Acústica 2020
XI Congreso Ibérico de Acústica
51º Congreso Español de Acústica
TECNIACÚSTICA 2020

MONITORIZACIÓN ULTRASÓNICA DEL PROCESO DE DESMINERALIZACIÓN DE LA DENTINA

Josep Rodríguez-Sendra[1], Noé Jiménez[1], Inés Torres [2,3], Salvatore Sauro[2], Francisco Camarena [1]
[1] Instituto de Instrumentación para Imagen Molecular, Universitat Politècnica de València – CSIC, València, Spain
[2] Departamento de Odontología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU-Cardenal Herrera, València, Spain
[3] Instituto Valenciano de Investigaciones Odontológicas, Gandia, Spain
jorodsen@upv.es

Resumen
La caries dental es uno de los mayores problemas de la sociedad y afecta prácticamente al 100% de los adultos según la Organización Mundial de la Salud. La desmineralización del enamel es conocida y está contrastada, sin embargo, la desmineralización de la dentina es más compleja y necesita una investigación más meticulosa. La caries de la dentina contiene variaciones de volumen, gravedad y color, ofreciendo dificultades a la hora de encontrar lesiones similares para la realización de estudios in vitro. Por este motivo, habitualmente se realizan protocolos de desmineralización artificial utilizando ácidos estandarizados con el fin de reproducir lesiones reales. El presente trabajo consiste en monitorizar, mediante test no destructivo ultrasónico, el proceso de desmineralización de la dentina. Para ello se ha utilizado ácido ortofosfórico (H3PO4) sobre 6 muestras de dentina, y el proceso completo de desmineralización se ha monitorizado cada 10 minutos utilizando un transductor de 15 MHz de la casa Olympus (Sonopen V260). Se han calculado los siguientes parámetros para realizar el seguimiento de la desmineralización: tiempo de vuelo (TOF), velocidad de propagación del sonido en dentina (VPD) y velocidad de penetración del ácido (VPA), obteniéndose los siguientes resultados: VPD=3501±86 m/s, VPD desmineralizada 1644±42 m/s y VPA=3.901±0.589 µm/min.

Palabras clave: Dentina, Tiempo de vuelo, Desmineralización, Ultrasonidos, Monitorización.

Abstract
Dental caries is one of the most important problems in our society and affects almost 100% of adults according to the World Health Organization (WHO). The demineralization of enamel is known and contrasted; however, the demineralization of dentin is more complex, and needs a more meticulous research. Dentin caries contains variations in volume, severity, and color, offering difficulties in finding similar lesions for in vitro studies, for this reason, standardized artificial demineralization protocols are performed, in order to reproduce lesions using acids. The present work consists of monitoring the dentin demineralization by non-destructive test, using an orthophosphoric acid (H3PO4). For this purpose, an Olympus 15 MHz transducer (Sonopen V260) and 6 dentin samples have been used, demineralizing and measuring the samples every 10 minutes, until a fully demineralized tooth is obtained. The following parameters have been calculated to track demineralization: Time of Flight (TOF), dentine sound propagation speed (VPD), and acid penetration rate (VPA). The following results have been obtained, VPD=3501 ± 86 m/s, demineralized VPD=1644 ± 42 m/s, VPA=3,901 ± 0.589 µm/min.

Keywords: Dentin, Time of flight, Demineralization, Ultrasound, Monitoring.

PACS nº. 43.35 Ae, 43.35 Bf, 43.35 Cg

1 Introducción

La caries dental es una de las enfermedades más frecuentes en todo el mundo. Según la Organización Mundial de la Salud, entre el 60 y el 90 por ciento de los niños en edad escolar y casi el 100 por ciento de los adultos tienen o han tenido lesiones de caries. La caries dental es una enfermedad multifactorial que aparece cuando, en una primera etapa, el esmalte y, luego, la dentina, pierden sus minerales debido a los ácidos producidos por el metabolismo bacteriano al descomponer los azúcares o los restos de comida [1,2]. El conocimiento del proceso de desmineralización de la dentina es crucial en la preparación de la cavidad, ya que el dentista debe extraer parte de la dentina dañada para colocar un empaste y el criterio para decidir cuándo detener la extracción del material de la dentina tiene que ver con su grado de mineralización. En este punto deben establecerse criterios objetivos. Por otro lado, recientemente se ha propuesto el uso de materiales bioactivos para facilitar la remineralización de la dentina dañada, lo que permite conservar una mayor cantidad de la dentina del paciente [3,4,5]. Por lo tanto, es importante poder evaluar el grado de mineralización de la dentina para tomar estas decisiones y poder cuantificar el grado de mejora de los nuevos productos.

La dentina consiste en un 70 % de material inorgánico (hidroxiapatita), un 20 % de base orgánica (fibras de colágeno de tipo I altamente mineralizadas) y un 10 % de agua [6]. Su proceso de desmineralización implica al menos dos etapas: la disolución de los biominerales por los ácidos orgánicos y la subsiguiente degradación de la matriz de la dentina por las proteasas [7]. Los procesos naturales de desmineralización de la dentina son geométricamente complejos, con variaciones en anchura, profundidad, severidad y color, haciendo difícil encontrar muchas lesiones similares para estudios in vitro de la dentina [7]. Por esta razón, se han propuesto protocolos artificiales estandarizados utilizando ácidos para reproducir lesiones reales y se requieren investigaciones más meticulosas con la combinación de nuevas tecnologías [7]. Las lesiones de desmineralización artificial estandarizada ofrecen muchas ventajas en comparación con el uso de las lesiones naturales para la investigación, porque los protocolos de desmineralización pueden ser reproducibles y las lesiones de diferente tamaño pueden hacerse fácilmente sobre la base de la cinética de desmineralización de un determinado ácido [8]. Algunos estudios han demostrado que estos ácidos, principalmente el ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o el ácido fosfórico (PA), pueden desmineralizar selectivamente los minerales extrafibrilares y mantener los minerales intrafibrilares al menos parcialmente, si no completamente intactos, ambos desmineralizando con una mínima degradación del colágeno [9]. Los agentes ácidos remueven la capa de frotis y abren los túbulos dentinarios, desmineralizan la superficie de la dentina y aumentan la porosidad de la dentina intertubular [10]. Attin et al. describieron en 2014 diferentes técnicas y métodos para la evaluación de la erosión dental [11].

