



UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE ODONTOLOGÍA DEPARTAMENTO DE CARIOLOGIA

**CAPACIDAD REMINERALIZADORA DE LECHE Y BEBIDA LÁCTEA,
SUPLEMENTADA CON DISTINTAS DOSIS DE FLUORURO, EN UN MODELO
ARTIFICIAL DE LESIÓN CARIOSA.**

Memoria presentada a la Escuela de Odontología de la
Universidad de Talca como parte de los requisitos exigidos
para la obtención del título de Cirujano Dentista.

ALUMNAS: Camila Puchi Acuña

Pamela Sepúlveda Torres

PROFESOR GUÍA: Ramiro Castro B

Talca-Chile

2019

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2020

Contenido

1. Resumen	3
2. Introducción	4
3. Materiales y métodos.	6
3.1. Preparación de los bloques.	6
3.2. Preparación de las muestras.	7
3.2.1. Formación de lesiones de caries in vitro	7
3.3. Determinación de concentraciones de fluoruros.	7
3.4. Exposición a tratamientos y controles	8
3.5. Análisis de la desmineralización	9
3.5.1. Análisis de microdureza superficial	9
3.5.2. Evaluación con microscopía de luz polarizada	10
3.6. Análisis estadístico	10
4. Resultados	11
4.1. Dureza superficial de las lesiones de caries.	11
4.1.1. Esmalte.	11
3.1.2 Dentina	12
4.2. Pérdida de mineral en lesiones artificiales de caries en esmalte y dentina.	12
5. Discusión	15
6. Referencias bibliográficas.	18

1. Resumen

La evidencia actual indica que la suplementación de leche con bajas concentraciones de fluoruro es eficaz para controlar su potencial cariogénico. El objetivo de este trabajo, fue determinar si existen diferencias en el potencial remineralizador de diferentes productos lácteos suplementados con bajas concentraciones de fluoruro.

96 bloques de esmalte y dentina bovinos, fueron sometidos a un proceso de desmineralización químico para generar lesiones superficiales artificiales de caries (96h esmalte/16h dentina). Se definieron tres concentraciones de fluoruro (2,5; 5 y 10 ppm) para la suplementación de leches: entera, descremada, saborizada y bebida láctea. Los bloques desmineralizados fueron sometidos a un proceso de remineralización, aplicando las soluciones experimentales 2x/día durante 14 días. Se analizó la remineralización mediante microscopia de luz polarizada y microdureza superficial. Los resultados fueron analizados mediante Anova y Tukey, considerando diferencias significativas $p < 0,05$.

En cuanto a los resultados, se obtuvo que todas las soluciones experimentales remineralizaron el sustrato dentario, incluso aquellas sin suplementación. La mayor remineralización en esmalte se obtuvo con leche entera-F 10ppm y bebida láctea-F 10ppm. Para dentina, bebida láctea-F 2,5 ppm mostró los mejores resultados.

En conclusión, la suplementación de diferentes productos lácteos con fluoruro es capaz de remineralizar el tejido dentario afectado por lesiones superficiales de caries. Similar a lo reportado por otros investigadores, se observa una dosis dependencia de la suplementación en relación con la remineralización.

Palabras clave: fluoruros, remineralización, leche fluorurada

2. Introducción

Dentro de las afecciones de la cavidad bucal, la caries dental es una de las principales causas de enfermedades orales en todo el mundo, teniendo una alta prevalencia a nivel internacional y nacional (1-4).

Para controlar este problema, se han utilizado distintos métodos, profesionales y comunitarios, para la administración de fluoruros (5, 6). El ion fluoruro puede intercambiarse con el grupo hidroxilo del cristal de apatita formando fluorapatita, que es un cristal más estable y menos soluble ante los ácidos originados por el biofilm (7). Además, en determinadas concentraciones podría actuar como agente antimicrobiano inhibiendo enzimas esenciales para el metabolismo bacteriano (8, 9). Actualmente es aceptado que niveles bajos de este ion en esmalte, biofilm dental y en la película adquirida, es el principal mecanismo de acción para el control de caries (10).

Se han implementado distintas medidas a nivel comunitario para la distribución de este ión, siendo una de estas la implementación del agua potable fluorurada, sin embargo, esta no se encuentra disponible en una importante fracción del mundo, así como en la mayoría de las zonas rurales (11). Otro vehículo estudiado es la sal y cuando la mayor parte de este producto se fluorura, la eficacia en la comunidad se aproxima a la fluoración del agua (11), (disminución de un 35% del COPD en dientes temporales y un 26% en dientes permanentes) (12), pero su consumo debe limitarse, ya que el consumo elevado de sal, está directamente relacionado con el desarrollo de hipertensión arterial (13). Es así como también se ha estudiado la leche como un medio para la distribución de fluoruro, método costo-efectivo (14), y una buena opción cuando no exista una adecuada distribución de agua fluorurada se encuentre bajo los niveles óptimos y la prevalencia de caries sea significativa (15).

La leche constituye un pilar fundamental en la alimentación de gran parte de la población, en todos los rangos etarios, puesto que proporciona una gran cantidad de proteínas fácilmente digeribles y de alto valor biológico (16, 17). El consumo de leche y productos derivados de esta es elevado a nivel mundial. A nivel nacional es de alrededor de 146lts por persona, de estos la leche fluida de todos los tipos alcanza los 28 lts per cápita al año (18, 19), siendo las de mayor preferencia: leche entera, saborizada y descremada (20).

Se han realizado estudios en Chile que han demostrado una disminución en la prevalencia de caries agregando fluoruro a productos lácteos, como parte del programa nacional de alimentos suplementados (PNAC), logrando una baja en el COPD entre 40 y 46% en los sujetos que consumían leche fluorurada (21).

