



**Universidad
Europea** VALENCIA

Grado en ODONTOLOGÍA

Trabajo Fin de Grado

Curso 2022-23

**“COMPARACION DEL EFECTO REMINERALIZANTE
DEL CHITOSAN CON EL FLUOR Y OTROS
PRODUCTOS REMINERALIZANTES EN CARIES
INCIPIENTES: UNA REVISION SISTEMATICA”.**

Presentado por: Emanuele Lepore

Tutor: Angel Del Campo Rodriguez

Campus de Valencia

Paseo de la Alameda, 7 46010 Valencia

universidadeuropea.com

-AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi sincero agradecimiento a las personas que han estado cerca de mí a lo largo de la realización de esta tesis. Sin su apoyo, aliento y valiosa contribución, no habría podido alcanzar este hito.

En primer lugar, quiero dar las gracias a mi familia. A mi madre, por su constante apoyo emocional y su incansable ánimo. A mi padre, por sus preciosas palabras de consejo y sus llamadas para alegrarme los días. A mi hermano, por empujarme siempre a dar lo mejor de mí y por ayudarme en las etapas más complejas de mi trayectoria académica.

Un agradecimiento especial también a mis amigos de casa, los que han estado a mi lado día tras día, escuchándome, animándome y distrayéndome cuando ha sido necesario. Gracias por las risas y la cercanía en los momentos difíciles.

Gracias de corazón también a mis amigos de la universidad. Gracias por haber compartido conmigo alegrías y dificultades durante estos años. Gracias por las notas intercambiadas, los debates estimulantes y el apoyo mutuo en momentos de incertidumbre. Habéis sido una fuente constante de inspiración.

Por último, quiero dar las gracias a mi tutor de tesis. Gracias por su orientación, paciencia y profesionalidad. Supiste dirigirme hacia la realización de este trabajo de la mejor manera posible. Su compromiso y confianza en mí fueron cruciales para la realización de esta tesis.

Una vez más, me gustaría dar las gracias a todas estas increíbles personas que han hecho posible este importante hito en mi vida académica. Su presencia y apoyo marcaron la diferencia.

Indice

1. Resumen.....	6
2. Abstract.....	8
3. Palabras Claves.....	10
4.) INTRODUCCION.....	12
4.1) Esmalte: Estructura.....	12
4.2) La caries dental.....	13
4.3) Desmineralización.....	13
4.4) Clasificación y diagnóstico de caries.....	14
4.5) Métodos de detección de caries.....	16
4.6) Remineralización.....	17
4.7) Chitosan.....	20
5) JUSTIFICACION Y HIPOTESIS.....	23
5.1) Justificación.....	23
5.2) Hipótesis.....	24
6) OBJETIVOS.....	26
7) MATERIALES Y METODOS.....	28
7.1) IDENTIFICACION DE LA PREGUNTA PICO.....	28
7.2) Criterios de Elegibilidad.....	28
7.3) Fuente de Información y estrategia de la búsqueda de datos.....	29
7.4) Proceso de selección de estudios.....	31
7.5) Extracción de Datos.....	32
7.6) Valoración de la calidad.....	33
7.7) Síntesis de Datos.....	33
8) RESULTADOS.....	36
8.1) Selección de estudios. Flow chart.....	36
8.2. Análisis de las características de los estudios revisados.....	38
8.3. Evaluación de la calidad metodológica y riesgo de sesgo.....	40
8.4. Síntesis resultados.....	42
8.4.1 Remineralización de caries incipientes.....	42
8.4.2 Contenido mineral dental relacionado a los procedimientos de remineralización.....	44
9 DISCUSION.....	48
9.1 Remineralización de caries incipientes.....	48
9.2 Contenido mineral de la remineralización.....	51
9.3 Limitaciones del estudio.....	52
10 CONCLUSIONES.....	54
BIBLIOGRAFIA.....	55
ANEXOS.....	59

1. RESUMEN

Introducción: A pesar del efecto beneficioso predominante del fluoruro en la remineralización del esmalte, el riesgo de fluorosis dental inducida por una ingesta excesiva de flúor hace que pueda ser preferible el uso de agentes como el quitosan en la remineralización de caries incipientes. El objetivo fue evaluar la remineralización de caries incipiente de esmalte proporcionada por el quitosan respecto al flúor; así como evaluar el contenido mineral de las superficies tratadas por cada uno de los dos agentes.

Material y método: Se realizó una búsqueda electrónica en las bases de datos PubMed, Scopus y Web Of Science sobre la remineralización de caries incipiente de esmalte por quitosan o flúor hasta diciembre de 2022.

Resultados: De 208 artículos potencialmente elegibles, 9 cumplieron con los criterios de inclusión: 5 artículos describían la remineralización mediante el uso de quitosan, 1 mediante el uso de flúor y 3 realizaban una comparativa de ambos grupos de tratamiento.

Ambos agentes mostraron una eficaz capacidad remineralizante, destacándose en las muestras en tratamiento con quitosan un aumento de la remineralización superficial y subsuperficial evidenciada por los resultados de microdureza Knoop y un valor Ca/P de la superficie remineralizada más cercano al esmalte sano

Conclusión: A pesar de las limitaciones, el tratamiento con quitosan parece conseguir un aumento significativo de la remineralización subsuperficial, una mayor recuperación mineral y una composición cercana a la hidroxiapatita pura.

2. ABSTRACT

Introduction: Despite the predominant beneficial effect of fluoride on enamel remineralisation, the risk of dental fluorosis induced by excessive fluoride intake means that it may be preferable to use agents such as chitosan in the remineralisation of incipient caries. The objective was to evaluate the remineralisation of incipient enamel caries provided by chitosan with respect to fluoride; as well as to evaluate the mineral content of the surfaces treated by each of the two agents.

Material and methods: An electronic search was carried out in the PubMed, Scopus and Web Of Science databases on the remineralisation of incipient enamel caries by chitosan or fluoride until December 2022.

Results: Out of 208 potentially eligible articles, 9 met the inclusion criteria: 5 articles described remineralisation using chitosan, 1 using fluoride and 3 made a comparison of both treatment groups. Both agents showed an effective remineralising capacity, with the samples treated with chitosan showing an increase in surface and sub-surface remineralisation as evidenced by the Knoop micro-hardness results and a Ca/P value of the remineralised surface closer to healthy enamel.

Conclusion: Despite limitations, chitosan treatment appears to achieve a significant increase in subsurface remineralisation, increased mineral recovery and a composition close to pure hydroxyapatite.

3. PALABRAS CLAVES

- I. Dental Caries**
- II. Incipient Caries**
- III. Tooth demineralization**
- IV. Tooth Decay**
- V. Incipient Decay**
- VI. Chitosan**
- VII. Fluorine**
- VIII. Tooth Remineralization**
- IX. Remineralización dental**
- X. Desmineralización dental**

4.) INTRODUCCION

4.1) Esmalte: Estructura

El esmalte es un biomaterial único que contiene componentes tanto orgánicos e inorgánicos y se considera el tejido más mineralizado y duro del cuerpo humano. Los componentes inorgánicos constituyen aproximadamente 96 % del peso del esmalte en forma de fosfato cálcico dispuesto en cristales de hidroxiapatita. El 1% es una matriz orgánica que representa en forma de finas fibrillas que envuelven cada cristal de apatita, y el 3 % restante es agua residual. A pesar de ser un esmalte celular y vascular, tiene la dureza necesaria para resistir desafíos físicos y químicos. El esmalte en la cavidad oral está sometido a un entorno extremadamente hostil, y está sometido a diversas fuerzas de compresión por la masticación, a desgastes físicos como la abrasión y atricción, a exposición a la placa dentobacteriana y a los ácidos provenientes de la dieta (1).

La unidad estructural básica del esmalte son prismas o “varillas”, y cada diente está formado por millones de prismas que corren desde la unión amelodentinaria hacia la superficie y tienen dimensiones de micras. (2).

Si observamos unos de estos prismas a mayor amplificación podemos ver que se componen de millones de cristales de hidroxiapatita que se encuentran muy unidos entre si y siempre rodeados por una matriz orgánica. La hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) presenta una celda unitaria hexagonal con un eje helicoidal a lo largo de un eje hidroxilo. El esmalte es secretado por los ameloblastos que pierden esta capacidad una vez que el esmalte ha alcanzado su espesor total, cuando esto sucede, hay una pérdida de ameloblastos funcionales, por lo que la regeneración del esmalte debido al desgaste no es posible, después del desarrollo, el esmalte sólo puede ser manipulado estimulando el crecimiento y la pérdida de minerales. El daño de este tejido duro se produce por el ataque ácido procedentes de la dieta y de los procesos metabólicos de la flora microbiana oral; la disolución de los iones minerales se produce con intensidad variable en función del alcance de dicho ataque, lo que conduce a la erosión de la estructura del esmalte. Las concentraciones de apatita en los tejidos duros varían en función de los procesos formativos y la

función que se requiera; la relación Ca:P del esmalte es aproximadamente igual a la relación de la hidroxiapatita (HA) pura (1).

4.2) La caries dental

La caries dental es una enfermedad dinámica, multifactorial, mediada por un biofilm y por carbohidratos fermentables (3). Los factores determinantes de la enfermedad cariosa causan una disbiosis oral, es decir una alteración del ecosistema bucal que cursa con una pérdida del equilibrio de la comunidad del biofilm, predominando una sola o pocas especies que aumentan el riesgo de padecer esta enfermedad(4). El proceso carioso es el resultado de una desmineralización y remineralización fásica de los tejidos duros dentales. El tiempo de retención de carbohidratos fermentables en la cavidad oral ha demostrado ser el factor principal en el inicio y progresión de la caries dental, además otros factores contribuyen al desarrollo de esta enfermedad como el flujo salival, la capacidad amortiguadora de la saliva para neutralizar los ácidos y mantener su pH. La caries comienza con una pequeña rugosidad superficial o desmineralización, luego progresa hacia una cavitación que de seguir afectaría los demás tejidos dentales como son la dentina, la pulpa dental, que de agravarse podría llegar a una inflamación, necrosis y que produciría un absceso y además signos y síntomas sistémicos. (5)

La caries dental es una de las enfermedades crónicas más comunes en los niños, siendo cinco veces más frecuente que el asma o la fiebre del heno. Es muy importante que todos los pediatras conozcan los signos y síntomas de la caries dental y sus secuelas si no se trata, así como su repercusión en la salud general para poder dar instrucciones preventivas o prescribir medicación alternativa en caso de enfermedades crónicas. (6)

4.3) Desmineralización

El diente humano está sometido constantemente a daños debido a que se encuentra expuesto a agentes externos y a la ingestión inevitable de una dieta tanto líquida como sólida. El microbioma oral presenta un entorno único que actúa como una amenaza omnipresente para las estructuras mineralizadas de la cavidad oral. La agresión ácida al esmalte se debe principalmente a los ácidos provenientes del metabolismo de los microorganismos de la flora oral.

Dicha flora se encuentra inmersa en una película (biofilm) adherida a la superficie dental. (1)

Dos de los principales organismos productores de ácidos por su naturaleza y que residen en esta biopelícula son: el *Streptococcus mutans* y el *Lactobacillus acidophilus*. En presencia de carbohidratos fermentables, el ácido producido por estas bacterias comienza a erosionar el esmalte superficial. Esta desmineralización puede ser detenida por la presencia constante del calcio y el fosfato salival que amortiguan la acción erosiva de los ácidos y remineralizan continuamente la superficie dental manteniendo un balance. Sin embargo, cuando este equilibrio se rompe y se da un ambiente más ácido, la desmineralización puede afectar a capas subsuperficiales del esmalte dando como resultado una lesión cariosa inicial incipiente. (6)

Las reacciones de desmineralización son de naturaleza progresiva y dependen de muchos factores intrínsecos y extrínsecos. Los ácidos exógenos proveniente de los carbohidratos fermentables de la dieta desempeñan un papel importante en la desmineralización. Un pH bajo provoca una alteración en la superficie de la hidroxiapatita, los ácidos que presentan más iones de hidrógeno disociados reaccionan con la saliva y producen iones de hidronio que conducen a la disolución de la apatita cristalina. Los ácidos endógenos también contribuyen a la desmineralización del esmalte ya que son más potentes debido a un pH muy bajo. (7)

Las lesiones superficiales de esmalte se forman en los microcanales originados en los prismas de los periquematis. En el cuerpo de la lesión distinguimos una zona oscura hipomineralizada cuya pigmentación puede deberse a la detención de microorganismos dentro del esmalte disuelto y una zona translúcida que presenta capas hipermineralizadas con un aumento tanto del volumen de los cristales como de los poros comparado con un esmalte sano. (1)

4.4) Clasificación y diagnóstico de caries

Hay dos pasos importantes para la clasificación de las lesiones cariosas durante su proceso de diagnóstico: La detección de la lesión, que implica un

método objetivo para determinar si la lesión de caries está presente y la evaluación de la lesión, que busca monitorearla una vez detectada. (8)

El Sistema Internacional para el Diagnóstico y Detección de Caries (ICDAS) constituye una técnica de diagnóstico de lesiones cariosas, propuesta para reducir la subjetividad e incrementar la especificidad y sensibilidad, permitiendo la reproductibilidad de la inspección visual táctil en el diagnóstico de caries. La posibilidad de la detección de caries dental desde sus fases iniciales así como el establecimiento de su severidad justifica las posibles dificultades que la técnica exige, relacionadas principalmente a una valoración de cada superficie, una adecuada iluminación, el secado de la superficie analizada, la inspección clínica minuciosa y la utilización de instrumentos adecuados como sonda OMS para eliminar los restos de biofilm, remover restos de alimentos acumulados y así poder identificar correctamente la textura de las superficies examinadas. (9)

El éxito inicial del sistema ICDAS aumentó el interés por definir intervenciones mínimamente invasivas en lesiones ya cavitadas, pero también promovió la remineralización de las lesiones incipientes que están aún sin cavitarse. Además, tras constatar la posibilidad de remineralización de las caries incipientes, este sistema hizo hincapié en la importancia que tenía en la práctica clínica la detección precoz de este tipo de lesión para fomentar una remineralización óptima. (10)

El sistema ICDAS utiliza un código de identificación de dos dígitos. El primer dígito registra las superficies sin restaurar, selladas o restauradas con algún tipo de material obturador o por medio de restauraciones cementadas (coronas, carillas, onlays/inlays, etc.) El uso más común de este dígito son en los estudios epidemiológicos. El segundo dígito es el que más interesa al profesional en su práctica clínica ya que nos indica el estado del diente en todas sus superficies, desde el primer cambio visual en el esmalte hasta la cavitación extensa. La detección mediante el método ICDAS considera la corona del diente como unidad, donde existen cinco superficies, vestibular, palatina o lingual, mesial, distal y oclusal o incisal, mismas que serán evaluadas de forma independiente, en cuanto a su estado. El código cero es empleado para identificar superficies dentarias sanas, sin evidencia de caries o

cambios cuestionables en su anatomía o estructura, observado tras el secado con aire o gasa de la superficie durante 5 segundos. En este código se descartan lesiones asociadas con defectos del esmalte como hipoplasias, fluorosis, desgaste dental y manchas extrínsecas o intrínsecas. El código uno, constituye el primer cambio visual percibido en el esmalte dental, cuando este es secado con aire durante 5 segundos, apreciándose una sombra circunscrita y confinada a esmalte únicamente, de color oscuro a manera de una línea realizada con grafito o una sombra blanca opaca rugosa. El código dos está caracterizado por la presencia de cambios perceptibles en el esmalte dental similares a los que se describen en el código uno, pero visualizados sin la necesidad de secar o deshidratar la superficie. El código tres se manifiesta en la superficie del diente como ruptura evidente de la homogeneidad del tejido de esmalte, sin exposición visual de dentina, esta pérdida de la continuidad o integridad del esmalte es más evidente tras el secado de la superficie con aire por 5 segundos. El código cuatro, se caracteriza por la presencia de una sombra oscura de color gris, azul o marrón en el esmalte, y puede o no haber cavitación o ruptura de la continuidad del tejido superficial. Sin embargo, la afectación a nivel histológico llega al tercio interno de la dentina la cual se encuentra ya desmineralizada. En el código cinco encontramos una cavidad con pérdida de la integridad del esmalte que expone de forma visible dentina, donde el esmalte que rodea la lesión se presenta opaco o descolorido y la dentina expuesta abarca menos del 50% de toda la superficie examinada, aun cuando en profundidad puede involucrar dentina profunda afectando incluso a la pulpa. El código seis considera la presencia de una cavidad extensa que abarca más del 50% de la superficie examinada, con obvia pérdida de la estructura dental, mostrando una superficie dental con paredes delgadas o ausentes y que alcanza la dentina profunda e incluso puede alcanzar la pulpa. La elevada sensibilidad que este sistema de detección presenta, frente a cada uno de estos códigos, han permitido diseñar protocolos de tratamiento que abarcan desde una simple aplicación de barniz de flúor como elemento remineralizante hasta la colocación de diferentes materiales restauradores. (9)

4.5) Métodos de detección de caries

La inspección visual es el método más común en la práctica clínica diaria para detectar lesiones de caries dental. El método complementario más

utilizado es el examen radiográfico, el cual asociado a la inspección visual facilita el seguimiento de la progresión de la lesión y mejora la estimación de la profundidad de la lesión; sin embargo, el método tiende a subestimar la pérdida real de minerales y no es adecuado para detectar las primeras fases del desarrollo de la lesión. (11)

Otra técnica para la detección de lesiones cariosas es la fluorescencia. Este sistema ofrece un método subjetivo y a menudo objetivo, basados en el principio de que los tejidos dentales deteriorados tienen propiedades fluorescentes alteradas en comparación con los tejidos dentales sanos. (12)

Un gran número de estudios se han esforzado por identificar el mejor método para la detección de la caries dental, observando un buen y amplio rendimiento en los diferentes dientes y superficies. Los métodos basados en la fluorescencia y el método radiográfico proporcionan una precisión similar entre sí, pero solo en presencia de lesiones de caries más avanzadas, obligando a considerar otros métodos para la detección inicial de lesiones de caries. Se observó que la inspección visual presentaba unos valores de precisión elevados, con una tendencia hacia una mayor especificidad utilizando índices detallados y validados como el ICDAS. No obstante, algunos estudios básicos consideran suficiente el uso de la inspección visual por si sola en la detección de caries, se recomienda el uso de otras estrategias complementaria en el establecimiento del diagnóstico, principalmente el método radiográfico. (13)

4.6) Remineralización

El proceso de remineralización del esmalte tiene como objetivo reponer el componente iónico perdido del esmalte mediante múltiples métodos. El proceso de remineralización se caracteriza por la aportación desde el ambiente externo de calcio inorgánico y depósitos de fosfatos sobre el esmalte desmineralizado. El éxito de este proceso de remineralización radica en la detección precoz de la zona desmineralizada. La saliva es un fluido biológico extraordinario que moja continuamente toda la cavidad oral, posee importantes efectos neutralizantes sobre el repetido daño que produce los microorganismos orales y los ácidos de origen exógeno y endógeno. Los cristales de HA presentes en la superficie de

los tejidos duros del diente están en un estado constante de equilibrio dinámico con la saliva que se encuentra sobresaturada de calcio y fosfato. (14)