Las técnicas ultrasónicas también se han utilizado ampliamente para la caracterización de los dientes durante las últimas décadas. En 1963 Baum et al. usaron los ultrasonidos para visualizar las estructuras internas del diente [12]. En 2008 Ghorayeb et al. presentaron una revisión que examinó las aplicaciones diagnósticas de la ecografía dental, comenzando con el trabajo pionero hasta el trabajo actual [13]. Además, Marotti et al. presentaron en 2013 una revisión donde se describió y discutió el uso del ultrasonido en varias áreas como el escaneo dental y la detección de caries entre otros [14].

Las propiedades acústicas de los tejidos dentales han sido evaluadas por diferentes autores mediante técnicas ultrasónicas no invasivas. Watanabe et al. midieron la velocidad del sonido longitudinal y de corte para determinar el módulo elástico en la dentina humana mineralizada (17,4 GPa) y desmineralizada (1,46 GPa), encontrando grandes diferencias [15]. Un estudio similar fue realizado por Yasuda et al. para la dentina bovina, obteniendo un módulo elástico de 16,9 GPa (mineralizada) y 2,1 GPa (desmineralizada) y una velocidad de 3675 m/s (mineralizada) y 1597 m/s (desmineralizada) [16]. Estos estudios muestran cuantitativamente que la dentina se comporta de manera similar a un tejido blando después de la desmineralización completa. Diferentes autores midieron la velocidad de onda

longitudinal en la dentina de los molares humanos obteniendo valores de 3317 a 4050 m/s en función del tipo de dientes [17-22]. C. Löst y C. John describieron un método que permite realizar mediciones en secciones de suelo coplanario de dientes humanos con una resolución lateral de 0,2 mm utilizando un tanque de agua con un transductor de 20-MHz [23,24]. Miyazaki y otros mostraron que las propiedades mecánicas del tejido no varían mientras las muestras se tomen con la misma sección del mismo diente [20]. Lees et al. usaron un sistema ultrasónico para monitorear continuamente el desarrollo de una capa desmineralizada debido al grabado con ácido clorhídrico [25]. Yamaguchi et al. llevaron a cabo un experimento en un diente de buey para demostrar las capacidades de protección contra la desmineralización de la pasta de fosfato de calcio amorfo-fosfóptido de caseína y los resultados fueron monitoreados comparando los cambios en la velocidad de la onda longitudinal [26,27]. Un estudio similar fue realizado por Endo et al. para evaluar las aparentemente buenas capacidades de protección del desensibilizante de fosfato de calcio para prevenir la desmineralización [28]. Todos estos estudios han demostrado la hipótesis de que la concentración volumétrica de minerales en el tejido duro dental está relacionada con la velocidad de propagación de las ondas ultrasónicas.

En el presente trabajo se presenta un resumen de un trabajo publicado en [29], donde estudiamos el proceso completo de desmineralización de la dentina humana en condiciones controladas de laboratorio mediante una técnica ultrasónica de pulso-eco no destructiva. El objetivo principal es demostrar la capacidad de los ultrasonidos para controlar un proceso de desmineralización artificial de la dentina con ácido, que es una práctica muy extendida en la odontología para preparar muestras para estudios posteriores, así como determinar la dinámica del proceso de desmineralización en condiciones controladas de laboratorio.

2 Materiales y métodos

2.1 Preparación de las muestras

Se obtuvo con consentimiento informado un conjunto de 12 molares humanos permanentes sanos sin caries ni empastes extraídos por razones ortodónticas o periodontales. Los dientes fueron almacenados en agua destilada. Las superficies oclusales fueron pulidas usando grados secuenciales más finos de papel de pulir SI-C, de grano 320, 500 y 1000 (Versocit, Struers A/S, Copenhague, Dinamarca) hasta que el esmalte oclusal fue completamente eliminado. Se utilizó un cabezal de pulido que aplica una fuerza constante de 10 N (Vector LC Power Head, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EE.UU.) junto con una máquina de pulido rotativa refrigerada por agua (Meta-Serv 3000 Grinder-Polisher, Buehler, Lake Bluff, Illinois, EE.UU.) a una velocidad de rotación de 250 rotaciones por minuto. Los molares sin superficies oclusivas se colocaron en una sierra de diamante refrigerada por agua (Micromet evolution, Remet, Bolonia, Italia) y se seccionaron transversalmente hasta obtener muestras de aproximadamente 1,1 mm de grosor, como se muestra en la Fig.1 (a). Las superficies fueron pulidas con papel abrasivo para obtener un espesor estandarizado de 1.09 ± 0.05 mm. Todas las muestras se sumergieron en agua destilada y se limpiaron con un baño de ultrasonidos para eliminar los restos. Después de eso, las muestras se almacenaron en agua destilada.

2.2 Proceso de desmineralización

Un total de 8 muestras se trataron con el ácido fosfórico (Panreac Química, Barcelona, España) a una concentración del 10% en un recipiente de Pyrex, agitándose con un agitador magnético durante todo el proceso de desmineralización.
Se utilizó un conjunto de 6 muestras para la evaluación del SEM y la espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). La mitad de los especímenes, N=3, se desmineralizaron completamente durante 5 horas y la otra mitad de los especímenes, N=3, se depositaron en agua destilada y se utilizaron

como muestras de control. Para el experimento ultrasónico, se desmineralizaron completamente 5 muestras durante 290 minutos y una muestra se mantuvo en agua destilada para ser utilizada como control de referencia. Cada 10 minutos, todas las muestras se retiraron de la solución ácida y se limpiaron con agua destilada para realizar las medidas ultrasónicas durante 3 minutos aproximadamente. Después de eso, las muestras se devolvieron a la solución ácida para continuar con el proceso de desmineralización. La muestra de control se monitorizó siguiendo el mismo procedimiento, pero conservándose en agua destilada todo el proceso.