El consumo de productos lácteos es frecuente en los adultos mayores (AM), así como los suplementos alimenticios no especializados, muchas veces indicados debido a malnutrición por exceso o déficit que presentan los sujetos pertenecientes a este grupo etario (22). En Chile, el año 1999 el gobierno implementó el Programa de Alimentación Complementaria del Adulto Mayor, beneficiando a más de 400.000 personas. La iniciativa consiste en un conjunto de actividades para apoyar la alimentación de los AM, considerando la distribución de dos kilogramos mensuales de alimentos en forma de bebida láctea (BL) (23), producto con alta aceptación por parte de los beneficiarios.

A pesar de ser un buen suplemento para la alimentación de los AM chilenos, un estudio realizado en la Unidad de Cariología de la Universidad de Talca, demostró que ésta BL tiene un alto potencial cariogénico (24). A pesar de que se trata de una bebida láctea fortificada, en base a leche bovina descremada, se le incorpora un 8% de sacarosa (25). Además, de acuerdo a nuestras investigaciones, el 26,5% de sus consumidores adiciona en promedio 2 cucharaditas de azúcar (24).

Con el fin de reducir los niveles de lesiones de caries activas en la población, se hace necesario el estudio de la capacidad remineralizadora de la leche suplementada con fluoruro. A pesar de que existen variados estudios tanto clínicos como experimentales, sobre la capacidad remineralizadora del fluoruro, no se tiene claridad respecto a la concentración ideal para suplementar la leche. Lo más lógico sería pensar que existe una dosis dependencia, es decir al aumentar la concentración de fluoruro debiese aumentar la capacidad remineralizadora de la solución láctea, pero esto no sucede cuando se analiza la leche entera (26-31). Debido a esto, es necesario investigar con distintos tipos de leche, para determinar si efectivamente se cumple una dosis dependencia. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto remineralizador de leche entera, saborizada, descremada y BL “Años Dorados”, suplementados con diferentes dosis de fluoruro en bajas concentraciones.

3. Materiales y métodos.

3.1. Preparación de los bloques.

En este estudio experimental *in vitro* se utilizaron dientes bovinos, que fueron higienizados en su superficie para el retiro de restos de tejidos blandos macroscópicos con una cureta (Hu-Friedy, Chicago, EEUU), luego, utilizando fresas de diamante montadas sobre una turbina, se separó la corona de la raíz de cada diente a nivel de la unión esmalte-cemento, posteriormente fueron conservados en agua destilada, durante 30 días como máximo, mientras se completaba la preparación de todas las muestras.

Se utilizaron 96 bloques, dicha muestra se definió basándose en estudios similares realizados anteriormente. Se usó la corona para obtener 48 bloques de esmalte y la raíz para obtener 48 bloques de dentina radicular, de 7×4×2 mm (32, 33), lo cual se realizó utilizando una turbina con fresa diamante de tipo aguja 08 (Jota suiza). Posteriormente estos fueron pulidos con una máquina pulidora automática (LECO SS200, St. Joseph, MI, USA), con discos de diferente grosor, hasta obtener una superficie lisa en la cara del bloque a utilizar, es decir, la cara que en boca estaba expuesta al medio oral, las demás caras se alisaron, hasta obtener una superficie plana.

Para estandarizar los bloques, se midió en cada uno, la dureza superficial *Knoop*, realizando 3 muescas separadas a 100 μm entre sí, utilizando un microdurómetro (402 MVD, Wolpert Wilson Instruments, Norwood, USA) con microidentación *Knoop* 50 g de carga para esmalte y 10 g de carga para dentina por 5 segundos (34). Luego, se seleccionaron sólo los bloques cuya dureza superficial no difirió en 10% en relación con el promedio obtenido: esmalte 321,4 y dentina 42,1. Además, no debían presentar rasgos de fractura o defectos en su superficie, lo cual se inspeccionó mediante ojo desnudo y magnificación.

3.2. Preparación de las muestras.

3.2.1. Formación de lesiones de caries *in vitro*

Previo a la formación de la lesión se aplicó un barniz resistente a la desmineralización (Revlon®, Newyork, USA), dejando una ventana descubierta de 7x2 mm, en la cara externa del diente.

Para realizar la lesión cariosa, se utilizaron soluciones desmineralizantes, en los bloques de esmalte se utilizó una solución compuesta por ácido acético 0,05 M a pH 4.4, ajustado con KOH, además de 2.2 mM CaCl₂ y 2.2 mM NaH₂PO₄. Cada bloque se sumergió en 10 ml de esta solución por 96 horas a 37° C generando lesiones artificiales de caries de 100 a 150µm de profundidad (35).

Para los bloques de dentina, se utilizó una solución de acetato 0.05M a pH 5.0, con 1.4 mM Ca, 0.91 mM Pi y 0.06 mg F/m. Se sumergió cada bloque en 50 ml de esta solución por 33 horas a 37° C, para generar las lesiones artificiales de caries de 25 a 50µm (36).

Luego se eliminaron los residuos de los ácidos desmineralizantes de los bloques con agua purificada.

Finalmente, se procedió a medir la dureza superficial de cada bloque para comprobar que esta hubiese disminuido, es decir, que se haya producido la lesión y mediante este proceso también fueron descartados los bloques cuya dureza difirió en 10% en relación con el promedio obtenido.

3.3. Determinación de concentraciones de fluoruros.

Se utilizaron concentraciones de fluoruro 0, 2.5, 5 y 10 ppm. Estas concentraciones fueron determinadas de acuerdo con la literatura científica, basándonos en estudios previos con similares características y en sus resultados (29, 33, 37, 38). Se utilizó 0 y 10 ppm a modo comparativo, para analizar la leche por si sola y con una dosis que se encuentra en el límite del requerimiento diario.