Los factores determinantes de la remineralización incluyen características salivales como la tasa de secreción y la actividad amortiguadora (buffer). Los componentes del sistema tampón salival incluyen proteínas, fosfatos y ácido carbónico/bicarbonato. El flujo salival también desempeña una función imperativa en la neutralización ácida. La naturaleza ligeramente alcalina de la secreción salival da lugar a la formación de precipitados, que consiste en fosfato cálcico y glicoproteínas. Este complejo salival se integra a la placa dental produciendo una disociación preferencial de los iones de fosfato cálcico del complejo proteico, que da lugar a una disminución de la desmineralización. (1)

En 2014 se describió una nueva especie de Streptococcus salival del grupo mitis denominada Streptococcus dentisani, el cual ha demostrado tener una influencia importante como factor anti-desmineralizante. Este nuevo microorganismo actúa en la inhibición del crecimiento de las bacterias acidogénicas, metabolizando arginina para estimular la formación de amonio que proporciona un pH más favorable para la salud dental. Sin embargo, existe una correlación significativa entre el cepillado dental y los niveles de S. dentisani indicando que el efecto sinérgico de esta bacteria se ve favorecida en presencia de una correcta higiene bucal. (15)

Los iones fluoruro también están presentes de forma constante en el complejo salival y desempeñan un importante papel preventivo en la remineralización dental; mediante la formación de fluorapatita se estabilizan los cristales de HA, reduciendo su solubilidad. La Fluorapatita proporciona estabilidad termodinámica, lo que se traduce en ventajas estructurales y funcionales sobre la Hidroxiapatita ya que le sirve como estimulante y facilita la remineralización. La conversión cristalina en la formación de la fluorapatita se produce por un desplazamiento de hidróxidos que da lugar a una solución-sólida con HA, esta solución es adsorbida fuertemente por la superficie de los cristales de apatita carbonatada, confiriendo un potente mecanismo de protección. (1)

Sin embargo, para formar una unidad de fluorapatita se necesitan por cada dos iones de fluoruro, diez iones de calcio y seis iones de fosfato, que son aportados por la saliva. La disponibilidad de estos iones calcio y fosfato en la saliva es muy variable y depende de muchos factores, como el contenido mineral básico, el pH salival y la capacidad amortiguadora. (16)

Un suministro limitado de calcio y fosfato puede ralentizar el proceso de remineralización. La biodisponibilidad de los iones fluoruro depende de la existencia de reservas iónicas en los dientes, saliva, placa dental y la mucosa oral. Estas reservas garantizan el equilibrio y la estabilidad en los compartimentos fluidos; el desequilibrio en estos compartimentos da lugar al inicio de la disolución iónica de la superficie del esmalte. (17)

La recarga de las reservas iónicas naturales de flúor es uno de los enfoques cruciales en las estrategias de remineralización y se suele intentar con la aplicación de fluoruros tópicos. El papel del calcio como agente remineralizante ha sido bien evidenciado con numerosos estudios, que han demostrado que las concentraciones orales subóptimas de calcio han tenido una fuerte asociación con el aumento de la susceptibilidad a la caries. Los agentes que contienen calcio actúan potenciando los efectos de los iones fluoruro o elevando indirectamente sus concentraciones en la placa y la saliva. Sin embargo, la liberación y saturación de calcio es el paso que limita la velocidad de remineralización, como se ha demostrado de forma convincente con los fosfopéptidos de caseína (CPP) (1).

Estos extractos de caseína de la leche pueden aumentar notablemente la solubilidad aparente de los iones de fosfato de calcio mediante la formación del complejo ACP y ser estabilizados por estos fosfopéptidos (CPP). Esta estabilización evita la cristalización espontánea, la fase de conversión y la precipitación de iones calcio y fósforo, lográndose que se remineralice el área subsuperficial desmineralizada. (18)

La reconstrucción del esmalte es un gran reto considerando que tiene una microestructura jerárquica, compleja y bien organizada. Los nanocristales de HA del esmalte varían en tamaño y orientación a lo largo de los planos de alineación dentro de la varilla de esmalte. Otro factor disuasorio, sería la

incapacidad que tiene el esmalte para remodelarse, a diferencia de otros tejidos mineralizados. La mineralización del esmalte intenta aumentar el contenido mineral desde 45% hasta 96-98% en peso con una alta relación molar Ca:P. El intercambio iónico en la superficie del esmalte está determinado por la tasa de solubilidad del fosfato cálcico. (1)

La estrategia clave de los métodos de remineralización del esmalte consiste en reponer los iones eliminados obliterando los poros de la superficie desmineralizada. El gradiente de porosidad de la superficie en el cuerpo de la lesión es <5%, en la subsuperficie o zona del cuerpo tiene una porosidad del 10-20%, la zona oscura tiene 2-4%, y la zona translúcida tiene 1%. (19)

Muchos agentes remineralizantes distintos al flúor, incluidos los nanocristales de HA, los fosfatos tricálcicos funcionalizados, CPP-ACP y quitosán han demostrado capacidades significativas de remineralización en condiciones in vitro o in vivo. (1)

4.7) Chitosan

El quitosán es un biopolímero de baja toxicidad, biodegradable, biocompatible derivado de la desacetilación del 70% de la quitina en una solución básica. La quitina es un carbohidrato complejo presente en el exoesqueleto de gambas, crustáceos e insectos. (20)

El quitosán se utiliza para la eliminación de la capa de barrillo dentinario durante la preparación biomecánica de los conductos radiculares, para la regeneración tisular y ósea guiada y para promover la cicatrización tras cirugías periodontales. (21)

La propiedad más estudiada es la remineralización y su papel en la regeneración del esmalte y dentina. En la remineralización del esmalte, el tejido afectado se remineraliza de nuevo y se hace más resistente a los ataques ácidos en comparación con el esmalte natural que existía anteriormente. (22)

En medios ácidos, los grupos amino del quitosán capturan iones de hidrógeno, dando como resultado una carga positiva global que confiere una capacidad bio-adhesiva a las superficies con carga negativa, como es la superficie desmineralizada del esmalte debido a la lixiviación de los iones de calcio. (23)

Este agente tiene una mayor capacidad de penetración en el esmalte, por lo que puede transportar los iones necesarios a zonas más profundas donde se encuentra la lesión. El quitosano interfiere en el proceso de desmineralización del esmalte dental inhibiendo la liberación de elementos minerales. (24) Esta propiedad está influenciada por la concentración, el grado medio de acetilación y el tiempo de exposición del polímero al esmalte. Debido a las regiones activas disponibles en la estructura del quitosano, éste puede combinarse fácilmente con diversos materiales bioactivos que actúan como reservorio de los iones necesarios para la remineralización. (22)

5) JUSTIFICACION Y HIPOTESIS

5.1) Justificación

Hoy en día, el tratamiento con flúor sigue siendo la piedra angular de las estrategias de remineralización de las caries incipientes dentales proporcionando resultados significativamente relevantes. La remineralización del esmalte mediante flúor y sus métodos de administración ha sido ampliamente revisada por diferentes estudios.

Sin embargo, a pesar del efecto beneficioso predominante del fluoruro en la remineralización del esmalte, el riesgo de fluorosis dental inducida por una ingesta excesiva de flúor no puede ignorarse. El flúor afecta negativamente el desarrollo dental a través de interacciones con los ameloblastos o con la matriz intracelular dando como resultado un esmalte más frágil y más susceptible por ataques ácidos. Además, el mecanismo de acción del flúor es tópico, permitiendo el alcance de unos pocos μm en el esmalte dificultando su acción en la zona donde se encuentra la lesión cariosa. (24)

Es necesario adoptar un enfoque biológico en el tratamiento de la caries dental, destacando la importancia en la prevención de la progresión de esta enfermedad y en las limitaciones del uso de flúor. (25)

El quitosano y sus derivados han sido estudiados para proporcionar una alternativa similar o mejor a las ya conocidas en el tratamiento no invasivo de las caries incipientes de esmalte. Estos compuestos han surgido como una nueva clase de biomateriales no tóxicos, altamente biocompatible y biodegradable, con actividad antimicrobiana, antibiótica (22) y de polimerización; proporcionando diferentes aplicaciones en odontología regenerativa para la remineralización de los tejidos dentales en rango más seguro y con resultados significativos, Además, su naturaleza no tóxica y no alérgica tras la degradación hace frente a las limitaciones de dosificación del flúor (24).

Debido a las regiones activas disponibles en la estructura del quitosano, éste puede combinarse fácilmente con diversos materiales bioactivos que actúan como reservorio de los iones necesarios para la remineralización. (22)

A pesar del creciente interés por estas técnicas de remineralización, aún escasean los estudios que evalúen su eficacia y seguridad a largo plazo en la literatura científica actual. (25) Esta revisión sistemática tiene el objetivo de analizar los resultados proporcionados por estudios sobre la remineralización del esmalte por chitosan y su comparación respecto a los efectos producidos por el flúor.

En función de las características del agente y de la literatura científica actual, se consideró justificada la realización de una revisión sistemática de la literatura que evaluará la capacidad de remineralización de ambos agentes con el objetivo de analizar y comparar la remineralización producida en el esmalte, la pérdida de minerales, el contenido mineral y la capacidad de detener la desmineralización.

5.2) Hipótesis

La hipótesis de trabajo de nuestro estudio considera que el chitosan conseguirá una mayor o similar remineralización y una menor pérdida de iones minerales en comparación con las técnicas que utilizan el flúor en la evaluación del grado de remineralización de lesión cariosa subclínica de esmalte.

6) OBJETIVOS

Objetivo Principal

Evaluar la capacidad de remineralización proporcionada por el quitosán respecto al flúor para la remineralización de caries incipientes en el esmalte dental (Código ICDAS 1,2).

Objetivos secundarios

Evaluar el contenido mineral de la remineralización proporcionada por quitosán

7) MATERIALES Y METODOS

La presente revisión sistemática se llevó a cabo siguiendo la declaración de la Guía PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and MetaAnalyses) (26).

7.1) IDENTIFICACION DE LA PREGUNTA PICO

Se utilizaron la base de datos Medline-PubMed (United States National Library of Medicine), Web of Science y Scopus para realizar una búsqueda de los artículos indexados sobre lesiones de caries incipientes de esmalte que hubieran recibido tratamiento remineralizante con quitosan versus remineralización proporcionada por flúor, publicados hasta 2021 para responder a la siguiente pregunta: ¿En lesiones cariosa incipiente donde les hubiera realizado un procedimiento de remineralización de esmalte, la remineralización producida por quitosan obtiene una mayor o similar remineralización y una menor pérdida de iones minerales que la remineralización producida por flúor?

Esta pregunta de estudio se estableció de acuerdo con la pregunta estructurada PICO. El formato de la pregunta se estableció de la siguiente manera:

- **P** (Población): Lesiones cariosas incipientes de esmalte (Código ICDAS 1,2) a los que se les hubiera realizado un procedimiento de remineralización
- **I** (Intervención): Remineralización por quitosan
- **C** (Comparación): Remineralización por flúor
- **O**(Resultados):
 - O1: Remineralización de caries incipientes de esmalte
 - O2: Evaluación del contenido mineral de la remineralización

7.2) Criterios de Elegibilidad

Los criterios de inclusión fueron:

- **Tipo de Estudio:** Ensayos clínicos aleatorizados controlados, estudios de cohortes prospectivos y series de casos; estudios in vitro y sobre individuos humanos, número de superficies afectadas ≥ 10 ; Publicaciones en inglés y español; Publicados 2021.

- **Tipo de Paciente:** Pacientes con lesiones cariosas incipientes de esmalte
- **Tipo de Intervención:** Remineralización de esmalte por quitosan o mediante técnicas que utilizan flúor
- **Tipo de Variables de Resultados:** Estudios que proporcionaran datos relacionados con la remineralización de esmalte como variables principales. Como variables secundarias: Evaluación del contenido mineral de la superficie remineralizada.

Los criterios de exclusión fueron: revisiones a propósito de un caso, cartas o comentarios al editor, informes de expertos, estudios en los que se realizó remineralización de dentina, dientes deciduos, defectos de esmalte debido a fluorosis, abrasión y enfermedades como MIH, otros procedimientos de remineralización no descritos como incluidos y estudios publicados antes del 2012.

7.3) Fuente de Información y estrategia de la búsqueda de datos

Se llevó a cabo una búsqueda automatizada en las tres bases de datos anteriormente citadas (PubMed, Scopus y Web of Science) con las siguientes palabras clave: “tooth demineralization”, “dental caries”, “incipient caries”, “tooth decay”, “incipient decay”, “chitosan”, “fluorine”, “tooth remineralization”, “desmineralización dental” “remineralización dental”. Las palabras claves fueron combinadas con los operadores booleanos AND, OR y NOT, así como con los términos controlados (“MeSH” para Pubmed) en un intento de obtener los mejores y más amplios resultados de búsqueda.

Búsqueda en PubMed	(((("dental caries"[MeSH Terms] OR "tooth demineralization"[MeSH Terms] OR ("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("carie"[All Fields] OR "dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All Fields] OR "caries"[All Fields]))) OR ("dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All	32 artículos
---------------------------	---	---------------------

	Fields] OR ("tooth"[All Fields] AND "decay"[All Fields]) OR "tooth decay"[All Fields]) OR (("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("decay"[All Fields] OR "decayed"[All Fields] OR "decaying"[All Fields] OR "decays"[All Fields])) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication] AND ("chitosan"[MeSH Terms] AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) OR (("fluorinate"[All Fields] OR "fluorinated"[All Fields] OR "fluorinates"[All Fields] OR "fluorinating"[All Fields] OR "fluorinations"[All Fields] OR "fluorinative"[All Fields] OR "fluorine"[MeSH Terms] OR "fluorine"[All Fields] OR "fluorines"[All Fields] OR "fluorine s"[All Fields] OR "halogenation"[MeSH Terms] OR "halogenation"[All Fields] OR "fluorination"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND (("tooth remineralization"[MeSH Terms] OR ("tooth"[All Fields] AND "remineralization"[All Fields]) OR "tooth remineralization"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND (y_10[Filter])	
Búsqueda en WoS	((TS=(tooth demineralization OR dental caries OR incipient caries OR tooth decay OR incipient decay)) AND TS=(chitosan)) OR TS=(fluorine)) AND TS=(tooth remineralization Filter: Publication year until 2012	46 resultados
Búsqueda en Scopus	(ALL (dental AND caries) OR TITLE-ABS-KEY (tooth AND demineralization) OR TITLE-ABS-KEY (incipient AND caries) OR TITLE-ABS-KEY (tooth AND decay) OR TITLE-ABS-	130 resultados

	<p>KEY (incipient AND decay) AND TITLE-ABS-KEY (chitosan) OR TITLE-ABS-KEY (fluoride) AND TITLE-ABS-KEY (tooth AND remineralization)) AND (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2022) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2021) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2019) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2018) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2017) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2016) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2015) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2014) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2013) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2012))</p>	
--	--	--

Tabla 1) Búsqueda realizada en las 3 diferentes bases de datos

Con el intento de identificar posibles estudios elegibles que la búsqueda inicial podría haber perdido, se completó la búsqueda con una revisión de las referencias disponibles en la bibliografía de cada uno de los estudios.

Por otra parte, se llevó a cabo una búsqueda manual de artículos científicos de las siguientes revistas de Odontopediatría: Journal of Dental Research, Journal of Dentistry, International Journal of Clinical Pediatric Dentistry, Journal of Physycs. Por último, se realizó una búsqueda cruzada de artículos potencialmente interesantes para el análisis. Los estudios duplicados fueron eliminados de la revisión

7.4) Proceso de selección de estudios

Se realizó un proceso de selección en tres etapas. La selección de los estudios fue llevada a cabo por dos revisores (EL, ACR). En la primera etapa se filtraba por los títulos con el objeto de eliminar publicaciones irrelevantes. En la segunda etapa se realizaba el cribado por los resúmenes y se seleccionaba según el tipo de estudio, tipo de agente, tipo de intervención, número de dientes, y variables de resultado. En la tercera etapa se filtraba según la lectura del texto completo y se procedió a la extracción de los datos usando para ello un formulario de recogida de datos previamente elaborado para confirmar la elegibilidad de los estudios. Los desacuerdos entre los revisores, en cada una

de las fases, se resolvieron mediante discusión y, cuando fue necesario, un tercer revisor fue consultado. El grado de acuerdo respecto a la inclusión de los estudios potenciales fue calculado por k-statistics (Cohen kappa test) para la segunda y la tercera etapa de selección.

7.5) Extracción de Datos

La siguiente información fue extraída de los estudios y se dispuso en tablas según el tipo de procedimiento (remineralización por chitosan o flúor): autores con el año de publicación, tipo de estudio (randomizado controlado, prospectivo, serie de casos, estudios en vitro), número de dientes, característica de la lesión (lesión cariosa incipiente), localización del defecto (esmalte, dientes permanentes), composición de la solución de chitosan (mg de chitosan/ml), remineralización (medición de la diferencia de los valores de microdureza superficial expresados en índices de dureza de Knoop), evaluación del contenido mineral de la superficie remineralizada (evaluación y medición de minerales presentes mediante uso de microscopio electrónico de barrido (SEM) y espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDX)).

Variable Principal

- **Remineralización**

Remineralización del esmalte dental en la zona tratada. Esto se hace comparando la lesión inicial de esmalte a la encontrada después del tratamiento remineralizante, y siempre que sea reportada de forma clínica utilizando los índices de dureza de Knoop.

Variables Secundarias

- **Evaluación del contenido mineral de la remineralización**

Capacidad del agente remineralizante de promover una remineralización de contenido mineral favorable para la ralentización o inhibición de la desmineralización del esmalte. Los valores se midieron mediante Microscopio

Electrónico de barrido y Espectroscopia de Rayos X de energía dispersa (por sus siglas en inglés EDX & SEM).

7.6) Valoración de la calidad

La valoración del riesgo de sesgo fue evaluada por dos revisores (EI, ACR) con el objeto de analizar la calidad metodológica de los artículos incluidos.

Para la evaluación de la calidad de los estudios clínicos controlados aleatorizados se utilizó la guía Cochrane 5.1.0 (<http://handbook.cochrane.org>); las publicaciones fueron consideradas de “bajo riesgo de sesgo” cuando cumplían todos los criterios, “alto riesgo de sesgo” cuando no se cumplía uno o más criterios y por tanto se considera que el estudio presenta un sesgo posible que debilita la fiabilidad de los resultados y “sesgo incierto” (ya fuera por falta de información o incertidumbre sobre el potencial de sesgo). Para la medición de la calidad de los estudios observacionales no aleatorizados se utilizó la escala de Arrive & Consort de autores (27) ; se consideró “bajo riesgo de sesgo” en el caso de una puntuación entre 0 y 3 puntos, de “moderado riesgo de sesgo” con una puntuación entre 4 y 7 y “alto riesgo de sesgo” en el caso de una puntuación entre 8 y 10.

El grado de acuerdo inter-examinador de la evaluación de la calidad metodológica se obtuvo con la prueba kappa de Cohen, siguiendo la escala propuesta por Landis y Koch.

7.7) Síntesis de Datos

Con la finalidad de resumir y comparar las variables de resultados entre los diferentes estudios, las medias de los valores de las variables principales fueron agrupadas según el grupo de estudio.

