



EVALUACIÓN IN VITRO DE LA PROFUNDIDAD DE PENETRACIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35% EN EL TEJIDO DENTARIO

Trabajo de Investigación
requisito para optar al
Título de Cirujano Dentista

Alumnas: Catalina Cisterna Andonie.
Javiera Hormaechea Ascorra.
Tamara Ladisla Bohn.

Docente Guía: Prof. Dr. Jaime Sarmiento Cornejo.
Cátedra de Operatoria Dental.

Valparaíso – Chile
2014



EVALUACIÓN IN VITRO DE LA PROFUNDIDAD DE PENETRACIÓN DEL PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35% EN EL TEJIDO DENTARIO

Trabajo de Investigación
requisito para optar al
Título de Cirujano Dentista

Alumnas: Catalina Cisterna Andonie.
Javiera Hormaechea Ascorra.
Tamara Ladisla Bohn.

Docente Guía: Prof. Dr. Jaime Sarmiento Cornejo.
Cátedra de Operatoria Dental.

Valparaíso – Chile
2014

DEDICATORIA

A nuestras familias por su apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer al Dr. Jaime Sarmiento por respaldarnos en todo momento, al Dr. Christopher Riveros por su gran compromiso y dedicación y por último al Dr. Alejandro Oyarzún y su equipo por su cooperación. Y a todos aquellos que colaboraron en este proceso.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	2
HISTOLOGÍA DEL ESMALTE DENTAL	2
HISTOLOGIA COMPLEJO DENTINO-PULPAR.....	5
CLAREAMIENTO DENTAL	9
ETIOLOGÍA DE LAS PIGMENTACIONES DENTARIAS	10
AGENTES CLAREADORES PARA TRATAMIENTO PROFESIONAL EN LA CONSULTA	14
INDICACIONES Y CONTRAINDICACIONES.....	17
EFECTOS ADVERSOS	18
EFECTO EN LOS TEJIDOS DENTARIOS DUROS	19
ESTUDIO DEL TEJIDO DENTARIO A TRAVÉS DE MICROSCOPIO ÓPTICO CON LUZ POLARIZADA (MOLP).....	23
OBJETIVOS	24
HIPÓTESIS	25
MATERIALES Y MÉTODOS	26
RESULTADOS	37
RESULTADOS DESCRIPTIVOS.....	37
RESULTADOS ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS.....	39
RESULTADOS ESTADÍSTICOS COMPARATIVOS	48
DISCUSIÓN	53
SUGERENCIAS	57
RESUMEN	58
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	59

INTRODUCCIÓN

Actualmente la sonrisa se ha convertido en un factor fundamental para la autoestima, las relaciones interpersonales y el desarrollo social y laboral. Los cánones de estética dental en nuestra sociedad están determinados por diversos factores, sin embargo, el color del diente es una de las características percibidas en momentos iniciales del contacto social, y una de las causas más frecuentes de insatisfacción personal en la estética dentaria.

El clareamiento dental ha aumentado su popularidad en los últimos años, debido a que es un procedimiento de baja invasividad, efectivo para la eliminación o disminución de tinciones leves a moderadas de los dientes. Los distintos sistemas de clareamiento se clasifican en cuatro grandes categorías, clareamiento profesional en la consulta, clareamiento doméstico supervisado por el odontólogo, clareamiento profesional en la consulta complementado con uno supervisado en casa y productos de clareamiento cosmético de venta libre.

El tratamiento clareador realizado con peróxido de hidrógeno en altas concentraciones se ha utilizado por más de 70 años y permanece vigente. Éste muchas veces es preferido por el paciente debido a que es realizado bajo el total control del odontólogo, además de ser un procedimiento de corta duración y que logra resultados más rápidos.

A pesar que este tipo de tratamientos se consideran mínimamente invasivos, en las investigaciones realizadas durante los últimos años no existe consenso en cuanto a las consecuencias reales que se presentan en los tejidos dentarios. Se han estudiado variadas alteraciones tales como pérdida de matriz inorgánica y orgánica, nivel de penetración del agente clareador desde el exterior hacia el interior del diente y variaciones en las propiedades de los tejidos del diente.

Por lo expuesto previamente, es propósito de este estudio evaluar el efecto en el tejido dentario consecuente a la aplicación de peróxido de hidrógeno a altas concentraciones y aplicado mediante una técnica de clareamiento profesional en la consulta dental, para observar el nivel de penetración en la estructura dentaria.