2.3 Medidas SEM y FTIR

En primer lugar, se analizaron otras 3 muestras no desmineralizadas y 3 muestras desmineralizadas utilizando el espectrómetro ATR/FTIR (Perkin-Elmer, Beaconsfield, Reino Unido) con una resolución espectral de 4 cm^{-1} para caracterizar la composición química de la dentina antes y después del tratamiento con ácido. Después del análisis FTIR, las muestras se analizaron por SEM. Las muestras se deshidrataron en concentración ascendente de alcohol, montadas en talones de aluminio, y recubiertas por polvo de aluminio. La morfología de las muestras se analizó con un microscopio electrónico de barrido Hitachi S3500 (Hitachi High Technologies, Maidenhead, Reino Unido).

2.4 Medidas ultrasónicas

Un transductor Olympus SONOPEN V260-45 con una frecuencia central nominal de 15 MHz y un ancho de banda de 5,98 a 17,68 MHz (-6 dB) fue utilizado como emisor y receptor usando una técnica de pulso-eco para obtener el tiempo de vuelo. Este transductor presenta una línea de retardo con un diámetro de D = 2 mm y una relación entre el diámetro y la longitud de onda de $D/\lambda=20$ longitudes de onda por apertura en el agua. La elección de la fuente es un compromiso entre una pequeña dimensión física obligatoria para las aplicaciones dentales y una alta relación D/λ para mejorar la energía acústica recogida por el transductor.

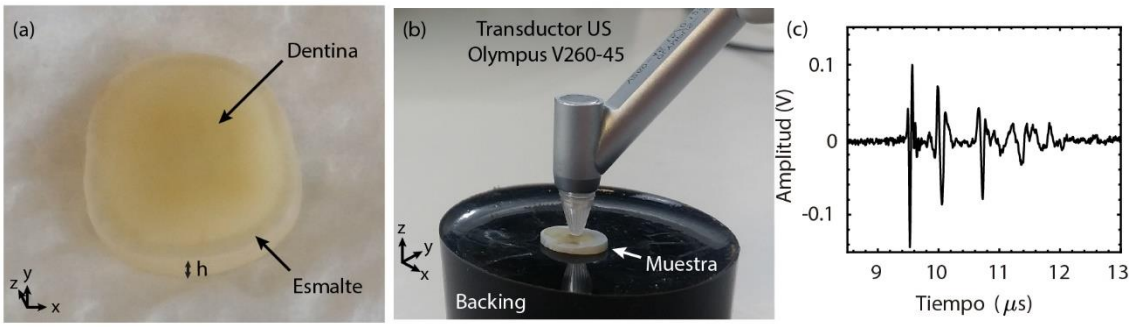


Figura 1 (a) Fotografía de una muestra. (b) Fotografía y (c) Ejemplo de una señal de radio frecuencia obtenida a partir de una muestra parcialmente desmineralizada.

La Figura 1 (b) muestra una fotografía del montaje experimental. El transductor se ha colocado perpendicularmente a la superficie superior de la muestra de dentina para registrar las señales de eco. En el lado opuesto, la muestra estaba en contacto con un soporte rígido para mejorar la reflexión de las ondas ultrasónicas en el límite inferior. Se utilizó un emisor-receptor de pulsos ultrasónicos (US-Wave, Lecoeur Electronique) para emitir y recibir los pulsos ultrasónicos. La señal recibida se digitalizó dentro del emisor-receptor a una frecuencia de muestreo de 125 MHz. Un ejemplo de la señal de RF registrada para una muestra parcialmente desmineralizada se muestra en la Fig. 1 (c). Para cada experimento, se han realizado un total de 500 adquisiciones en 5 puntos diferentes de la superficie superior de la dentina (100 adquisiciones por punto, cada punto distribuido aleatoriamente en el área de la dentina de cada

muestra, véase la Fig1 (b). La duración aproximada de cada medida ultrasónica fue de 3 minutos. Después de eso, la muestra se devolvió a la solución ácida.

2.5 Simulaciones

Se realizaron simulaciones por el Método de Elementos Finitos (FEM) de la propagación del pulso a través de un medio multicapa utilizando el Módulo de Acústica del software COMSOL Multiphysics en una dimensión y en el dominio del tiempo. Los datos experimentales medidos antes y después de la de la desmineralización completa se utilizaron para definir las propiedades mecánicas de la dentina desmineralizada y sana en la simulación. La forma de onda de entrada en las simulaciones en el límite aire-dentina fue la primera derivada de un pulso gaussiano (pulso bipolar) con componentes espectrales de 5,98 a 17,68 MHz, es decir, similar a los experimentos.

3 Resultados

3.1 Experimento SEM y FTIR

El examen SEM revela la pérdida de minerales debido al efecto del ácido, como se muestra en las Figuras 2 (a, b). Después de la desmineralización, los túbulos dentinarios son más anchos (compare Fig. 2 (a), Fig. 2 (b)). En los espectros FTIR, mostrados en las Figs. 2 (c, d), el espectro orgánico de la dentina (grupo Amida) se conserva en su mayor parte. La Amida I y II muestran valores similares antes y después del baño de ácido. En el espectro inorgánico, hay una importante pérdida del grupo de fosfato de calcio (PO). Los picos de minerales a 961 y 1019 cm^{-1} que pueden observarse claramente en el caso mineralizado, mostrados en la Fig. 2 (c), son apenas visibles después del proceso de desmineralización causado por el ácido, mostrado en la Fig. 2 (d).

