de su peso. Se realizaron pruebas cuantitativas, de las partículas adsorbidas en la superficie del esmalte, indentación

y observaciones sobre la formación estructural en la superficie del esmalte previamente desmineralizado.

Los resultados confirmaron que las nanopartículas de hidroxiapatita tienen la capacidad de formar una red de varillas con un ensamblaje similar a la conformación adamantina nativa, esto en comparativa con las partículas de hidroxiapatita convencionales, que si bien, lograron formar una capa superficial, está presentaba una conformación desorganizada debido a sus dimensiones morfológicas, siendo no viables para asegurar la reparación del esmalte. Por su parte las partículas esféricas de fosfato de calcio amorfo, mostraron que su unión a la superficie desmineralizada era la más débil de las partículas evaluadas, este resultado es explicado por la diferencia química y morfológica de las partículas de fosfato de calcio amorfo y la hidroxiapatita presente en el tejido adamantino, mostrando poca afinidad entre sí. Finalmente, Li y Cols reconocen la importancia del tamaño de la partícula de hidroxiapatita para lograr la reparación efectiva sobre la zona desmineralizada, siendo ideal la utilización de nanopartículas de 20nm o menores, para lograr analogía con su homóloga biológica.

En 2009 Huang y Cols (21), elaboraron una prueba *in vitro* sometiendo a dientes bovinos recién extraídos a un proceso de desmineralización similar a las observadas en lesiones incipientes de caries dental. Las lesiones fueron confirmadas en microscopio electrónico de barrido y posteriormente fueron sometidas a ciclos de desmineralización y remineralización. El efecto remineralizante fue evaluado en: un grupo control positivo; 1000 ppm de fluoruro de sodio; un grupo control negativo, Agua destilada y en grupos experimentales de nanohidroxiapatita al 1%, 5%,10% y 15%. Los resultados obtenidos evaluaron el porcentaje de recuperación de microdureza superficial siendo favorecedores para los grupos experimentales de 10% y 15%, obteniendo un patrón de cristales aciculares sedimentados sobre la superficie del esmalte desmineralizado, produciendo una disminución de la superficie afectada. Confirmando la capacidad de la nanohidroxiapatita de remineralizar el esmalte dental.

Así mismo en 2011 Tschoppe P & Col (11), realizaron un estudio *in vitro* utilizando dientes bovinos para comprobar la efectividad de remineralización de diversas pastas dentales comerciales. La evaluación fue realizada en base a 70 muestras

de esmalte bovino y se realizó con tres soluciones experimentales; Grupo A, nanohidroxiapatita al 7%, Grupo B; Zinc-Carbonato de nanohidroxiapatita al 20%, Grupo BS; Zinc-Carbonato de nanohidroxiapatita al 24%, y un grupo control; Grupo E, fluoruro de amina al 0.14%. Los especímenes fueron cepillados manualmente con la exposición a la solución basados en los preparados comerciales. Posteriormente fueron expuestos a la solución remineralizante durante dos semanas. Siguiendo una evaluación de la densidad mineral. Los resultados mostraron mayor ganancia en el grupo A, nanohidroxiapatita al 7%, en comparación con el grupo E. Corroborando que a nivel *in vitro* las pastas dentales con contenido de nanohidroxiapatita mostraron efectos de remineralización mayores en comparativa con los grupos experimentales.

En 2018, Daas y Cols (34), realizaron una evaluación similar en un estudio comparativo *in vitro*, donde realizaron una comparación entre la efectividad de remineralización de pastas con contenido de nanohidroxiapatita versus barniz con contenido de fluoruro. Realizados en 45 dientes temporales extraídos, divididos en tres grupos, 1: grupo control, Sin ninguna pasta, 2: grupo de Barniz de flúor y 3: grupo de pasta dental con nanohidroxiapatita. Los resultados fueron evaluados a partir de la utilización de DIAGNOdent®, los resultados mostraron resultados similares en el grupo 2 y 3, sin embargo, los autores mencionan un efecto más longevo en el grupo 3.

Basados es la efectividad de los antecedentes anteriores, la producción de nanopartículas permuto hacía el aislamiento del biomaterial de forma orgánica, es así que en 2022 Mathirat y Cols (46). Desarrollaron un protocolo de obtención de partículas de nanohidroxiapatita a partir de *Epinephelus chlorostigma* (espinas de pescados), ellos realizaron una evaluación en dientes extraídos para determinar la capacidad de remineralización de la nanohidroxiapatita obtenida a partir de *Epinephelus chlorostigma*. Se realizó un protocolo de obtención de las partículas de nanohidroxiapatita descrito por los autores. Posterior a esto se llevaron a los especímenes a un ciclo de desmineralización, para posteriormente realizar la evaluación del potencial remineralizante de la nanohidroxiapatita.

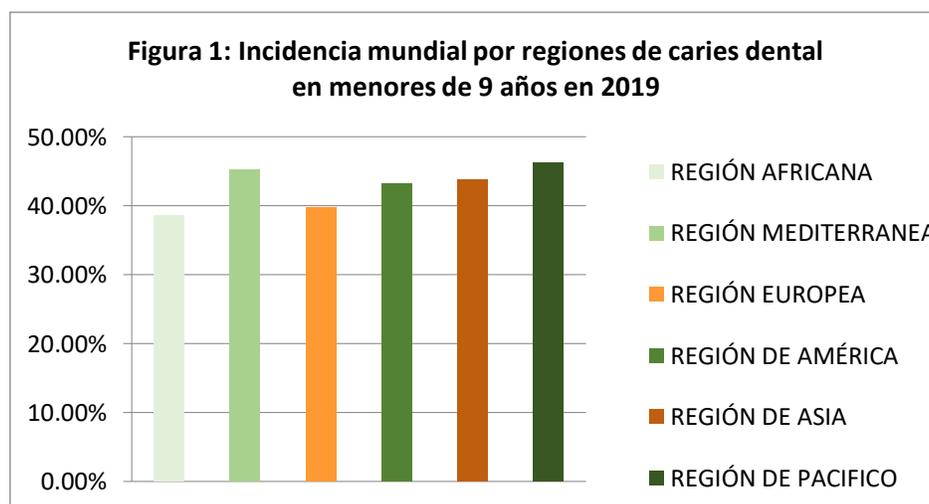
Se realizaron mediciones en microscopía electrónica de barrido, espectroscopia de rayos X, evaluación cuantitativa de iones de calcio y fósforo y evaluación con

DIAGNOdent®. La evaluación se llevó a cabo en forma comparativa con nanohidroxiapatita sintética. Los resultados mostraron resultados comparables para ambos grupos experimentales. Siendo favorables para efectos remineralizantes.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

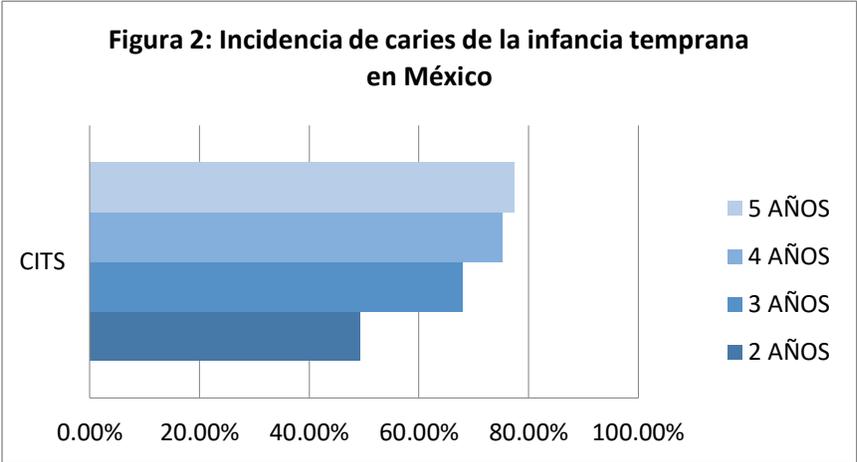
La caries dental es considerada un problema de salud pública a nivel mundial, es una enfermedad prevenible que afecta aproximadamente a un 29% de la población a nivel mundial, en menores de edad la incidencia aproximada es del 43%, esto de acuerdo con datos del 2019 reportados por la OMS (6).

En la figura 1 podemos observar la incidencia mundial por regiones de caries dental en dentición decidua en el año 2019. En América Latina y los países del caribe esta prevalencia se ve aumentada en dentición primaria llegando a niveles mayores del 50% de la población (7). Así mismo en México y de acuerdo con las cifras publicadas por el SIVEPAB en 2019, el 72.3% de los menores de 6 años presentan caries de la primera infancia, con una incidencia descrita en la figura 2. Por su parte la relación entre el número de dientes afectados por edad en dentición temporal, se observa plasmada en la figura 3.

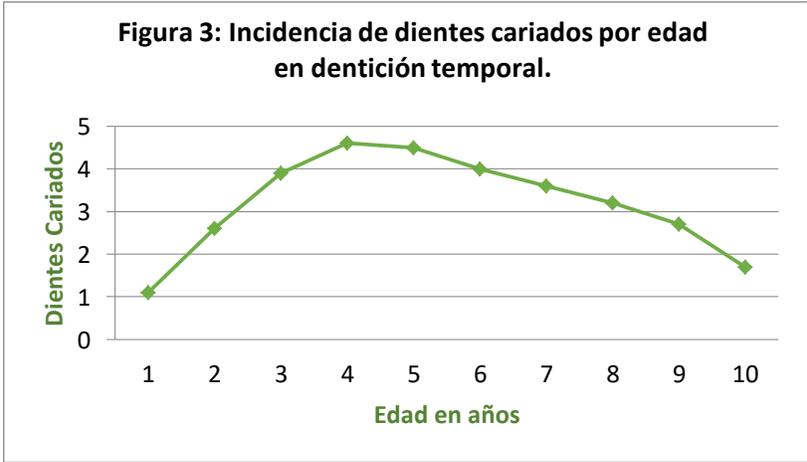


FUENTE: SAMPAIO 2021

En contraste en nuestro país, en la población mayor de 18 años se ha analizado un patrón de incidencia aumentado acorde a la edad, observando un incremento a partir de la población de 20-24 años con una afectación de 84.8%, sin embargo, el porcentaje más elevado lo encontramos en la población de mayores de 80 años con un alcance del 97.7%. Así mismo los datos registrados, muestran un índice nacional de CPOD a los 12 años de edad de 2.4, con variables en la distribución estatal.