La cantidad de fluoruro agregado no debía sobrepasar el requerimiento diario de flúor en un adulto correspondiente a 4.0 mg de flúor al día (39). De esta forma, 10 ppm de fluoruro en 200 ml (1 taza) de bebida “años dorados” proporcionarían 1 mg de ion flúor. Entonces, 2 tazas de la BL, considerando una taza en el desayuno y otra, en la cena aportarían una dosis de 2.0 mg lo cual no excede los 4.0 mg de fluoruro establecido de acuerdo con la normativa vigente como cantidad máxima permitida para un adulto, considerando también, que estos alimentos lácteos, no son los únicos aportes de fluoruro que se consume.

La concentración de fluoruro de 2,5 y 5,0 ppm fueron elegidas, ya que son las más utilizadas en la leche fluorurada a nivel mundial, típicamente ofrecido a los niños en las escuelas, por programas, dependiendo de la edad y el acceso que tengan al flúor (40).

3.4. Exposición a tratamientos y controles

Las soluciones utilizadas fueron: Leche entera, descremada, saborizada y producto lácteo “Años Dorados”, los tres primeros se escogieron por ser los tipos de leche más consumidos en Chile, mientras que la BL Años dorados, fue utilizada debido a que en un estudio anterior realizado por nuestra unidad demostró la alta cariogenicidad de este producto.

Luego se dividieron los bloques de esmalte y dentina en dos mitades, de forma transversal, dejando una de estas partes a la espera de los análisis posteriores y las otras mitades de esmalte y dentina fueron expuestas, en placas de 24 pozos de fondo plano, por separado, a los siguientes grupos de tratamiento:

- (A). BL años dorados + 0 ppm de fluoruro de sodio.
- (B). BL años dorados + concentración 2.5 ppm de fluoruro de sodio.
- (C). BL años dorados + concentración de 5 ppm de fluoruro de sodio.
- (D). BL años dorados + concentración de 10 ppm de fluoruro de sodio
- (E). L1 (descremada) + concentración de 0 ppm de fluoruro de sodio
- (F). L1 (descremada) + concentración de 2.5 ppm de fluoruro de sodio
- (G). L1 (descremada) + concentración de 5 ppm de fluoruro de sodio
- (H). L1 (descremada) + concentración 10 ppm de fluoruro de sodio
- (I). L2 (entera) + concentración de 0 ppm de fluoruro de sodio

- (J). L2 (entera) + concentración de 2.5 ppm de fluoruro de sodio
- (K). L2 (entera) + concentración de 5 ppm de fluoruro de sodio
- (L). L2 (entera) + concentración de 10 ppm de fluoruro de sodio
- (M). L3 (saborizada) + concentración de 0 ppm de fluoruro de sodio
- (N). L3 (saborizada)+ concentración de 2.5 ppm de fluoruro de sodio
- (O). L3 (saborizada) + concentración de 5 ppm de fluoruro de sodio
- (P). L3 (saborizada) + concentración de 10 ppm de fluoruro de sodio

Se prepararon 2 ml de cada solución, y se suspendieron los bloques en ellas, cuidando que las lesiones quedaran en íntimo contacto con las soluciones. Se sumergían durante 5 minutos, dos veces al día (9:00 y 18:00 hrs.) representando dos consumos diarios: desayuno y la colación de la tarde, luego se dejaban en agua purificada a 37°C, hasta la siguiente inmersión. Este procedimiento se llevó a cabo durante 14 días continuos (29).

3.5. Análisis de la mineralización

3.5.1. Análisis de microdureza superficial

Se usaron los bloques que no se expusieron al tratamiento, que tenían la lesión de caries *in vitro* y se midió la dureza *Knoop*, realizando 3 muescas separadas a 100 µm entre sí, utilizando un microdurómetro (402 MVD, Wolpert Wilson Instruments, Norwood, USA) con microidentación *Knoop* 50 g de carga para esmalte y 10 g de carga para dentina por 5 segundos (34), luego se realizó la misma medición con los bloques que habían sido sometidos al tratamiento de remineralización, es decir, el proceso de inmersión en las leches. De esta forma se obtuvo la dureza superficial de los bloques posterior al proceso de desmineralización y también luego del proceso de remineralización. Mediante estas mediciones de dureza se pudo obtener el %PGS que se refiere al porcentaje de remineralización que tuvo la lesión de caries luego de ser sometida a los diferentes tratamientos.

3.5.2. Evaluación con microscopía de luz polarizada

Siguiendo el protocolo más utilizado en estudios con luz polarizada(41, 42), se procedió a cortar ambas mitades de la muestra, con un disco de diamante (KG Sorensen, Sao Paulo, Brasil) una porción de 1 mm de espesor de la zona que contiene la lesión. Esta porción se pulió manualmente con abrasivos de carburo de silicio (Isesa, Santiago, Chile) de tamaño de grano de 1200 hasta conseguir un espesor de 200 μm para dentina y de 100 μm para esmalte, determinado con un calibrador digital (Mitutoyo, Kawasaki, Japón) (41, 42). Las muestras se limpiaron para eliminar los desechos y se rehidrataron con agua destilada por al menos 1 hora antes de realizar el análisis al microscopio, en todo momento las muestras fueron almacenadas en un ambiente que asegurara 100% de humedad (algodón embebido con agua purificada) para evitar la desecación y fractura de la muestra.

