

Departamento de Ciencias Morfológicas y

Odontoestomatología

Universidad de Barcelona



Tesis doctoral

**FUNCIÓN DE LAS SUSTANCIAS ANTIOXIDANTES SOBRE
ESMALTE BLANQUEADO CON PERÓXIDO DE HIDRÓGENO
ANTE LA ADHESIÓN INMEDIATA DE COMPOSITOS Y SUS
CAMBIOS ESTRUCTURALES Y MORFOLÓGICOS
SUPERFICIALES**

Einer Villarreal Becerra

Directores: Doctor Ángel Espías Gómez y Luis Alberto Sánchez Soler

Programa Técnicas clínicas en odontoestomatología”

Bienio 2002- 2004

Hoja de autorización

A mis queridos Padres, hermanos y adorados hijos Eduardo y Valeria,

por su cariño inmenso e incesante apoyo, que se convirtieron en el

estímulo de mi constante superación

Agradecimientos

A mi maestro y guía, Profesor Doctor Ángel Fortunato Espías Gómez, director de mi tesis, por su apoyo, impulso y consejo permanentes.

Al profesor doctor Luis Alberto Sánchez Soler por aceptar la codirección de la presente tesis.

Al profesor doctor Ralph Leonard Junior del Departamento de Ciencias Diagnósticas y Odontología General de la Universidad de Carolina del Norte, Estados Unidos; por absolver mis dudas metodológicas.

A los señores Profesores Doctores Ferran Espiell, Mercé Segarra i Rubí y especialmente a la licenciada Mónica Martínez López del centre de Disseny i Optimització de Processos i Materials (DIOPMA), del Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad de Barcelona, por su amistad y apoyo desinteresado y fundamental para la realización del diseño mecánico y químico experimental del presente trabajo.

Al profesor doctor Lluís Jover, del departamento de salud pública, Unidad de Bioestadística de la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona, por su invaluable apoyo en lo concerniente a la parte estadística.

A los doctores Ramón Fonternau, del Servicio de Microscopia Electrónica de Barrido; Lorenzo Calvo, del Servicio de Espectrometría de Fotoelectrones; a la

Dra. Susana Castell y a la licenciada Mónica Roldán de la Unidad de Microscopia Confocal, de los Servicios Científico técnicos del Parque Científico de la Universidad de Barcelona, por su amplia colaboración.

A los señores odontólogos Diana Sánchez Pérez y Guido Cuba Ambía, por su amistad y apoyo permanente.

Al Profesor José Maria Sampaio Menezes Junior, por su invaluable ayuda en la elaboración de la presente tesis.

Al Profesor Doctor Dan Fischer y a los señores Jefferson Hyer y Kevin Bolingbroke, director y ejecutivos de Ultradent Products Inc. Utah, Estados Unidos, por su apoyo permanente. Lo mismo que a sus representantes en España, en especial a las señoras Susana Gallego y Puri braojos.

1	Parte I	11
1.1	El tema.....	11
1.1.1	Introducción	11
1.1.2	Formulación del problema.....	13
1.1.3	Justificación.....	13
1.1.4	Formulación de hipótesis	14
1.1.5	Delimitación de objetivos	14
1.1.5.1	Objetivo general	14
1.1.5.2	Objetivos específicos	15
2	Parte II.....	18
2.1	Revisión de conocimientos.....	18
2.1.1	Esmalte dentario.....	18
2.1.1.1	Generalidades.....	18
2.1.1.2	Propiedades físicas.....	21
2.1.1.2.1	Elasticidad.....	22
2.1.1.2.2	Dureza.....	23
2.1.1.2.3	Tensión a la compresión	25
2.1.1.2.4	Permeabilidad	26
2.1.1.2.5	Radioopacidad.....	26
2.1.1.2.6	Color y percepción del color	27
2.1.1.2.6.1	Las tres dimensiones del color	29
2.1.1.3	Composición química.....	30
2.1.1.3.1	Matriz orgánica	31
2.1.1.3.2	Matriz inorgánica	33
2.1.1.3.3	Agua.....	33
2.1.1.4	Estructura histológica	34
2.1.1.4.1	Unidad estructural básica del esmalte	37
2.1.1.4.1.1	Esmalte prismático	37
2.1.1.4.1.1.1	Morfología de los prismas	37
2.1.1.4.1.1.2	Composición de los prismas.....	39
2.1.1.4.1.1.3	Orientación de los prismas	41
2.1.1.4.1.2	Esmalte aprismático	41
2.1.1.4.2	Unidades estructurales secundarias del esmalte.....	42
2.1.1.4.2.1	Estrías de Retzius	42
2.1.1.4.2.2	Penachos adamantinos o de Linderer	43
2.1.1.4.2.3	Bandas de Hunter-Schreger.....	43
2.1.1.4.2.4	Esmalte nudoso	44
2.1.1.4.2.5	Conexión amelodentinaria	44
2.1.1.4.2.6	Husos adamantinos	45
2.1.1.4.2.7	Periquematias y líneas de imbricación de Pickerill.....	45
2.1.1.4.2.8	Fisuras o surcos del esmalte.....	46
2.1.1.4.2.9	Laminillas o microfisuras del esmalte	46
2.1.1.5	Histología y bioquímica.....	46
2.1.1.5.1	Componente mineral del esmalte calcificado-apatita.....	48
2.1.2	Agentes blanqueadores.....	49
2.1.2.1	Perspectiva histórica	49
2.1.2.2	Clasificación	51
2.1.2.3	Composición.....	52
2.1.2.4	Mecanismo de acción	52
2.1.2.5	Decoloraciones dentarias	53
2.1.2.5.1	Etiología.....	53
2.1.2.5.1.1	Factores extrínsecos	53
2.1.2.5.1.2	Factores intrínsecos preeruptivos	53
2.1.2.5.1.3	Factores intrínsecos poseruptivos	54

2.1.2.6	Clasificación de las técnicas de blanqueamiento	54
2.1.2.6.1	Según el lugar de aplicación	54
2.1.2.6.1.1	Domiciliaria	54
2.1.2.6.1.2	En consulta	55
2.1.2.6.1.3	Combinada	55
2.1.2.6.2	Según el estado pulpar	56
2.1.2.6.2.1	Blanqueamiento de dientes vitales	56
2.1.2.6.2.2	Blanqueamiento de dientes no vitales	56
2.1.2.7	Efectos adversos	56
2.1.2.7.1	En esmalte	56
2.1.2.7.2	En dentina	61
2.1.2.7.3	Sobre los mecanismos de adhesión resina-esmalte	62
2.1.3	Sistemas adhesivos	66
2.1.3.1	Generalidades	66
2.1.3.2	Adhesión: resina a esmalte	67
2.1.3.3	Historia de los adhesivos dentinarios	67
2.1.3.3.1	Adhesivos dentinarios de primera y segunda generaciones	67
2.1.3.3.2	Adhesivos dentinarios de tercera y cuarta generaciones	70
2.1.3.3.3	Adhesivos dentinarios de quinta generación	75
2.1.3.4	Resinas compuestas o composites	75
2.1.3.5	Generalidades	75
2.1.3.6	Componentes	76
2.1.3.6.1	Sistemas de matriz de resina	76
2.1.3.6.1.1	Matriz de MMA	76
2.1.3.6.1.2	Matriz de BISGMA	77
2.1.3.6.1.3	Matriz de TEGDMA	78
2.1.3.6.2	Agentes de unión	78
2.1.3.6.3	Relleno	80
2.1.3.6.3.1	Macrorrelleno	81
2.1.3.6.3.2	Microrrelleno	82
2.1.3.6.3.3	Híbridos	83
2.1.3.7	Polimerización	83
2.1.3.7.1	Sistema activador-iniciador	83
2.1.3.7.2	Sistemas de inhibición	85
2.1.4	Proceso de oxidación celular	86
2.1.4.1	Generalidades	86
2.1.4.2	Radicales libres	87
2.1.4.2.1	Especies reactivas del oxígeno	88
2.1.4.2.2	Radicales libres en fisiopatología	89
2.1.4.3	Antioxidantes	91
2.1.4.3.1	Clasificación	92
2.1.4.3.1.1	Compuestos enzimáticos	93
2.1.4.3.1.1.1	Superóxido-Dismutasa	93
2.1.4.3.1.1.2	Catalasa	93
2.1.4.3.1.1.3	Peroxidasa	93
2.1.4.3.1.2	Condiciones inherentes en las reacciones enzimáticas	94
2.1.4.3.1.2.1	El efecto de la concentración de la enzima	94
2.1.4.3.1.2.1.1	El efecto de la temperatura	94
2.1.4.3.1.2.1.2	El efecto del pH	94
2.1.4.3.1.2.2	Compuestos no enzimáticos	95
2.1.4.3.1.2.2.1	Vitamina E	95
2.1.4.3.1.2.2.2	Vitamina C	95
2.1.4.3.1.2.2.3	β - caroteno	95
3	Parte III	96
3.1	Desarrollo y estudio de la hipótesis	96
3.1.1	Materiales y métodos	96
3.1.1.1	Fuerza adhesiva tensional y visualización de la penetración de los "tags" de resina por medio de microscopía confocal y electrónica de barrido	96

3.1.1.1.1	Preparación de la muestra.....	96
3.1.1.1.2	Diseño experimental	99
3.1.1.1.3	Materiales de blanqueamiento, sustancias antioxidantes y placebo 103	
3.1.1.1.4	Procedimientos adhesivos	103
3.1.1.1.5	Preparación del sistema adhesivo/ fluorocromo Rodamina B	104
3.1.1.1.6	Evaluación de la fuerza adhesiva tensional	105
3.1.1.1.7	Evaluación por Microscopia Confocal de la penetración de los “tags” de resina	106
3.1.1.1.8	Evaluación por microscopia electrónica de barrido de la penetración de los “tags” de resina	107
3.1.1.2	Análisis químico cuantitativo (estructural) y morfológico superficial del esmalte	109
3.1.1.2.1	Preparación de la muestra.....	109
3.1.1.2.2	Diseño experimental	110
3.1.1.2.2.1	Ensayo 1.....	110
3.1.1.2.2.2	Ensayo 2.....	112
3.1.1.2.3	Materiales de blanqueamiento, sustancias antioxidantes y placebo para muestras del ensayo 1	114
3.1.1.2.4	Solución experimental y placebo para muestras del ensayo 2	114
3.1.1.2.5	Preparación de disoluciones antioxidantes para ambos diseños experimentales	114
3.1.1.2.5.1	Enzimáticas.....	114
3.1.1.2.5.1.1	Peroxidasa.....	114
3.1.1.2.5.1.2	Catalasa	115
3.1.1.2.5.2	No enzimáticas	116
3.1.1.2.5.2.1	Ascorbato de sodio	116
3.1.1.2.6	Análisis químico cualitativo de la superficie del esmalte	117
3.1.1.2.6.1	Espectrometría de fotoelectrones (Esca-XP)	117
3.1.1.2.7	Análisis morfológico de la superficie de esmalte	118
3.1.1.2.7.1	Microscopia confocal por reflexión	118
3.1.1.3	Análisis estadístico.....	119
3.1.2	Resultados	120
3.1.2.1	Valores de fuerza adhesiva tensional por grupos	120
3.1.2.1.1	Grupo 1. Peróxido de hidrógeno/ascorbato de sodio	120
3.1.2.1.2	Grupo 2. Peróxido de hidrógeno/peroxidasa	120
3.1.2.1.3	Grupo 3. Peróxido de hidrógeno/catalasa	121
3.1.2.1.4	Grupo 4. Peróxido de hidrógeno/agua	122
3.1.2.1.5	Grupo 5. Control	122
3.1.2.2	Análisis estadístico de los valores de fuerza adhesiva tensional por grupos	123
3.1.2.3	Estadística descriptiva	124
3.1.2.4	Prueba de normalidad.....	125
3.1.2.4.1	Prueba de Kolmogorov-Smirnov	125
3.1.2.4.2	Gráficos estadísticos	126
3.1.2.4.2.1	Gráfico de cajas	126
3.1.2.4.2.2	Gráficos Q-Q plot	127
3.1.2.5	Pruebas no Paramétricas	130
3.1.2.5.1	Prueba de Kruskal-Wallis	130
3.1.2.5.2	Pruebas de Mann-Whitney.....	131
3.1.2.5.2.1	Entre los grupos 1 y 5.....	131
3.1.2.5.2.2	Entre los grupos 2 y 5.....	132
3.1.2.5.2.3	Entre los grupos 3 y 5.....	133
3.1.2.5.2.4	Entre los grupos 4 y 5.....	134
3.1.2.6	Análisis cuantitativo y cualitativo de la penetración de los “tags” de resina compuesta	135
3.1.2.6.1	Cuantitativo	135
3.1.2.6.1.1	Grupo 1. Peróxido de hidrógeno/ascorbato de sodio	135
3.1.2.6.1.2	Grupo 2. Peróxido de hidrógeno/peroxidasa	137
3.1.2.6.1.3	Grupo 3. Peróxido de hidrógeno/catalasa	139

3.1.2.6.1.4	Grupo 4. Peróxido de hidrógeno/agua.....	141
3.1.2.6.1.5	Grupo 5. Control.....	143
3.1.2.6.2	Cualitativo	146
3.1.2.6.2.1	Grupo 1. Peróxido de hidrógeno/ascorbato de sodio	146
3.1.2.6.2.2	Grupo 2. Peróxido de hidrógeno/peroxidasa	149
3.1.2.6.2.3	Grupo 3. Peróxido de hidrógeno/catalasa	152
3.1.2.6.2.4	Grupo 4. Peróxido de hidrógeno/agua.....	155
3.1.2.6.2.5	Grupo 5. Control.....	158
3.1.2.7	Análisis químico cuantitativo y morfológico superficial de esmalte.....	159
3.1.2.7.1	Químico cuantitativo	159
3.1.2.7.2	Análisis de datos	159
3.1.2.7.3	Análisis de ensayos	160
3.1.2.7.3.1	Ensayo 1.....	160
3.1.2.7.3.2	Ensayo 2.....	162
3.1.2.7.4	Análisis de ratios	163
3.1.2.7.5	Representación gráfica de la concentración porcentual de elementos químicos detectados por grupos	163
3.1.2.7.5.1	Ensayo 1.....	163
3.1.2.7.5.2	Ensayo 2.....	167
3.1.2.8	Análisis morfológico superficial.....	168
3.1.3	Discusión.....	173
3.1.3.1	Con respecto a fuerza adhesiva tensional y penetración de “tags” de resina	173
3.1.3.2	A fuerza adhesiva tensional.....	173
3.1.3.3	A penetración de “tags” de resina	177
3.1.3.3.1	Análisis cuantitativo	177
3.1.3.3.2	Análisis cualitativo	179
3.1.3.4	Con respecto al análisis químico cuantitativo (estructural) y morfológico superficial del esmalte	180
3.1.3.4.1	A química estructural del esmalte	180
3.1.3.4.2	A morfología superficial	182
4.	Parte IV	185
4.1	Conclusiones.....	185

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

/	dividido entre
<	menor que
=	igual a
>	mayor que
±	más o menos
≤	igual o menor que
≥	igual o mayor que
μm	micrón, micrómetro
ADA	Asociación Dental Americana
BISGMA	Bisfenol- A glicidilmetacrilato
C	carbono
Ca	calcio
CAD	conexión amelodentinaria
F	flúor
Gpa	gigapascal
H	hidrógeno
HCl	ácido clorhídrico
HEMA	hidroxietil- metacrilato
KHN	número de dureza Knoop
MEB	microscopio electrónico de barrido
MET	microscopio electrónico de transmisión
mg	miligramo
ml	mililitro
mm	milímetro
MMA	metilmetacrilato
mmol	milimol
MO	microscopio óptico
Mpa	megapascal
N	nitrógeno
Na	sodio
nm	nanómetro
NPGGMA	n- fenil- glicina- glicidil- metacrilato
O	oxígeno
P	fósforo
pH	concentración de iones de hidrógeno
ppm	partes por millón
S	azufre
Si	silicio
Sn	estaño
TEGDMA	trietilenglicol- dimetacrilato
Torr	torricelli
UI	unidades internacionales
VHN	número de dureza Vickers
Zn	zinc

Parte I

1.1 El tema

1.1.1 Introducción

Estética por definición, es la ciencia de la belleza: aquel detalle particular de uno objeto animado o inanimado que lo hace agradable a la vista. A través de la historia, los criterios de belleza han sido influenciados por la cultura y el ambiente.¹

Antiguamente en Asia, los dientes eran intencionalmente manchados de negro o incrustados con piedras preciosas como signos de nobleza. Hoy en día en las tribus primitivas de África, el tono rojo, naranja o negro de los dientes es considerado decorativo. Sin embargo en la conciencia mundial de la civilización estéticamente moderna, dientes bien contorneados y alineados marcan el estándar de la belleza. Los dientes no sólo son considerados parte del atractivo, son también indicadores de salud nutricional, autoestima, higiene, nivel económico y sexualidad. Como resultado, existe una paranoia por la reacción social ante la decoloración dentaria o anomalía en la posición de los dientes anteriores. La realidad de este estrés psicológico se ve soportado por la existencia de billones de dólares de inversión en la industria de dentífricos dentales.¹

A través de la historia, los dentistas han tenido concentrado sus esfuerzos en el alivio del dolor y en la restauración de la función. Sólo recientemente se ha enfocado la atención hacia la cosmética, como una disciplina odontológica especial. Con la era de los avances tecnológicos, nuevos materiales y nuevas técnicas están surgiendo. ¹

Hoy en día los pacientes tienen la posibilidad de optar por técnicas conservadoras para evitar el desgaste innecesario de las piezas dentarias, para ser recubiertas por coronas ceramo- metálicas. El blanqueamiento es un procedimiento simple, efectivo y relativamente sencillo para el mejoramiento de la apariencia dental. ² Sin embargo, la seguridad de los mismos radicarán en el uso bajo supervisión profesional. Actualmente han aparecido en el mercado numerosas formulaciones de productos para blanqueamiento dental que carecen de soporte científico y que pueden ser aplicados por el paciente sin necesidad de una consulta con un profesional, esto conjuntamente con el uso inadecuado de los mismos puede conllevar a la aparición de alteraciones de diverso tipo, tanto a nivel de tejidos dentales como, de tejidos blandos circundantes.

Hay controversia en cuanto a los efectos de los agentes de blanqueamiento sobre los tejidos duros y blandos orales, pero si hay consenso en cuanto a que un uso racional y responsable de los mismos, así como la elección de productos sometidos a investigación rigurosa, son los parámetros que nos asegurarán los éxitos en el tratamiento, que conlleven a la ausencia o minimización de los posibles efectos adversos.

1.1.2 Formulación del problema

Actualmente existe una gran demanda por parte de la gente de los tratamientos de tipo estético, dentro de estos el blanqueamiento dental.³ Sin embargo, éste tipo de tratamiento odontológico viene siendo aplicado desde el año 1864 a la fecha, con la utilización de diversos agentes químicos, muchas veces con los resultados no esperados, por el contrario, con alteraciones considerables a nivel de tejidos duros y blandos.⁴ Hace poco más de una década se viene usando el peróxido de carbamida en diversas formulaciones para su uso domiciliario en unas férulas especiales y por un tiempo determinado. Este peróxido de carbamida, junto con el peróxido de hidrógeno, vienen siendo los agentes blanqueadores más usados en la actualidad en blanqueamiento dental, ya sea mediante la técnica domiciliaria o de consulta.⁵ Han aparecido en el mercado numerosas formulaciones de productos para blanqueamiento, muchas veces sin el respaldo de estudios de investigación, incluso que pueden ser usados por el paciente sin la necesidad de supervisión profesional y esto está conllevando al abuso en cuanto a su utilización, ignorando los posibles efectos adversos sobre los tejidos orales, duros y blandos. Además de afectar adversamente la unión de composites a esmalte, sobre todo si son realizadas inmediatamente después del blanqueamiento.

1.1.3 Justificación

El presente estudio tendrá una gran implicancia clínica , porque comprende la utilización de diversas sustancias antioxidantes, ya sea de tipo enzimático como: peroxidasa y catalasa, o no enzimático, como el ascorbato de sodio en dientes posblanqueamiento, para lograr la eliminación completa del peróxido residual contenido en las estructura adamantina, que pueda permitirnos efectuar restauraciones de composite en dientes inmediatamente después del blanqueamiento, a la vez que nos permita proteger la estructura del esmalte de los posibles efectos adversos de los agentes de blanqueamiento.

1.1.4 Formulación de hipótesis

La aplicación de sustancias antioxidantes posblanqueamiento mejora la adhesión inmediata de resinas compuestas a esmalte y lo protege morfológica y estructuralmente, *in vitro*.

1.1.5 Delimitación de objetivos

1.1.5.1 Objetivo general

- Determinación del grado de adhesión inmediata de resinas compuestas a esmalte dentario expuesto a agentes de blanqueamiento en base a peróxido de hidrógeno, con y sin aplicación de sustancias antioxidantes.

- Determinación de las características estructurales y morfológicas del esmalte expuesto a agentes de blanqueamiento en base a peróxido de hidrógeno, con y sin aplicación de sustancias antioxidantes.

1.1.5.2 Objetivos específicos

- Determinación cuantitativa del grado de adhesión, por medio de la medición de fuerza adhesiva tensional y cuantitativa- cualitativa de la penetración de los “tags” del composite al esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno.
- Determinación cuantitativa del grado de adhesión, por medio de la medición de fuerza adhesiva tensional y cuantitativa- cualitativa de la penetración de los “tags” del composite al esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno, previamente tratado con la aplicación de la enzima antioxidante peroxidasa.
- Determinación cuantitativa del grado de adhesión, por medio de la medición de fuerza adhesiva tensional y cuantitativa- cualitativa de la penetración de los “tags” del composite al esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno, previamente tratado con la aplicación de la enzima antioxidante catalasa.
- Determinación cuantitativa del grado de adhesión, por medio de la medición de fuerza adhesiva tensional y cuantitativa- cualitativa de la penetración de los “tags” del composite al esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno, previamente tratado con la aplicación de una sustancia no enzimática, ascorbato de sodio.

- Comparación cuantitativa de la fuerza adhesiva tensional y cuantitativa-cualitativa de la penetración de los “tags” del composite entre los diversos grupos.

- Determinación cuantitativa de los cambios químicos, y cualitativa de las variaciones morfológicas en esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno.

- Determinación cuantitativa de los cambios químicos y cualitativa de las variaciones morfológicas en esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno, previamente tratado con la aplicación de la enzima antioxidante, peroxidasa.

- Determinación cuantitativa de los cambios químicos y cualitativa de las variaciones morfológicas en esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno, previamente tratado con la aplicación de la enzima antioxidante, catalasa.

- Determinación cuantitativa de los cambios químicos, y cualitativa de las variaciones morfológicas en esmalte blanqueado con peróxido de hidrógeno, previamente tratado con la aplicación de una sustancia no enzimática, ascorbato de sodio.

- Comparación cuantitativa de los cambios químicos, y cualitativa de las variaciones morfológicas entre los diversos grupos.

2 Parte II

2.1 Revisión de conocimientos

2.1.1 Esmalte dentario

2.1.1.1 Generalidades

La mayoría de los tejidos calcificados del cuerpo pueden ser clasificados como tejidos conectivos, es decir, un tejido con unas cuantas células dispersas en una matriz extracelular relleno los espacios entre las fibras proteicas. En los tejidos conectivos blandos la matriz se enlaza al fluido extracelular, pero en los tejidos conectivos duros las sales de calcio insolubles permanecen bajo la matriz y sólo quedan pequeñas cantidades de fluido extracelular. Los tejidos conectivos en general se originan en el mesoderma: hueso, cemento y dentina y únicamente el esmalte dental tiene origen ectodermal. ⁶

Los tejidos de origen mesodermal tienen todos los componentes de un tejido conectivo calcificado: células que sintetizan matriz y fibras de proteínas y transportan calcio y fósforo al tejido en formación, cristales de hidroxiapatita con bajo contenido en calcio, fibras de colágeno principalmente y entre ellos los componentes de la matriz. No obstante el esmalte, de origen ectodermal, es altamente calcificado: no existiendo red de fibras en él; su matriz única, ocupa sólo el 2% de su volumen, apareciendo como un retículo fino cuando el tejido es descalcificado. ⁶

El esmalte es llamado también tejido adamantino o sustancia adamantina, cubre a manera de casquete a la dentina en su porción coronaria ofreciendo protección al tejido conectivo subyacente integrado en el isosistema dentino- pulpar.⁷

Es el tejido más duro del organismo debido a que está estructuralmente constituido por millones de prismas altamente mineralizados que lo recorren en todo su espesor, desde la conexión amelodentinaria (CAD) a la superficie externa o libre en contacto con el medio bucal.⁷

La dureza del esmalte se debe a que posee un porcentaje muy elevado (95%) de matriz inorgánica y muy bajo (0.36- 2%) de matriz orgánica. Los cristales de hidroxiapatita constituidos por fosfato de calcio representan el componente inorgánico del esmalte. Existen sin embargo, una serie de características que hacen del esmalte un tejido único. Dichas características son las siguientes:⁷

- Embriológicamente deriva del órgano del esmalte, de naturaleza ectodérmica, que se origina de una proliferación localizada del epitelio bucal.
- La matriz orgánica del esmalte es de naturaleza proteica con agregado de polisacáridos y en su composición química no participa el colágeno.
- Los cristales de hidroxiapatita del esmalte se hallan densamente empaquetados y son de mayor tamaño que los de los otros tejidos mineralizados. Los tejidos son susceptibles (solubles) a la acción de los

ácidos constituyendo estas características el sustrato químico que da origen a la caries dental.

- Las células secretoras del tejido adamantino, los ameloblastos (que se diferencian a partir del epitelio interno del órgano del esmalte), tras completar la formación del esmalte, involucionan y desaparecen durante la erupción dentaria por un mecanismo de apoptosis. Esto implica que no hay crecimiento ni nueva aposición de esmalte después de la erupción.
- El esmalte maduro no contiene células ni prolongaciones celulares. Por ello actualmente no se le considera como un “tejido”, sino como una sustancia extracelular altamente mineralizada. Las células que le dan origen, no quedan incorporadas a él y por ello el esmalte es una estructura acelular, avascular y sin inervación.
- El esmalte frente a una noxa, reacciona con pérdida de sustancia siendo incapaz de repararse, es decir, no posee poder regenerativo como sucede en otros tejidos del organismo, aunque puede darse en él, un fenómeno de remineralización.

El esmalte por su superficie externa está en relación directa con el medio bucal. En los dientes erupcionados está tapizado por una película primaria (última película de la secreción ameloblástica) que ejerce una función protectora, pero desaparece al entrar el elemento dentario en oclusión, suele persistir temporalmente a nivel cervical. Posteriormente se cubre con una película secundaria exógena de origen salival (película adquirida) y por fuera de ésta o formando parte de la misma, se forma la placa dental a expensas de

los gérmenes habituales de la cavidad bucal. Esta placa adherida a la superficie del diente puede colonizarse con microorganismos patógenos (placa bacteriana) uno de los factores principales que conduce a la caries dental.⁷

Por la superficie interna se relaciona con la dentina por medio de la conexión amelodentinaria (CAD). A nivel cervical el espesor del esmalte es mínimo y se relaciona con el cemento pudiendo hacerlo de varias maneras, denominados casos de Choquet.⁷

En el cuello dentario, el esmalte se relaciona con la encía por medio de la unión dentogingival.⁷

El espesor del esmalte, que es la distancia comprendida entre la superficie libre y la CAD, no es constante y varía en las distintas piezas dentarias y en el seno de un mismo diente. En general, el espesor decrece desde el borde incisal o cuspídeo hacia la región cervical. Presenta mayor espesor por vestibular que por lingual, el mayor espesor se encuentra a nivel mesial. Su espesor máximo (2- 3mm) se da en las cúspides de molares y premolares, e el borde incisal de incisivos y caninos superiores, zonas de grandes impactos masticatorios.⁷

2.1.1.2 Propiedades físicas

Se han medido muchas de las propiedades mecánicas de la estructura del diente humano (tabla 1), pero los valores varían considerablemente de un estudio a otro, atribuidos posiblemente a los problemas técnicos relacionados

con la preparación y prueba de la muestra, muchas veces muy diminutas, las cuales en algunos casos miden menos de 1mm de longitud. ⁷

Las propiedades del esmalte varían según su posición en el diente, siendo más fuerte el esmalte de la cúspide que el de los lados del diente. Así mismo las propiedades varían según la estructura histológica (microscópica). Por ejemplo, el esmalte es más fuerte bajo compresión longitudinal que cuando es sometido a compresión lateral. Por otra parte, las propiedades de la dentina al parecer son independientes de la estructura, sin importar la dirección de la tensión de compresión. ⁷

2.1.1.2.1 Elasticidad

La elasticidad del esmalte es muy escasa pues depende de la cantidad de agua y de sustancia orgánica que posee. Por ello es un tejido frágil, con tendencia a las macro y microfracturas, cuando no tiene un apoyo elástico dentinario. Es importante tenerlo en cuenta al tallar las paredes cavitarias: que no queden sin el soporte dentinario correspondiente. Los valores medios del módulo elástico de Young (capacidad elástica de un material o deformación que sufre al incidir sobre él una fuerza), son de $87,5 \pm 2,2$ y $72,7 \pm 4,5$ GPa cuando las determinaciones se realizan en paralelo o en perpendicular al eje de los prismas. La elasticidad es mayor en la zona del cuello y vaina de los prismas por el mayor contenido en sustancia orgánica. También se han medido las propiedades elásticas de la estructura del diente. La dentina es considerablemente más fuerte a la tensión (50MPa) que el esmalte (10 MPa). ⁷

2.1.1.2.2 Dureza

El término dureza es difícil de definir. En mineralogía, la dureza relativa de una sustancia depende de su capacidad para resistir al rayado. En metalurgia y muchas otras disciplinas, el concepto de dureza más generalmente aceptado es el de “resistencia a la mella”. Según este precepto se designa en la actualidad a la mayor parte de las pruebas de dureza.^{8,9}

Las muescas producidas en la superficie de un material debido a una fuerza aplicada por una punta filosa o la partícula de un abrasivo se debe a la interacción de numerosas propiedades. Entre las principales que se relacionan con la dureza de un material se encuentran resistencia, límite proporcional y ductilidad.⁸

El conocimiento de la dureza de los materiales es útil para el ingeniero y contienen información valiosa para el odontólogo. Las pruebas de dureza se incluyen en numerosas especificaciones de la asociación dental americana (ADA) para los materiales dentales. Hay diversos tipos de pruebas de dureza de superficie. La mayor parte dependen de la capacidad de la superficie del material para resistir la penetración por una punta bajo una carga específica. Las pruebas a menudo para determinar la dureza de los materiales se conocen por los nombres de Barcol, Brinell, Rockwell, Shore, Vickers y Knoop. La elección de la prueba debe ser determinada por el material que se va a medir.⁸

Las pruebas Brinell y Rockwell, se utilizan más para determinar la dureza de los metales, mas no para materiales frágiles.⁸

La prueba de dureza Vickers emplea los mismos principios de la Brinell. Sólo que utilizando un diamante con la forma cuadrada de la base de una pirámide bajo una carga determinada sobre una superficie pulida, el método para calcular el número de dureza Vickers (VHN) es similar al Brinell, en el cual la carga se divide por el área proyectada de la muesca. Las longitudes de las diagonales de la muesca se miden y se promedian.⁸

La prueba de Vickers se emplea en las especificaciones de la ADA para aleaciones de oro de vaciados dentales. La prueba es apropiada para determinar la dureza de los materiales frágiles; por lo tanto, se ha usado para medir la dureza de la estructura del diente.⁸

La prueba de dureza Knoop usa una herramienta con muescas de diamante que hacen cortes de configuración geométrica. La impresión es rómbica en el contorno y se mide la longitud de la diagonal más larga. El área proyectada se divide por la carga para obtener el número de dureza Knoop (KHN). Cuando se hace la muesca y enseguida se quita el marcador, la forma del marcador de Knoop causa recuperación elástica de la impresión proyectada que ocurre principalmente en la diagonal más corta. Por lo tanto, las tensiones se distribuyen en tal forma que sólo las de menor eje se someten a carga por relajación.⁸

Las pruebas Knoop y Vickers se clasifican como pruebas de microdureza, en comparación con las de Brinell y Rockwell. Tanto la prueba de

Knoop como la de Vickers emplean cargas menores de 9,8N. Las escotaduras resultantes son muy pequeñas y se limitan a una profundidad menor de 19µm. Por lo tanto se puede medir la dureza en regiones pequeñas de objetos muy delgados.⁸

Los valores de dureza Knoop normales para esmalte intacto están entre 300 y 350 Kg./mm². Este método es usado experimentalmente para determinar el grado de descalcificación y remineralización de los especímenes de esmalte bajo diferentes condiciones, como la dureza es una buena medida del contenido de apatita. La dureza en general nos da una idea de la resistencia de un tejido al desgaste o abrasión.⁸

El esmalte dental es el tejido más fuerte del organismo humano, formado por cristales de apatita dispuestos en columnas los cuales se extienden desde la unión amelodentinal hasta la superficie del esmalte de manera casi perpendicular. Esas columnas fueron denominadas prismas. Pero su forma en sección cruzada es denominada barra.⁶

La dureza del esmalte depende del soporte dentinario que presente, de allí la recomendación de remover prismas sin soporte dentinario durante la preparación de cavidades.⁸

2.1.1.2.3 Tensión a la compresión

La tensión a la compresión del esmalte es aproximadamente 300MN/m².

2.1.1.2.4 Permeabilidad

La permeabilidad es extremadamente escasa y se ha visto mediante marcadores radioactivos o radioisótopos que el esmalte puede actuar como una membrana semipermeable, permitiendo la difusión de agua y de algunos iones presentes en el medio bucal. ⁷

Se ha sugerido que existen vías submicroscópicas de transporte molecular, el agua actuaría como agente transportador de iones en la matriz adamantina. Se aprovecha este sistema submicroscópico e poros para llevar a cabo el primer nivel de prevención, con el aporte de fluoruros por topicaciones, geles o pastas fluoradas. ⁷

Otras investigaciones nos aportan que el esmalte posee la propiedad de una captación continua de ciertos iones o moléculas existentes en la saliva. Esto sólo ocurre en un pequeño espesor de la superficie (30 µm), mecanismo conocido como remineralización. ⁷

2.1.1.2.5 Radioopacidad

(Oposición al paso de los rayos Roentgen): es muy alta en el esmalte, ya que es la estructura más radioopaca del organismo humano por su alto grado de mineralización. En radiografías dentales aparece como un capuchón blanco y en ellas las zonas afectadas por caries son detectables por tener disminuida la radioopacidad (se observa una radiolucidez de tonalidad gris oscura), debido a la alteración y descalcificación del área afectada. ⁷

Propiedad	Descripción
Elasticidad.	Su elasticidad es muy escasa pues depende de la cantidad de agua y de sustancia orgánica que posee. Los valores medios del módulo elástico de Young (capacidad elástica de un material o deformación que sufre al incidir sobre él una fuerza), son de 87,5 +/- 2,2 y 72,7 +/- 4,5 GPa cuando las determinaciones se realizan en paralelo o en perpendicular al eje de los prismas. La dentina es considerablemente más fuerte a la tensión (50mpa) que el esmalte (10 MPAA).
Dureza	El término dureza es difícil de definir. En mineralogía, la dureza relativa de una sustancia depende de su capacidad para resistir al rayado. En metalurgia y muchas otras disciplinas, el concepto de dureza más generalmente aceptado es el de "resistencia a la mella". Según este precepto se designa en la actualidad a la mayor parte de las pruebas de dureza.
Tensión a la compresión	La tensión a la compresión del esmalte es aproximadamente 300mn/m2.
Permeabilidad	La permeabilidad es extremadamente escasa y se ha visto mediante marcadores radioactivos o radioisótopos que el esmalte puede actuar como una membrana semipermeable, Otras investigaciones nos aportan que el esmalte posee la propiedad de una captación continua de ciertos iones o moléculas existentes en la saliva. Esto sólo ocurre en un pequeño espesor de la superficie (30um), mecanismo conocido como remineralización.
Radiopacidad	(Oposición al paso de los rayos roentgen): es muy alta en el esmalte, ya que es la estructura más radiopaca del organismo humano por su alto grado de mineralización.

Tabla 1. Cuadro resumen de las propiedades físicas del esmalte.

2.1.1.2.6 Color y percepción del color

Luz es la radiación electromagnética que puede ser detectada por el ojo humano. El ojo es sensible a longitudes de onda de unos 400nm (violeta) a 700nm (rojo). La intensidad de la luz reflejada y las intensidades combinadas de las longitudes de onda presentes en un rayo de luz determinan las propiedades aparentes (matiz, valor y color). Para que un objeto sea visible, debe reflejar o transmitir la incidencia de la luz desde una fuente externa. Este último es el caso que interesa en odontología. La incidencia de la luz de ordinario es policromática, esto es, algunas mezclas de varias longitudes de onda. La incidencia de la luz es absorbida o disipada selectivamente, o ambos casos, a ciertas longitudes de onda. La distribución del espectro de luz transmitida o reflejada se parece a la luz incidente, aunque ciertas longitudes de onda son reducidas en magnitud. ⁸

El fenómeno de la visión, y cierta terminología, pueden ser ilustrados si se considera la respuesta del ojo humano a la luz que proviene de un objeto. La luz de un objeto que incide en el ojo es enfocada en la retina y convertida a impulsos nerviosos que son transmitidos al cerebro. Las células cónicas de la retina se encargan de la visión del color. Estas células tienen un umbral de intensidad requerido para la visión del color y también muestran una curva de reacción relacionada con la longitud de onda de la incidencia de la luz. El ojo es más sensible a la luz en la región verde- amarillo (longitud de onda 550nm) y menos sensible en el extremo opuesto, esto es, rojo- azul. ⁸

Debido a que la respuesta neural implica la visión del color, la estimulación constante por un solo color puede causar fatiga del color y disminuir la respuesta del ojo. Las señales de la retina son procesadas por el cerebro para producir percepción psicofisiológica del color. Los defectos de ciertas porciones de los receptores sensibles al color tienen como resultado diferentes tipos de ceguera al color y, por lo tanto, en muchas personas varía notablemente su capacidad para distinguir colores. En sentido científico, el ojo humano debiera compararse a un colorímetro diferencial excepcionalmente sensible, instrumento científico que mide la intensidad y la longitud de onda de la luz. Aunque el colorímetro es más preciso que el ojo humano para medir ligeras diferencias de los objetos de color, puede ser demasiado impreciso cuando se usa sobre superficies curvas o rugosas. El ojo es capaz de diferenciar entre dos colores vistos de un lado y otro sobre superficies lisas o irregulares, sean curvas o planas. ⁸

2.1.1.2.6.1 Las tres dimensiones del color

Las descripciones verbales del color no son precisas para describir el aspecto del diente. Para describir el color café púrpura o “morado”, el diccionario Webster internacional define la palabra como “rojo oscuro, que es más amarillento y menos fuerte que el arándano, más pálido y ligeramente más amarillento que el granate promedio, más azul, menos fuerte y ligeramente más claro que el granada, y más azul y más pálido que el vino promedio”.

Esta definición es demasiado compleja para describir el color de una corona dental al técnico de laboratorio. El New Webster’s Dictionary and Thesaurus describe morado como púrpura café. Por lo tanto una descripción escrita no es clara y resulta ambigua para percibir el color. Para describir con precisión nuestra percepción de un haz de luz reflejado en el diente o la superficie de restauración deben considerarse tres variables.⁸ Cuantitativamente el color y el aspecto deben describirse en tres dimensiones: tono o matiz, valor y color. *Tono*, describe el color dominante de un objeto, por ejemplo, rojo, verde o azul. Esto se refiere a las longitudes de onda dominantes presentes en la distribución del espectro. La continuidad de estos tonos crea el color sólido. El *valor* se incrementa hacia arriba (más blanco) y disminuye hacia abajo (más oscuro o más negro)^{8,9}, existiendo una escala de 1 a 10 con 1= negro y 10= blanco. Los dientes naturales tienen generalmente gran valor, en el rango de 6 a 8 para la mayoría de la población.⁹

Los dientes y otros objetos pueden separarse en matices o sombras más claras (de valor más alto) y matices más oscuros (de valor más bajo). Por ejemplo el amarillo de un limón es más claro que el rojo de una cereza. Para que ocurra difusión y refracción de la luz en un objeto, como el diente o una corona dental, o reflejo luminoso, valor es la claridad u oscuridad de un color, que puede ser medida independientemente del tono. ⁹

El color amarillo de un limón es más “vivo” que el de un plátano, que es “pálido”. Esta es la diferencia en la intensidad o fuerza del color. El *color* representa el grado de saturación de un tono particular. Conforme el valor varía verticalmente, el color cambia en forma radial. Los colores centrales son pálidos (gris). En otras palabras, cuanto más alto el color resulta más intenso. No puede existir color por sí mismo sino que siempre se asocia a tono y valor. El sistema de ajuste del color en la televisión depende de estos principios. ⁸

Hay diferentes sistemas disponibles para la medición del color, los más populares son el de Munsell (sistema visual) y el CIE (sistema espectrofotométrico). El sistema CIE usa un equipamiento que define que mucho rojo, azul y amarillo contienen ciertos objetos. Rojo, azul y amarillo son referidos como colores primarios porque algún color puede ser hecho con adiciones correctas de cantidades de colores primarios. ⁹

2.1.1.3 Composición química

El esmalte está constituido químicamente por una matriz orgánica (1-2%), una matriz inorgánica (95%) y agua (3-5%).^{7,8}

2.1.1.3.1 Matriz orgánica

El componente orgánico más importante es de naturaleza proteica, y constituye un complejo sistema de multiagregados polipeptídicos que, en general, no han sido, todavía caracterizados de forma definitiva. La dificultad es debida a las contaminaciones que se producen al tratar de separar o aislar la porción orgánica del esmalte, de la dentina. Mediante distintas técnicas de fraccionamiento, electroforesis, separación y extracción, diversos autores han postulado la existencia de distintas proteínas con diferente peso molecular y propiedades. Entre las proteínas presentes en mayor o menor medida en la matriz orgánica del esmalte, en las distintas fases de su formación destacan: ^{7,8} (tabla 2)

Amelogeninas

Las Amelogeninas son moléculas hidrofóbicas, fosforiladas y glicosiladas de 25 Kda, ricas en prolina, glutámico, histidina y leucina, que son las más abundantes (90% al comenzar la amelogénesis) y disminuyen progresivamente a medida que aumenta la madurez del esmalte. Se denominan proteínas del esmalte inmaduro y se localizan entre los cristales de las sales minerales, sin estar ligadas a ellos.

Enamelinas

Las Enamelinas son moléculas hidrofílicas, glicosiladas de 70kda, ricas en serina, aspártico y glicina, que se localizan en la periferia de los cristales formando proteínas de cubierta, aunque algunos autores afirman que pueden

encontrarse también en el seno de las estructuras cristalinas. Representan el 2-3 % de la matriz orgánica del esmalte. Se admite que no son secretadas por los ameloblastos y se ha sugerido que resultan de la degradación de las amelogeninas.

Ameloblastinas o Amelinas

Las Ameloblastinas inmunohistoquímicamente se localizan en las capas más superficiales del esmalte y en la periferia de los cristales. Representan el 5% del componente orgánico.

Tuftelina

Denominada también la proteína de los flecos de 50- 70 KDa, que se localiza en la unión amelodentinaria al comienzo del proceso de formación del esmalte. Representa el 1- 2% del componente orgánico.

Parvalbúmina

Proteína identificada en el polo distal del proceso de tomes del ameloblasto secretor. Su función está asociada al transporte del calcio del medio intracelular al extracelular.

Además de estas proteínas específicas en la matriz orgánica del esmalte existen proteínas séricas, enzimas y pequeños porcentajes de condroitin 4-sulfato, condroitin 6-sulfato, y lípidos.

Proteínas	Actividad/definición
Amelogeninas	Son moléculas hidrofóbicas, fosforiladas y glicosiladas de 25 KDa, son las más abundantes (90% al comenzar la amelogénesis) y disminuyen progresivamente a medida que aumenta la madurez del esmalte.
Enamelinas	Son moléculas hidrofílicas, glicosiladas de 70kda. Se localizan en la periferia de los cristales formando proteínas de cubierta. Representan el 2-3 % de la matriz orgánica del esmalte.
Ameloblastinas o amelinas	Inmunohistoquímicamente se localizan en las capas más superficiales del esmalte y en la periferia de los cristales. Representan el 5% del componente orgánico.
Tuftelina	Denominada también la proteína de los flecos de 50- 70 KDa, que se localiza en la unión amelodentinaria al comienzo del proceso de formación del esmalte. Representa el 1- 2% del componente orgánico.
Parvalbúmina	Proteína identificada en el polo distal del proceso de tomes del ameloblasto secretor. Su función está asociada al transporte del calcio del medio intracelular al extracelular.

Tabla 2. Cuadro de proteínas de la matriz orgánica del esmalte

2.1.1.3.2 Matriz inorgánica

Está constituida por sales minerales cálcicas básicamente de fosfato y carbonato. Dichas sales, de acuerdo con estudios realizados con difracción de rayos x, muestran una organización apatítica que responde, al igual que ocurre en hueso, dentina y cemento, a la fórmula general $Ca_{10} (PO_4)_6 (OH)_2$. Dichas sales se depositan en la matriz del esmalte, dando origen rápidamente a un proceso de cristalización que transforma la masa mineral en cristales de hidroxiapatita. En el esmalte, a diferencia de lo que ocurre en la dentina y el tejido óseo, no parece existir fosfato cálcico amorfo. ^{7,8} existen también sales minerales de calcio como carbonatos y sulfatos, y oligoelementos como potasio, magnesio, hierro, flúor, manganeso, cobre; ⁷ además de cloro, sodio, estroncio, zinc, estaño (tabla 3).