Esto se hizo para todas las variables de resultado analizadas y para cada uno de los grupos de estudio; esto es Grupo de remineralización por quitosán y grupo de remineralización por flúor.

La realización de un metaanálisis no se fue posible debido a la falta de estudios aleatorizados que analizan y comparan ambos grupos de tratamiento, por lo que los resultados se enfocaron hacia un estudio descriptivo de las variables.

8) RESULTADOS

8.1) Selección de estudios. Flow chart

Se obtuvieron un total de 208 artículos del proceso de búsqueda inicial: Medline - PubMed (n=32), SCOPUS (n=130) y la Web of Science (n=46). De estas publicaciones, 24 se identificaron como artículos potencialmente elegibles mediante el cribado por títulos y resúmenes. Los artículos de texto completo fueron posteriormente obtenidos y evaluados a fondo. Como resultado 9 artículos cumplieron con los criterios de inclusión y fueron incluidos en la presente revisión sistemática (Fig. 1). La información relacionada con los artículos excluidos (y las razones de su exclusión) se presenta en la Tabla 2.

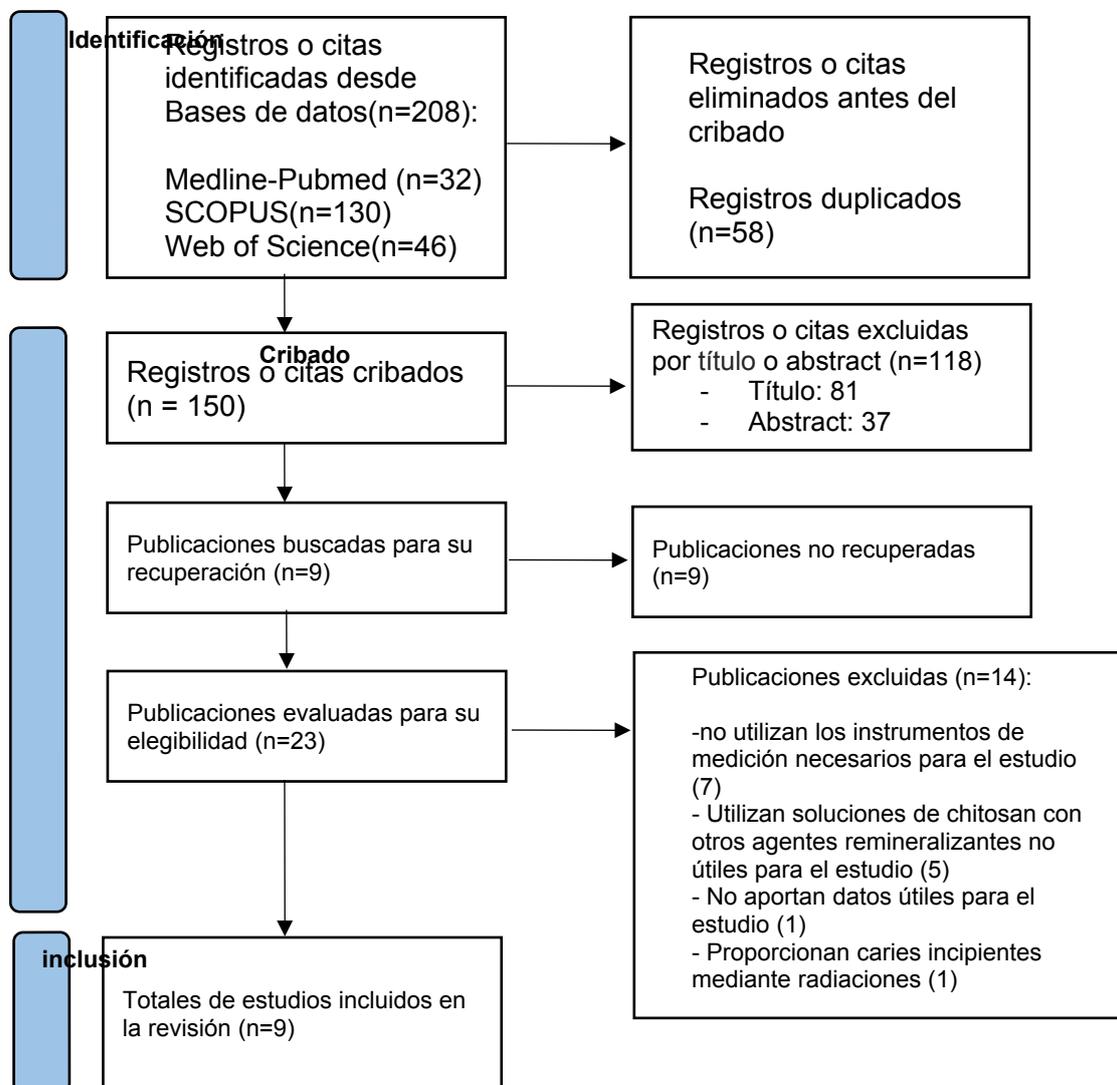


Figura 1): Flow Chart realizado en la presente revisión sistemática.

Autor. Año	Publicación	Motivo de exclusión
Suriya I. 2018	Journal of Physics: Conference Series	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Vyavhare S. 2015	The Journal of Clinical Pediatric Dentistry	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Damian LR. 2022	Materials	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Wu L. 2020	Dental Materials Journal	Proporcionan caries incipientes mediante radiaciones
Kaul S. 2020	International Journal of Research in Pharmaceutical Science	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Hanafy R.A. 2020	Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Zaharia A. 2017	Ceramics International	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Simeonov M. 2019	European Polymer Journal	no utilizan los instrumentos de medición necesarios

		para el estudio
Pushpalatha C. 2020	Emerging Trends in Photonics, Signal Processing and Communication Engineering	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Ren Q. 2019	Archives of Oral Biology	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Zhu Y. 2021	European Journal of Oral Sciences	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Ding L. 2020	Regenerative Biomaterials	No aportan datos útiles para el estudio
Zhang X. 2014	The Journal of Materials Science: Materials in Medicine	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Mukherjee K. 2016	Journal of Materials Research	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio

Tabla 2): Artículos excluidos (y su razón de exclusión) de la presente revisión sistemática.

8.2. Análisis de las características de los estudios revisados

De los 9 artículos incluidos en la presente revisión, 5 artículos describían la remineralización mediante el uso de quitosano (25,28–30), 1 mediante el uso de flúor (31) y 3 realizaban una comparativa de ambos grupos de tratamiento (23(32,33). 8 artículos fueron estudios in-vitro (23(25,28–31,33,34) y 1 fue un estudio in-situ (32). En los estudios aleatorios el paciente fue la unidad de asignación al azar. Se trataron un total de 302 muestras dentales: 255 tratados con quitosano y 47 mediante el uso de flúor.

En todos los estudios se trataba la remineralización de caries incipientes en esmalte; En los diferentes estudios, el tipo de agente remineralizante más empleado fue el quitosano. En la técnica de remineralización por quitosano, 6 estudios (25,28–30,32,34) utilizaban quitosano en diferentes concentraciones de desacetilación, un estudio utilizaba un hidrogel de quitosano como solución remineralizante (33) mientras otro estudio utilizaba quitosano fosforilado (23) como técnica remineralizante. En los estudios que analizaban la capacidad del flúor se utilizó como agente remineralizante el fluoruro sódico en diferentes concentraciones.

En técnica de remineralización por quitosano, 3 estudios (28,29,34) utilizaban un biovidrio remineralizante (Novamin) después del quitosano para fomentar la remineralización, y los comparaban con el uso del biovidrio solo.

Artículo	Intervenciones	Nº muestras	Tiempo de seguimiento	Evaluación de microdurezas	Evaluación de contenido mineral
Arnaud TM y cols 2012	Quitosano [2.50 mg/ml]	30 secciones dentarias	In situ	Vickers microhardness test (25 gr/10 seg)	/
Ferraz LN y cols 2021	1) Quitosano [5 mg/ml], Cloruro de estaño, fluoruro de	24 secciones dentarias totales, 1 por	In situ	Knoop microhardness test (50 gr/5 seg)	SEM y EDX

	amina 2) Na/F	participante (12 hombres, 12 mujeres)			
Muşat V y cols 2021	1) Chitosan-Agarosa hidrogel 2) Na/f	/	10 días	Vickers microhardness test (100 gr/15 seg)	SEM y EDX
Noaman KM y cols 2020	1)Phosphorylated chitosan [5 mg/ml] and amorphous calcium phosphate 2) NaF	40 dientes totales	3/6 meses	/	EMiSPE C y EDX
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	64 secciones de esmalte	7 días	Knoop microhardness test (10 gr/5 seg)	SEM y EDX
Zhang J y cols 2018	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	48 secciones de esmalte	7 días	Knoop microhardness test (10 gr/5 seg)	SEM
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	66 secciones de esmalte	7 días	Knoop microhardness test (10 gr/5 seg)	SEM y EDX
Deokar KK y cols	1) Chitosan [3 mg/ml]	30 dientes totales	28 días	Vickers microhardness test (200	/

2020	2) Fluor APF			gr/15 seg)	
Tian K y cols 2012	Chitosan [3 mg/ml]	/	In situ	Knoop microhardne ss test (25 gr/15 seg)	SEM y EDX

Tabla 3): Características de los estudios revisados

8.3. Evaluación de la calidad metodológica y riesgo de sesgo

Para los estudios en vitro, 2 estudios presentaron un medio riesgo de sesgo mientras los otros estudios en vitro fueron considerados de bajo riesgo de sesgo. Para el estudio in-situ fue considerado un bajo riesgo de sesgo. El sesgo de cegamiento del operador de la máquina de ensayo fue el ítem de mayor riesgo de sesgo. El valor k (Cohen kappa test) sobre el acuerdo entre los revisores de la calidad metodológica fue de 1 según la escala de Landis & Koch.

Artículo	Muestra obtenida proceso estandarizado	Operador unico	Cálculo del tamaño de la muestra	cegamiento del operador de la máquina de ensayo	Muestras, pruebas y formula según las especificaciones estándar	Riesgo de Sesgo
Arnau d TM y cols 2012	0	1	1	1	0	Bajo

Muşat V y cols 2021	0	1	2	1	0	Medio
Deokar KK y cols 2020	0	1	0	1	0	Bajo
Noaman KM y cols 2020	0	1	0	1	0	Bajo
Zhang J y cols 2019	0	1	0	2	0	Bajo
Zhang J y cols 2018	0	1	0	2	0	Bajo
Zhang J, Boyes V y cols 2018	0	1	0	2	0	Bajo
Tian K y cols 2012	0	1	2	1	0	Medio
Ferraz LN y cols 2021	0	1	0	0	0	Bajo

Tabla 4): Medicion del riesgo de sesgo de los estudio in-vitro y in-situ según la guía Arrive & Consort

8.4. Síntesis resultados

8.4.1 Remineralización de caries incipientes.

En relación con la remineralización de caries incipientes con quitosán, 8 estudios proporcionaron los datos de la prueba de microdureza de Knoop necesarios para evaluar la capacidad remineralizadora.

En el estudio de Arnaud TMS y cols. los mejores resultados en términos de inhibición de la pérdida mineral (81%) se obtuvieron para los grupos con quitosán a 2,5 mg/ml presentando una micro dureza máxima de 435 ± 7 HK (25), mientras que en el estudio de Ferraz LN y cols. el resultado de la prueba de micro dureza para el grupo que utilizó quitosán fue de $321,98 \pm 5,65$ HK, no encontrándose diferencias estadísticamente significativas en términos de remineralización entre los diferentes grupos (32).

En el estudio de Musat V y cols. los tratados con quitosán muestran una micro dureza máxima de HK=216 con disfunción progresiva de la eficacia entre todos los grupos estudiados (33).

En 3 estudios analizados todos los grupos de estudio, excepto los grupos de control, mostraron un rendimiento mecánico significativamente mejor después del tratamiento ($p < 0,05$) presentando valores de dureza más altos para los grupos que han utilizado el quitosán (28,29,34); $142,4 \pm 6,5$ HK (28) , $168,8 \pm 22,4$ en el estudio (29) y $142,4 \pm 28,1$ en el estudio de (34).

En el estudio de Deokar KK y cols los valores medios de HK en el grupo de quitosán fueron de $259,5 \pm 14,9$ HK con una diferencia significativa en los valores de HK antes y después de la aplicación del agente ($p=0,001$) y una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos después del tratamiento ($p=0,035$) (31).

En el estudio de Tian K y cols el grupo que utilizó chitosan tuvo un valor máximo de dureza de 119,74 HK (30).

En relación con la remineralización de caries incipientes con flúor 3 estudios aportaron los datos de la prueba de micro dureza de Knoop necesarios para valorar la capacidad remineralizadora.

En el estudio de Musat V y cols los tratados con flúor presentan una micro dureza máxima de HK=204,2 con disfunción progresiva de la eficacia entre todos los grupos estudiados (33).

En el estudio de Ferraz LN y cols el grupo tratado con flúor proporcionó una dureza máxima de 282 HK, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (32).

En el estudio realizado por Deokar KK y cols los valores medios de HK del grupo fluorado fueron de $229 \pm 13,6$, mostrando una diferencia significativa en los valores de HK antes y después de la aplicación con valor p de 0,005 (31).

Artículo	Material utilizado	Microdureza(Knopp)
Arnaud TM y cols 2012	Chitosan [2.50]	435 ± 7
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	321.98 ± 5.65
Muşat V y cols 2021	Chitosan-Agarosa hidrogel	216
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 6.5
Zhang J y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	168.8 ± 22.4
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 28.1
Deokar KK y	Chitosan [3]	259.5 ± 14.9

cols 2020		
Tian K y cols 2012	Chitosan [2.50]	119,74
Muşat V y cols 2021	Fluor NaF	204,2
Ferraz LN y cols 2021	Fluor NaF	282
Deokar KK y cols 2020	Fluor APF	238 ± 13,6

Tabla 5): Resultados de los test de microdureza de los agentes remineralizantes después de ciclo de remineralización mediante Knopp tester

8.4.2 Contenido mineral dental relacionado a los procedimientos de remineralización

En relación con el tratamiento con chitosan, 5 estudios proporcionaron los valores del contenido mineral de las muestras tratadas necesarios para evaluar la calidad de la remineralización mediante el uso de un microscopio electrónico de barrido (SEM) y espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDX).

En el estudio de Musat V y cols. el valor de la relación Ca/P varió entre 1,62-1,75 wt% para las series remineralizadas con chitosan, mostrando valores más cercanos al valor teórico de la hidroxiapatita carbonatada del esmalte natural (1,67 wt%) (33) mientras que en el artículo de Ferraz LN y cols. los grupos tratados con chitosan mostraron valores intermedios de la relación Ca/P (2,49 ± 0,03 wt%) y fueron estadísticamente iguales al grupo placebo (32). En el estudio de Zhang J y cols. la relación Ca/P proporcionada por el grupo que utilizó chitosan fue de las más bajas entre los grupos analizados, con un valor de 1,69 ± 0,03 wt% (28).

En el estudio de Mohamed Noaman K y cols. el grupo tratado con chitosan tenía un valor de relación Ca/P de 2,43 ± 0,20 wt% con un contenido mineral de Ca=70,53 ± 0,75 wt% y P= 29,00 ± 1,53 (23).

En el estudio de Zhang J y cols. la relación Ca/P entre cada grupo no fue estadísticamente diferente, el grupo tratado con chitosan tenía una relación Ca/P de fosfato de calcio= $1,57 \pm 0,04$ wt% (34).

En relación con el tratamiento con fluor, 3 estudios proporcionaron los valores del contenido mineral de las muestras tratadas necesarios para evaluar la calidad de la remineralización mediante el uso de la misma instrumentación utilizada en los estudios con chitosan.

En el estudio de Musat V y cols. el valor de la relación Ca/P en el grupo tratado con flúor varió entre 1,35-1,81 indicando la formación de fosfatos deficientes en calcio, cuya composición empeora a medida que aumenta la duración de la remineralización (33).

En el estudio de Ferraz LN y cols. los grupos tratados con flúor mostraron valores intermedios de la relación Ca/P ($2,49 \pm 0,02$ wt%) y fueron estadísticamente iguales al grupo placebo (32).

En el estudio de Mohamed Noaman K y cols. el grupo tratado con fluor presenta un valor de relación Ca/P de $2,15 \pm 0,17$ wt% con un contenido mineral de Ca= $68,40 \pm 1,86$ wt% y P= $31,60 \pm 1,86$ (23).

Articulo	Material utilizado	Ca	P	Ca/P
Muşat V y cols 2021	Chitosan agarosa hydorgel	/	/	1.64/1.75
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	70.53 ± 0.75	28.29 ± 0.23	2.49 ± 0.03
Noaman KM y cols 2020	Phosphorylated chitosan [5]	70.99 ± 1.53	29.00 ± 1.53	2.43 ± 0.20
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	/	/	1.69 ± 0.03
Zhang J,	Chitosan [2.50]	/	/	1.57 ± 0.04

Boyes V y cols 2018	+ Novamine bioglass			
Muşat V y cols 2021	Fluor Na/F	/	/	1.29/1.61
Ferraz LN y cols 2021	Fluor Na/F	69.96 ± 0.78	0.77 ± 0.08	2.49 ± 0.02
Noaman KM y cols 2020	Fluor Na/F	68.40 ± 1.86	31.60 ± 1,86	2.15 ± 0.17

Tabla 6) Medición del contenido mineral mediante SEM y EDX (wt %) después de ciclos de remineralización de los diferentes agentes

9 DISCUSION

La presente revisión sistemática proporciona información basada en la evidencia científica sobre los resultados de la remineralización de caries incipientes de esmalte mediante el uso del quitosano en comparación con la remineralización proporcionada por el flúor. El objetivo de esta revisión fue evaluar ambas técnicas respecto a la remineralización de caries incipientes en esmalte dental; y de forma secundaria estudiar el contenido mineral relacionado con el procedimiento de remineralización.

9.1 Remineralización de caries incipientes

La eficacia de los diferentes materiales en procedimientos mínimamente invasivos descritos para la remineralización de caries incipientes en esmalte ha sido objeto de debate durante años.

Los resultados obtenidos en esta revisión sistemática basada en el análisis de 9 investigaciones científicas informaron de diferentes formas de remineralización proporcionadas por el quitosano. En un estudio el tratamiento con quitosano parece que actúa más sobre la desmineralización del esmalte dental y de menor forma sobre la remineralización (25), mientras que en otros estudios se observó que el quitosano es capaz de unirse a las proteínas de la saliva, al flúor y otros iones de la superficie del esmalte, formando capas en la superficie, que podrían favorecer el proceso de remineralización dental (23(28–34)).

En el estudio de Ferraz LN y cols. los grupos con quitosano no mostraron diferencias en la microdureza de la superficie en comparación con el valor basal, independientemente del material utilizado, el NaF no proporcionó el efecto deseado presentando una microdureza del esmalte igual al valor basal, (32) en concordancia con el estudio de Zhang J y cols donde los resultados de microdureza muestran que los grupos tratados con quitosano presentaron una tendencia mayor pero no significativa que los otros grupos (28,34). Sin embargo, estos resultados están en desacuerdo con los reportados en otros estudios revisados donde ambos especímenes remineralizados indican una reparación exitosa de la capa de esmalte, curando las lesiones subsuperficiales del tejido grabado con ácido y proporcionando un crecimiento epitaxial de una nueva capa sintética de HAP sin dejar ningún espacio entre el esmalte original

y la capa sintética de HAP resultante con valores de dureza más bajos de las capas de quitosán en comparación con las de la serie de flúor (33), estos resultados están de acuerdo con el estudio de Ruan et al. en el que la acción del grupo con el quitosán dio lugar a la formación de una estructura superficial densa compuesta por cristales de tamaño nanométrico (35).