Fuente: SIVEPAV 2019



Fuente: SIVEPAV 2019

Continuando con la distribución nacional, se evidencia los valores de COPD de algunos estados, donde encontramos el estado de Zacatecas con un índice COPD de 0.7, seguido de Jalisco con un 1.4, Guanajuato se encuentra con una incidencia de 3.4, mientras que los índices más elevados los encontramos en Guerrero con 4.4 y Tlaxcala con 4.3, la prevalencia por sexo es mayor en mujeres con un índice de CPOD de 12.7, mientras que los hombres mexicanos presentan un índice de CPOD De 12.4 (8).

Finalmente es importante reconocer que los costos sanitarios para el tratamiento de las enfermedades dentales abarcan del 5 al 10% del gasto público en salud, y de acuerdo con Petersen (9), los gastos en tratamientos bucodentales se sitúan en el cuarto lugar entre los tratamientos más costosos del gasto público en salud.

Los datos anteriores son inquietantes en tema de prevención y diagnóstico oportuno de la caries dental, esto debido a que los datos expuestos son limitados a la presencia de lesiones cavitadas, si la incidencia de lesiones cariosas se registrará con un índice que permitiera evaluar la presencia de lesiones desde sus estadios iniciales, los porcentajes aumentarían exponencialmente. Conociendo lo anterior se hace evidente la necesidad imperante de tratamientos que limiten el progreso de la enfermedad en sus etapas iniciales, limitando la pérdida de estructura dental y el número de dientes afectados. Uno de los tratamientos indicados para las lesiones cariosas iniciales no cavitadas en esmalte es la remineralización, esto a consecuencia de los conceptos actuales de la enfermedad de caries dental, están relacionados con un desequilibrio de las interacciones dinámicas que ocurren en la superficie del diente, asociadas con el proceso desmineralización-remineralización, generando la pérdida de material mineral, hasta la percepción de un cambio visual o táctil clínicamente detectado. Estas alteraciones de superficie pueden limitarse y detener su progreso en cualquier momento de su evolución y actividad. Es por esta razón que el tratamiento actual de las lesiones cariosas, está basado en un abordaje desde el enfoque mínimamente invasivo con mínima intervención, con la finalidad de, limitar la pérdida de estructura dental asociada a las lesiones de caries, limitando la cantidad de tejido mineralizado perdido y en su caso favorecer el depósito de minerales logrando equilibrar la fase de pérdida mineral, favoreciendo el mantenimiento de una superficie regular. Conociendo lo anterior se pretende la

obtención de un compuesto que favorezca el depósito mineral y la eliminación de porosidades a partir de la obtención de un biomaterial con un vehículo que permita la interacción con la superficie afectada y una reorganización superficial que limite la pérdida del contenido mineral.

## PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El desarrollo de un compuesto de nanohidroxiapatita favorece la remineralización del esmalte dental?

## JUSTIFICACIÓN

La implementación de técnicas de manejo de caries, a partir de lesiones no cavitadas permite una apertura para un abordaje con biomateriales que interactúen con el sustrato dental y el medio bucal, favoreciendo el proceso de remineralización y limitando la progresión de lesiones cariosas no cavitadas, hasta ahora podemos encontrar comercialmente disponibles, productos basados en altas concentraciones de flúor y en CPP ACP, que han mostrado resultados favorables para el tratamiento no invasivo de lesiones iniciales de caries, deteniendo su progresión. Sin embargo, dentro de la gama de opciones encontramos los cristales de nanohidroxiapatita que no solo permiten una remineralización de la superficie afectada, sino que se relaciona con la formación de una capa superficial que permite la eliminación de porosidades en la superficie del esmalte, generando la limitación del proceso evolutivo de la caries dental. Siguiendo el desarrollo de las lesiones cariosas, cuando las lesiones iniciales no son remineralizadas de manera idónea, la evolución de la lesión, permitirá que la pérdida mineral sea mayor que la ganancia, generando microporosidades en el esmalte, que si no son tratadas con medios remineralizantes, pueden evolucionar hasta una cavitación visible en el esmalte. Dentro de la odontología actual, se ha buscado obtener un material ideal para tratamientos de lesiones cariosas iniciales, que tenga un efecto favorable con el sustrato dental, que permita el tratamiento en periodos de tiempo cortos, de fácil aplicación y con un efecto terapéutico estable.

A partir de un vehículo que le permita la interacción con el tejido dentario y sea capaz de difundir el biomaterial. Uno de los materiales utilizados en el área odontológica que cumple con las características que permitan su difusión es el ácido poliacrílico, ampliamente utilizado en el área restaurativa al ser el medio ácido del ionómero de vidrio. Favoreciendo su aplicabilidad a partir de una fácil aplicación, estabilidad y un tiempo de trabajo corto.

La obtención del compuesto nos brinda un preámbulo para su aplicación en zonas de difícil acceso a servicios de salud, debido a su bajo costo de producción, fácil almacenamiento y estabilidad hasta por 90 días. Así mismo dentro del área de odontopediatría, se facilita su uso debido a su facilidad de aplicación en pacientes con escala de comportamiento Frankl negativo, negativo- negativo. Brindando un panorama favorable para la aplicación de tratamientos mínimamente invasivos.

## HIPÓTESIS:

El uso de una solución de nanohidroxiapatita favorece la remineralización en superficies desmineralizadas del esmalte dental humano.

## HIPÓTESIS NULA

El uso de una solución de nanohidroxiapatita no favorece la remineralización en superficies desmineralizadas del esmalte dental humano.

## OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una solución de nanohidroxiapatita que favorezca la remineralización en superficies desmineralizadas en el esmalte dental humano.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Determinar la formación de una capa mineral superficial a partir de la utilización de microscopía electrónica de barrido.

- Determinar la ganancia de contenido de calcio y fosfato de la muestra a partir de la evaluación por EDS
- Determinar contenido mineral y propiedades físicas a partir de difracción de rayos X.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### TIPO DE ESTUDIO:

Estudio experimental puro, *in vitro*.

### MUESTRA

Tipo de muestra: Por conveniencia

34 dientes humanos

Tamaño de muestra:

34 dientes extraídos humanos = 95 muestras 5x5x5 mm

### CRITERIOS DE SELECCIÓN.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	CRITERIOS DE ELIMINACIÓN
Dientes humanos extraídos sin evidencia de caries dental	Dientes humanos extraídos con fisura o fractura adamantina.	Dientes humanos extraídos que presenten fractura adamantina durante el proceso de obtención de las muestras.
	Diente humanos extraídos. que presenten hipoplasias	

## .VARIABLES

### VARIABLE DEPENDIENTE

VARIABLE	DEFINICIÓN	DEF.OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA	ESCALA
<b>Remineralización</b>	Ganancia neta de material calcificado en la estructura dental	Porcentaje de calcio y fosfato presente en la muestra	Porcentaje (%)	Mineralización inicial = 100%

### VARIABLES INDEPENDIENTES

VARIABLE	DEFINICIÓN	DEF. OPERACIONAL	UNIDAD DE MEDIDA	ESCALA
<b>Concentración de la solución</b>	Cantidad de soluto en un disolvente.	Cantidad de nanohidroxiapatita disuelta en la solución.	Porcentaje (%)	1% al 100%

### PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Los dientes humanos y bovinos fueron recolectados en el laboratorio de investigación interdisciplinaria en la Escuela nacional de estudios superiores unidad León, ENES UNAM y se mantuvieron hidratados en agua bidestilada por un tiempo aproximado de 3 meses. Una vez que se completó la muestra se realizó evaluación de forma individual en un microscopio estereoscópico para determinar

ausencia o presencia de grietas, hipoplasias o lesiones de mancha blanca compatible con lesiones iniciales de caries y/o defectos de la formación del esmalte.

Una vez realizada la evaluación de forma microscópica y cumpliendo con los criterios de selección, se determinó el universo de estudio de la siguiente forma (Figura 4):



Figura 4: Universo de trabajo.

Fuente Propia.

Posteriormente se continuó con la obtención de muestras, se realizó un corte transversal para realizar la separación corona-raíz. Se continuó realizando cortes longitudinales para lograr la obtención de bloques de tejido adamantino de 4x4x3 mm, los cortes fueron realizados con un disco de diamante (NTI superflex, 355) utilizando sistema refrigerante. Una vez obtenidos los fragmentos de esmalte se colocaron en una base cilíndrica de acrílico autopolimerizable. En la figura 5, se ejemplifica el proceso realizado. Los bloques de esmalte se mantuvieron en agua bidestilada por 5 días, hasta el inicio de la siguiente fase.