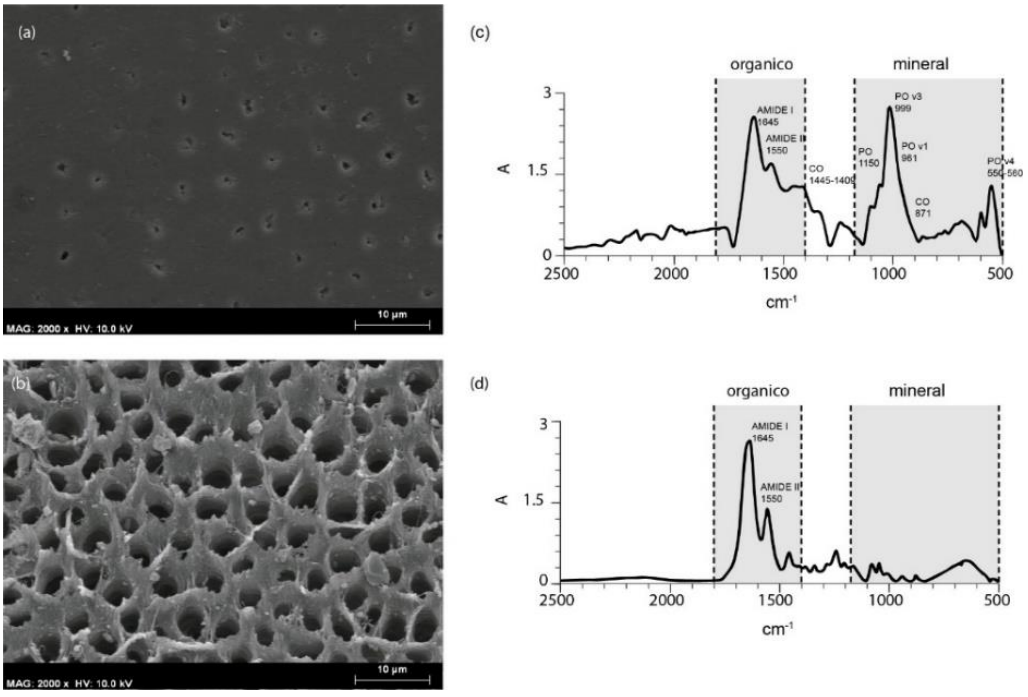


Figura 2. Scanning Electron Microscopy (SEM) imagen de (a) una muestra no desmineralizada y (b) una muestra desmineralizada. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) espectro de (c) una muestra no desmineralizada y (d) una muestra desmineralizada.

3.2 Experimento ultrasónico

La figura 3 (a), muestra 29 señales de radio frecuencia adquiridas durante la monitorización ultrasónica del proceso de desmineralización de una de las 5 muestras. El tiempo entre cada medida fue de 10 minutos durante el proceso de desmineralización, alcanzando la desmineralización completa después de 280 minutos de acción ácida en este caso particular. Las señales de radiofrecuencia para el resto de las muestras y para la muestra de control se muestran en las Figs. 4 (a-f). Al inspeccionar las señales reflejadas en la Fig. 3 (a), observamos que la dentina puede considerarse como un medio homogéneo para las frecuencias involucradas en estos experimentos. Esto se desprende de la ausencia de dispersión en la primera señal RF (t=0 min, correspondiente a la dentina mineralizada) y en la última señal RF (t=290 min, correspondiente a la dentina completamente desmineralizada). En los casos inicial y final, los ecos corresponden al cambio de impedancia acústica entre el transductor ultrasónico y la superficie superior de la dentina (primer eco) y entre la dentina y la superficie de la base sólida negra en la Fig. 1 (b), (último eco).

Midiendo el espesor de la muestra, la velocidad de onda longitudinal puede ser calculada tanto para dentina sana (3415 ± 30) m/s como para dentina completamente desmineralizada (1710 ± 70) m/s usando la conocida relación $c = 2h/\Delta t$, donde c es la velocidad de la onda longitudinal en m/s, h es el espesor de la muestra en m y ∂t es el tiempo entre ecos en segundos, es decir, el tiempo de vuelo. Las señales RF fueron procesadas usando MATLAB (Mathworks, EE.UU.) para estimar el tiempo de retardo de los ecos. En primer lugar, se calculó la envolvente de cada señal como el valor absoluto de su transformada de Hilbert. Luego, se utilizó un algoritmo detector de picos para estimar el tiempo correspondiente al tiempo de llegada de los dos primeros ecos. Finalmente, el tiempo de vuelo se calculó como la diferencia de los tiempos de llegada.

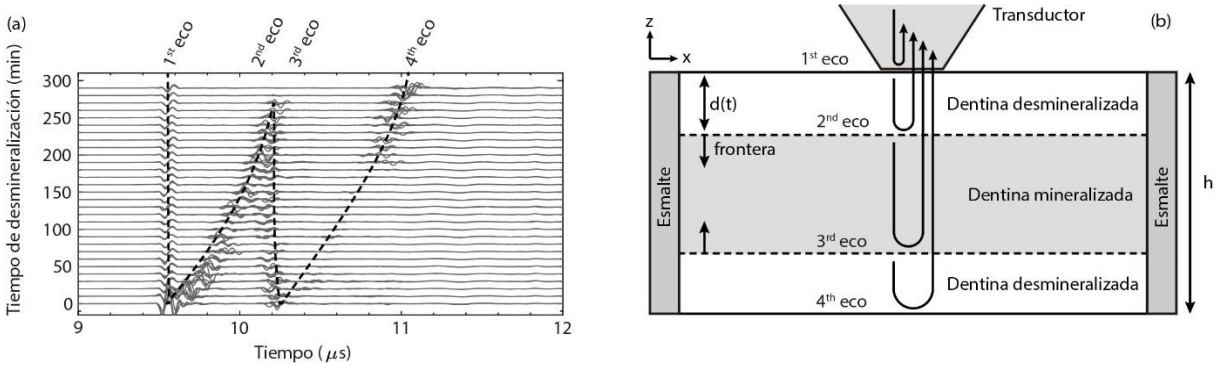


Figura 3. (a) Señales de RF correspondientes a la monitorización ultrasónica del proceso de desmineralización de la muestra D1. (b) Esquema de la dentina estratificada con diferente rigidez y los ecos ultrasónicos esperados según la hipótesis de que el efecto del ácido crea límites bien definidos. La profundidad de la capa de movimiento desmineralizada está marcada como d(t).

En contraste, durante el proceso de desmineralización se pueden observar ecos claros de límites bien definidos. Una vez que comienza el proceso de desmineralización (señales de t>0 min), aparecen dos nuevos ecos claros en el centro de las señales RF, que muestran que hay dos nuevos límites dentro de la dentina. A medida que aumenta el tiempo de desmineralización, el tiempo de llegada de estos ecos cambia progresivamente como consecuencia de la acción del ácido sobre la dentina. Un modelo simple para explicar la forma en que las señales de pulso-eco están cambiando se esboza en las Fig. 3 (b). Aquí, planteamos la hipótesis de que la acción del ácido durante el proceso de desmineralización genera un medio con capas debido a la progresiva penetración y acción del ácido hacia el núcleo central de la muestra. Como el ácido actúa desde las superficies superior e inferior de las muestras en forma de disco, las propiedades mecánicas de la muestra presentan una estructura en capas y en sus límites bien definidos

se producen ecos. A medida que el proceso evoluciona, la capa central se hace más fina y, eventualmente, toda la muestra se desmineraliza y los límites internos se desvanecen, como se observa en las señales de RF de la Fig. 3 (a) a t=290 min.