MARCO TEÓRICO

HISTOLOGÍA DEL ESMALTE DENTAL

El esmalte dentario es un tejido de origen ectodérmico altamente mineralizado que recubre externamente toda la porción coronaria del diente, estando su superficie externa en contacto directo con el medio bucal. Este tejido no tiene capacidad regenerativa, debido a que es acelular, avascular y carente de inervación, por lo que toda pérdida de sustancia es irreversible (Gómez de Ferrari & Campos, 2002).

Su espesor es variable, siendo mayor en las zonas que reciben carga masticatoria y reduciéndose progresivamente hacia cervical, el cual se puede ver en la figura I. Es además mayor en vestibular que en palatino o lingual, y en mesial que en distal.

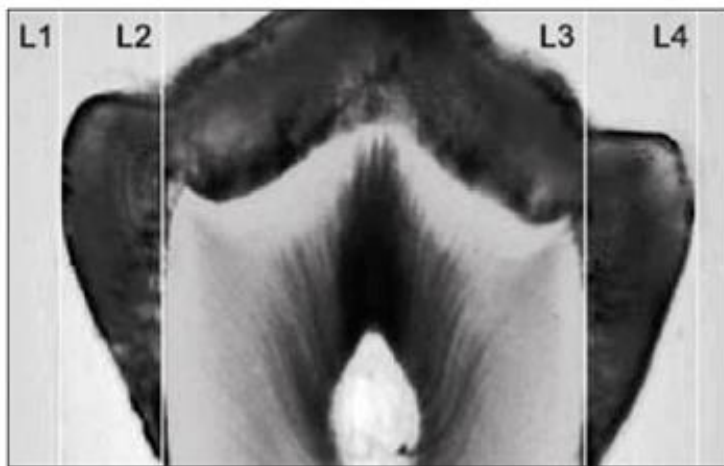


Figura I. Espesor de esmalte dental. Corte longitudinal. (Mesial: L1-L2, distal: L3-L4)

El tejido adamantino está compuesto por un 94% de material inorgánico que conforma una matriz formada principalmente por cristales de fosfato cálcico llamada hidroxiapatita y un 4% de material orgánico representado por estructuras proteicas (amelogenina, enamulina, tuftelina, ameloblastinas y parvalbúmina), las que rodean las estructuras mineralizadas. El 2% restante corresponde a agua (Gasga, 2001).

Los cristales de hidroxiapatita se organizan longitudinalmente formando prismas de esmalte, los que constituyen la unidad estructural básica de este tejido. Estos conforman la mayor parte de la matriz extracelular mineralizada, sin embargo existe un menor porcentaje dado por el esmalte aprismático, ubicado en la región más cercana al límite amelodentinario (LAD) y en la superficie externa coronaria.

Los prismas de esmalte se entrelazan de manera estrecha disponiéndose desde el LAD hacia la superficie. Su sección transversal tiene forma de ojo se

cerradura, lo que permite que al ordenarse las cabezas se ubiquen entre las colas de aquellos prismas que se encuentran por sobre ellos (Figura II). De este modo, las colas quedan ubicadas entre las cabezas de aquellos prismas subyacentes.

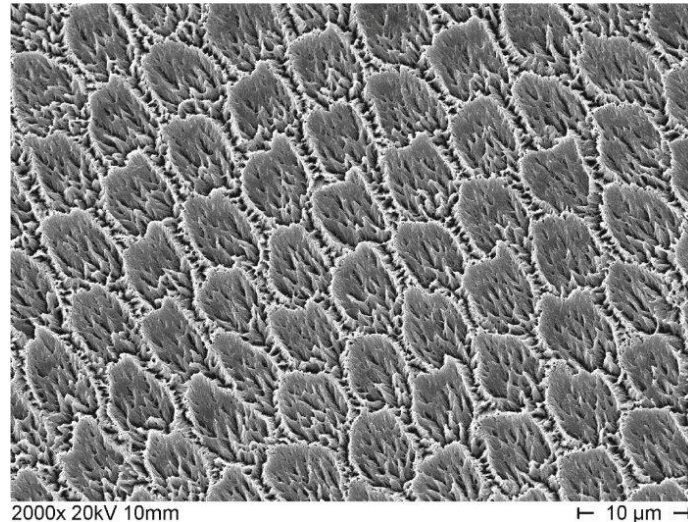


Figura II. Micromorfología del esmalte dental. Fotografía obtenida con microscopio óptico de barrido.

La trayectoria que siguen los prismas es sinuosa y se organiza circunferencialmente al eje mayor del diente. Esta disposición permite una óptima distribución de las fuerzas masticatorias.

Además de los prismas de esmalte, existen unidades estructurales secundarias que corresponden a variaciones de la estructura original, formadas como resultado de un cambio en el recorrido de los prismas, diferente grado de mineralización y la relación esmalte-dentina.