Las imágenes obtenidas, muestran el paso de la luz. El principio es que, si la muestra analizada traspasa mucha luz, indica mayor desmineralización en comparación con la zona no desmineralizada de la misma muestra, ya que los minerales impiden el paso de ésta. Estas imágenes se estandarizaron y cortaron (29x1530 pixeles), luego con ayuda del programa ZEN 2 (Zeiss, Alemania), se realizaron gráficos de luz, a través del área bajo la curva, analizada en cm^2 . Para realizar una medición cuantitativa.

3.6. Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron con los softwares estadísticos InfoStat (InfoStat 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina) y R versión 3.3.1 2016-06-21 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria). Se determinó la normalidad de los datos, para posteriormente proceder a realizar las pruebas paramétricas de ANOVA y Tukey con el fin de determinar las diferencias entre las medias de las variables.

El nivel de significancia que se utilizará será con valor p menor a 0,05.

4. Resultados

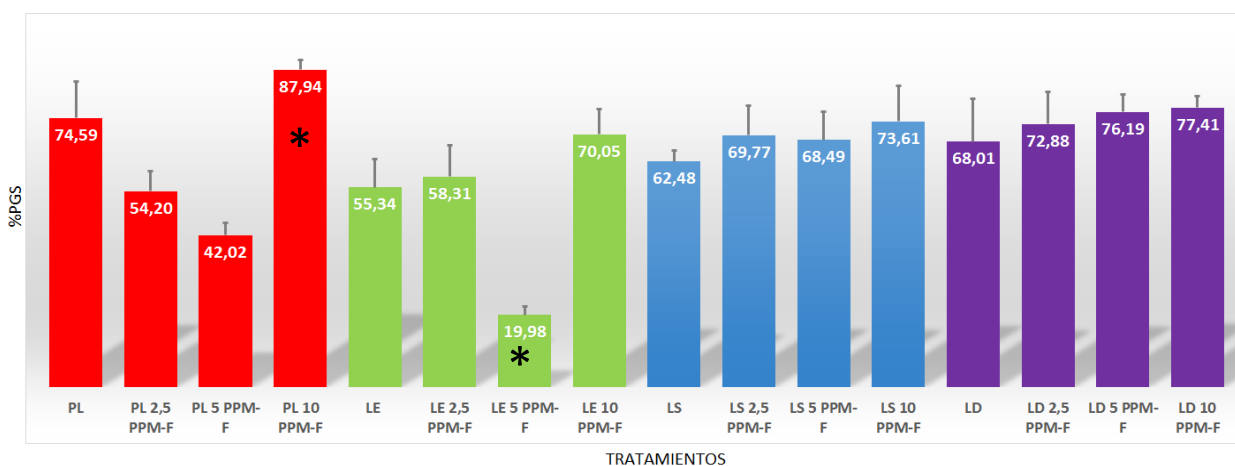
4.1. Dureza superficial de las lesiones de caries.

4.1.1. Esmalte.

Todos los grupos expuestos al tratamiento mostraron una ganancia mineral, es decir, se remineralizaron. Dentro de los grupos, sólo dos tienen diferencias estadísticamente significativas: $p < 0.05$

Los bloques de esmalte tratados con Producto lácteo (PL), suplementados con 10 ppm de fluoruro fueron los que mostraron mayor ganancia de mineral con un PGS de $87,94 \pm 2,64\%$, mientras que la Leche entera (LE) suplementada con 5 ppm de fluoruro fueron los que presentaron un menor PGS siendo de $19,98 \pm 2,42\%$.

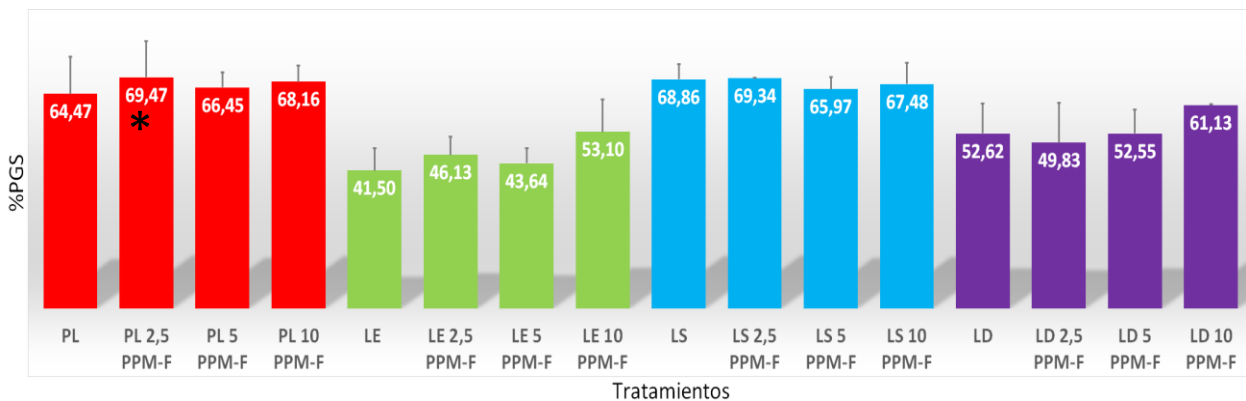
Fig. 1 Comparación intergrupos de ganancia de minerales inducida por los diferentes tratamientos, en esmalte. En el gráfico se observan en distinto color los tratamientos: rojo producto lácteo, verde leche entera, celeste leche saborizada y morado leche descremada. Las diferencias singnificativas ($p < 0.05$) se indican con un asterisco (*).



3.1.2 Dentina

Todos los grupos expuestos al tratamiento mostraron una ganancia mineral, es decir, se remineralizaron. Dentro de los grupos, sólo uno tiene diferencia estadísticamente significativa: $p < 0.05$. Los bloques de dentina expuestos al producto lácteo suplementados con 2.5 ppm, fueron los únicos que mostraron diferencias estadísticamente significativas, mayor ganancia mineral PGS de $69.47 \pm 10.88\%$.