2.1.1.3.3 Agua

Es el tercer componente de la composición química del esmalte. Se localiza en la periferia del cristal constituyendo la denominada capa de hidratación o capa de agua absorbida. Por debajo y más hacia el interior, en el

crystal, se ubica la denominada capa de iones y compuestos absorbidos, en la que el catión Ca_2^+ puede ser sustituido por Na^+ , Mg_2^+ , y H_3O^+ , y el anión OH^- por F^- , Cl^- , etc. El porcentaje de agua en el esmalte disminuye progresivamente con la edad. ^{7,8}

Constituyente	Análisis
	Porcentaje en peso
Ca	33,6- 39,4
P	16,1- 18,0
Co2 (presente como carbonato)	1,95- 3,66
Na	0,25- 0,90
Mg	0,25- 0,56
Cl	0,19- 0,30
K	0,05- 0,30
	Partes por millón
F	Mayor de 50 5,000 en la superficie
Fe	8- 218
Zn	152- 227
Sr	50- 400
Cu	10- 100
Mn	0- 18
Ag	0- 100
Relación Ca/P (en peso)	1,92- 2,17
Relación Ca/P (molar)	1,5- 1,68

Tabla 3. Componentes inorgánicos principales y menores del esmalte humano maduro seco (excluyendo el agua).

2.1.1.4 Estructura histológica

El esmalte dental forma la cubierta externa de las coronas de los dientes, variando en espesor desde alrededor de 2,5 mm en la punta de cúspide sin desgaste a un espesor mínimo a nivel del cuello de los dientes. ⁶

Las células que forman el esmalte permanecen en su superficie durante su formación y se pierden cuando el tejido madura, en contraste las del cemento y hueso permanecen en el tejido maduro, mientras que las de la dentina permanecen en contacto con la dentina calcificada. ⁶

En el proceso de formación del tejido calcificado, las fibras y la matriz deben ser primeramente depositadas debajo y después viene la agregación de las sales de calcio en la matriz. En el hueso y cemento la matriz especializada se denomina osteoide y cementoide y es evidente como una capa que cubre las superficies de hueso y cemento donde nuevos depósitos de material calcificado pueden ubicarse debajo. En la dentina la capa equivalente es conocida como predentina. En el esmalte no hay equivalencia por la rápida calcificación de la matriz. No obstante el esmalte tiene primero sólo 37% de contenido de sales inorgánicas pero progresivamente acumula sales de calcio hasta alcanzar el 95% de materia inorgánica cuando madura. ⁶

Existen tres posibles tipos de células asociadas a un tejido duro: unas encargadas del depósito de la matriz, transporte de calcio y fosfato dentro de la matriz y pueden estar involucradas directamente en el proceso de mineralización; unas células presentes en, o en contacto con el tejido calcificado, manteniendo la actividad metabólica en éste y otras células capaces de remover el tejido calcificado. Las células formadoras son denominadas: osteoblasto, ameloblasto, odontoblasto y cementoblasto. Los osteocitos y cementocitos permanecen en su tejido calcificado respectivo, mas no existen células en contacto con esmalte maduro, pero si dentro de los túbulos dentinarios están los procesos del odontoblasto. Las células que reabsorben hueso, dentina y cemento son células multinucleadas similares, probablemente derivadas de una línea de leucocitos, denominados,

osteoclastos, dentinoclastos y cementoclastos. No existiendo células descritas para la reabsorción del esmalte. ⁶

El contenido orgánico del esmalte en el diente erupcionado es de alrededor de 1% por peso y 2% por volumen. Esto contrasta con el esmalte formado en los estadios iniciales de la amelogénesis en los cuales tiene algo de 20% de material orgánico y 15% a 30% de inorgánico. ⁶

No obstante originalmente se formó en una matriz orgánica, teniendo el esmalte completamente formado sólo algo de 1% por peso y 2% por volumen de material orgánico, representado como un fino retículo alrededor de los cristales de esmalte y como láminas delgadas de material, donde el esmalte tuvo fallas de calcificación entre los prismas. El material orgánico consiste principalmente de enamelinas, proteínas de la matriz original que se encuentran cercanamente relacionadas con los cristales. El contenido de agua del tejido es de alrededor del 11% por volumen, representando sólo el 3% por peso. Cada prisma o barra está hecha de cristales de esmalte con el eje mayor dispuesto longitudinalmente. En la parte cervical de la barra o prisma el cristal se orienta progresivamente de manera más oblicua hasta que se orientan casi en posición de ángulo recto mientras más cervicalmente se encuentren en la barra. El acondicionamiento ácido remueve el centro de los prismas, primero porque allí existen menos proteínas protectoras, esto resulta en una serie regular de punteado en la superficie. ⁶

La estructura histológica del esmalte está constituida por la denominada unidad estructural básica “el prisma del esmalte” y por las denominadas unidades estructurales secundarias que se origina básicamente a partir de la anterior.^{7,8}

2.1.1.4.1 Unidad estructural básica del esmalte

La unidad estructural básica son los prismas del esmalte, estructuras compuestas por cristales de hidroxiapatita.

El conjunto de prismas forma el esmalte prismático que constituye la mayor parte de esta matriz extracelular mineralizada. En la periferia de la corona y en la conexión amelodentinaria (CAD) existe el denominado esmalte aprismático en el que la sustancia adamantina mineralizada no constituye ni configura prismas. Revisaremos los caracteres estructurales del esmalte prismático y del esmalte aprismático.

2.1.1.4.1.1 Esmalte prismático

2.1.1.4.1.1.1 Morfología de los prismas

Los prismas son unas estructuras longitudinales de 4µm de espesor promedio, que se dirigen desde la conexión amelodentinaria hasta la superficie del esmalte. En relación con su longitud es mayor que el propio espesor del esmalte, pues el curso de los prismas es sinuoso el diámetro de los prismas varía entre 4- 10 µm, es menor en su punto de origen y aumenta gradualmente a medida que se acerca a la superficie libre. El número de prismas varía en relación con el tamaño de la corona evaluándose entre 5 y 12 millones.

Al estudiar la morfología de los prismas con microscopio óptico (MO) y dependiendo de la incidencia de los cortes, estos se observan como bandas delgadas o varillas adamantinas irregularmente paralelas en cortes longitudinales. En los cortes transversales los prismas se presentan como secciones irregularmente hexagonales, ovoides, o en escama de pescado. La aplicación del microscopio electrónico de barrido (MEB) al estudio de la morfología de los prismas, ha permitido resolver muchas interrogantes acerca de la forma de los mismos. Con dicha técnica y en cortes longitudinales se observan como bastones irregularmente paralelos y en cortes transversales con una morfología en ojo de cerradura de llave antigua. Ello permite distinguir en el prisma dos regiones: la cabeza o cuerpo (en forma de cúpula esférica seguida de un cuello estrecho) y la cola con terminación irregular.

El material orgánico es muy escaso y se distribuye básicamente en la periferia de los prismas rodeando la estructura en ojo de cerradura - cabeza y cola- anteriormente descrita. Este material orgánico periférico es muy insoluble y corresponde a la denominada vaina de los prismas. Al microscopio electrónico de transmisión (MET) esta vaina aparece formando un fino retículo tridimensional que asocia unos prismas con otros. Se considera, en consecuencia, que la diferencia entre el prisma y la vaina del prisma es cuantitativa, es decir, estas últimas son zonas con menor grado de mineralización, por el mayor contenido proteico.

En relación con la morfología, los primas presentan en condiciones normales u ortóticas tres patrones morfoestructurales distintos cuando se utiliza la técnica del grabado ácido. Dicha técnica que es frecuente en la práctica odontológica, permite eliminar la placa dentaria y descalcificar el esmalte a una profundidad de +/- 10 µm, facilitando la adhesión de los distintos materiales de restauración. La técnica del grabado ácido permite establecer, como acabamos de indicar, tres patrones distintos: ^{7,8}(tabla 4) (Fig.1).

La existencia de dichos patrones no está claramente explicada, aunque se relaciona con la composición química de los prismas y, sobre todo con posibles diferencias regionales en distintas piezas dentarias. ^{7,8}

Tipo de patrón	Comportamiento biológico
Patrón tipo I	El centro del prisma parece erosionado permaneciendo insoluble la periferia.
Patrón tipo II	La periferia de los prismas aparece erosionada y permanece insoluble la zona central.
Patrón tipo III	Se produce una erosión generalizada y se configuran imágenes que vagamente recuerdan la morfología prismática en escamas de pescado o en ojo de cerradura

Tabla 4. Patrones de grabado ácido del esmalte.

2.1.1.4.1.1.2 Composición de los prismas

Los prismas, unidades estructurales del esmalte, están constituidos por un conjunto de cristales de hidroxiapatita. Estos cristales presentan una orientación muy definida en el interior de los mismos. En un corte longitudinal se observa que los ejes mayores de los cristales se disponen paralelamente al eje longitudinal del prisma en la región de la cabeza. En la zona de unión de la cabeza con la cola se van inclinando progresivamente respecto al eje

longitudinal del prisma hasta que los cristales adquieren una posición perpendicular (respecto al eje longitudinal del prisma) en la región de la cola.

Esta disposición es fruto de la síntesis y formación del esmalte por parte de los ameloblastos. La distancia entre los cristales, ocupada por sustancia orgánica, nunca es más de 2-3 nm. Por ello los valores de dureza y el módulo de elasticidad de Young son más bajos (mayor elasticidad) en la cola del prisma que en la cabeza y aún más bajos (mayor elasticidad) en la vaina del prisma. Ello se debe al mayor contenido orgánico existente en éstas áreas.

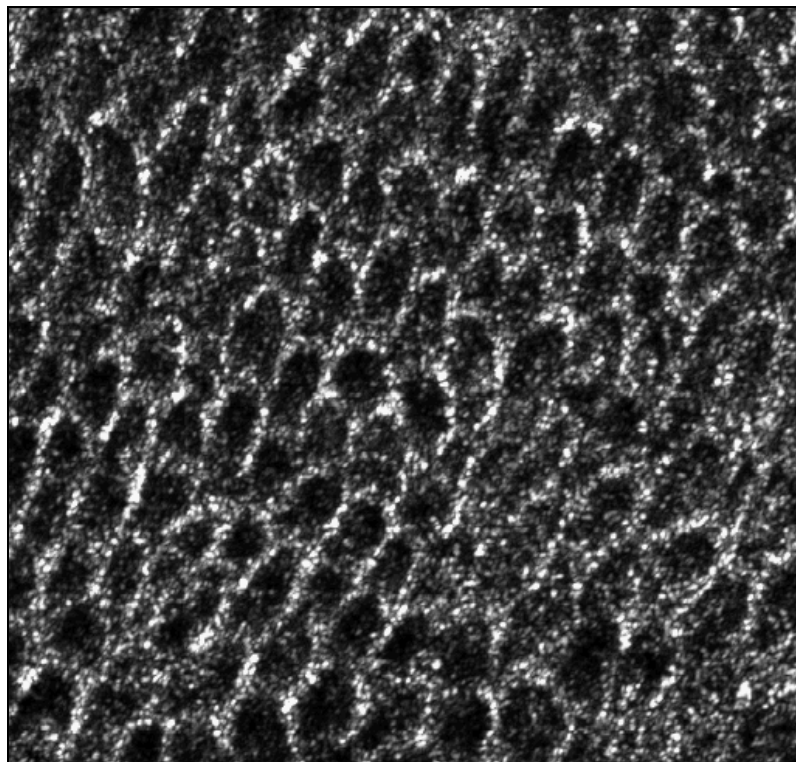


Fig. 1 Grabado ácido del esmalte con predominio del patrón tipo I en muestras del presente estudio.

2.1.1.4.1.1.3 Orientación de los prismas

La orientación de los prismas en el seno del esmalte es bastante compleja, pues los mismos no siguen una trayectoria rectilínea a través del esmalte, sino que en algunas zonas, por su recorrido sinuoso, experimentan entrecruzamientos o decusaciones.

Cabe agregar, que la orientación de los prismas ofrece un aspecto diferente según se estudien dientes primarios o permanentes. En la región cervical de los dientes primarios, las hileras de prismas son horizontales, mientras que en la región cuspídea son casi verticales, es decir, perpendiculares a la unión amelodentinaria. En los dientes permanentes las hileras de los prismas de la región cervical, se desvían de la horizontal y se inclinan hacia apical. En la región cuspídea las hileras de prismas presentan la misma orientación vertical o perpendicular que en los dientes primarios.

La compleja disposición de los prismas e hileras o planos circunferenciales, y la diferente orientación de los mismos en el espesor del esmalte permite al mismo resistir, de forma eficaz, las fuerzas de la masticación.

2.1.1.4.1.2 Esmalte aprismático

El esmalte aprismático es material adamantino carente de prismas. Se localiza en la superficie externa del esmalte prismático y posee un espesor de 30µm. Algunos autores extienden el espesor hasta los 100 µm . El esmalte aprismático está presente en todos los dientes primarios (en la zona superficial

de toda la corona) y en un 70% de los dientes permanentes. En estos últimos se encuentra ubicado en mayor medida en las regiones cervicales y en zonas de fisuras y microfisuras y, en menor medida en las superficies cuspídeas.⁷

2.1.1.4.2 Unidades estructurales secundarias del esmalte

Las unidades estructurales secundarias del esmalte se definen como aquellas estructuras o variaciones estructurales que se originan a partir de las unidades estructurales primarias como resultado de varios mecanismos: el diferente grado de mineralización, el cambio en el recorrido de los prismas y la interrelación entre el esmalte y la dentina subyacente o la periferia medioambiental. Entre las unidades que surgen por el primer mecanismo encontramos las estrías de Retzius y los penachos de Linderer; entre las que surgen por el segundo las bandas de Hunter- Schreger y el esmalte nudoso y, entre las que lo hacen por el tercero, la conexión amelodentinaria, los husos adamantinos, los periquematías, las líneas de imbricación de Pickerill y las fisuras o surcos del esmalte. Algunas unidades como las laminillas o microfisuras se originan como resultado de varios de los mecanismos anteriormente descritos.⁷

2.1.1.4.2.1 Estrías de Retzius

Existe una estría más sobresaliente que las demás y que coincide con el nacimiento. Dicha estría se denomina línea neonatal (línea de Rushton-Orban). La disposición de las estrías es diferente en las distintas regiones del diente: en las cúspides y bordes incisales se extienden de CAD a CAD del lado opuesto, describiendo una curva. En las caras laterales de la corona tiene un recorrido

oblicuo desde CAD hacia la superficie externa, pero con una incurvación hacia oclusal o incisal. En cortes transversales aparecen como anillos concéntricos paralelos a las superficies externa e interna del esmalte.

Las estrías de Retzius marcan la sucesiva aposición de capas de tejido durante la formación de la corona, por ello reciben la denominación de líneas incrementales.

2.1.1.4.2.2 Penachos adamantinos o de Linderer

Los penachos adamantinos son estructuras muy semejantes a las microfisuras del esmalte y también comparables a fallas geológicas. Se extienden en el tercio interno del esmalte y se despliegan desde el límite amelodentinario en forma de arbusto.

Se cree que los penachos se forman en el desarrollo debido a cambios bruscos e la dirección en grupos de prismas debido a la orientación de algunos ameloblastos en la amelogénesis y a que los penachos están formados básicamente por tejido poco mineralizado, amorfo o granular, rico en proteínas del esmalte.

2.1.1.4.2.3 Bandas de Hunter-Schreger

Son unas bandas claras y oscuras denominadas respectivamente parazonas y diazonas, de anchura variable y límites imprecisos, que se observan en el esmalte ocupando las cuatro quintas partes más internas del

mismo. Se encuentran presentes en todos los dientes permanentes y aún en los que no han completado su formación.

El origen de estas bandas no está bien establecido, sugiriéndose que se trata de un fenómeno que resulta del distinto plano de corte de los prismas.

2.1.1.4.2.4 Esmalte nudoso

El esmalte nudoso no es más que una zona singular y especial del esmalte prismático que se localiza en las regiones de las cúspides dentarias y está formado por una compleja interrelación de prismas o bastones adamantinos. Su origen radica en que los planos circunferenciales de los prismas con sus ondulaciones se interrelacionan íntima y estrechamente entre sí.

2.1.1.4.2.5 Conexión amelodentinaria

La CAD corresponde a la zona de relación entre el esmalte y la dentina y constituye un nivel estructural decisivo, para asegurar la retención firme del esmalte sobre la dentina.

El origen del CAD se establece en los primeros estadios de la morfogénesis dentaria y señala la ubicación de la lámina basal existente entre odontoblastos y ameloblastos antes de que comiencen los respectivos mecanismos de mineralización. El espesor de la CAD se ha estimado en 11,8 μm sin que existan variaciones significativas entre las distintas piezas dentarias ni tampoco a lo largo de la CAD de cada diente.

2.1.1.4.2.6 Husos adamantinos

Los husos adamantinos son estructuras con aspecto de clavos irregulares que se encuentran a nivel de la CAD. Corresponden a formaciones tubulares con fondo ciego que alojan en su interior a las prolongaciones de los odontoblastos que discurren por los túbulos dentinarios. La penetración de las prolongaciones de los odontoblastos en los husos del esmalte se realiza previamente a la mineralización del mismo, ubicándose entre los ameloblastos y persistiendo en el interior del esmalte cuando éste se mineraliza.

2.1.1.4.2.7 Periquematías y líneas de imbricación de Pickerill

Son formaciones íntimamente relacionadas con las estrías de Retzius por una parte y con la periferia medioambiental por otra. Las líneas de imbricación son surcos poco profundos existentes en la superficie del esmalte, generalmente, en la porción cervical de la corona; dichos surcos no son más que las estrías de Retzius observadas desde la superficie del esmalte. Entre los surcos, la superficie del esmalte forma unos rodetes, crestas bajas o rebordes transversales denominadas periquematías. Estas son más marcadas en los dientes permanentes recién erupcionados y tienen tendencia a desaparecer con la edad como consecuencia del desgaste fisiológico; es por ello que las personas de edad presentan un esmalte de superficie lisa.

2.1.1.4.2.8 Fisuras o surcos del esmalte

Las fisuras o surcos del esmalte son invaginaciones de morfología y profundidad variable que se observan en la superficie del esmalte de premolares y molares.

El origen de las fisuras y surcos se debe a una coalescencia incompleta de los lóbulos cuspídeos (centros de morfogénesis coronaria) donde la actividad ameloblástica se desarrolla en forma independiente y luego se sueldan.

2.1.1.4.2.9 Laminillas o microfisuras del esmalte

Las laminillas o microfisuras del esmalte son formaciones comparables a las fallas geológicas, finas y delgadas, que se extienden de forma rectilínea desde la superficie del esmalte hasta la dentina e incluso pueden penetrar en ella. Las microfisuras primarias se producen en un diente antes de la erupción y las microfisuras secundarias, originadas una vez producida la erupción dentaria.

2.1.1.5 Histología y bioquímica

En un estadio de maduración las proteínas y el agua son reemplazadas con sales de calcio, la capa más próxima a la unión amelodentinaria tiene el más alto contenido de proteínas y así mismo, la más baja densidad. Es probable que el agua contenida sea también alta en esta región. Las células que forman el esmalte, los ameloblastos, están más activos durante los estadios tempranos de formación y el contenido de carbonatos del esmalte es

muy alto en la unión amelodentinal, así que el sodio es usualmente incorporado dentro de la apatita al mismo tiempo que el carbonato para balancear la carga iónica. Antes de la erupción la superficie del esmalte es expuesta a los fluidos tisulares, cuando el diente erupciona, entra en contacto con los fluidos orales. Los cristales de apatita de la superficie pueden captar iones de la saliva y posiblemente alimentos y líquidos, estos son tomados e hidratan la capa externa de los cristales, que luego son incorporados dentro de su estructura. Una vez dentro de la estructura del cristal pueden ser pasados entre cristales por el intercambio iónico. La composición del esmalte cambia a través de la vida, por los eventos metabólicos en la placa dental sobre la superficie o por el proceso normal de desgaste o atrición. La producción de ácidos en la placa dental disuelve selectivamente los cristales de apatita con alto contenido en carbonato disminuyéndolo extensamente, el magnesio y los procesos de remineralización tienden a reemplazar aquellos con fluorapatita, alterando la composición de la superficie de esmalte. La atrición remueve las capas externas del esmalte y altera las gradientes de concentración establecidas previamente. La disolución de la superficie dental por alimentos, bebidas o ácidos atmosféricos, denominada erosión, producirá resultados más dramáticos.⁶

El gran contenido inorgánico (96%), el bajo contenido orgánico y agua (1% y 3- 4%, respectivamente), la ausencia de células y la separación de los vasos sanguíneos o fluidos tisulares por la intervención de la dentina otorgan a este tejido la apariencia de estar fisiológicamente muerto. La evidencia contraria a esta conclusión, es la observación que cuando los dientes son

cubiertos por aceite en un gato anestesiado, pequeñas gotas de fluido formadas sobre la superficie dental, dentro de la capa de aceite fueron observadas. Este fluido del esmalte nunca ha sido satisfactoriamente explicado, no obstante se ha sugerido que pueden representar un movimiento de fluido bajo un gradiente de presión desde la pulpa dental. Esto hace suponer que existe una vía continua a través de la dentina. No existen evidencias histológicas de esto. Así mismo, el cálculo de la composición de esmalte sobre la base del volumen de agua, mas que al peso, sugieren que algo del 11% del volumen del esmalte puede ser agua. Se ha visto que el esmalte se muestra poroso a pequeñas moléculas como la urea y menos a partículas orgánicas, las cuales penetran ampliamente a través de los defectos en esmalte (esmalte laminar con alto contenido proteico). Después de la exposición del esmalte a fluidos de diferente peso molecular y analizados con microscopio de luz polarizada, dan un estimado que los poros representan algo del 0,1% del esmalte intacto y alcanzan alrededor del 4% en lesiones cariosas tempranas. El esmalte es así mismo bueno para actuar como membrana semipermeable, lo cual permite el paso del agua, actuando como una membrana selectivamente permeable, permitiendo el paso de algunos iones y moléculas pequeñas.⁶

2.1.1.5.1 Componente mineral del esmalte calcificado-apatita

El esmalte dental es una mezcla de apatita carbonatada y no carbonatada con una pequeña proporción de un tipo de sulfato de magnesio.⁶

El cristal clave es la apatita, tiene una disposición hexagonal de los iones fosfato en los iones hidroxilo, formando con los iones hidroxilo una corona dentro de ésta. Los iones de calcio están dispuestos alrededor de los fosfatos.

La sustitución de iones puede ocurrir dentro de la unidad celular si el ión sustituyente es de similar tamaño al ión normal. Los carbonatos se sustituyen por hidroxilo, pero raramente por fosfatos. Los fluoruros pueden sustituirse por hidroxilo. Dado que el fluoruro es más pequeño que el ión hidroxilo, el nuevo cristal será más pequeño, esto es asociado con una disminución en la solubilidad del cristal así esta sustitución afectará las propiedades estructurales del cristal; por lo que un esmalte con gran proporción de hidroxiapatita se disolverá más lentamente en ácido que el esmalte con bajo contenido en fluorapatita.⁶

Los iones fosfato son los más largos en el cristal. Los espacios en un hexágono de dos iones fosfato son rellenados por una columna de iones de calcio y por una columna de iones hidroxilo. Las columnas de iones de calcio contienen 40% de éste, los iones hidroxilo ocupan el resto.⁶

2.1.2 Agentes blanqueadores

2.1.2.1 Perspectiva histórica

En la actualidad existen diversos materiales y técnicas para el tratamiento de decoloraciones extrínsecas o intrínsecas en dientes vitales o no vitales. Los primeros reportes datan del año 1864, en el que Heymann utiliza el hidrocloreuro de calcio y el ácido acético en el intento de blanquear dientes,

Chapple en 1877, emplea el ácido oxálico. En 1878 y 1879 Taft y Atkinson, sugieren el uso de cloro. Harlan en 1884, fue el primero en utilizar el peróxido de hidrógeno, con resultados poco exitosos. Westlake en 1895, emplea una solución acuosa de dióxido de hidrógeno al 13% conjuntamente con corriente eléctrica para acelerar el proceso de blanqueamiento. ¹⁰

En 1911, Rossental introduce el uso de radiación ultravioleta. Abbot en 1918, introduce el superoxol conjuntamente con el uso de lámparas generadoras de calor. ¹

En 1937, Ames, fue el primero en publica una técnica alternativa para el tratamiento de los dientes con fluorosis, empleando peróxido de hidrógeno al 100% y éter (5:1) además de la aplicación de calor con un instrumento.

1967 Nutting y Poe, introducen la técnica ambulatoria utilizando el peróxido de hidrógeno y el perborato de sodio para el tratamiento de las decoloraciones en dientes no vitales, en 1979 Compton usa el peróxido de hidrógeno al 30% y calor a una temperatura de 130 a 145°F para las decoloraciones por tetraciclinas. En 1989 Munro, observa que el peróxido de carbamida utilizado como antiséptico oral y como anticariogénico, tenía como efecto paralelo el blanqueamiento de dientes, por lo que lo empezó a aplicar para tal fin, mejorando la consistencia del mismo y diseñando unas bandejas especiales de aplicación.

Haywood y Heymann, ese mismo año perfeccionaron la técnica de aplicación e introducen el sistema de blanqueamiento domiciliario. Posteriormente, en el año 1991 y 1992 se emplea el peróxido de hidrógeno complementándolo con la utilización de la luz visible y la aplicación de mucoprotectores. La fotoactivación con láser del peróxido de hidrógeno la inicia Yarborough en el año 1996. ¹¹

Recientemente ha habido un gran incremento en la aparición de numerosos productos para blanqueamiento dental, principalmente usando al peróxido de hidrógeno como ingrediente activo, para el uso de las decoloraciones dentales de diversa etiología, ya sea para su uso domiciliario y/o en clínica. ¹²

2.1.2.2 Clasificación

Los agentes blanqueadores más usados en la actualidad son en base a peróxidos de hidrógeno y de carbamida. Los blanqueadores de peróxido de hidrógeno para su aplicación en clínica se presentan concentraciones de 30%, 35%, 38% y 50%, dependiendo del fabricante.¹³⁻¹⁵ los designados para uso domiciliario presentan concentraciones de 5,5% y 7,5%.¹⁶ el peróxido de carbamida para su uso como agente blanqueador, puede presentarse en concentraciones de 10%, 15%, 16%, 20% ó 22%,^{15,16} para uso domiciliario y en concentración al 35%, para uso en clínica. ¹⁵

2.1.2.3 Composición

El peróxido de carbamida tiene como ingrediente activo al peróxido de hidrógeno en un determinado porcentaje. De lo anteriormente escrito, podemos afirmar que un agente de peróxido de carbamida al 10%, contiene aproximadamente 3,3% a 3,5% de peróxido de hidrógeno, estando el resto constituido por la urea o carbamida.¹¹ De allí, que el peróxido de carbamida sea también denominado peróxido de urea, peróxido de carbamida hidrogenada, etc. Además de presentar otros agentes químicos en su composición como el carbopol, que es un polímero de carboxipolimetileno, que es el responsable de otorgarle viscosidad y prolongar el efecto del peróxido; trietanolamina, que actúa elevando el pH y como antisensibilizante, glicerina y en algunos productos saborizantes y colorantes artificiales.¹¹

Esta formulación es muy elemental y no mantendría una vida media prolongada del producto, requiriéndose preservantes o agentes ácidos, no revelados por los fabricantes, como el ácido cítrico y el ácido etilendiamonotetracético (EDTA).¹⁷ algunos fabricantes a los productos de peróxido de carbamida en diferentes concentraciones le agregan además flúor y nitrato de potasio, para reducir la incidencia de sensibilidad durante o después del blanqueamiento.¹¹

2.1.2.4 Mecanismo de acción

Se cree que sea la oxidación el mecanismo a través del cual se consiguen los efectos de blanqueamiento. Cualquier agente oxidante se caracteriza por presentar un electrón desemparejado en su órbita externa y por

lo tanto, tiene una fuerte tendencia a interactuar con otros electrones, de manera de generar un par de electrones y conseguir la estabilidad.¹⁷

En el proceso de blanqueamiento esos oxidantes, ingresan fácilmente en la estructura dentaria por su bajo peso molecular, actuando en las uniones de los radicales cromóforos (radicales coloridos de los cuales dependen los colores de las sustancias) rompiéndolas, liberando los pigmentos de esmalte y dentina.¹⁸

2.1.2.5 Decoloraciones dentarias

2.1.2.5.1 Etiología

En cuanto al origen de las decoloraciones o pigmentaciones dentales, se ha definido como multifactorial y se ha dividido en extrínseco e intrínseco: pre y poseruptivo.¹

2.1.2.5.1.1 Factores extrínsecos

- Tabaco.
- Alimentos y bebidas.
- Fármacos: colutorios de clorhexidina.
- Materiales de obturación coronaria: amalgamas, silicatos.

2.1.2.5.1.2 Factores intrínsecos preeruptivos

- Dentinogénesis imperfecta
- Amelogénesis imperfecta

- Fluorosis endémica, observada en poblaciones donde el agua potable tiene concentraciones de flúor >10ppm o en niños que consumen agua con una concentración de flúor >1ppm, durante el período de formación y calcificación dentaria, esto puede abarcar desde el tercer mes de vida intrauterina, hasta el octavo año de vida.
- Eritroblastosis fetal, producida por incompatibilidad de factor “Rh” entre la madre y el feto, causando pigmentación dentinaria por hemólisis.
- Administración de tetraciclinas durante el tercer mes de embarazo o durante el desarrollo de los dientes en la infancia, causan decoloración amarillenta, pardusca o grisácea, dependiendo del tipo de tetraciclina, duración del tratamiento o intensidad del mismo.

2.1.2.5.1.3 Factores intrínsecos poseruptivos

- Envenenamiento con metales pesados (plomo, arsénico).
- Injurias traumáticas.
- Necrosis pulpar.
- Recesión pulpar idiopática.

2.1.2.6 Clasificación de las técnicas de blanqueamiento

2.1.2.6.1 Según el lugar de aplicación

2.1.2.6.1.1 Domiciliaria

La aplicación es realizada por el paciente, bajo supervisión profesional periódica. Requiere de la confección de una férula de blanqueamiento dental individualizada, hecha en base a un modelo obtenido del mismo paciente. Se utilizan unas láminas de acetato moldeadas en una máquina de termovacío.

Estas férulas se usan durante el día o la noche con el gel de blanqueamiento contenido en éstas, que puede ser de peróxido de carbamida al 10, 15, 20 ó 22%, en un lapso de 3 a 8 horas diarias o de peróxido de hidrógeno al 5,5% ó 7,5%, por 2 a 4 horas diarias. La duración del tratamiento dependerá del tipo de decoloración presente.^{2,15,16}

2.1.2.6.1.2 En consulta

La aplicación es realizada por el profesional, requiere un gel de peróxido de hidrógeno en altas concentraciones como 35% ó 38%, aplicado directamente en las superficies vestibulares de los dientes, si se trata de dientes vitales; o por vestibular y palatino/ lingual, si se trata de dientes no vitales, previa protección de los tejidos blandos adyacentes. Así mismo, se puede usar un gel de peróxido de carbamida al 35%, para lo cual se necesitará la elaboración de la respectiva férula de blanqueamiento dental. Muchos de los productos usados en consulta requieren además de la activación por medios físicos, principalmente luz: halógena, de arco plasma, láser.

2.1.2.6.1.3 Combinada

Resulta de la combinación de las dos técnicas anteriores, empleada sobre todo en casos de decoloración moderada a severa o cuando por distintas razones se desean obtener resultados más rápidos.

2.1.2.6.2 Según el estado pulpar

2.1.2.6.2.1 Blanqueamiento de dientes vitales

Para lo cual se hará la aplicación del gel, ya sea de peróxido de carbamida, con uso de férula, o de hidrógeno sólo en las superficies vestibulares.

2.1.2.6.2.2 Blanqueamiento de dientes no vitales

La aplicación del gel además de aplicarse sobre las superficies vestibulares, requiere de la aplicación por la cara palatina/lingual, previa eliminación del material de obturación coronario y 2 milímetros del de obturación radicular (ejemplo gutapercha), cuyos milímetros serán cubiertos por un cemento (ionómero por ejemplo) para sellar el conducto y evitar que el gel aplicado en la cámara coronaria migre hacia la zona periapical o periodontal lateral.^{2,15,16}

2.1.2.7 Efectos adversos

2.1.2.7.1 En esmalte

La química de los agentes blanqueadores de peróxido de carbamida está basada en su habilidad de generar radicales libres, con propiedades altamente oxidantes y reactivas. Estos radicales libres son inespecíficos, extremadamente inestables y pueden reaccionar potencialmente no sólo con los anillos pigmentados de carbono, sino también con otras moléculas orgánicas para conseguir estabilidad.¹⁹ Otros radicales libres pueden ser generados y causar desintegración de la matriz orgánica.^{4,19} Así mismo, los

peróxidos pueden afectar no sólo la superficie, sino también la estructura interna del esmalte.⁴

Varios estudios han sido llevados a cabo para determinar los efectos de los agentes blanqueadores de peróxido de carbamida sobre el esmalte dentario, existiendo en la actualidad mucha controversia, sobre todo en cuanto a los efectos sobre la microdureza y la integridad de la matriz orgánica.¹⁹

Algunos reportes sostienen que el peróxido de carbamida al 30% es capaz de remover la matriz superficial y generar un aumento de la permeabilidad del esmalte.²⁰ Así mismo, se pueden observar cambios estructurales en el esmalte aún con agentes de peróxido de carbamida al 10%.²¹

Shannon y colaboradores en 1993, en pruebas “in vitro” por 48 horas con dientes expuestos al peróxido de carbamida al 10% mostraron una pérdida de contenido mineral, pero esta pérdida no es significativa durante los intervalos de aplicación del gel, pues la saliva ejerce un efecto de remineralización de estructuras. Ese mismo año en otro estudio analizan el efecto de 3 agentes de blanqueamiento aplicados durante dos semanas, donde no encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de microdureza y en el estado de la morfología superficial del esmalte. Estudios señalan que la desmineralización está relacionada con el pH bajo de los agentes blanqueadores. El efecto sobre esmalte con un uso prolongado de agentes blanqueadores por 30 horas, revelan microscópicamente áreas de disolución serias.²²

En otro reporte posterior¹⁹, se estudiaron los efectos de 3 agentes de blanqueamiento de peróxido de hidrógeno sobre la microdureza, morfología y color del esmalte. Requirieron 25 piezas dentarias humanas recientemente extraídas, seleccionados al azar que no exhibían caries, restauraciones o fracturas visibles en esmalte. De cada corona se obtuvieron 2 fragmentos de esmalte de aproximadamente 3mm x 5mm x 2mm, asignados al azar a uno de 4 grupos de tratamiento. Grupo n° 1, compuesto por 15 fragmentos tratados con Accel (peróxido de hidrógeno al 50%); grupo n° 2, compuesto por 15 fragmentos tratados con Accel (peróxido de hidrógeno al 35%); grupo n° 3, compuesto por fragmentos tratados con hi-lite (peróxido de hidrógeno al 35%) y un grupo n° 4, que consistió de 5 especímenes, tratados con solución salina y representó al grupo control. Los resultados mostraron considerable punteado superficial en los especímenes tratados con peróxido de hidrógeno al 50%. El peróxido de hidrógeno fue capaz de remover la matriz orgánica del esmalte, el precipitado orgánico adquirido y la superficie mineral de áreas hipomineralizadas de la superficie del esmalte. El peróxido de hidrógeno en las dos concentraciones fue capaz de blanquear de manera similar el esmalte después de 2 horas de blanqueamiento, el promedio de cambio de tono incremental fue 4.83 pasos en la guía de tonos Vita. Para efectivizar el blanqueamiento no es necesario usar concentraciones de peróxido de hidrógeno al 50%.

Al evaluar con microscopio electrónico los efectos a largo plazo de los agentes de blanqueamiento sobre la superficie de esmalte in vivo. La aplicación

de los blanqueadores por 14 días fue capaz de crear una alteración en la superficie adamantina, causando la exposición de los prismas del esmalte. Después de 21 a 90 días de haber finalizado el blanqueamiento, la evaluación por microscopio electrónico demostró alteración del esmalte superficial, evidenciando la exposición de la capa prismática adamantina. ¹⁴

Se procedieron a evaluar los efectos de 3 agentes blanqueadores de peróxido de carbamida e hidrógeno sobre la superficie del esmalte utilizando un microscopio de fuerza atómica. Cada agente fue aplicado un total de 28 horas, finalizadas las cuales se compararon las imágenes “antes” y “después”, tomadas del microscopio. Fisuras observadas en esmalte antes del blanqueamiento aparecieron más notorias y de mayor profundidad. Concluyendo, que los agentes de blanqueamiento que contienen peróxidos afectan la matriz orgánica del esmalte. ⁴

Por otro lado, se evaluaron los efectos del peróxido de carbamida al 10% sobre la microdureza, microestructura y contenido mineral del esmalte. Utilizando respectivamente, aparatos de medición de microdureza, microscopio electrónico y microanálisis de prueba de electrones para el análisis químico del calcio y fósforo. La concentración de calcio en el gel de blanqueamiento fue medida espectrofotométricamente y la de fósforo fotométricamente. Los resultados mostraron que el peróxido de carbamida al 10% no afectó significativamente la microdureza del esmalte. El análisis por microscopio electrónico mostró cambios locales en la microestructura del esmalte similares a aquellos que se presentan en procesos cariosos iniciales. El microanálisis de

prueba de electrones mostró concentraciones bajas de calcio y fósforo; con baja proporción Ca/ P. Hubo algo de calcio y fósforo en el gel después de su uso. Concluyeron que el peróxido de carbamida al 10% causa cambios químicos y microestructurales locales no significativos en esmalte.²³

Li en el 2000,²⁴ admite la existencia de mucha controversia en cuanto al efecto de los agentes blanqueadores, pero concluye que el uso apropiado y bajo supervisión profesional del peróxido de carbamida al 10% no causa daños irreversibles al esmalte dental.

Un estudio "in vivo" evaluó los efectos del blanqueamiento nocturno en dientes vitales sobre la morfología superficial del esmalte después de 2 semanas de tratamiento y 6 meses posblanqueamiento, demostrando que el peróxido de carbamida al 10% tuvo un efecto mínimo sobre la morfología del esmalte, no agravándose con el tiempo.²⁵

Evaluando los efectos del peróxido de carbamida al 10% sobre la microdureza del esmalte a diferentes intervalos de tiempo. Opalescence mostró un incremento en la microdureza después de 21 días, seguido por una disminución de la misma después de 42 días, mostrando los valores similares a los del grupo control. Rembrandt mostró disminución de la microdureza. De esto deducen que diferentes productos de blanqueamiento a iguales concentraciones, tienen efectos diferentes sobre esmalte.²⁶

Kwon y cols. En el 2002, ²⁷ evaluaron los efectos del peróxido de hidrógeno al 30% sobre la morfología de esmalte bovino, concluyendo que hubieron alteraciones morfológicas leves no uniformes y diferentes grados de porosidad superficial.

Lopes y cols. En el 2002, ²⁸ analizaron los efectos de 2 agentes de blanqueamiento domiciliario (Opalescence al 10% de Ultradent, Hi Lite II de Shofu), peróxido de hidrógeno al 3% con carbopol, y urea al 7%, con un grupo control sometido a saliva artificial únicamente. Los resultados mostraron que los especímenes de esmalte tratados con peróxido de hidrógeno al 3% presentaron una reducción significativa en los valores de microdureza, no ocurriendo lo mismo para los otros agentes de tratamiento. No se observaron alteraciones morfológicas con ningún agente de tratamiento. Sólo el peróxido de hidrógeno al 3% usado por 3 horas diarias por 2 semanas presentó moderadas áreas erosivas.

2.1.2.7.2 En dentina

Existen datos difundidos que en períodos de 15 minutos y más, todos los agentes blanqueadores son capaces de difundirse a través de 0,5mm en dentina y provocar daño pulpar en dientes que presentan áreas de erosión o abrasión cervical. ²⁹

Basting y cols. El 2001, ³⁰ evaluaron el efecto del peróxido de carbamida al 10% usado por 3 semanas sobre la microdureza de dentina, concluyendo que los valores de la misma no fueron alterados.

Freitas y cols. En el 2002,¹⁸ evaluaron los efectos de 2 agentes de blanqueamiento de CP al 10% (Opalescence y Rembrandt) aplicados por 8 horas y 7, 14, 21, 28, 35 días de tratamiento y 7 y 14 días postratamiento. Los resultados mostraron disminución de los valores de microdureza después de 8 hrs. de tratamiento. 14 días postratamiento y almacenados en saliva artificial los valores fueron similares a los iniciales para ambos grupos.

Cheng y cols. El 2002,³¹ evaluaron los efectos del blanqueamiento intracoronal con peróxido de hidrógeno y/o perborato de sodio sobre las propiedades biomecánicas de la dentina, concluyendo que:

- El peróxido de hidrógeno al 30% o perborato de sodio usados solos o en combinación debilitaron la dentina.
- El peróxido de hidrógeno usado sólo, es más dañino que el perborato de sodio sólo o combinado con peróxido de hidrógeno.

2.1.2.7.3 Sobre los mecanismos de adhesión resina-esmalte

El blanqueamiento dental, involucra el contacto directo de los agentes de blanqueamiento sobre la superficie externa del esmalte, por períodos variables de tiempo de acuerdo a la técnica utilizada, dependiendo del diagnóstico etiológico de la decoloración.³² Estos agentes de blanqueamiento en base a peróxido de hidrógeno o carbamida presentan valores de pH diversos, que puede variar entre 3.67 a 11.13.³³ Esto junto a la variada composición de los mismos ha generado la presencia de efectos adversos, ampliamente debatidos,

a nivel de los tejidos duros y blandos,³⁴ y a nivel de los diversos materiales restauradores.^{35,36}

Recientemente el blanqueamiento previo a los procedimientos restauradores está ganando mucha aceptación por parte de los profesionales, pero los efectos de los agentes de blanqueamiento sobre la adhesión de las resinas compuestas están siendo ampliamente estudiados.³⁷ Existen estudios que describen la interacción entre los diversos agentes de blanqueamiento y el grado de adhesión de las resinas compuestas a esmaltes.³⁸⁻⁴³ Algunos autores han reportado una disminución severa de la fuerza adhesiva de las resinas a sustratos blanqueados, cuando fueron comparadas con grupo control. Los reportes incluían, disminución significativa de la fuerza adhesiva de las resinas compuestas en sustratos de esmalte colocadas inmediatamente después del blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 25%,⁴⁴ o al 35% usados en consulta, así como una disminución cuantitativa y cualitativa de los “tags” de resina. Titley y col en 1991,⁴² y Dishman y col en 1994,⁴⁴ comprobaron una disminución en la fuerza adhesiva y en el número de “tags” en la interfase resina- esmalte colocadas inmediatamente después del blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 25% usado en consulta. Otro estudio similar,⁴⁵ utilizando el blanqueamiento en consulta con peróxido de hidrógeno mostró que hubo una disminución de la fuerza adhesiva en resinas colocadas inmediatamente después del blanqueamiento, cuyos valores fueron normales en resinas colocadas a las dos semanas posblanqueamiento, por lo que concluyó que cualquier procedimiento adhesivo sobre sustratos blanqueados deberían postergarse por lo menos dos semanas.