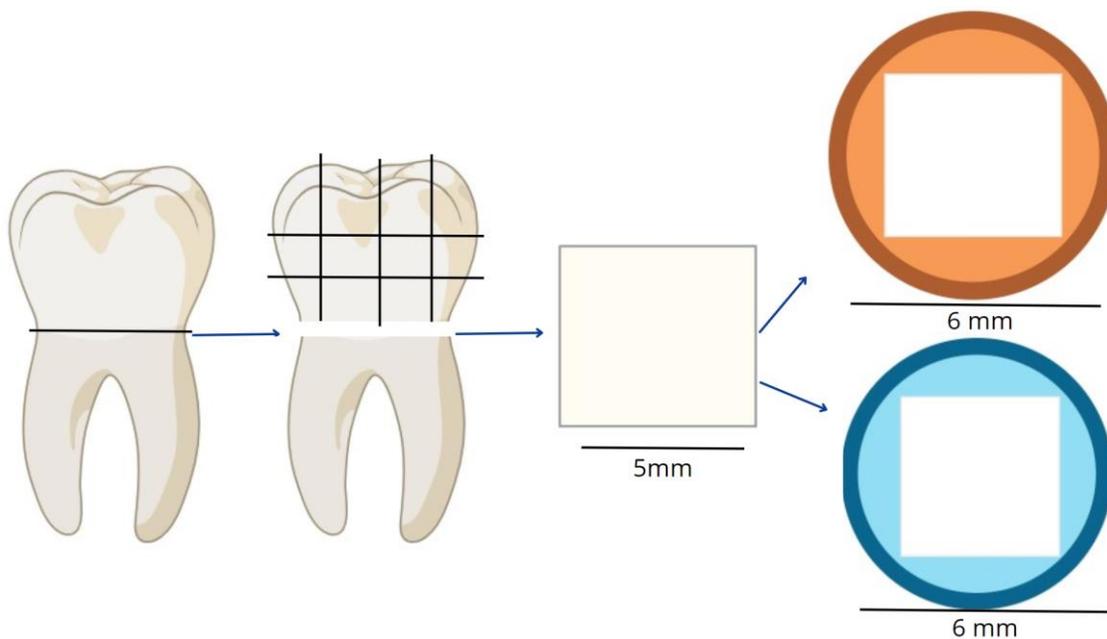


Figura 5: Obtención de muestras.

Fuente propia.

## FASE DESMINERALIZANTE.

Las muestras fueron sometidas a una fase de desmineralización basada en la metodología establecida por García y Cols (47). Siendo sumergidas en una solución desmineralizante constituida por 1.5 mM Cloruro de Calcio ( $\text{CaCl}_2$ ), 0.9 mM Fosfato Monopotásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), 150 mM de Cloruro de Potasio ( $\text{KCL}$ ) y 0.1 mM de acetato de sodio, con un pH de 4.5.

Los especímenes fueron sumergidos en 15ml de solución desmineralizante durante 360 horas a 37°C con una agitación constante de 100 rpm.

Se realizó cambio de la solución cada 72 horas, realizando enjuague con agua bidestilada entre cada ciclo de desmineralización. Se verificó el PH de la solución desmineralizante a 4.5, mediante un calibrador Thermo®, previo a cada ciclo de cambio. Una vez terminado el ciclo desmineralizante, se realizó la evaluación por SEM de los especímenes para verificar la presencia de un patrón de desmineralización. En la imagen 2.0 y 2.1, se puede verificar la obtención de

patrones de grabado I, II y III de acuerdo con Meléndez (48), garantizando la desmineralización de la superficie adamantina.



Figura 6: Fase desmineralizante.

Fuente propia.

## CARACTERIZACIÓN DE NANOHIIDROXIAPATITA.

Las partículas de nanohidroxiapatita fueron obtenidas del Laboratorio de Nanoestructuras y biomateriales de la Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad León, ENES UNAM, las cuales fueron sintetizadas a partir del método hidrotermal, por parte del programa postdoctoral a cargo de la Dra. Dulce Araceli Guzmán Rocha, utilizando la siguiente metodología:

- 1: Disolución en 30ml de agua desionizada, 4.98g de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$
- 2: Disolución en 30ml de agua desionizada de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- 3: Incorporación de  $(\text{NH}_2)\text{HPO}_4$  gota a gota con un ritmo de agitación de 250 RPM durante 10 minutos.
- 4: Verificación de PH alcalino.
- 5: Realizar 6 lavados con agua desionizada.
- 6: Realizar el secado a  $80^\circ\text{C}$  durante 12 horas.
- 7: Realizar calcinación a  $500^\circ\text{C}$  por 3 horas.

Una vez obtenido los polvos de nanohidroxiapatita se llevó a cabo la caracterización de los mismos, a partir de la evaluación con SEM (Figura 7), espectroscopia infrarroja (Figura 8) y difracción de rayos X (Figura 9).

Demostrando la pureza de los cristales obtenidos, el contenido mineral de los mismos, la morfología de los cristales y el tamaño de partícula, obteniendo un tamaño promedio de 20-50nm.

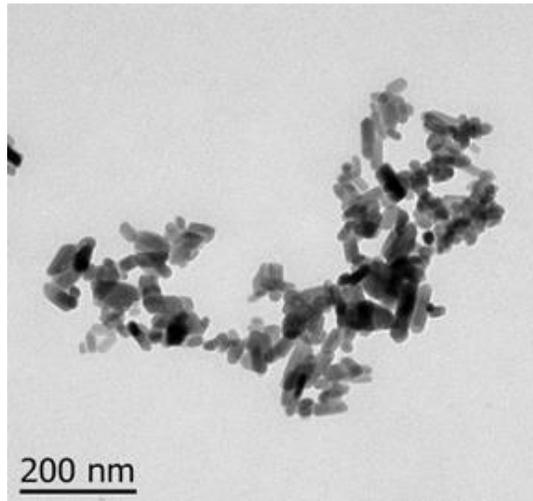


Figura 7: Caracterización del tamaño de partícula en SEM de partículas de nanohidroxiapatita

Fuente propia.

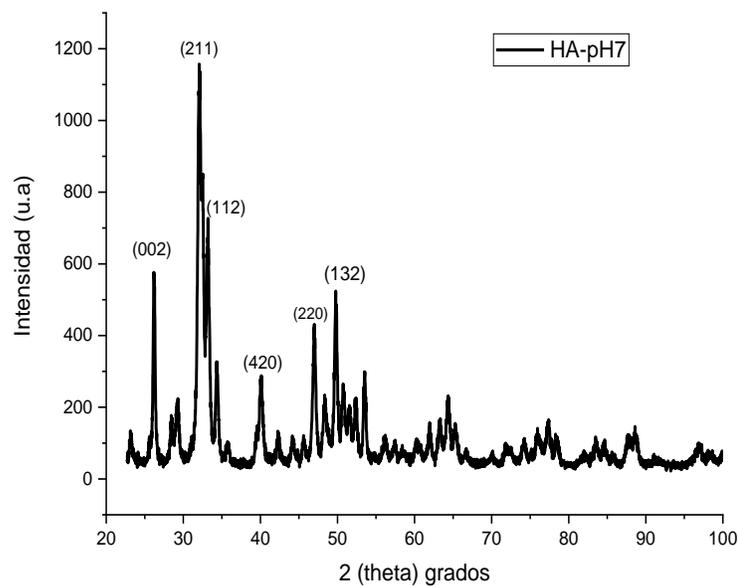


Figura 8: Espectro de difracción de rayos X del polvo obtenido de la síntesis de nanohidroxiapatita.

Fuente propia.

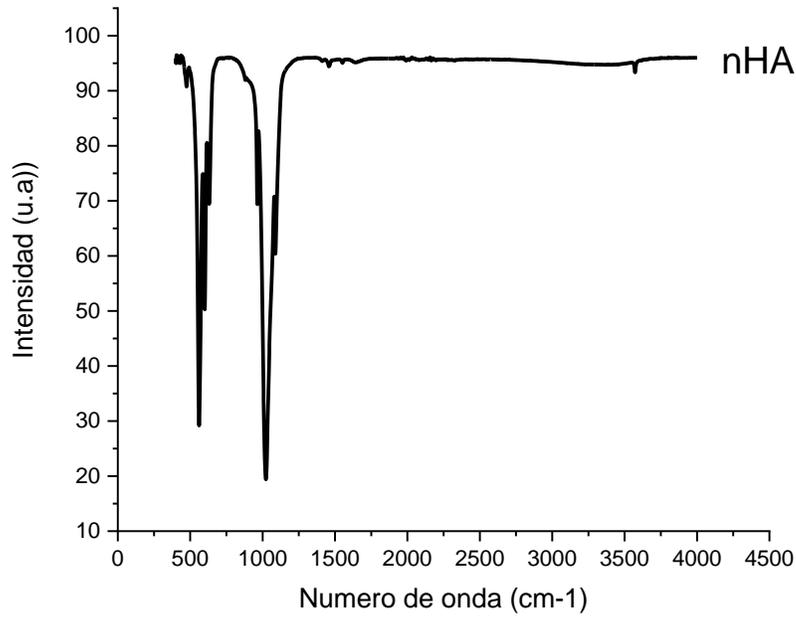


Figura 9: Evaluación por espectroscopia infrarroja de los polvos de hidroxiapatita.

Fuente propia.

## FASE REMINERALIZANTE

Una vez realizada la caracterización de los cristales de nanohidroxiapatita, se determinó su aplicación en dos soluciones remineralizantes, a una concentración de 1% y 3% de los polvos de nanohidroxiapatita basado en 100 ml de agua desionizada respectivamente realizando la siguiente metodología (Figura 10).

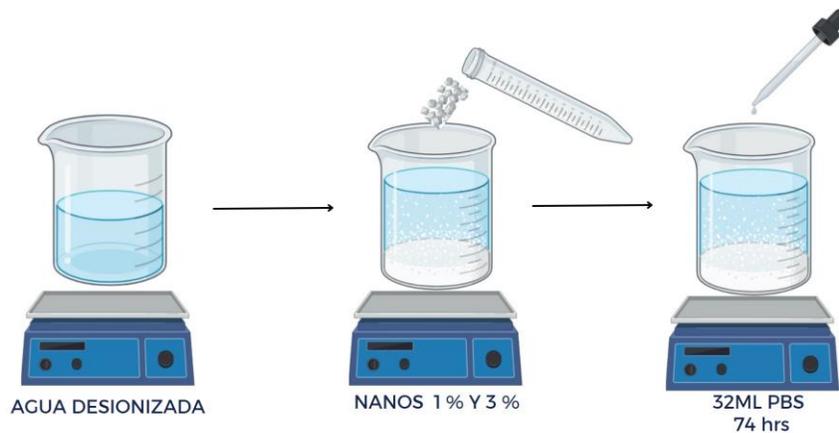


Figura 10: Preparación de soluciones remineralizantes.