Por el contrario, el estudio de Mohamed Noaman K. presentó una tasa de remineralización del tratamiento con quitosán significativamente superior a la del tratamiento con flúor (23), lo que está en desacuerdo con Zhang et al. que utilizaron eficazmente quitosán fosforilado y fosfato cálcico amorfo (Pchi-ACP) como agente remineralizante biomimético sobre lesiones del esmalte y encontraron resultados similares a los del flúor (36).

Existen dos posibles vías por las que el quitosán influye en la remineralización, es decir, penetrando en el esmalte [26] y uniéndose a los cristales desmineralizados mediante fuerza electrostática, o grabando la superficie de la lesión debido a su pH ácido, en el estudio de Zhang J. (29) lo que concuerda con Yamaguchi et al. quienes sugieren que la reacción química entre la hidroxiapatita y el quitosán es consecuencia de los enlaces de coordinación entre los iones metálicos (Ca^{2+}) y los grupos amina del quitosán (37) Además, el quitosán puede ejercer el papel de modelo orgánico en el proceso de biomineralización como el colágeno de tipo I en el crecimiento óseo, proporcionando una cristalización controlada mediante el efecto de "reconocimiento molecular" en la interfaz entre los grupos funcionales de las macromoléculas orgánicas y los iones de la superficie de un núcleo cristalino, tal y como afirma el estudio de Tian K y cols. (30).

Sin embargo, una limitación de estas terapias es que la remineralización se produce predominantemente en la superficie de la lesión. Es probable que esta precipitación superficial rellene los poros superficiales y bloquee las vías de acceso al cuerpo de la lesión, provocando una limitación de la consolidación completa de la lesión (34). A partir de esta consideración, Cochrane et al. propusieron una definición de remineralización que "incluye cualquier reparación cristalina que conduzca a una ganancia neta de minerales en una lesión de la subsuperficie del esmalte, pero no se extiende a la precipitación de

fases sólidas en la superficie del esmalte" (38). por lo tanto, la deposición de minerales en la subsuperficie desempeña un papel clave en el éxito de la remineralización, como se encontró en el estudio de Zhang J y cols. donde la subsuperficie intacta podría ser la razón principal del aumento de dureza encontrado en el espécimen de quitosán (29).

Es interesante observar que se detectó contenido mineral en la subsuperficie tras la remineralización estática y en mayor proporción en la muestra en la que se utilizó quitosán, lo que indica que éste podría transportar iones a lesiones más profundas (28), de acuerdo con Arnaud et al (25).

La remineralización superficial y subsuperficial potenciada por el pretratamiento con quitosán también se evidencia por la microdureza Knoop, los resultados de dureza superficial y subsuperficial muestran que la mayor recuperación de dureza se produjo en el grupo con quitosán y las grandes desviaciones estándar indican una superficie no homogénea y porosa (28,29,33,34).

Como proponen Yamaguchi et al, el quitosán podría difundirse en la subsuperficie de la lesión y unirse a superficies cargadas negativamente. En este caso, es razonable deducir que la remineralización de la subsuperficie fue inducida por el quitosán que atrajo iones formadores de apatita a la lesión profunda. La apatita creció en las superficies desmineralizadas y acabó rellenando los huecos, dando lugar a una subsuperficie relativamente intacta (37).

Otra ventaja del quitosán es que este tipo de polisacárido puede inhibir la precipitación espontánea. Esto puede favorecer una remineralización de la subsuperficie más completa y a largo plazo, ya que una precipitación rápida puede bloquear las vías y reducir la difusión de los agentes remineralizantes (29).

En el estudio de Zhang J y cols. se señala que, a pesar de la aparente eficacia del quitosán para reparar las lesiones subsuperficiales, debe tenerse en cuenta la existencia de una película que no impidió la penetración del quitosán en los estudios (28); Arnaud et al. informaron de que el quitosán podía penetrar por sí mismo en el esmalte sano y su permeabilidad tenía una

correlación positiva con su concentración (25), que se consideró óptima en el presente estudio y se confirmó en el estudio de Zhang y cols, a una concentración de 2,5 mg/mL (34).

Además es interesante observar que el tiempo de almacenamiento de seis meses para el grupo de quitosan tuvo el valor medio más alto de remineralización y el tiempo de almacenamiento de tres meses para el quitosan tuvo un valor más bajo que el tiempo de almacenamiento de seis meses, mientras que el tiempo de almacenamiento del grupo de flúor tuvo el valor medio más bajo de remineralización mostrando valores medios más altos que el tiempo de almacenamiento de tres meses (23).

Además, la eficacia del quitosan parece verse reforzada por sus interacciones en la cavidad oral según los resultados del estudio de Deokar KK y cols (31) en concordancia con los del estudio realizado Tachaboonyakiat W et al, quienes explicaron que cuando el quitosan interactuaba con bacterias gram-positivas y gram-negativas, la película actúa como una barrera antibacteriana eficaz en la superficie del diente debido a su actividad antimicrobiana de amplio espectro, contribuyendo a un aumento significativo de la microdureza de la superficie (39),

9.2 Contenido mineral de la remineralización

En el estudio de Musat V y cols. se observa una diferencia entre los esmaltes reparados con flúor y quitosan en la relación Ca/P y HAP del esmalte recién formado. La relación Ca/P para la muestra con flúor sugiere una fase de fosfato deficiente en calcio de acuerdo con como resultado de la disolución de las fases de nanofosfato de calcio precipitadas en la primera fase.

El grupo de fluoruro mostró el mayor contenido de carbonato y un HAP ligeramente menos cristalino en contraste con el tratamiento de quitosan que mostró el valor Ca/P más cercano al esmalte sano (33).

Esto puede deberse en parte, como se muestra en el estudio de Ferraz LN y cols, a que el efecto del NaF está aparentemente modulado por la cantidad de saliva. Además de la unión del flúor con la superficie del esmalte y la formación de fluorapatita, la eficacia de los preparados que contienen flúor sódico depende en cierta medida de la formación de partículas similares al CaF₂ en la

superficie, estos precipitados parecen ser más estables debido al impacto de la saliva y de la película adquirida (32).

Además, las observaciones de la subsuperficie realizadas en el estudio de Zhang J y cols revelaron que las superficies tratadas con quitosán presentaban una morfología más densa y la ausencia de la típica estructura prismática que otras, lo que implica que la remineralización de la subsuperficie tuvo lugar rellenando los poros presentes (34).

Por otra parte, en el estudio realizado por Arnaud TMS y cols se observa que la liberación de fósforo en la solución desmineralizante presentó una amplitud mayor que la captación de fósforo por las muestras de la solución remineralizante. No obstante, la cantidad neta de fósforo liberada por las muestras del grupo de control fue significativamente superior a la de los grupos tratados con quitosán (25).

En otro estudio (28) también se observó que los cúmulos de quitosán portadores de ACP son lo suficientemente pequeños como para penetrar a través de la capa superficial de los poros restantes y unirse a las paredes de los prismas desmineralizados mediante una reacción de unión de coordinación. Estos clusters proporcionan sitios de nucleación para que los cristales de apatita crezcan y se cristalicen para formar HA, lo que explica el aumento de las relaciones Ca/P en los clusters tratados con quitosán tras el ciclado del pH (28). Sin embargo, estos resultados morfológicos contrastan con los de Ruan et al (40,41).

9.3 Limitaciones del estudio

Esta revisión sistemática puso en evidencia la falta de estudios en vivo sobre el tema y la dificultad de conformación en la recogida y análisis de los resultados obtenidos.

El método de medición de la remineralización mediante test de microdureza se consideró una limitación, ya que en algunos estudios el indentador utilizado era del tipo Vickers, lo que obligaba a convertir los resultados obtenidos en valores equivalentes al indentador Knoop.

Del mismo modo, una limitación de esta revisión se atribuyó a las diferentes formas de presentación del quitosán en las soluciones remineralizantes

estudiadas, algunos estudios propusieron el uso de una solución de quitosano, otros utilizaron hidrogel de quitosano, quitosano mezclado con biovidrio y quitosano fosforilado.

Otra limitación fue la variabilidad en los tiempos de seguimiento de los distintos estudios, ya que Cochrane et al. recomiendan realizar estudios durante al menos 6 meses (38).

Debido a las limitaciones del estudio, los resultados aquí comunicados deben interpretarse con cautela y se han presentado de forma descriptiva en cada grupo de estudio.

10 CONCLUSIONES

Conclusiones principales

1 Ambos agentes mostraron un aumento del proceso de remineralización, siendo los grupos con quitosán los que presentaron un aumento significativo de la remineralización subsuperficial en comparación con los que utilizaron flúor.

Conclusiones secundarias

2 El contenido mineral y la relación Ca/P presentados por las muestras tratadas con quitosán mostraron una mayor recuperación y una composición cercana a la hidroxiapatita pura.

BIBLIOGRAFIA

1. Ramadoss R, Padmanaban R, Subramanian B. Role of bioglass in enamel remineralization: Existing strategies and future prospects—A narrative review. Vol. 110, *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 45–66.
2. José RG. Observación del esmalte dental humano con microscopia electrónica Revisión Bibliográfica Observación del esmalte dental humano con microscopia electrónica.
3. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 May 25;3.
4. Chimenos-Küstner E, Giovannoni ML, Schemel-Suárez M. Disbiosis como factor determinante de enfermedad oral y sistémica: importancia del microbioma. Vol. 149, *Medicina Clinica*. Ediciones Doyma, S.L.; 2017. p. 305–9.
5. naseem shah, R.M. Pandey, Ritu Duggal, vijay Prakash mathur, Kumar rajan. Oral health in India. Directorate general of health services. 2007;1–188.
6. Mathur VP, Dhillon JK. Dental Caries: A Disease Which Needs Attention. Vol. 85, *Indian Journal of Pediatrics*. Springer; 2018. p. 202–6.
7. Paro AD, Hossain M, Webster TJ, Su M. Monte Carlo and analytic simulations in nanoparticle-enhanced radiation therapy. *Int J Nanomedicine*. 2016 Sep 16;11:4735–41.
8. Martignon S, Pitts NB, Goffin G, Mazevet M, Douglas GVA, Newton JT, et al. CariesCare practice guide: consensus on evidence into practice. *Br Dent J*. 2019 Sep 1;227(5):353–62.
9. Ana Armas Vega, Juan Marcos Parise Vasco. ICDAS: una herramienta para el diagnóstico de la caries dental. *Analysis*. 2020;27:1–9.
10. Hayashi M, Momoi Y, Fujitani M, Fukushima M, Imazato S, Kitasako Y, et al. Evidence-based consensus for treating incipient enamel caries in adults by non-invasive methods: recommendations by GRADE guideline. *Japanese Dental Science Review*. 2020 Nov 1;56(1):155–63.
11. Wenzel A. Bitewing and digital bitewing radiography for detection of caries lesions. In: *Journal of Dental Research*. 2004.
12. Lussi A, Hack A, Hug I, Heckenberger H, Megert B, Stich H. Detection of approximal caries with a new laser fluorescence device. *Caries Res*. 2006 Feb;40(2):97–103.
13. Gimenez T, Tedesco TK, Janoian F, Braga MM, Raggio DP, Deery C, et al. What is the most accurate method for detecting caries lesions? A systematic review. Vol. 49, *Community Dentistry and Oral Epidemiology*. Blackwell Munksgaard; 2021. p. 216–24.
14. Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. Vol. 14, *Advances in dental research*. 2000. p. 40–7.

15. Ferrer MD, Pérez S, Lopez AL, Sanz JL, Melo M, Llena C, et al. Evaluation of clinical, biochemical and microbiological markers related to dental caries. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Jun 1;18(11).
16. vyavhare S, sharrma DS. Effect of Three Different Pastes on Remineralization of Initial Enamel Lesion: An in Vitro Study. 2015.
17. Vogel GL. Impact of Fluoride in the Prevention of Caries and Erosion Buzalaf MAR (ed): Fluoride and the Oral Oral Fluoride Reservoirs and the Prevention of Dental Caries. Vol. 22, Environment. *Monogr Oral Sci*. Basel, Karger. 2011.
18. Yan J, Yang H, Luo T, Hua F, He H. Application of Amorphous Calcium Phosphate Agents in the Prevention and Treatment of Enamel Demineralization. Vol. 10, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. Frontiers Media S.A.; 2022.
19. Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. Vol. 11, *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. Intern. and American Associations for Dental Research; 2000. p. 481–95.
20. Muzzarelli RAA, Muzzarelli C. Chitosan chemistry: Relevance to the biomedical sciences. Vol. 186, *Advances in Polymer Science*. 2005. p. 151–209.
21. M K. Chitosan-Properties and Applications in Dentistry. *Advances in Tissue Engineering & Regenerative Medicine: Open Access*. 2017 Jun 8;2(4).
22. Nimbeni SB, Nimbeni BS, Divakar DD. Role of chitosan in remineralization of enamel and dentin: A systematic review. Vol. 14, *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd; 2021. p. 562–8.
23. Mohamed Noaman K, Mohamed Al-Samoly W, Abul-Khair Hassan Al-Hariri A. Evaluation of The Degree of Remineralization of Subclinical Carious Lesions Using Chitosan and Conventional Remineralizing Agents (An in vitro Study) [Internet]. Vol. 78, *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2020. Available from: www.recaldent.co
24. Suriya I, Gunawan HA, Amir LR. Effect of chitosan on the enamel demineralization process in vitro: An enamel solubility test. In: *Journal of Physics: Conference Series*. Institute of Physics Publishing; 2018.
25. Arnaud TMS, De Barros Neto B, Diniz FB. Chitosan effect on dental enamel de-remineralization: An in vitro evaluation. *J Dent*. 2010;38(11):848–52.
26. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *International Journal of Surgery*. 2010;8(5):336–41.
27. Ramamoorthi M, Bakkar M, Jordan J, Tran SD. Osteogenic Potential of Dental Mesenchymal Stem Cells in Preclinical Studies: A Systematic Review Using Modified ARRIVE and CONSORT Guidelines. Vol. 2015, *Stem Cells International*. Hindawi Publishing Corporation; 2015.

28. Zhang J, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. Chitosan-bioglass complexes promote subsurface remineralisation of incipient human carious enamel lesions. *J Dent*. 2019 May 1;84:67–75.
29. Zhang J, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. Remineralisation of enamel white spot lesions pre-treated with chitosan in the presence of salivary pellicle. *J Dent*. 2018 May 1;72:21–8.
30. Tian K, Peng M, Fei W, Liao C, Ren X. Induced Synthesis of Hydroxyapatite by Chitosan for Enamel Remineralization. In: Chang TH, editor. *SMART TECHNOLOGIES FOR MATERIALS*. 2012. p. 40+. (Advanced Materials Research; vol. 530).
31. Deokar KK, Shashikiran N, Maurya A, Gaonkar N, Gugwad S, Hadakar S, et al. Comparative Evaluation of Chitosan Nanoparticles, Silver Diamine Fluoride and Acidulated Phosphate Fluoride Gel on Microhardness of Artificial Carious Lesions Created on Extracted Teeth. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2020;
32. Ferraz LN, Vieira I, Ambrosano GMB, Lopes MA, Lima DANL. Effect of tooth bleaching and application of different dentifrices on enamel properties under normal and hyposalivation conditions: an in situ study. *Clin Oral Investig*. 2021 Oct 1;25(10):5929–44.
33. Muşat V, Anghel EM, Zaharia A, Atkinson I, Mocioiu OC, Buşilă M, et al. A chitosan–agarose polysaccharide-based hydrogel for biomimetic remineralization of dental enamel. *Biomolecules*. 2021;11(8).
34. Zhang J, Boyes V, Festy F, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. In-vitro subsurface remineralisation of artificial enamel white spot lesions pre-treated with chitosan. *Dental Materials*. 2018 Aug 1;34(8):1154–67.
35. Ruan Q, Liberman D, Bapat R, Chandrababu KB, Phark JH, Moradian-Oldak J. Efficacy of amelogenin-chitosan hydrogel in biomimetic repair of human enamel in pH-cycling systems. *J Biomed Eng Inform*. 2015 Nov 2;2(1):119.
36. Zhang X, Li Y, Sun X, Kishen A, Deng X, Yang X, et al. Biomimetic remineralization of demineralized enamel with nano-complexes of phosphorylated chitosan and amorphous calcium phosphate. *J Mater Sci Mater Med*. 2014 Nov 28;25(12):2619–28.
37. Yamaguchi I, Tokuchi K, Fukuzaki H, Koyama Y, Takakuda K, Monma H, et al. Preparation and microstructure analysis of chitosan/hydroxyapatite nanocomposites. Vol. 55, *J Biomed Mater Res*. 2001.
38. Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. Critical review in oral biology & medicine: New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010 Nov;89(11):1187–97.
39. Tachaboonyakiat W. Antimicrobial applications of chitosan. In: *Chitosan Based Biomaterials*. Elsevier Inc.; 2017. p. 245–74.

40. Ruan Q, Zhang Y, Yang X, Nutt S, Moradian-Oldak J. An amelogenin-chitosan matrix promotes assembly of an enamel-like layer with a dense interface. *Acta Biomater.* 2013;9(7):7289–97.
41. Ruan Q, Moradian-Oldak J. Development of amelogenin-chitosan hydrogel for In Vitro enamel regrowth with a dense interface. *Journal of Visualized Experiments.* 2014 Jul 10;(89).