Fig. 2 Comparación intergrupala de ganancia de minerales inducida por los diferentes tratamientos, en dentina. En el grafico se observan en distinto color los diferentes tratamientos: rojo producto lácteo, verde leche entera, celeste leche saborizada y morado leche descremada. Las diferencias significativas ($p < 0,05$) se indican con asterisco (*).



4.2. Pérdida de mineral en lesiones artificiales de caries en esmalte y dentina.

Mediante las imágenes obtenidas en el microscopio de luz polarizada, se realizó un gráfico de luz con las imágenes obtenidas de los bloques donde se analizó el área bajo la curva en cm^2 , cuantificando la desmineralización o remineralización en cada bloque.

Se analizaron los bloques desmineralizados y remineralizados y la diferencia entre estos para determinar si hubo ganancia mineral. En esmalte tiene una diferencia negativa, es decir, que hubo mayor desmineralización que remineralización los siguientes grupos: LD 0 ppm, 5 ppm. LE 0, 2.5 y 5 ppm, LS 5 ppm. En dentina; LD 0, 5 ppm. LE 0, 2.5 y 5 ppm, LE 0 y 5 ppm, PL 2,5 ppm.

Figura 3: Ganancia de minerales en profundidad inducidas por los distintos tratamientos en esmalte. En el grafico se observan en distinto color los diferentes tratamientos: rojo producto lácteo, verde leche entera, celeste leche saborizada y morado leche descremada.

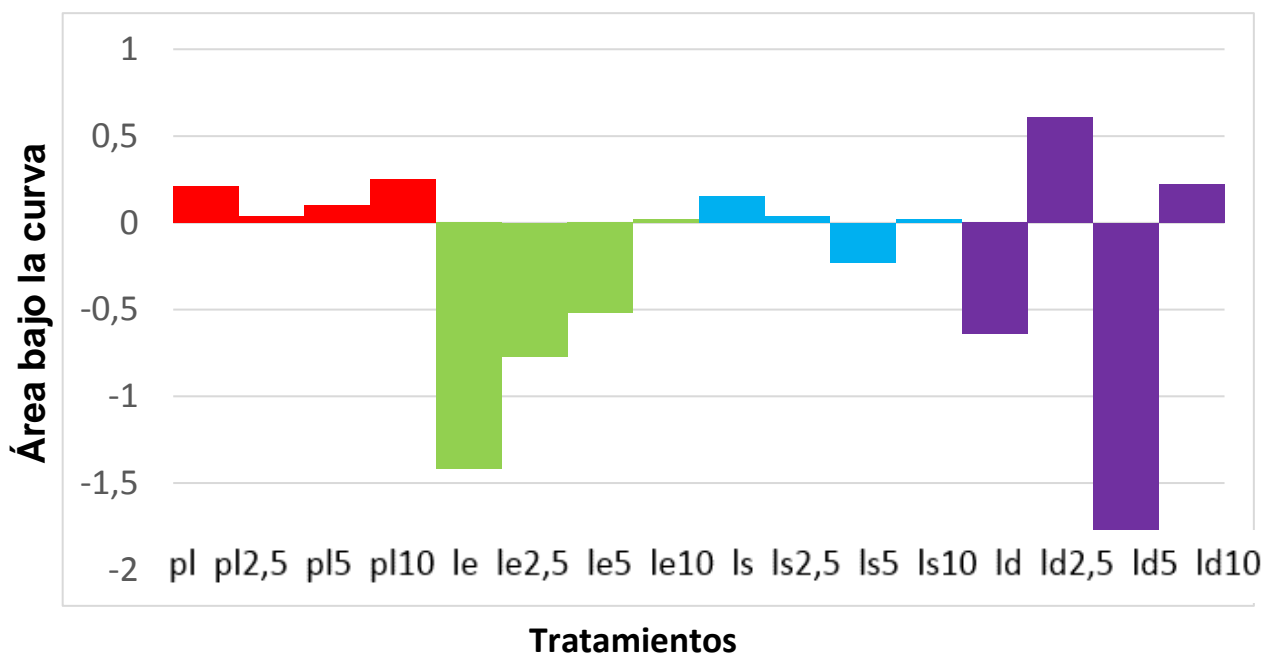
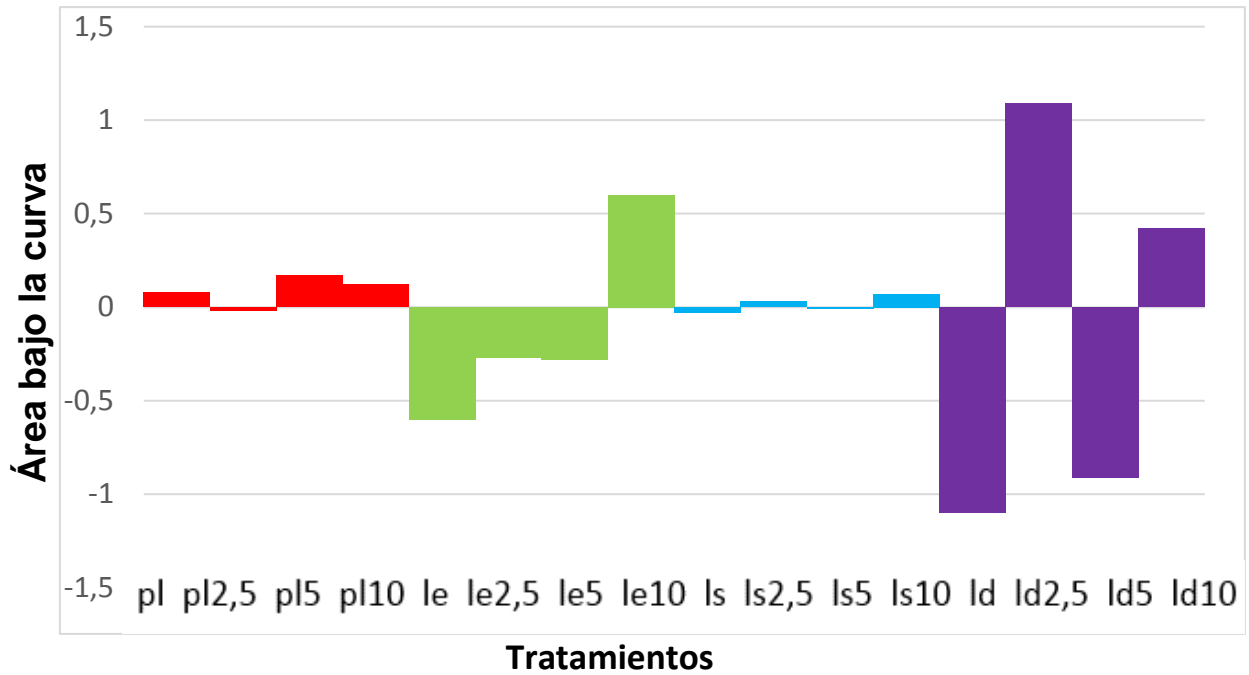