Fuente propia.

### **SOLUCIÓN REMINERALIZANTE AL 1%**

- 1) Incorporación de 0.5 mg de polvos de nanohidroxiapatita a 100 ml de agua desionizada.
- 2) Agitación a temperatura ambiente a 100 RPM durante 10 minutos para permitir integración.
- 3) Incorporación de 32 ml de PBS. Para favorecer la redispersión de las partículas.
- 4) Mantener agitación a temperatura ambiente durante 74 horas a 100 RPM.

### **SOLUCIÓN REMINERALIZANTE AL 3%**

- 1) Incorporación de 1.5 mg de polvos de nanohidroxiapatita a 100 ml de agua desionizada.
- 2) Agitación a temperatura ambiente a 100 RPM durante 10 minutos para permitir integración.
- 3) Incorporación de 32 ml de PBS. Para favorecer la redispersión de las partículas.

4) Mantener agitación a temperatura ambiente durante 74 horas a 100 RPM.

Una vez completado el ciclo de 74 horas, se verificó la ausencia de aglutinados en las soluciones. Se obtuvo dos soluciones lechosas con partículas dispersas libres de aglutinados, las cuales fueron utilizadas en la fase remineralizante.

## **FASE DE REMINERALIZACIÓN.**

Los especímenes fueron separados en 3 grupos para someterlos al proceso de remineralización:

Grupo 1	N: 30	Sol. Remineralizante 1%
Grupo 2	N: 30	Sol. Remineralizante 3%
Grupo 3	N: 30	Agua desionizada

Tabla 3: Grupos experimentales.

Fuente propia.

Los especímenes del grupo 1 y 2 fueron sumergidos en 15 ml de solución remineralizante al 1% y 3% respectivamente durante 360 horas a 37°C, con agitación constante de 100 RPM. Los especímenes del grupo 3, se colocaron en agua desionizada durante 360 horas a 37°C, con agitación constante de 100 RPM. No se realizó cambios en la solución remineralizante durante todo el ciclo remineralizante.

Una vez terminado el periodo de inmersión se inició la evaluación del potencial remineralizante.

## **RESULTADOS.**

### **EVALUACIÓN DE LA REMINERALIZACIÓN POR SEM**

Los especímenes previamente tratados bajo una concentración al 1 y 3% con partículas de nanohidroxiapatita fueron sometidos a diversas pruebas para

verificar su potencial de remineralización. Entre ellas la evaluación por SEM, realizada en la unidad UNAM Juriquilla, dentro del área de geología. Se realizó la evaluación de cuatro grupos: 1) Grupo sin tratar 2) grupo desmineralizado y los dos grupos experimentales de remineralización 3) 1% NHa y 4) 3% NHa.

En la Figura 11 se verifican las superficies a 100x. En el apartado A, se verifica una superficie parcialmente homogénea, lisa y con evidencia de algunas fisuras irregulares, no se evidencian fositas o depresiones, haciendo referencia a una superficie de esmalte dental innato. En el apartado B, se evidencia un patrón de desmineralización tipo II, III y IV de acuerdo con Meléndez (48) presente en diversos cuadrantes de la muestra. En el apartado C, se evidencia zonas de desmineralización patrón I de forma irregular, con depresiones que evidencian el centro del prisma del esmalte, así mismo se verifican zonas homogéneas, en el cuadrante superior derecho y superior izquierdo. Igualmente se verifican partículas presuntivas de nanohidroxiapatita. Evidenciando un proceso de remineralización parcial. En el apartado D, se determina una superficie homogénea libre de depresiones, no se evidencia erosión de los prismas del esmalte. De la misma forma se verifican partículas similares a las partículas de nanohidroxiapatita. Evidenciando un proceso de remineralización superficial, aún después de ser sometidas a vibración.

En la Figura 12, podemos verificar los diferentes estadios de las muestras a 2.500x. En el apartado A observamos, una superficie de esmalte intacto, con una superficie lisa, muestra la presencia de ligeras depresiones que nos muestran irregularidad en la superficie externa del esmalte innato.

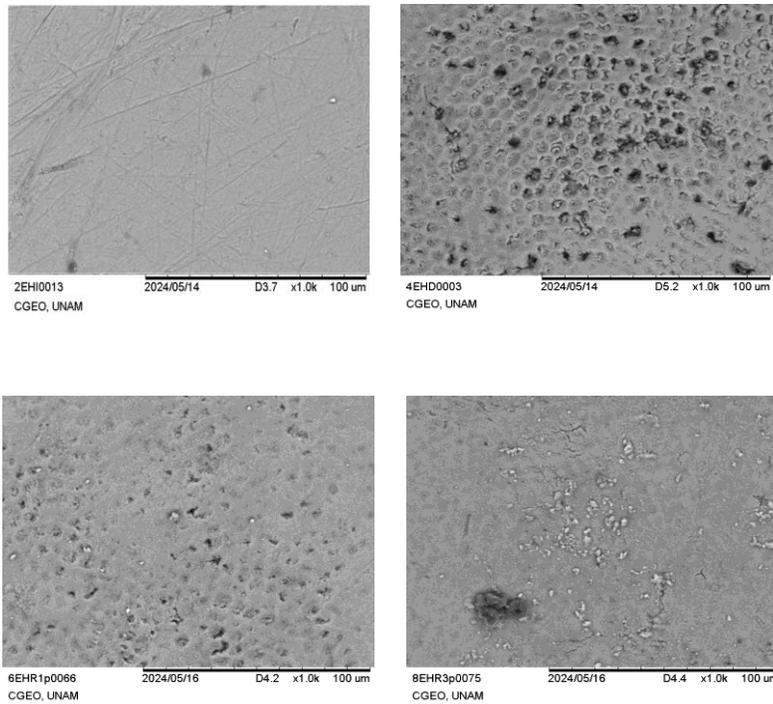


Figura 11: Diferentes estadios de la superficie tratada a 1,000X  
 A) Superficie esmalte intacto. B) Superficie desmineralizada. C) Superficie remineralizado con nano HAp 1%. D) Superficie remineralizado con nano HAp 3%

Fuente propia.

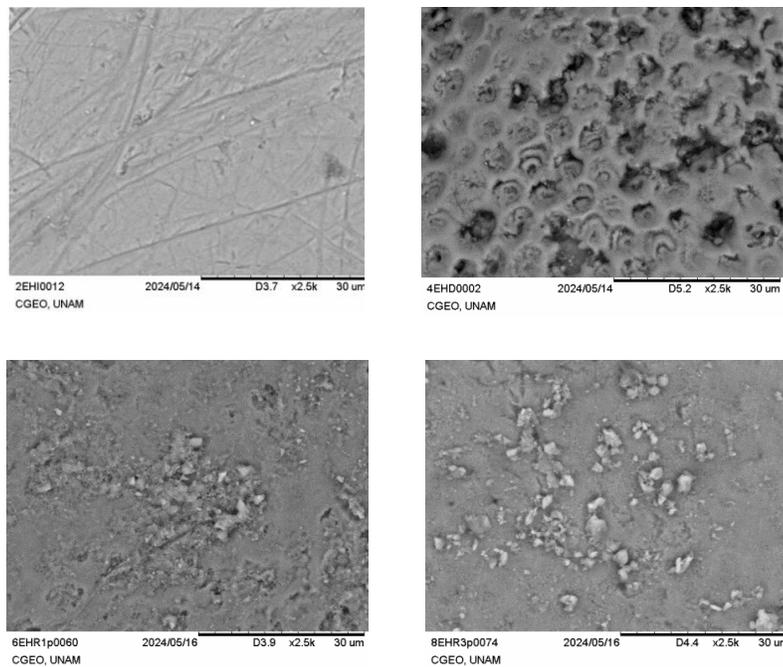


Figura 12: Evaluación en SEM a 2,500X  
 A) Superficie esmalte intacto. B) Superficie desmineralizada. C) Superficie remineralizado con nano HAp 1%. D) Superficie remineralizado con nano HAp 3%

Fuente propia.

En el aparato B, podemos verificar el patrón de desmineralización Tipo III y tipo IV de acuerdo con Meléndez (48). Que es caracterizado por depresión central con márgenes prominentes, posterior a ser sometido a la fase desmineralizante *in vitro*. En el apartado C, Patrón de remineralización, se verifican zonas lisas sin homogeneidad. En los cuadrantes superiores izquierdo se verifican depresiones en las superficies, así mismo en la zona inferior derecha, en todos los cuadrantes se evidencian partículas semejantes a nanohidroxiapatita; Evidenciando una remineralización parcial. En el apartado D, se verifica un patrón de remineralización superficial completo, identificando una superficie homogénea, con ausencia de grietas y fisuras en todos los cuadrantes, así mismo se asocia la presencia de partículas semejantes a hidroxiapatita en todos los cuadrantes.

### **EVALUACIÓN DE LA REMINERALIZACIÓN POR EDS.**

La composición química se realiza en las 4 muestras para calcular un valor individual y valor promedio de las proporciones de Ca/P; los resultados se muestran en la tabla 4. Así mismo se verifica el análisis por elemento de Calcio y fósforo de cada muestra en las figuras 13,14,15 y 16.