Todo el proceso produce el patrón característico de ``W'' asimétrico que puede observarse en Fig. 3 (a). En resumen, un primer eco a unos 9,4 µs es siempre visible para todos los experimentos porque corresponde al límite entre la línea de retardo del transductor y la superficie superior de la dentina, por lo que no se ve afectado por el proceso de desmineralización. Un segundo eco corresponde al límite entre la primera zona desmineralizada y el núcleo central mineralizado de la dentina: el retardo temporal de este eco aumenta durante el experimento porque el límite se mueve a mayor profundidad en la dentina y la velocidad del sonido en la capa desmineralizada disminuye a medida que el ácido actúa. El tercer eco corresponde al límite creado por el grabado ácido de la superficie inferior de la muestra. El tiempo de retardo de este eco se reduce ligeramente a medida que el ácido actúa (para algunas muestras permanece casi constante) debido a la acción conjunta de dos efectos opuestos: por un lado, el límite interior se acerca a la sonda ultrasónica y, por otro lado, la velocidad del sonido en la capa desmineralizada disminuye. Por último, se genera un cuarto eco en la superficie inferior: se retrasa progresivamente porque las capas desmineralizadas de dentina con menor velocidad de sonido crecen durante el proceso de desmineralización, aumentando en consecuencia el tiempo total de vuelo de la onda reflejada en este límite. El último eco se atenúa una vez que el ácido crea los dos límites internos que reflejan una parte importante de la energía del pulso a la sonda ultrasónica. Sólo cuando el proceso de desmineralización se completa y los dos límites internos desaparecen, la amplitud del último eco aumenta de nuevo. Además, nótese que al final de los experimentos el segundo y el tercer eco se desvanecen simultáneamente en un momento que se corresponde con el centro de la muestra, es decir, entre el primer y el cuarto eco, mostrando una acción simétrica del ácido de ambos lados de la muestra.

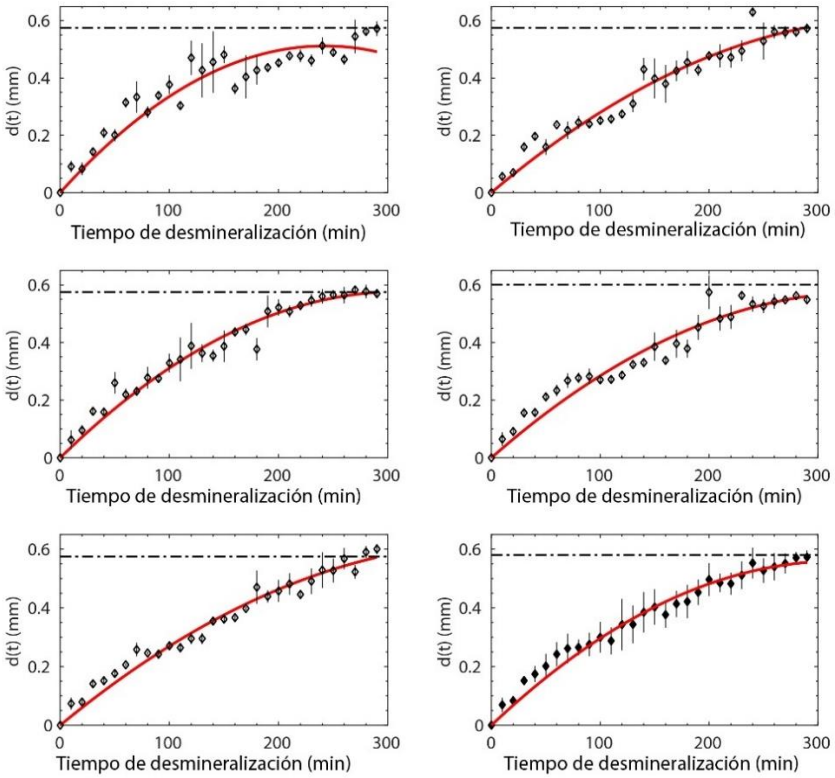


Figura 4. (a-e) Distancia desmineralizada versus tiempo de desmineralización para las muestras D1-D5, respectivamente. Datos experimentales (marcadores), modelo empírico parabólico (línea gris continua).

La línea de puntos muestra la mitad del grosor de cada muestra (h/2), es decir, el estado de desmineralización total. f) Todos los datos fusionados y su correspondiente ajuste.

La distancia desmineralizada, d(t), definida como la profundidad de la capa desmineralizada, ver Fig. 3 (b), se calcula a partir del tiempo de vuelo entre el primer y el segundo eco suponiendo que la velocidad del sonido de la capa desmineralizada coincide con el valor de toda la muestra desmineralizada. La velocidad del sonido en el medio desmineralizado se calcula a partir de las últimas medidas utilizando la Ec. (1). La figura 5 (a-e) muestra la distancia desmineralizada en función del tiempo de desmineralización de las 5 muestras estudiadas. Además, la Fig. 5 (f) muestra los resultados de las 5 muestras juntas para demostrar la buena repetibilidad de los experimentos. La desmineralización presenta una tasa no uniforme que disminuye con el tiempo como resultado del proceso natural de difusión del ácido en la dentina: la acción del ácido es más eficiente en las áreas más superficiales. Como era de esperar, al final del proceso la distancia de desmineralización converge a la mitad del grosor de la muestra, h/2, mostrando la desmineralización completa de las muestras.