ANEXOS

Tabla 1: Búsqueda realizada en las diferentes bases de datos

<p>Búsqueda en PubMed</p>	<p>((("dental caries"[MeSH Terms] OR "tooth demineralization"[MeSH Terms] OR ("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("carie"[All Fields] OR "dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All Fields] OR "caries"[All Fields])) OR ("dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All Fields] OR ("tooth"[All Fields] AND "decay"[All Fields]) OR "tooth decay"[All Fields]) OR ("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("decay"[All Fields] OR "decayed"[All Fields] OR "decaying"[All Fields] OR "decays"[All Fields]))) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication] AND ("chitosan"[MeSH Terms] AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) OR ("fluorinate"[All Fields] OR "fluorinated"[All Fields] OR "fluorinates"[All Fields] OR "fluorinating"[All Fields] OR "fluorinations"[All Fields] OR "fluorinative"[All Fields] OR "fluorine"[MeSH Terms] OR "fluorine"[All Fields] OR "fluorines"[All Fields] OR "fluorine s"[All Fields] OR "halogenation"[MeSH Terms] OR "halogenation"[All Fields] OR "fluorination"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND ("tooth</p>	<p>32 artículos</p>
----------------------------------	---	----------------------------

	reminerization"[MeSH Terms] OR ("tooth"[All Fields] AND "reminerization"[All Fields]) OR "tooth reminerization"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND (y_10[Filter])	
Búsqueda en WoS	((TS=(tooth demineralization OR dental caries OR incipient caries OR tooth decay OR incipient decay)) AND TS=(chitosan)) OR TS=(fluorine)) AND TS=(tooth reminerization Filter: Publication year until 2012	46 resultados
Búsqueda en Scopus	(ALL (dental AND caries) OR TITLE-ABS-KEY (tooth AND demineralization) OR TITLE-ABS-KEY (incipient AND caries) OR TITLE-ABS-KEY (tooth AND decay) OR TITLE-ABS-KEY (incipient AND decay) AND TITLE-ABS-KEY (chitosan) OR TITLE-ABS-KEY (fluoride) AND TITLE-ABS-KEY (tooth AND reminerization)) AND (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2022) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2021) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2019) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2018) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2017) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2016) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2015) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2014) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2013) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2012))	130 resultados

Figura 1: Flow chart de la presente revisión sistemática

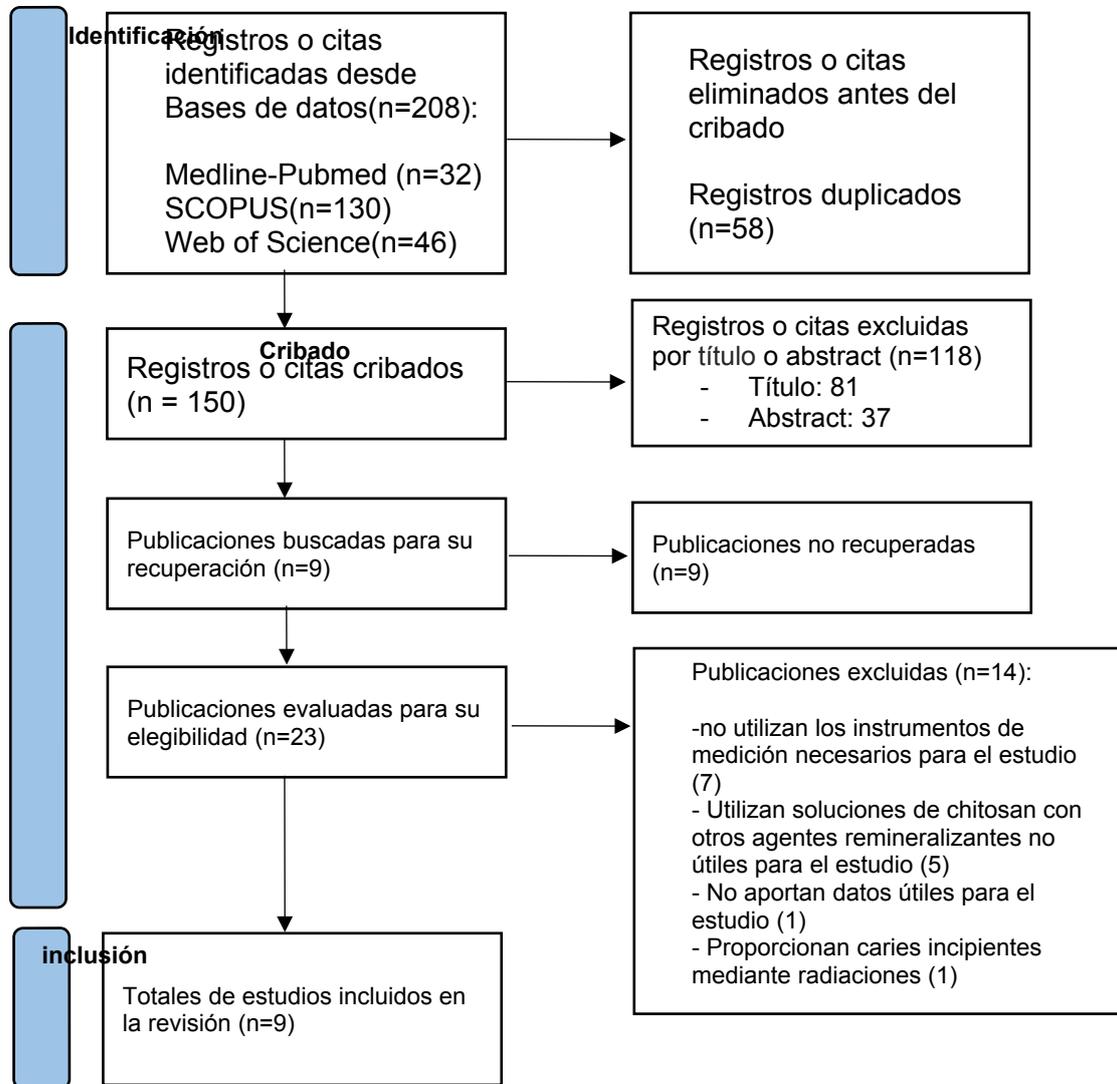


Tabla 2 Artículos excluidos (y su razón de exclusión) de la presente revisión sistemática.

Autor. Año	Publicación	Motivo de exclusión
Suriya I. 2018	Journal of Physics: Conference Series	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Vyavhare S. 2015	The Journal of Clinical Pediatric Dentistry	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Damian LR. 2022	Materials	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Wu L. 2020	Dental Materials Journal	Proporcionan caries incipientes mediante radiaciones
Kaul S. 2020	International Journal of Research in Pharmaceutical Science	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Hanafy R.A. 2020	Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Zaharia A. 2017	Ceramics International	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Simeonov M. 2019	European Polymer Journal	no utilizan los instrumentos de medición necesarios

		para el estudio
Pushpalatha C. 2020	Emerging Trends in Photonics, Signal Processing and Communication Engineering	no utilizan los instrumentos de medición necesarios para el estudio
Ren Q. 2019	Archives of Oral Biology	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Zhu Y. 2021	European Journal of Oral Sciences	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Ding L. 2020	Regenerative Biomaterials	No aportan datos útiles para el estudio
Zhang X. 2014	The Journal of Materials Science: Materials in Medicine	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio
Mukherjee K. 2016	Journal of Materials Research	Utilizan soluciones de quitosan con otros agentes remineralizantes no útiles para el estudio

Tabla 3: Revisión estudios clínicos considerados en esta revisión sistemática

Artículo	Intervenciones	N° muestras	Tiempo de seguimiento	Evaluación de microdurezas	Evaluación de contenido mineral
Arnaud TM y cols 2012	Chitosan [2.50 mg/ml]	30 secciones dentarias	In situ	Vickers microhardness test (25 gr/10 seg)	/
Ferraz LN y cols 2021	1) Chitosan [5 mg/ml], Cloruro de estaño, fluoruro de amina 2) Na/F	24 secciones dentarias totales, 1 por participante (12 hombres, 12 mujeres)	In situ	Knoop microhardness test (50 gr/5 seg)	SEM y EDX
Muşat V y cols 2021	1) Chitosan-Agarosa hidrogel 2) Na/f	/	10 días	Vickers microhardness test (100 gr/15 seg)	SEM y EDX
Noaman KM y cols 2020	1)Phosphorylated chitosan [5 mg/ml] and amorphous calcium phosphate 2) NaF	40 dientes totales	3/6 meses	/	EMiSPE C y EDX
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine	64 secciones de	7 días	Knoop microhardness test (10	SEM y EDX

	bioglass	esmalte		gr/5 seg)	
Zhang J y cols 2018	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	48 secciones de esmalte	7 días	Knoop microhardness test (10 gr/5 seg)	SEM
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	66 secciones de esmalte	7 días	Knoop microhardness test (10 gr/5 seg)	SEM y EDX
Deokar KK y cols 2020	1) Chitosan [3 mg/ml] 2) Fluor APF	30 dientes totales	28 días	Vickers microhardness test (200 gr/15 seg)	/
Tian K y cols 2012	Chitosan [3 mg/ml]	/	In situ	Knoop microhardness test (25 gr/15 seg)	SEM y EDX

Tabla 4: Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios de la presente revisión sistemática

Artículo	Muestra obtenida proceso estandarizado	Operador unico	Cálculo del tamaño de la muestra	Cegamiento del operador de la máquina de ensayo	Muestras, pruebas y formula según las especificaciones estándar	Riesgo de Sesgo
Arnau d TM y cols 2012	0	1	1	1	0	Bajo
Muşat V y cols 2021	0	1	2	1	0	Medio
Deokar KK y cols 2020	0	1	0	1	0	Bajo
Noaman KM y cols 2020	0	1	0	1	0	Bajo
Zhang J y cols 2019	0	1	0	2	0	Bajo
Zhang J y cols 2018	0	1	0	2	0	Bajo
Zhang	0	1	0	2	0	Bajo

J, Boyes V y cols 2018						
Tian K y cols 2012	0	1	2	1	0	Medi o
Ferraz LN y cols 2021	0	1	0	0	0	Bajo

Tabla 5: Resultados de los test de microdureza de los agentes remineralizantes después de ciclo de remineralización mediante Knopp tester

Articulo	Material utilizado	Microdureza(Knopp)
Arnaud TM y cols 2012	Chitosan [2.50]	435 ± 7
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	321.98 ± 5.65
Muşat V y cols 2021	Chitosan-Agarosa hidrogel	216
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 6.5
Zhang J y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	168.8 ± 22.4
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 28.1
Deokar KK y cols 2020	Chitosan [3]	259.5± 14.9

Tian K y cols 2012	Chitosan [2.50]	119,74
Muşat V y cols 2021	Fluor NaF	204,2
Ferraz LN y cols 2021	Fluor NaF	282
Deokar KK y cols 2020	Fluor APF	238 ± 13,6

Tabla 6: Medición del contenido mineral mediante SEM y EDX (wt %) después de ciclos de remineralización de los diferentes agentes

Artículo	Material utilizado	Ca	P	Ca/P
Muşat V y cols 2021	Chitosan agarosa hydorgel	/	/	1.64/1.75
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	70.53 ± 0.75	28.29 ± 0.23	2.49 ± 0.03
Noaman KM y cols 2020	Phosphorylated chitosan [5]	70.99 ± 1.53	29.00 ± 1.53	2.43 ± 0.20
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	/	/	1.69 ± 0.03
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	/	/	1.57 ± 0.04
Muşat V y cols 2021	Fluor Na/F	/	/	1.29/1.61
Ferraz LN y cols 2021	Fluor Na/F	69.96 ± 0.78	0.77 ± 0.08	2.49 ± 0.02
Noaman KM y cols 2020	Fluor Na/F	68.40 ± 1.86	31.60 ± 1,86	2.15 ± 0.17

Figura 2 Guía PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and MetaAnalyses)

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review.	Portada
ABSTRACT			
Abstract	2	See the PRISMA 2020 for Abstracts checklist.	1
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of existing knowledge.	12-17
Objectives	4	Provide an explicit statement of the objective(s) or question(s) the review addresses.	17-20
METHODS			
Eligibility criteria	5	Specify the inclusion and exclusion criteria for the review and how studies were grouped for the syntheses.	28
Information sources	6	Specify all databases, registers, websites, organisations, reference lists and other sources searched or consulted to identify studies. Specify the date when each source was last searched or consulted.	29-30
Search strategy	7	Present the full search strategies for all databases, registers and websites, including any filters and limits used.	29-30
Selection process	8	Specify the methods used to decide whether a study met the inclusion criteria of the review, including how many reviewers screened each record and each report retrieved, whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	31
Data collection process	9	Specify the methods used to collect data from reports, including how many reviewers collected data from each report, whether they worked independently, any processes for obtaining or confirming data from study investigators, and if applicable, details of automation tools used in	32

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
		the process.	
Data items	10a	List and define all outcomes for which data were sought. Specify whether all results that were compatible with each outcome domain in each study were sought (e.g. for all measures, time points, analyses), and if not, the methods used to decide which results to collect.	33-34
	10b	List and define all other variables for which data were sought (e.g. participant and intervention characteristics, funding sources). Describe any assumptions made about any missing or unclear information.	33-34
Study risk of bias assessment	11	Specify the methods used to assess risk of bias in the included studies, including details of the tool(s) used, how many reviewers assessed each study and whether they worked independently, and if applicable, details of automation tools used in the process.	33-34
Effect measures	12	Specify for each outcome the effect measure(s) (e.g. risk ratio, mean difference) used in the synthesis or presentation of results.	
Synthesis methods	13a	Describe the processes used to decide which studies were eligible for each synthesis (e.g. tabulating the study intervention characteristics and comparing against the planned groups for each synthesis (item #5)).	35
	13b	Describe any methods required to prepare the data for presentation or synthesis, such as handling of missing summary statistics, or data conversions.	35
	13c	Describe any methods used to tabulate or visually display results of individual studies and syntheses.	35
	13d	Describe any methods used to synthesize results and provide a rationale for the choice(s). If meta-analysis was performed, describe the model(s), method(s) to identify the presence and extent of statistical heterogeneity, and software package(s) used.	35
	13e	Describe any methods used to explore possible causes of heterogeneity among study results	/

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
		(e.g. subgroup analysis, meta-regression).	
	13f	Describe any sensitivity analyses conducted to assess robustness of the synthesized results.	/
Reporting bias assessment	14	Describe any methods used to assess risk of bias due to missing results in a synthesis (arising from reporting biases).	/
Certainty assessment	15	Describe any methods used to assess certainty (or confidence) in the body of evidence for an outcome.	/
RESULTS			
Study selection	16a	Describe the results of the search and selection process, from the number of records identified in the search to the number of studies included in the review, ideally using a flow diagram.	36
	16b	Cite studies that might appear to meet the inclusion criteria, but which were excluded, and explain why they were excluded.	37
Study characteristics	17	Cite each included study and present its characteristics.	38-39
Risk of bias in studies	18	Present assessments of risk of bias for each included study.	40-41
Results of individual studies	19	For all outcomes, present, for each study: (a) summary statistics for each group (where appropriate) and (b) an effect estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval), ideally using structured tables or plots.	42
Results of syntheses	20a	For each synthesis, briefly summarise the characteristics and risk of bias among contributing studies.	42-43
	20b	Present results of all statistical syntheses conducted. If meta-analysis was done, present for	/

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
		each the summary estimate and its precision (e.g. confidence/credible interval) and measures of statistical heterogeneity. If comparing groups, describe the direction of the effect.	
	20c	Present results of all investigations of possible causes of heterogeneity among study results.	/
	20d	Present results of all sensitivity analyses conducted to assess the robustness of the synthesized results.	/
Reporting biases	21	Present assessments of risk of bias due to missing results (arising from reporting biases) for each synthesis assessed.	/
Certainty of evidence	22	Present assessments of certainty (or confidence) in the body of evidence for each outcome assessed.	/
DISCUSSION			
Discussion	23a	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence.	48-51
	23b	Discuss any limitations of the evidence included in the review.	52
	23c	Discuss any limitations of the review processes used.	/
	23d	Discuss implications of the results for practice, policy, and future research.	/
OTHER INFORMATION			
Registration and protocol	24a	Provide registration information for the review, including register name and registration number, or state that the review was not registered.	/
	24b	Indicate where the review protocol can be accessed, or state that a protocol was not prepared.	/
	24c	Describe and explain any amendments to information provided at registration or in the protocol.	/
Support	25	Describe sources of financial or non-financial support for the review, and the role of the funders or sponsors in the review.	/

Section and Topic	Item #	Checklist item	Location where item is reported
Competing interests	26	Declare any competing interests of review authors.	/
Availability of data, code and other materials	27	Report which of the following are publicly available and where they can be found: template data collection forms; data extracted from included studies; data used for all analyses; analytic code; any other materials used in the review.	/

COMPARACION DEL EFECTO REMINERALIZANTE DEL CHITOSAN CON EL FLUOR Y OTROS PRODUCTOS REMINERALIZANTES EN CARIES INCIPIENTES: UNA REVISION SISTEMATICA

Titulo corto: Remineralización de caries incipientes con chitosan
vs flúor

Autores:

Emanuele Lepore (1), Angel del Campo Rodríguez (2)

- 1) Estudiante 5º año, Grado de Odontología, Universidad Europea de Valencia. Valencia, España.
- 2) Doctor Angel del Campo Rodríguez, Profesor de Grado. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Europea de Valencia. Valencia, España

Campus de Valencia

Paseo de la Alameda, 7 46010 Valencia

universidadeuropea.com

Resumen

Introducción: A pesar del efecto beneficioso predominante del fluoruro en la remineralización del esmalte, el riesgo de fluorosis dental inducida por una ingesta excesiva de flúor hace que pueda ser preferible el uso de agentes como el quitosan en la remineralización de caries incipientes. El objetivo fue evaluar la remineralización de caries incipiente de esmalte proporcionada por el quitosan respecto al flúor; así como evaluar el contenido mineral de las superficies tratadas por cada uno de los dos agentes.

Material y método: Se realizó una búsqueda electrónica en las bases de datos PubMed, Scopus y Web Of Science sobre la remineralización de caries incipiente de esmalte por quitosan o flúor hasta diciembre de 2022.

Resultados: De 208 artículos potencialmente elegibles, 9 cumplieron con los criterios de inclusión: 5 artículos describían la remineralización mediante el uso de quitosan, 1 mediante el uso de flúor y 3 realizaban una comparativa de ambos grupos de tratamiento.

Ambos agentes mostraron una eficaz capacidad remineralizante, destacándose en las muestras en tratamiento con quitosan un aumento de la remineralización superficial y subsuperficial evidenciada por los resultados de micro-dureza Knoop y un valor Ca/P de la superficie remineralizada más cercano al esmalte sano

Conclusión: A pesar de las limitaciones, el tratamiento con quitosan parece conseguir un aumento significativo de la remineralización subsuperficial, una mayor recuperación mineral y una composición cercana a la hidroxiapatita pura.

Palabras Clave: Dental caries, incipient caries, tooth demineralization, tooth decay, incipient decay, chitosan, fluoride, tooth remineralization

Introducción: El diente humano está sometido constantemente a daños debido a que se encuentra expuesto a agentes externos y a la ingestión inevitable de una dieta tanto líquida como sólida. La agresión ácida al esmalte se debe principalmente a los ácidos provenientes del metabolismo de los microorganismos de la flora oral (1). El proceso de remineralización del esmalte tiene como objetivo reponer el componente iónico perdido del esmalte mediante múltiples métodos y se caracteriza por la aportación desde el ambiente externo de calcio inorgánico y depósitos de fosfatos sobre el esmalte desmineralizado (2). La estrategia clave de los métodos de remineralización del esmalte consiste en reponer los iones eliminados obliterando los poros de la superficie desmineralizada (3). La recarga de las reservas iónicas naturales de flúor es uno de los enfoques cruciales en las estrategias de remineralización y se suele intentar con la aplicación de fluoruros tópicos, aunque muchos agentes remineralizantes distintos al flúor como el quitosán han demostrado capacidades significativas de remineralización en condiciones *in vitro* o *in vivo* (1). El quitosán es un biopolímero de baja toxicidad, biodegradable, biocompatible derivado de la des-acetilación de la quitina (4), su propiedad más estudiada es la remineralización y su papel en la regeneración del esmalte y dentina. En la remineralización del esmalte, el tejido afectado se remineraliza de nuevo y se hace más resistente a los ataques ácidos en comparación con el esmalte natural que existía anteriormente (5). Este agente tiene una mayor capacidad de penetración en el esmalte, por lo que puede transportar los iones necesarios a zonas más profundas donde se encuentra la lesión, además interfiere en el proceso de desmineralización del esmalte dental inhibiendo la liberación de elementos minerales. (6). Debido a las regiones activas disponibles en la estructura del quitosán, éste puede combinarse fácilmente con diversos materiales bioactivos que actúan como reservorio de los iones necesarios para la remineralización (5).