Por otro lado los agentes de peróxido de carbamida en concentraciones de 10% (uso domiciliario) a 35% (uso en consulta) también han sido relacionados con efectos similares, cuando los procedimientos adhesivos son realizados inmediatamente después del blanqueamiento,⁴⁶ esa disminución en los valores de la fuerza adhesiva ha sido descrito como un efecto transitorio,⁴⁷ que puede ser revertido al cabo de unas 3 semanas.⁴⁸ Se han formulado diversas hipótesis acerca de los mecanismos por los cuales los agentes blanqueadores podrían afectar los procedimientos adhesivos. Las propuestas son:

- I. Los agentes blanqueadores provocan descomposición prolongada de la matriz orgánica e inorgánica de los dientes, lo cual va a interferir con los procedimientos adhesivos ^{38,49,50}.
- II. La presencia de peróxido residual u oxígeno liberado por los agentes de blanqueamiento inhibe el proceso de polimerización de las resinas compuestas y sistemas adhesivos. ^{38,43,51}
- III. Los agentes blanqueadores pueden inducir cambios morfológicos y estructurales, a nivel de la interfase resina- esmalte, aumentando la solubilidad del esmalte e interfiriendo con la adhesión. ^{38,39,52}
- IV. Los agentes blanqueadores afectan más al componente orgánico de al inorgánico, causando desnaturalización proteica por oxidación, interfiriendo en el comportamiento de las resinas, de allí la explicación que la mayor microfiltración se da en interfases resina- dentina que esmalte- dentina, por el mayor componente orgánico. ³⁸ Por otro lado,

esto es explicado ya que la naturaleza tubular de la dentina le permite albergar mayor cantidad de peróxido residual que interferiría con los procedimientos adhesivos a nivel de la interfase resina- dentina.³⁸

Adicionalmente, muchas veces son requeridas restauraciones adhesivas inmediatas, por lo que varias investigaciones han sido aplicadas con la finalidad de antagonizar el efecto oxidante de los agentes blanqueadores y permitir una adhesión de calidad. Se determinó que el peróxido de hidrógeno contenido en las estructuras dentarias no pudo ser eliminado totalmente con simples irrigaciones de agua, ya que se requirieron numerosas irrigaciones o inmersiones en agua por varias horas para reducir la cantidad de peróxido residual, cuando los dientes fueron sometidos a blanqueamiento intracoronal, concluyendo que las irrigaciones con agua de dientes con blanqueamiento intracoronal no representan un método efectivo para la rápida neutralización del peróxido residual tóxico.⁵³ Por otro lado, se realizó un estudio donde se evaluó el papel de un antioxidante, el ascorbato de sodio, donde fueron sumergidas por 3 horas las muestras de esmalte blanqueadas con peróxido de carbamida al 10% por 8 horas, que iban ser sometidos a procedimientos adhesivos, concluyendo que el ascorbato de sodio es eficaz en revertir el efecto oxidante del agente blanqueador, pero involucra un largo período de aplicación lo que resultaría clínicamente poco aceptable.⁴⁶ Rotstein y col,⁵³ encontraron que la catalasa aplicada tópicamente por 3 minutos fue eficaz en eliminar totalmente el peróxido de hidrógeno residual contenido en las estructuras dentarias después de la aplicación del peróxido de hidrógeno intracoronalmente. La catalasa es una enzima esencial para el funcionamiento

apropiado de los mecanismos de defensa del organismo, actúa promoviendo reacciones que involucran la descomposición del peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua. Es considerada una de las enzimas antioxidantes primarias que protegen contra los radicales tóxicos de oxígeno producidos durante el metabolismo normal y después de situaciones de estrés oxidativo.⁵⁴

2.1.3 Sistemas adhesivos

2.1.3.1 Generalidades

Un adhesivo es una sustancia que mantiene juntas o une las superficies de dos materiales. Puede producirse una unión química en el plano atómico o molecular, o un engranaje mecánico o micromecánico.⁵⁵

En odontología se emplea con frecuencia el término Bonding, que comprende ambos mecanismos adhesivos. Puesto que muchas técnicas dan más importancia a las fuerzas micromecánicas, el término Bonding, se utiliza con más frecuencia que el término adhesión. Un ejemplo de unión micromecánica es la técnica de grabado ácido del esmalte, en la que el adhesivo penetra en las irregularidades de la superficie. Esto sólo es posible cuando el adhesivo moja completamente la superficie.⁵⁵

El objetivo de la odontología adhesiva es una adhesión combinada fisicoquímica que conduzca a una unión entre la sustancia dentaria y el adhesivo a través de los siguientes mecanismos:⁵⁵

- Atracción electrostática entre moléculas polarizadas (dipolos).

- Enlaces de puentes de hidrógeno.
- Enlaces químicos verdaderos (enlace covalente o iónico).

Los enlaces de puentes de hidrógeno son muy inestables e un medio acuoso. Por ello el objetivo es conseguir enlaces covalentes o iónicos, considerablemente más estables.

2.1.3.2 Adhesión: resina a esmalte

Ya en 1955, Buonocore, propuso la técnica de grabado ácido del esmalte. Pero fueron necesarios casi 20 años para que fuese aceptada por el conjunto de la odontología. Revolucionó la odontología y supuso el comienzo de la odontología adhesiva.⁵⁵

La adhesión a esmalte requiere el pretratamiento de la superficie del esmalte con ácido. Para ello se emplea ácido fosfórico al 15- 40%. De este modo se consigue una adhesión que resiste fuerzas de tracción superiores a los 20MPa. Esto es suficiente para resistir las fuerzas que se originan durante la contracción de polimerización.⁵⁵

2.1.3.3 Historia de los adhesivos dentinarios.

2.1.3.3.1 Adhesivos dentinarios de primera y segunda generaciones

En 1951, Hagger, desarrolló uno de los primeros adhesivos. Era un ácido glicerofosfórico- dimetacrilato. El producto se denominó Sevrition. En un medio húmedo, la unión no tenía una duración muy estable y se descomponía.⁵⁶

En 1965, Bowen propuso el primer adhesivo dentinario. Un n- fenil-glicina-glicidil-metacrilato (NPGGMA) se unía con el diente mediante copolimerización. Ésta era una molécula bifuncional, un extremo de la cual podía unirse con la dentina y la otra con la resina. Cervident de S.S. White fue el primer adhesivo dentinario comercial.⁵⁵

- Clínica: más del 50% de las restauraciones se desprendían en 6 meses. Otros adhesivos dentinarios emplean un sistema adhesivo mejorado con monómeros aminocarboxilos (Ej., Miragebond y Tenure).⁵⁵

En 1978 salió al mercado el primer Clearfil Bond System F (Kuraray). Contenía un monómero hidrófobo (Fenil-p= metacriloiloxietil-fenil-hidrogenofosfato) que actuaba como un metacrilato hidrosoluble (HEMA=hidroxietil- metacrilato) y, por tanto, representó un sistema de dos componentes. Los activadores responsables de la polimerización estaban repartidos entre ambos componentes.⁵⁷

- Clínica: los valores de adhesión a la dentina permanecieron durante mucho tiempo por debajo de 3 MPa. Sólo después de que Fusayama introdujera el sistema de grabado ácido de la dentina (técnica del grabado total) aumentaron los valores de adhesión. El sistema fue el primero que consiguió valores de adhesión satisfactorios a dentina y esmalte.⁵⁸

En 1983 salió al mercado Scotchbond. Muy parecido al Clearfil. En lugar de fenil-p contiene un éster fosfato de BISGMA. Como Clearfil, Scotchbond es también un sistema bicomponente, de resina y líquido. ⁵⁵

La resina se compone en un 57% del éster diclorofosfato del BISGMA mencionado antes y en un 43% de un TEGDMA de baja viscosidad, y el habitual acelerador de la polimerización. El fluido contiene etanol al 95% y otros aceleradores (canforoquinona, sulfato de benceno sódico). ⁵⁵

Función: aunque Fusayama ya había aportado pruebas de que la técnica de grabado total no dañaba la pulpa, aún se pensaba que no debería grabársela. Se esperaba poder crear una unión química a la resina mediante la proporción rica en calcio del barrillo dentinario, con ayuda de los grupos fosfato del adhesivo. Por ello, los valores de adhesión de 3,5- 4 MPa aún no eran considerablemente superiores a los de la capa de barrillo. ⁵⁵

La producción y venta de adhesivos dentinarios era un negocio lucrativo. Poco después de la introducción de los adhesivos con base de fosfato aparecieron productos con un funcionamiento semejante en el mercado: ⁵⁵

- Bondlite (Kerr), con un glicerol- dimetacrilato.
- Dentin-Bonding Agent (Jhonson and Jhonson) con éster de ácido fosfórico de hema.
- Universal Bond (Caulk), etc.

Sin embargo, el 30% de las obturaciones cervicales sin grabado del esmalte y el 10% de las que habían sido sometidas a grabado del esmalte mostrar pérdida de la adhesión al cabo de 1 año. Las causas del fracaso estaban en la disolución del enlace fosfato o en el desprendimiento de la capa del barrillo. La diferencia en los coeficientes de expansión térmica producía filtraciones y aceleraba el fracaso.

Bowen y Cobb (1965) siguieron otro camino. No trabajaron con grupos fosfato, sino que introdujeron los sistemas oxalato. El oxalato férrico inicial fue cambiado por un oxalato de aluminio a causa de las tinciones dentarias. El primer producto comercial, Tenure (Den-Mat), se introdujo en 1982.⁵⁵

El sistema era muy complejo y requería ocho pasos. Posteriormente esta técnica se simplificó de manera considerable mediante el uso de NPGGMA, un aminoácido activo en superficie.⁵⁵

2.1.3.3.2 Adhesivos dentinarios de tercera y cuarta generaciones

Las investigaciones clínicas de los adhesivos dentinarios de la primera generación sólo se llevaron a cabo después de su introducción en el mercado. Como los resultados fueron con frecuencia poco satisfactorios, era necesario mejorarlos urgentemente.

Los siguientes adhesivos dentinarios pertenecen a la tercera generación:

- Tenure (Den-Mat): un acondicionador con un 3,5% de oxalato de aluminio, 2,5% de ácido nítrico y un 94% de agua que elimina el barrillo

dentinario; la resina fluye al interior de los túbulos dentinarios y posibilita la retención.

- Mirage Bond (Myrons) y Restobond (Lee), formulados igualmente por Bowen: tras eliminar parcialmente la capa de barrillo dentinario con un acondicionador, que consiste en un 4% de NPG, 2,5% de ácido nítrico y un 93,5% de agua, una resina hidrófila (PMDM) infiltra la superficie.
- Gluma es un producto desarrollado por Munksgaard y Asmussen. El esmalte se graba con ácido fosfórico al 37%. La dentina se acondiciona con EDTA al 17% y se elimina la capa de barrillo dentinario. El imprimador usado a continuación contiene glutaraldehído al 5%, que reacciona con la dentina. Entonces se produce una reacción de condensación con HEMA al 35% (y un 60% de agua) y el glutaraldehído. Después del imprimador se aplica una resina sin relleno y se polimeriza. Gluma fue el primer adhesivo dentinario con un porcentaje alto de éxito documentado. El Gluma 2000 no contiene glutaraldehído.
- Scotchbond 2 no emplea ningún acondicionador de dentina. El imprimador es suficientemente ácido para acondicionar la capa de barrillo dentinario. El Bonding se compone de un 62,5% de BISGMA y un 37,5% de HEMA. Como tenía una capa inhibida por el oxígeno muy activa, tenía que aplicarse una capa bastante gruesa. Fue el primer adhesivo que consiguió la aceptación provisional de la American Dental Association (ADA).
- Xr Bond emplea un imprimador que contiene fosfato y se infiltra en la capa de barrillo dentinario. De este modo crea una capa infiltrada por resina, a la que se une el Bonding.

- Primer Universal Bond 2 funciona de modo similar al anterior. El imprimador está compuesto de un 6% de PENTA, un 30% de HEMA y un 64% de etanol; crea una capa impregnada de resina en la capa de barrillo dentinario.

Los valores de adhesión a dentina de los adhesivos dentinarios de tercera generación están entre 10 y 12 MPa. En todos los casos se graba la dentina con un ácido orgánico débil y se elimina la capa de barrillo dentinario.

Entre la tercera y cuarta generación de los adhesivos dentinarios se encuentran Clearfil New Bond, que es un adhesivo de polimerización puramente química, y Clearfil Photo-Bond, que es de polimerización dual. Se graban igualmente esmalte y dentina con ácido fosfórico al 37%. Con una resina hidrofílica, que contiene acondicionador y adhesivo, se crea una capa híbrida.

Los adhesivos dentinarios clásicos constan de tres componentes: acondicionador, imprimador y adhesivo.

Acondicionador: ácidos, que eliminan, disuelven o alteran la capa de barrillo dentinario. Desmineralizan la dentina y exponen la estructura del colágeno. Además, abren los túbulos dentinarios y posibilitan la formación de una capa híbrida.

- Clearfil Liner Bond: ácido cítrico al 10% y cloruro de calcio al 20%.

- Optibond: ácido fosfórico al 37%.
- Scotchbond MP: ácido maléico al 10%.
- Scotchbond MP Plus: ácido fosfórico al 35%.

Imprimador: resina hidrófila que se introduce en las estructuras expuestas (túbulos dentinarios, red de colágeno expuesta y dentina intertubular) y forma una capa híbrida. A este imprimador se une el Bonding, una resina con bajo relleno.

- Clearfil Liner Bond: MDP, HEMA, glicerolfosfato-dimetacrilato.
- Optibond: HEMA, glicerolfosfato-dimetacrilato.
- Scotchbond MP: HEMA, isocianoetil- metacrilato.

Adhesivo: el adhesivo es una resina de baja viscosidad (dimetacrilato) que se une al imprimador. Después de la polimerización del adhesivo ya se ha creado la capa híbrida.

Ya en 1982, Nakabayashi describió que la adhesión a esmalte y dentina podía mejorarse empleando MMA y tri-n-butil-borano (MMA-TBB). Su hipótesis era que los monómeros deben difundirse por la dentina antes de la polimerización.

En la cuarta generación de los adhesivos se emplean PMDM, BPDM, MDP y monómeros PENTA-P para formar una capa híbrida. Los productos que tienen esta composición química se clasifican como productos 4- META.

Nakabayashi grababa la dentina con ácido cítrico al 10% y cloruro férrico al 3%. El ácido cítrico elimina la capa de barrillo dentinario y graba la hidroxiapatita inorgánica de la matriz orgánica de la dentina hasta una profundidad de 5-10 μm . El cloruro férrico al 3% produce entonces una desnaturalización de los haces de colágeno expuestos. Entonces un monómero hidrófilo, componente del imprimador, puede infiltrarse en la dentina e incorporar los haces de colágeno. Simultáneamente, el sistema 4-meta tiene unos valores de adhesión a esmalte, metales y porcelana muy elevados.

All-Bond-2 de Bisco fue el líder del mercado durante varios años. Emplea ácido fosfórico al 35% para el acondicionamiento de la dentina. El imprimador se compone de acetona y bifeníl- dimetacrilato (BPDM). La acetona que contiene el imprimador evapora la humedad existente o creada y arrastra el monómero. All-Bond-2 no sólo tiene unos valores de adhesión a dentina y esmalte excelentes, sino también a otros materiales.

Los valores de adhesión del sistema All-Bond-2 a la dentina húmeda son considerablemente superiores a los que tiene a la dentina seca.

Scotchbond Multi-Purpose (MP) es otro ejemplo de un adhesivo dentinario de cuarta generación. Graba esmalte y dentina con ácido maléico al 10%, el cual fue cambiado posteriormente por ácido fosfórico al 35% con el Scotchbond MP Plus.

Con estos sistemas se pueden grabar esmalte y dentina simultáneamente y también acondicionarlos al mismo tiempo. A este grupo pertenecen también productos que acondicionan por separado esmalte y dentina (Ej., Syntac, Denthesive II y otros).

2.1.3.3 Adhesivos dentinarios de quinta generación

Una posibilidad para simplificar la aplicación de los componentes es reducir la cantidad de los mismos. Aunque varios adhesivos dentinarios aparentan ser un único método con un componente (Ej. Syntac Single Component) y un único paso clínico (One-Step, Bisco), todos los productos contienen al menos dos componentes y dos pasos clínicos.

El acondicionador y el imprimador pueden combinarse entre sí. Se habla entonces de imprimadores de autograbado o autoacondicionantes. Éste es el caso de Clearfil Liner Bond 2. De hecho la mayoría de los fabricantes han pasado a combinar el imprimador y el adhesivo. Prime & Bond es el más conocido. La cantidad de pasos requeridos no es menor que en los sistemas de tres componentes. Además, se recomienda colocar dos capas consecutivamente y entre ellas secar y polimerizar cada vez.

2.1.3.4 Resinas compuestas o composites

2.1.3.5 Generalidades

El objetivo, sobre todo en dientes anteriores, ha sido siempre crear restauraciones del mismo color del diente. En la primera mitad del siglo XX sólo existían cementos. El material de elección era el cemento de silicato. Por

entonces se admitía que el bajo valor continuo del pH producía daño pulpar. Por ello se intentaba taponar el efecto del ácido mediante una base de hidróxido de calcio básico. El desarrollo de resinas de composite fue el comienzo de una nueva época.⁵⁵

Los composites dentales contienen tres componentes: una matriz de polímero, un agente de unión y partículas de relleno. La matriz de polímero se mezcla con las partículas de relleno y forman un material combinado de cerámica y polímero, denominado material de composite. Por el desgaste, el pulido y la carga, las partículas de relleno se abren a la superficie del composite y pueden desprenderse. Para evitarlo las partículas deben estar adheridas a la matriz de polímero.⁵⁵

2.1.3.6 Componentes

2.1.3.6.1 Sistemas de matriz de resina

La matriz del composite consiste en múltiples uniones químicas, de las cuales la resina es la más importante. En su formación entran sustancias químicas que inician el proceso de polimerización, pero también otras sustancias que impiden que el composite polimerice espontáneamente durante su almacenamiento. Además, la matriz contiene también enlaces químicos que mejoran las cualidades estéticas del composite.⁵⁵

2.1.3.6.1.1 Matriz de MMA

Los sistemas de resina se basan principalmente en la tecnología del metilmetacrilato o MMA. Los problemas, como la baja resistencia a la abrasión,

la permeabilidad de los márgenes y una tendencia a la tinción fueron la razón del desarrollo de nuevos materiales de restauración asados en MMA. En 1951 se añadió por primera vez la resina de metilmetacrilato partículas de relleno de óxido de aluminio para reducir la contracción de polimerización del material restaurador. Lamentablemente, estos materiales no satisficieron las esperanzas puestas en ellos.

2.1.3.6.1.2 Matriz de BISGMA

Como sustituto del MMA se propuso una resina con base epoxi. Puesto que las resinas epoxi polimerizan mal en un ambiente húmedo, clínicamente no podían emplearse. Por ello Bowen en 1963, ligó a cada extremo una molécula de Bisfenol-A con un grupo glicidilmetacrilato. Con esta síntesis consiguió aprovechar, por un lado, el buen funcionamiento en seco del metacrilato y, por otro, la resistencia de la molécula Bisfenol-A. Otra ventaja de la molécula, que se llamó BISGMA, era los dos grupos metacrilato que al polimerizar la molécula de BISGMA formaban una estructura entrelazada. La molécula de BISGMA es mayor que la de MMA. Por ello, la cantidad de enlaces dobles por mililitro de monómero del monómero de BISGMA es menor. Al disminuir la cantidad de enlaces dobles por mililitro, la contracción de polimerización de las resinas con base de BISGMA resultó menor que la de las resinas basadas en MMA.

La molécula de BISGMA dispone de dos grupos OH y dos anillos de benzol centrales. Los anillos de benzol refuerzan la parte media de la molécula, mientras que los grupos OH forman un enlace en forma de puente de hidrógeno con el grupo OH de la molécula de BISGMA vecina. Por ello, el

BISGMA es un monómero muy viscoso. La alta viscosidad retrasa la sedimentación del relleno, pero a la vez dificulta la incorporación de un gran volumen de partículas de relleno e el monómero. Como la adición de partículas de relleno aumenta aún más la viscosidad de la resina, la viscosidad del monómero de BISGMA debe reducirse con un monómero poco viscoso. Un monómero empleado con frecuencia para ello es el trietilenglicol- dimetacrilato (TEGDMA).

2.1.3.6.1.3 Matriz de TEGDMA

La molécula de TEGDMA dispone igualmente de dos grupos metacrilato terminales y también puede formar una red. Consiste en una cadena flexible y no tiene grupos OH. La alta flexibilidad de la molécula de TEGDMA reduce su viscosidad y aumenta la probabilidad de que sus dobles grupos roten y así, durante el secado, reaccionen con otras uniones. El elevado número de enlaces dobles y la menor capacidad para tomar parte en la polimerización producen una marcada contracción por cada porción de TEGDMA, pero simultáneamente mejoran las propiedades mecánicas de la matriz. Mezclándola con TEGDMA, la matriz se hace menos viscosa y adherente, lo que aumenta el riesgo de sedimentación del relleno. No obstante, cabe aumentar la viscosidad aumentando el relleno, lo que disminuye al mismo tiempo la contracción. Estos factores mejoran considerablemente el composite.

2.1.3.6.2 Agentes de unión

Para conseguir una buena unión entre el composite y el relleno, la resina debe mojar las partículas de relleno o crear una unión química o mecánica con

las partículas. Estos agentes, denominados agentes de unión, que pueden emplearse para conseguir una unión química, pertenecen en su mayoría al grupo de los silanos.

Como el componente principal de la mayoría de partículas de silano es SiO₂ (vidrio), tiene sentido la unión entre la molécula de silano y la superficie de relleno. En un medio acuoso la superficie de relleno presenta grupos SiOH. Esta superficie recubierta con SiOH absorbe aún más agua del ambiente. Puesto que las resinas, como el BISGMA son hidrófobas, las moléculas de BISGMA no mojan suficientemente la superficie del SiOH, “contaminada” con agua. No obstante, si las partículas de vidrio se tratan con un silano hidrolizado como el alfa-metacriloxipro-piltrimetoxisilanol (MPS), la superficie hidrófila del SiOH se hace hidrófoba, y al mismo tiempo se une con la matriz orgánica de la resina. Esta transformación mejora la capacidad de la resina de mojar la superficie de las partículas y con ello facilita la retención mecánica entre la resina y el relleno. Además, las moléculas de silano pueden formar enlaces químicos con la superficie de relleno, produciéndose una reacción de condensación entre los grupos silanol, tanto del silano como de las superficies de vidrio. Cuando más tarde se endurece el material de la matriz, los grupos formados por la molécula MPS, que tiene un grupo metacrilato, pueden formar un enlace covalente con la resina de la matriz.

La reacción de enlace descrita tiene efectos considerables e algunas propiedades mecánicas, en especial en la abrasión y la resistencia a la tracción.

2.1.3.6.3 Relleno

Las partículas de relleno empleadas para los composites se fabrica deshaciendo grandes fragmentos de cuarzo o vidrio. Una segunda posibilidad consiste e la “caída” de partículas en un fluido o en una mezcla de gases encendida. Si las partículas se obtienen por “molido”, el proceso de obtención va de partículas mayores a menores. Por el contrario, en la “caída”, a partir de un pequeño tamaño inicial, se obtienen partículas mayores.

El tamaño de partícula de un composite es importante, ya que influye en las propiedades del material, como la resistencia y las condiciones de superficie. En general, cuantas más pequeñas son las partículas de relleno, mayor es la superficie del relleno. Como el monómero de la matriz de resina se fija a la parte superficial del relleno, cada partícula del relleno está rodeada por una capa de resina. Si el grosor de esta capa de relleno es constante e independiente del tamaño de la partícula, las partículas más pequeñas aumentan la cantidad de volumen de resina por gramo de relleno.

Las propiedades reológicas de un composite están determinadas en su mayor parte por el volumen de resina no unida. Por ello es necesario una cantidad determinada de resina no unida para conseguir una viscosidad y unas características de trabajo convenientes. Como consecuencia, cuando el tamaño de las partículas de relleno disminuye y, con ello, se une más resina a la superficie de relleno, hay que añadir más resina para conseguir una viscosidad adecuada. Así, los composites con partículas de relleno inorgánicas

cuyo tamaño esté entre 0,02 y 0,04 μm (composites de microrrelleno) son considerablemente más ricos en resina que los composites con un tamaño de partícula entre 0,1 y 1 μm (es decir, composites de partícula pequeña). Debido a la importancia de las partículas de relleno para las propiedades del composite, los composites se dividen en:

- Composites de macrorrelleno.
- Composites de microrrelleno
- Composites híbridos (combinación de macro y microrrelleno).

Estos grupos principales se subdividen en distintos subgrupos.

2.1.3.6.3.1 Macrorrelleno

La mayoría de los composites de macrorrelleno disponibles actualmente contienen una pequeña cantidad (1-7%) de partículas de microrrelleno (diámetro 0,02- 0,04 μm). Éstas se emplean para conseguir una viscosidad determinada y minimizar el riesgo de desprendimiento del microrrelleno durante el almacenamiento. Las restantes partículas de relleno tienen un tamaño medio inferior a 5 μm . Puesto que el tamaño de las partículas de relleno influye decisivamente en la rugosidad de la superficie de un composite, el tamaño de las partículas de los macrorrellenos corrientes está entre 1 y 3 μm , y la proporción se encuentra alrededor del 60- 73% en volumen. Estos composites se clasifican como composites con relleno de partícula pequeña. El reducido tamaño de las partículas y la alta proporción de relleno garantizan tanto unas buenas propiedades físicas como una textura superficial agradable.

2.1.3.6.3.2 Microrrelleno

Los composites de microrrelleno contienen pequeñas partículas de relleno inorgánico (SiO_2) con un tamaño medio de $0,04 \mu\text{m}$. A causa de la considerable superficie por gramo de relleno, es difícil añadir estas partículas en altas concentraciones directamente al monómero de resina. Por ello, al fabricar las partículas de microrrelleno se incorpora un monómero de resina de baja viscosidad para conseguir un composite de microrrelleno homogéneo, que más tarde polimeriza. Tras el polimerizado, se tritura este composite homogéneo de microrrelleno para obtener partículas de relleno y composite. Estas partículas de relleno se mezclan a continuación con un monómero que contiene partículas de microrrelleno. La pasta obtenida de este modo es el denominado composite de microrrelleno heterogéneo.

No obstante, también existen otros composites de macrorrelleno que se comercializan como de microrrelleno. Otras posibilidades son la producción de partículas de relleno esféricas o de grandes aglomerados de microrrelleno de $3-5 \mu\text{m}$, obtenidos por aglomerados de partículas de $0,04 \mu\text{m}$. Mediante este procedimiento es posible fabricar composites que realmente son composites de macrorrelleno, pero formados por partículas de microrrelleno. La ventaja de estos materiales es que son sencillos de manipular y, en caso de abrasión, las grandes partículas aglomeradas pueden dividirse en la superficie en las más pequeñas ($0,04 \mu\text{m}$).

2.1.3.6.3 Híbridos

Estos materiales consisten e una combinación de partículas de macrorrelleno y microrrelleno. Los composites híbridos contienen grandes cantidades de partículas de microrrelleno o bien de partículas de microrrelleno aglomeradas esféricas (15- 20% en peso), que se añaden como segundo relleno junto con las partículas de macrorrelleno.

2.1.3.7 Polimerización

2.1.3.7.1 Sistema activador-iniciador

Los composites se componen de dos pastas que inician conjuntamente el proceso de polimerización. Contienen partículas de relleno tratadas con silano y el sistema monómero. Una de las pastas contiene el activador, con frecuencia una amina terciaria, y la otra el iniciador, normalmente peróxido de (di) benzoilo. Al hacer la mezcla, la amina terciaria reacciona con el peróxido de benzoilo, que se divide en dos radicales. Cada producto de la división contiene un electrón desapareado altamente reactivo, que puede formar un enlace con otra molécula. Si uno de estos radicales libres se aproxima a una molécula de metacrilato, rompe el doble enlace C=C y forma un enlace C-O entre ambas moléculas reactivas. El electrón desapareado que queda en el átomo de C vecino puede atacar y romper otros enlaces dobles de metacrilato, de modo que la cadena molecular se alarga progresivamente. Bien iniciado, este proceso de polimerización puede seguir hasta que se rompen todos los enlaces dobles y se forma un polímero de metacrilato enorme.

El gran inconveniente de estos composites de polimerización química es que hay que mezclarlos y, por tanto, durante la mezcla pueden quedar atrapadas burbujas de aire. Por ello, la calidad del composite depende de la técnica de mezcla. Otra ventaja es que la reacción comienza en el momento en que se mezclan ambos componentes. Como consecuencia, la reacción ya está en proceso cuando se rellena la cavidad con el composite. Debido a esto, no es posible obtener una calidad invariable del material de obturación.

Para superar algunos inconvenientes de este composite, en los años sesenta se desarrollaron los denominados composites fotopolimerizables. Aunque en el primer composite fotopolimerizable se empleaba luz ultravioleta (UV) como activador, los modernos, por el contrario, pueden polimerizarse con luz visible.

La activación comienza cuando las sustancias químicas sensibles a la luz (Ej. camforoquinonas) reciben irradiación de una determinada longitud de onda. Los grupos cetona de la molécula de camforoquinona se activan por luz de 468nm de longitud de onda, y reaccionan con otro componente de la resina, por ejemplo, con el dimetilamín-etil-dimetacrilato. Con ello se transfiere un átomo de H al oxígeno del grupo cetona activada y éste se convierte en un grupo hidroxilo.

El electrón que queda en la molécula (radical) de dimetilamín-etil-dimetacrilato comienza la polimerización. La formación de radicales libres en composites fotopolimerizables es más rápida que en los de polimerización química. Puede retrasarse la exposición a la luz hasta que el material de

obtención esté colocado y modelado. El clínico tiene un control considerablemente mejor sobre los composites fotopolimerizables.

A pesar de las ventajas de los composites fotopolimerizables, a veces aparecen problemas. El proceso de polimerización puede desencadenarse también mediante la luz del sillón. Una lámpara de polimerización que no funcione suficientemente bien puede causar un endurecimiento incompleto. Debido a que la intensidad de luz disminuye al aumentar la distancia, la activación comienza primero en el punto más cercano a la fuente de luz. Además, la profundidad de polimerización dependerá de la intensidad de la fuente lumínica y de la transmisión de la luz del composite.

2.1.3.7.2 Sistemas de inhibición

En todos los composites se producen radicales libres durante su almacenamiento. Para inhibir la polimerización espontánea, el monómero contiene pequeñas cantidades de inhibidor. El inhibidor reacciona con los radicales libres y los neutraliza. Como consecuencia, sólo se inicia la formación de cadenas cuando se han agotado todas las moléculas del inhibidor. Mediante la concentración de inhibidor en la resina se pueden controlar con mucha exactitud los tiempos de trabajo del composite.

Con frecuencia se utilizan distintas hidroquinonas. Otro inhibidor es el oxígeno, que se transfiere al composite desde el aire ambiental. La inhibición por oxígeno posibilita que a un composite ya endurecido se le pueda colocar

una nueva capa de composite fotopolimerizable y se alcance una adhesión excelente entre ambas capas.

2.1.4 Proceso de oxidación celular

2.1.4.1 Generalidades

Los radicales libres son especies químicas que tienen un electrón no apareado, las cuales pueden considerarse como fragmentos de moléculas muy reactivos. Se forman de manera continua por las células tanto de manera accidental a partir de los productos del metabolismo, como a causa de la inducción biológica (infección, inflamación) o química (humo del cigarrillo, plaguicidas, contaminantes atmosféricos) de la fagocitosis leucocitaria. En la bioquímica de los radicales libres, o bioquímica inorgánica, los reactantes más importantes en la célula están constituidos por el oxígeno y sus radicales derivados (anión superóxido, radical hidroxilo y singulete), así como los metales de transición. Las células deben desarrollar mecanismos antioxidantes importantes como defensa para evitar la producción de radicales libres, o para limitar la capacidad de daño de éstos. Tales mecanismos incluyen enzimas que descomponen los peróxidos, las proteínas que se combinan con los metales de transición, y una cantidad importante de compuestos, los cuales depuran la reactividad de los radicales libres. Los radicales libres son capaces de oxidar las biomoléculas (lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos) y conducir al daño tisular y a la muerte celular. En la patogenia de diversas enfermedades se ha establecido una correlación con el daño producido por los radicales libres; sin embargo, debe considerarse que estas especies reactivas

tienen una vida media de fracciones de segundo y, por tanto, generalmente sólo es posible detectar y cuantificar el daño producido.⁵⁹

Entre los mecanismos de defensa del organismo durante una infección está bien establecida la participación de los radicales libres de oxígeno como causantes de la lisis bacteriana. Otras funciones del organismo también están mediadas por radicales libres (activación de genes, fusión de la membrana en la fecundación del gameto, etc.); sin embargo, un exceso en la producción de estas especies reactivas es capaz de producir daño a los organismos vivos, y de hecho lo hace. Este exceso explica el daño y la muerte celulares en muchas enfermedades.⁵⁹

2.1.4.2 Radicales libres

Un radical libre puede definirse como cualquier especie atómica o molecular que contiene uno o más electrones no apareados. Pueden formarse a partir de moléculas estables mediante procesos de fisión homolítica y reacciones de transferencia de electrones. Dichas reacciones se generan mediante:⁵⁹

- Absorción de energía ionizante de contenido energético diverso, como son los casos de radiaciones ionizantes, ultravioleta, visibles y térmicas.⁵⁹
- Reacciones redox como la transferencia no enzimática de electrones en el caso de reacciones catalizadas por metales de transición.⁵⁹

- Reacciones catalizadas por enzimas, las que conllevan a la formación de algunas especies reactivas del oxígeno, como es el caso de la formación del peróxido de hidrógeno por la superóxido dismutasa.⁵⁹
- Existen diversos factores que incrementan la producción de radicales libres. (tabla 5)⁵⁹

Factor	Tipificación
Radiación ionizante	Ultravioleta, visible, térmica
Exceso	Metales de transición Oxígeno o aumento de su concentración (isquemia- reperfusión) Leucocitosis o incremento de la fagocitosis en el sitio del daño
Efectos adversos	Fármacos y de compuestos químicos tóxicos
Estrés oxidativo	Causado por diversos estados patológicos o deficiencia de la concentración de antioxidantes Cadena mitocondrial del transporte de electrones, o inhibición de la misma metabolismo del ácido araquidónico Liberación del núcleo hem (eritrocitos), con liberación de hierro (hemólisis)

Tabla 5. Algunos factores que predisponen la formación de radicales libres.

2.1.4.2.1 Especies reactivas del oxígeno

Es importante notar la formación de compuestos secundarios que no poseen electrones libres, como es el caso del peróxido de hidrógeno. Se denominan especies reactivas del oxígeno (ERO) a moléculas más complejas que pueden tener oxígeno o no en la parte reactiva y, en ocasiones, pueden resultar aún más reactivas que los mismos radicales libres de oxígeno. Las especies reactivas de oxígeno, incluyendo radicales hidroxilo (OH), aniones superóxido (O_2^-), y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), se generan como respuesta a estímulos externos e internos. Estas mínimas concentraciones de especies reactivas de oxígeno pueden ser indispensables en muchos procesos, como el sistema de señales intracelulares (que está relacionado con otros procesos como la proliferación celular y la apoptosis), la inmunidad, y la defensa contra

microorganismos. Sin embargo, altas dosis o una eliminación inadecuada de ERO dan lugar a estrés oxidativo, que puede causar graves disfunciones metabólicas y daño a macromoléculas biológicas. Va a existir, por tanto, una relación entre los niveles de las enzimas antioxidantes y los tres tipos de moléculas mensajeras (factores de crecimiento, prostaglandinas y óxido nítrico) implicadas en la homeostasis celular, es decir, un equilibrio entre el mantenimiento de las condiciones estáticas o constantes en el medio interno celular y el nivel de ERO. ⁵⁹

2.1.4.2.2 Radicales libres en fisiopatología

Las afecciones vinculadas con el daño debido a radicales libres se interrelacionan estrechamente con la naturaleza de las reacciones en las que intervienen dichos radicales libres y las moléculas con las cuales interaccionan éstos. Esta constituye la razón de que se encuentren involucrados en la causa de numerosos padecimientos. Algunos estados clínicos y padecimientos vinculados con la intervención de los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno se presentan a continuación: ⁵⁹ (tabla 6)

- Inflamación y padecimientos inmunitarios: glomerulonefritis, vasculitis, enfermedades autoinmunitarias, y artritis reumatoide.
- Estados de isquemia y reperfusión: embolia- infarto de miocardio- arritmia; rechazo de trasplantes; inflamación de las articulaciones; daño por congelación; contractura de dupuytren, y osteonecrosis disbárica.
- Reacciones inducidas por fármacos y toxinas: sobrecarga de hierro, talasemia, deficiencias nutricias, y alcoholismo.

- Daño por radiación: exposición nuclear y accidental; radioterapia, y sensibilización celular a la hipoxia.
- Envejecimiento: trastornos propios del envejecimiento prematuro.
- Cambios vinculados con los eritrocitos: intoxicación por plomo; paludismo; hemólisis de cualquier origen; anemia de células falciformes; anemia de Fanconi, anemia hemolítica del prematuro.
- Trastornos neumológicos: efecto del humo del cigarrillo; enfisema pulmonar; displasia broncopulmonar; oxidaciones derivadas de la contaminación (O_3 , NO_2); neumoconiosis por polvos minerales; carcinogenicidad del asbesto.
- Anomalías cardiovasculares: cardiomiopatía alcohólica; enfermedad de Keshan (deficiencia de selenio); aterosclerosis.
- Trastornos nefrológicos: síndrome nefrótico autoinmunitario; nefrotoxicidad de los aminoglucósidos y nefrotoxicidad de los metales pesados (Pb, Cd, Hg).
- Alteraciones gastrointestinales: lesión endotóxica del hígado, lesión hepática por hidrocarburos halogenados (halotano, bromobenceno), pancreatitis, intoxicación por hierro, lesiones gastrointestinales inducidas por antiinflamatorios no esteroideos.
- Trastornos cerebrales, del sistema nervioso y neuromusculares: oxígeno hiperbárico; deficiencia de vitamina E; neurotoxinas; enfermedad de Parkinson, lesión cerebrovascular hipertensiva; esclerosis múltiple.
- Padecimientos oftalmológicos: cataratas; hemorragia ocular; daño degenerativo de la retina; retinopatía fótica.

- Trastornos tegumentarios: lesiones por radiación solar; lesiones por calor; porfiria; fotosensibilización, y dermatitis por contacto.

Estadio clínico	Padecimiento
Inflamación y padecimientos inmunitarios:	Glomerulonefritis, vasculitis, enfermedades autoinmunitarias, y artritis reumatoide.
Estados de isquemia y reperfusión	Embolia- infarto de miocardio- arritmia; rechazo de trasplantes; contractura de dupuytren, y osteonecrosis disbárica.
Reacciones inducidas por fármacos y toxinas	Sobrecarga de hierro, talasemia, deficiencias nutricias, y alcoholismo.
Daño por radiación	Exposición nuclear y accidental; radioterapia, y sensibilización celular a la hipoxia.
Envejecimiento	Trastornos propios del envejecimiento prematuro.
Cambios vinculados con los eritrocitos	Intoxicación por plomo; paludismo; hemólisis de cualquier origen; anemia de células falciformes; anemia de Fanconi, anemia hemolítica del prematuro.
Trastornos neumológicos	Efecto del humo del cigarrillo; enfisema pulmonar; displasia broncopulmonar; neumoconiosis por polvos minerales; carcinogenicidad del asbesto.
Anomalías cardiovasculares	Cardiomiopatía alcohólica; enfermedad de Keshan (deficiencia de selenio); aterosclerosis.
Trastornos nefrológicos	Síndrome nefrótico autoinmunitario; nefrotoxicidad de los aminoglucósidos y nefrotoxicidad de los metales pesados (Pb, Cd, Hg).
Alteraciones gastrointestinales	Lesión endotóxica del hígado, lesión hepática por hidrocarburos halogenados (halotano, bromobenceno), pancreatitis, intoxicación por hierro, lesiones gastrointestinales inducidas por antiinflamatorios no esteroides.
Trastornos cerebrales, del sistema nervioso y neuromusculares	Oxígeno hiperbárico; deficiencia de vitamina e; neurotoxinas; enfermedad de parkinson, lesión cerebrovascular hipertensiva; esclerosis múltiple.
Padecimientos oftalmológicos	Cataratas; hemorragia ocular; daño degenerativo de la retina; retinopatía fótica.
Trastornos tegumentarios	Lesiones por radiación solar; lesiones por calor; porfiria; fotosensibilización, y dermatitis por contacto.

Tabla 6. Relación entre radicales libres y padecimientos clínicos.

2.1.4.3 Antioxidantes

Un antioxidante con función biológica se define como aquella sustancia que presente en concentraciones muy pequeñas comparadas con la de un sustrato oxidable, disminuye o evita la oxidación del sustrato toda vez que

resulta un agente reductor más potente. En bioquímica inorgánica puede considerarse como un donador de electrones capaz de evitar una reacción en cadena de oxidorreducción.⁵⁹

2.1.4.3.1 Clasificación

De acuerdo con el mecanismo de acción, se pueden considerar dos tipos de antioxidantes:⁵⁹

- Antioxidantes preventivos. Estos actúan al inicio de una cadena de oxidación para reducir o impedir el comienzo de una cadena de oxidorreducción. Como ejemplos se pueden considerar los reductores de peróxidos orgánicos e inorgánicos (enzimas glutatión peroxidasa, catalasa y peroxidasa).
- Antioxidantes secundarios. Son interruptores que actúan al bloquear en alguna etapa la cadena de oxidación ya iniciada al captar radicales libres y al acortar la longitud de la cadena de oxidación y sus consecuencias (vitaminas E y C y la enzima superóxido dismutasa).

Otra manera de clasificar a los antioxidantes considera su estructura química y su función biológica y, en este sentido, pueden ser:⁵⁹

- Enzimas. Dentro de estas tenemos a la glutatión peroxidasa, la catalasa y la superóxido dismutasa.
- Compuestos no enzimáticos. Como las vitaminas C y E, el β - caroteno, ácido úrico, bilirrubina, entre otros.

2.1.4.3.1.1 Compuestos enzimáticos

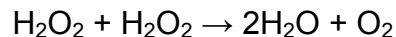
2.1.4.3.1.1.1 Superóxido-Dismutasa

Es el más importante y representativo, la cual consiste en una glucoproteína tetramérica inducible por los corticoides. En razón de su estructura polimérica, se presenta en varias isoenzimas para catalizar la dismutación del anión superóxido, posiblemente el radical más común, con la inactivación consecuente.



2.1.4.3.1.1.2 Catalasa

Está presente en los peroxisomas, funciona en la protección antioxidante y cataliza la reacción:

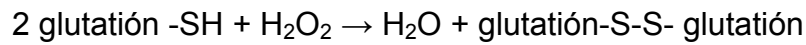


Esta enzima resulta muy importante en la eliminación del peróxido de hidrógeno al impedir la catálisis de los metales hacia el OH. Sin embargo, su escasa presencia en el plasma dio lugar a buscar, con éxito, un aumento de su vida circulante mediante cambios estructurales en laboratorio.

2.1.4.3.1.1.3 Peroxidasa

Representan así mismo, un grupo muy importante y dentro de estas la más importante en el mamífero es la glutatión peroxidasa.

La enzima glutatión peroxidasa constituye la única que se ha informado dependiente del selenio y cataliza la siguiente reacción:



2.1.4.3.1.2 Condiciones inherentes en las reacciones enzimáticas

2.1.4.3.1.2.1 El efecto de la concentración de la enzima

La velocidad de la reacción enzima- sustrato es directamente proporcional a la concentración de la enzima. Esta disminuirá, a medida que aumenta la concentración del sustrato.

2.1.4.3.1.2.1.1 El efecto de la temperatura

La mayoría de reacciones enzimáticas ocurren a temperaturas entre 0 y 60°C. La temperatura óptima está usualmente relacionada a la temperatura del medioambiente celular de la cual es derivada la enzima. En mamíferos, la temperatura óptima es aproximadamente 37°C mientras, que para muchas enzimas de origen bacteriano o vegetal, ésta puede ser mayor.

2.1.4.3.1.2.1.2 El efecto del pH

Cada enzima tiene un pH óptimo característico que fluctúa entre 5 y 9. Cuando son sometidas a pH extremo, son desnaturalizadas, originándose la pérdida permanente de actividad.

2.1.4.3.1.2.2 Compuestos no enzimáticos

2.1.4.3.1.2.2.1 Vitamina E

Conformada por la mezcla de cuatro tocoferoles, de los cuales el más importante es el α tocoferol. Es el principal antioxidante liposoluble y se encuentra tanto en el plasma vinculado con los lípidos circulantes como en todas las membranas celulares. En el ser humano la vitamina E protege contra la lipoperoxidación, al actuar de manera directa con varios radicales entre los que se incluyen OH, radical peroxilo, el triclorometilo CCl_3 , así como el anión superóxido O_2^- .

2.1.4.3.1.2.2.2 Vitamina C

Consiste en una molécula hidrosoluble, la cual interacciona prácticamente con los mismos oxirradicales que la vitamina E. Sin embargo, es importante considerar que, en presencia de metales de transición (hemólisis), la vitamina C es capaz de facilitar la producción de radicales libres al parecer sin vinculación en la lipoperoxidación.

2.1.4.3.1.2.2.3 β - caroteno

Pigmento presente prácticamente en todas las plantas y el cual constituye el precursor más importante de la vitamina A, presenta también actividad antioxidante. Es la molécula que reacciona más eficazmente con el singulete de oxígeno. Sin embargo, la vitamina A no interacciona con el singulete de oxígeno y carece de actividad para la depuración de los radicales libres.

3 Parte III

3.1 Desarrollo y estudio de la hipótesis

Debido a la naturaleza del presente estudio, el aspecto metodológico será desarrollado en dos fases: la primera destinada a la descripción de la preparación de muestras para el estudio de la fuerza adhesiva tensional de los composites a los diferentes sustratos adamantinos y observación por microscopia confocal y electrónica de barrido (MEB) de la penetración de los “tags” de resina; y la segunda fase comprende el estudio de superficie de los diferentes sustratos dentarios, por medio de espectrometría de fotoelectrones y microscopia confocal.

3.1.1 Materiales y métodos

3.1.1.1 Fuerza adhesiva tensional y visualización de la penetración de los “tags” de resina por medio de microscopia confocal y electrónica de barrido

3.1.1.1.1 Preparación de la muestra

Setenta y cinco dientes terceros molares con anomalías de posición obtenidos del Servicio de Cirugía Oral y Máxilofacial del Hospital de Ceará, Fortaleza- Brasil, con un tiempo máximo post extracción de tres meses fueron utilizados en el estudio. Todos los dientes fueron seleccionados, verificando ausencia de caries, restauraciones o fracturas. Cada diente fue limpiado de restos de tejido blando utilizando fragmentos de gasa únicamente. Los dientes

fueron almacenados por 7 días en cloramina al 5% más agua destilada, para evitar el posible riesgo de infecciones cruzadas.