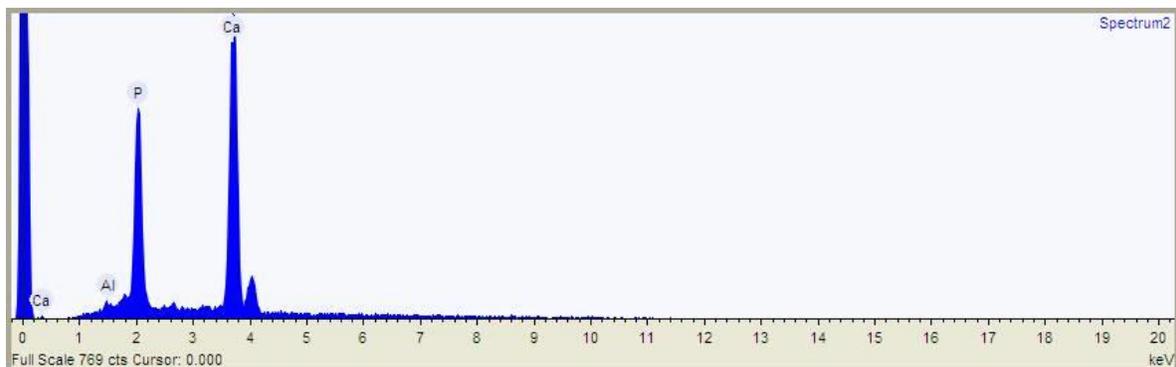


Figura 13: EDS, Esmalte humano intacto.

Fuente propia.

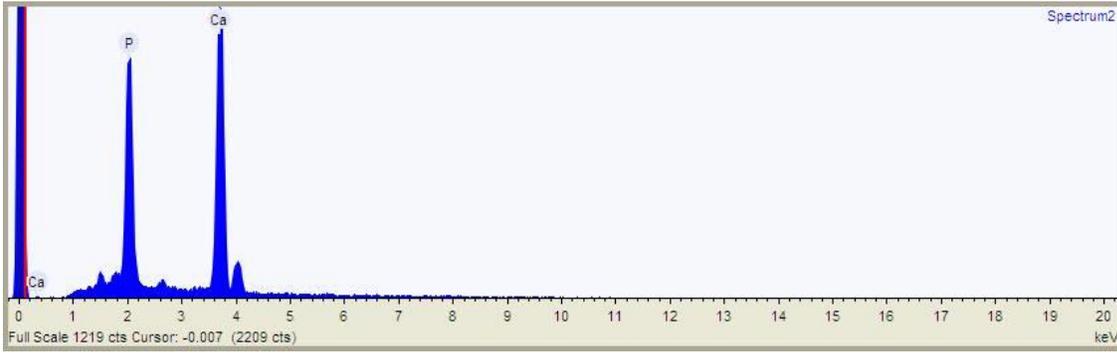


Figura 14: EDS, Esmalte humano desmineralizado

Fuente propia.

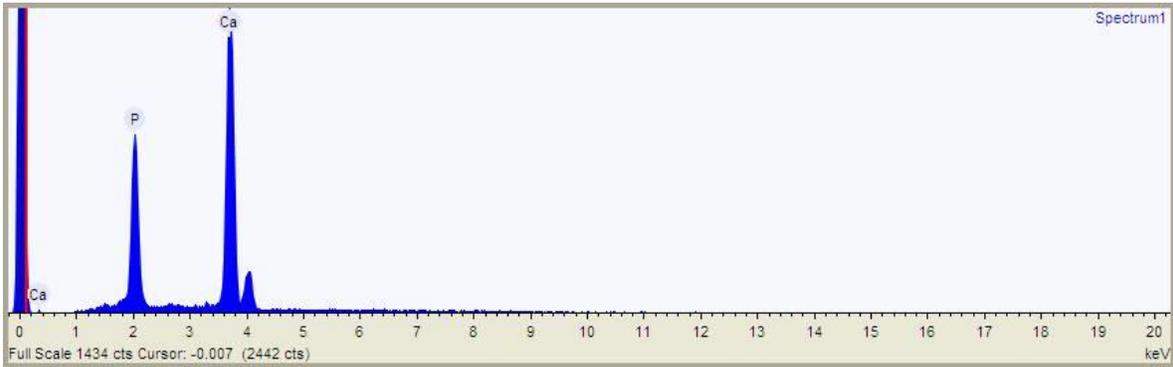


Figura 15: EDS, Esmalte humano remineralizado 1%

Fuente propia.

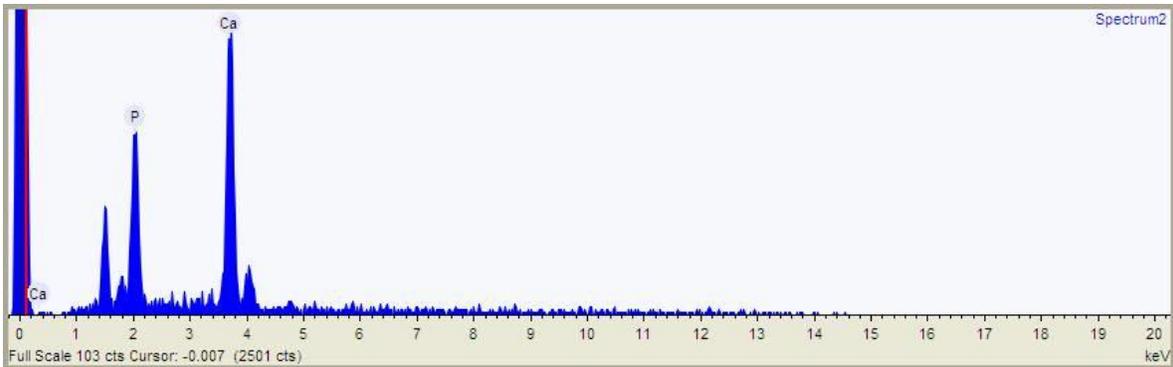


Figura 16: EDS, Esmalte humano remineralizado 3%

Fuente propia.

ESPECIMEN	[ ] P	[ ] Ca
Intacto	28.8	70.3
Desmineralizado	31.7	64
Remineralizado 1%	25.5	74.5
Remineralizado 3%	24.5	64.7

Tabla 4: Porcentaje de cada elemento en peso de las muestras analizadas.

Fuente propia.

De acuerdo con los resultados anteriores se verifica la presencia de iones calcio y fosfato en todas las muestras. Se evidencia una pérdida mineral de ion calcio de 8.07% y una ganancia de ion fosfato de 10.06% en las muestra desmineralizadas, en comparativa con los valores del diente sin tratar. Por su parte el grupo experimental al 1% logra recuperar y aumentar el contenido de calcio 5.9%, por el contrario, el contenido de fosfato se mantiene 11.46% más bajo que el contenido inicial. Sin embargo, es el grupo experimental que tiene mayor aproximación a los valores del diente sin tratar, mostrando una efectividad en el proceso de remineralización mayor en comparativa con el grupo al 3%. El grupo experimental al 3% presenta valores del ion calcio 7.2% más bajos que el contenido inicial, de la misma forma el ión fosfato se presenta con un 14.94% de contenido más bajo que el inicial. Si bien, se presenta un aumento en las concentraciones de ambos iones, los valores son más alejados a la comparativa de los valores del diente sin tratar

## EVALUACIÓN DE LA REMINERALIZACIÓN POR DIFRACCIÓN DE RAYOS X

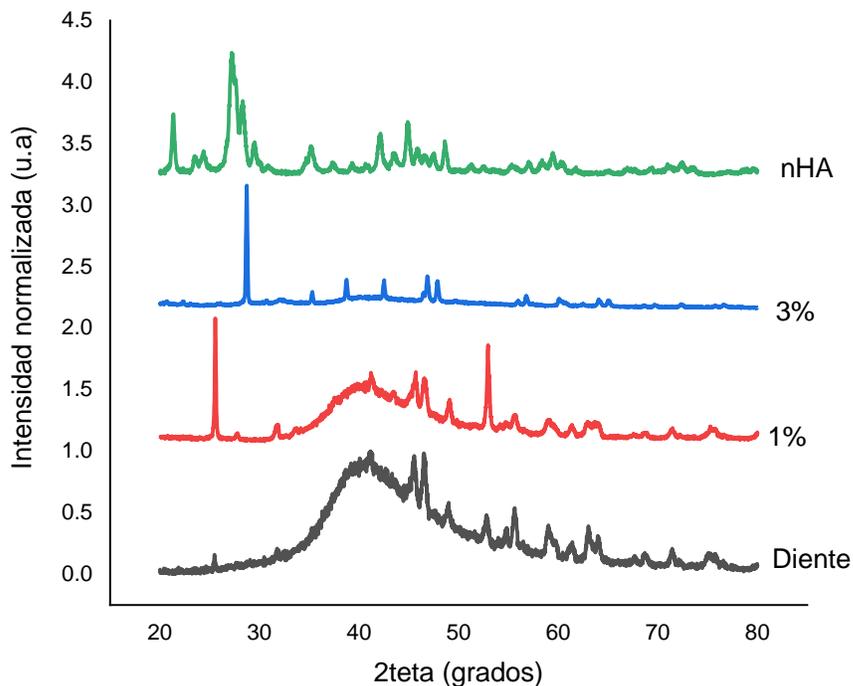


Figura 17: Difracción de rayos X de las muestras evaluadas.

Fuente propia.