Un modelo empírico parabólico se ajusta a los datos experimentales para modelar la tasa de desmineralización como:

$$d(t) = \upsilon_0 t + \frac{1}{2} a_d t^2 \quad (1)$$

donde d(t) es la distancia desmineralizada, υ_0 es la velocidad inicial del proceso de desmineralización, a_d es la aceleración del proceso de desmineralización y t es el tiempo de desmineralización.
Los coeficientes ajustados para las 5 muestras desmineralizadas están listados en la Tabla 1. Se observa una buena repetibilidad entre los experimentos. Los resultados muestran que el ácido fosfórico a una concentración del 10% produce una velocidad media inicial de desmineralización en la dentina humana de υ_0 = 3,5 ± 0,4 µm/min, con una deceleración media de a_d = -11,0 ± 3,5 nm/min^2

Tabla 1. Grosor de la muestra y los parámetros de ajuste.

	Grosor *h* (mm)	**Velocidad Inicial υ_0 (µm/min)**	**Aceleración a_d (nm/min^2)**
Muestra 1 (D1)	1.15	4.2 ± 0.2	-17.5 ± 1.1
Muestra 2 (D2)	1.15	3.2 ± 0.2	-8.5 ± 1.1
Muestra 3 (D3)	1.15	3.7 ± 0.2	-11.9 ± 1.1
Muestra 4 (D4)	1.20	3.3 ± 0.2	-9.6 ± 1.1
Muestra 5 (D5)	1.15	3.1 ± 0.2	-7.6 ± 1.1
Promedio	1.16	3.5 ± 0.4	-11.0 ± 3.0

Para probar más a fondo la hipótesis propuesta del medio en capas, se realizó una simulación acústica numérica 1D FEM utilizando un medio con tres capas homogéneas. Las capas externas se fijaron como dentina desmineralizada c=1710 m/s, y el núcleo central se fijó como dentina mineralizada c=3415 m/s. Se realizaron dos conjuntos de 200 simulaciones moviendo los límites entre las capas externas e internas de acuerdo con el modelo empírico de todos los datos fusionados υ_0= 3,5 µm/min, a_d = -11,0 nm/m^2. Para el primer conjunto de simulaciones, que se muestra en la Fig. 6 (a), la densidad fue la misma en ambas capas, correspondiendo a la dentina sana σ= 2010 kg/m^3, y para el segundo conjunto, que se muestra en la Fig. 6 (b), la densidad para la densidad mineralizada fue σ= 2010 kg/m^3 y para la capa desmineralizada fue σ= 1050 kg/m^3 como se informa en la literatura [30].

Las señales RF simuladas se muestran en escala de grises en la Fig. 6 superpuestas a las señales RF medidas experimentalmente para la muestra D1 (líneas continuas). En primer lugar, para la simulación de la densidad homogénea (Fig. 6(a)), se puede observar que el tiempo de llegada de los ecos simulados coincide con el experimental, así como su evolución durante el proceso de desmineralización (las señales de las notas fueron alineadas a t=0 retrasando los datos experimentales 9.4 µs). El cuarto eco recibido se identifica en las simulaciones como el del límite inferior, mientras que el segundo y el tercero

corresponden a los límites interiores. Sin embargo, el desajuste de impedancia al cambiar sólo la velocidad del sonido en la simulación es débil y, por lo tanto, una gran cantidad de energía impacta en el límite inferior.

Las figuras 6 (b-e) muestran los resultados de una simulación más realista estableciendo diferentes valores para la densidad de las capas de dentina mineralizada y desmineralizada. Se observa claramente el efecto de apantallamiento de las capas internas que disminuye la energía de los ecos reflejados en el límite inferior. Cuando la capa interna de la dentina es muy fina o desaparece debido a una desmineralización completa (t>240 min), la amplitud del eco generado en el límite inferior aumenta fuertemente porque el pulso no se dispersa en ningún cambio brusco de impedancia durante la propagación y, por lo tanto, llega a ese límite con mayor energía. Los procesos dinámicos observados en las simulaciones están en excelente acuerdo con todas las muestras medidas. Además, un conjunto de ecos secundarios, correspondientes a reflexiones de segundo orden son claramente visibles en los datos simulados (t>1,2 µs) debido a la falta de absorción en la simulación. Estos ecos secundarios no interfieren con los ecos principales ya que llegan a la sonda ultrasónica más tarde en el tiempo. Obsérvese que algunos ecos secundarios también pueden observarse en los datos experimentales al comienzo del proceso de desmineralización, en una aproximación con la simulación.