Posteriormente los dientes fueron almacenados en agua destilada desionizada a una temperatura de 4°C hasta el momento del estudio.

El tercio apical radicular de cada diente fue amputado con disco de diamante de doble cara activa de 19mm de diámetro (Bredent, Germany) y entonces introducidos en cámara de desecación por 24 horas a una temperatura de 37,5°C, (Fig.2 y 3) para mejorar la fijación en polímero.



Fig. 2. Cámara de desecación



Fig. 3. Cámara de desecación con la muestras incluídas

Como matrices fueron utilizados moldes plásticos rectangulares de 35x25x15mm, donde los dientes fueron fijados con parafina, evitando de esta manera su movilización (Fig.4 y 5) y tratando de que la cara más recta y regular de la superficie de esmalte forme un ángulo de 90° con la base del molde, esto para efectuar de manera más fiable las pruebas mecánicas tensionales (Fig.6).

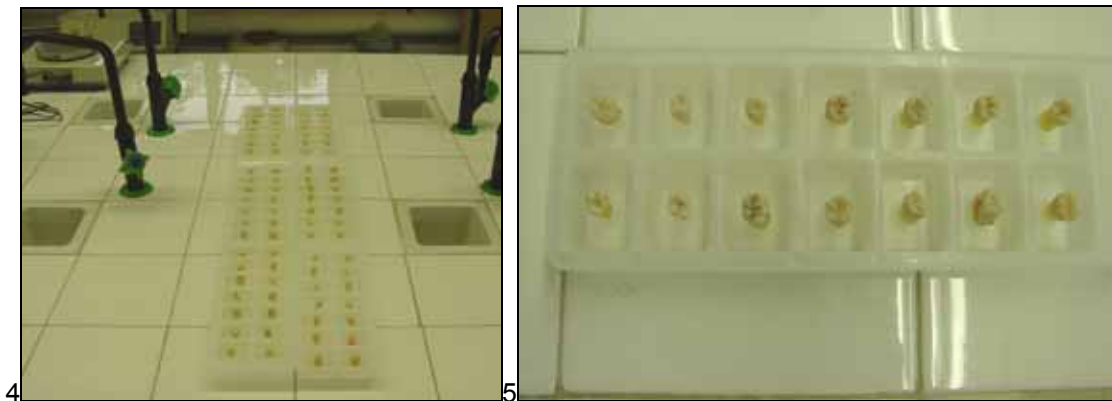


Fig.4. Dientes incluidos en las matrices de plástico.
Fig.5. Dientes fijados con parafinas.

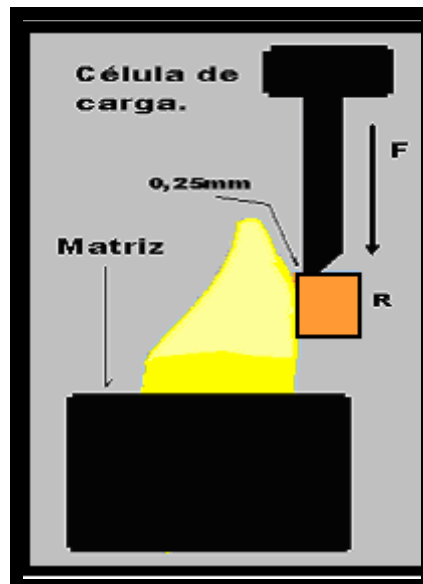


Fig.6. Representación esquemática de la posición de la posición de esmalte en relación a la base de matriz de polímero y orientación de la célula de carga.

Una vez conseguida la fijación de los dientes, se procedió a la preparación del polímero (polilite 9944), en relación líquido/líquido con una proporción de catalizador de 1,2%, el cual fue incluido en los diferentes moldes conteniendo los dientes fijados con parafina, el polímero debe llegar hasta 1mm por debajo del límite coronorradicular (Fig..7 y 8), debiendo transcurrir 24 horas a temperatura ambiente, para asegurar la polimerización completa de la matriz del mencionado polímero, antes de ser retirados de los moldes plásticos.

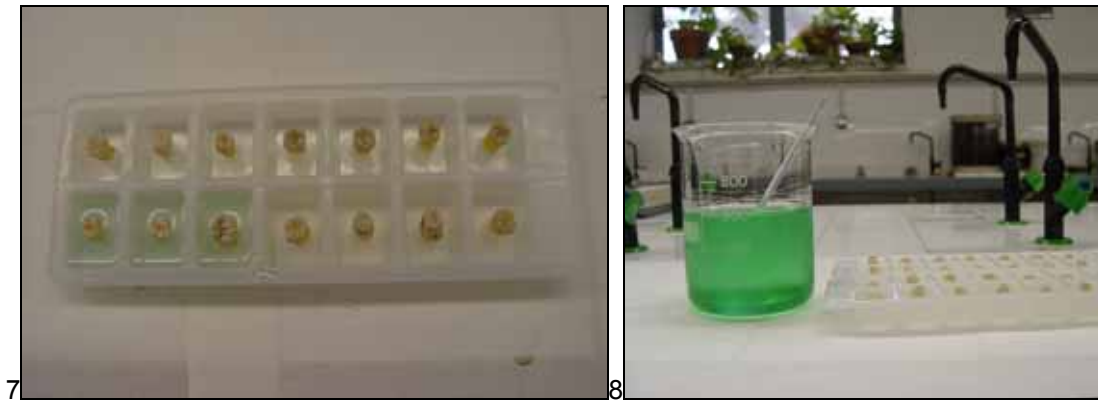


Fig.7. Polímero vertido sobre los moldes plásticos.

Fig.8 . Polímero de fijación preparado.

3.1.1.1.2 Diseño experimental

PQ1 (Ultradent Products, USA), adhesivo con solvente de alcohol (2-hidroxietil metacrilato y camforoquinona) de jeringa única y Amelogen Universal (Ultradent Products, usa), resina microhíbrida, fueron usadas en cada grupo. Los dientes fueron asignados a 1 de 5 grupos: (Fig.9)

- Grupo nº1. Peróxido de hidrógeno/ ascorbato de sodio. Consistió de 15 dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 38% (Opalescence X-tra

- Boost), aplicado por 30 minutos en 2 ciclos de 15 minutos. Aspiración e irrigación con agua destilada por 1 minuto e inmersión en ascorbato de sodio al 10% (Sigma-Aldrich, Co., USA) por 15 minutos, lavado en agua destilada por 10 minutos, secado leve con 3 aplicaciones cortas de aire e iniciación del procedimiento adhesivo.
- Grupo nº2. Peróxido de hidrógeno/peroxidasa. Consistió de 15 dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 38% (Opalescence X-tra Boost), aplicado por 30 minutos en 2 ciclos de 15 minutos. Aspiración e irrigación con agua destilada por 1 minuto e inmersión en peroxidasa (Sigma- Aldrich Co., USA) por 15 minutos, lavado en agua destilada por 10 minutos, secado leve con 3 aplicaciones cortas de aire e iniciación del procedimiento adhesivo.
 - Grupo nº 3. Peróxido de hidrógeno/ catalasa. Consistió de 15 dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 38% (Opalescence X-tra Boost), aplicado por 30 minutos en 2 ciclos de 15 minutos. Aspiración e irrigación con agua destilada por 1 minuto e inmersión en catalasa de Aspergillus Nigger (Proquiga- España) por 15 minutos, lavado en agua destilada por 10 minutos, secado leve con 3 aplicaciones cortas de aire e iniciación del procedimiento adhesivo.
 - Grupo nº4. Peróxido de hidrógeno/ agua. Consistió de 15 dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 38% Opalescence X-tra Boost (Ultradent Products, USA) por 30 minutos en 2 ciclos de aplicación de 15

minutos. Aspiración del gel blanqueador e irrigación con agua destilada por 1 minuto, inmersión en agua destilada por 15 minutos, secado leve con 3 aplicaciones cortas de aire e iniciación del procedimiento adhesivo.

- Grupo n° 5. Control. Consistió de 15 dientes tratados con agua destilada desionizada, posterior lavado con agua destilada por 1 minuto y secado con aire por 10 segundos. Las superficies fueron acondicionadas con ácido fosfórico al 35% (Ultra- Etch de Ultradent Products, USA) por 15 segundos, irrigadas con agua destilada 10 segundos y secadas por 3 segundos antes del procedimiento adhesivo.

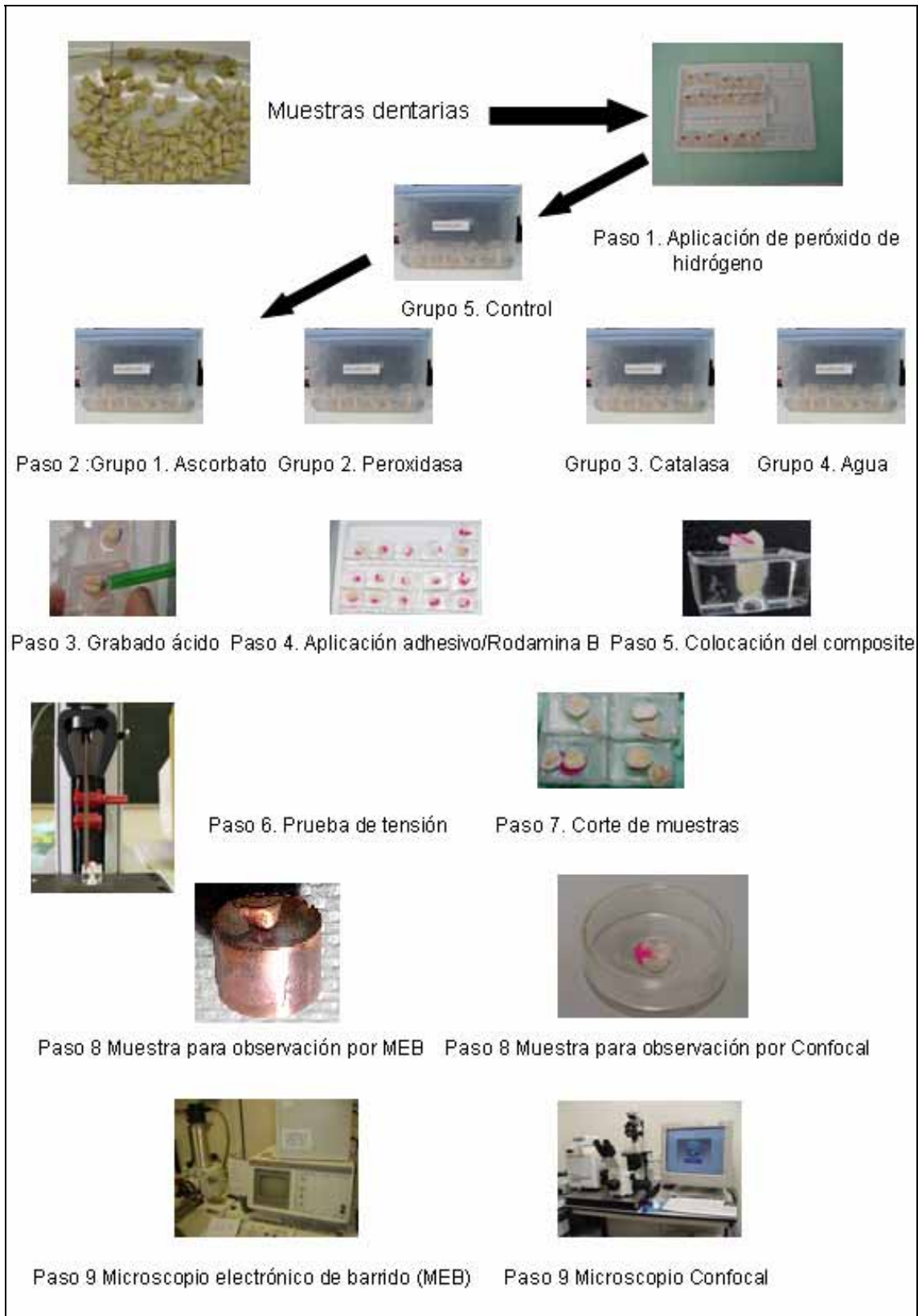


Fig.9. Esquema de grupos experimentales para determinación de fuerza adhesiva y observación de "tags".

3.1.1.1.3 Materiales de blanqueamiento, sustancias antioxidantes y placebo

El peróxido de hidrógeno al 38% fue usado como agente blanqueador, ascorbato de sodio, peroxidasa y catalasa como sustancias antioxidantes, y agua destilada desionizada como placebo.

3.1.1.1.4 Procedimientos adhesivos

El área destinada a la adhesión en todos los grupos se demarcó con una cinta adhesiva colocada encima del diente y perforada circularmente con un diámetro de 2,5mm. Los procedimientos adhesivos se llevaron a cabo inmediatamente después del tratamiento respectivo para cada grupo. El acondicionamiento ácido del esmalte se realizó con la aplicación de 15 segundos de ácido fosfórico al 35% (Ultra- Etch, Ultradent Products, USA) y posterior irrigación con agua por 10 segundos. El PQ1 (Ultradent Products, USA), un sistema adhesivo con solvente de alcohol, de jeringa única, la que se aplicó copiosamente, seguido de 2 cortos y moderados chorros de aire, hasta que desapareció la apariencia “lechosa” y la superficie se tornó brillante, la misma que quedó imperturbable por 15 segundos, seguido de secado con aire ligero por 5 segundos para evaporar el solvente y fotocurado por 10 segundos (Astralis 10- Ivoclar Vivadent). La aplicación de composite, Amelogen Universal (Ultradent Products, USA) se hizo previo posicionamiento de un cilindro plástico transparente en la superficie demarcada que sirvió de matriz, con diámetro interno de 1,5mm y una altura de 3mm, en 1 incremento de 3mm y fotopolimerización por 20 segundos (Astralis 10- Ivoclar Vivadent), finalizando con un fotocurado multidireccional de 40 segundos, para asegurar la completa

polimerización del composite, el cual delimitó una superficie de contacto de $1,77 \text{ mm}^2$, valor que será tomado al momento de calcular la fuerza adhesiva tensional.

3.1.1.1.5 Preparación del sistema adhesivo/ fluorocromo Rodamina B

Para facilitar la visualización de la penetración del adhesivo PQ1 (Ultradent Products, USA) en la estructura adamanatina, por medio de la microscopia confocal por fluorescencia, procedimos a marcar al adhesivo con el colorante Rodamina B (Panreac Química S.A., España), de acuerdo al siguiente cálculo:

- 50 gramos de Rodamina B se diluyen en 1000ml de alcohol etanol.⁶³ el sistema adhesivo empleado contiene etanol por lo que la disolución se llevó a cabo de forma directa. Debido a los secretos de formulación no fue posible obtener el porcentaje de alcohol contenido en 1,2ml de adhesivo, pero asumimos que éste representaba aproximadamente un 15% del volumen total, o sea 0,18ml, por lo que la cantidad de colorante Rodamina B empleado fue de 9mg, obtenidos mediante balanza analítica de precisión (Mettler AE-100), los cuales fueron incorporados al adhesivo utilizando un sistema ideado para automezcla (Fig. 10), por medio de la conexión adaptada de dos jeringas, evitando de esta manera la mezcla al aire libre, que hubiera causado la evaporación de parte del alcohol contenido en el sistema adhesivo. Por lo que la relación final de peso/ volumen, Rodamina B/PQ1, fue de 0,9mg/1,2ml.

3.1.1.1.6 Evaluación de la fuerza adhesiva tensional

La totalidad de dientes de cada grupo serán tomados para la medición de la fuerza de adhesión tensional, la cual será determinada con una máquina de prueba PCM-Versatest (Fig. 11), que posee una célula con una capacidad máxima de carga de 2500 newton y empleando una velocidad de cruceta controlada de 2mm/min.



Fig.10.Procedimiento de auto mezcla de adhesivo con Rodamina B.



Fig.11. Máquina Versatest.

3.1.1.1.7 Evaluación por Microscopia Confocal de la penetración de los “tags” de resina

Luego de la aplicación de la prueba mecánica para medición de fuerza adhesiva tensional , dos muestras fueron elegidas al azar de cada grupo para el estudio bajo Microscopia Confocal de Fluorescencia (Laser Scanning Microscope, Olympus Fluoview IX 70, Japan) (Fig.12), que nos permite hacer el estudio de penetración del sistema adhesivo (“tags”), marcado con Rodamina B, aún en áreas subsuperficiales de hasta 100 μ m , no existiendo la necesidad de desecación o preparación de muestras, como ocurre para la observación por microscopia electrónica de barrido (MEB).



Fig.12. Equipo de microscopia confocal.

Para examinar el área de unión o interfase resina-esmalte en sección cruzada, las muestras serán cortadas en ángulo recto con respecto a la superficie de esmalte y por el centro del sitio de unión del composite,(Fig. 14) para lo cual se utilizará una máquina de corte (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL)(Fig.13), que utiliza un disco de diamante fino de doble cara activa a razón de

40 giros por minuto con irrigación constante de agua destilada en circuito cerrado.

Los fragmentos obtenidos serán montados en soportes especiales para observación por microscopia confocal.(Fig.15) las muestras fueron visualizadas en aumentos x20 y las imágenes fueron analizadas tridimensionalmente y los “tags” cuantificados mediante software (Metamorph Software UIC TM, USA).



13



14

Fig. 13. Maquina de corte.

Fig.14. Muestras cortadas para observación, flecha señalizando zona de observación microscópica.

3.1.1.1.8 Evaluación por microscopia electrónica de barrido de la penetración de los “tags” de resina

Luego de la aplicación de la prueba mecánica para medición de fuerza adhesiva tensional, tres muestras fueron elegidas al azar de cada grupo para el estudio bajo MEB.



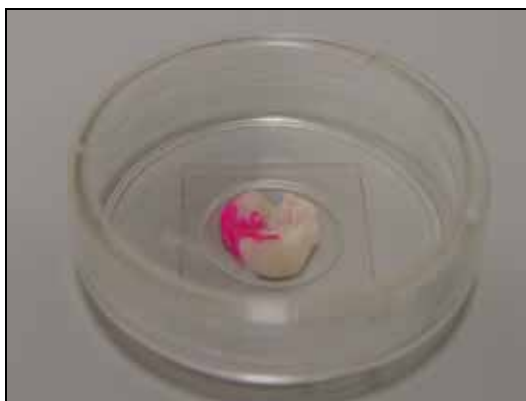


Fig.15. Soportes para muestras en microscopía confocal.

Para examinar el área de unión o interfase resina-esmalte en sección cruzada, las muestras fueron cortadas en ángulo recto con respecto a la superficie de esmalte y por el centro del sitio de unión de la resina, para lo cual se utilizó una máquina de corte (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL), que utiliza un disco de diamante fino de doble cara activa a razón de 40 giros por minuto con irrigación constante de agua destilada en circuito cerrado.

Posteriormente las muestras cortadas fueron sumergidas en ácido clorhídrico 2mol/l por 20 segundos, seguido de irrigación con agua destilada y secado, para lograr la parcial desmineralización del esmalte y mejorar la visualización del campo.

Luego se realizó el montaje sobre los soportes para observación por microscopio electrónico de barrido (Hitachi 2300, Tokyo, Japan) (Fig.16). La superficie de sección cruzada fue cubierta con 10nm de oro (Fig.17). La evaluación de la penetración de los “tags” de resina se realizó en microfotografías en magnificación x2000, x3000 y x 5000.

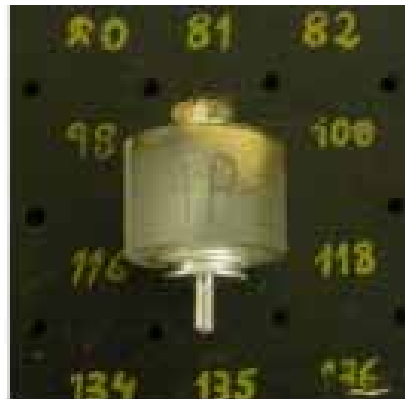


Fig.16. Microscopio Electrónico Hitachi.
Fig.17. Soportes para observación MEB.

3.1.1.2 Análisis químico cuantitativo (estructural) y morfológico superficial del esmalte

3.1.1.2.1 Preparación de la muestra

Cinco dientes terceros molares no erupcionados recientemente extraídos fueron utilizados en el presente estudio. Todos los dientes fueron seleccionados, verificando ausencia de caries, restauraciones o fracturas. Cada diente fue limpiado de restos de tejido blando utilizando fragmentos de gasa únicamente. Los dientes fueron almacenados por 7 días en cloramina al 5% más agua destilada, para evitar el posible riesgo de infecciones cruzadas.

De cada corona dentaria se obtuvieron 6 fragmentos de esmalte, dos de cada cara libre (vestibular y lingual o palatina) y uno de cada cara interproximal (mesial y distal), mediante disco de diamante de doble cara activa de 19mm de diámetro (Bredent, Germany) (Fig.18) bajo irrigación copiosa, de los cuales fueron seleccionados 5 fragmentos de cada diente con medidas aproximadas de 3x2x1mm (fig.19). Estos fragmentos de un solo diente fueron asignados a

grupos del ensayo 1 (Fig.20) y dos fragmentos de un solo diente, asignados a grupos del ensayo 2. Estos dos ensayos fueron sometidos a análisis químico cuantitativo (estructural), después de 24 horas, mediante espectrometría de fotoelectrones. Fragmentos seleccionados de los tres dientes restantes se designaron para análisis morfológico superficial de esmalte, bajo microscopia confocal de reflexión. Todos los fragmentos fueron almacenados en agua destilada desionizada a una temperatura de 4°C hasta el momento del estudio. Así mismo, los fragmentos seleccionados fueron montados en barras de silicona (silicona Ortho Kin, España) (Fig.19), para facilitar su manipulación y su liberación al momento de realizar los estudios complementarios.

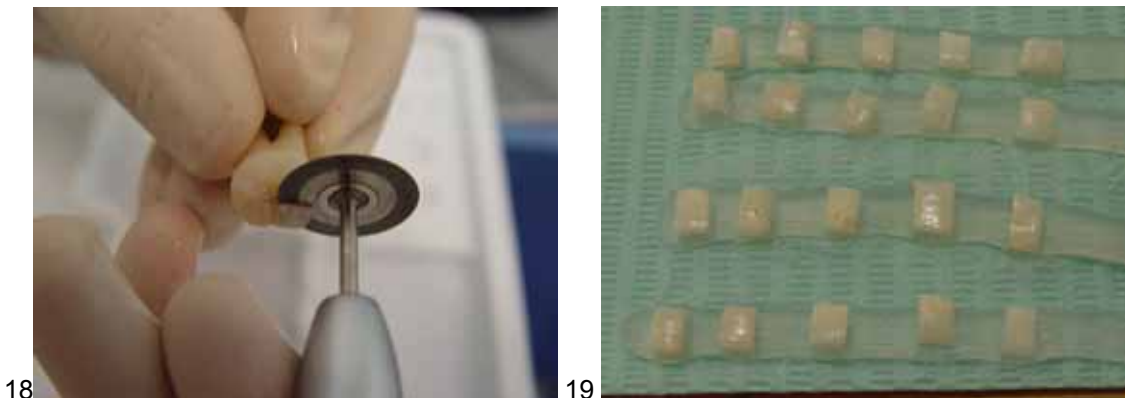


Fig.18. Corte de dientes con disco de diamante. Doble cara activa.
Fig. 19 Bloques de esmalte adheridos a silicona.

3.1.1.2.2 Diseño experimental

3.1.1.2.2.1 Ensayo 1

- Grupo nº1.. Peróxido de hidrógeno/ ascorbato de sodio. Consistió de 1 fragmento de esmalte tratado con peróxido de hidrógeno al 38% Opalescence X-tra Boost (Ultradent Products, USA) por 30 minutos en 2 ciclos de aplicación de 15 minutos. Aspiración del gel blanqueador e

irrigación con agua destilada por 1 minuto, inmersión en ascorbato de sodio (Sigma- Aldrich Co., USA) por 15 minutos, lavado en agua destilada por 10 minutos, y secado leve con 3 aplicaciones cortas de aire permaneciendo 48 horas almacenados a temperatura ambiente hasta el momento del estudio.

- Grupo nº2. Peróxido de hidrógeno/ peroxidasa. Consistió de 1 fragmento de esmalte tratado con peróxido de hidrógeno al 38% Opalescence X-tra Boost (Ultradent Products, USA) por 30 minutos en 2 ciclos de aplicación de 15 minutos. Aspiración del gel blanqueador e irrigación con agua destilada por 1 minuto, inmersión en peroxidasa (Sigma- Aldrich, Co., USA) por 15 minutos, lavado en agua destilada por 10 minutos, y secado leve con 3 aplicaciones cortas de aire permaneciendo 48 horas almacenados a temperatura ambiente hasta el momento del estudio.
- Grupo nº3. Peróxido de hidrógeno/ catalasa. Consistió de 1 fragmento de esmalte tratado con peróxido de hidrógeno al 38% Opalescence X-tra Boost (Ultradent Products, usa) por 30 minutos en 2 ciclos de aplicación de 15 minutos. Aspiración del gel blanqueador e irrigación con agua destilada por 1 minuto, inmersión en catalasa (Proquiga, España) por 15 minutos, lavado en agua destilada por 10, y secado leve con 3 aplicaciones cortas de aire permaneciendo 48 horas almacenados a temperatura ambiente hasta el momento del estudio.

- Grupo nº 4. Peróxido de hidrógeno/agua. Consistió de 1 fragmento de esmalte tratado con peróxido de hidrógeno al 38% Opalescence X-tra Boost (Ultradent Products, USA) por 30 minutos en 2 ciclos de aplicación de 15 minutos. Aspiración del gel blanqueador e irrigación con agua destilada por 1 minuto, inmersión en agua destilada por 15 minutos, y secado con 3 aplicaciones cortas de aire, permaneciendo 48 horas almacenados a temperatura ambiente hasta el momento del estudio.
- Grupo nº 5. Control. Consistió de 1 fragmento de esmalte sumergido en agua destilada desionizada por 30 minutos, posterior lavado en agua destilada por 1 minuto, inmersión en agua destilada desionizada por 15 minutos y secado con aire por 10 segundos, permaneciendo 48 horas almacenados a temperatura ambiente hasta el momento del estudio.

3.1.1.2.2 Ensayo 2

- Grupo 1. Refresco. Consistió de un fragmento de esmalte sometido a refresco Coca Cola (Coca Cola Company, USA) por 2,5 minutos, posterior lavado por 5 minutos, secado y sometido a estudio.
- Grupo 2. Control. Consistió de un fragmento de esmalte sumergido en agua destilada desionizada, posterior secado y sometido a estudio.

Cabe agregar que el ensayo 2 fue creado para establecer una posible significación clínica real entre los efectos sobre el esmalte producidos por los agentes blanqueadores y una bebida de uso común.



Fig.20. Diagrama de diseño experimental.

3.1.1.2.3 Materiales de blanqueamiento, sustancias antioxidantes y placebo para muestras del ensayo 1

El peróxido de hidrógeno al 38% fue usado como agente blanqueador; ascorbato de sodio, peroxidasa y catalasa, como sustancias antioxidantes y agua destilada desionizada como placebo.

3.1.1.2.4 Solución experimental y placebo para muestras del ensayo 2

Refresco, Coca Cola (Coca Cola Company, USA) fue usada como agente de tratamiento y agua destilada desionizada, como placebo.

3.1.1.2.5 Preparación de disoluciones antioxidantes para ambos diseños experimentales

3.1.1.2.5.1 Enzimáticas

3.1.1.2.5.1.1 Peroxidasa

Se utilizó peroxidasa tipo VI de 5000UI (Sigma-Aldrich, Co., USA) en solución acuosa en agua destilada desionizada de pH 6,9, dando una concentración final peso/ volumen de 10mg/ml con un pH de 8,09, medido con Cyber Scan 510 (Eutech Instruments)(Fig.21). Esta solución fue almacenada a -20°C hasta el momento de su utilización.



Fig.21. Medición de pH de peroxidasa.

3.1.1.2.5.1.2 Catalasa

Fue utilizada catalasa de *Aspergillus Nigger* (Proquiga, España) en solución estabilizada de 215u/ml con pH de 5,95. La solución acuosa fue preparada con agua destilada de pH 6,9 y almacenada a 4°C hasta el momento del estudio. Para la preparación de la solución acuosa se siguieron los siguientes parámetros:

- 1u de catalasa descompone 264mg de peróxido de hidrógeno y que 1 litro de catalasa descompone 100 litros de peróxido de hidrógeno de 100 volúmenes en 30 minutos,⁶⁴ entonces necesitábamos hallar una concentración que nos permita descomponer 3,2ml de peróxido de hidrógeno de 133 volúmenes (38%) en 5 minutos. Por lo que se utilizó la solución acuosa (catalasa/ agua destilada), en relación volumen/ volumen de 20ml/l (Fig.22), con un pH final de 6,78 (Cyber Scan 510, Eutech Instruments)(Fig.23).

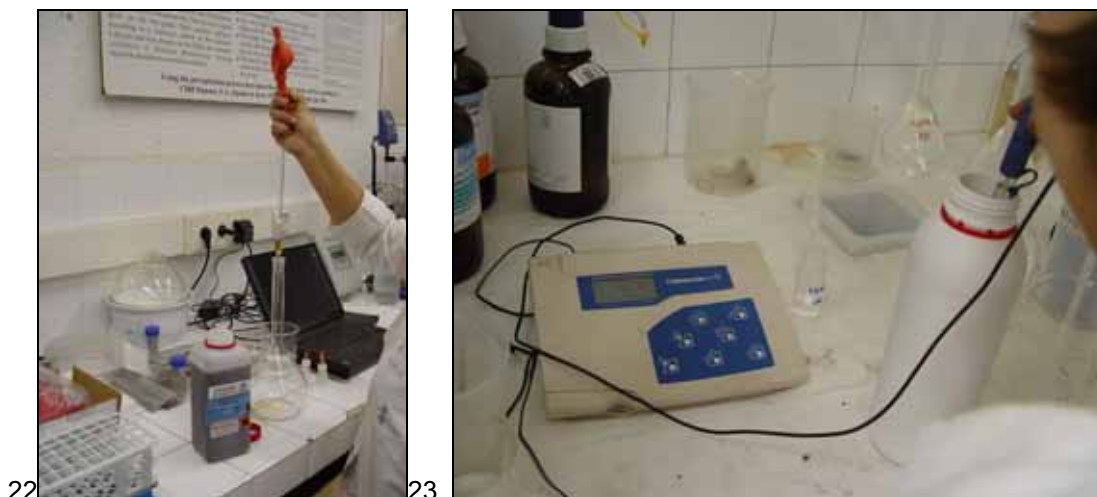


Fig.22. Preparación de solución acuosa.
 Fig.23. Medición de pH de la solución acuosa de catalasa.

3.1.1.2.5.2 No enzimáticas

3.1.1.2.5.2.1 Ascorbato de sodio

El ascorbato de sodio (Sigma- Aldrich, Co.,USA), fue preparado en solución acuosa al 10%, debido a que es una concentración comercialmente utilizada. El volumen requerido fue preparado diluyendo 25gramos de ascorbato de sodio, pesado en balanza analítica de precisión (Mettler AE 100), en 250 cc de agua destilada desionizada de pH 6,9 (Fig.24), obteniendo un pH final de 7,01 (Cyber Scan 510, Eutech Instruments) (Fig.25). Soluciones de pH mayor que 6, sufren rápidamente oxidación al aire, de allí que pueden ser estabilizadas por combinación con ácido ascórbico hasta alcanzar un pH que fluctúe entre 2,3- 2,5;⁶⁵ pero estos niveles de pH resultarían críticos para nuestras muestras de esmalte. Debido a esto, se decidió utilizar solución acuosa de ascorbato de sodio sin estabilizar la que fue obtenida justo en el momento de su utilización para evitar su oxidación.

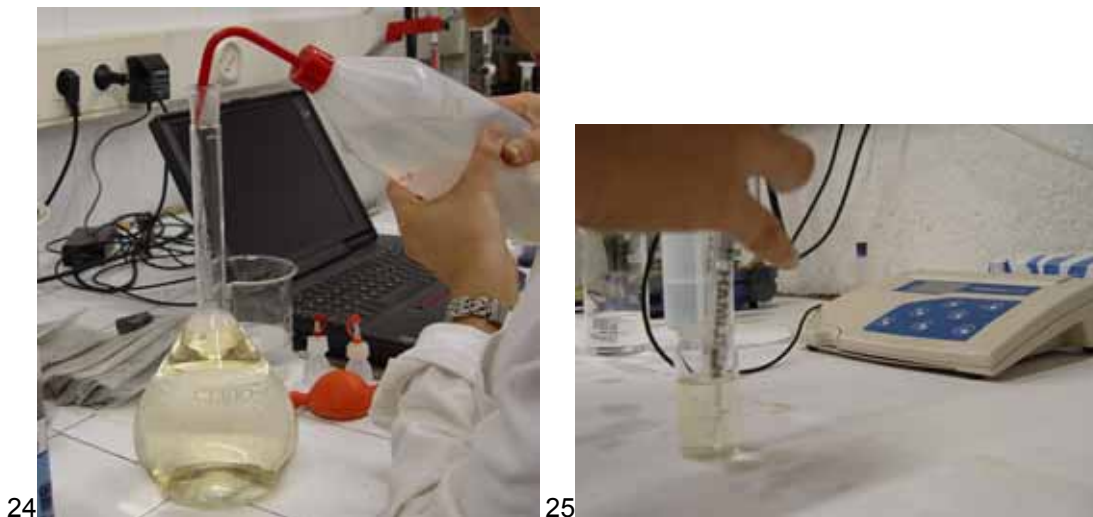


Fig.24. Preparación de solución acuosa de ascorbato de sodio.
 Fig.25. Medición de pH de solución de ascorbato de sodio.

3.1.1.2.6 Análisis químico cualitativo de la superficie del esmalte

3.1.1.2.6.1 Espectrometría de fotoelectrones (Esca-XP)

La espectrometría de fotoelectrones nos permitió realizar un análisis cuantitativo de los elementos químicos presentes en el esmalte y evaluar los posibles cambios que pudieron producirse en los distintos grupos de tratamiento, de acuerdo al diseño experimental establecido.

Se utilizó para tal efecto una muestra de cada grupo experimental, los cuales fueron sometidos al Sistema Multitécnico PHI 5500 (Perkin- Elmer Corporation, Germany), que utiliza una fuente de rayos X monocromática dirigida perpendicularmente a la superficie de análisis, delimitada dentro de un área de 0,8mm y 5- 10 nm de profundidad. Las mediciones fueron hechas en cámara de vacío con presiones que fueron desde 4×10^{-8} hasta 2×10^{-8} Torr (Fig..26 y 27). La detección de los elementos químicos se hizo utilizando la energía de enlace característica para cada uno de ellos de acuerdo a lo establecido en el respectivo manual.⁶⁶



26



27

Fig.26. Equipo de Espectrometría Esca-XP.
Fig.27. Monitor con los resultados numéricos y gráficos.

3.1.1.2.7 Análisis morfológico de la superficie de esmalte

3.1.1.2.7.1 Microscopia confocal por reflexión

La microscopia confocal por reflexión nos permitió conseguir de manera no destructiva secciones ópticas a diferentes planos de la muestra, que pudieron ser analizadas cualitativamente de forma tridimensional, para lo cual utilizamos diferente software para análisis tridimensional de imágenes como, Extended Focus, 3D en perspectiva o SFP.

Tres muestras de cada grupo experimental fueron analizadas bajo microscopio confocal por reflexión Olympus Fluoview IX 70 (Laser Scanning Microscope, Japan) (Fig.28), las cuales previamente fueron montadas en los soportes respectivos (Fig.29).

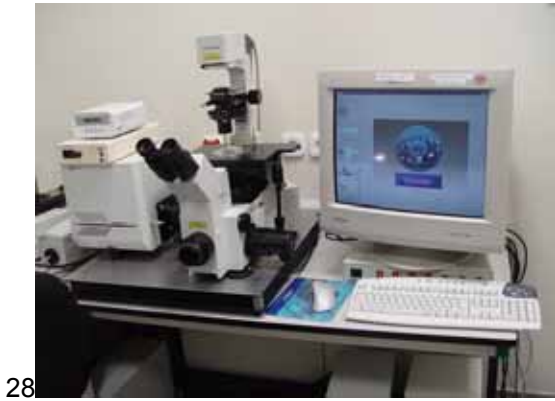


Fig. 18 Soportes para observación por microscopia confocal.
Fig.29. Microscopio confocal.

3.1.1.3 Análisis estadístico

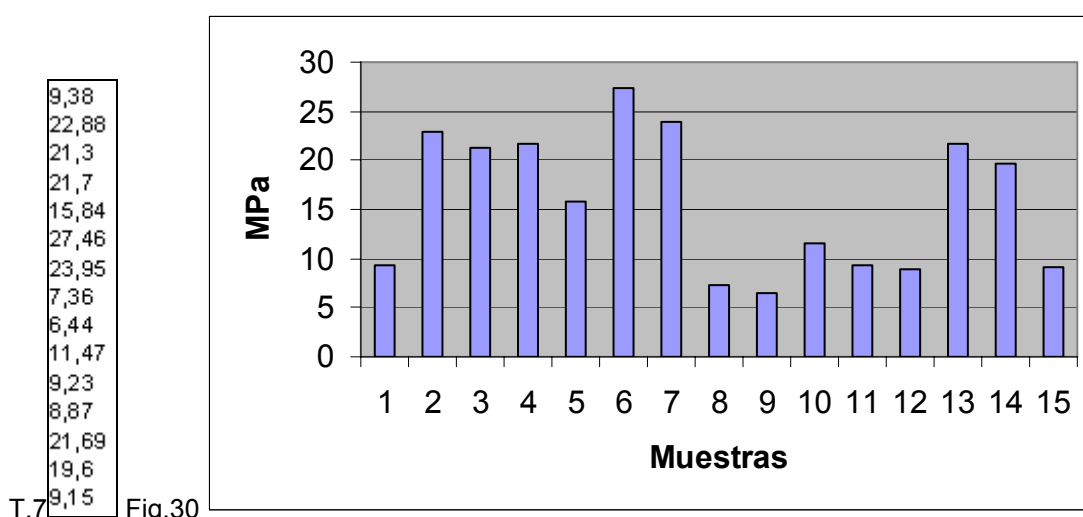
El análisis estadístico para el procesamiento de datos de fuerza adhesiva tensional involucrará a las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney., para la homogenización de las variables y el establecimiento de la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales y el grupo control. Se realizaron con un nivel de significación de 0,05, con software SPSS 12-0.

3.1.2 Resultados

3.1.2.1 Valores de fuerza adhesiva tensional por grupos

3.1.2.1.1 Grupo 1. Peróxido de hidrógeno/ascorbato de sodio

Peróxido de hidrógeno/ ascorbato de sodio. Los valores de fuerza adhesiva tensional de las muestras correspondientes al grupo 1, expresados en megapascales (MPa), se encuentran detallados (tabla 7) y representados gráficamente (Fig.30).



T.7 Fig.30

Tabla 7. Valores de fuerza adhesiva tensional en MPa.

Fig.30. Diagrama de barras de valores de fuerza adhesiva tensional de muestras del grupo 1.

3.1.2.1.2 Grupo 2. Peróxido de hidrógeno/peroxidasa

Peróxido de hidrógeno/ peroxidasa. Los valores de fuerza adhesiva tensional de las muestras correspondientes al grupo 2, expresados en megapascales (MPa), se encuentran detallados (tabla 8) y representados gráficamente (Fig.31).

21,24
7,85
9,04
5,11
6,01
13,11
8,31
8,31
20,11
8,48
6,38
7,49
9,49
6,61
7,8

T.8 Fig.31

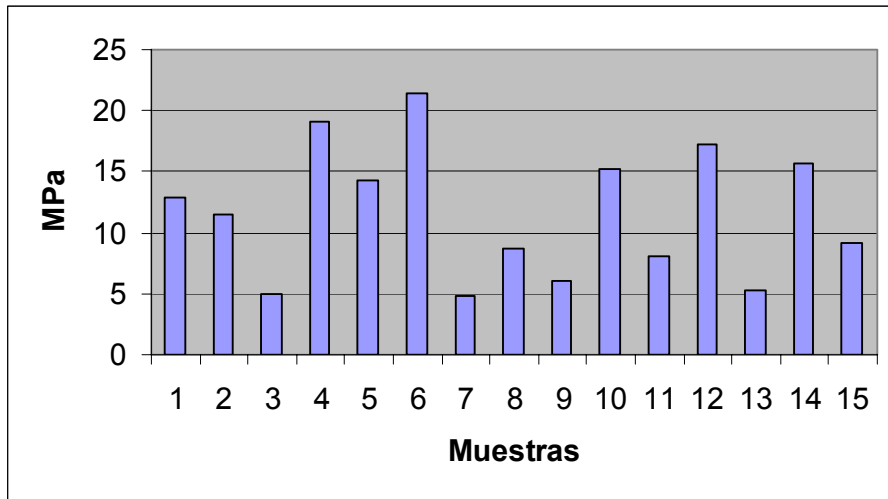


Tabla 8. Valores de fuerza adhesiva tensional en MPa.

Fig. 31. Diagrama de barras de valores de fuerza adhesiva tensional de muestras del Grupo 2.

3.1.2.1.3 Grupo 3. Peróxido de hidrógeno/catalasa

Peróxido de hidrógeno/ catalasa. Los valores de fuerza adhesiva tensional de las muestras correspondientes al grupo 3, expresados en megapascales (MPa), se encuentran detallados (tabla 9) y representados gráficamente (Fig.32).

24,69
7,63
8,25
25,71
11,01
22,94
22,71
10,73
22,46
19,94
7,63
8,02
19,49
10,4
7,85

T.9 Fig.32

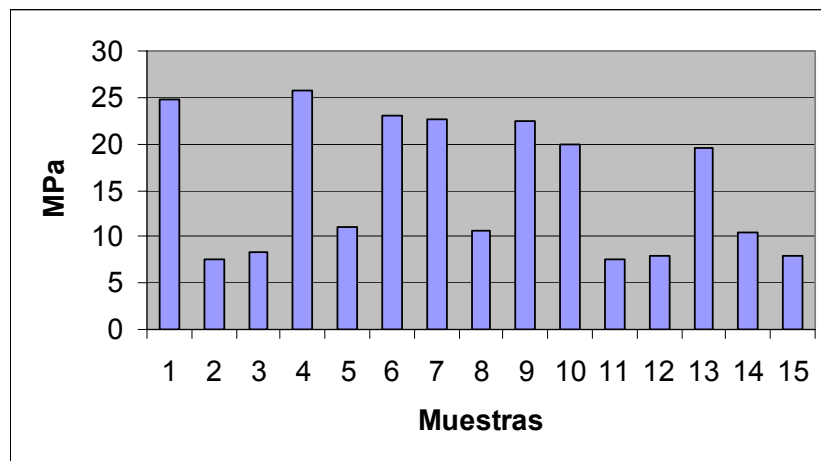


Tabla 9. Valores de fuerza adhesiva tensional en MPa.

Fig. 32 Diagrama de barras de valores de fuerza adhesiva tensional de muestras del Grupo 3.

3.1.2.1.4 Grupo 4. Peróxido de hidrógeno/agua

Peróxido de hidrógeno/ agua. Los valores de fuerza adhesiva tensional de las muestras correspondientes al grupo 4, expresados en megapascales (MPa), se encuentran detallados (tabla 10) y representados gráficamente (Fig.33).

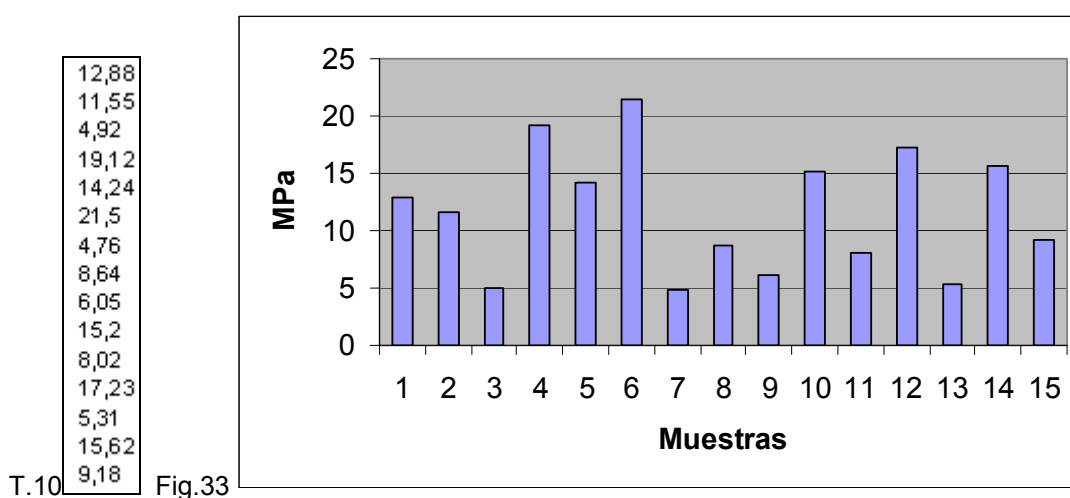


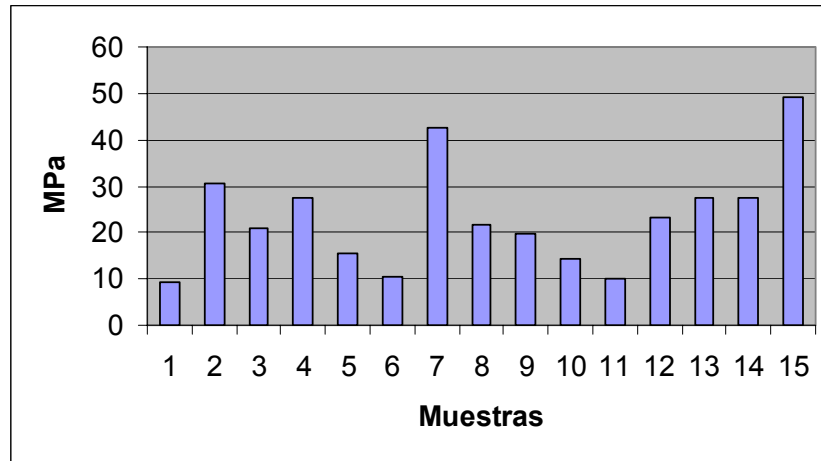
Tabla.10 Valores de fuerza adhesiva tensional en MPa. Diagrama de barras de valores de fuerza adhesiva tensional de muestras del Grupo 4.