Figura 4: Ganancia de minerales en profundidad inducidas por los distintos tratamientos en dentina. En el grafico se observan en distinto color los diferentes tratamientos (rojo: producto lácteo, verde leche entera, celeste leche saborizada y morado leche descremada).



5. Discusión

Las lesiones artificiales de caries se realizaron mediante la aplicación de un protocolo de desmineralización ampliamente utilizado en diferentes estudios(35, 36), siendo diferentes tanto para dentina como esmalte, debido a las distintas durezas de los sustratos. Dichos protocolos de desmineralización permiten obtener lesiones de una profundidad y extensión estandarizada (43).

De acuerdo con nuestros resultados, independiente de la suplementación con fluoruro, en todos los grupos se observó remineralización al término de la fase experimental. Las lesiones de caries en esmalte tratados con Producto lácteo (PL), suplementado con 10 ppm de fluoruro mostraron la mayor ganancia de minerales, mientras que la Leche entera (LE) suplementada con 5 ppm de fluoruro presentó la menor. Respecto a las lesiones en dentina, aquellas expuestas al producto lácteo suplementado con 2.5 ppm, fueron las que tuvieron una mayor remineralización

A pesar de que muchos autores le atribuyen a la leche una capacidad anticariogénica (44), diferentes estudios han demostrado que tanto leche entera como descremada poseen un bajo potencial cariogénico (45, 46). También se ha demostrado que, si a la leche se le adiciona azúcar, presentación comercial frecuente en leche saborizada, su potencial cariogénico se eleva considerablemente (47). Además, se ha observado que estas leches tienen diferente comportamiento en términos de cariogenicidad, por el contenido de ácidos grasos, que tienen un efecto protector, como también de calcio y fosfato, que actúan ayudando a prevenir la disolución de los minerales que componen el esmalte dental (48). Por otra parte, la principal proteína de la leche es la caseína, la cual aparentemente previene la adherencia de componentes salivales y bacterianos al biofilm del esmalte, además reduce la actividad de la glucosiltransferasa, disminuyendo así la formación de glucanos y alterando la adhesión bacteriana (49). En el presente estudio, al analizar la capacidad remineralizadora de la leche entera y descremada tanto en esmalte como en dentina, existió ganancia de mineral. La leche sin suplementación de fluoruro, tiene la capacidad de remineralizar lesiones superficiales de caries en esmalte y dentina *in vitro* e *in situ*, según lo reportado por otros autores (46), lo cual no difiere de los resultados obtenidos en este estudio, pues todas las lesiones de caries en esmalte y dentina sin exposición a leche fluorurada, obtuvieron ganancia mineral en cuanto a la dureza superficial.

En relación a la suplementación de fluoruro de este alimento sería lógico pensar en un efecto dosis dependiente, o sea a mayor concentración de fluoruro, mayor potencial remineralizador. Sin embargo, en nuestro trabajo esto no se cumple, hecho que está en concordancia con los resultados expuestos en otros estudios (29, 35). Se ha observado mejores resultados en la capacidad remineralizadora de la leche bovina suplementada con dosis más bajas de flúor. Por ejemplo, tiene mejores resultados la leche entera suplementada con 1 ppm de fluoruro, que con 5 ppm y luego al comparar 5 ppm con 10 ppm no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas(29).

La inexistente relación de dosis dependencia, se podría explicar debido a la interacción del fluoruro con el calcio presente en la leche, que resulta en la precipitación de fluoruro de calcio. Esto implica un secuestro del fluoruro por parte de este elemento químico, disminuyendo la disponibilidad de este en el medio, lo que no ocurre cuando la concentración de flúor en la leche es bajo (2- 5 ppm) (35).

En base a lo anterior, sería necesario realizar estudios que analicen interacciones bioquímicas entre la leche/suplementos alimenticios y el fluoruro. Por otro lado, en términos de potencial remineralizador, no existen estudios con otros tipos de leches comercializadas, como descremada, saborizada y suplementos alimenticios, puesto que la mayoría ocupa solo leche entera.