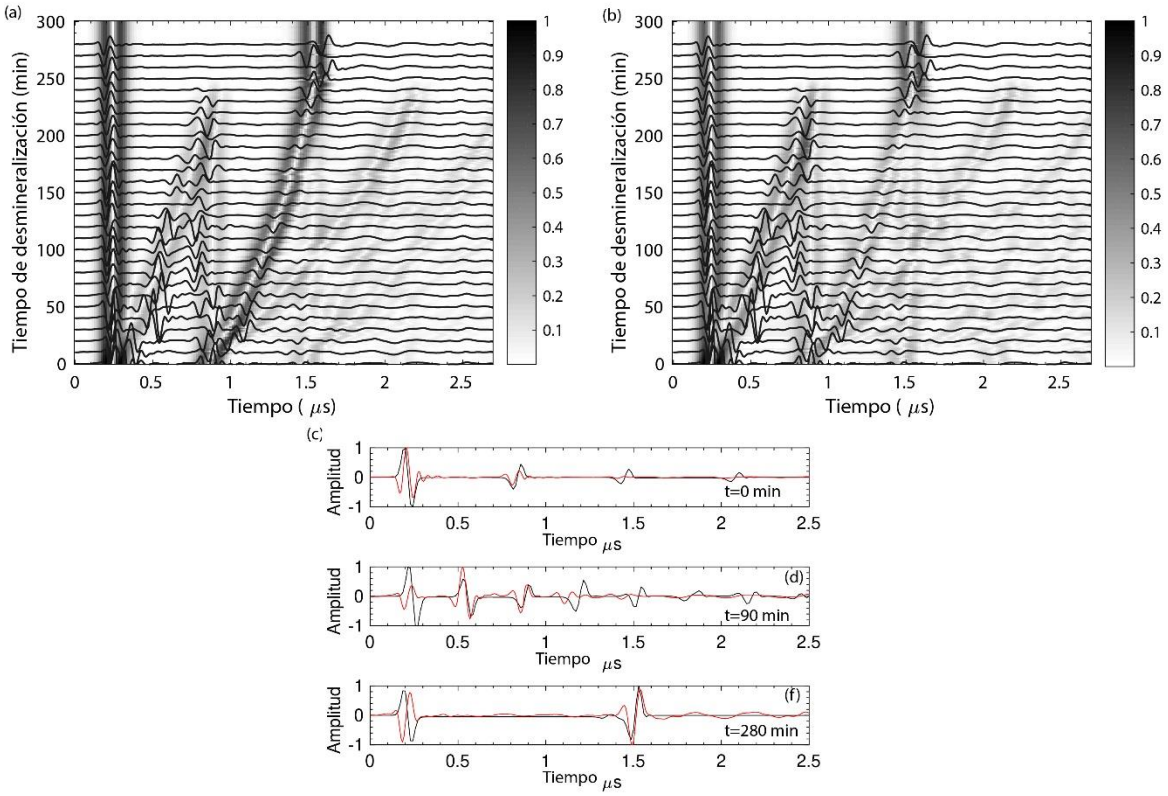


Figura 5. Señales RF de la muestra D1 obtenidas experimentalmente (líneas) y utilizando una simulación FEM (superficie normalizada en escala de grises) para (a) un medio con densidad homogénea y velocidad de sonido en capas, y (b) un medio en capas con cambios en la densidad y la velocidad del sonido.(c-e) Señales de radiofrecuencia obtenidas experimentalmente (rojo) y por simulación (negro) en tres etapas de desmineralización: (c) en la etapa inicial (t=0 min), d) durante la desmineralización (t=90 min) y e) al final del experimento (t=280 min).

4 Conclusiones

Se ha propuesto una técnica ultrasónica de pulso-eco para estudiar el proceso de desmineralización artificial de la dentina humana utilizando una solución de ácido fosfórico con una concentración del 10%. El sistema ultrasónico incluía una línea de retardo para separar los ecos receptores de los pulsos emisores, así como para reducir el área monitoreada en la superficie de la dentina a 3,1 mm^2.

Todo el proceso de desmineralización de la dentina ha sido monitorizado por ultrasonidos, lo que demuestra que el ácido reduce la rigidez de la dentina y, por consiguiente, la velocidad de onda longitudinal sobre ella, formando una estructura en capas con límites bien definidos. A medida que la desmineralización se produce bajo la acción del ácido, estos límites crecen progresivamente en profundidad siguiendo un patrón de desaceleración. Este modelo, que se ajusta a los datos experimentales, ha sido corroborado mediante simulaciones. Observamos que el proceso de desmineralización no es constante, se estimó que la velocidad de penetración de la capa desmineralizada comienza a 3,5 µm/min, es decir, cuando el ácido ataca la superficie de la dentina, pero a medida que el ácido penetra esta velocidad se desacelera en -11 nm/min^2.

La técnica proporciona una indeterminación de 40 nm en el cálculo de la distancia desmineralizada, incluyendo las incertidumbres debidas a irregularidades en la preparación de las muestras, en la estimación del tiempo de vuelo y en la medición del espesor de la muestra durante la medición ultrasónica. Cabe señalar aquí que la muestra puede comprimirse ligeramente durante el contacto entre la línea de retardo de la sonda, especialmente cuando la desmineralización es importante y, por lo tanto, se reduce la rigidez de la dentina.

La técnica propuesta puede utilizarse para monitorizar las lesiones de desmineralización artificial normalizada en condiciones de laboratorio, pero también, debido a la reducida dimensión de la sonda, para evaluar la desmineralización producida por la caries natural in vivo. Cabe mencionar aquí que la medición del espesor de la muestra no es necesaria para evaluar la pertinencia de un proceso de desmineralización, ya que el cambio de la rigidez entre el tejido desmineralizado y el mineralizado proporciona un eco claro cuyo tiempo de vuelo informa sobre la profundidad de la desmineralización si se ha obtenido una base de datos previa de las velocidades de propagación del sonido.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido desarrollado en el marco de la catedra IVIO-UPV. Queremos agradecer el apoyo y el consejo del Dr Joan Faus. Esta investigación ha sido apoyada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España a través del contrato "Juan de la Cierva - Incorporación" (IJC2018-037897-I) y el programa "Proyectos I+D+i 2019" (PID2019-111436RB-C22) y por la Agència Valenciana de la Innovació a través de la ayuda INNCON/2020/009. Acción cofinanciada por la Unión Europea a través del Programa Operativo del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) de la Comunitat Valenciana 2014-2020 (IDIFEDER/2018/022)

Referencias

[1] C. Longbottom, M.-C. Huysmans, N. Pitts, and M. Fontana, “Glossary of key terms,” in Monographs in Oral Science. KARGER, 2009, pp. 209–216

[2] R. H. Selwitz, A. I. Ismail, and N. B. Pitts, “Dental caries,” The Lancet, vol. 369, no. 9555, pp. 51–59, jan 2007.

[3] M. Torabinejad and N. Chivian, “Clinical applications of mineral trioxide aggregate,” Journal of Endodontics, vol. 25, no. 3, pp. 197–205, mar 1999.

[4] L. Han and T. Okiji, “Bioactivity evaluation of three calcium silicate based endodontic materials,” International Endodontic Journal, vol. 46, no. 9, pp. 808–814, feb 2013.

[5] M. G. Gandolfi, F. Siboni, T. Botero, M. Bossu, F. Riccitiello, and ` C. Prati, “Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations,” Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials, vol. 13, no. 1, pp. 0–0, sep 2014

[6] I. A. Mjor, “Human coronal dentine: Structure and reactions,” ¨ Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, vol. 33, no. 5, pp. 810–823, may 1972.

[7] Y.-C. Chien, A. Burwell, K. Saeki, A. Fernandez-Martinez, M. Pugach, G. Nonomura, S. Habelitz, S. Ho, M. Rapozo-Hilo, J. Featherstone, S. Marshall, and G. Marshall, “Distinct decalcification process of dentin by different cariogenic organic acids: Kinetics, ultrastructure and mechanical properties,” Archives of Oral Biology, vol. 63, pp. 93–105, mar 2016.