En la figura 17, Podemos observar los patrones de difracción de rayos X de las muestras evaluadas. De color negro se evidencia el patrón de una muestra de diente sin tratar, verificamos la presencia de componentes cristalinos, así mismo la presencia de un pico ancho y con poca intensidad, indicando la presencia de otras apatitas dentro de su composición siendo subjetivo de la presencia de fluoroapatita. En la muestra remineralizada al 1%, mostrada en la gráfica de color rojo, se evidencia la presencia de picos más amplios y bajos, indicando una similitud comparable con el diente sin tratar, siendo sugerente de que durante el proceso de remineralización, la concentración al 1% logro obtener una conformación cristalina similar al diente inicial, en el cual se indica no solo la presencia de hidroxiapatita, sino que también es subjetivo a la presencia de otras apatita dentro de la nueva capa superficial formada. En la muestra del 3%, marcada de color azul, se indica mayor contenido cristalino semejante a la hidroxiapatita, mostrando la presencia de picos más altos y estrechos con una anatomía estructural semejante a la mostrada en la gráfica de color verde, siendo la configuración estructura de los polvos de hidroxiapatita. Estos resultados son indicativos de una capa superficial con mayor contenido de hidroxiapatita en

comparativa con el diente inicialmente evaluado donde la hidroxiapatita es parte de su configuración, mas no es el componente exclusivo.

Así mismo se realiza la comparativa de difracción con la muestra de los polvos de nanohidroxiapatita iniciales, verificando un patrón de difracción con picos muchos más estrechos indicando la presencia de las partículas de forma nanométrica exclusivamente. Finalmente se puede concluir, que la presencia de nanopartículas en concentración al 1% mejora la conformación y organización cristalina de la superficie del esmalte; Generando una remineralización con una capa superficial cuyas características estructurales son similares a la capa de esmalte del diente no tratado

### **EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE IONES DE Ca.**

Se realizó la evaluación selectiva del ión calcio dentro de las muestras tratadas. La evaluación se realizó con un electrodo selectivo a iones de calcio (PCL-1-01) de la marca OZIVO ®. La evaluación se realizó mediante la técnica de adición estándar con la siguiente metodología:

#### **OBTENCIÓN DE CURVA DE CALIBRACIÓN**

Se realizó una curva de calibración a partir de la obtención de tres lecturas previas con una solución conocida de calcio.

1. Se agregó 500mg de cloruro de calcio a 500ml de agua bidestilada
2. Se realizó agitación constante durante 15 minutos hasta que se logró una solución homogénea. La solución obtenida fue la solución madre.
3. Se realizaron dos soluciones provenientes de la solución madre al 50%, 25% y al 10%.
4. El electrodo se mantuvo sumergido durante 30 minutos en la solución madre previo al primer registro.
5. El electrodo fue conectado a un potenciómetro de la marca Thermo ®, y los registros fueron tomados en mV, Mv y Ph.
6. Se realizaron tomas de los valores de calcio de las tres soluciones y los valores obtenidos están registrados en la gráfica 5.0

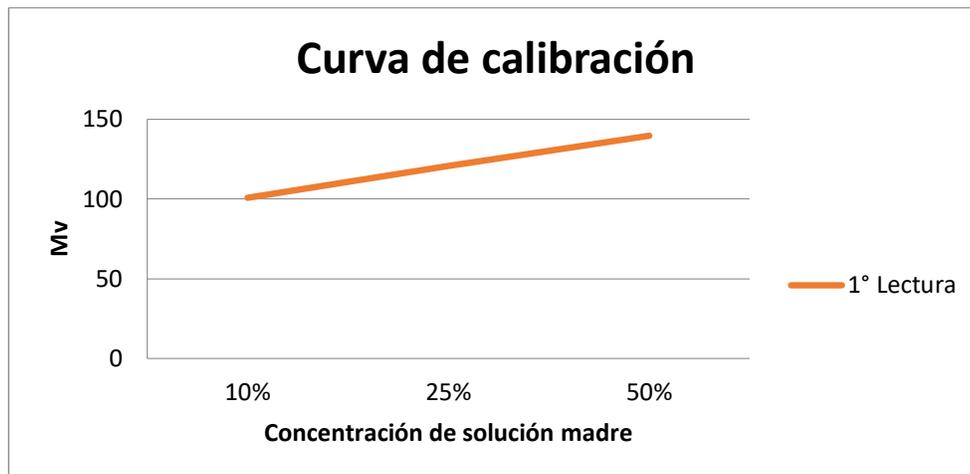


Figura 18: Curva de calibración para la evaluación selectiva de calcio.

Fuente propia.

Una vez obtenida la curva de calibración se procedió a realizar las evaluaciones de las concentraciones de calcio de la muestra. La técnica para la obtención de los valores de calcio utilizada fue la de adición estándar presentada a continuación.

1. Las muestras fueron sumergidas individualmente durante 2 horas en 20 ml de agua destilada a una temperatura ambiente.
2. Se realizó la toma de medida inicial del líquido en cada muestra, los valores se obtuvieron en un tiempo aproximado de 1-1:30 minutos cada toma.
3. Se agregaron 10 ml de solución madre al líquido inicial.
4. Se verificó un aumento de 20 a 30 mV en los valores mostrados en el potenciómetro.
5. Una vez estabilizados los valores del potenciómetro, se realizó la toma de la lectura. Tiempo aproximado de la toma 2 minutos.





Figura 19: Método de adición estándar

Fuente propia.

Una vez obtenidos los valores de los 5 grupos evaluados, se realizó la sustitución de los valores en la siguiente ecuación:

$$C_p = \frac{C_s \left( \frac{V_s}{V_p + V_s} \right)}{10^{\frac{E_{ps} - E_p}{S}} - \left( \frac{V_p}{V_p + V_s} \right)}$$

$C_p$  = concentración de calcio en la muestra

$C_s$  = concentración de calcio en la disolución patrón

$V_p$  = volumen de la muestra (ml)

$V_s$  = volumen de la disolución patrón añadida (ml)

$E_p$  = potencial medido en la muestra (mV)

$E_{ps}$  = potencial medido en la muestra enriquecida (mV)

Los resultados obtenidos fueron representados en la siguiente gráfica:

## EVALUACIÓN SELECTIVA ION CALCIO

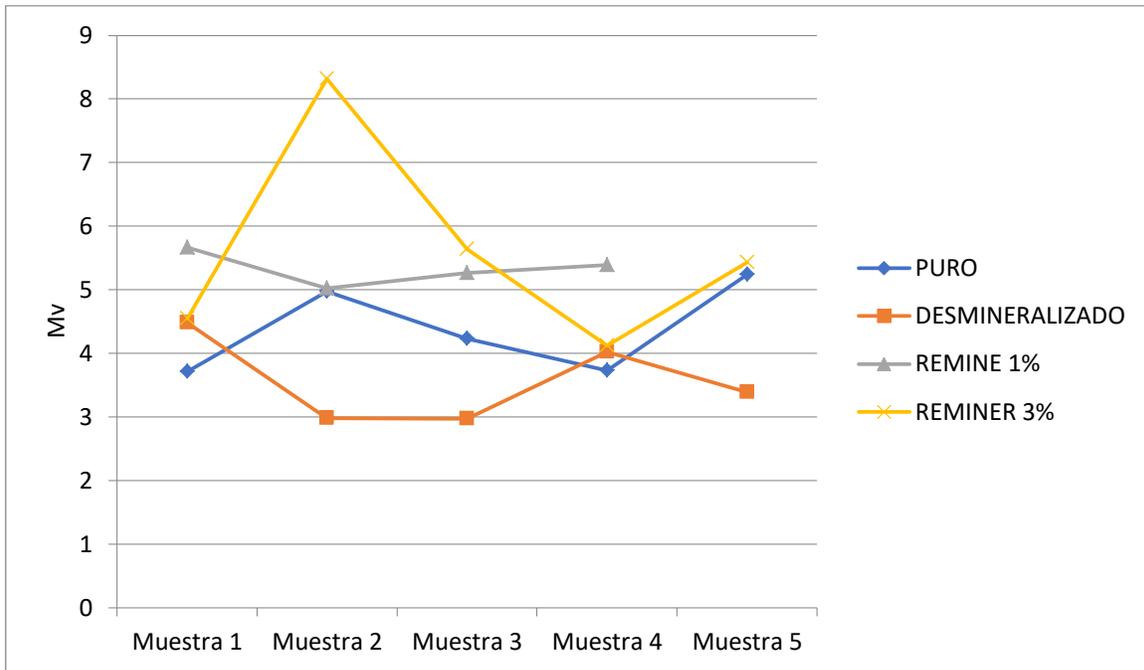


Figura 20: Evaluación selectiva de calcio de las muestras evaluadas.

Fuente propia.

La gráfica anterior confirma la presencia de iones calcio en las muestras evaluadas. En el diente desmineralizado se observa un aumento de la concentración de calcio, atribuido a la precipitación de iones liberados durante el proceso de desmineralización.

En ambos grupos remineralizados se registra una disminución en la concentración de calcio, ya que los iones se integran estructuralmente en los cristales de nanohidroxiapatita. Sin embargo, la solución al 1% muestra niveles de calcio más cercanos a los presentes en el diente no tratado, sugiriendo mejores propiedades remineralizantes.

Por otro lado, en la solución al 3%, el aumento en la concentración de calcio parece estar relacionado con la cantidad de polvo en la disolución. No obstante, los valores obtenidos son significativamente mayores que los del diente no tratado, lo que sugiere una posible sobresaturación de iones calcio en el medio

## DISCUSIÓN

Este estudio condicionó a la nanohidroxiapatita como agente remineralizante de lesiones cariosas iniciales, utilizando un modelo de estudio in vitro y realizando la evaluación de dos concentraciones de nanohidroxiapatita. Durante la realización del proceso de remineralización se planteó la utilización de factores que simularan el entorno del sistema oral, tal como la temperatura, para poder pronosticar la aplicación en escenarios in vivo. Los resultados anteriormente expuestos confirman la capacidad de la nanohidroxiapatita de generar la remineralización del esmalte con efectos mejorados en una concentración al 13%.