Estudios anteriores de nuestra unidad, desarrollados *in vitro e in situ*, han demostrado, que el producto lácteo Años Dorados tiene un alto potencial cariogénico sobre dentina radicular (24), sin embargo, al adicionar fluoruro este efecto negativo disminuye significativamente. Nuestro estudio *in vitro* sugiere que además de disminuir la cariogenicidad podría favorecer la remineralización de lesiones superficiales de caries, bajo ciertas condiciones, puesto que al tratarse de un estudio *in vitro* se tienen todos los factores controlados, como por ejemplo no existía interacción con saliva y por lo tanto con sus componentes, tampoco estaban expuestos a un desafío cariogénico, estos factores moduladores, podrían generar un cambio en los resultados de este estudio.

La leche suplementada con fluoruro tiene la ventaja de ser un método muy seguro en el grupo etario de adultos mayores, ya que no se corre el riesgo de generar fluorosis como en el caso de los niños. Además en nuestro estudio sólo se analizó el uso de pequeñas dosis de fluoruros con el fin de no sobrepasar la dosis diaria máxima recomendada de 4 mg diarios en adultos (39). La dosis tóxica que se debe ingerir para presentar síntomas clínicos como náuseas, diarrea y vómito es de 7 a 140 mg, lo que se traduce en la ingesta de 3,5 a 70 porciones (200mL/porción) de leche suplementada con 5 ppm de fluoruro. El efecto adverso más relevante es osteoesclerosis, (50) como consecuencia de un consumo prolongado de fluoruro 14 mg/día por más de 10 años y para que se produzca un resultado fatal se estima una ingesta de 5 a 10 g para un adulto y de 500 mg para un niño. Por lo anterior, se sugiere que exista una indicación profesional, ya que un uso indebido pudiese provocar los efectos mencionados.

En conclusión y basándose en los resultados de nuestro trabajo, se demuestra el positivo efecto de la suplementación con fluoruro a la leche y más aún a los suplementos alimenticios, lo que podría modular la cariogenicidad de estos alimentos y favorecer la remineralización de los tejidos dentarios.

6. Referencias bibliográficas.

1. Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ.* 2005;83(9):661-9.
2. Urzua I, Mendoza C, Arteaga O, Rodriguez G, Cabello R, Faleiros S, et al. Dental caries prevalence and tooth loss in Chilean adult population: first national dental examination survey. *Int J Dent.* 2012;2012:810170.
3. MINSAL. Salud oral integral para niños y niñas de 6 años. 2013.
4. Kassebaum NJ, Bernabe E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJ, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res.* 2015;94(5):650-8.
5. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray C, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *Journal of dental research.* 2015;94(5):650-8.
6. Hicks J, Garcia-Godoy F, Flaitz C. Biological factors in dental caries: role of remineralization and fluoride in the dynamic process of demineralization and remineralization (part 3). *J Clin Pediatr Dent.* 2004;28(3):203-14.
7. Rosin-Grget K, Peros K, Sutej I, Basic K. The cariostatic mechanisms of fluoride. *Acta Med Acad.* 2013;42(2):179-88.
8. Hamilton IR. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. *J Dent Res.* 1990;69 Spec No:660-7; discussion 82-3.
9. Iwami Y, Department of Oral Biochemistry TUSoD, Sendai, Japan, Hata S, Department of Pedodontics TUSoD, Sendai, Japan, Schachtele CF, Department of Department of Oral Sciences SoD, University of Minnesota, Minneapolis, USA, et al. Simultaneous monitoring of intracellular pH and proton excretion during glycolysis by *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*: effect of low pH and fluoride. *Oral Microbiology and Immunology.* 1995;10(6):355-9.
10. Buzalaf MA, Pessan JP, Honorio HM, ten Cate JM. Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci.* 2011;22:97-114.
11. Marthaler TM, Petersen PE. Salt fluoridation--an alternative in automatic prevention of dental caries. *Int Dent J.* 2005;55(6):351-8.
12. Iheozor-Ejiofor Z, Worthington HV, Walsh T, O'Malley L, Clarkson JE, Macey R, et al. Water fluoridation for the prevention of dental caries. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015(6):Cd010856.
13. OMS. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Ginebra: OMS/FAO; 2003.
14. WHO. Fluorides and oral health : report of a WHO Expert Committee on Oral Health Status and Fluoride Use [meeting held in Geneva from 22 to 28 November 1993]. 1994.
15. Banoczy J, Rugg-Gunn AJ. Caries prevention through the fluoridation of milk. A review. *Fogorv Sz.* 2007;100(5):185-92, 77-84.
16. Birgisdottir BE, Hill JP, Harris DP, Thorsdottir I. Variation in consumption of cow milk proteins and lower incidence of Type 1 diabetes in Iceland vs the other 4 Nordic countries. *Diabetes Nutr Metab.* 2002;15(4):240-5.
17. Raikos V, Dassios T. Health-promoting properties of bioactive peptides derived from milk proteins in infant food: a review. *Dairy Sci Technol.* 94. France2014. p. 91-101.
18. BCN. Análisis económico del Mercado de la Leche en Chile. 2017.
19. ODEPA. Boletín de la leche. In: mejor C, editor. 2018.
20. ODEPA. Recepción y Elaboración de la Industria Láctea - ODEPA. 2018.