- Estrías de Retzius o Líneas Incrementales: representan zonas con menor grado de mineralización resultante de una pausa en el proceso de aposición de esmalte.
- Penachos Adamantinos o de Linderer: corresponde a tejido hipomineralizado y amorfo rico en proteínas de esmalte que aparecen desde el LAD pero que se limitan al tercio interno adamantino.
- Bandas de Hunter-Schreger: son bandas claras y oscuras producidas al entrecruzarse los prismas de esmalte de forma sincrónica. Se cree que su formación podría mejorar las propiedades físicas de este tejido, mejorando la resistencia a la abrasión, atrición y a la fractura.
- Esmalte Nudoso: corresponde a zonas de las cúspides dentarias o bordes incisales donde confluyen las distintas direcciones de los prismas y sus ondulaciones se interrelacionan.

- Husos Adamantinos: corresponden a formaciones tubulares que alojan proyecciones de las fibras de Thomes hacia el esmalte.
- Periquematíes y Líneas de Imbricación de Pickerill: estas líneas corresponden a surcos poco profundos en el esmalte en la superficie cervical de la corona. Estos surcos generan rodetes llamados periquematíes.
- Fisuras, microfisuras y surcos de esmalte.

Respecto a su matriz orgánica, representa un 1,8% del peso del esmalte y está concentrada hacia el límite amelodentinario, carece de colágeno y va decreciendo progresivamente durante el proceso de mineralización. Esta matriz se compone principalmente por proteínas y lípidos.

Durante el desarrollo las proteínas que están presentes, son las enamelinas y amelogeninas quienes juegan un papel importante en la organización estructural del esmalte y en la mineralización, gracias a la presencia del grupo fosfatos capaces de ligar el calcio.

Las enamelinas se encuentran entre los cristales de hidroxiapatita y en la superficie de éstos, las que presentan inicialmente un 10% del volumen de la matriz orgánica total. Corresponden a proteínas ácidas, hidrofílicas, glucosiladas y con grupos fosfato, que permiten ligar el calcio durante la mineralización.

Por otra parte, las amelogeninas se localizan entre los cristales y se van perdiendo progresivamente al ir mineralizándose. Estas representan el 90% del componente orgánico del esmalte, el cual se reduce cercano a un 2% cuando éste tejido madura.

La función de la matriz orgánica cuando el diente se encuentra totalmente maduro es brindarle resiliencia al esmalte y permitir la unión a la dentina.

Es relevante describir las singulares propiedades físicas del esmalte, ya que es a partir de ellas que se hace posible analizar su comportamiento en las diversas investigaciones científicas. Estas son dureza, elasticidad, permeabilidad, color y transparencia.

El esmalte es el tejido más duro del organismo, dado su alto contenido inorgánico. La dureza se incrementa desde el LAD hacia la superficie libre, estando en relación directa al grado de mineralización tisular. A pesar de esta propiedad, el esmalte es el tejido más frágil presentando una baja elasticidad a causa de su bajo contenido orgánico y acuoso, es por ello que requiere una base dentinaria elástica. El esmalte además es un tejido de baja permeabilidad, permitiendo el transporte de agua y algunos iones y moléculas de bajo peso molecular desde el medio bucal. El

color dentario depende fundamentalmente del color dentinario y el espesor de esmalte, ya que este último tiene propiedades de translucidez. Los pigmentos dentarios varían en general de grisáceo a blanco amarillento.

HISTOLOGIA COMPLEJO DENTINO-PULPAR

Debido a las características y origen histológico común, mesodermo, se considera a la dentina y la pulpa como una estructura única constituida por dos tipos de tejidos, ya que complementan sus funciones, la pulpa manteniendo la vitalidad de la dentina y la dentina protegiendo a la pulpa. A continuación se tratarán de forma independiente:

DENTINA

Tejido mineralizado que conforma el mayor volumen del diente, hacia la zona coronaria está recubierto por un casquete de esmalte, mientras que en la raíz se encuentra tapizada por el cemento. Interiormente delimita la cámara pulpar que contiene a la pulpa dental.

Su espesor varía según el diente y el sector específico de éste, siendo mayor en el borde incisal (1-1,5mm) y en las cúspides (3mm), y menor en la raíz.

La dentina está compuesta por matriz mineralizada y túbulos dentinarios observables en la figura III, los que atraviesan todo su espesor y alojan a los procesos odontoblásticos. Éstos corresponden a largas prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos, células especializadas encargadas de producir la matriz colágena de la dentina y participar en el proceso de mineralización de la misma, siendo, por tanto, responsable de su formación y mantenimiento.