Fig. 33 Diagrama de barras de valores de fuerza adhesiva tensional de muestras del Grupo 4.

3.1.2.1.5 Grupo 5. Control

Control. Los valores de fuerza adhesiva tensional de las muestras correspondientes al grupo 2, expresados en megapascales (MPa), se encuentran detallados (tabla 11) y representados gráficamente (Fig.34).

9,18
30,59
20,85
27,57
15,59
10,45
42,77
21,53
19,9
14,29
10,06
23,33
27,63
27,46
48,98



T.11 Fig.34

Tabla 11. Valores de fuerza adhesiva tensional en MPa. Diagrama de barras de valores de fuerza tensional del Grupo 5.

Fig. 34 Diagrama de barras de valores de fuerza adhesiva tensional de muestras del Grupo 4.

3.1.2.2 Análisis estadístico de los valores de fuerza adhesiva tensional por grupos

Para proceder al análisis de la fuerza adhesiva tensional dentro de un mismo grupo y entre grupos, desarrollaremos primero el análisis estadístico descriptivo, que nos ofrecerá datos que serán utilizados en las distintas pruebas estadísticas (tabla 12).

3.1.2.3 Estadística descriptiva

	Trata		Estadístico	Error tít.		
Resis	Ascorbam	Media	15.7547	1.85278		
		IC 95%	Límite inferior Límite superior		11.7808 19.7285	
		Media recortada al 5%			15.6219	
		Mediana			15.8400	
		Varianza			51.492	
		Desv. Típ.			7.17579	
		Mínimo			6.44	
		Máximo			27.46	
		Rango			21.02	
		Amplitud intercuartil			12.5500	
		Asimetría			.119	
		Curtosis			-1.699	
	Perompa	Perompa	Media	9.6893	1.24627	
			IC al 95%	Límite inferior Límite superior		7.0163 12.3623
			Media recortada al 5%			9.3020
			Mediana			8.3100
			Varianza			23.298
			Desv. Típ.			4.82678
			Mínimo			5.11
			Máximo			21.24
			Rango			16.13
			Amplitud intercuartil			2.8800
			Asimetría			1.811
			Curtosis			2.430
	Catalmpa	Catalmpa	Media	15.2973	1.87633	
			IC al 95%	Límite inferior Límite superior		11.2730 19.3217
			Media recortada al 5%			15.1448
			Mediana			11.0100
			Varianza			52.809
			Desv. Típ.			7.26700
			Mínimo			7.63
			Máximo			25.71
			Rango			18.08
			Amplitud intercuartil			14.6900
			Asimetría			.217
			Curtosis			-1.957
	Aguampa	Aguampa	Media	11.6147	1.40271	
			IC al 95%	Límite inferior Límite superior		8.6062 14.6232
			Media recortada al 5%			11.4463
			Mediana			11.5500
			Varianza			29.514
			Desv. Típ.			5.43267
Mínimo				4.76		
Máximo				21.50		
Rango				16.74		
Amplitud intercuartil				9.5700		
Asimetría				.290		
Curtosis				-1.092		
Controlm	Controlm	Media	23.3453	2.96572		
		IC al 95%	Límite inferior Límite superior		16.9845 29.7062	
		Media recortada al 5%			22.7081	
		Mediana			21.5300	
		Varianza			131.933	
		Desv. Típ.			11.48620	
		Mínimo			9.18	
		Máximo			48.98	
		Rango			39.80	
		Amplitud intercuartil			13.3400	
		Asimetría			.880	
		Curtosis			.571	

Tabla. 12 Estadísticos descriptivos.

A continuación, con los datos de fuerza adhesiva tensional mostrados en los diversos grupos, procederemos a valorar si las muestras se ajustan a una distribución normal o de Gauss, para lo cual empleamos pruebas de normalidad o conformidad de una distribución o prueba de bondad de ajuste a una distribución normal de Kolmogorov-Smirnov, obtenidos mediante software SPSS 12-0 (tabla 13)

3.1.2.4 Prueba de normalidad

3.1.2.4.1 Prueba de Kolmogorov-Smirnov

Pruebas de normalidad.

	Trata	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	Gl	Sig.	Estadístico	Gl	Sig.
Resis	Ascorbam	.213	15	.066	.885	15	.056
	Perompa	.316	15	.000	.735	15	.001
	Catalmpa	.256	15	.009	.820	15	.007
	Aguampa	.140	15	.200(*)	.940	15	.388
	Controlm	.155	15	.200(*)	.921	15	.197

Tabla.13. Pruebas de normalidad. * Este es un límite inferior de la significación verdadera. A corrección de la significación de Lilliefors.

Interpretación de datos de la tabla 13

Para la aplicación de la prueba de Kolmogorov-Smirnov, debemos tomar el valor de la máxima diferencia, D_{max} , que corresponde en la tabla 13, a la columna designada como “estadístico”, dentro de los 5 valores presentados en la columna, el valor de máxima diferencia corresponde a $D_{max} = 0,316$. Luego, buscamos para $n = 15$ y $\alpha = 0,05$ en la tabla de Lilliefors, en la que el valor límite

D es 0,220. De esto deducimos que: $0,316 > 0,220$, por lo que rechazamos que las variables de los grupos siguen una distribución normal.

Una vez concluido que las variables entre grupos, y en vista, que no siguen una distribución normal, procederemos a la aplicación de pruebas no paramétricas de homogeneidad, para determinar las diferencias o similitudes estadísticas entre los diferentes grupos. Utilizaremos primero, la prueba de Kruskal- Wallis, que nos permite efectuar un test de homogeneidad sobre cinco grupos. Los datos fueron analizados en software SPSS 12-0, y se representan en las tablas 14 y 14.1.

3.1.2.4.2 Gráficos estadísticos

3.1.2.4.2.1 Gráfico de cajas

El gráfico de cajas nos muestra aparente mejor distribución de valores entre los grupos 1, 3 y 5, los valores del grupo 4 no aparecen aparentemente homogéneos debido a la amplia dispersión. Los menores valores de fuerza adhesiva tensional se presentaron en el grupo 2. Los análisis estadísticos siguientes valorarán estas apreciaciones (figs. 35-40).

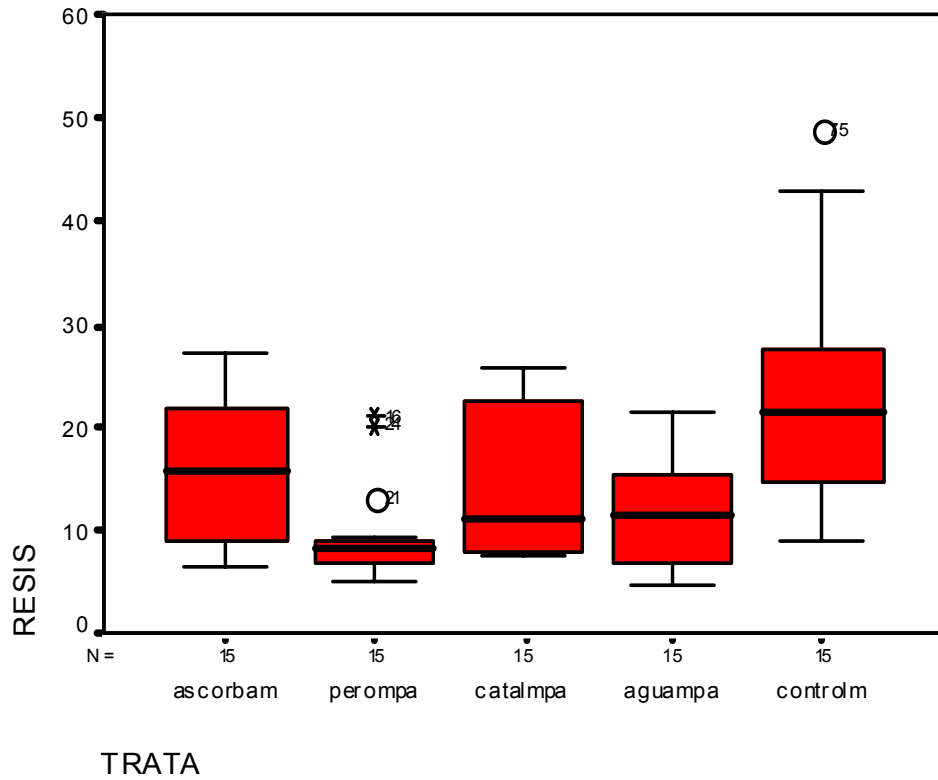


Fig.35. Gráfico de cajas de los distintos grupos.

3.1.2.4.2 Gráficos Q-Q plot

Gráficos Q- Q normales

Gráfico Q-Q normal de RESIS

Para TRATA= ascorbam

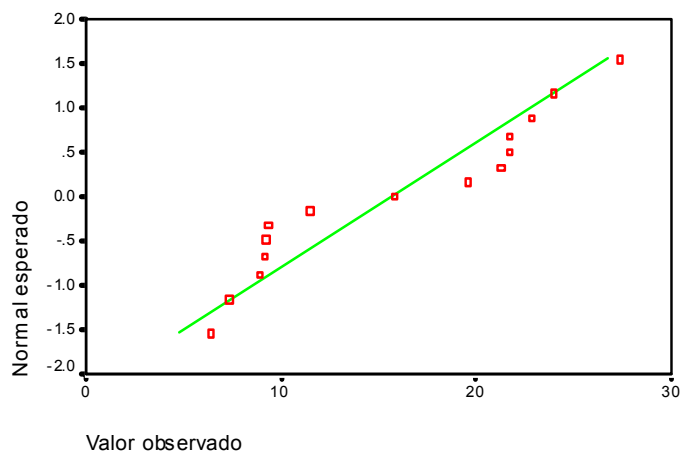


Fig.36. Gráfico que muestra el modelo de distribución de datos de fuerza adhesiva tensional correspondiente al Grupo 1.

Gráfico Q-Q normal de RESIS

Para TRATA= perompa

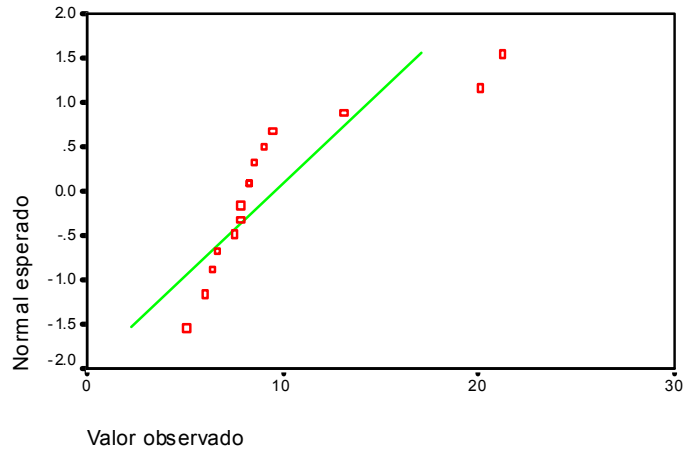


Fig.37. gráfico que muestra el modelo de distribución de datos de fuerza adhesiva tensional correspondiente al Grupo 2.

Gráfico Q-Q normal de RESIS

Para TRATA= catalmpa

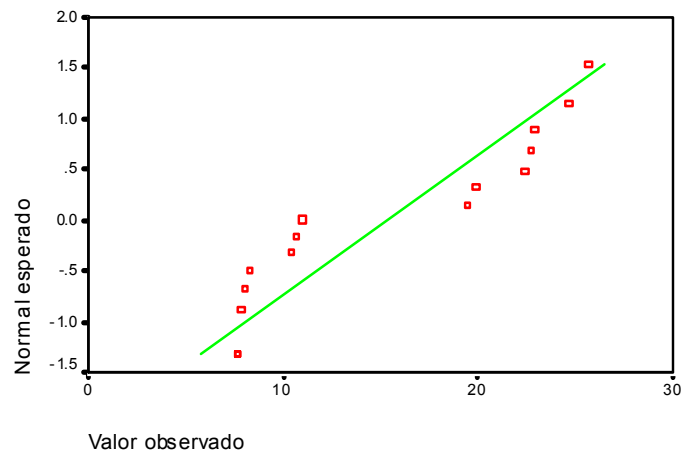


Fig.38. Gráfico que muestra el modelo de distribución de datos de fuerza adhesiva tensional correspondiente al Grupo 3.

Gráfico Q-Q normal de RESIS

Para TRATA= aguampa

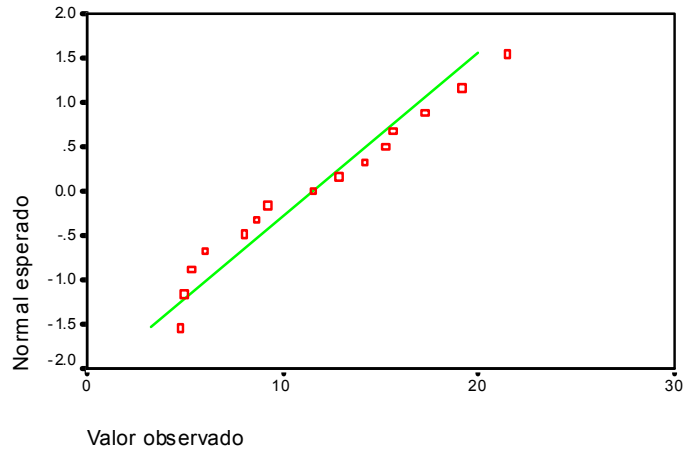


Fig.39. Gráfico que muestra el modelo de distribución de datos de fuerza adhesiva correspondiente al grupo 4.

Gráfico Q-Q normal de RESIS

Para TRATA= controlm

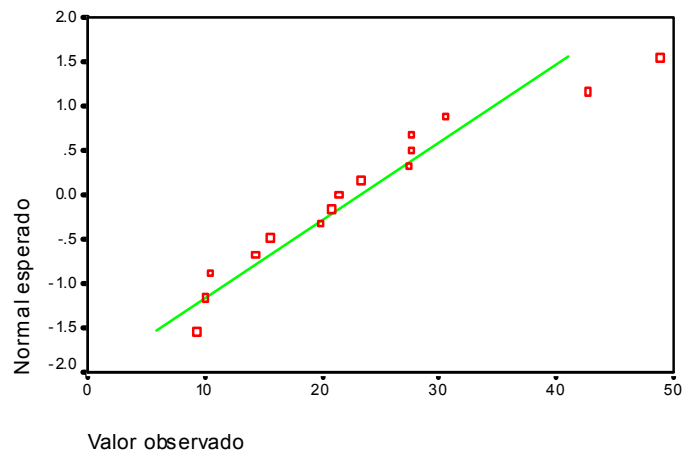


Fig.40. Gráfico que muestra el modelo de distribución de datos de fuerza adhesiva tensional correspondiente al grupo 5.

3.1.2.5 Pruebas no Paramétricas

3.1.2.5.1 Prueba de Kruskal-Wallis

Rangos

	Trata	N	Rango promedio
Resis	Ascorbam	15	42.23
	Perompa	15	22.10
	Catalmpa	15	40.27
	Aguampa	15	29.27
	Controlm	15	56.13
	Total	75	

Tabla 14. Rangos. Estadísticos de contraste(a,b)

	Resis
Chi-cuadrado	21.506
Gl	4
Sig. Asintót.	.000

Tabla 14.1. Kruskal-Wallis. A prueba de Kruskal-Wallis. B variable de agrupación: trata.

Interpretación de los datos de la tabla 14.1

De acuerdo a la tabla 14.1, la razón crítica (hrs.), que corresponde al valor de Chi- cuadrado = 21,506; ahora procedimos a hallar el valor crítico tabulado en la tabla del Chi cuadrado, para lo cual debemos hallar el (v), que corresponde al número de grupos (k)- 1, en nuestro caso, k = 5, entonces v = 4 , además de $\alpha=0,05$, la tabla del Chi cuadrado para 0,05(4), nos da un valor = 7,779.

Comparamos la razón crítica (hrs)=21,506; con el valor crítico tabulado $\chi^2_{0,05(4)}=7,779$; donde podemos deducir que: $21,506 > 7,779$. Por lo que podemos deducir que existen diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos ($p < 0,001$).

Luego procedimos a la aplicación de otra prueba no paramétrica (Mann-Whitney), que nos permite evaluar la homogeneidad de los grupos, dos a dos, donde cada grupo experimental será comparado al grupo control.

3.1.2.5.2 Pruebas de Mann-Whitney

3.1.2.5.2.1 Entre los grupos 1 y 5

Rangos

	Trata	N	Rango promedio	Suma de rangos
Resis	Ascorbam	15	12.30	184.50
	Controlm	15	18.70	280.50
	Total	30		

Tabla 15. Rangos.

Estadísticos de contraste (b)

	Resis
U de Mann-Whitney	64.500
W de Wilcoxon	184.500
Z	-1.991
Sig. Asintót. (bilateral)	.046
Sig. Exacta [2*(sig. Unilateral)]	.045(a)

Tabla 15.1 A no corregidos para los empates. B variable de agrupación: trata.

Interpretación de los resultados de la tabla 15.1

Para la aplicación de la prueba de Mann-Whitney, tomamos como estadístico, el menor, que en nuestro caso corresponde al dato de la tabla 15.1, señalado como, "U de Mann-Whitney", que es igual a 64,500, esto se compara al valor encontrado en la tabla de distribución del estadístico respectiva, para $U_{0,05;15;15} = 64$, entonces: $64,5 > 64$, por lo que podemos afirmar que entre los dos grupos comparados no existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,045$).

3.1.2.5.2 Entre los grupos 2 y 5

Rangos

	Trata	N	Rango promedio	Suma de rangos
Resis	Perompa	15	9.13	137.00
	Controlm	15	21.87	328.00
	Total	30		

Tabla 16 Rangos.

Estadísticos de contraste (b)

	Resis
U de Mann-Whitney	17.000
W de Wilcoxon	137.000
Z	-3.962
Sig. Asintót. (bilateral)	.000
Sig. Exacta [2*(sig. Unilateral)]	.000(a)

Tabla 16.1. A no corregidos para los empates. B variable de agrupación: trata

Interpretación de los datos de la tabla 16.1

Para la aplicación de la prueba de Mann-Whitney, tomamos como estadístico, el menor, que en nuestro caso corresponde al dato de la tabla 16.1, señalado como, “U de Mann-Whitney”, que es igual a 17,000, esto se compara al valor encontrado en la tabla de distribución del estadístico respectiva, para $U_{0,05;15;15} = 64$, entonces: $17 < 64$, por lo que podemos afirmar que entre los dos grupos comparados si existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).

3.1.2.5.2.3 Entre los grupos 3 y 5

Rangos

	Trata	N	Rango promedio	Suma de rangos
Resis	Catalmpa	15	12.07	181.00
	Controlm	15	18.93	284.00
	Total	30		

Tabla 17. Rangos.

Estadísticos de contraste (b)

	Resis
U de Mann-Whitney	61.000
W de Wilcoxon	181.000
Z	-2.136
Sig. Asintót. (bilateral)	.033
Sig. Exacta [2*(sig. Unilateral)]	.033(a)

Tabla 17.1 Mann-Withney. A no corregidos para los empates. B variable de agrupación: *trata*

Interpretación de los datos de la tabla 17.1

Para la aplicación de la prueba de Mann-Whitney, tomamos como estadístico, el menor, que en nuestro caso corresponde al dato de la tabla 17.1, señalado como, “U de Mann-Whitney”, que es igual a 61,000, esto se compara al valor encontrado en la tabla de distribución del estadístico respectiva, para $U_{0,05;15;15} = 64$, y para $u_{0,01;15;15} = 51$, entonces: $61 < 64$, por lo que podemos afirmar que entre los dos grupos comparados si existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), pero no existen diferencias estadísticamente significativas a ($p = 0,033$).

3.1.2.5.2.4 Entre los grupos 4 y 5

Rangos

	Trata	N	Rango promedio	Suma de rangos
Resis	Aguampa	15	10.37	155.50
	Controlm	15	20.63	309.50
	Total	30		

Tabla 18. Rangos.

Estadísticos de contraste (b)

	Resis
U de Mann-Whitney	35.500
W de wilcoxon	155.500
Z	-3.194
Sig. Asintót. (bilateral)	.001
Sig. Exacta [2*(sig. Unilateral)]	.001(a)

Tabla 18.1. Mann-Withney. A no corregidos para los empates. B variable de agrupación: *trata*

Interpretación de los datos de la tabla 18.1

Para la aplicación de la prueba de Mann-Whitney, tomamos como estadístico, el menor, que en nuestro caso corresponde al dato de la tabla 18.1, señalado como, "U de Mann-Whitney", que es igual a 35,500, esto se compara al valor encontrado en la tabla de distribución del estadístico respectiva, para $U_{0,05;15;15} = 64$, entonces: $35 < 64$, por lo que podemos afirmar que entre los dos grupos comparados existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,001$).

3.1.2.6 Análisis cuantitativo y cualitativo de la penetración de los “tags” de resina compuesta

3.1.2.6.1 Cuantitativo

3.1.2.6.1.1 Grupo 1. Peróxido de hidrógeno/ascorbato de sodio



Fig. 41. Imagen de microscopia confocal por fluorescencia tratada con Metamorph Analysis Software UICTM de muestra del grupo 1. Donde capa híbrida (H), “tags” (T) y esmalte (E).



Fig. 42. Imagen anterior señalando numéricamente los “tags” tomados para cuantificación de longitud.

"asc"	"1"	9,22
"asc"	"2"	11,40
"asc"	"3"	12
"asc"	"4"	11,18
"asc"	"5"	11,40
"asc"	"6"	13
"asc"	"7"	15
"asc"	"8"	12,17
"asc"	"9"	15,13
"asc"	"10"	19,24

Tabla 19. Longitud de penetración de los “tags” de resina en muestras del Grupo 1 (en μm)

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Var00003	10	9,22	19,24	12,9740	2,82602
Valid n (listwise)	10				

Tabla 19.1. Valores de adhesión en megapascales (MPa) del Grupo 1. Estadísticos descriptivos.

Las muestras del grupo 1 (Fig.41) presentaron predominantemente una capa híbrida (H) uniforme y completa en toda su extensión, con penetración de numerosos y regulares “tags”(T) de resina en esmalte (E), los mismos que

presentaron una longitud media de 12,97 μ m, de una muestra de 10 “tags” (Fig.42) y desviación estándar de 2,83 (tabla 19.1).

3.1.2.6.1.2 Grupo 2. Peróxido de hidrógeno/peroxidasa

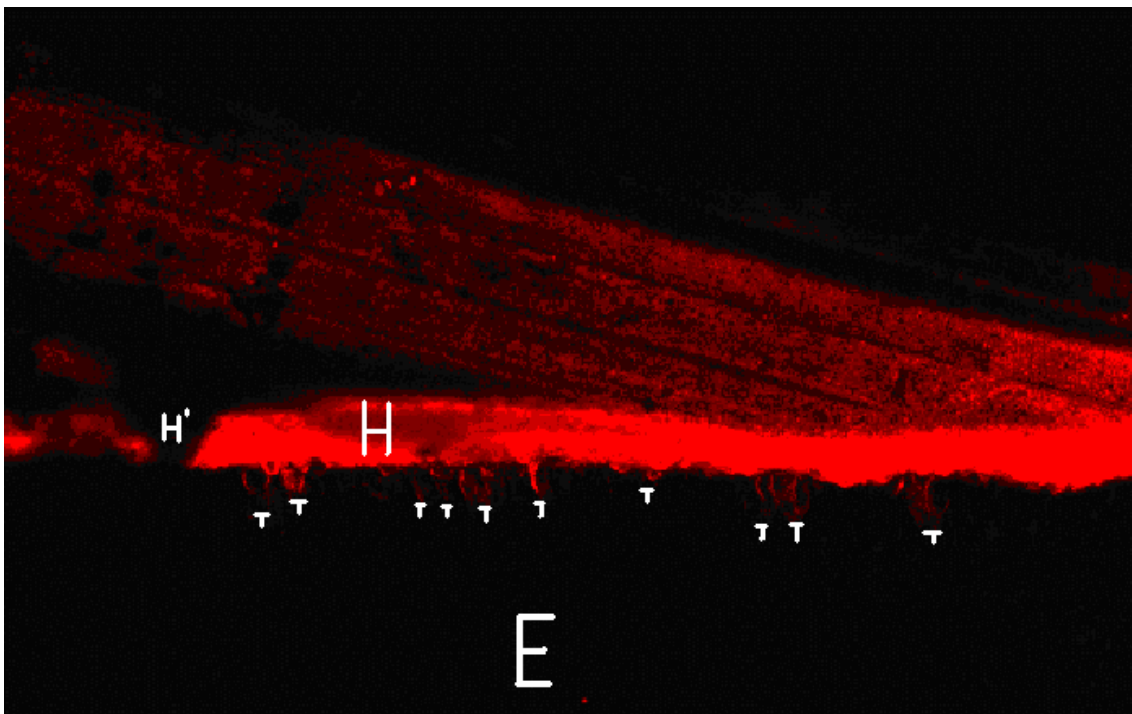


Fig. 43. Imagen de microscopia confocal por fluorescencia tratada con Metamorph Analysis Software UICTM de muestra del grupo 2. Donde capa híbrida (H y H'), “tags” (T) y esmalte (E).

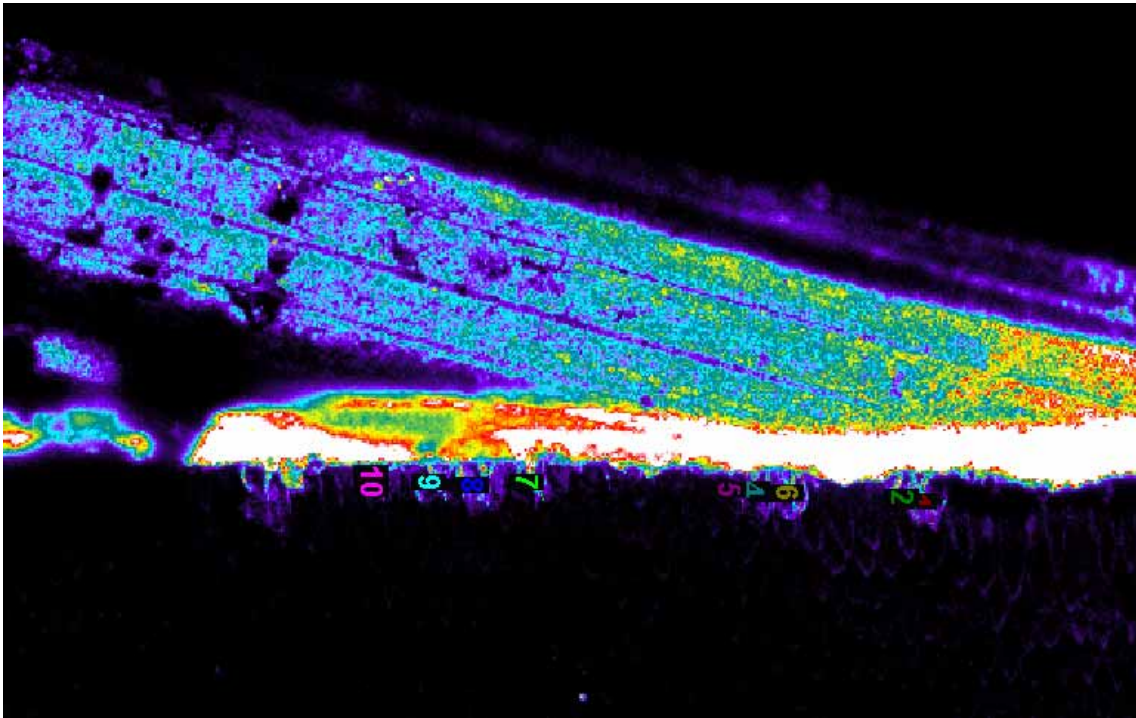


Fig. 44. Imagen anterior señalando numéricamente los “tags” tomados para cuantificación de longitud.

"im age nam e"	"region nam e"	"distance"
"per2"	"1 "	17,10
"per2"	"2"	15,24
"per2"	"3"	13,11
"per2"	"4"	13,11
"per2"	"5"	10,02
"per2"	"6"	12,49
"per2"	"7"	11,79
"per2"	"8"	13,11
"per2"	"9"	12,24
"per2"	"10"	10,73

Tabla 20. Longitud de penetración de los “tags” de resina en muestras del Grupo 2 (en μm)

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Var00003	10	10,02	17,10	12,8940	2,05715
Valid n (listwise)	10				

Tabla 20.1. Valores de adhesión en megapascales (MPa) del Grupo 2. Estadísticos descriptivos

Las muestras del grupo 2 (Fig.43) presentaron una capa híbrida (H) irregular e inconsistente con soluciones de continuidad en parte de su trayecto (H'), con penetración de escasos e irregulares "tags"(T) de resina en esmalte (E), los mismos que presentaron una longitud media de 12,89 μ m, de una muestra de 10 "tags" (Fig.44) y desviación estándar de 2,06 (tabla 20.1).

3.1.2.6.1.3 Grupo 3. Peróxido de hidrógeno/catalasa

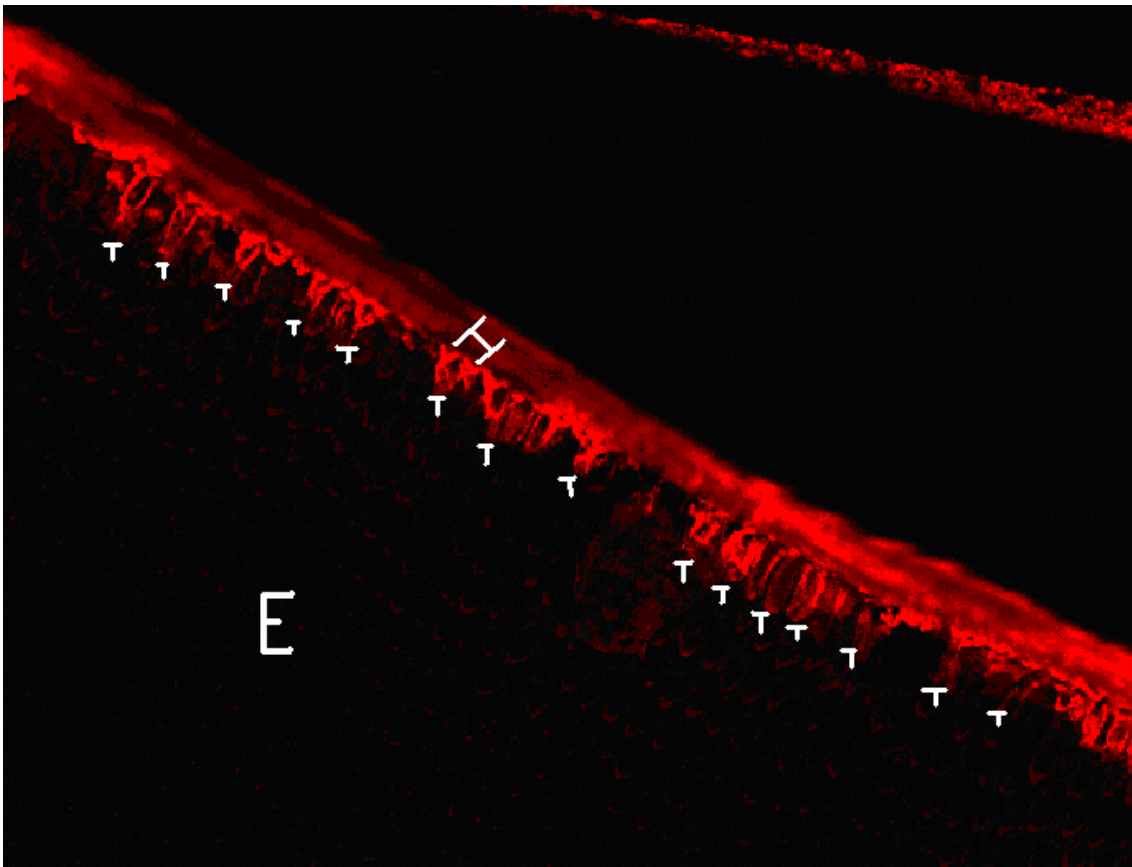


Fig. 45. Imagen de microscopia confocal por fluorescencia tratada con Metamorph Analysis Software UIC™ de muestra del grupo 3. Donde capa híbrida (H), "tags" (T) y esmalte (E).

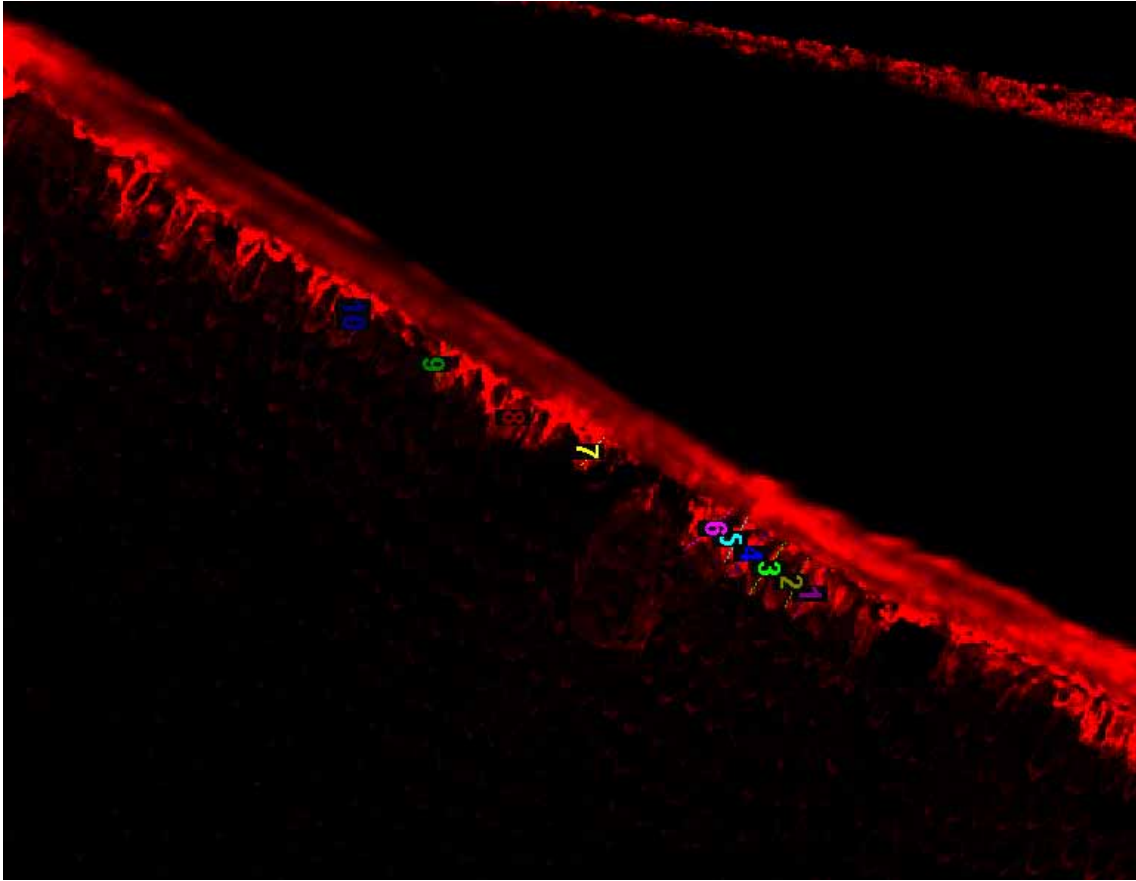


Fig. 46. Imagen anterior señalando numéricamente los “tags” tomados para cuantificación de longitud.

"im age name"	"region name"	"distance"
"cat2"	"1 "	18,79
"cat2"	"2"	15,84
"cat2"	"3"	18,28
"cat2"	"4"	17,19
"cat2"	"5"	14,19
"cat2"	"6"	18,07
"cat2"	"7"	10,58
"cat2"	"8"	12,58
"cat2"	"9"	12,58
"cat2"	"10"	15,02

Tabla 21. Longitud de penetración de los “tags” de resina en muestras del Grupo 3 (en μm)

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Var00003	10	10,58	18,79	15,3120	2,80835
Valid n (listwise)	10				

Tabla 21.1. Valores de adhesión en megapascales (MPa) del Grupo 3. Estadísticos descriptivos.

Las muestras del grupo 3 (Fig.45) presentaron predominantemente una capa híbrida (H) uniforme y completa en toda su extensión, con penetración de numerosos y regulares “tags”(T) de resina en esmalte (E), los mismos que presentaron una longitud media de 15,31 μ m de una muestra de 10 “tags” (Fig.46) y desviación estándar de 2,81 (tabla 21.1).

3.1.2.6.1.4 Grupo 4. Peróxido de hidrógeno/agua

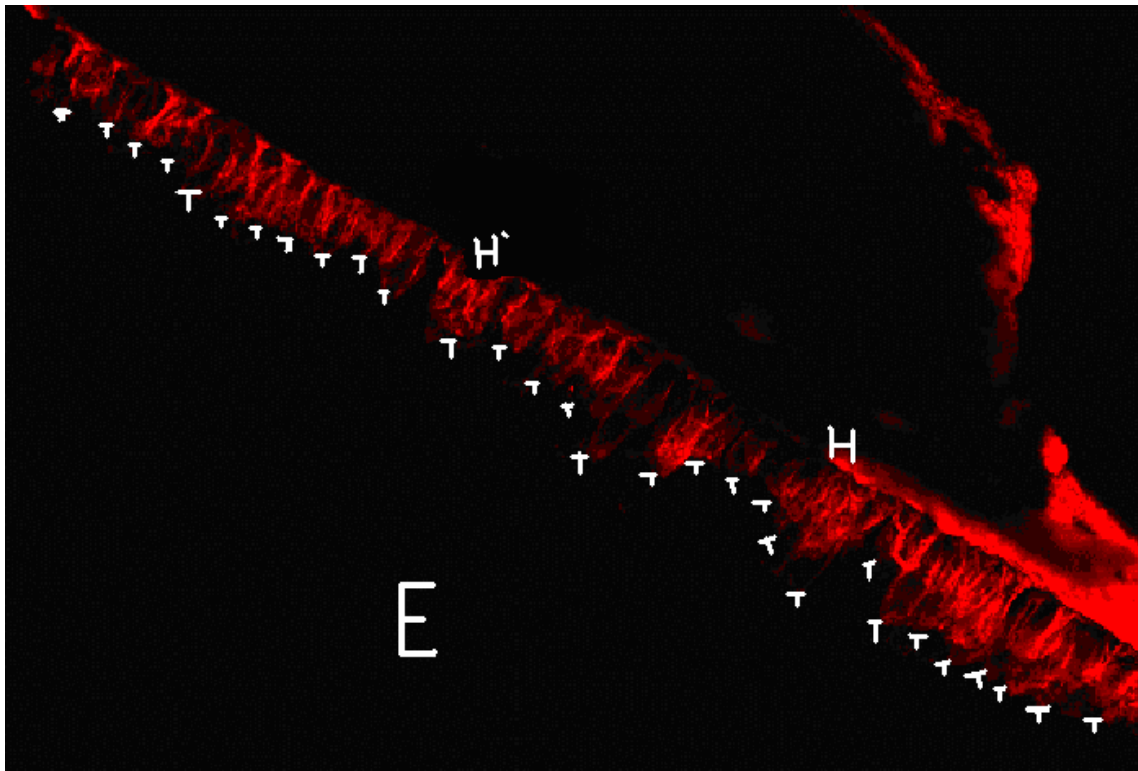


Fig.47. Imagen de microscopia confocal por fluorescencia tratada con Metamorph Analysis Software UICTM de muestra del grupo 4. Donde capa híbrida (H), “tags” (T) y esmalte (E).

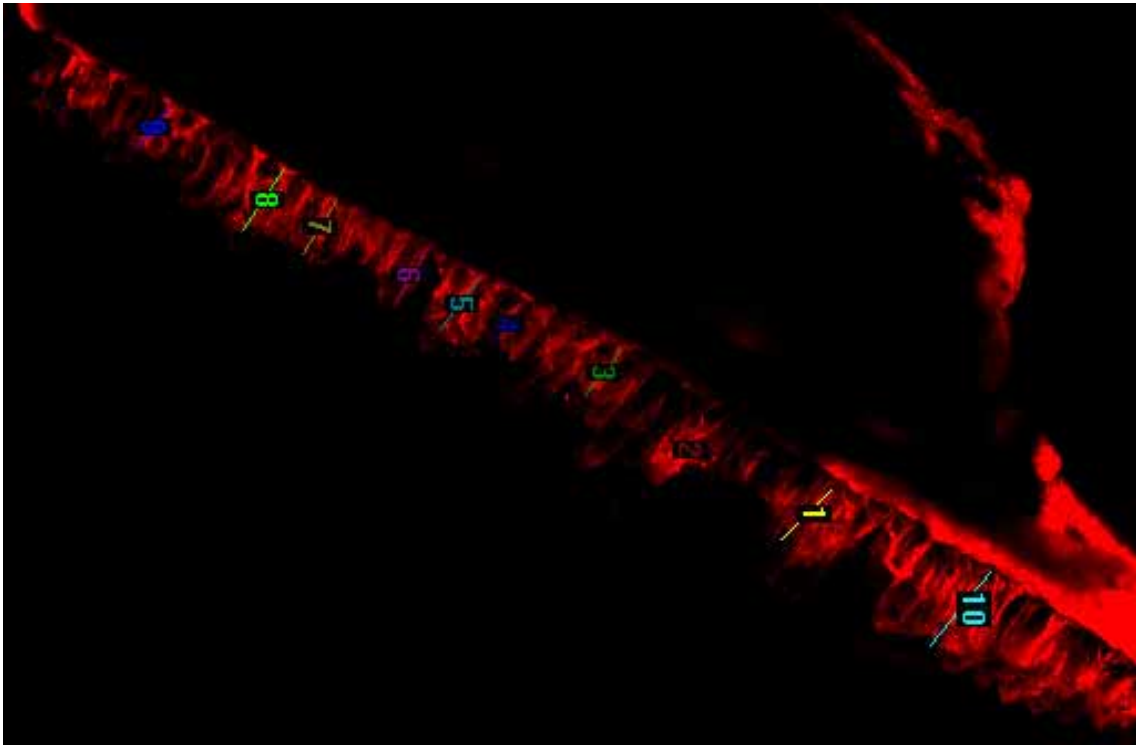


Fig. 48. Imagen anterior señalando numéricamente los “tags” tomados para cuantificación de longitud.

"im age name"	"region name"	"distance"
"agua2_desc01"	"1"	15,92
"agua2_desc01"	"2"	19,78
"agua2_desc01"	"3"	27,26
"agua2_desc01"	"4"	17,28
"agua2_desc01"	"5"	24,27
"agua2_desc01"	"6"	23,12
"agua2_desc01"	"7"	16,79
"agua2_desc01"	"8"	20,69
"agua2_desc01"	"9"	26,90
"agua2_desc01"	"10"	14,94

Tabla 22. Longitud de penetración de los “tags” de resina en muestras del Grupo 4 (en μm)

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Var00003	10	14,94	27,26	20,6950	4,52071
Valid n (listwise)	10				

Tabla 22.1 Valores de adhesión en megapascales (MPa) del Grupo 4. Estadísticos descriptivos.

Las muestras del grupo 4 (Fig.47) presentaron predominantemente una capa híbrida (H) irregular e inconsistente, con ausencia de la misma en la mayor parte de su recorrido (H') con penetración de numerosos y regulares "tags"(T) de resina en esmalte (E), los mismos que presentaron una longitud media de 20,69µm de una muestra de 10 "tags" (Fig.48) y desviación estándar de 4,52 (tabla 22.1).