Obteniendo resultados que respaldan lo publicado por Huang en el 2009 (21), en el cual determina que a mayor concentración de nanopartículas de hidroxiapatita en la solución, mayor es el efecto en la remineralización. Si bien, Huang (21) nos muestra resultados en dientes bovinos, estos muestran resultados favorables a partir de la evaluación de la microdureza inicial, posterior a la desmineralización y posterior a la fase remineralizante, utilizando un ciclo de cambio en el pH de las soluciones simulando el proceso des-re. El afirma que una concentración del 10% de nanopartículas genera resultados favorables, sin cambios significativos comparados con la solución al 15%. Y hace mención de la capa superficial depositada sobre el esmalte indicando la similitud con “una nueva capa superficial”. Esta metodología (Huang 2009 (21)) indica que la utilización de una solución acuosa basada en nanohidroxiapatita es efectiva para la remineralización a partir una concentración del 10% de su peso. Sin embargo, en nuestra evaluación in vitro, podemos verificar efectos positivos de remineralización en ambos grupos experimentales, del 1% y 3%. Si bien en los resultados expuestos de nuestra concentración más baja vemos una remineralización incompleta, los resultados de nuestra evaluación en una concentración al 3% nos indican una efectividad para la remineralización completa de las lesiones iniciales. Sin embargo es necesario realizar algunos estudios que nos permitan determinar la mínima concentración efectiva para lograr remineralización en esmalte dental humano y así mismo poder determinar a partir de que concentración el efecto llega a una meseta terapéutica. Esto con la finalidad de optimizar las diferentes preparaciones remineralizantes, maximizando su uso.

Tschoepe en 2011 (11), nos indica una relación proporcional positiva entre el valor de pH de la solución remineralizante y un mayor efecto en la remineralización superficial, aplicable en esmalte y dentina bovinas. Él realizó pruebas comparando pastas dentales fluoradas, pastas con nanohidroxiapatita y pasta con nanohidroxiapatita / carbonato de Zinc. Y nos expone que de acuerdo con el PH de las disoluciones de la pasta, se genera un mayor efecto remineralizante en las lesiones superficiales a partir de un pH 5.5, sus resultados se basan en la ganancia y pérdida mineral evaluada con microradiografías.

A partir de lo expuesto anteriormente se puede relacionar el potencial remineralizante de nuestras soluciones experimentales a su valor de pH, esto debido a que el valor de las soluciones se encontró en 6.09 y 6.23 respectivamente. Estos valores pueden ser un factor sugerente, que nos ayuda a comprender la efectividad de la actividad remineralizante en los grupos experimentales. Asimismo, es importante conocer que el pH de las soluciones logró mantenerse sin modificaciones 90 días posteriores a su preparación. Estos datos nos brindan información sobre la estabilidad de la solución y sus posibles aplicaciones clínicas permitiendo una almacenaje de forma segura.

Así mismo se comprueba la relación entre el tamaño de partícula de las nanopartículas y el potencial de remineralización. Tal como lo afirma Subramani en el 2019 (1), uno de los pilares para la obtención de la remineralización del esmalte está relacionado con el tamaño de partícula, él nos establece un margen de 20 – 60 nm para poder obtener un patrón de remineralización adecuado. El tamaño de partícula utilizado en nuestro estudio abarca un patrón de medida de 20 a 50 nm de acuerdo con los resultados obtenidos a partir de su caracterización. Por lo que se comprueba lo expuesto por Tschoepe, favoreciendo el proceso remineralizante a partir del control en el tamaño de la partícula utilizada. A menor escala, mejor es el patrón remineralizante.

Asi mismo LI y Cols en 2008 (42), apoyan la importancia del uso del tamaño de partícula a partir de 20 nm mostrando analogía con el tamaño de partícula nativo. Descartando la posibilidad de generar remineralización a partir de hidroxiapatita comercial. Durante nuestra experimentación podemos afirmar su teoría; La remineralización con partículas nanométrica permite mantener la capa superficial posterior a un protocolo de ultrasonido, manteniendo a las nanopartículas en la

superficie adamantina. Esto se logró evidenciar al comprobar con nuestros resultados en SEM donde observamos las partículas de nanohidroxiapatita formando una capa superficial a pesar de ser sometidas a una agitación constante de 100 RPM durante 360 horas del proceso remineralizante. Asegurando la viabilidad de unión de las partículas nanométrica con la superficie adamantina brindando estabilidad a la formación de la capa superficial.

El describir el proceso remineralizante con nanopartículas, es importante considerar dos implicaciones principales, el primero es la capacidad de adaptación de las partículas nanométrica a los defectos nanoscópicos del esmalte, generando una capacidad de unión y reconstrucción de las imperfecciones superficiales, siendo de suma importante lo antes mencionado sobre el tamaño de partícula. Así mismo las nanopartículas cuentan con la capacidad de ser reservorio de iones remineralizantes, lo que favorece la sobresaturación del medio permitiendo una liberación lenta de los iones, favoreciendo la fase remineralizante (1). Se mantiene un preámbulo para evaluaciones post – remineralización; Ya que como anteriormente lo ha expuesto Li (42), las superficies tratadas con nanohidroxiapatita al ser sometidas a un protocolo ácido por debajo de 4.5 de pH, no solo evitan la aparición de la lesión inicial al evitar la pérdida mineral, sino que la capa superficial nanométrica se mantiene intacta aun y con una fase desmineralizante. Sería un factor importante determinar el mantenimiento de la capa nanométrica superficial a largo plazo y determinar su efectividad a lo largo del tiempo.

Finalmente es importante mencionar el papel que juegan las partículas de nanohidroxiapatita posterior a la remineralización dentro de la estructura dental. Diversos autores como Lu (49) y Meng (50), han demostrado la capacidad de la nanohidroxiapatita para reducir considerablemente el riesgo a desarrollar caries dental. Así lo expuso Meng & Cols (50), en una evaluación realizada en 4 cepas bacterianas, *S mutans*, *S. sanguis*, *Actinomyces viscosus* y *Lactobacillus rhamnosus*, a partir de la exposición con diversos medios; Entre ellos partículas nanométrica de hidroxiapatita con diferente morfología, se pudo evidenciar una disminución en el grosor de la biopelícula adquirida generada en las muestras tratadas con nanohidroxiapatita, además se pudo evidenciar un mínimo patrón de desmineralización posterior a una fase ácida, encontrando efectos mayores en las

partículas de nanohidroxiapatita esféricas. Lo expuesto anteriormente se sustenta a partir de la capacidad de las partículas nano de hidroxiapatita de interactuar con las proteínas bacterianas y los glucanos presentes en el *biofilm* y generar modificación en la adhesión o enlentecer sus procesos de reacciones ácidas. Esto nos brinda un gran panorama que nos permite no solo asegurar el proceso de remineralización de las lesiones existentes, sino mantener el control a futuro para la prevención de nuevas lesiones. Actualmente sabemos que los procesos de remineralización y prevención de lesiones cariosas van de la mano, a partir de las capacidades de las nanopartículas de hidroxiapatita, que le permiten suplir de manera significativa la pérdida de sales inorgánicas en los dientes desmineralizados, gracias a su activa interacción química y orgánica. Al tener una estructura muy similar a la hidroxiapatita nativa dental, sumada a sus propiedades nanométrica, el nano-HA mejora la capacidad de rellenar defectos y micro poros en el esmalte dental. Además, el nano-HA puede inhibir el crecimiento y metabolismo acidogénico de las bacterias responsables de las caries, contribuyendo a la remineralización de los dientes desmineralizados, lo que ayuda a prevenir y evitar la aparición de lesiones cariosas.

## **CONCLUSIÓN**

La implementación de la nanotecnología en el campo de la salud, y en particular en la odontología, abre un camino prometedor para el desarrollo de materiales bioactivos que limiten el daño en las estructuras orgánicas. En este estudio, se utilizaron nanopartículas de hidroxiapatita, demostrando un aumento en el contenido mineral, en las evaluaciones cualitativas y cuantitativas de las muestras tratadas de dientes humanos extraídos. Se comprobó la capacidad de la nanohidroxiapatita para generar remineralización en la superficie del esmalte a partir de una modificación en su conformación elemental y estructural contrarrestando la pérdida mineral. Además, se evidenció que las partículas de nanohidroxiapatita favorecen la preservación de la integridad superficial de la capa adamantina in vitro, figurando la limitación la formación de nuevas lesiones cariosas in vivo. Finalmente es importante mencionar que esta estrategia representa un método simple y eficaz para limitar el daño el esmalte dental

afectado por la pérdida de minerales, especialmente en situaciones donde el acceso a la atención dental es limitado.

#### PERSPECTIVAS A FUTURO.

Los resultados comprobados en este estudio buscan sentar las bases para una mayor profundización en el uso e implementación de nano materiales en el ámbito odontológico. Se identifican varios aspectos clave que requieren un análisis más detallado para desarrollar nuevos enfoques y paradigmas en este campo.

- Establecer la métrica de penetración máxima de las nanopartículas en esmalte.
- Determinar la sustentabilidad de las nanopartículas para el efecto anti-caries.
- Verificar efectividad en defectos cualitativos y cuantitativos del esmalte dental.
- Aplicación en vehículos que permitan y optimicen su uso en el área odontológica.