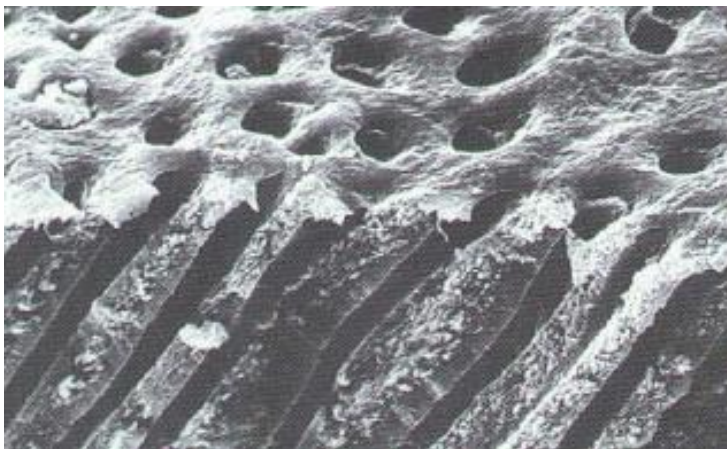


Figura III. Estructura dentinaria.

En cuanto a la organización de los túbulos dentinarios, se extienden desde la cámara pulpar hacia el límite amelo dentinario o cementario. Su diámetro varía según la edad, sitio donde se mide, irritaciones crónicas a las que ha estado expuesto el diente, entre otras. Éste es mayor en la zona cercana a la pulpa, lo que se refleja en la cantidad de túbulos, variando entre 45.000-65.000 por mm^2 hacia la pulpa y de 15.000-20.000 por mm^2 hacia el exterior, con un aumento progresivo de la superficie.

Recubriendo estos túbulos encontramos la matriz dentinaria, conformada por dentina peritubular e intertubular (Figura IV). La primera rodea el túbulo dentinario y presenta un alto grado de mineralización, mientras que la intertubular tiene un mayor contenido orgánico siendo la que separa un túbulo de otro. La dentina peritubular se apone posterior a la mineralización de la dentina intertubular, esto ocurre lento y gradualmente, pudiendo llegar a obliterar parcial o totalmente los túbulos dentinarios. (Gómez de Ferrari & Campos, 2002; Lanata, 2003).

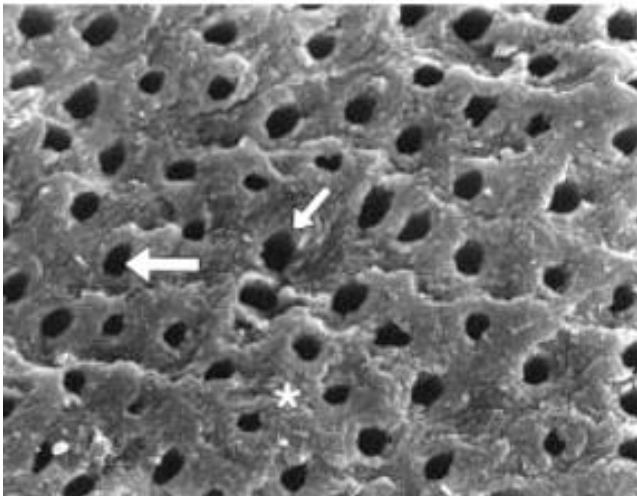


Figura IV. Corte transversal. Se muestra dentina intertubular (*) y peritubular (flechas).

Los cuerpos de los odontoblastos se encuentran en la región más periférica de la pulpa, separándose de la dentina mineralizada por una zona de matriz orgánica no mineralizada llamada predentina, la cual se encarga de mantener la integridad del tejido.

Otro tipo de dentina es la dentina primaria. Esta es la más abundante formando el cuerpo principal del diente, cuya composición química corresponde en volumen a un 70-75% de matriz inorgánica (principalmente hidroxapatita), un 20% de materia orgánica y un 5-10% de agua.

La hidroxapatita presente en la dentina se diferencia a la del esmalte por su mayor contenido de carbonato y magnesio, son cristales más pequeños y están distribuidos dentro, fuera y entre las fibras colágenas.

Por otra parte la matriz orgánica, está formada principalmente por colágeno tipo I (89% en volumen), colágeno tipo III y V (1% en volumen) y por proteínas no colágenas, proteoglicanos y glucosaminoglicanos (10% en volumen), los cuales le otorgan elasticidad y flexibilidad evitando la fractura del esmalte. La composición orgánica, difiere según localización y edad.