21. Marino R, Morgan M, Weitz A, Villa A. The cost-effectiveness of adding fluorides to milk-products distributed by the National Food Supplement Programme (PNAC) in rural areas of Chile. *Community Dent Health*. 2007;24(2):75-81.
22. Pot GK, Prynne CJ, Almoosawi S, Kuh D, Stephen AM. Trends in food consumption over 30 years: evidence from a British birth cohort. *Eur J Clin Nutr*. 2015;69(7):817-23.
23. ENCUESTA DE CONSUMO ALIMENTARIO EN CHILE (ENCA) [Internet]. 2014. Available from: <https://www.minsal.cl/enca/>.
24. Clavijo García IA, Castro Barahona R. Hábitos de consumo y experiencia de caries de los adultos mayores adscritos al programa de alimentación complementaria del adulto mayor (PACAM de la región del Maule, Chile. Universidad de Talca (Chile). Escuela de Odontología.; 2013.
25. MINSAL. Bases técnicas bebida láctea Años Dorados. In: Salud Md, editor. Santiago, Chile 2011.
26. McDougall WA. Effect of milk on enamel demineralization and remineralization in vitro. *Caries Res*. 1977;11(3):166-72.
27. Toth Z, Gintner Z, Banoczy J, Phillips PC. The effect of fluoridated milk on human dental enamel in an in vitro demineralization model. *Caries Res*. 1997;31(3):212-5.
28. Ivancakova R, Harless JD, Hogan MM, Wefel JS. Effect of 2% plain and fluoridated milk on root surface caries in vitro. *Spec Care Dentist*. 2005;25(2):118-23.
29. Malinowski M, Duggal MS, Strafford SM, Toumba KJ. The effect of varying concentrations of fluoridated milk on enamel remineralisation in vitro. *Caries Res*. 2012;46(6):555-60.
30. Arnold WH, Heidt BA, Kuntz S, Naumova EA. Effects of fluoridated milk on root dentin remineralization. *PLoS One*. 2014;9(8):e104327.
31. Ongtenco KL, Anthonappa RP, Itthagarun A, King NM, Laloo R, Nair RG. Remineralization of initial enamel carious lesions using fluoridated milk in vitro. *Acta Odontol Scand*. 2014;72(8):737-44.
32. Munoz-Sandoval C, Munoz-Cifuentes MJ, Giacaman RA, Ccahuana-Vasquez RA, Cury JA. Effect of bovine milk on *Streptococcus mutans* biofilm cariogenic properties and enamel and dentin demineralization. *Pediatr Dent*. 2012;34(7):e197-201.
33. Giacaman RA, Muñoz-Sandoval C. Cariogenicity of different commercially available bovine milk types in a biofilm caries model. *Pediatric dentistry*. 2014;36(1):1E-6E.
34. Cury JA, Rebelo MAB, Cury AADB, Derbyshire MTV, Tabchoury CPM. Biochemical Composition and Cariogenicity of Dental Plaque Formed in the Presence of Sucrose or Glucose and Fructose. *Caries Research*. 2000;34(6):491-7.
35. Itthagarun A, Verma S, Laloo R, King NM, Wefel JS, Nair RG. Effects of fluoridated milk on artificial enamel carious lesions: a pH cycling study. 2011.
36. Nobrega DF, Fernandez CE, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, Cury JA. Frequency of Fluoride Dentifrice Use and Caries Lesions Inhibition and Repair. *Caries Res*. 2016;50(2):133-40.
37. Lippert F, Hara AT. Fluoride dose-response of human and bovine enamel caries lesions under remineralizing conditions. *Am J Dent*. 2012;25(4):205-9.
38. Cassiano L, Pessan J, Comar L, Levy F, Cardoso C, Dionisio A, et al. Frequency of intake and amount of fluoride in milk for remineralisation of artificial caries on enamel and dentine: Ex vivo/in situ study. *Arch Oral Biol*. 2017;73:136-41.
39. OMS. Environmental Health Criteria 227: Fluorides; in. Cambridgeshire, United Kingdom, Centre for ecology and hidrology.: s of fluoride exposureAge groupEstimated fluoride intake, mg/day (mg/kg body weight per day)aCommentReferences; 2002. Report No.: 92 4 157227 2 (NLM classification: QV 282).
40. Banoczy J, Rugg-Gunn A, Woodward M. Milk fluoridation for the prevention of dental caries. *Acta Med Acad*. 2013;42(2):156-67.

41. Xie Q, Bedran-Russo AK, Wu CD. In vitro remineralization effects of grape seed extract on artificial root caries. *J Dent.* 2008;36(11):900-6.
42. Silva AP, Goncalves RS, Borges AF, Bedran-Russo AK, Shinohara MS. Effectiveness of plant-derived proanthocyanidins on demineralization on enamel and dentin under artificial cariogenic challenge. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(3):302-9.
43. Delbem AC, Cury JA. Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. *Am J Dent.* 2002;15(3):169-72.
44. Aimutis WR. Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis. *J Nutr.* 2004;134(4):989s-95s.
45. R.C. P, L.C. C, E.M. F, M.C. V, F.C. G, P.L. R. Cariogenicity Of Different Types Of Milk: An Experimental Study Using Animal Model. *Scopus.* 2002.
46. Bowen WH, Pearson SK, Rosalen PL, Miguel JC, Shih AY. Assessing the cariogenic potential of some infant formulas, milk and sugar solutions. *J Am Dent Assoc.* 1997;128(7):865-71.
47. Prabhakar AR, Kurthukoti AJ, Gupta P. Cariogenicity and acidogenicity of human milk, plain and sweetened bovine milk: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent.* 2010;34(3):239-47.
48. Rugg-Gunn AJ, Roberts GJ, Wright WG. Effect of Human Milk on Plaque pH in situ and Enamel Dissolution in vitro Compared with Bovine Milk, Lactose, and Sucrose. *Caries Research.* 1985;19(4):327-34.
49. Vacca-Smith AM, Bowen WH. The effect of milk and kappa casein on streptococcal glucosyltransferase. *Caries Res.* 1995;29(6):498-506.
50. OMS | Exceso o cantidad inadecuada de flúor. WHO. 2016.