El objetivo de la presente revisión fue revisar sistemáticamente la siguiente pregunta ¿En los pacientes con caries incipientes de esmalte, el tratamiento con quitosán obtiene una mayor remineralización que los tratamientos que utilizan flúor? Para ello se evaluaron, en primer lugar, la remineralización producida en esmalte y, en segundo lugar, la evaluación del contenido mineral de la superficie remineralizada.

Material y métodos: La presente revisión sistemática se llevó a cabo siguiendo la declaración de la Guía PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) (7)

- Pregunta Pico:

El formato de la pregunta se estableció de acuerdo con la pregunta estructurada PICO:

- **P** (Población): Lesiones cariosas incipientes de esmalte (Código ICDAS 1,2) a los que se les hubiera realizado un procedimiento de remineralización
- **I** (Intervención): Remineralización por quitosan
- **C** (Comparación): Remineralización por flúor
- **O** (Resultados):
 - O1: Remineralización de caries incipientes de esmalte
 - O2: Evaluación del contenido mineral de la remineralización

- Criterios de elegibilidad

Los criterios de inclusión fueron

Tipo de Estudio: Ensayos clínicos aleatorizados controlados, estudios de cohortes prospectivos y series de casos; estudios in vitro y sobre individuos humanos, número de superficies afectadas ≥ 10 ; Publicaciones en inglés y español; Publicados 2021.

- **Tipo de Paciente:** Pacientes con lesiones cariosas incipientes de esmalte
- **Tipo de Intervención:** Remineralización de esmalte por quitosan o mediante técnicas que utilizan flúor
- **Tipo de Variables de Resultados:** Estudios que proporcionaran datos relacionados con la remineralización de esmalte como variables principales. Como variables secundarias: Evaluación del contenido mineral de la superficie remineralizada. Los criterios de exclusión fueron: revisiones a propósito de un caso, cartas o comentarios al editor, informes de expertos, estudios en los que se realizó remineralización de dentina, dientes deciduos, defectos de esmalte debido a fluorosis, abrasión y enfermedades como MIH, otros procedimientos de remineralización no descritos como incluidos y estudios publicados antes del 2013.

- Fuentes de información y estrategia de búsqueda:

Se llevó a cabo una búsqueda automatizada en las tres bases de datos anteriormente citadas (PubMed, Scopus y Web of Science) con las siguientes palabras clave: “tooth demineralization”, “dental caries”, “incipient caries”, “tooth decay”, “incipient decay”, “chitosan”, “fluorine”, “tooth remineralization”, “desmineralización dental” “remineralización dental”. Las palabras claves fueron combinadas con los operadores booleanos AND, OR y NOT, así como con los términos controlados (“MeSH” para Pubmed) en un intento de obtener los mejores y más amplios resultados de búsqueda.

La búsqueda en PubMed fue la siguiente: (((("dental caries"[MeSH Terms] OR "tooth demineralization"[MeSH Terms] OR ("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("carie"[All Fields] OR "dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All Fields] OR "caries"[All Fields])) OR ("dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All Fields] OR ("tooth"[All Fields] AND "decay"[All Fields]) OR "tooth decay"[All Fields]) OR ("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("decay"[All Fields] OR "decayed"[All Fields] OR "decaying"[All Fields] OR "decays"[All Fields]))) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication] AND ("chitosan"[MeSH Terms] AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) OR ((("fluorinate"[All Fields] OR "fluorinated"[All Fields] OR "fluorinates"[All Fields] OR "fluorinating"[All Fields] OR "fluorinations"[All Fields] OR "fluorinative"[All Fields] OR "fluorine"[MeSH Terms] OR "fluorine"[All Fields] OR "fluorines"[All Fields] OR "fluorine s"[All Fields] OR "halogenation"[MeSH Terms] OR "halogenation"[All Fields] OR "fluorination"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND (("tooth remineralization"[MeSH Terms] OR ("tooth"[All Fields] AND "remineralization"[All Fields]) OR "tooth remineralization"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND (y_10[Filter])

Con el intento de identificar posibles estudios elegibles que la búsqueda inicial podría haber perdido, se completó la búsqueda con una revisión de las referencias disponibles en la bibliografía de cada uno de los estudios. Por otra parte, se llevó a cabo una búsqueda manual de artículos científicos de las siguientes revistas de Odontopediatría: Journal of Dental Research, Journal of Dentistry, International Journal of Clinical Pediatric Dentistry, Journal of Phisycs. Por último, se realizó una búsqueda cruzada de

artículos potencialmente interesantes para el análisis. Los estudios duplicados fueron eliminados de la revisión.

- Proceso de selección de los estudios:

Se realizó un proceso de selección en tres etapas. La selección de los estudios fue llevada a cabo por dos revisores (EL, ACR). En la primera etapa se filtraba por los títulos con el objeto de eliminar publicaciones irrelevantes. En la segunda etapa se realizaba el cribado por los resúmenes y se seleccionaba según el tipo de estudio, tipo de agente, tipo de intervención, número de dientes, y variables de resultado. En la tercera etapa se filtraba según la lectura del texto completo y se procedió a la extracción de los datos usando para ello un formulario de recogida de datos previamente elaborado para confirmar la elegibilidad de los estudios. Los desacuerdos entre los revisores, en cada una de las fases, se resolvieron mediante discusión y, cuando fue necesario, un tercer revisor fue consultado. El grado de acuerdo respecto a la inclusión de los estudios potenciales fue calculado por k-stadistics (Cohen kappa test) para la segunda y la tercera etapa de selección.

- Extracción de datos:

La siguiente información fue extraída de los estudios y se dispuso en tablas según el tipo de procedimiento (remineralización por quitosano o flúor): autores con el año de publicación, tipo de estudio (aleatorizado controlado, prospectivo, serie de casos, estudios *in vitro*), número de dientes, característica de la lesión (lesión cariosa incipiente), localización del defecto (esmalte, dientes permanentes), composición de la solución de quitosano (mg de quitosano/ml), remineralización (medición de la diferencia de los valores de microdureza superficial expresados en índices de dureza de Knoop), evaluación del contenido mineral de la superficie remineralizada (evaluación y medición de minerales presentes mediante utilización de microscopio electrónico de barrido (SEM) y espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDX)).

- Valoración de la calidad:

La valoración del riesgo de sesgo fue evaluada por dos revisores (EI, ACR) con el objeto de analizar la calidad metodológica de los artículos incluidos.

Para la evaluación de la calidad de los estudios clínicos controlados aleatorizados se utilizó la guía Cochrane 5.1.0 (<http://handbook.cochrane.org>); las publicaciones fueron

consideraras de “bajo riesgo de sesgo” cuando cumplían todos los criterios, “alto riesgo de sesgo” cuando no se cumplía uno o más criterios y por tanto se considera que el estudio presenta un sesgo posible que debilita la fiabilidad de los resultados y “sesgo incierto” (ya fuera por falta de información o incertidumbre sobre el potencial de sesgo). Para la medición de la calidad de los estudios observacionales no aleatorizados se utilizó la escala de Arrive & Consort de autores (18) ; se consideró “bajo riesgo de sesgo” en el caso de una puntuación entre 0 y 3 puntos, de “moderado riesgo de sesgo” con una puntuación entre 4 y 7 y “alto riesgo de sesgo” en el caso de una puntuación entre 8 y 10.

El grado de acuerdo inter-examinador de la evaluación de la calidad metodológica se obtuvo con la prueba kappa de Cohen, siguiendo la escala propuesta por Landis y Koch.

- Síntesis de datos:

Con la finalidad de resumir y comparar las variables de resultados entre los diferentes estudios, las medias de los valores de las variables principales fueron agrupadas según el grupo de estudio.

- Resultados:

Se obtuvieron un total de 208 artículos del proceso de búsqueda inicial: Medline - PubMed (n=32), SCOPUS (n=130) y la Web of Science (n=46). De estas publicaciones, 24 se identificaron como artículos potencialmente elegibles mediante el cribado por títulos y resúmenes. Los artículos de texto completo fueron posteriormente obtenidos y evaluados a fondo. Como resultado 9 artículos cumplieron con los criterios de inclusión y fueron incluidos en la presente revisión sistemática.

- Análisis de las características de los estudios revisados:

De los 9 artículos incluidos en la presente revisión, 5 artículos describían la remineralización mediante el uso de quitosano (8-11,16), 1 mediante el uso de flúor (12) y 3 realizaba una comparativa de ambos grupos de tratamiento (13-15). 8 artículos fueron estudios *in vitro* (8-12,14-16) y 1 fue un estudio *in situ* (13). En los estudios aleatorizados el paciente fue la unidad de asignación al azar. Se trataron un total de 302 muestras dentales: 255 tratados con quitosano y 47 mediante el uso de flúor. En todos los estudios se trataba la remineralización de caries incipientes en esmalte; En los diferentes estudios, el tipo de agente remineralizante más empleado fue el quitosano. En la técnica de remineralización por quitosano, los estudios (8-11,13,16) utilizaban quitosano en diferentes concentraciones de desacetilación, un estudio utilizaba un hidrogel de quitosano

como solución remineralizante (15) mientras otro estudio utilizaba quitosano fosforilado como técnica remineralizante (14). En los estudios que analizaban la capacidad del flúor se utilizó como agente remineralizante el fluoruro sódico en diferentes concentraciones. En técnica de remineralización por quitosano, 3 estudios utilizaron un biovidrio remineralizante (Novamin) después del quitosano para fomentar la remineralización, y los comparaban con aquellos que solo utilizaron biovidrio (9,10,16).

- Evaluación de la calidad metodológica:

Para los estudios in-vitro, 2 estudios presentaron riesgo de sesgo medio mientras otros estudios in-vitro fueron considerados con riesgo de sesgo bajo. Para el estudio in-situ fue considerado un bajo riesgo de sesgo debido a la propia naturaleza del tipo de estudio. El sesgo de cegamiento del operador de la máquina de ensayo fue el ítem de mayor riesgo de sesgo. El valor k (Cohen kappa test) sobre el acuerdo entre los revisores de la calidad metodológica fue de 1 según la escala de Landis & Koch.

- Síntesis de resultados:

Remineralización de caries incipientes:

En relación con la remineralización de caries incipientes con quitosano, 8 estudios proporcionaron los datos de la prueba de microdureza de Knoop necesarios para evaluar la capacidad remineralizadora. En el estudio de Arnaud TMS y cols los mejores resultados se obtuvieron para los grupos con quitosano a 2,5 mg/ml con micro dureza máxima de 435 ± 7 HK (8). En los estudios de Zhang J y cols los grupos de estudio mostraron un rendimiento mecánico significativamente mejor después del tratamiento ($p < 0,05$) con valores de dureza más altos para los grupos que han utilizado el quitosano (9,10,16); $142,4 \pm 6,5$ HK, (9), $168,8 \pm 22,4$ (10) y $142,4 \pm 28,1$ (16). En el estudio de Deokar KK y cols se evidencia una diferencia significativa en los valores de HK antes y después de la aplicación del agente ($p=0,001$) y entre los grupos después del tratamiento ($p=0,035$) (12); En relación con el flúor 3 estudios aportaron los datos necesarios para valorar la capacidad remineralizadora. En el estudio de Musat V y cols los tratados con flúor presentan una micro dureza máxima de $HK=204,2$ con disfunción progresiva de la eficacia (15), en el estudio realizado por Deokar KK y cols los valores medios de HK del grupo fluorado fueron de $229 \pm 13,6$, mostrando una diferencia significativa en los valores de HK antes y después de la aplicación con valor p de 0,005 (12),. En el estudio de Ferraz LN y

cols el grupo tratado con flúor proporcionó una dureza máxima de 282 HK, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos .(13).

- Contenido mineral relacionado a los procedimientos de remineralización

En relación con el tratamiento con quitosán, 5 estudios proporcionaron los valores del contenido mineral de las muestras tratadas necesarios para evaluar la calidad de la remineralización mediante el uso de un microscopio electrónico de barrido (SEM) y espectroscopia de rayos X de energía dispersiva (EDX). En el estudio de Musat V y cols el valor de la relación Ca/P varió entre 1,62-1,75 wt% para las series remineralizadas con quitosán, mostrando valores más cercanos al valor teórico de la hidroxiapatita carbonatada del esmalte natural (1,67 wt%)(15); en el artículo de Ferraz LN y cols los grupos tratados con quitosán mostraron valores intermedios de la relación Ca/P ($2,49 \pm 0,03$ wt%) estadísticamente iguales al grupo placebo (13). En el estudio de Zhang J y cols la relación Ca/P entre cada grupo no fue estadísticamente diferente en el grupo tratado con quitosán (16) mientras que en otro estudio de Zhang J y cols la relación Ca/P proporcionada por el grupo que utilizó quitosán fue de las más bajas entre los grupos analizados, con un valor de $1,69 \pm 0,03$ wt% (9). En relación con el tratamiento con fluor, 3 estudios proporcionaron los valores necesarios para evaluar la calidad de la remineralización. En el estudio de Musat V y cols el valor de la relación Ca/P en el grupo tratado con flúor varió entre 1,35-1,81 indicando la formación de fosfatos deficientes en calcio, cuya composición empeora a medida que aumenta la duración de la remineralización (15). En el estudio de Ferraz LN y cols los grupos tratados con flúor mostraron valores estadísticamente iguales al grupo placebo (13) mientras en el estudio de Mohamed Noaman K y cols presentan un valor de relación Ca/P de $2,15 \pm 0,17$ wt% (14).

- **Discusión**

La falta de estudios aleatorios que comparen ambas técnicas hizo imposible realizar un metaanálisis, por lo que los resultados se mostraron de forma descriptiva.

- Remineralización de caries incipientes:

Los resultados obtenidos en esta revisión sistemática informaron de diferentes formas de remineralización proporcionadas por quitosán, en un estudio el tratamiento con quitosán parece actuar más sobre la desmineralización del esmalte con poco efecto sobre el proceso de remineralización (8), mientras que en otros estudios se observó que el

chitosan es capaz de unirse a las proteínas de la saliva y al flúor y otros iones de la superficie del esmalte, formando capas en la superficie, que podrían favorecer el proceso de remineralización dental (9-16). En el estudio de Ferraz LN y cols, los grupos con chitosan no mostraron diferencias en la microdureza de la superficie y el NaF ha presentado una microdureza del esmalte igual al valor basal (13) en concordancia con los estudios de Zhang J y cols donde los resultados de microdureza muestran que los grupos tratados con chitosan presentaron una tendencia mayor pero no significativa que los otros grupos (9,16) y con el estudio de Zhang et al. que utilizaron chitosan fosforilado, encontrando resultados similares a los del flúor (17). Es interesante observar que se detectó una proporción mayor del contenido mineral en la subsuperficie tras la remineralización estática con chitosan, lo que indica que éste podría transportar iones a lesiones más profundas (9), de acuerdo con Arnaud et al (8) y conforme a lo afirmado por Cochrane et al. donde la deposición de minerales en la subsuperficie desempeña un papel clave en el éxito de la remineralización (19). La remineralización superficial y subsuperficial potenciada por el pretratamiento con chitosan también se evidencia por la microdureza Knoop, donde los resultados de dureza superficial y subsuperficial muestran una mayor recuperación en el grupo con chitosan y las grandes desviaciones estándar indican una superficie no homogénea y porosa (9,10,15,16).

- Contenido mineral de la remineralización:

En el estudio de Musat V y cols se observa una diferencia entre los esmaltes reparados con flúor y chitosan en la relación Ca/P y HAP del esmalte recién formado. La relación Ca/P para la muestra con flúor sugiere una fase de fosfato deficiente en calcio, un mayor contenido de carbonato y un HAP ligeramente menos cristalino en contraste con el tratamiento de chitosan que mostró el valor Ca/P más cercano al esmalte sano (15); Esto puede deberse en parte, como se muestra en el estudio de Ferraz LN y cols, a que el efecto del NaF está aparentemente modulado por la cantidad de saliva (13). Las observaciones de la subsuperficie revelaron que las superficies tratadas con chitosan presentaban una morfología más densa y la ausencia de la típica estructura prismática que otras, lo que implica que la remineralización de la subsuperficie tuvo lugar rellenando los poros presentes (16). Por otra parte, en el estudio realizado por Arnaud TMS y cols se observa que la liberación de fósforo en la solución desmineralizante presentó una amplitud mayor que la captación de fósforo por las muestras de la solución remineralizante. no obstante, la cantidad neta de fósforo liberada por las muestras del

grupo de control fue significativamente superior a la de los grupos tratados con chitosan (8).

- Bibliografia:

- 1) Ramadoss R, Padmanaban R, Subramanian B. Role of bioglass in enamel remineralization: Existing strategies and future prospects—A narrative review. Vol. 110, *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 45–66.
- 2) Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. Vol. 14, *Advances in dental research*. 2000. p. 40–7.
- 3) Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. Vol. 11, *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. Intern. and American Associations for Dental Research; 2000. p. 481–95.
- 4) Muzzarelli RAA, Muzzarelli C. Chitosan chemistry: Relevance to the biomedical sciences. Vol. 186, *Advances in Polymer Science*. 2005. p. 151–209.
- 5) Nimbeni SB, Nimbeni BS, Divakar DD. Role of chitosan in remineralization of enamel and dentin: A systematic review. Vol. 14, *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd; 2021. p. 562–8.
- 6) Suriya I, Gunawan HA, Amir LR. Effect of chitosan on the enamel demineralization process in vitro: An enamel solubility test. In: *Journal of Physics: Conference Series*. Institute of Physics Publishing; 2018.
- 7) Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *International Journal of Surgery*. 2010;8(5):336–41.
- 8) Arnaud TMS, De Barros Neto B, Diniz FB. Chitosan effect on dental enamel de-remineralization: An in vitro evaluation. *J Dent*. 2010;38(11):848–52.
- 9) Zhang J, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. Chitosan-bioglass complexes promote subsurface remineralisation of incipient human carious enamel lesions. *J Dent*. 2019 May 1;84:67–75.
- 10) Zhang J, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. Remineralisation of enamel white spot lesions pre-treated with chitosan in the presence of salivary pellicle. *J Dent*. 2018 May 1;72:21–8.
- 11) Tian K, Peng M, Fei W, Liao C, Ren X. Induced Synthesis of Hydroxyapatite by Chitosan for Enamel Remineralization. In: Chang TH, editor. *SMART TECHNOLOGIES FOR MATERIALS*. 2012. p. 40+. (Advanced Materials Research; vol. 530).
- 12) Deokar KK, Shashikiran N, Maurya A, Gaonkar N, Gugwad S, Hadakar S, et al. Comparative Evaluation of Chitosan Nanoparticles, Silver Diamine Fluoride and Acidulated Phosphate Fluoride Gel on Microhardness of Artificial Carious Lesions Created on Extracted Teeth. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2020;
- 13) Ferraz LN, Vieira I, Ambrosano GMB, Lopes MA, Lima DANL. Effect of tooth bleaching and application of different dentifrices on enamel properties under normal and hyposalivation conditions: an in situ study. *Clin Oral Investig*. 2021 Oct 1;25(10):5929–44.
- 14) Mohamed Noaman K, Mohamed Al-Samoly W, Abul-Khair Hassan Al-Hariri A. Evaluation of The Degree of Remineralization of Subclinical Carious Lesions Using Chitosan and Conventional Remineralizing Agents (An in vitro Study) [Internet]. Vol. 78, *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2020. Available from: www.recaldent.co
- 15) Muşat V, Anghel EM, Zaharia A, Atkinson I, Mocioiu OC, Buşilă M, et al. A chitosan–agarose polysaccharide-based hydrogel for biomimetic remineralization of dental enamel. *Biomolecules*. 2021;11(8).
- 16) Zhang J, Boyes V, Festy F, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. In-vitro subsurface remineralisation of artificial enamel white spot lesions pre-treated with chitosan. *Dental Materials*. 2018 Aug 1;34(8):1154–67.