Una vez formada la dentina primaria prosigue el depósito de dentina a una velocidad reducida de estructura tubular irregular, sin necesidad de un estímulo, conformándose una dentina secundaria o fisiológica, la cual se apone durante toda la vida del diente y en toda la cara interna de la cavidad pulpar.

Existe un cuarto tipo de dentina llamada dentina terciaria o reparativa la cual está formada por la acción de odontoblastos de sustitución (odontoblastoides, células mesenquimáticas diferenciadas) en respuesta a noxas de intensidad moderada. Cuando se producen noxas de intensidad leve se produce la dentina esclerótica, su diferencia radica en que la dentina es secretada por odontoblastos primarios, es por este mismo motivo, que esta última, se sintetiza de forma más ordenada. (Gómez de Ferrari & Campos, 2002; Lanata, 2003).

Se pueden distinguir distintos grados de calcificación desde el LAD hacia la pulpa, observando:

- Espacios interglobulares de Czermack: se encuentran en la dentina intertubular coronaria, tienen forma estrellada y corresponden a zonas donde hay matriz orgánica hipomineralizadas o sin mineralizar, debido a que en esta zona no se formó dentina peritubular y los túbulos parecen dilatados.
- Líneas Incrementales de Retzius: representan la formación rítmica de la dentina, actividad y reposo.
- Zona Granulosa de Tomes: se ubica en la periferia de la dentina radicular, cercana al cemento. Se producen por la presencia de dentina interglobular originada por la falta de mineralización de los haces de colágeno.
- Líneas o Bandas Dentinarias de Schreger: aparecen por el cambio de dirección relativamente brusco de los túbulos dentinarios.
- Unión Amelodentinaria: línea festoneada y nítida que determina la unión entre dos tejidos de distinto origen embrionario. Presenta un alto contenido proteico y bajo nivel de mineralización, por lo que la barrera ante el avance de caries en esta zona es deficiente.
- Unión cementodentinaria: poco evidente, pero se distingue del tejido dentinario por la presencia de una estructura tubular en la dentina y de laminillas en el cemento. (Gómez de Ferrari & Campos, 2002).

Es de importancia destacar las propiedades de la dentina, las cuales son: color, translucidez, dureza, radiopacidad, elasticidad y permeabilidad.

El color dentario está determinado por la dentina, suele ser blanco amarillento pero es muy variable, tanto entre individuos como en el mismo. El color depende de diversos factores tales como el grado de mineralización, vitalidad pulpar, la edad y los pigmentos. En cuanto a la translucidez, en la dentina es menor que en esmalte ya que se encuentra menos mineralizada, sin embargo, el sitio donde su espesor es menor permite un mayor paso de la luz.

La dureza al igual que la translucidez, está determinada por el grado de mineralización del tejido lo que le otorga un alto grado de microdureza. Otra propiedad que depende del grado de mineralización de la dentina es la radiopacidad, la cual es menor a la del esmalte.

La elasticidad es la encargada de amortiguar las cargas masticatorias y es dependiente del contenido orgánico y acuoso en proporción al contenido mineral que presente la dentina.

Por último, la permeabilidad está determinada por dos mecanismos, la presión pulpar positiva y la difusión, definida por el diámetro y longitud de los túbulos dentinarios. La dinámica de los fluidos está descrita por la Teoría Hidrodinámica de Bränström, la que explica que estos movimientos se dan tanto desde el exterior hacia la pulpa como viceversa, y que son los responsables de la estimulación nerviosa del proceso odontoblástico, lo que conlleva al dolor dental. Son estos mismos aspectos los que regulan el paso de diversas moléculas externas hacia la cámara pulpar. Tal es el caso de la aparición de pigmentaciones dentarias, que dependiendo de su peso molecular y de las características tubulares, será el grado de penetración dentro de los tejidos duros dentarios en dirección hacia la pulpa (Gómez de Ferrari & Campos, 2002).

PULPA

Tejido conectivo laxo especializado, el cual se encuentra rodeado por dentina. Está compuesta por células, fibras, matriz fundamental amorfa, nervios, vasos sanguíneos y linfáticos, correspondiendo a un 25% de sustancia orgánica y un 75% de agua. La disposición de éstos, varía según la zona pulpar considerada pues sus componentes se disponen en una estructura altamente organizada donde se reconocen cuatro zonas desde la periferia al centro, las cuales se observan en la figura V:

- Zona odontoblástica: capa epiteliforme de odontoblastos.

- Zona oligocelular: contiene el plexo nervioso de Rashkow, plexo capilar subodontoblástico y fibroblastos subodontoblásticos, éstos unen a los odontoblastos a través de uniones tipo gap con la zona rica en células. También encontramos células dendríticas.
- Zona rica en células: presenta células madres ectomesenquimáticas.
- Zona central: tejido conectivo laxo, rico en vasos sanguíneos y nervios. Contiene macrófagos, fibroblastos y células ectomesenquimáticas.