3.1.2.6.1.5 Grupo 5. Control

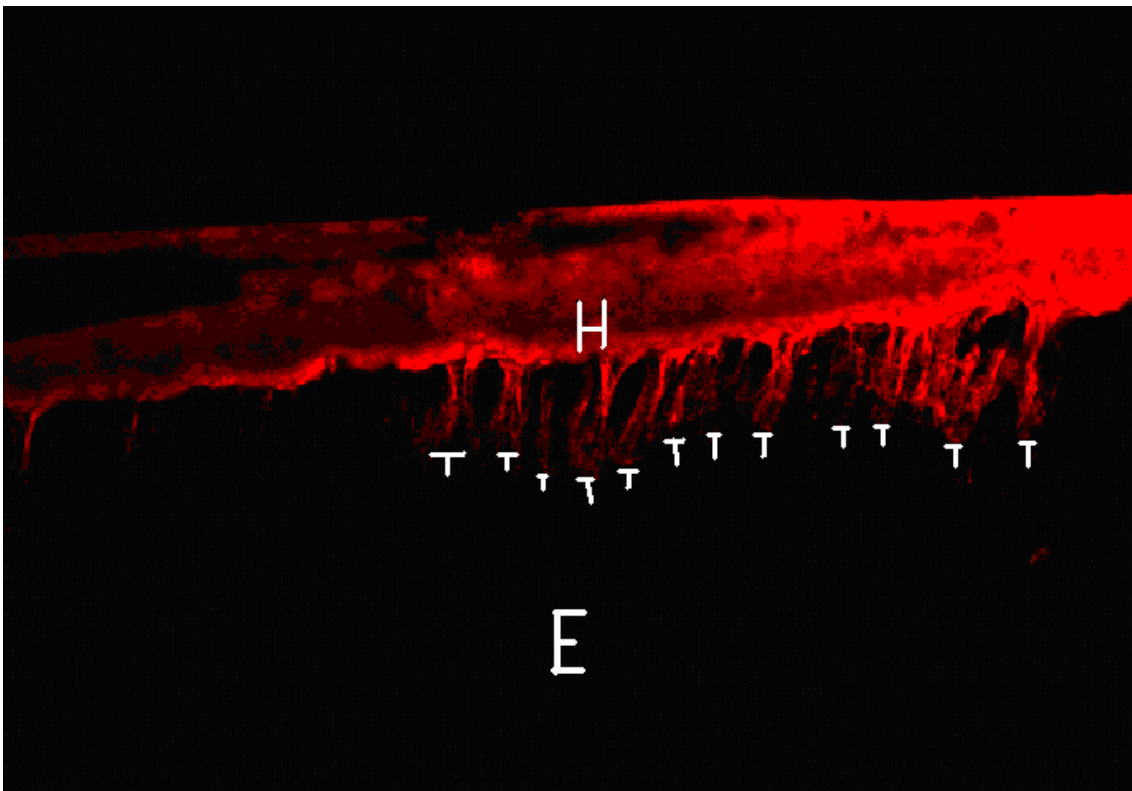


Fig. 49. Imagen de microscopia confocal por fluorescencia tratada con Metamorph Analysis Software UIC TM de muestra del grupo 5. Donde capa híbrida (H), "tags" (T) y esmalte (E).

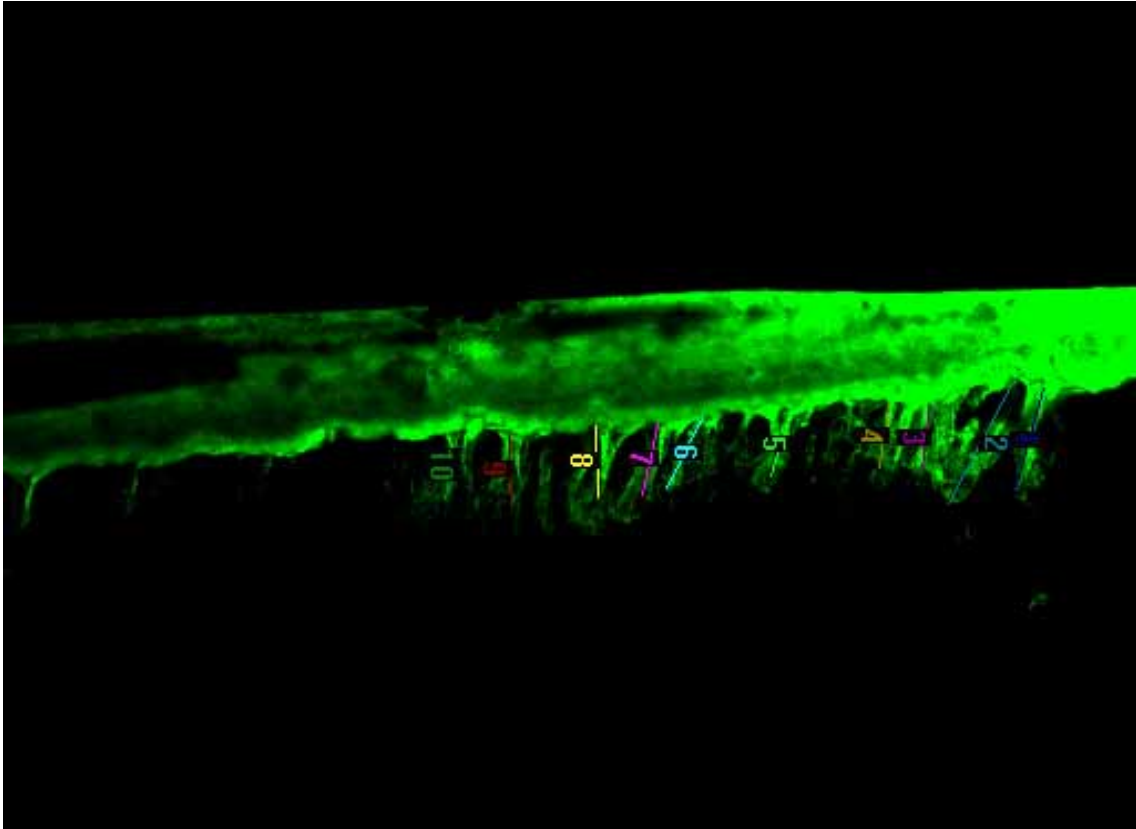


Fig. 50. Imagen anterior señalando numéricamente los “tags” tomados para cuantificación de longitud.

"im age nam e"	"region nam e"	"distance"
"control2"	"1"	32,26
"control2"	"2"	40,58
"control2"	"3"	20,13
"control2"	"4"	20,13
"control2"	"5"	20,24
"control2"	"6"	24,18
"control2"	"7"	22,31
"control2"	"8"	21,79
"control2"	"9"	21,79
"control2"	"10"	20,97

Tabla 23. Longitud de penetración de los “tags” de resina en muestras del Grupo 5 (en μm)

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Var00003	10	20,13	40,58	24,4380	6,72586
Valid n (listwise)	10				

Tabla 23.1. Valores de adhesión en megapascales (MPa) del Grupo 5. Estadísticos descriptivos.

Las muestras del grupo 5 (Fig.49) presentaron predominantemente una capa híbrida (H) uniforme y completa en toda su extensión, con penetración de numerosos y regulares “tags”(T) de resina en esmalte (E), los mismos que presentaron una longitud media de 24,44 μ m de una muestra de 10 “tags” (Fig.50) y desviación estándar de 6,73 (tabla 23.1).

3.1.2.6.2 Cualitativo

3.1.2.6.2.1 Grupo 1. Peróxido de hidrógeno/ascorbato de sodio

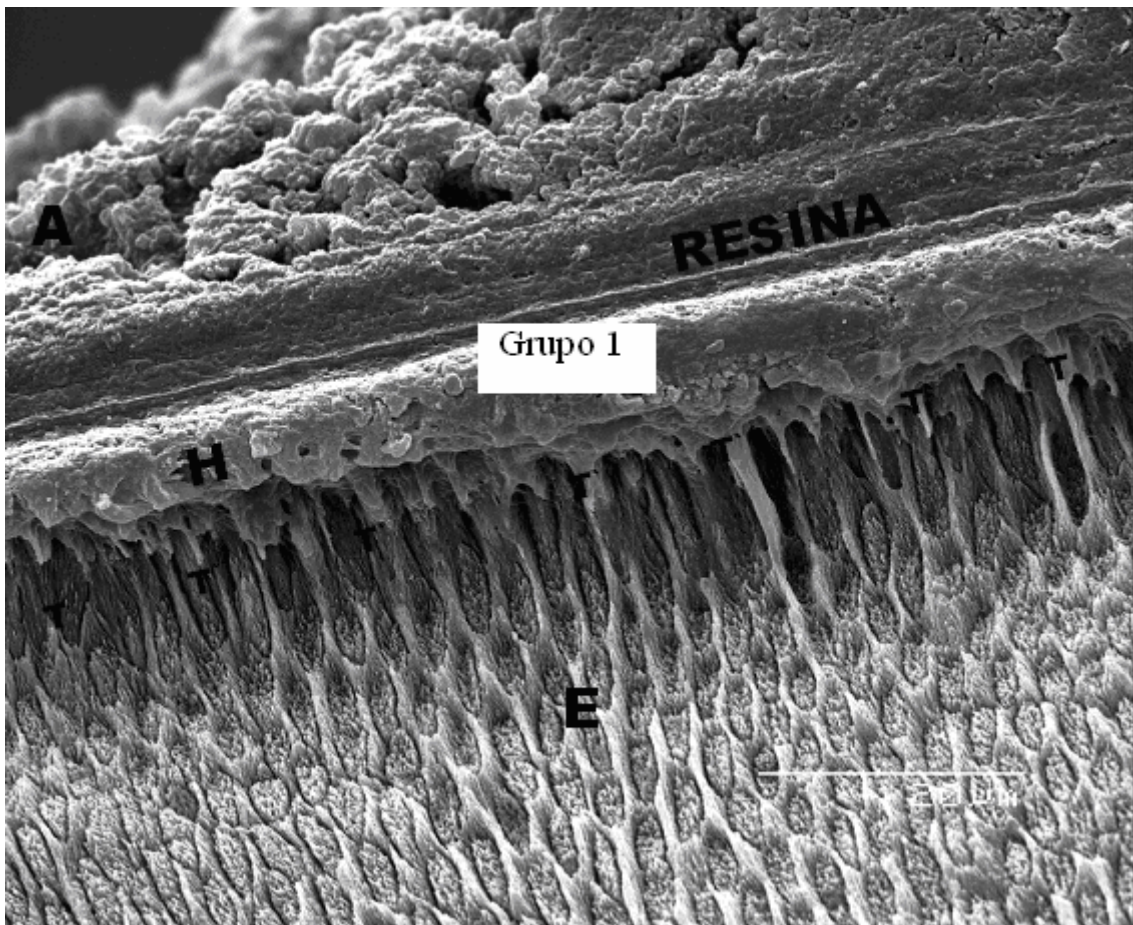


Fig.51 A.- Microfotografía electrónica de barrido, de “tags” de resina (T´ y T`), de la capa hibridada (H) y de esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl de muestra del grupo 1 a magnificación x2000. Nótese homogeneidad de la capa hibridada y la presencia de numerosos y uniformes “tags” de resina.

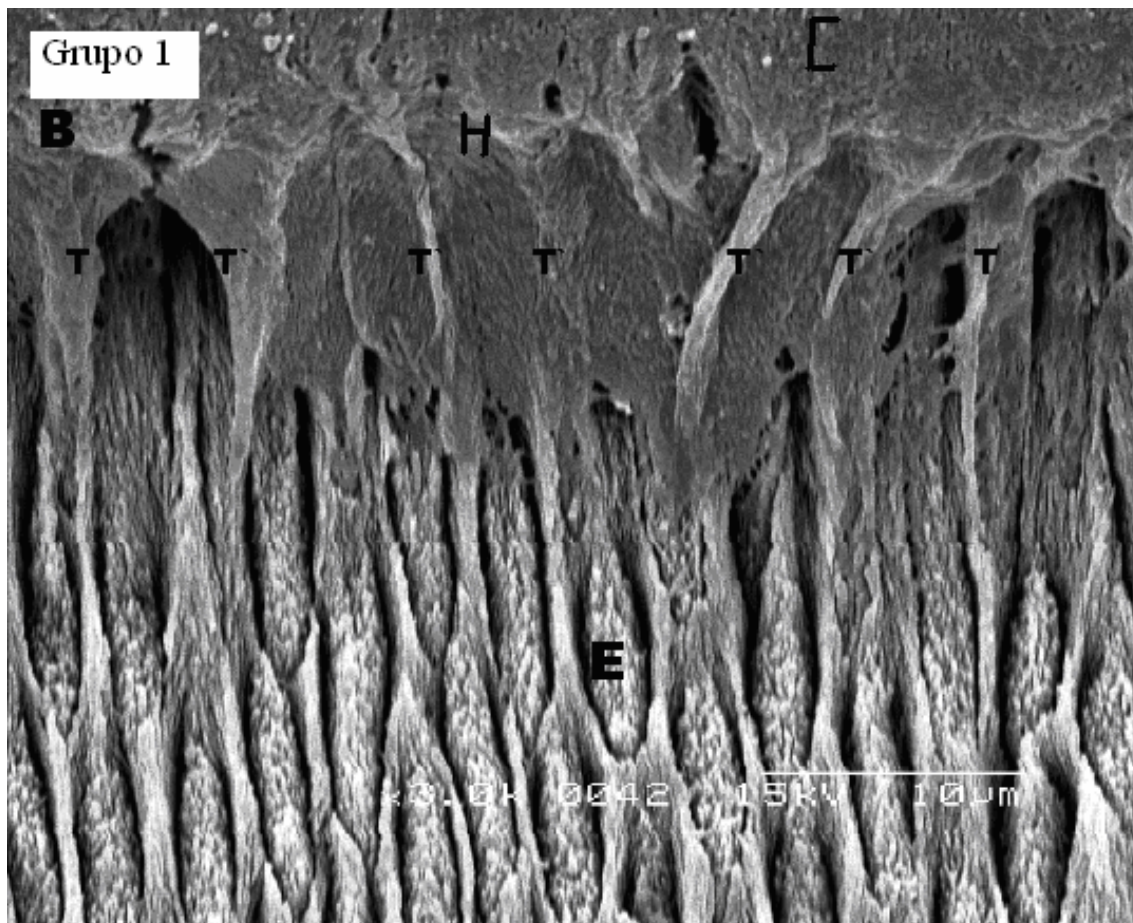


Fig.51 B. -Microfotografía a alta magnificación x3000 de los "tags" de resina (T y T') de muestra del grupo 1, donde se presentan numerosos, consistentes y regularmente distribuidos dentro del esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl.

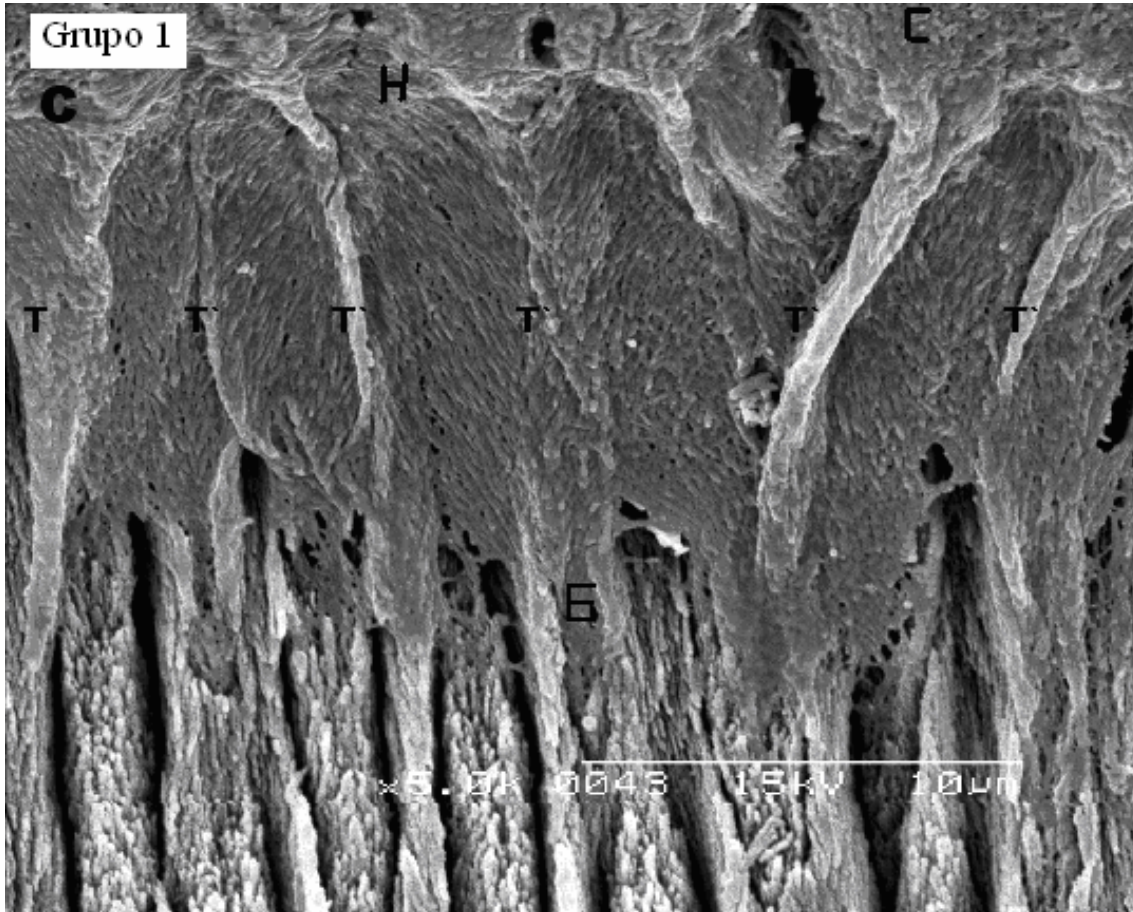


Fig.51 C. Microfotografía a alta magnificación x5000 de los “tags” de resina (T y T’) de muestra del grupo 1, donde se presentan numerosos, consistentes y regularmente distribuidos dentro del esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl

3.1.2.6.2 Grupo 2. Peróxido de hidrógeno/peroxidasa

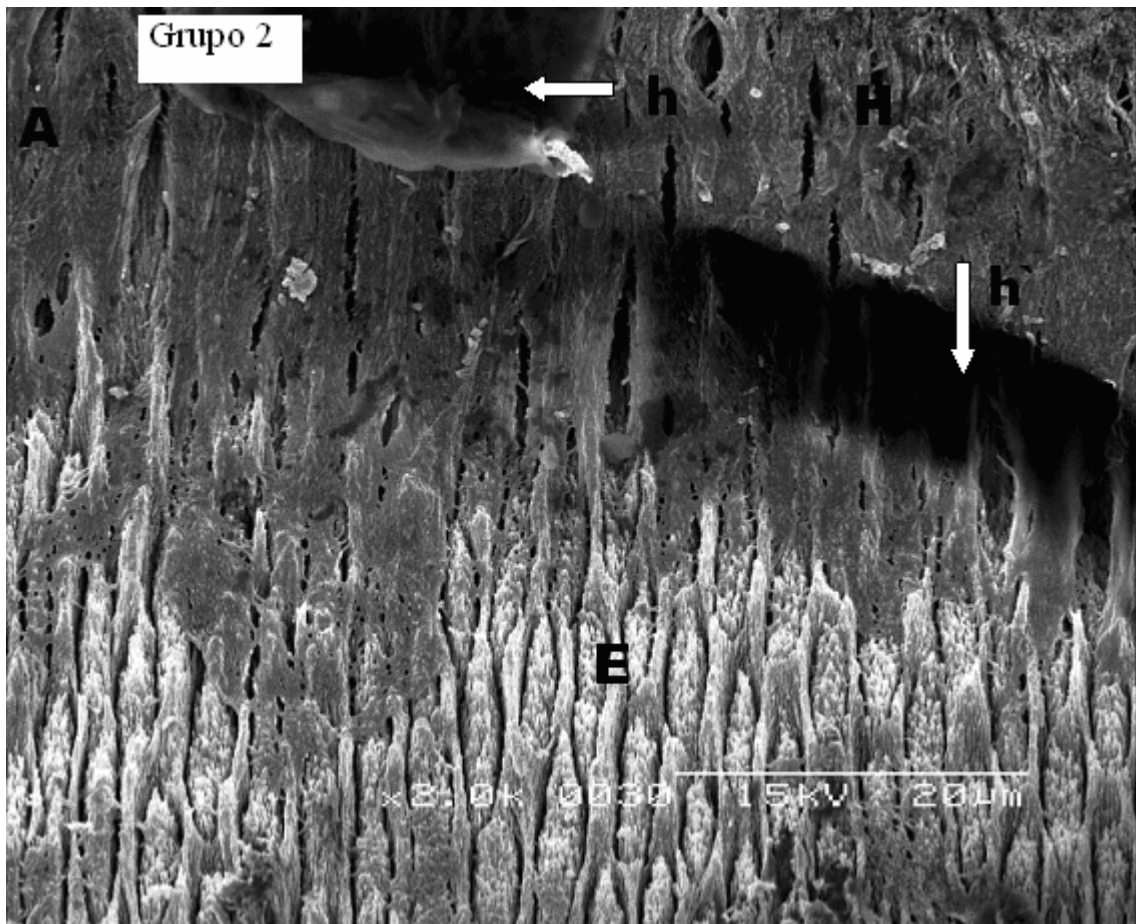


Fig.52 A. Microfotografía a magnificación x3000 de los "tags" de resina de muestra del grupo 2, donde se notan zonas con ausencia de los mismos y capa hibridizada inconsistente (H) y con amplias soluciones de continuidad (h y h') en esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl.

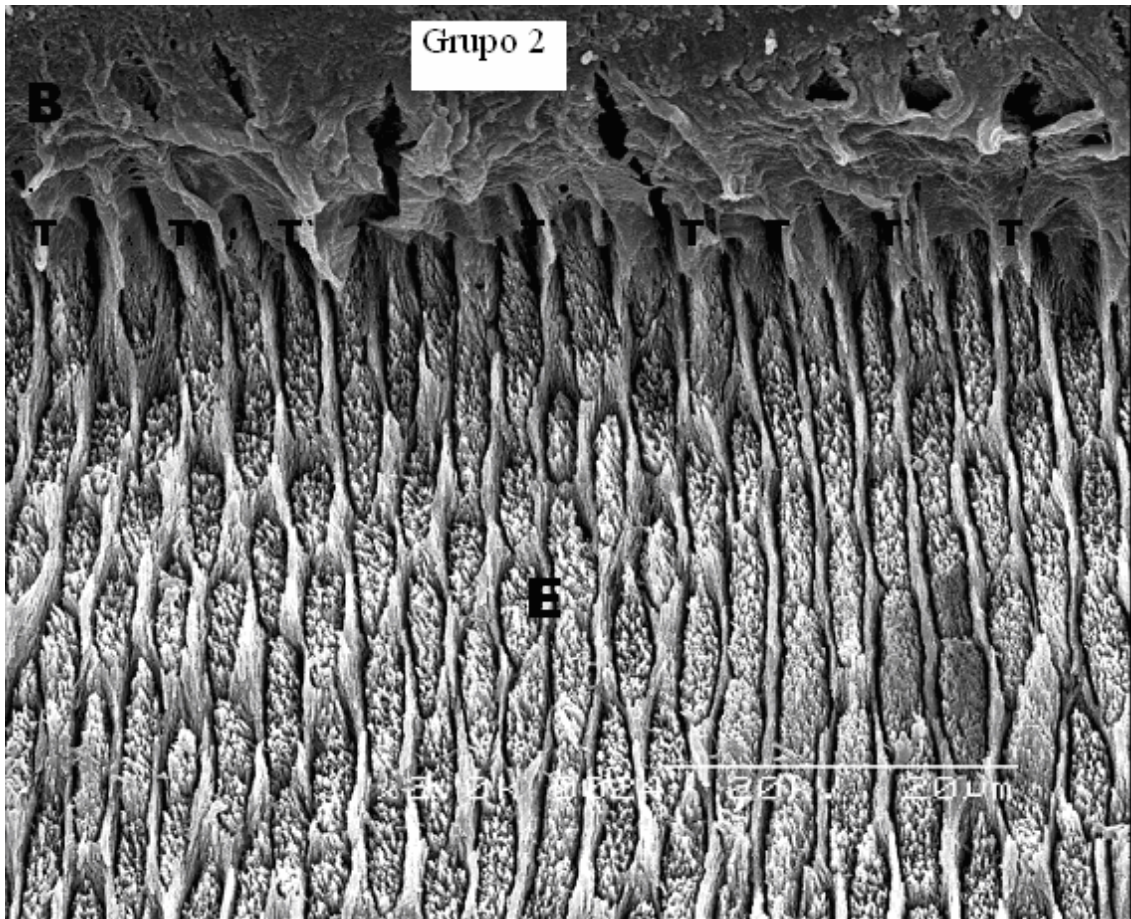


Fig. 52 B. Microfotografía a alta magnificación x2000 de los “tags” de resina (T y T’) de muestra del grupo 2, donde se presentan numerosos, consistentes y regularmente distribuidos dentro del esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl.

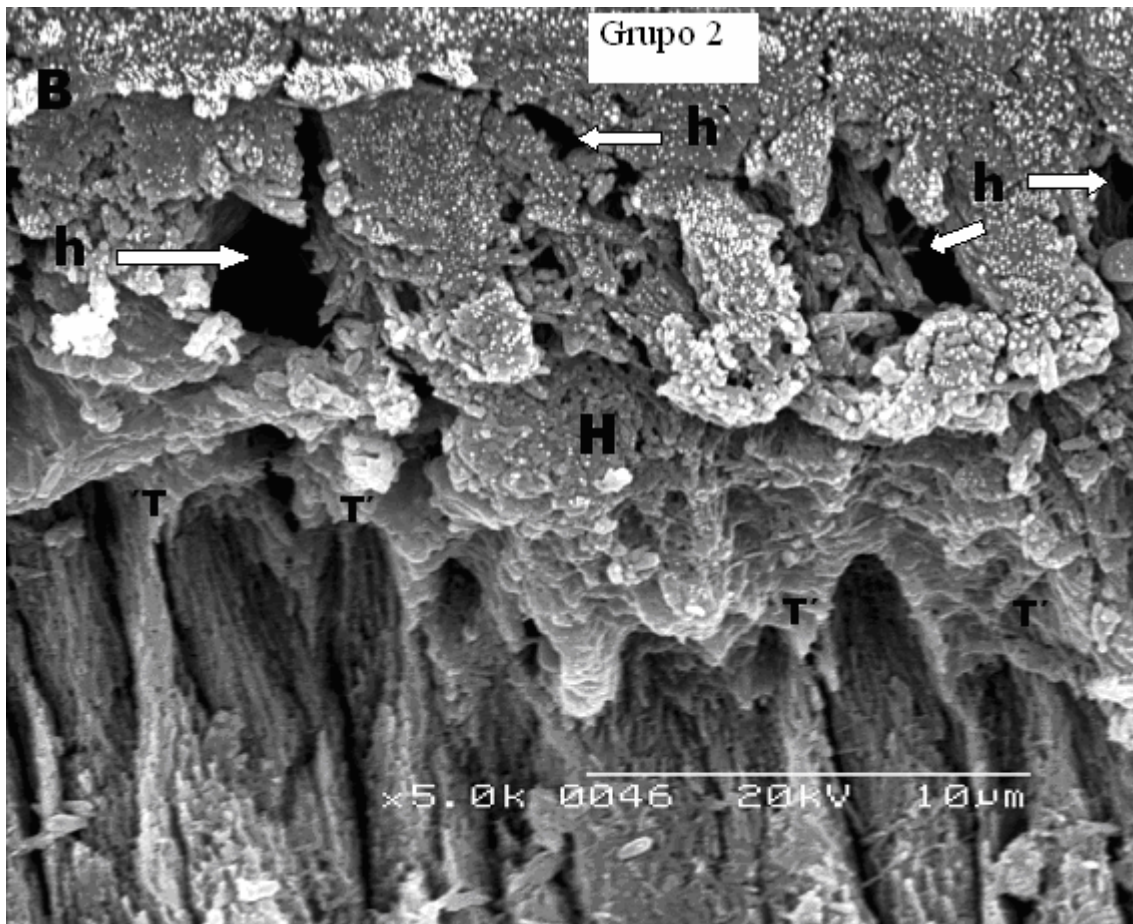


Fig. 52 C. Microfotografía a alta magnificación x5000 de los "tags" de resina (T y T') de muestra del grupo 2, donde se presentan irregulares, fragmentados y con distribución no uniforme. Capa hibridizada inconsistente (H) y con amplias soluciones de continuidad (h y h') en esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl.

3.1.2.6.2.3 Grupo 3. Peróxido de hidrógeno/catalasa

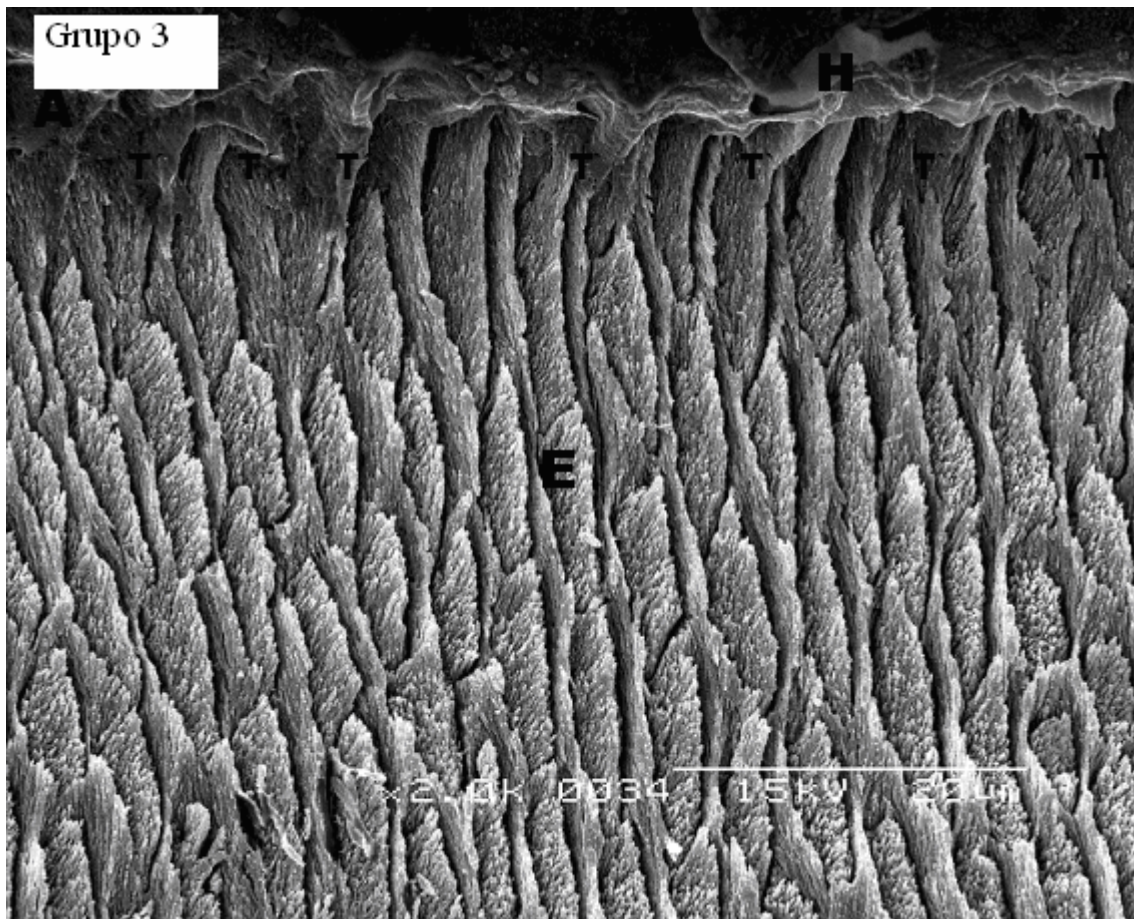


Fig. 53 A- Microfotografía electrónica de barrido, de “tags” de resina (T´ y T`), de la capa hibridizada (H) y de esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl de muestra del grupo 3 a magnificación x2000. Nótese homogeneidad de la capa hibridizada (H) y la presencia de numerosos, uniformes y estructuralmente completos “tags” de resina (T´ y T`).

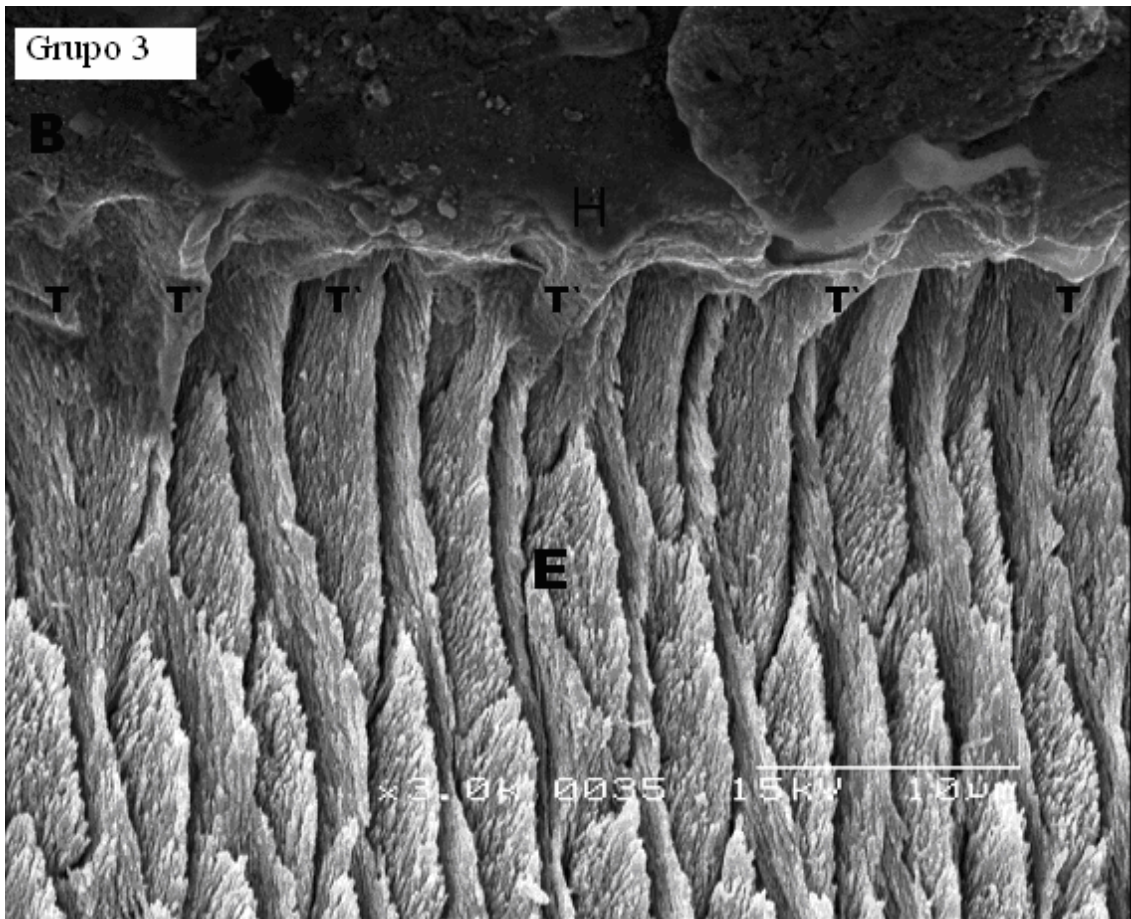


Fig. 53 B. - Microfotografía electrónica de barrido, de “tags” de resina (T´ y T`), de la capa hibridizada (H) y de esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl de muestra de la misma muestra del grupo 3 a magnificación x3000. Nótese homogeneidad de la capa hibridizada y la presencia de numerosos y uniformes “tags” de resina bien impregnados dentro del esmalte parcialmente desmineralizado (E).

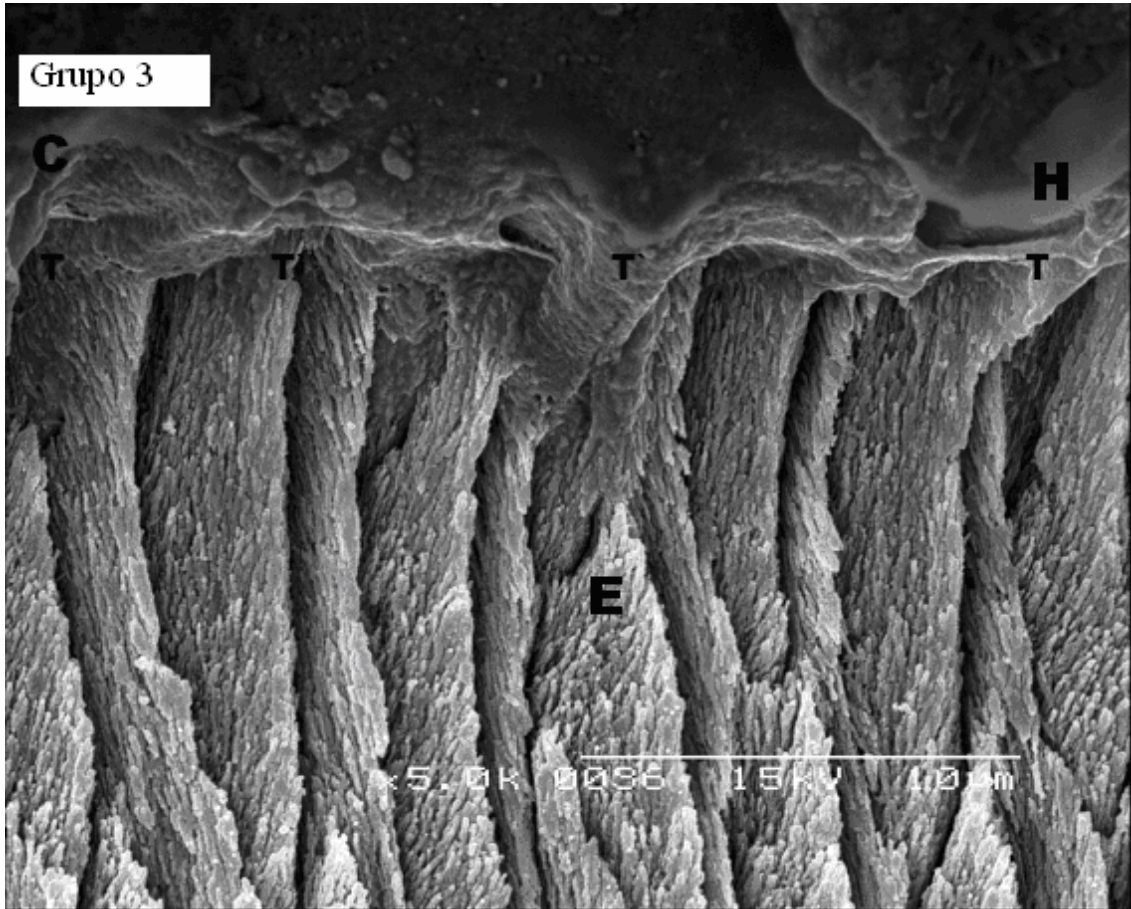


Fig. 53 C- Microfotografía electrónica de barrido, de “tags” de resina (T´ y T`), de la misma muestra del grupo 3 a alta magnificación x5000. Nótese homogeneidad de la capa hibridizada (H) y la presencia de numerosos y uniformes “tags” de resina.

3.1.2.6.2.4 Grupo 4. Peróxido de hidrógeno/agua

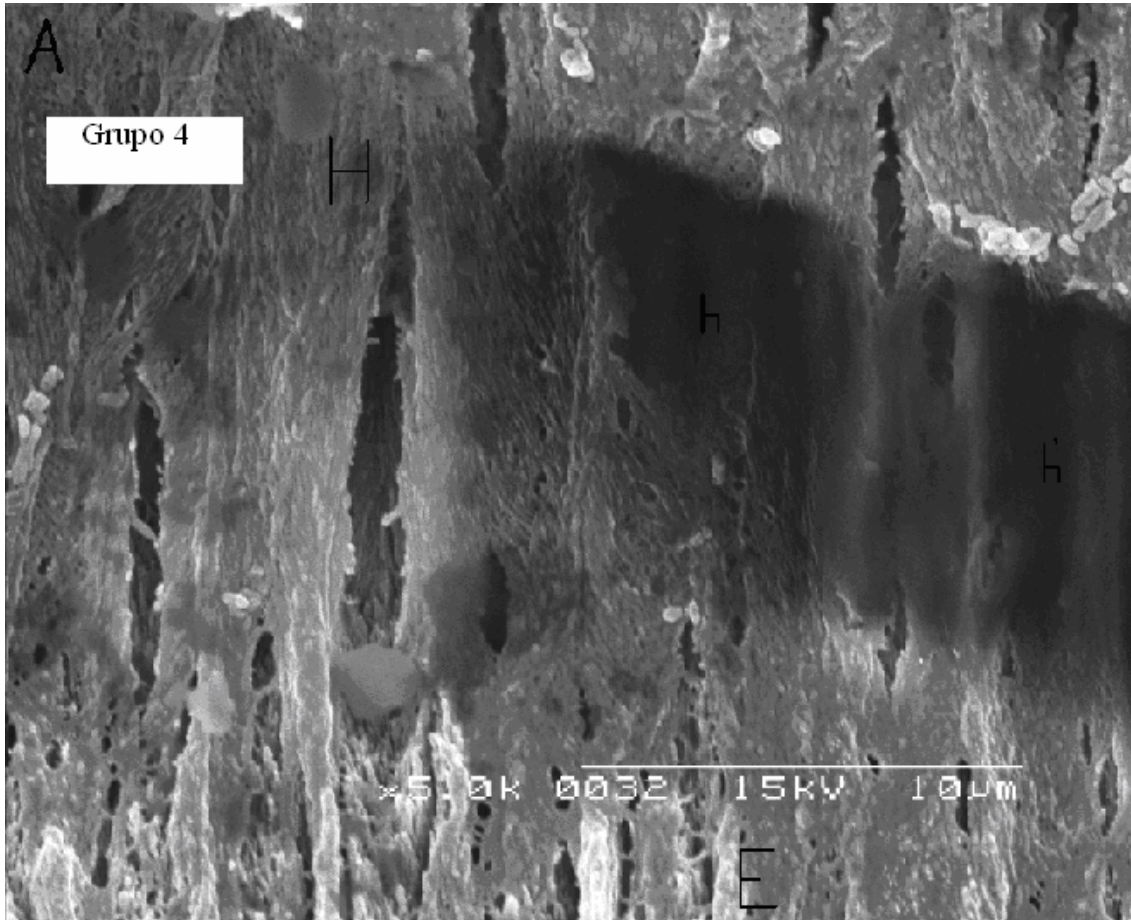


Fig.54 A. - Microfotografía a alta magnificación x5000 de los "tags" de resina (T' y T') de muestra del grupo 4, donde se notan zonas con ausencia de los mismos y capa híbrida inconsistente (H) y con amplias soluciones de continuidad (h y h') en esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl.

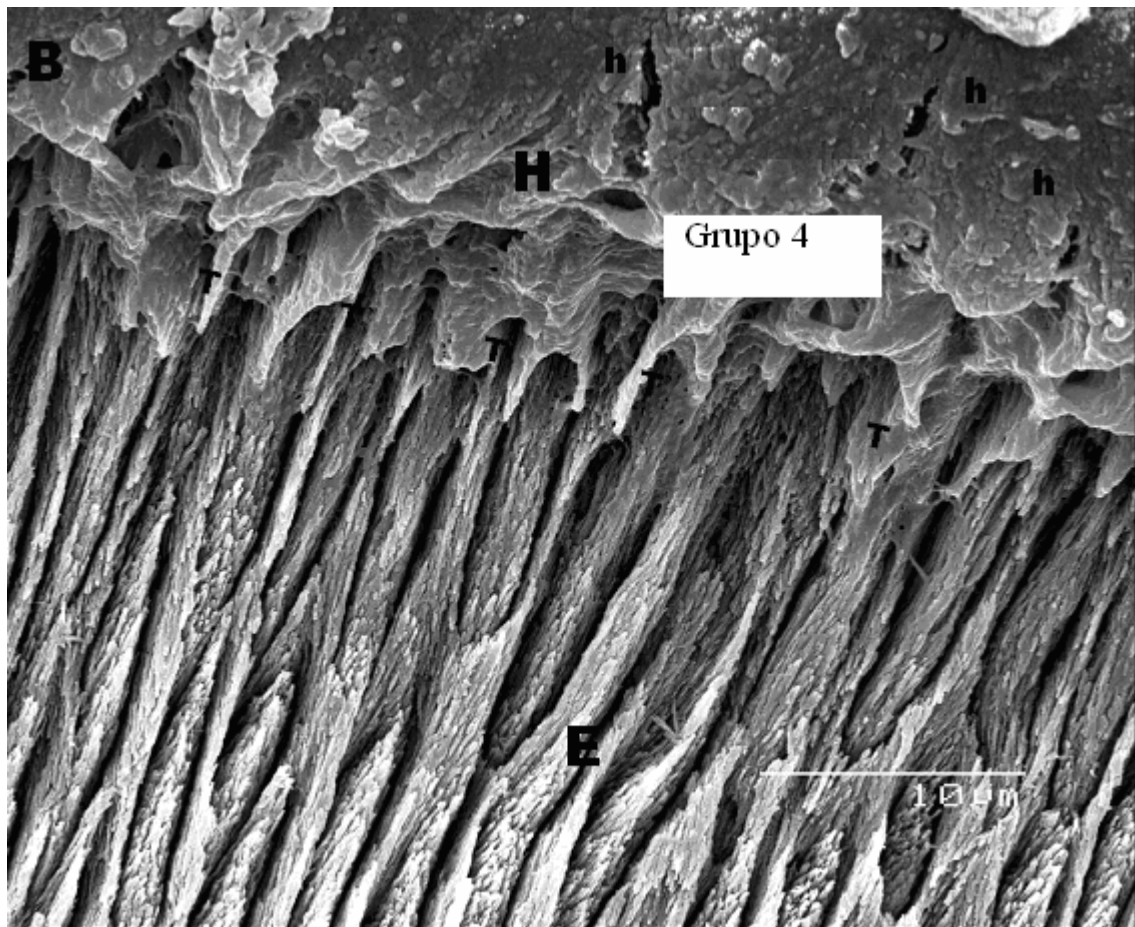


Fig. 54 B. Microfotografía a magnificación x2000 de muestra del grupo 4, donde se notan la presencia de numerosos, regularmente distribuidos y fragmentados "tags" de resina (T' y T'') y zonas con capa hibridizada irregular e inconsistente (H) y con de continuidad (h y h') en esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl.