- 17) Zhang X, Li Y, Sun X, Kishen A, Deng X, Yang X, et al. Biomimetic remineralization of demineralized enamel with nano-complexes of phosphorylated chitosan and amorphous calcium phosphate. *J Mater Sci Mater Med*. 2014 Nov 28;25(12):2619–28.
- 18) Ramamoorthi M, Bakkar M, Jordan J, Tran SD. Osteogenic Potential of Dental Mesenchymal Stem Cells in Preclinical Studies: A Systematic Review Using Modified ARRIVE and CONSORT Guidelines. Vol. 2015, *Stem Cells International*. Hindawi Publishing Corporation; 2015.
- 19) Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. Critical review in oral biology & medicine: New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010 Nov;89(11):1187–97.

-Anexos

Figura 1: Flow chart de la presente revisión sistemática

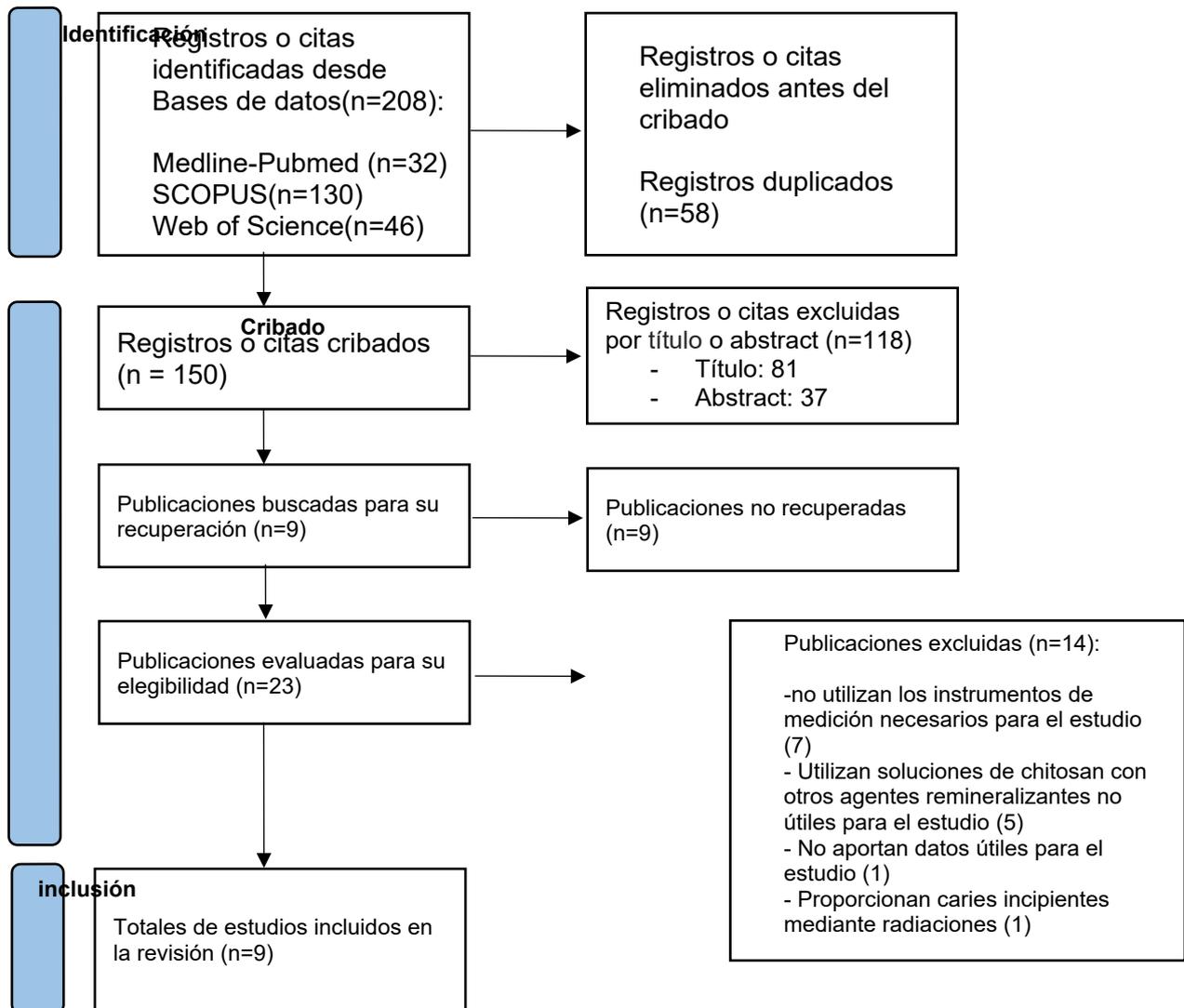


Tabla 3: Revisión estudios clínicos considerados en esta revisión sistemática

Artículo	Intervenciones	N° muestras	Tiempo de seguimiento	Evaluación de microdurezas	Evaluación de contenido mineral
Arnaud TM y cols 2012	Chitosan [2.50 mg/ml]	30 secciones dentarias	In situ	Vickers microhardness test (25 gr/10 seg)	/
Ferraz LN y cols 2021	1) Chitosan [5 mg/ml], Cloruro de estaño, fluoruro de amina 2) Na/F	24 secciones dentarias totales, 1 por participante (12 hombres, 12 mujeres)	In situ	Knoop microhardness test (50 gr/5 seg)	SEM y EDX
Muşat V y cols 2021	1) Chitosan-Agarosa hidrogel 2) Na/f	/	10 días	Vickers microhardness test (100 gr/15 seg)	SEM y EDX
Noaman KM y cols 2020	1) Phosphorylated chitosan [5 mg/ml] and amorphous calcium phosphate 2) NaF	40 dientes totales	3/6 meses	/	EMiSPEC y EDX
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	64 secciones de esmalte	7 días	Knoop microhardness test (10 gr/5 seg)	SEM y EDX
Zhang J y	Chitosan [2.50	48 secciones	7 días	Knoop microhardness	SEM

cols 2018	mg/ml] + Novamine bioglass	de esmalte		s test (10 gr/5 seg)	
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	66 secciones de esmalte	7 días	Knoop microhardnes s test (10 gr/5 seg)	SEM y EDX
Deokar KK y cols 2020	1) Chitosan [3 mg/ml] 2) Fluor APF	30 dientes totales	28 días	Vickers microhardnes s test (200 gr/15 seg)	/
Tian K y cols 2012	Chitosan [3 mg/ml]	/	In situ	Knoop microhardnes s test (25 gr/15 seg)	SEM y EDX

Tabla 4: Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios de la presente revisión sistemática

Artículo	Muestra obtenida proceso estandarizado	Operador unico	Cálculo del tamaño de la muestra	cegamiento del operador de la máquina de ensayo	Muestras, pruebas y formula según las especificaciones estándar	Riesgo de Sesgo
Arnaud TM y cols 2012	0	1	1	1	0	Bajo
Muşat V y cols 2021	0	1	2	1	0	Medio
Deokar KK y cols 2020	0	1	0	1	0	Bajo
Noaman KM y cols 2020	0	1	0	1	0	Bajo
Zhang J y cols 2019	0	1	0	2	0	Bajo
Zhang J y cols 2018	0	1	0	2	0	Bajo
Zhang J, Boyes V y cols 2018	0	1	0	2	0	Bajo
Tian K y cols 2012	0	1	2	1	0	Medio
Ferraz LN y cols 2021	0	1	0	0	0	Bajo

Tabla 5: Resultados de los test de microdureza de los agentes remineralizantes después de ciclo de remineralización mediante Knopp tester

Artículo	Material utilizado	Microdureza(Knopp)
Arnaud TM y cols 2012	Chitosan [2.50]	435 ± 7
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	321.98 ± 5.65
Muşat V y cols 2021	Chitosan-Agarosa hidrogel	216
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 6.5
Zhang J y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	168.8 ± 22.4
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 28.1
Deokar KK y cols 2020	Chitosan [3]	259.5± 14.9
Tian K y cols 2012	Chitosan [2.50]	119,74
Muşat V y cols 2021	Fluor NaF	204,2
Ferraz LN y cols 2021	Fluor NaF	282
Deokar KK y cols 2020	Fluor APF	238 ± 13,6

Tabla 6: Medición del contenido mineral mediante SEM y EDX (wt %) después de ciclos de remineralización de los diferentes agentes

Artículo	Material utilizado	Ca	P	Ca/P
Muşat V y cols 2021	Chitosan agarosa hydorgel	/	/	1.64/1.75
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	70.53 ± 0.75	28.29 ± 0.23	2.49 ± 0.03
Noaman KM y cols 2020	Phosphorylated chitosan [5]	70.99 ± 1.53	29.00 ± 1.53	2.43 ± 0.20
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	/	/	1.69 ± 0.03
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	/	/	1.57 ± 0.04
Muşat V y cols 2021	Fluor Na/F	/	/	1.29/1.61
Ferraz LN y cols 2021	Fluor Na/F	69.96 ± 0.78	0.77 ± 0.08	2.49 ± 0.02
Noaman KM y cols 2020	Fluor Na/F	68.40 ± 1.86	31.60 ± 1,86	2.15 ± 0.17

REMINERALIZING EFFECT OF CHITOSAN IN INCIPIENT CARIES IN COMPARATION WITH FLUORIDE AND OTHER REMINERALISING PRODUCTS: A SYSTEMATIC REVIEW

Short title: Remineralization of incipient caries with chitosan vs.
fluoride

Authors: Lepore, Emanuele(1), del Campo-Rodriguez, Angel
DDS,MSc,PhD(2)

- 1) 5th year student Dentistry Degree at Universidad Europea de Valencia, Valencia, Spain.
- 2) Professor of Pediatric Dentistry at Faculty of Health Sciences, Universidad Europea de Valencia.
Valencia, Spain

Campus de Valencia

Paseo de la Alameda, 7 46010 Valencia

universidadeuropea.com

Abstract

Introduction: Despite the predominant beneficial effect of fluoride on enamel remineralization, the risk of dental fluorosis induced by excessive fluoride intake means that it may be preferable to use agents such as chitosan in the remineralization of incipient caries.

The objective was to evaluate the remineralization of incipient enamel caries provided by chitosan with respect to fluoride; as well as to evaluate the mineral content of the surfaces treated with each agent.

Material and methods: An electronic search was carried out in the PubMed, Scopus and Web Of Science databases on the remineralization of incipient enamel caries by chitosan or fluoride until December 2022.

Results: Out of 208 potentially eligible articles, nine met the inclusion criteria: five articles described remineralization using chitosan, one using fluoride and three made a comparison of both treatments.

Both agents showed an effective remineralizing capacity with the samples treated with chitosan showing an increase in surface and sub-surface remineralization. As evidenced by the Knoop micro-hardness results and a Ca/P value of the remineralized surface closer to healthy enamel.

Conclusion: Despite limitations, chitosan treatment appears to achieve a significant increase in subsurface remineralization, increased mineral recovery and a composition close to pure hydroxyapatite.

Keywords: Dental caries, incipient caries, tooth demineralization, tooth decay, incipient decay, chitosan, fluoride, tooth remineralization

Introduction:

The human tooth is constantly subjected to damage due to its exposure to external agents and the unavoidable ingestion of both liquid and solid diet. Acid aggression to the enamel is mainly due to acids from the metabolism of microorganisms of the oral flora (1). The process of enamel remineralization aims to replenish the lost ionic component of enamel by multiple methods and is characterized by the input from the external environment of inorganic calcium and phosphate deposits on the demineralized enamel (2). The key strategy of enamel remineralization methods is to replenish the removed ions by obliterating the pores of the demineralized surface (3). Replenishment of natural fluoride ionic reserves is one of the crucial approaches in remineralization strategies and is often attempted with the application of topical fluorides although many non-fluoride remineralizing agents such as chitosan have demonstrated significant remineralization capabilities under in vitro or in vivo conditions (1). Chitosan is a low-toxicity, biodegradable, biocompatible biopolymer derived from the deacetylation of chitin (4), its most studied property is remineralization and its role in enamel and dentin regeneration. In enamel remineralization, the affected tissue is remineralized again and becomes more resistant to acid attacks compared to the previously existing natural enamel (5). This agent has a greater capacity to penetrate the enamel, so it can transport the necessary ions to deeper areas where the lesion is located, and it also interferes with the demineralisation process of the tooth enamel by inhibiting the release of mineral elements (6). Due to the active regions available in the chitosan structure, chitosan can be easily combined with various bioactive materials that act as a reservoir for the ions necessary for remineralization (5).

The aim of the present review was to systematically review the following question... Does chitosan treatment achieve better remineralization than treatment using fluoride in patients with incipient enamel caries? For this purpose, firstly, the remineralization produced in enamel and, secondly, the assessment of the mineral content of the remineralized surface were evaluated.

Material and methods

The present systematic review was conducted following the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) guideline statement (7).

- PICO Question:

The question format was set according to the structured PICO question:

- **P** (Population): Incipient carious enamel lesions (ICDAS code 1,2) that had undergone a remineralization procedure.

- **I** (Intervention): Remineralization with chitosan

- **C** (Comparison): Remineralization by fluoride

- **O**(Results):

- O1: Remineralization of early enamel caries

- O2: Evaluation of the mineral content of remineralization

- Eligibility criteria

Inclusion criteria were:

-**Study Type**: randomized controlled clinical trials, prospective cohort studies and case series; studies in vitro and on human individuals, number of affected surfaces ≥ 10 ; Publications in English and Spanish; Published 2021.

-**Patient Type**: Patients with incipient carious enamel lesions.

-**Type of Intervention**: Enamel remineralization by chitosan or fluoride-based techniques.

-**Type of Outcome Variables**: Studies that will provide data related to enamel remineralization as primary variables. Exclusion criteria were single case reviews, letters or comments to the editor, expert reports, studies in which dentine remineralization was performed, deciduous teeth, enamel defects due to fluorosis, abrasion and diseases such as MIH, other remineralization procedures not described as included and studies published before 2013.

- Information sources and search strategy:

An automated search was carried out in the three databases mentioned above (PubMed, Scopus and Web of Science) with the following keywords: “tooth demineralization”, “dental caries”, “incipient caries”, “tooth decay”, “incipient decay”, “chitosan”, “fluorine”, “tooth remineralization”, “desmineralización dental” “remineralización dental”. The keywords were combined with the Boolean operators AND, OR y NOT, as well as with controlled terms ("MeSH" for Pubmed) in an attempt to obtain the best and broadest search results.

The PubMed search was as follows: (((("dental caries"[MeSH Terms] OR "tooth demineralization"[MeSH Terms] OR ("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("carie"[All Fields] OR "dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All Fields] OR "caries"[All Fields])) OR ("dental caries"[MeSH Terms] OR ("dental"[All Fields] AND "caries"[All Fields]) OR "dental caries"[All Fields] OR ("tooth"[All Fields] AND "decay"[All Fields]) OR "tooth decay"[All Fields]) OR ("incipient"[All Fields] OR "incipients"[All Fields]) AND ("decay"[All Fields] OR "decayed"[All Fields] OR "decaying"[All Fields] OR "decays"[All Fields]))) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication] AND ("chitosan"[MeSH Terms] AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) OR ((("fluorinate"[All Fields] OR "fluorinated"[All Fields] OR "fluorinates"[All Fields] OR "fluorinating"[All Fields] OR "fluorinations"[All Fields] OR "fluorinative"[All Fields] OR "fluorine"[MeSH Terms] OR "fluorine"[All Fields] OR "fluorines"[All Fields] OR "fluorine s"[All Fields] OR "halogenation"[MeSH Terms] OR "halogenation"[All Fields] OR "fluorination"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND (("tooth remineralization"[MeSH Terms] OR ("tooth"[All Fields] AND "remineralization"[All Fields]) OR "tooth remineralization"[All Fields]) AND "2013/02/11 00:00":"3000/01/01 05:00"[Date - Publication])) AND (y_10[Filter])

In an attempt to identify possible eligible studies that the initial search might have missed, the search was completed with a review of the references available in the bibliography of each of the studies. On the other hand, a hand search of scientific articles from the following pediatric dentistry journals was carried out: Journal of Dental Research, Journal of Dentistry, International Journal of Clinical Pediatric Dentistry, Journal of Phisycs. Finally, a cross search of potentially interesting articles for analysis was performed. Duplicate studies were eliminated from the review.

- Study selection process:

A three-stage selection process was carried out. The selection of studies was carried out by two reviewers (EL, ACR). In the first stage, we filtered by titles in order to eliminate irrelevant publications. In the second stage, the abstracts were screened and selected according to type of study, type of agent, type of intervention, number of teeth, and outcome variables. In the third stage, we filtered by reading the full text and proceeded to data extraction using a previously developed data collection form to confirm study eligibility. Disagreements between reviewers at each stage were resolved by discussion and, when necessary, a third reviewer was consulted. The degree of agreement regarding the inclusion of potential studies was calculated by k-statistics (Cohen kappa test) for the second and third screening stages.

- Data extraction:

The following information was extracted from the studies and arranged in tables according to the type of procedure (remineralization by chitosan or fluoride): authors with year of publication, type of study (randomized controlled, prospective, case series, in vitro studies), number of teeth, lesion characteristic (incipient carious lesion), defect location (enamel, permanent teeth), chitosan solution composition (mg chitosan/ml), remineralization (measurement of the difference in surface microhardness values expressed in Knoop hardness indices), evaluation of the mineral content of the remineralized surface (evaluation and measurement of minerals present using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX)).

- Quality assessment:

The assessment of the risk of bias was evaluated by two reviewers (EI, ACR) in order to analyze the methodological quality of the included articles.

The Cochrane 5.1.0 guide (<http://handbook.cochrane.org>) was used to assess the quality of the randomized controlled clinical studies; the publications were considered "low risk of bias" when they met all the criteria, "high risk of bias" when one or more criteria were not met and therefore the study was considered to present a possible bias that weakens the reliability of the results, and "uncertain bias" (either due to lack of information or uncertainty about the potential for bias). The Arrive & Consort scale of authors (18) was used to measure the quality of nonrandomized observational studies; "low risk of bias" was

considered for a score between 0 and 3 points, "moderate risk of bias" for a score between 4 and 7, and "high risk of bias" for a score between 8 and 10.

The degree of inter-examiner agreement of the assessment of methodological quality was obtained with Cohen's kappa test, following the scale proposed by Landis and Koch.