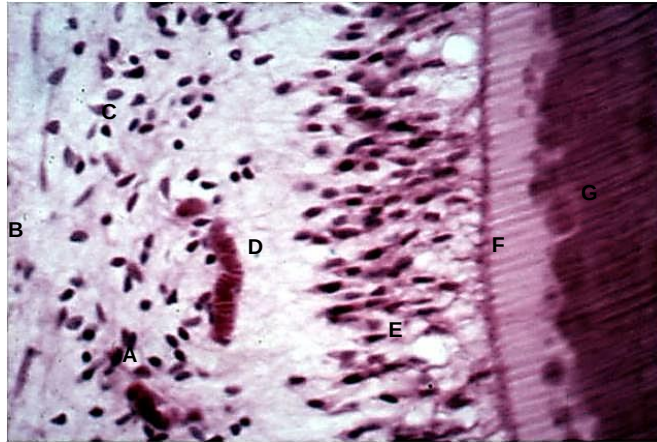


Figura V. Zonas de la pulpa, tinción H-E. (A) vaso sanguíneo, (B) tejido conectivo laxo, (C) zona rica en células, (D) zona oligocelular, (E) zona odontoblástica, (F) predentina, (G) dentina.

La principal función de la pulpa es la formación y sustento de la dentina. Otras son ser inductora del proceso de amelogenénesis, ser la fuente de nutrición de la dentina a través de los procesos odontoblásticos y el sistema vascular pulpar, inducir dolor ante diversos estímulos y mediar la síntesis de dentina reparativa y peritubular ante agresiones (Hanks et al., 1993) .

CLAREAMIENTO DENTAL

CONCEPTO

El clareamiento dental es un procedimiento odontológico mínimamente invasivo que busca aumentar el valor dentario a través de la utilización de peróxidos. Este podría eventualmente disminuir la saturación dentaria, sin embargo no es posible asegurar al paciente el color resultante al finalizar el tratamiento (Baratieri et al., 2001).

Según la ADA, existen cuatro grandes grupos en los que se pueden clasificar las distintas técnicas de clareamiento actualmente vigentes: clareamiento profesional en la consulta, clareamiento doméstico supervisado profesionalmente, clareamiento profesional en la consulta complementado con uno supervisado en casa y productos de clareamiento de venta libre en el mercado (ADA Council of Scientific Affairs, 2009).

El clareamiento profesional en la consulta ha sido una técnica utilizada por décadas, manteniéndose vigente en la actualidad. A lo largo de la historia se han propuesto variados métodos, siendo el más empleado el que utiliza peróxido de hidrógeno en altas concentraciones, hoy en día se emplea en concentraciones del 35%. Se han propuesto distintas variantes al protocolo general de aplicación del peróxido de hidrógeno. Éstos van desde alterar la concentración del agente o su estado (gel o líquido), hasta la aplicación de calor, luz o incluso un grabado ácido previo. La evidencia demuestra que los resultados del tratamiento en cuanto a los cambios de valor del diente no son significativos, sin embargo sí lo es el daño a los tejidos tanto duros como blandos, por deshidratación, aumento de la sensibilidad dental, entre otros. Es por esto que no se justifica el empleo de técnicas adicionales a la aplicación del peróxido de hidrógeno.

En esta técnica el odontólogo realiza una preparación previa del paciente y además supervisa todo la evolución del tratamiento clareador. Primero debe efectuar una limpieza profunda en las superficies dentarias a trabajar con el objetivo de eliminar la capa mucoproteica existente. Además, debe aislar los tejidos blandos para prevenir posibles efectos adversos. Debido a esto y otras ventajas como una mayor comodidad y rapidez en la obtención de resultados es que muchos pacientes prefieren esta alternativa de clareamiento dental.

Además se indica esta técnica en presencia de tinciones más severas y cuando es un único diente a clarear (Llambés et al., 2011).

El protocolo más utilizado es aplicar peróxido de hidrógeno al 35% por un tiempo total de 45 a 60 minutos. El número de sesiones varía dependiendo de los resultados obtenidos según los esperados, lo cual se determina entre odontólogo y paciente.