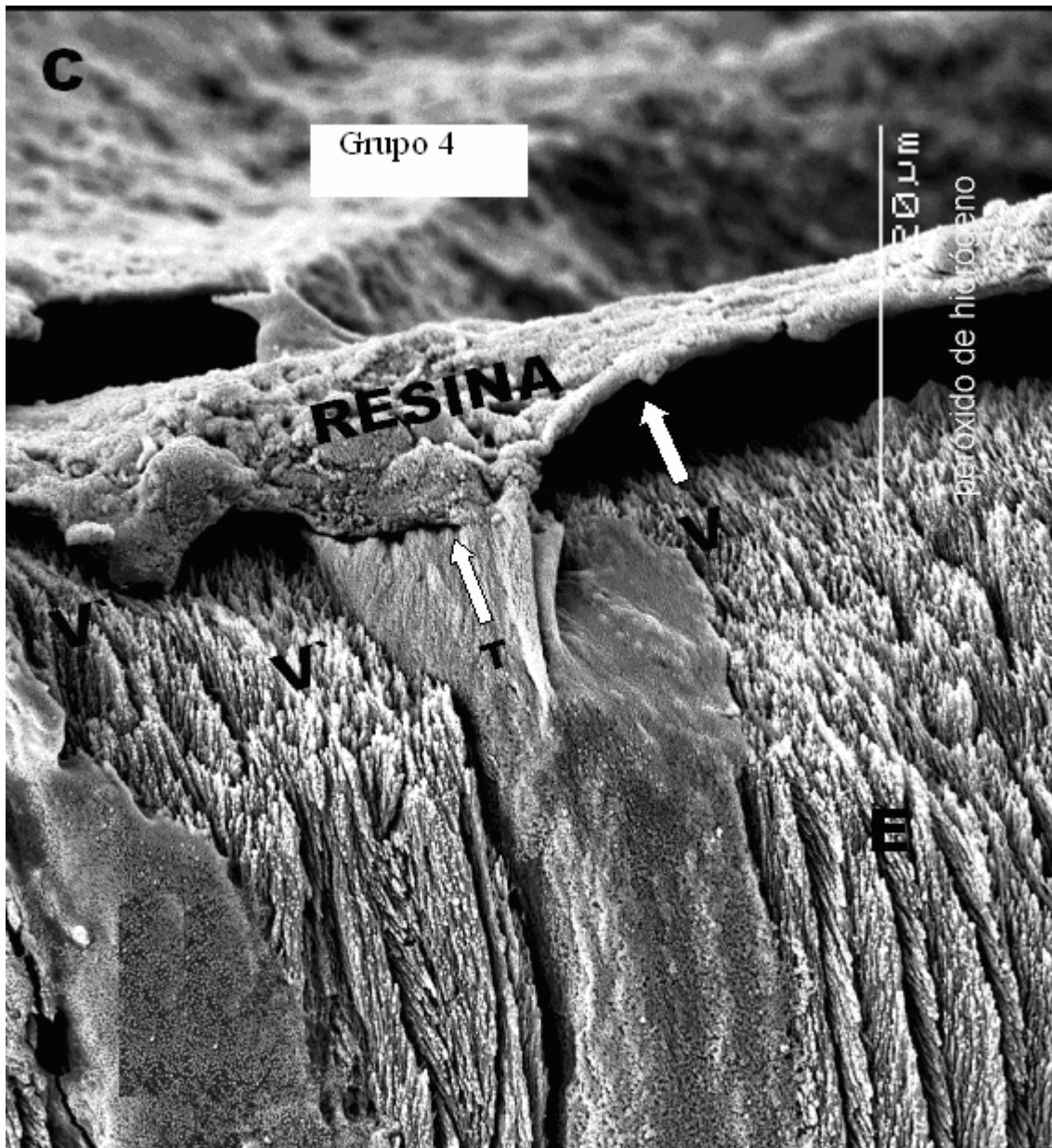


Fig. 54 C. - Microfotografía a alta magnificación x5000 de muestra del grupo 4, donde se notan "tags" escasos y fragmentados (T), con ausencia de capa híbrida y presencia de zonas amplias de ausencia de impregnación resina- esmalte (V, V') en esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl.

3.1.2.6.2.5 Grupo 5. Control

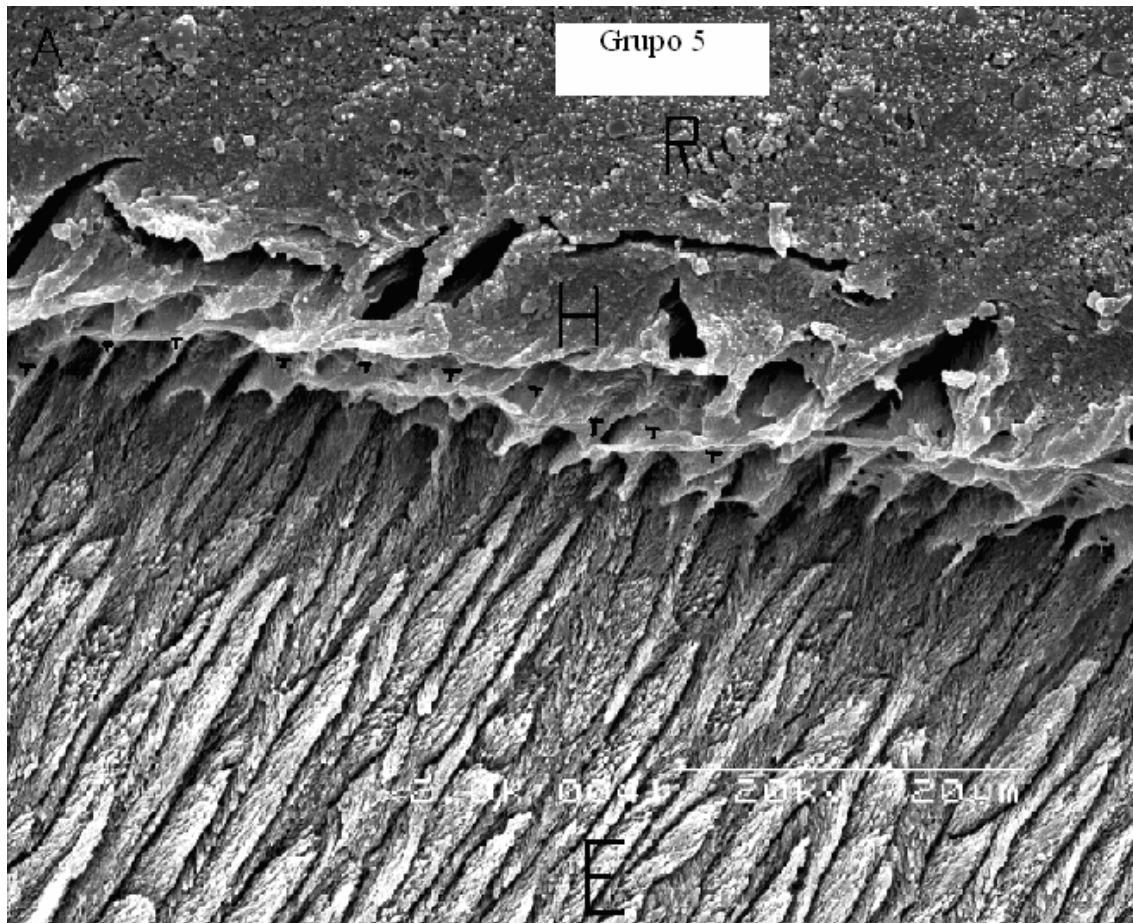


Fig. 55 A. - Microfotografía electrónica de barrido, de "tags" de resina (T' y T`), de la capa híbrida (H) y de esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl de muestra del grupo 5 a magnificación x2000. Nótese homogeneidad de la capa híbrida y la presencia de numerosos y uniformes "tags" de resina, con una superficie regular y consistente de resina (R).

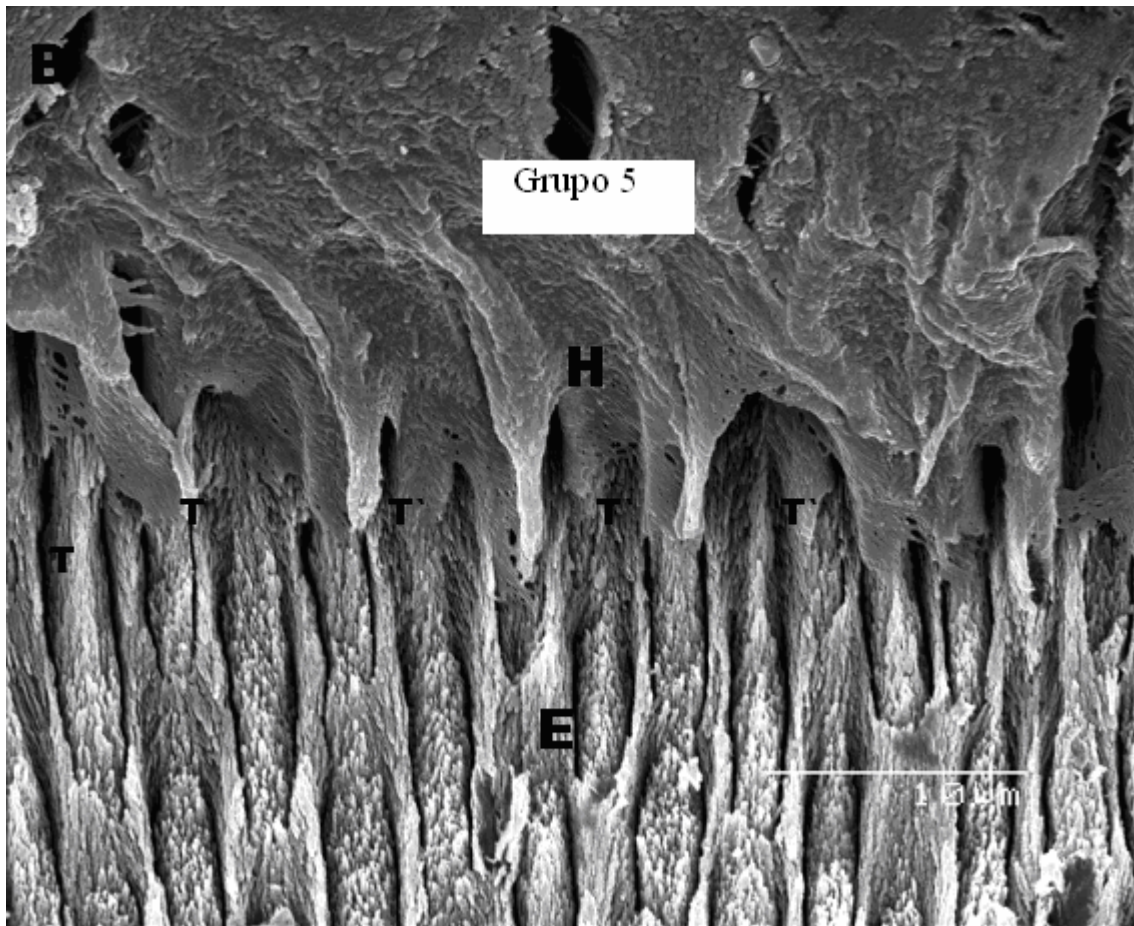


Fig.55 B.- Microfotografía a alta magnificación x5000 de los "tags" de resina de muestra del grupo 5, donde se presentan numerosos, consistentes y regularmente distribuidos dentro del esmalte parcialmente desmineralizado (E) por HCl . Nótese una capa híbrida (H) bien distribuida y consistente.

3.1.2.7 Análisis químico cuantitativo y morfológico superficial de esmalte

3.1.2.7.1 Químico cuantitativo

3.1.2.7.2 Análisis de datos

Debido al tamaño reducido de la muestra, optamos por analizarlos de manera descriptiva en base a medias y ratios de la composición porcentual para cada muestra del grupo respectivo, tanto del ensayo 1, como del ensayo 2. Procediendo posteriormente a establecer una comparación entre ambos.

3.1.2.7.3 Análisis de ensayos

La alteración de los elementos químicos para los distintos tipos de tratamiento fue proporcionalmente similar. Se analizaron los porcentajes de carbono, nitrógeno y oxígeno, como probables constituyentes de la porción aprismática (orgánica), además que la presencia de oxígeno pudiera estar dada por la generación de radicales libre y especies reactivas de oxígeno generados por el agente de blanqueamiento en base a peróxido de hidrógeno. Por otro lado, se analizará la presencia de calcio y fósforo como constituyentes de la parte inorgánica de la sustancia adamantina. Hicimos un análisis por grupos como a continuación se describe.

3.1.2.7.3.1 Ensayo 1

Suponemos que la menor concentración porcentual de carbono y nitrógeno (tabla 24, Fig. 56- 61)) presentada en el grupo de peróxido de hidrógeno más agua, grupo 4 (phagua) se dio debido a la mayor disolución del esmalte aprismático superficial que mayormente está constituido por elementos del tipo proteico. Por otro lado, el aumento del oxígeno se podría explicar por la presencia de radicales o especies reactivas de oxígeno generados por el peróxido de hidrógeno como agente blanqueador. De allí que el grupo control (grupo 5) del ensayo 1 presente menor concentración porcentual de oxígeno.

Ensayos	C1s	N1s	O1s	Si2p	P2p	Ca2p	Zn2p3	Sn3d5	Na1s	F1s	S2p
Control1	62.16	4.54	27.76	1.11	2.10	2.17	0.15	-	-	-	-
Phagua	35.77	3.25	42.63	5.65	4.81	6.51	0.46	0.92	-	-	-
Phpero	43.44	4.81	36.39	3.10	4.84	6.77	0.28	0.37	-	-	-
Phcata	40.59	2.91	40.30	6.43	3.76	4.97	0.26	0.32	0.47	-	-
Paasco	40.20	3.22	40.16	5.47	4.19	5.20	0.19	0.31	1.06	-	-
Control2	42.47	4.11	37.21	-	6.49	8.87	-	-	-	0.36	0.49
Refresco	40.04	5.31	33.49	-	4.69	6.11	-	-	0.16	-	1.19

Tabla 23. Resultado de las cantidades porcentuales de los estudios de espectrometría de fotoelectrones. Para cada elemento químico en los diversos grupos de estudio. Sombreado al 12,5% indican las cantidades porcentuales de los elementos pertenecientes a la matriz orgánica o porción aprismática superficial de esmalte. Sombreado al 30% indican las cantidades porcentuales de los elementos referentes a la matriz inorgánica o porción prismática subsuperficial de esmalte. Controles 1 y 2, son las cantidades porcentuales de ambos grupos en los ensayos 1 y 2. El dígito “-” significa que dichos elementos no fueron totalmente detectados en los respectivos ensayos.

Cabe agregar que en los grupos tratados con agente blanqueador más los tratamientos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos respectivos, estos al parecer influyeron en la mayor conservación de la porción aprismática superficial; es decir, conservación de los elementos orgánicos. Con relación a la porción inorgánica los grupos tratados con antioxidantes como catalasa y ascorbato de sodio mostraron concentraciones relativamente menores (calcio y fósforo), quizás por el hecho de una mayor conservación de la porción aprismática superficial.

Parecería contradictorio que las concentraciones porcentuales de calcio y fósforo se presenten menores en el grupo control que en los grupos experimentales. Sin embargo, esto podría explicarse por el hecho de que al no haber sufrido la disolución de la parte aprismática, no fueran tan nítidamente detectables.

En general podemos sostener, que de acuerdo a los resultados del presente estudio, el agente blanqueador de peróxido de hidrógeno puede ser capaz de causar una alteración leve de la parte aprismática superficial, comparada frente al uso combinado con agentes antioxidantes y que además, cabe resaltar que ningún grupo experimental afectó la porción prismática subsuperficial. Por otro lado, las concentraciones porcentuales de oxígeno se ven claramente superiores en los grupos experimentales, comparados al grupo control (ensayo 19, pero ligeramente menores en los grupos que se hizo uso de los agentes antioxidantes, especialmente el grupo 2 (peróxido de hidrógeno/ peroxidasa).

3.1.2.7.3.2 Ensayo 2

El refresco ha presentado también una remoción parcial aparente de la porción aprismática superficial. Además, las concentraciones de los elementos inorgánicos (calcio y fósforo)(tabla 25, Fig. 62, 63) se mostraron menores por la afectación simultánea de la porción inorgánica, hecho no observado en los grupos anteriores.

Hemos encontrados que los tratamientos con agentes blanqueadores demuestran mayor potencia (>1) en cuanto a la afectación de la porción orgánica y menor potencia (<1) en cuanto a la afectación de la porción inorgánica comparativamente con el grupo refresco.

En definitiva, se ha observado que los sustratos de esmalte sometidos a agentes blanqueadores con y sin sustancias antioxidantes afectaron

aparentemente en mayor porcentaje la porción aprismática superficial, ocurriendo lo contrario con relación a la porción inorgánica comparadas con sustratos sometidos al refresco.

3.1.2.7.4 Análisis de ratios

Refresco	C1s	N1s	O1s	P2p	Ca2p
Phagua	1,62	1,80	0,59	0,31	0,23
Phpero	1,34	1,23	0,68	0,31	0,29
Phcata	1,45	2,03	0,62	0,40	0,30
Paasco	1,45	1,37	0,62	0,36	0,29

Tabla 24. Valores de ratios por cada elemento estructural usando el tratamiento refresco como referencia. La fracción de valores del tratamiento refresco en relación a su control (control 2) fue dividido por el denominador de cada tratamiento en relación a su respectivo control, generando así, el ratio potencia de tratamiento refresco frente a los demás tratamientos. Los valores encontrados pueden ser evaluados como la potencia relativa entre el consumo del refresco y el uso de los agentes blanqueadores (Ej. El tratamiento phagua ha demostrado remover 1,62 veces más carbono que el uso/aplicación del refresco). Si el ratio es <1, significa que es posible que exista una mayor potencia del refresco frente a los blanqueadores. Si el ratio >1, significa que es posible que exista una mayor potencia del tratamiento blanqueador frente al refresco. Sigue el patrón del sombreado de la tabla 24.

3.1.2.7.5 Representación gráfica de la concentración porcentual de elementos químicos detectados por grupos

3.1.2.7.5.1 Ensayo 1

Representación gráfica de la concentración porcentual de elementos químicos detectados por grupos.

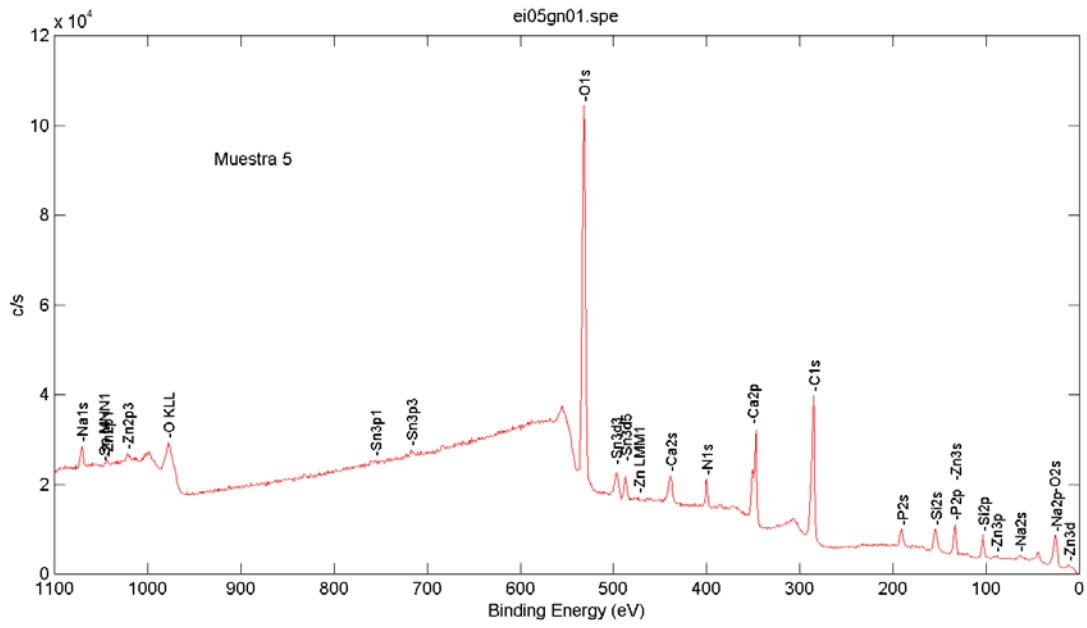


Fig. 56. Gráfico espectrométrico del grupo 1.

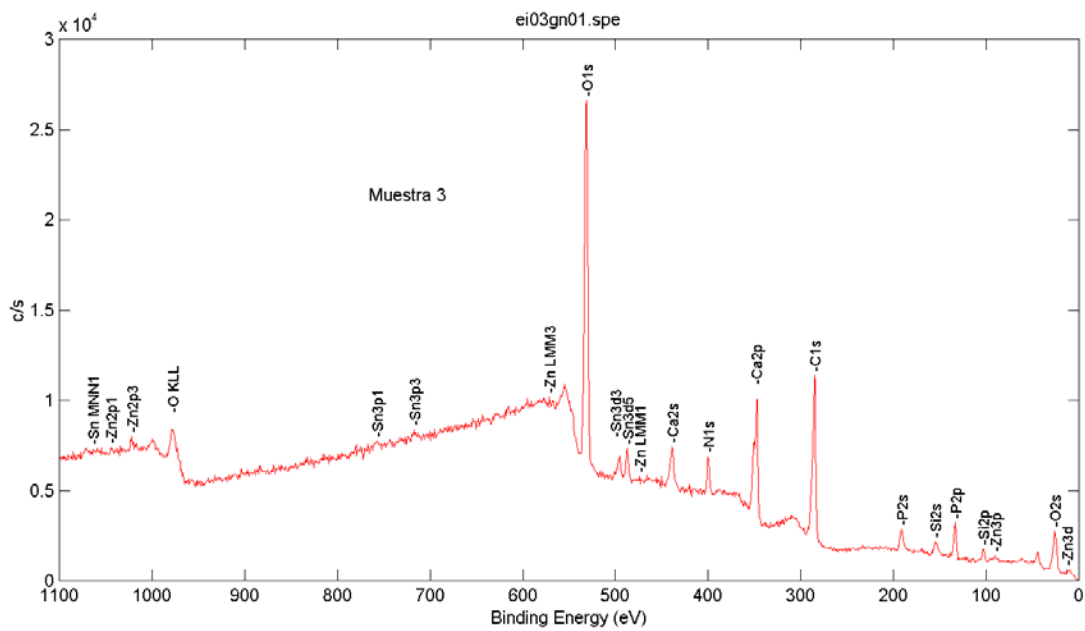


Fig. 57. Gráfico espectrométrico del grupo 2.

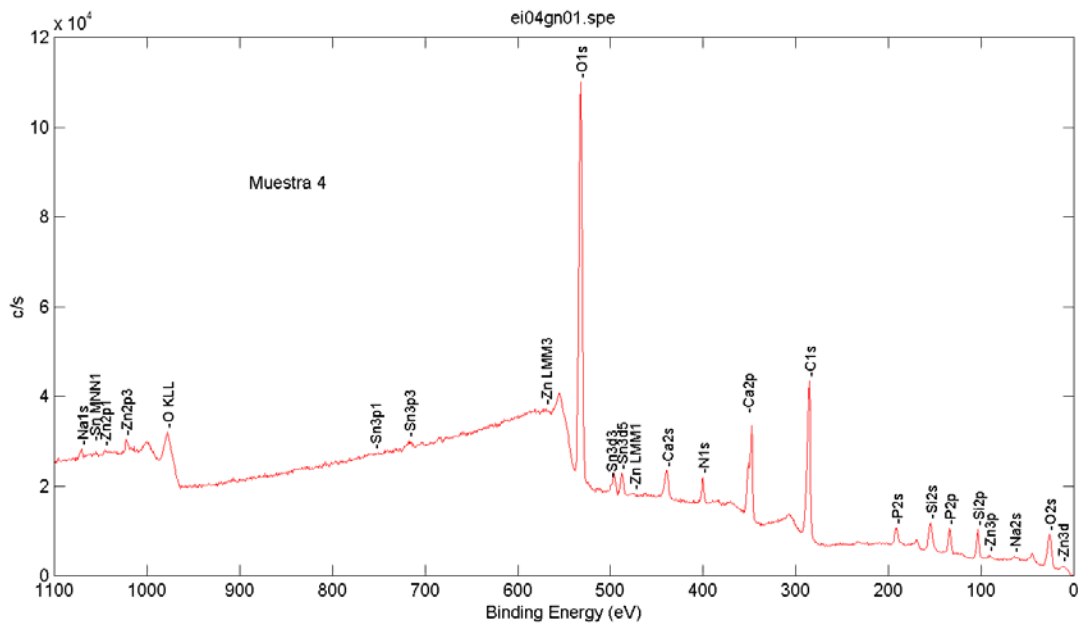


Fig. 58. Gráfico espectrométrico del grupo 3.

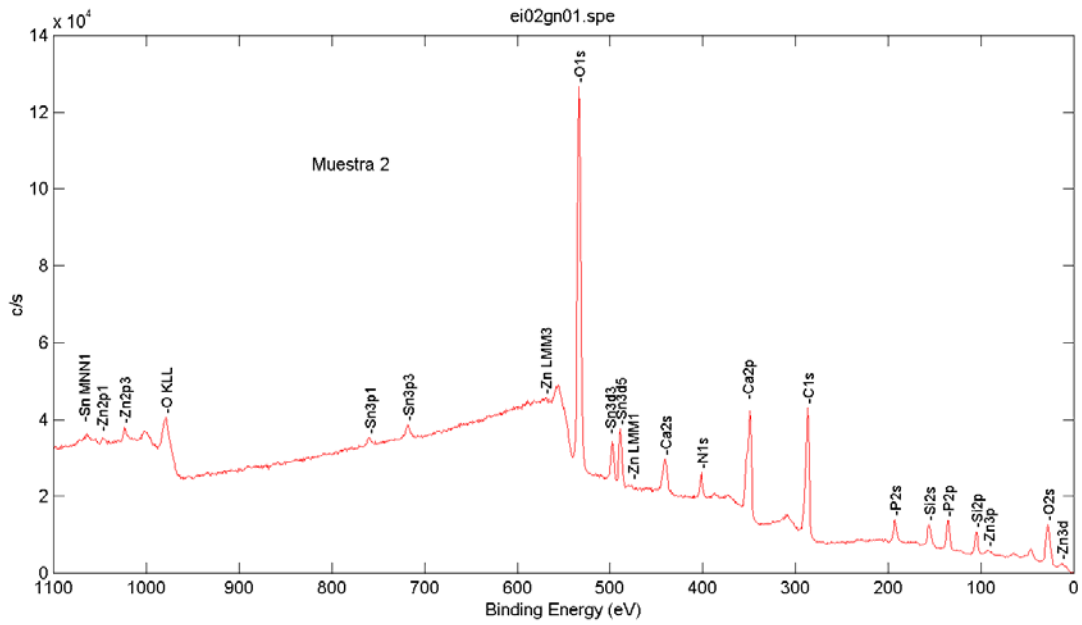


Fig. 59. Gráfico espectrométrico del grupo 4.

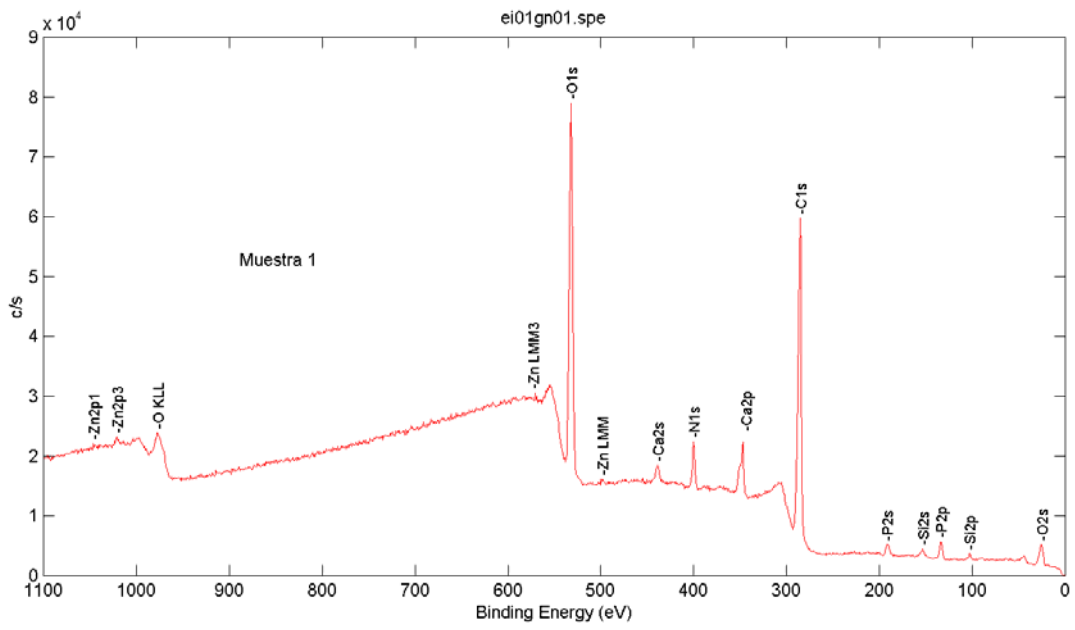


Fig. 60. Gráfico espectrométrico del grupo 5.

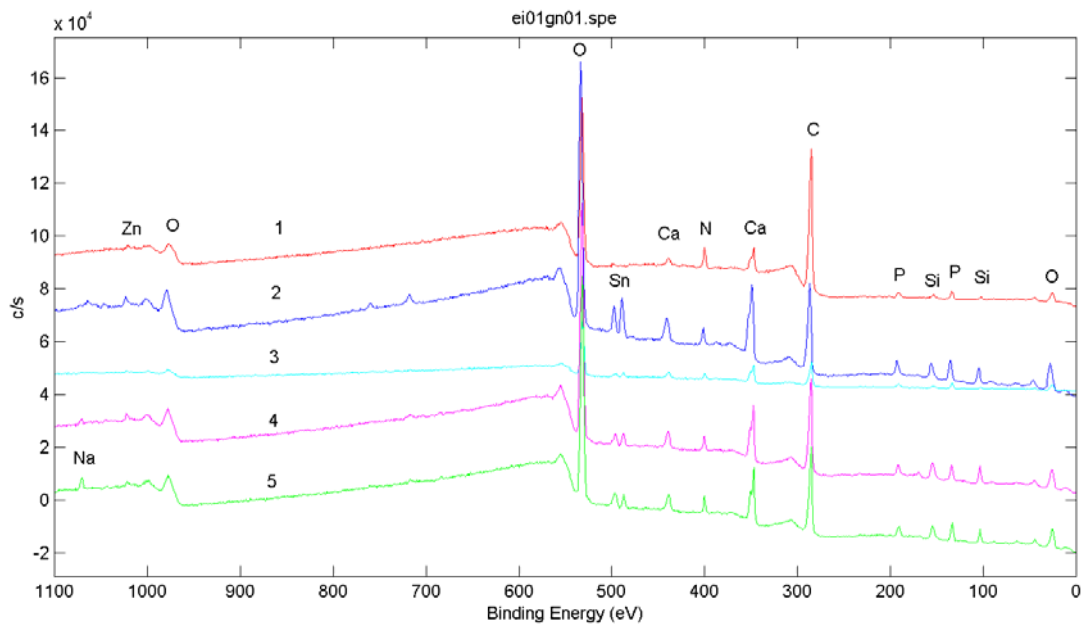


Fig. 61. Gráfico espectrométrico de los grupos del ensayo 1.

3.1.2.7.5.2 Ensayo 2

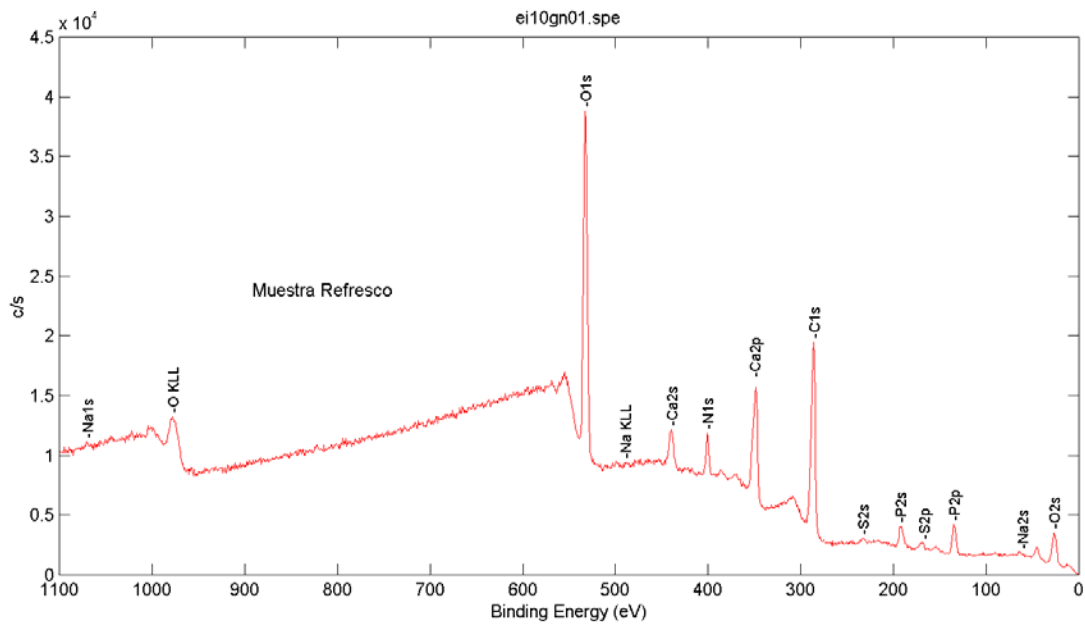


Fig. 62. Gráfico espectrométrico del grupo 2 (refresco).

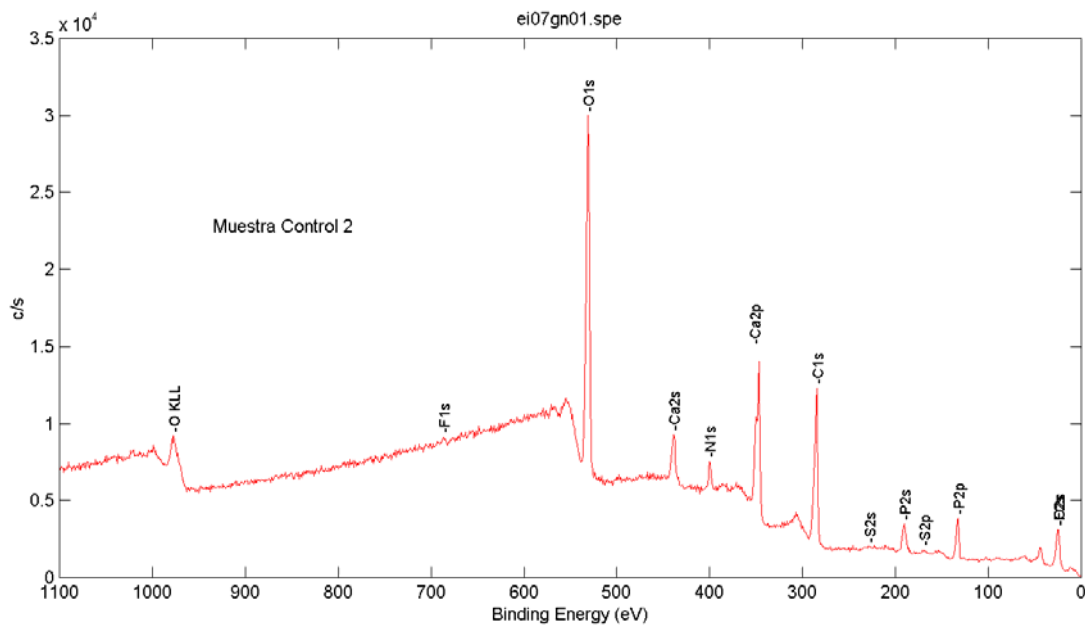


Fig. 63 Gráfico espectrométrico del grupo 2 control.

3.1.2.8 Análisis morfológico superficial

La evaluación de las imágenes obtenidas por microscopía confocal por reflexión fue puramente subjetiva. En cuanto a la observación de las características morfológicas en los distintos grupos de estudio destacaremos principalmente, regularidad, porosidad y punteado superficial.

De acuerdo a lo anterior, presencia de disposición regular de esmalte con presencia de capa aprismática superficial aparentemente intacta, como lo observado en los grupos 1,3 y 5 (figuras 64, 65 y 67). La muestra del grupo 4 (figura 66) presentó áreas leves de disolución de capa aprismática superficial, con aumento de la rugosidad y el punteado. La muestra del grupo 1 (figura 64) presentó leves áreas de disolución de capa aprismática superficial, con ligero aumento de la rugosidad.

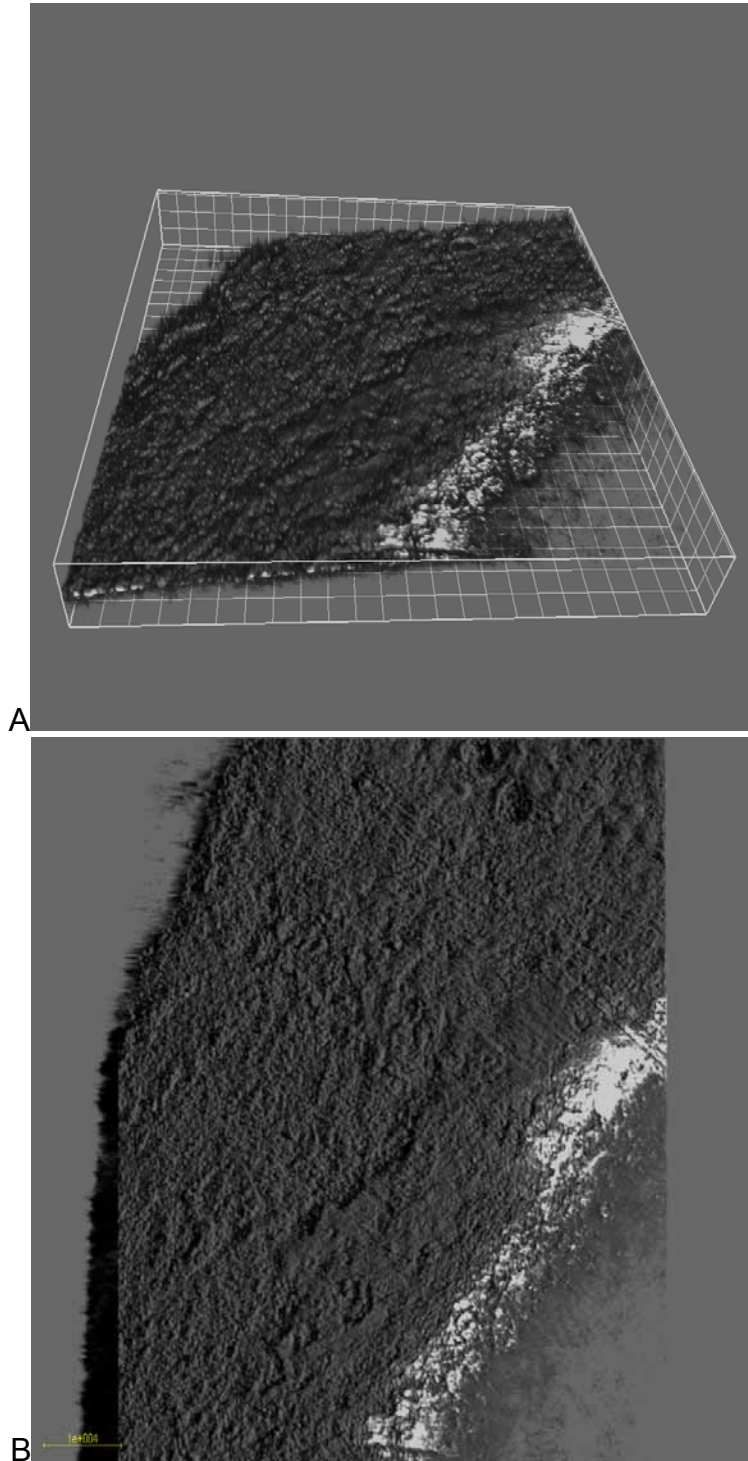


Fig.64. Imagen obtenida por el equipo de microscopia confocal por reflexión en reconstrucción tridimensional con el software Simulate Fluorescence Project de muestra del grupo peróxido de hidrógeno/ascorbato (grupo 1). B la misma imagen usando el software 3D perspectiva. Nótese la presencia de leves áreas de remoción de la capa aprismática superficial y un ligero aumento de la rugosidad superficial.

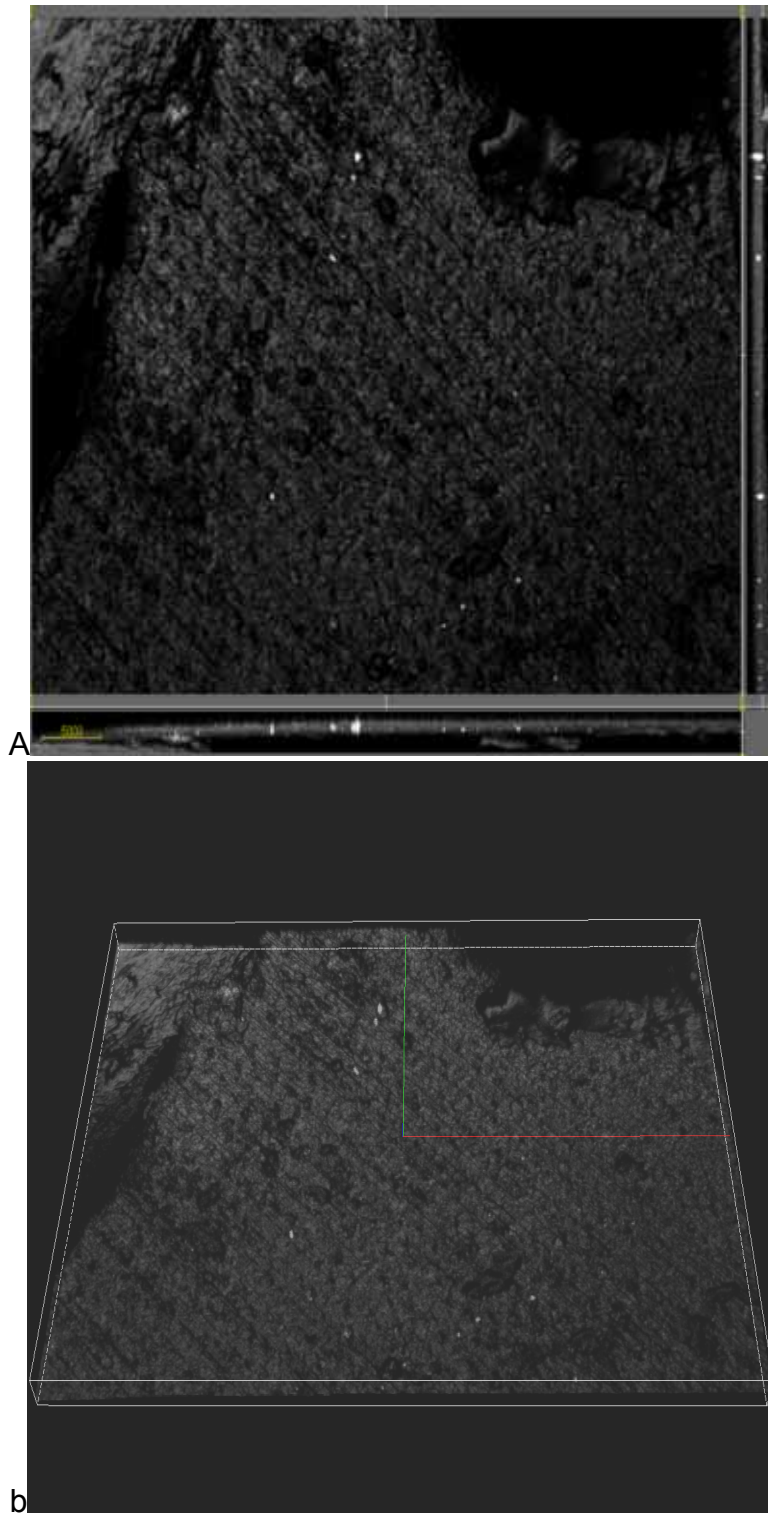


Fig. 65. Imagen obtenida por el equipo de microscopia confocal por reflexión en reconstrucción tridimensional (XYZ) con el software Extended Focus de muestra del grupo peróxido de hidrógeno/catalasa (grupo 3). La figura muestra una reconstrucción de los dos ejes, el inferior corresponde al eje XZ y el lateral derecho al eje YZ. B. Imagen obtenida por microscopia confocal por reflexión en reconstrucción tridimensional tratada con el software Simulate Fluorescence Project de la misma muestra. Nótese una presencia uniforme de la capa aprismática superficial y una disposición regular de esmalte con aparente ausencia de cambios morfológicos.