## REFERENCIAS:

1. Subramani K & Ahmed W. nanobiomaterials in clinical dentistry. 2a Edición. Elsevier España, S.L.U.; 2019. 647 p.
2. Pepla E. Nano-hydroxyapatite and its applications in preventive, restorative and regenerative dentistry: a review of literature. *Ann Stomatol (Roma)*. 2014;108–14.
3. Gómez de Ferraris M-E, Campos-Muñoz A. Histología, embriología e Ingeniería Tisular Bucodental. Vol. 4ta, Histología, Embriología en Ingeniería Tisular Bucodental. 2019. 456 p.
4. Pushpalatha C, Gayathri VS, Sowmya S V, Augustine D, Alamoudi A, Albar N, et al. Nanohydroxyapatite in Dentistry : A Comprehensive Review w e i v r e w e i v r e. 2022;
5. Schwarz, F Bieling K, Latz T N& BJ. Healing of intrabony peri- implantitis defects following application of a nanocrystalline hydroxyapatite (Ostimt)or a bovine-derived xenograft (Bio-Osst) in combination with a collagenmembrane(Bio-Gidet). A case series. *J Clin Periodontol*. 2006;63(7):491–500.
6. WHO. Global oral health status report. Vol. 57, Dental Abstracts. 2022.
7. Sampaio FC, Böneckerm M, Paiva SM, Martignon S, Filho APR, Pozos-Guillen A, et al. Dental caries prevalence, prospects, and challenges for Latin America and Caribbean countries: a summary and final recommendations from a Regional Consensus. *Braz Oral Res*. 2021;35(c):1–15.
8. SIVEPAB. Sistema de vigilancia epidemiológica de patologías bucales. Resultados 2019. *Sivepab*. 2019;23–78.
9. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. Policy and Practice The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ*. 2005;83(9).
10. Organización Mundial de la Salud. Poner fin a las caries dental en la Infancia: manual de aplicación de la OMS. [Internet]. 2021. 80 p. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/340445/9789240016415-spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
11. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent [Internet]*. 2011;39(6):430–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2011.03.008>
12. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3(May).

13. MacHiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* 2020;54(1):7–14.
14. OMS. Asamblea Mundial De La Salud 2021 Salud Bucodental. 2021;1–5. Available from: [https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf\\_files/WHA74/A74\\_R5-sp.pdf](https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA74/A74_R5-sp.pdf)
15. Castellanos JE, Alejandra G, Rubio C, Bosque E, Bosque E. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental Enamel Remineralization under the Current Caries Understanding. *Univ Odontol.* 2013;32(69):49–59.
16. Pitts NB, Ismail AI, Martignon S, Ekstrand K, Douglas G, Longbottom C. Guía de referencia rápida ICCMS™ para clínicos y educadores. *Int caries Classif Manag Syst.* 2014;1–12.
17. Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan V V., Eden E. Minimal intervention dentistry for managing dental caries - A review: Report of a FDI task group. *Int Dent J* [Internet]. 2012;62(5):223–43. Available from: <https://doi.org/10.1111/idj.12007>
18. Dirks OB, Houwink B, Kwant GW. The results of 6 1 2 years of artificial fluoridation of drinking water in The Netherlands. The tiel-Culemborg experiment. *Arch Oral Biol.* 1961;5(3–4):284–300.
19. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: Consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004;38(3):182–91.
20. Fusayama T. The process and results of revolution in dental caries treatment. *Int Dent J* [Internet]. 1997;47(3):157–66. Available from: <https://doi.org/10.1002/j.1875-595X.1997.tb00781.x>
21. Huang SB. Effect of nano-hydroxyapatite concentration on remineralization of initial enamel lesion in vitro. *Biomed Mater Eff.* 2009;4.
22. Fiume E, Magnaterra G, Rahdar A, Verné E, Bairo F. Hydroxyapatite for biomedical applications: A short overview. *Ceramics.* 2021;4(4):542–63.
23. Eliaz N, Metoki N. Calcium phosphate bioceramics: A review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications. *Materials (Basel).* 2017;10(4).
24. Haider A, Haider S, Han SS, Kang IK. Recent advances in the synthesis, functionalization and biomedical applications of hydroxyapatite: a review. *RSC Adv.* 2017;7(13):7442–58.
25. Best SM, Porter AE, Thian ES, Huang J. Bioceramics: Past, present and for the

- future. *J Eur Ceram Soc.* 2008;28(7):1319–27.
26. Abere DV, Ojo SA, Oyatogun GM, Paredes-Epinosa MB, Niluxsshun MCD, Hakami A. Mechanical and morphological characterization of nano-hydroxyapatite (nHA) for bone regeneration: A mini review. *Biomed Eng Adv [Internet].* 2022;4(June):100056. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bea.2022.100056>
  27. Davar F, Salavati-Niasari M, Mir N, Saberyan K, Monemzadeh M, Ahmadi E. Thermal decomposition route for synthesis of Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles in presence of a novel precursor. *Polyhedron [Internet].* 2010;29(7):1747–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.poly.2010.02.026>
  28. Sequeda LG, Díaz JM, Gutiérrez SJ, Perdomo SJ, Gómez OL. Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Rev Colomb Ciencia, Química y Farm Farm Unal [Internet].* 2012;41(1):50–66. Available from: [http://www.farmacia.unal.edu.co/unciencias/data-file/user\\_66/V41N1-04 -2012.pdf](http://www.farmacia.unal.edu.co/unciencias/data-file/user_66/V41N1-04 -2012.pdf)
  29. González-Tenorio R, Piña-Barba MC. Síntesis y caracterización de nanocristales de Hidroxiapatita obtenidos por el método de sol-gel [Internet]. 2012. Available from: <https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/20.500.14330/TES01000702543/3/0702543.pdf>
  30. Robles J, Elizabeth D, Avalos S, Selene N, García C, Lourdes M De. sol-gel y coprecipitación. 2017;
  31. Esguerra Arce A, Castro YA, Suarez LF, Aperador WA. *Revista Colombiana de Materiales N. 5 pp. 7-12 Edición Especial Artículos Cortos síntesis de hidroxiapatita por sol-gel usando ácido cítrico como solvente y citrato de calcio como precursor. :7–12.*
  32. C G. Síntesis de nanopartículas de Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub> Y Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> para el desarrollo de sólidos porosos de interés biomédico [Internet]. Vol. 1. 2009. Available from: [https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/70305/10772291.2009\\_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/70305/10772291.2009_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  33. Chávez-Güitron LE, Garrido-Hernández A, Salinas-Pérez F del C, García-Domínguez G. Evaluación in vitro de hemocompatibilidad en ha sintetizada hidrotermalmente. *pädi boletín científico ciencias básicas e ing del ICBI.* 2022;10(Especial7):139–44.
  34. Daas I, Badr S, Osman E. Comparison between fluoride and nano-hydroxyapatite in remineralizing initial enamel lesion: An in vitro study. *J Contemp Dent Pract.* 2018;19(3):306–12.
  35. Chaughule RS. Dental applications of nanotechnology. *dental applications of nanotechnology.* 2018. 1–277 p.

36. Wilson AD, Kent BE. A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. *Br Dent J.* 1972;132(4):133–5.
37. Thorwarth M, Schultze-Mosgau S, Kessler P, Wiltfang J, Schlegel KA. Bone regeneration in osseous defects using a resorbable nanoparticulate hydroxyapatite. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(11):1626–33.
38. Sibte S, Abidi A, Murtaza Q. synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite powder using wet chemical precipitation reaction. *j mater sci technol [Internet].* 2014;30(4):307–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmst.2013.10.011>
39. Bordea IR, Candrea S, Alexescu GT, Bran S, Băciuț M, Băciuț G, et al. Nano-hydroxyapatite use in dentistry: a systematic review. *Drug Metab Rev.* 2020;52(2):319–32.
40. Besinis A, De Peralta T, Tredwin CJ, Handy RD. Review of nanomaterials in dentistry: Interactions with the oral microenvironment, clinical applications, hazards, and benefits. *ACS Nano.* 2015;9(3):2255–89.
41. Kim HW, Kim HE, Salih V. Stimulation of osteoblast responses to biomimetic nanocomposites of gelatin-hydroxyapatite for tissue engineering scaffolds. *Biomaterials.* 2005;26(25):5221–30.
42. Li L, Pan H, Tao J, Xu X, Mao C, Gu X, et al. Repair of enamel by using hydroxyapatite nanoparticles as the building blocks. *J Mater Chem.* 2008;18(34):4079–84.
43. Nguyen TT, Miller A, Orellana MF. Characterization of the porosity of human dental enamel and shear bond strength in vitro after variable etch times: Initial findings using the BET Method. *Angle Orthod.* 2011;81(4):707–15.
44. Babayevska N, Woźniak-Budych M, Litowczenko J, Peplińska B, Jarek M, Florczak P, et al. Novel nanosystems to enhance biological activity of hydroxyapatite against dental caries. *Mater Sci Eng C.* 2021;124(November 2020):0–14.
45. Tao J, Pan H, Zeng Y, Xu R, Tang R. Roles of amorphous calcium phosphate and biological additives in the assembly of hydroxyapatite nanoparticles. *J Phys Chem B.* 2007;111(47):13410–8.
46. Mathirat A, Dalavi PA, Prabhu A, Yashaswini YD, Anil S, Senthilkumar K, et al. Remineralizing potential of natural nano-hydroxyapatite obtained from epinephelus chlorostigma in artificially induced early enamel lesion: an in vitro study. *nanomaterials.* 2022;12(22).
47. Garcia-Contreras R, Scougall-Vilchis RJ, Contreras-Bulnes R, Sakagami H, Morales-Luckie RA, Nakajima H. A comparative in vitro efficacy of conventional rotatory and chemomechanical caries removal: Influence on cariogenic flora,

- microhardness, and residual composition. *J Conserv Dent*. 2014;17(6):536–40.
48. Melendez J, Varela R, Cueto G MJ& CL. Evaluación del grabado del esmalte en piezas con ápice inmaduro y maduro utilizando ácido ortofosfórico al 37% por medio de microscopia electronica de barrido. *Acta Odontológica Venez [Internet]*. 2002;40(1). Available from: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-63652002000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-63652002000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
49. Lu KL, Meng XC, Zhang JX, Li XY, Zhou ML. inhibitory effect of synthetic nano-hydroxyapatite on dental caries. *key eng mater*. 2007;336–338:1538–41.
50. Meng XC, Lv KL, Zhang JX, Qu DL. caries inhibitory activity of the nano-ha in vitro. *key eng mater*. 2007;330–332:251–4.