ETIOLOGÍA DE LAS PIGMENTACIONES DENTARIAS

El color del diente está determinado por las propiedades ópticas de los tejidos mineralizados y el efecto combinado entre pigmentaciones intrínsecas y extrínsecas (Markovic et al., 2010). La tinción de uno o más dientes se producen por los

denominados cromóforos, pigmentos que son absorbidos en la superficie del esmalte o bien, provienen desde el interior del tejido dentario. Éstas pueden clasificarse a nivel general, dependiendo de su origen, en tinciones extrínsecas e intrínsecas como se observan en la tabla I.

Origen de Pigmentación dentaria	Causas de pigmentación dentaria
Pigmentaciones Extrínsecas	1. Bacterias cromógenas adheridas a la superficie dentaria. 2. Absorción y fijación de sustancias dietéticas de alto contenido de taninos (cromóforos). 3. Conversiones químicas de los componentes de la película adquirida.
Pigmentaciones Intrínsecas	1. Localizado: • Alteraciones en la odontogénesis. • Tratamiento endodóntico inadecuado • Trauma o necrosis pulpar. • Tinción por amalgama. • Iatrogenia. 2. Generalizado: • Ambientales pre/postnatales. • Genéticos dentarios/sistémicos.

Tabla I. Clasificación de pigmentaciones dentarias.

Las pigmentaciones extrínsecas son aquellas que se adquieren, una vez erupcionado el diente, a partir de depósitos de colorantes y pigmentos de la dieta sobre el biofilm bacteriano que recubre el esmalte dental. Existen alimentos que tienen mayor tendencia a teñir la superficie dentaria que otros, como lo son el café, té, vinos tintos y bebidas con colorantes artificiales. Además, existen ciertas características en el esmalte que potencian el depósito de pigmentos como la higiene oral deficiente y la presencia de defectos morfológicos tales como las rugosidades superficiales, periquematías, entre otros.

Por otra parte, las pigmentaciones intrínsecas pueden originarse por muchos factores, entre ellos, hay dientes naturalmente más amarillos que otros, y también, dientes que sufren un proceso de oscurecimiento fisiológico con la edad, debido a que la pérdida de esmalte y la constante aposición dentinaria van modificando su color original. Otras causas comprenden la administración sistémica de algún medicamento durante la formación dentaria, como la antibioterapia con tetraciclinas o sus derivados (Figura VI), siendo estas últimas las tinciones más difíciles de combatir con técnicas conservadoras o por la ingesta temprana y multivehicular de elementos

fluorados (dentífricos, enjuagues, alimentos) que desencadena posteriormente algún tipo de fluorosis por la alteración al sistema enzimático de los ameloblastos durante la mineralización del esmalte (Figura VI).

A su vez, se han descrito pigmentaciones intrínsecas asociadas a traumatismos dentarios en donde la hemorragia pulpar causa pigmentaciones rosáceas que, si el diente logra mantener su vitalidad, pueden ser transitorias o por el contrario, si el diente se desvitaliza, la oxidación y hemólisis de los restos pulpares produce manchas más oscuras y parduzcas, símil a las tinciones producidas luego de un tratamiento endodóntico inadecuado (Figura VI) (Markovic et al., 2010). Otra acción odontológica asociada a este tipo de pigmentaciones se relaciona con el uso inadecuado de materiales de obturación, como por ejemplo, las tinciones por amalgama.

También se han asociado tinciones dentarias a cuadros sistémicos como déficit nutricional, desórdenes hematopoyéticos, preeclampsia y enfermedades exantemáticas tales como la varicela, sarampión, escarlatina durante el período postnatal o rubéola e infección por citomegalovirus durante el período prenatal. Asimismo, otras tinciones han sido asociadas a causas genéticas, tanto como factores locales que involucran sólo tejido dentario (amelogénesis imperfecta, dentinogénesis imperfecta y displasias dentinarias) o bien, acompañado de desórdenes sistémicos así como epidermólisis bulosa, porfiria eritropoyética u osteogénesis imperfecta.

Por último, se ha agregado un nuevo tipo de pigmentación que básicamente se refiere a aquellos cromóforos extrínsecos que por ser de bajo peso molecular, son capaces de introducirse en el tejido adamantino y dentinario. Sin embargo, es importante señalar que según estudios sobre el efecto del clareamiento dental en esmalte de dientes no erupcionados, el resultado final del cambio de coloración, no se atribuye sólo a la presencia de cromóforos sino que también se asocia a cambios en la estructura del esmalte y por lo tanto, a las propiedades ópticas inherentes del tejido (Markovic et al., 2010).



Figura VI. Tipos de pigmentaciones dentarias. (A) Tinción por tetraciclina. (B) Fluorosis. (C) Tinción por trauma.