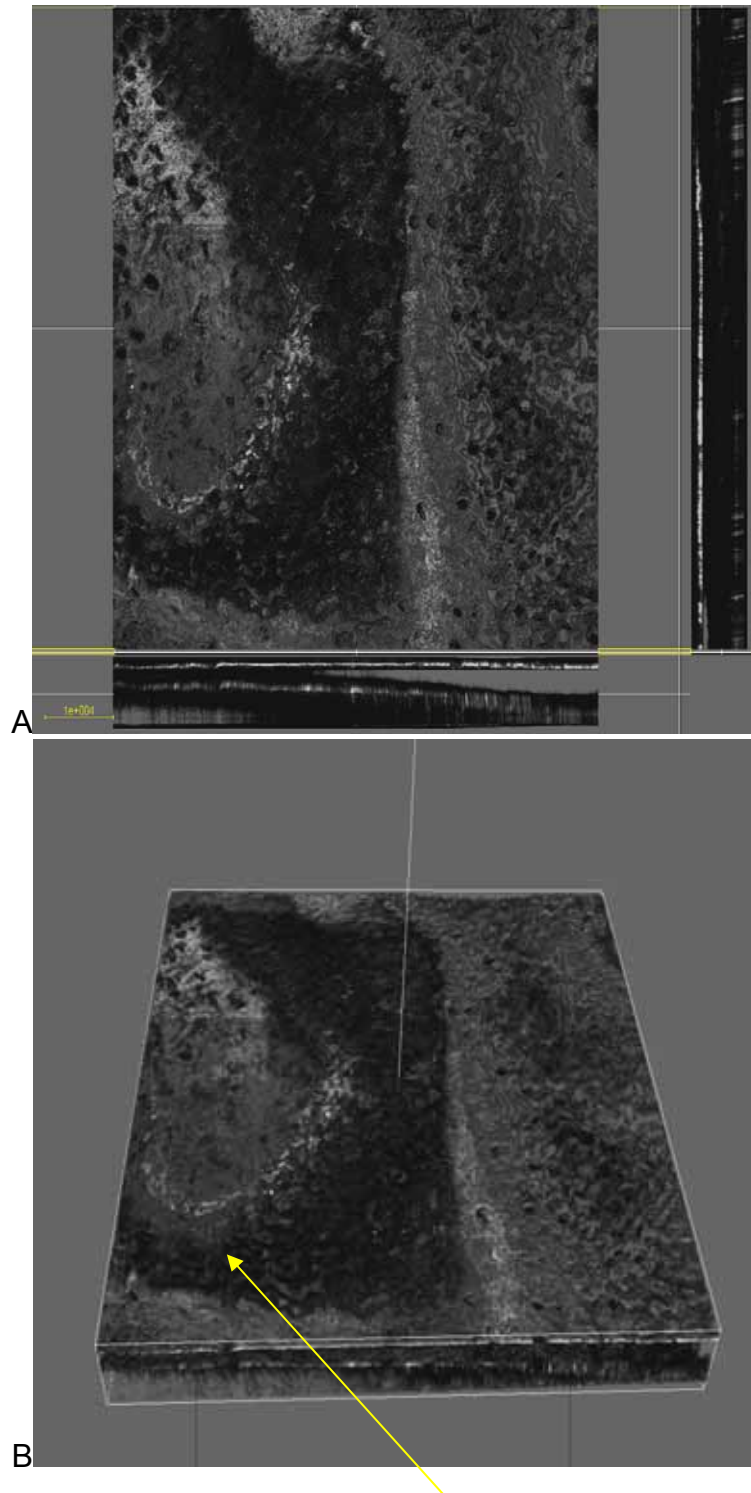


Fig. 66. A. Imagen obtenida por el equipo de microscopia confocal por reflexión en reconstrucción tridimensional (XYZ) con el software Extended Focus de una muestra del grupo peróxido de hidrógeno/agua (grupo 4). La figura muestra una reconstrucción de los dos ejes, el inferior corresponde al eje XZ y el lateral derecho al eje YZ. B la misma imagen tratada con el software 3D en perspectiva. Nótese la remoción parcial leve de la capa aprismática superficial, con ligero aumento de la rugosidad y punteado superficial. Zona oscura es debida a que la superficie no es completamente regular (ver flecha).

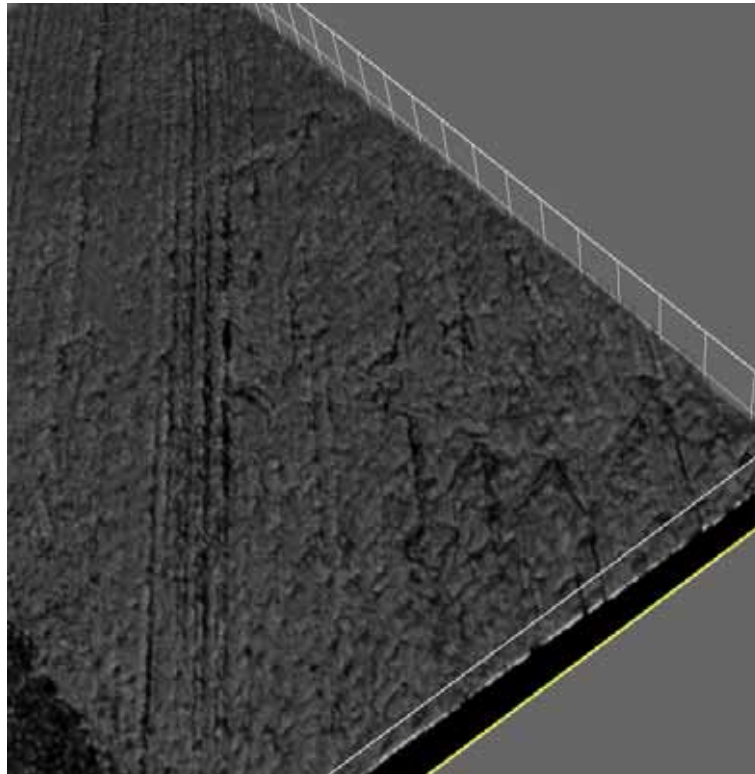


Fig.67. Imagen obtenida por microscopia confocal por reflexión en reconstrucción tridimensional tratada con el software Simulate Fluorescence Project de muestra del grupo control (grupo 5). Nótese superficie regular de esmalte con presencia uniforme de capa aprismática superficial.

3.1.3 Discusión

3.1.3.1 Con respecto a fuerza adhesiva tensional y penetración de “tags” de resina

3.1.3.2 A fuerza adhesiva tensional

Las pruebas de fuerza adhesiva tensional son comunes al evaluar el grado de unión de los sistemas adhesivos a esmalte,^{67,68} porque ofrecen versatilidad, que no puede ser observado por métodos convencionales,⁶⁹ contribuyendo ampliamente a la ciencia de pruebas de adhesión.⁷⁰ Esta prueba, conjuntamente con el análisis por microscopio electrónico de barrido (MEB), pueden ser suficientes para entender el complejo mecanismo de adhesión resina- esmalte.⁷¹

El mecanismo de adhesión resina- esmalte, puede verse afectado por diversos factores, dentro de estos la aplicación de agentes blanqueadores, tal como ha sido demostrado en el presente estudio. Estudios similares, reportaron que los agentes blanqueadores, tanto de peróxido de hidrógeno, como de peróxido de carbamida son capaces de alterar la adhesión de resina a esmalte, ya sea inmediata o diferida, como lo reportado por Dishman y cols. En 1994,⁴⁷ Ben- Amar y cols. En 1995,⁷² Swift en 1997,⁷³ Lyons en 1998,⁵⁰ Sung en 1999,⁴⁰ Spyrides y cols. En el 2000,⁷⁴ Cavalli y cols. En el 2001,⁵¹ Lai y cols. En el 2002,⁴⁹ Cavalli y cols. En el 2004,⁷⁵ Miyazaki y cols. En el 2004,⁷⁶ y Villarreal en el 2004.⁷⁷

Lyons en 1998,⁵⁰ y Sung y cols. En 1999,⁴⁰ demostraron que los agentes de blanqueamiento en base a peróxido de carbamida e hidrógeno

afectan adversamente la adhesión de resinas a esmalte posblanqueamiento, porque actúan inhibiendo su polimerización, debido quizás a la liberación retardada de oxígeno procedente de los agentes de blanqueamiento y contenido en las estructuras dentarias. Además de la posibilidad que el oxígeno pudiera quedar incluido dentro del adhesivo, pudiendo generar formación de burbujas o soluciones de continuidad a lo largo de la interfase resina-esmalte y en la capa del adhesivo.^{47,78} Decimos quizás, porque existen otras teorías que sostienen que la adhesión a esmalte blanqueado se ve reducida por la alteración estructural y morfológica del esmalte generada por los agentes de blanqueamiento.^{41-43,53,55} Actualmente los estudios sobre cambios morfológicos o estructurales son contradictorios.^{4,26,27,29-31,79-90} Además, de parecer poco probable que estos cambios morfológicos y estructurales sean capaces por sí solos, de generar una disminución de los valores de adhesión de las resinas colocadas inmediatamente después del blanqueamiento.

Lai y cols. En el 2002,⁴⁹ observaron en diversos estudios que la simple inmersión de las muestras en agua por 24 horas o en ascorbato de sodio, un antioxidante, por 3 horas, fue capaz de recuperar u otorgar adecuados valores de adhesión, lo que apoyaría la hipótesis de peróxido residual. Por otro lado Rotstein,⁵⁶ demostró que el blanqueamiento intracoronal era capaz de provocar la penetración del peróxido de hidrógeno en la estructura radicular, que sólo fue eliminada completamente con aplicación intracoronal de catalasa por 3 minutos o parcialmente con 3 ciclos de irrigaciones con agua de 5 minutos.

Los resultados del presente estudio muestran que el uso de sustancias antioxidantes, ya sea de tipo no enzimático como, ascorbato de sodio, o enzimático como, catalasa, es capaz de revertir el efecto adverso que ejercen los agentes de blanqueamiento de peróxido de hidrógeno sobre los mecanismos de adhesión resina- esmalte. Resultados similares a los obtenidos por Dishman y cols. En 1994,⁴⁷ Kum y cols. en el 2004,⁹¹ y Villarreal en el 2004.⁷⁷

El uso de sustancias antioxidantes puede ser capaz de lograr la eliminación del peróxido residual contenido en la estructura dental, de tal manera que pueda permitirnos la realización de procedimientos adhesivos inmediatamente después del blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno, suceso que hasta e momento puede verse postergado hasta por 2 ó 3 semanas.^{25,28}

El peróxido de hidrógeno indujo una reducción en la fuerza adhesiva tensional, relacionada a alteraciones o fallas, ya sea a nivel de la interface resina- esmalte (adhesiva) o dentro de la estructura de la resina (cohesiva), coincidiendo con lo reportado por Lyons en 1998,⁵⁰ Sung y cols. En 1999,⁴⁰ Kum y cols. En el 2004,⁹¹ y Villarreal en el 2004,⁷⁷ (Fig. 68).

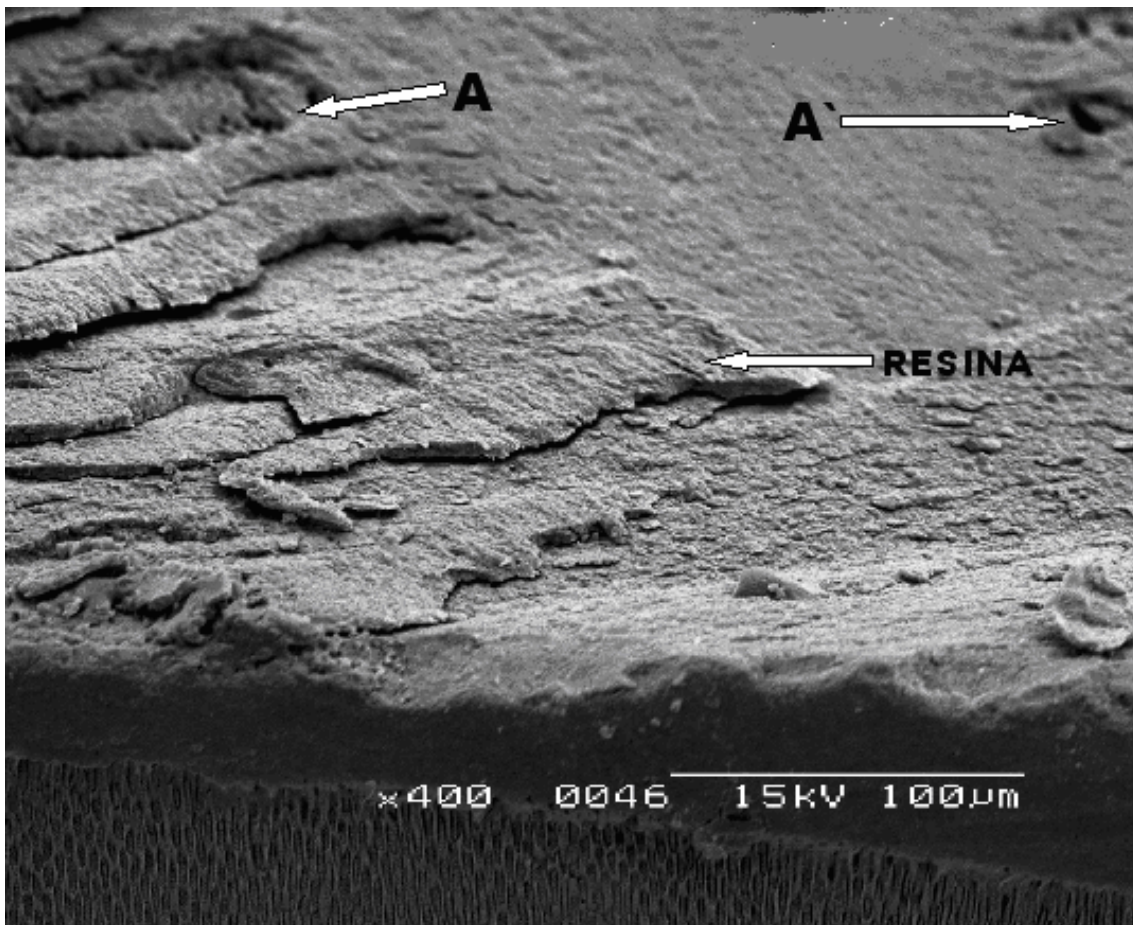


Fig.68. Microfotografía electrónica de barrido de resina fracturada luego de la aplicación de la prueba mecánica tensional. Hubo un predominio de fallas de tipo cohesivo (estructura de resina), con zonas muy aisladas en determinadas muestras, sobre todo las tratadas con peróxido de hidrógeno, de fallas de tipo adhesivo (a nivel de interfase resina-esmalte) (A y A').

3.1.3.3 A penetración de “tags” de resina

3.1.3.3.1 Análisis cuantitativo

Se ha pensado que los “tags” de resina juegan un rol principal en la adhesión a esmalte con acondicionamiento ácido y son creados por el reemplazo de la porción final de las barras de esmalte removidas por el pretratamiento con ácido fosfórico, y unidas muy íntimamente al sustrato acondicionado, compuestos únicamente de resina curada. Por otro lado, cabe mencionar otra estructura de gran importancia al hablar de adhesión, que es la capa híbrida, que a diferencia de los “tags”, está compuesta, no sólo de resina curada, sino también de estructura adamantina, de allí que ha sido descrita como una zona de impregnación resina- esmalte o zona de transición.⁷¹

En el presente estudio, procedimos a realizar la evaluación cuantitativa de penetración de los “tags” de resina por medio de la microscopia confocal por fluorescencia, previa preparación del sistema adhesivo con un marcador, que en este caso fue el fluorocromo Rodamina B (Fig.10), que nos permitió hacer una visualización de las muestras, sin necesidad de recurrir a procedimientos previos de desecación, inclusión y descalcificación, necesarias para la observación por MEB. Si bien la microscopia confocal, resulta ser un valioso auxiliar para la visualización de los “tags” de resina, no lo es para el estudio de la delimitación exacta de la capa híbrida, coincidiendo con lo reportado por Pioch y cols. En 1996.⁹² de nuestros resultados sobre evaluación cuantitativa de penetración de “tags” de resina cabe destacar que, entre los grupos: 1 (peróxido de hidrógeno/ascorbato de sodio)(Fig.41), 3 (peróxido de hidrógeno/catalasa)(Fig.45) y 5 (control)(Fig.49), hubo presencia “tags”

consistentes, regularmente distribuidos y uniformes y aunque en términos de longitud media presentaron variaciones (tablas 19.1, 21.1, 23.1), en términos de fuerza adhesiva tensional, se mostraron estadísticamente significativos. En cuanto a formación de capa híbrida, la misma se mostró uniforme y regular en toda su extensión. El grupo 2 (peróxido de hidrógeno/peroxidasa)(Fig.43) si bien mostró la presencia de “tags” de longitud media similar a los grupos 1 y 3, estos se encontraban escasos y dispersos, con presencia de solución de continuidad a nivel de la capa híbrida. El grupo número 4 (peróxido de hidrógeno/agua)(Fig.47), por un lado presentó una longitud media de “tags” similar al grupo control incluso con menor desviación estándar que el mismo, además de estar uniformemente distribuidos; pero por otro lado, hubo presencia de una capa híbrida inconsistente y ausente en casi toda su extensión (Fig.47).

Nuestros resultados mostraron que no existe correlación entre la longitud de los “tags” de resina y la fuerza adhesiva tensional, y que más importante que la profundidad de penetración de los mismos, está el patrón de distribución regular de estos, dentro del esmalte acondicionado por ácido y del grado de difusión monomérica, coincidiendo con lo reportado por Shichi y cols. en el 2000.⁷¹

Por lo expuesto anteriormente, podemos juzgar que a la importancia dada a los “tags” en cuanto al papel que desempeñan en la preservación de los mecanismos de adhesión resina- esmalte, se debe incluir de manera

preponderante el papel que desempeña la integridad de la capa híbrida, coincidiendo con lo reportado por Shinchi y cols. en el 2000.⁷¹

3.1.3.3.2 Análisis cualitativo

El análisis cualitativo de la penetración de los “tags” de resina fue realizado mediante observación por microscopía electrónica de barrido (MEB) a magnificación x2000, x3000 y x5000. En nuestra investigación, las muestras fueron previamente tratadas con ácido clorhídrico 2Mol/l para lograr la desmineralización parcial del esmalte y mejorar la visualización microscópica de la penetración de los “tags” y la diferenciación de la hibridación del esmalte.⁷¹ Con relación a la penetración y morfología de los “tags” de resina, se hizo difícil poder hacer una evaluación estadística. Por lo que hicimos un enfoque subjetivo de comparación cualitativa de la apariencia morfológica y estructural de los mismos entre los diferentes grupos de estudio.

En general, los “tags” de resina hallados en el grupo 5 (control)(Fig.55) se caracterizaron predominantemente por mostrarse numerosos, claramente definidos, estructuralmente completos y uniformemente distribuidos, tal como fue reportado Titley y cols. en 1991,⁴⁵ y Dishman y cols. en 1994,⁴⁷ con apariencia similar a los hallados en los grupos 1 y 3 (Fig..51,53). Por el contrario, se mostraron irregularmente distribuidos, escasamente definidos, estructuralmente incompletos y ausentes en largas zonas, en los grupos 2 y 4 (Fig..52, 54). Así mismo, amplias zonas de esmalte carecían de penetración monomérica, que coincide con lo reportado previamente.^{44,45,47} Estos hallazgos

podrían explicar la reducción en el potencial adhesivo y cohesivo, traducidos en disminución de los valores de fuerza adhesiva tensional.

3.1.3.4 Con respecto al análisis químico cuantitativo (estructural) y morfológico superficial del esmalte

3.1.3.4.1 A química estructural del esmalte

La espectrometría de fotoelectrones representa un análisis de gran utilidad para el estudio de los posibles cambios químicos estructurales cuantitativos de esmalte superficial sometido a tratamiento con agentes blanqueadores, similar al obtenido con análisis de espectroscopia por rayos infrarrojos reportado por Oltu y Gurgan en 2000,⁸⁰ y Cimili y Pameijer en 2001.⁸⁴ Además, los resultados hallados en el presente estudio muestran que el agente blanqueador en base a peróxido de hidrógeno al 38% puede ser capaz de ocasionar mayor remoción de esmalte aprismático superficial, no sucediendo lo mismo con la porción inorgánica subsuperficial (Ca y P), coincidiendo con el reportado por Oltu y Gurgan en 2000,⁸⁰ Cimili y Pameijer en 2001,⁸⁴ Hegedus y cols. en 1999,⁴ y Mc Cracken y cols. en 1996,⁸⁷ que reportaron que la pérdida de calcio al usar agentes blanqueadores en base a peróxido de carbamida al 10% era similar a la producida por la acción de un refresco de cola por 2,5 minutos. No obstante, dedujeron que esta cantidad no era clínicamente significativa. En el presente estudio detectamos que el refresco de cola afectó más el componente inorgánico (Ca y P) que el resto de grupos estudiados.

Con relación a los grupos tratados con agentes blanqueadores más compuestos antioxidantes enzimáticos como peroxidasa (grupo 2) y catalasa (grupo 3) y no enzimáticos como el ascorbato de sodio (grupo 1), encontramos que hubo una aparente mayor conservación de la capa aprismática superficial que el grupo de peróxido de hidrógeno/agua (grupo 2). Esto posiblemente sea debido a que los agentes antioxidantes pueden actuar atenuando o evitando las reacciones clínicas adversas producidas entre los productos derivados del peróxido de hidrógeno como, radicales libres y especies reactivas de oxígeno y la estructura química del esmalte, como minimizando los posibles efectos nocivos que pudieran producirse a este nivel. Así mismo, Rotstein en 1993,⁵⁶ sugirió que la catalasa usada después del blanqueamiento intracoronal de dientes no vitales eliminó efectivamente el peróxido de hidrógeno residual de la cámara pulpar y de los tejidos periodontales circundantes. Del mismo modo, lai y cols. en 2002,⁴⁹ concluyeron que el ascorbato de sodio puede ser capaz de revertir el efecto adverso que los agentes blanqueadores ejercen sobre los mecanismos de adhesión composite-esmalte. Tipton y cols. en 1995,⁹³ demostraron que los efectos tóxicos producidos por los agentes blanqueadores a nivel de fibroblastos gingivales pueden ser eliminados por el tratamiento tópico concomitante con la enzima catalasa.

El organismo humano posee variados mecanismo de defensa que lo protegen de los efectos nocivos del peróxido de hidrógeno, dentro de estos se consideran los factores salivales. La saliva contiene una variedad de componentes como lactoperoxidasa, mucina y catalasa,⁴⁹ que inicialmente podrían estar consideradas como ausentes cuando efectuamos las técnicas de

blanqueamiento en consulta, como la efectuada en el presente estudio, debido al aislamiento que se efectúa. De allí la importancia de adicionar antioxidantes, para evitar o minimizar los posible daños a nivel del esmalte.

3.1.3.4.2 A morfología superficial

La microscopia confocal representa un auxiliar valioso de evaluación cualitativa de las características morfológicas superficiales del esmalte, debido a que facilita la visualización aun de capas subsuperficiales sin el inconveniente de la destrucción o alteración de las muestras como en la microscopia electrónica de barrido, coincidiendo con lo efectuado por White y cols. en 2000.^{81,82}

La química de los agentes blanqueadores está basada en el potencial que poseen para generar radicales libres los cuales se caracterizan por tener alta reactividad. Estos radicales libres son inespecíficos, extremadamente inestables y pueden reaccionar no sólo con los pigmentos, sino también con el componente orgánico e inorgánico del esmalte, pudiendo ocasionar serias alteraciones,⁹⁴ que pudieran agravarse aun más ante el uso de agentes blanqueadores con pH ácido, ya que se considera que un pH neutro, o cercano a él, debería ser lo ideal.³⁶ En nuestro estudio hemos utilizado un agente blanqueador en base a peróxido de hidrógeno al 38% (Opalescence, Ultradent-USA) con un pH de 6,74. Aún con este pH próximo a la neutralidad han sido observados ligeros cambios a nivel morfológico superficial. Lo que podría indicar que la actividad oxidativa del peróxido de hidrógeno es determinante en los cambios cuantitativos y cualitativos producidos en la morfología superficial

del esmalte, coincidiendo con los resultados reportados por Freitas y cols. en 2002.²¹

Diversos estudios han concluido que los agentes blanqueadores en diversas concentraciones son capaces de alterar de manera moderada a grave la morfología superficial del esmalte, considerando básicamente lo relacionado al aumento de la porosidad y punteado superficial del esmalte, como lo reportado por Bitter en 1998,¹⁷ Koulaouzidou y cols. en 1998,⁹⁵ Ernst en 1996,⁹⁶ y Shannon y cols. en 1993.²⁵ Sucesos contradictorios a los hallados en el presente estudio, donde se observó que los cambios morfológicos descritos resultaron leves o nulos, coincidiendo con lo reportado por White y cols., en 2000,^{81,82} Gultz y cols., en 1999,⁷⁹ Leonard y cols. en 2001,⁸³ Kwong y cols. en 2002,³⁰ Lyons en 1998,⁵⁰ Wandera en 1994,⁹⁷ y Spalding y cols. en 2003,⁹⁰ Sulieman y cols. en el 2004,⁹⁸ Cobankara y cols. en el 2004,⁹⁹ y Justino y cols. en el 2004.¹⁰⁰

Podemos indicar que existe una gran controversia en cuanto a los efectos de los agentes blanqueadores sobre los cambios químicos o morfológicos superficiales en esmalte, generado por diversos factores como, tipo de agente blanqueador y concentración, edad, tiempo de aplicación, duración de tratamiento; a la vez que existe un consenso en cuanto a que un uso responsable y bajo supervisión profesional de los agentes blanqueadores evitarán o minimizarán los posibles daños a nivel adamantino.

Para finalizar, serán necesarios más estudios de tipo químico analítico para poder evaluar el real potencial preventivo o recuperador de las sustancias antioxidantes sobre las reacciones producidas entre los agentes blanqueadores y la estructura dentaria.

Actualmente la industria odontológica invierte mucho tiempo y centra todos sus esfuerzos tratando cada día de descubrir nuevos materiales que brinden al dentista el ahorro de tiempo, traducido en minutos o segundos, por lo que el descubrimiento de alguna sustancia química que permita la adhesión inmediata a esmaltes blanqueados, nos permitirá el ahorro de días o semanas. Y quizás más importante que esto sea el hecho de que al inhibir o controlar los productos residuales generados por los agentes de blanqueamiento estaremos en condiciones de brindar protección al tejido dentario, así como, a los tejidos blandos circundantes.

4. Parte IV

4.1 Conclusiones

Bajo circunstancias experimentales usadas en la investigación, las muestras de esmalte sometidas a blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 38% (grupo 4) mostraron una significativa reducción en los valores de fuerza adhesiva tensional, similares a los presentados en el grupo tratado con peróxido de hidrógeno/peroxidasa (grupo 2) microscópicamente, los “tags” se mostraron irregularmente distribuidos, estructuralmente incompletos y escasamente definidos, con presencia de una capa híbrida irregular, inconsistente y ausente en largos trayectos. Por el contrario, los grupos (1 y 4), presentaron “tags” completos de resina y regularmente distribuidos y una capa híbrida regular y uniforme en toda su extensión, además que los valores de fuerza adhesiva tensional no presentaban diferencias estadísticamente significativas comparadas al grupo grupo control (grupo 5).

Bajo circunstancias experimentales usadas en la investigación las muestras de esmalte sometidas a blanqueamiento con peróxido de hidrógeno al 38% mostraban cambios químicos que indicaban una alteración leve de la porción aprismática superficial, no ocurriendo lo mismo con la porción inorgánica subsuperficial. Los cambios a nivel morfológico se apreciaron como leves, ambos no resultaron clínicamente significativos.

Bajo circunstancias experimentales el uso de sustancias antioxidantes enzimáticas como, peroxidasa y catalasa; y no enzimáticas como ascorbato de

sodio atenuaron los efectos adversos del peróxido de hidrógeno al 38% sobre la composición química y la morfología superficial del esmalte.

Bajo circunstancias experimentales los cambios químicos estructurales y morfológicos superficiales del esmalte generados por los agentes blanqueadores pueden deberse más al tipo de reacción química producida, que al efecto del pH "per se".

Referencias bibliográficas

1. Arens D. The Role of Bleaching in Esthetics. Dental Clinics of North America 1989 April;Vol.(2):319-35.
2. Haywood VB. Current status of nightguard vital bleaching. Compendium of Continuing Education in Dentistry 2000 Jun; Supl.28): S 10-7;quiz S48.
3. Blankenau R.,Goldstein R.E.,Haywood V.B.The current status of vital tooth whitening techniques. Compendium of Continuing Education in Dentistry 1999 Aug; 20(8):781-4, 786,788 passim;quiz 796.
4. Hegedus C.,Bistey T.,Flora-Nasy E. Keszthelyi G.,Jenei A. An atomic force microscopy study on the effect of bleaching agents on enamel surface. Journal of Dentistry 1999 Sep; 27(7):509-15.
5. Haywood V.B., Heymann H.O. Nightguard vital bleaching.Quintessence International 1989; 20(3):173-6.
6. Ferguson D.B. Oral Bioscience.Nueva York.Editorial Churchill-Livingstone. 1999.

7. Gómez FM. Histología y Embriología Bucal. Buenos Aires. Editorial Panamericana. 2002.
8. Nancy A. Ten Cate's ORAL HISTOLOGY: Development, Structure and Function. Sixth edition. Missouri. 2003.
9. Anusavice K.J. Ciencia de los Materiales Dentales de Phillips. 10th ed. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 1998.
10. Ferracane J.L. Materials in Dentistry. Principles and Applications. Editorial Lippincott Company. 1995.
11. Williams RA, Elliot JC. Bioquímica Dental Básica y Aplicada. Editorial el Manual Moderno, S.A. Cuauhtémoc, México, DF, 1982.
12. Cole AS, Eastoe JE. Biochemistry and Oral Biology. Second Edition, Editorial Wright, UK 1988.
13. Torres VM. Blanqueamiento de dientes con vitalidad: metodología. Estomodeo 1984; 9:7-30.
14. Ultradent. Materials for Educators 2003.

15. Nakamura O., Saito T. The effects of polishing and bleaching on the colour of discoloured teeth in vivo. *Journal of Rehabilitation* 2001; 28; 1080-84.
16. Haywood V.B. The food and drug administration and its influence on home bleaching. *Curr Opin Cosmet Dent* 1993; 1:12-18.
17. Bitter N.C. A scanning electron microscope study of the long-term effect of bleaching agents on the enamel surface in vivo. *General Dentistry*, Jan-Feb 1998; 84-88.
18. Ultradent Products Inc. *Materials and Procedures Manual*. 2002.
19. Discus Dental. *Catálogo de Materiales*. 2000.
20. Pinheiro S. Action of various carbamide peroxide gel bleaching agents on the microhardness of human enamel. *Braz Dent J* 1996; 7(2):75-79.
21. Freitas M.P., Tarkany B.R., Luiz A.R., Campos S.M. Effects of two 10% peroxide carbamide bleaching agents on dentin microhardness at different time intervals. *Quintessence International* 2002, Vol.33 (5):370-5.

22. Lee C.Q., Cobb C.M., Zargartalebi F., Hu N. Effect of bleaching on microhardness, morphology, and color of enamel. *General Dentistry* 1995; 158-62.
23. Vieira D. Curso de Especializacao em Dentística Restauradora do SOESP. 1996.
24. Kwong K. Evaluation of a 10 percent carbamide peroxide gel vital bleaching agent. *NZ Dent J* 1993; 89:18-22.
25. Shannon A.N. Characterization of enamel exposed to 10% carbamide peroxide bleaching agents. *Quint Int* 1993; Vol.24.
26. Potocnik I., Kosec L., Gaspersic D. Effect of 10% carbamide peroxide bleaching gel on enamel microhardness, microstructure, and mineral content. *Journal of Endodontics* 2000 Apr; 26(4):203-6.
27. Li Y. Peroxide-containing tooth whiteners: an update on safety. *Compendium of Continuing Education in Dentistry* 2000 Jun; Supplement. (28):S4-9; quiz S48.
28. Homewood C., Tyas M., Woods M. Bonding to previously bleached teeth. *Australian Orthodontic Journal*, March 2001; 17(1):27-34.

29. Rodrigues J.A., Basting R.T., Serra M.C., Rodrigues Junior A.L. Effects of 10% carbamide peroxide bleaching materials on enamel microhardness. *American Journal of Dentistry* 2001 April; 14(2):67-71.
30. Kwong Y.H., Huo M.S., Kim K.H., Kim S.K., Kim Y.J. Effects of hydrogen peroxide on the light reflectance and morphology bovine enamel. *Journal of Rehabilitation* 2002 May; 29(5):473-7.
31. Lopes G.C., Bonisconi L., Baratieri L.N., Vieira L.C., Monteiro S. Jr. Effect of bleaching agents on the hardness and morphology of enamel. *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry* 2002; 14(1):24-30.
32. Hanks C.T. Cytotoxicity and dentin permeability of carbamide peroxide and hydrogen peroxide vital bleaching materials, in vitro. *J Dent V* 1993; Vol. 72 N°15.
33. Basting R.T., Rodrigues Junior A.L., Serra M.C. The effect of 10% carbamide peroxide bleaching material on microhardness of sound and demineralized enamel and dentin in situ. *Operative Dentistry* 2001 Nov-Dec.; 26(6):531-9.
34. Chng H.K., Palamara J.E., Messer H.H. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. *Journal of Endodontics* 2002 February; 28(2):62-7.

35. Sarrett DC. Tooth whitening today. Journal of the American Dental Association 2002; 133:1535-8.
36. Price RB, Sedarous M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. Journal/Canadian Dental Association. Journal de L'Association Dentaire Canadienne 2000; 66:421-6.
37. Aren G. In vitro effects of bleaching agents on FM3A cell line. Quintessence Int 2003; 34:361-5.
38. Canay S, Cehreli MC. The effect of current bleaching agents on the color of light- polymerized composites in vitro. J Prosthet Dent 2003; 89:474-8.
39. Turker SB, Biskin T. Effect of three bleaching agents on the surface properties of three different esthetic restorative materials. J Prosthet Dent 2003; 89:466-73.
40. Sung EC, Chan SM, Mito R, Caputo AA. Effect of carbamide peroxide bleaching on the shear bond strength of composite to dental bonding agent enhanced enamel. Journal of Prosthetic Dentistry 1999; 82:595-9.

41. Shinohara MS, Rodrigues JA, Pimenta AF. In vitro microleakage of composite restorations after nonvital bleaching. *Quintessence Int* 2001; 32:413-7.
42. Barkhordar RA, Kempler D, Plesh O. Effect of non vital tooth bleaching on microleakage of resin composite restorations. *Quintessence Int* 1992; 23:823-25.
43. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Adibfar A. Adhesion of resin composite to bleached and unbleached bovine enamel. *J Dent Res* 1988; 67:1523-8.
44. Torneck CD, Titley KC, Smith DC, Adibfar A. The influence of time of hydrogen peroxyde exposure on the adhesion of resin composite to bleached bovine enamel. *Journal Endod* 1990; 16:123-8.
45. Titley KC, Torneck CD, Smith DC, Chernecky R, Adibfar A. Scanning electron microscopy observation on the penetration and structure of resin "tags" in bleached and unbleached bovine enamel. *J Endod* 1991; 17:72-5.
46. Torneck CD, Titley KC, Smith DC, Adibfar A. Effect of water leaching on the adhesion of resin composite to bleached and unbleached bovine enamel. *J Endod* 1991; 17:156-60.

47. Dishman MV, Covey DA, Baughan LW. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. *Dental Materials* 1994; 10: 33-6.
48. Van der Vyver PJ, Lewis SB, Marais JT. The effect of bleaching agent on composite/enamel bonding. *Journal of the Dental Association of South Africa* 1997; 52: 601-3.
49. Lai SC, Tay FR, Cheung GS, et al. Reversal of compromised bonding in bleached enamel. *Journal of Dental Research* 2002;81: 477-81.
50. Lyons K. Nightguard vital bleaching: a review and clinical study. *New Zealand Dental Journal* 1998; 94:100-3.
51. Cavalli V, Reis AF, Giannini M, Ambrosano GM. The effect of elapsed time following bleaching on enamel bond strength of resin composite. *Operative Dentistry* 2001; 26:597-602.
52. Baratieri LN, Monteiro S Jr, Andrada MAC, Vieira LCC. *Dental Bleaching*. Sao Paulo: Quintessence 1993.
53. Goldstein GR, Kiremidjian- Schumacher L. Bleaching: Is it safe and effective? *J Prosthet Dent* 1993; 69:325-8.

54. Tames D, Grando LJ, Tames DR. Alterations on dental enamel submitted to 10% carbamide peroxide. *Revista da APCD* 1998; 52:145-9.
55. Perdigao J, Francci C, Swift EJ. Ultra- morphological study of the interaction of dental adhesives with carbamide peroxide- bleached enamel. *Am J Dent* 1998;11: 291-301.
56. Rotstein I. Role of catalase in the elimination of residual hydrogen peroxide following tooth bleaching. *Journal of Endodontics* 1993;19: 567-9.
57. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The metabolic basis of inherited disease. 6th Ed. McGraw –Hill, 1989; 1551-61/2779-2801.
58. Schmidseder J. *Atlas de Odontología Estética*. Barcelona. Editorial Masson. 1999.
59. Hagger O. Utilization of the energy of swelling for the acceleration of sulfonic acid- controlled polymerization of methyl methacrylate at room temperature. *Helm Chim Acta* 1951; 34:1872- 6.
60. Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non- pressure adhesion of a new restorative resin. *J Dent Res* 1979; 58:1364.

61. Fusayama T. Two layers of carious dentin: diagnosis and treatment. Oper Dent 1979; 4:63.
62. Hicks JJ. Bioquímica. México. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. 2000.
63. Panreac Química. Catálogo de productos químicos 2004.
64. Proquiga Química. www.proquiga.es
65. Merck and Co. Inc. Merck Index. New York, Tenth Edition; 1993.
66. Moulder JF, Slichter WF, Sobol PE, Keneth DB. Handbook of X-Ray Photoelectron Spectroscopy. A reference book of standard spectra for identification and interpretation of XPS data. Pekin-Elmer corp. USA; 1992.
67. Van Noort R, Cardew GE, Howard IC, Noroozi S. The effect of local interfacial geometry on the measurement of the tensile bond strength to dentin. J Dent Res 1991; 70:889- 893.
68. Van Noort R, Noroozi S, Howard IC, Cardew GE. A critique of bond strength measurement. J Dent 1989; 17:61-67.

69. Pashley DH, Carvalho RM, Sano H, Nakajima M, Yoshiyama M, Shono Y, Fernandes CA, Tay F. The microtensile bond test: a review. *J Adhes Dent* 1999; 1(4):299- 309.
70. Schreiner RF, Chappel RP, Glaros AG, Eick JD. Microtensile testing of dentin adhesives. *Dent Mater* 1998; 14:194-201.
71. Shichi MJ, Soma K, Nakabayashi N. The effect of phosphoric acid concentration on resin tag length and bond strength of a photo-cured resin to acid-etched enamel. *Dental Materials* 2000; 16:324-9.
72. Ben-Amar A, Liberman R, Gorfil C, Bernstein Y. Effect of mouthguard bleaching on enamel surface. *American Journal of Dentistry* 1995; 8(1):29-32.
73. Swift EJ Jr. Restorative considerations with vital tooth bleaching. *Journal of the American Dental Association* 1997; 128 Suppl:60S-64S.
74. Spyrides GM, Perdigao J, Pagani C, Araujo MA, Spyrides SM. Effect of whitening agents on dentin bonding. *Journal of Esthetic Dentistry*. 12(5):264-70, 2000.

75. Cavalli V, Gianini M, Carvalho RM. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. *Dent Mater* 2004; 20(8):733-9.
76. Miyazaki M, Sato H, Sato T, Moore BK, Platt JA. Effect of a whitening agent application on enamel bond strength of self-etching primer systems. *Am J Dent* 2004; 17(3):151-5.
77. Villarreal BE. Rol de las enzimas antioxidantes en la adhesión inmediata de resinas compuestas a esmalte posblanqueamiento, in vitro. Determinación mecánica tensional y por microscopia electrónica de barrido. Trabajo de investigación para optar al Diploma de Estudios Avanzados. Universidad de Barcelona 2004.
78. Mokhlis GR, Matis BA, Cochran MA, Eckert GJ. A clinical evaluation of carbamide peroxide and hydrogen peroxide whitening agents during daytime use. *Journal of the American Dental Association* 2000; 131:1269-77.
79. Gultz J, Kaim J, Scherer W, Gupta H. Two in-office bleaching systems: a scanning electron microscope study. *Compendium of Continuing Education in Dentistry* 1999; 20:965-8.

80. Oltu U, Gurgan S. Effects of three concentrations of carbamide peroxide on the structure of enamel. *Journal of Oral Rehabilitation* 2000; 27:332-40.
81. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner H, Gotz H. Peroxide interactions with hard tissues: effects on surface hardness and surface/subsurface ultrastructural properties. *Compendium of Continuing Education in Dentistry* 2000; 23:42-8.
82. White DJ, Kozak KM, Zoladz JR, Duschner HJ, Gotz H. Effects of tooth-whitening gels on enamel and dentin ultrastructure a confocal laser scanning microscopy pilot study. *Compendium of Continuing Education in Dentistry* 2000;29:29-34.
83. Leonard RH Jr, Eagle JC, Garland GE, Matthews KP, Rudd AL, Phillips C. Nightguard vital bleaching and its effect on enamel surface morphology. *Journal of Esthetic & Restorative Dentistry: Official Publication of the American Academy of Esthetic Dentistry* 2001; 13:132-9.
84. Cimilli H, Pameijer CH. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. *American Journal of Dentistry* 2001; 14:63-6.

85. Ritter AV, Leonard RH Jr, St Georges AJ, Caplan DJ, Haywood VB. Safety and stability of nightguard vital bleaching: 9 to 12 years post-treatment. *Journal of Esthetic & Restorative Dentistry: Official Publication of the American Academy of Esthetic Dentistry* 2002;14:275-85.
86. Turkun M, Sevgican F, Pehlivan Y, Aktener BO. Effects of 10% carbamide peroxide on the enamel surface morphology: a scanning electron microscopy study. *Journal of Esthetic & Restorative Dentistry: Official Publication of the American Academy of Esthetic Dentistry* 2002; 14:238-44.
87. McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. *Journal of Dentistry* 1996; 24:395-8.
88. de Oliveira R, Basting RT, Rodrigues JA, Rodrigues AL Jr, Serra MC. Effects of a carbamide peroxide agent and desensitizing dentifrices on enamel microhardness. *Am J Dent* 2003; 16:42-6.
89. Araujo EM, Baratieri LN, Vieira LC, Ritter AV. In situ effect of 10% carbamide peroxide on microhardness of human enamel: function of time. *J Esthet Restor Dent* 2003; 28:15-9.
90. Spalding M, Taveira LA, de Assis GF. Scanning electron microscopy study of dental enamel surface exposed to 35% hydrogen peroxide:

alone, with saliva, and with 10% carbamide peroxide. *J Esthet Restor Dent* 2003; 15:154-64.

91. Kum KY, Lim KR, Lee CY, Park KH, Safavi KE, Fouad AF, Spangberg LS. Effects of removing residual peroxide and other oxygen radicals on the shear bond strength and failure modes at resin- tooth interface after tooth bleaching. *Am J Dent* 2004; 17(4):267-70.

92. Pioch Th, D`Souza PD, Staehle HJ, Duschner H. Resin- dentine interface studied by SEM&CLSM. *European Microscopy and Analysis* 1996; 17-18.

93. Tipton DA, Braxton SD, Dabbous MK. Role of saliva and salivary components as modulators of bleaching agent toxicity to human gingival fibroblasts in vitro. *Journal of Periodontology* 1995; 66(9):766-74.

94. McEvoy SA. Combining chemical agents and techniques to remove intrinsic stains from vital teeth. *General Dentistry* 1998; 46(2):168-72.

95. Koulaouzidou E, Lambrianidis T, Konstantinidis A, Kortsaris AH. In vitro evaluation of the cytotoxicity of a bleaching agent. *Endodontics & Dental Traumatology*. 14(1):21-5, 1998.

96. Ernst CP, Marroquin BB, Willershausen-Zonnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence International*. 27(1):53-6, 1996.
97. Wandera A, Feigal RJ, Douglas WH, Pintado MR. Home-use tooth bleaching agents: an in vitro study on quantitative effects on enamel, dentin, and cementum. *Quintessence International*. 25(8):541-6, 1994.
98. Sulieman M, Addy M, Mc Donald E, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J Dent* 2004; 32(7):581-90.
99. Cobankara FK, Unlu N, Altinoz HC, Fusun O. Effect of home bleaching agents on the roughness and surface morphology of human enamel and dentine. *Int Dent J* 2004; 54(4):211-8.
100. Justino LM, Tames DR, Demarco FF. In situ and in vitro effects of bleaching with carbamide peroxide on human enamel. *Oper Dent* 2004; 29(2):219-25.