[8] K. Saeki, Y.-C. Chien, G. Nonomura, A. Chin, S. Habelitz, L. Gower, S. Marshall, and G. Marshall, “Recovery after PILP remineralization of dentin lesions created with two cariogenic acids,” Archives of Oral Biology, vol. 82, pp. 194–202, oct 2017.

[9] B. Li, X. Zhu, L. Ma, F. Wang, X. Liu, X. Yang, J. Zhou, J. Tan, D. H. Pashley, and F. R. Tay, “Selective demineralisation of dentine extrafibrillar minerals—a potential method to eliminate water-wet bonding in the etch-and-rinse technique,” Journal of Dentistry, vol. 52, pp. 55–62, sep 2016.

[10] J. Perdigao, “Dentin bonding as a function of dentin structure,” ˜ Dental Clinics of North America, vol. 46, no. 2, pp. 277–301, apr 2002.

[11] T. Attin and F. J. Wegehaupt, “Methods for assessment of dental erosion,” in Monographs in Oral Science. S. KARGER AG, 2014, pp. 123–142.

[12] G. Baum, I. Greenwood, S. Slawski, and R. Smirnow, “Observation of internal structures of teeth by ultrasonography,” Science, vol. 139, no. 3554, pp. 495–496, feb 1963.

[13] S. Ghorayeb, C. Bertoncini, and M. Hinders, “Ultrasonography in dentistry,” IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, vol. 55, no. 6, pp. 1256–1266, jun 2008.

[14] J. Marotti, S. Heger, J. Tinschert, P. Tortamano, F. Chuembou, K. Radermacher, and S. Wolfart, “Recent advances of ultrasound imaging in dentistry – a review of the literature,” Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology, vol. 115, no. 6, pp. 819–832, jun 2013.

[15] T. Watanabe, M. Miyazaki, H. Inage, and H. Kurokawa, “Determination of elastic modulus of the components at dentin-resin interface using the ultrasonic device,” Dental Materials Journal, vol. 23, no. 3, pp. 361–367, 2004.

[16] G. Yasuda, H. Inage, T. Takamizawa, H. Kurokawa, A. Rikuta, and M. Miyazaki, “Determination of elastic modulus of demineralized resin-infiltrated dentin by self-etch adhesives,” European Journal of IEEE TRANSACTIONS ON ULTRASONICS, FERROELECTRICS, AND FREQUENCY CONTROL, VOL. , NO. , 2020 9 Oral Sciences, vol. 115, no. 1, pp. 87–91, feb 2007.

[17] S. Ng, M. Ferguson, P. Payne, and P. Slater, “Ultrasonic studies of unblemished and artificially demineralized enamel in extracted human teeth: a new method for detecting early caries,” Journal of Dentistry, vol. 16, no. 5, pp. 201–209, oct 1988.

[18] S. Ng, P. Payne, N. Cartledge, and M. Ferguson, “Determination of ultrasonic velocity in human enamel and dentine,” Archives of Oral Biology, vol. 34, no. 5, pp. 341–345, 1989.

[19] R. G. Maev, L. A. Denisova, E. Y. Maeva, and A. A. Denissov, “New data on histology and physico-mechanical properties of human tooth tissue obtained with acoustic microscopy,” Ultrasound in Medicine & Biology, vol. 28, no. 1, pp. 131–136, jan 2002.

[20] M. Miyazaki, H. Inage, and H. Onose, “Use of an ultrasonic device for the determination of elastic modulus of dentin.” Journal of Oral Science, vol. 44, no. 1, pp. 19–26, 2002.

[21] C. John, “The corono-apically varying ultrasonic velocity in human hard dental tissues,” The Journal of the Acoustical Society of America, vol. 116, no. 1, pp. 545–556, jul 2004.

[22] ——, “The laterally varying ultrasonic velocity in the dentin of human teeth,” Journal of Biomechanics, vol. 39, no. 13, pp. 2388–2396, jan 2006.

[23] C. Lost, K.-M. Irion, C. John, and W. Nussle, “Two-dimensional distribution of sound velocity in ground sections of dentin,” Dental Traumatology, vol. 8, no. 5, pp. 215–218, oct 1992.

[24] C. John, K. Irion, W. Nussle, and C. L ¨ ost, “The resolution ¨ of a 2-dimensional ultrasonic velocity profile of human tooth sections,” Schweizer Monatsschrift fur Zahnmedizin= Revue mensuelle suisse d’odonto-stomatologie= Rivista mensile svizzera di odontologia e stomatologia, vol. 104, no. 1, pp. 25–30, 1994.

[25] S. Lees, F. Gerhard, and F. Oppenheim, “Ultrasonic measurement of dental enamel demineralization,” Ultrasonics, vol. 11, no. 6, pp. 269–273, nov 1973.

[26] K. Yamaguchi, M. Miyazaki, T. Takamizawa, H. Inage, and B. K. Moore, “Effect of CPP–ACP paste on mechanical properties of bovine enamel as determined by an ultrasonic device,” Journal of Dentistry, vol. 34, no. 3, pp. 230–236, mar 2006.

[27] K. Yamaguchi, M. Miyazaki, T. Takamizawa, H. Inage, and H. Kurokawa, “Ultrasonic determination of the effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate paste on the demineralization of bovine dentin,” Caries Research, vol. 41, no. 3, pp. 204–207, 2007.

[28] H. Endo, R. Kawamoto, F. Takahashi, H. Takenaka, F. Yoshida, K. Nojiri, T. Takamizawa, and M. Miyazaki, “Evaluation of a calcium phosphate desensitizer using an ultrasonic device,” Dental Materials Journal, vol. 32, no. 3, pp. 456–461, 2013.

[29] J. Rodríguez-Sendra, I. Torres, N. Jiménez, S. Sauro and F. Camarena, "Ultrasonic monitoring of dentin demineralization," in IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control, doi: 10.1109/TUFFC.2020.3015668.

[30] R. Carvalho, M. Yoshiyama, E. Pashley, and D. H. Pashley, “In vitro study on the dimensional changes of human dentine after demineralization,” Archives of oral biology, vol. 41, no. 4, pp. 369–377, 1996.