- Data synthesis:

In order to summarize and compare the outcome variables between the different studies, the means of the values of the main variables were grouped according to the study group.-

- Results:

A total of 208 articles were obtained from the initial search process: Medline - PubMed (n=32), SCOPUS (n=130) and the Web of Science (n=46). Of these publications, 24 were identified as potentially eligible articles by screening by titles and abstracts. Full-text articles were subsequently obtained and thoroughly evaluated. As a result 9 articles met the inclusion criteria and were included in the present systematic review.

- Analysis of the characteristics of the reviewed studies:

Of the 9 articles included in the present review, 5 articles described remineralization using chitosan (8-11,16), 1 using fluoride (12) and 3 made a comparison of both treatment groups (13-15). Eight articles were in vitro studies (8-12,14-16) and one was an in situ study (13). In the randomized studies the patient was the unit of randomization. A total of 302 dental specimens were treated: 255 treated with chitosan and 47 using fluoride. In all the studies, remineralization of incipient enamel caries was treated; in the different studies, the type of remineralizing agent most commonly used was chitosan. In the chitosan remineralization technique, the studies (8-11,13,16) used chitosan at different deacetylation concentrations, one study used a chitosan hydrogel as a remineralizing solution (15) while another study used phosphorylated chitosan as a remineralizing technique (14). In the studies analyzing fluoride capacity, sodium fluoride in different concentrations was used as remineralizing agent. In chitosan remineralization technique, 3 studies used a remineralizing bioglass (Novamin) after chitosan to promote remineralization, and compared them with those using only bioglass (9,10,16).

- Evaluation of methodological quality:

For the in-vitro studies, 2 studies presented medium risk of bias while other in-vitro studies were considered at low risk of bias. For the in-situ study, it was considered a low risk of

bias due to the very nature of the study type. Blinding bias of the test machine operator was the item with the highest risk of bias. The k-value (Cohen kappa test) for inter-reviewer agreement on methodological quality was 1 according to the Landis & Koch scale.

- Summary of results:

Remineralization of incipient caries:

Regarding remineralization of incipient caries with chitosan, 8 studies provided the Knoop microhardness test data necessary to evaluate remineralizing capacity. In the study by Arnaud TMS et al. the best results were obtained for the groups with chitosan at 2.5 mg/ml with maximum microhardness of 435 ± 7 HK (8). In the studies of Zhang J et al the study groups showed significantly better mechanical performance after treatment ($p < 0.05$) with higher hardness values for the groups having used chitosan (9,10,16); 142.4 ± 6.5 HK, (9), 168.8 ± 22.4 (10) and 142.4 ± 28.1 (16). In the study of Deokar KK et al. a significant difference in the HK values before and after the application of the agent ($p=0.001$) and between the groups after treatment ($p=0.035$) is evidenced (12); In relation to fluoride 3 studies provided the necessary data to evaluate the remineralizing capacity. In the study by Musat V et al. those treated with fluoride presented a maximum microhardness of $HK=204.2$ with progressive dysfunction of efficacy (15), in the study by Deokar KK et al. the mean HK values of the fluoride group were 229 ± 13.6 , showing a significant difference in HK values before and after application with p-value of 0.005 (12),. In the study of Ferraz LN et al. the fluoride treated group provided a maximum hardness of 282 HK, with no statistically significant differences between the groups (13).

Mineral content related to remineralization procedures

In relation to chitosan treatment, 5 studies provided the values of the mineral content of the treated samples necessary to evaluate the quality of remineralization using scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDX). In the study by Musat V et al. the Ca/P ratio value varied between 1.62-1.75 wt% for the series remineralized with chitosan, showing values closer to the theoretical value of natural enamel carbonate hydroxyapatite (1.67 wt%)(15); in the article by Ferraz LN et al. the groups treated with chitosan showed intermediate values of the Ca/P ratio (2.49 ± 0.03 wt %) statistically equal to the placebo group (13). In the study by Zhang J et al. the Ca/P ratio between each group was not statistically different in the group treated with chitosan

(16) while in another study by Zhang J et al. the Ca/P ratio provided by the group using chitosan was among the lowest among the groups analyzed, with a value of 1.69 ± 0.03 wt % (9). In relation to fluoride treatment, 3 studies provided the necessary values to evaluate the quality of remineralization. In the study by Musat V et al. the value of the Ca/P ratio in the fluoride-treated group varied between 1.35-1.81 indicating the formation of calcium-deficient phosphates, whose composition worsens as the duration of remineralization increases (15). In the study of Ferraz LN et al. the groups treated with fluoride showed values statistically equal to the placebo group (13) while in the study of Mohamed Noaman K et al. they present a Ca/P ratio value of 2.15 ± 0.17 wt% (14).

- Discussion:

The lack of randomized studies comparing both techniques made it impossible to perform a meta-analysis, so the results were shown descriptively.

Remineralization of incipient caries:

The results obtained in this systematic review reported different forms of remineralization provided by chitosan, in one study chitosan treatment seems to act more on enamel demineralization with little effect on the remineralization process (8), while in other studies it was observed that chitosan is able to bind to saliva proteins and fluoride and other ions on the enamel surface, forming layers on the surface, which could favor the dental remineralization process (9-16). In the study of Ferraz LN et al, the groups with chitosan did not show differences in the microhardness of the surface and NaF has presented a microhardness of the enamel equal to the basal value (13) in agreement with the studies of Zhang J et al where the microhardness results show that the groups treated with chitosan presented a greater but not significant trend than the other groups (9,16) and with the study of Zhang et al. who used phosphorylated chitosan, finding similar results to those of fluoride (17). Interestingly, a higher proportion of mineral content was detected in the subsurface after static remineralization with chitosan, indicating that chitosan could transport ions to deeper lesions (9), in agreement with Arnaud et al. (8) and in accordance with Cochrane et al. where subsurface mineral deposition plays a key role in the success of remineralization (19). Surface and subsurface remineralization enhanced by pretreatment with chitosan is also evidenced by Knoop microhardness, where surface and subsurface hardness results show higher recovery in the chitosan group and large standard deviations indicate a non-homogeneous and porous surface (9,10,15,16).

Mineral content of remineralization:

In the study by Musat V et al. a difference between fluoride and chitosan repaired enamels was observed in the Ca/P ratio and PAH of the newly formed enamel. The Ca/P ratio for the fluoride sample suggests a calcium deficient phosphate phase, a higher carbonate content and a slightly less crystalline PAH in contrast to the chitosan treatment which showed the closest Ca/P value to healthy enamel (15); this may be due in part, as shown in the study of Ferraz LN et al, to the effect of NaF being apparently modulated by the amount of saliva (13). Observations of the subsurface revealed that chitosan-treated surfaces presented a denser morphology and the absence of the typical prismatic structure than others, implying that remineralization of the subsurface took place by filling the pores present (16). On the other hand, in the study conducted by Arnaud TMS et al. it was observed that the release of phosphorus in the demineralizing solution presented a greater amplitude than the uptake of phosphorus by the remineralizing solution samples. however, the net amount of phosphorus released by the control group samples was significantly higher than that of the groups treated with chitosan (8).

- Bibliografy

- 1) Ramadoss R, Padmanaban R, Subramanian B. Role of bioglass in enamel remineralization: Existing strategies and future prospects—A narrative review. Vol. 110, *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 45–66.
- 2) Lenander-Lumikari M, Loimaranta V. Saliva and dental caries. Vol. 14, *Advances in dental research*. 2000. p. 40–7.
- 3) Robinson C, Shore RC, Brookes SJ, Strafford S, Wood SR, Kirkham J. The chemistry of enamel caries. Vol. 11, *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*. Intern. and American Associations for Dental Research; 2000. p. 481–95.
- 4) Muzzarelli RAA, Muzzarelli C. Chitosan chemistry: Relevance to the biomedical sciences. Vol. 186, *Advances in Polymer Science*. 2005. p. 151–209.
- 5) Nimbeni SB, Nimbeni BS, Divakar DD. Role of chitosan in remineralization of enamel and dentin: A systematic review. Vol. 14, *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. Jaypee Brothers Medical Publishers (P) Ltd; 2021. p. 562–8.
- 6) Suriya I, Gunawan HA, Amir LR. Effect of chitosan on the enamel demineralization process in vitro: An enamel solubility test. In: *Journal of Physics: Conference Series*. Institute of Physics Publishing; 2018.
- 7) Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *International Journal of Surgery*. 2010;8(5):336–41.
- 8) Arnaud TMS, De Barros Neto B, Diniz FB. Chitosan effect on dental enamel de-remineralization: An in vitro evaluation. *J Dent*. 2010;38(11):848–52.
- 9) Zhang J, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. Chitosan-bioglass complexes promote subsurface remineralisation of incipient human carious enamel lesions. *J Dent*. 2019 May 1;84:67–75.
- 10) Zhang J, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. Remineralisation of enamel white spot lesions pre-treated with chitosan in the presence of salivary pellicle. *J Dent*. 2018 May 1;72:21–8.
- 11) Tian K, Peng M, Fei W, Liao C, Ren X. Induced Synthesis of Hydroxyapatite by Chitosan for Enamel Remineralization. In: Chang TH, editor. *SMART TECHNOLOGIES FOR MATERIALS*. 2012. p. 40+. (Advanced Materials Research; vol. 530).
- 12) Deokar KK, Shashikiran N, Maurya A, Gaonkar N, Gugwad S, Hadakar S, et al. Comparative Evaluation of Chitosan Nanoparticles, Silver Diamine Fluoride and Acidulated Phosphate Fluoride Gel on Microhardness of Artificial Carious Lesions Created on Extracted Teeth. *JOURNAL OF CLINICAL AND DIAGNOSTIC RESEARCH*. 2020;
- 13) Ferraz LN, Vieira I, Ambrosano GMB, Lopes MA, Lima DANL. Effect of tooth bleaching and application of different dentifrices on enamel properties under normal and hyposalivation conditions: an in situ study. *Clin Oral Investig*. 2021 Oct 1;25(10):5929–44.
- 14) Mohamed Noaman K, Mohamed Al-Samoly W, Abul-Khair Hassan Al-Hariri A. Evaluation of The Degree of Remineralization of Subclinical Carious Lesions Using Chitosan and Conventional Remineralizing Agents (An in vitro Study) [Internet]. Vol. 78, *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2020. Available from: www.recaldent.co
- 15) Muşat V, Anghel EM, Zaharia A, Atkinson I, Mocioiu OC, Buşilă M, et al. A chitosan–agarose polysaccharide-based hydrogel for biomimetic remineralization of dental enamel. *Biomolecules*. 2021;11(8).
- 16) Zhang J, Boyes V, Festy F, Lynch RJM, Watson TF, Banerjee A. In-vitro subsurface remineralisation of artificial enamel white spot lesions pre-treated with chitosan. *Dental Materials*. 2018 Aug 1;34(8):1154–67.

- 17) Zhang X, Li Y, Sun X, Kishen A, Deng X, Yang X, et al. Biomimetic remineralization of demineralized enamel with nano-complexes of phosphorylated chitosan and amorphous calcium phosphate. *J Mater Sci Mater Med*. 2014 Nov 28;25(12):2619–28.
- 18) Ramamoorthi M, Bakkar M, Jordan J, Tran SD. Osteogenic Potential of Dental Mesenchymal Stem Cells in Preclinical Studies: A Systematic Review Using Modified ARRIVE and CONSORT Guidelines. Vol. 2015, *Stem Cells International*. Hindawi Publishing Corporation; 2015.
- 19) Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. Critical review in oral biology & medicine: New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010 Nov;89(11):1187–97.

-Anexos

Figure 1: Flow chart of this systematic review

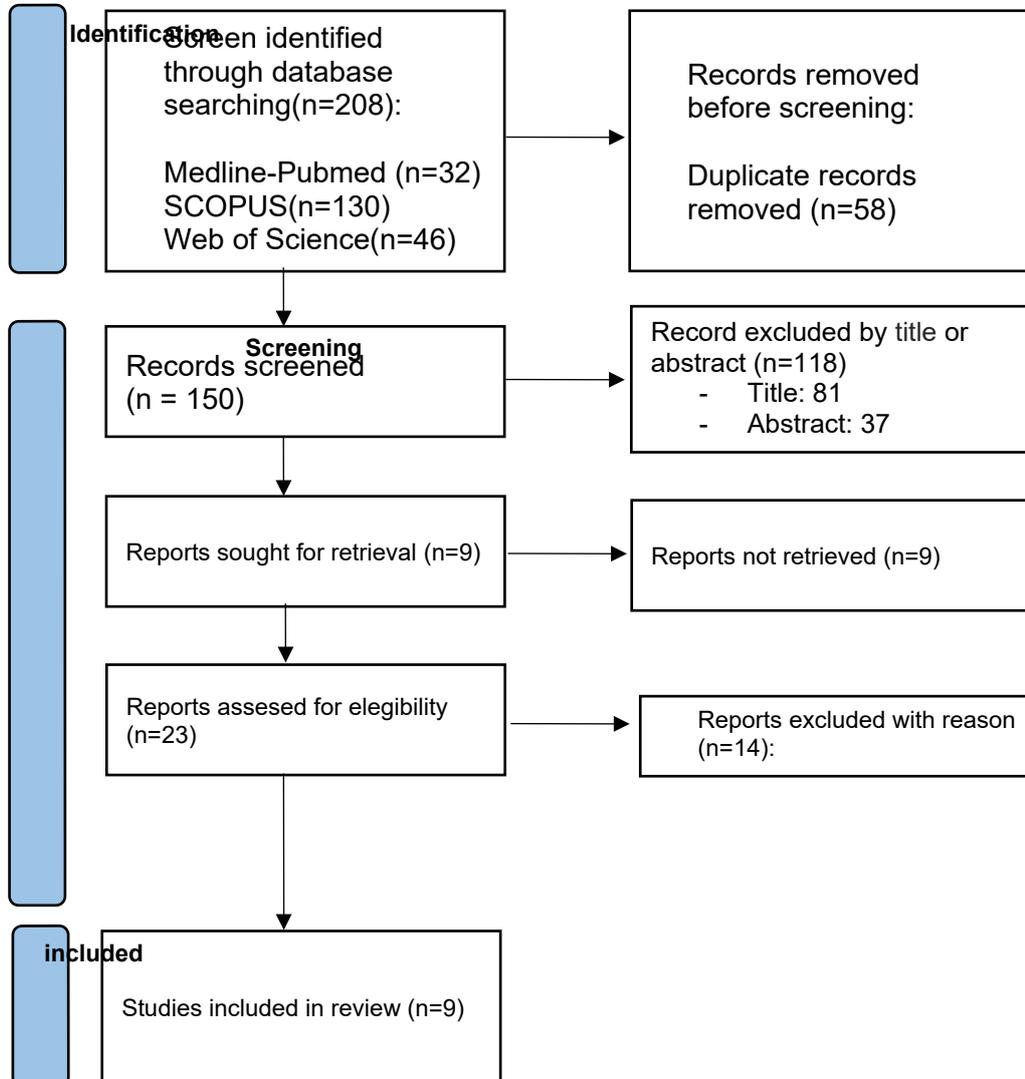


Table 3: Review of clinical studies considered in this systematic review

Article	Interventions	N° samples	Follow-up time	Microhardness assessment	Mineral content assessment
Arnaud TM y cols 2012	Chitosan (2.50 mg/ml)	30 tooth sections	In-situ	Vickers microhardness test (25 gr/10 sec)	/
Ferraz LN y cols 2021	1) Chitosan (5 mg/ml), Stannous chloride, amine fluoride 2) Na/F	24 total tooth sections, 1 for participant (12 male, 12 female)	In-situ	Knoop microhardness test (50 gr/5 sec)	SEM y EDX
Muşat V y cols 2021	1) Chitosan-Agarosa hidrogel 2) Na/f	/	10 days	Vickers microhardness test (100 gr/15 sec)	SEM y EDX
Noaman KM y cols 2020	1) Phosphorylated chitosan [5 mg/ml] and amorphous calcium phosphate 2) NaF	40 total tooth sections	3/6 months	/	EMiSPEC y EDX
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	64 tooth sections	7 days	Knoop microhardness test (10 gr/5 sec)	SEM y EDX
Zhang J y cols 2018	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	48 tooth sections	7 days	Knoop microhardness test (10 gr/5 sec)	SEM

Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50 mg/ml] + Novamine bioglass	66 tooth sections	7 days	Knoop microhardnes s test (10 gr/5 sec)	SEM y EDX
Deokar KK y cols 2020	1) Chitosan [3 mg/ml] 2) Fluorine APF	30 total tooth	28 days	Vickers microhardnes s test (200 gr/15 sec)	/
Tian K y cols 2012	Chitosan [3 mg/ml]	/	In-situ	Knoop microhardnes s test (25 gr/15 sec)	SEM y EDX

Table 4: Risk of bias assessment of the studies in this systematic review

Article	Sample obtained standardized process	Single operator	Sample size calculation	blinding of the testing machine operator	Samples, tests and formula according to specifications	Risk of Bias
Arnaud TM y cols 2012	0	1	1	1	0	Low
Muşat V y cols 2021	0	1	2	1	0	Medium
Deokar KK y cols 2020	0	1	0	1	0	Low
Noaman KM y cols 2020	0	1	0	1	0	Low
Zhang J y cols 2019	0	1	0	2	0	Low
Zhang J y cols 2018	0	1	0	2	0	Low
Zhang J, Boyes V y cols 2018	0	1	0	2	0	Low
Tian K y cols 2012	0	1	2	1	0	Medium
Ferraz LN y cols 2021	0	1	0	0	0	Low

Table 5: Results of microhardness tests of remineralising agents after remineralization cycle using Knopp tester

Article	Material used	Microhardness(HK)
Arnaud TM y cols 2012	Chitosan [2.50]	435 ± 7
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	321.98 ± 5.65
Muşat V y cols 2021	Chitosan-Agarosa hidrogel	216
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 6.5
Zhang J y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	168.8 ± 22.4
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	142.4 ± 28.1
Deokar KK y cols 2020	Chitosan [3]	259.5± 14.9
Tian K y cols 2012	Chitosan [2.50]	119,74
Muşat V y cols 2021	Fluorine NaF	204,2
Ferraz LN y cols 2021	Fluorine NaF	282
Deokar KK y cols 2020	Fluorine APF	238 ± 13,6

Table 6: Measurement of mineral content by SEM and EDX (wt %) after remineralization cycles of the different agents.

remineralization	Material used	Ca	P	Ca/P
Muşat V y cols 2021	Chitosan agarosa hydorgel	/	/	1.64/1.75
Ferraz LN y cols 2021	Chitosan [5]	70.53 ± 0.75	28.29 ± 0.23	2.49 ± 0.03
Noaman KM y cols 2020	Phosphorylate d chitosan [5]	70.99 ± 1.53	29.00 ± 1.53	2.43 ± 0.20
Zhang J y cols 2019	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	/	/	1.69 ± 0.03
Zhang J, Boyes V y cols 2018	Chitosan [2.50] + Novamine bioglass	/	/	1.57 ± 0.04
Muşat V y cols 2021	Fluorine Na/F	/	/	1.29/1.61
Ferraz LN y cols 2021	Fluorine Na/F	69.96 ± 0.78	0.77 ± 0.08	2.49 ± 0.02
Noaman KM y cols 2020	Fluorine Na/F	68.40 ± 1.86	31.60 ± 1,86	2.15 ± 0.17