HISTORIA

A lo largo de la historia del ser humano, la estética ha marcado un papel preponderante tanto en la apreciación personal como en las relaciones sociales. Independiente de los cánones de belleza propios de cada época, la estética dental ha estado presente como una constante en las distintas culturas, existiendo precedentes desde el 5000 a.C., en la cultura egipcia.

En la época de los romanos, se realizaban clareamientos dentales en base a úrea. Ya en el siglo XIX se inician los clareamientos de dientes desvitalizados con cloruro de calcio y en dientes vitales con ácido oxálico. De hecho, es en esta época que se publica el primer artículo científico sobre clareamiento de dientes vitales. Luego comienza a utilizarse el peróxido de hidrógeno como alternativa menos invasiva.

El año 1910 se introduce la utilización de calor o de una fuente lumínica para acelerar el proceso de clareamiento, en base a peróxido de hidrógeno o pyrozone.

El año 1960 Nutting y Poe eligieron el uso de superoxol, en vez de pyrozone ya que este último daba mayor seguridad y al mezclarlo con perborato de sodio se obtenía un efecto sinérgico.

Klusmier en 1968 utilizó un antiséptico en base a peróxido de carbamida en pacientes portadores de aparatos ortodóncicos. En ellos pudo observar el efecto clareador del agente.

Recién en el año 1989 comienza a utilizarse de manera masiva el peróxido de carbamida gracias a la publicación de Heymann y Heywood, *Nightguard Vital BleachingTechnique*, QuintessenceInt. 1989.

Luego, en el año 1991 comienza el desarrollo del clareamiento potenciado, en el cual se combinan altas concentraciones de peróxido de hidrógeno con aplicación concomitante de calor o luz.

Garber y Goldstein, describen el clareamiento combinado, en el cual se aplica peróxido de hidrógeno al 35% en la consulta y luego se mantiene con un tratamiento doméstico con cubeta con este mismo agente pero a bajas concentraciones (Baratieri et al., 2001; Pécora et al., 1996).

AGENTES CLAREADORES PARA TRATAMIENTO PROFESIONAL EN LA CONSULTA

Como mencionamos anteriormente existen varias técnicas para el clareamiento dental, independiente de cual se utilice el pronóstico es resultado de la interacción de distintos factores tales como el tipo de tinción, su origen y su data, la edad del paciente, la integridad coronaria y la presencia de lesiones pulpares. En el caso de la tinción, las extrínsecas suelen resolverse con mayor facilidad que las intrínsecas, las orgánicas tiene un mejor pronóstico que las inorgánicas y lo mismo ocurre con aquellas de menor data. Por su parte, la edad del paciente guarda relación con la amplitud de los túbulos dentinarios, es por ello que, a menor edad del paciente, si bien la penetración a los tejidos duros se produce con mayor facilidad, así mismo remiten con el tratamiento clareador (Moncada et al., 1999).

Para clarear dientes vitales se utiliza peróxido de hidrógeno entre 30%-35%, el cual tiene la capacidad de generar especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como el ion hidroxilo ($\text{OH}^\cdot$) y ion superóxido ($\text{O}_2^\cdot$) (Saita et al., 2012). Éstos debido a su bajo peso molecular (30g/mol) difunden a través de los tejidos duros del diente, realizando su acción clareadora (Kwon et al., 2012). Se prefiere la utilización del peróxido de hidrógeno en consistencia de gel versus líquida, ya que permite por su tixotropía un mayor control por parte del operador, y por su osmolaridad asegura una difusión paulatina (Hanks et al., 1993).

El mecanismo por el cual se produce la modificación en el color del diente se debe a una reacción química de óxido reducción, donde los compuestos orgánicos son oxidados y eventualmente convertidos en dióxido de carbono y agua.

Por su parte, el peróxido de hidrógeno se descompone en radicales de peróxido llamados hidroxilos ($\text{OH}^\cdot$), que corresponden a los reales agentes

clareadores. En una segunda instancia, los radicales de peróxido y su electrón libre, muy inestables y por ello reactivos, rompen los dobles enlaces de carbono de los cromóforos.

Los cromóforos corresponden a componentes orgánicos que poseen enlaces simples y dobles, que contienen anillos carbónicos y fenólicos. Éstos presentan usualmente una pigmentación amarilla. Cuando la decoloración ocurre, gracias a la mayor afinidad por los ROS a ellos, se dislocan uno o más dobles enlaces de compuestos de carbono en grupos hidroxilo, generando moléculas menos pigmentadas, más pequeñas y difundibles (Baratieri et al., 2001; Joiner et al., 2006).

Como se mencionó anteriormente, las especies reactivas de oxígeno tienen una mayor afinidad por los cromóforos de mayor intensidad. Dependiendo de la concentración, tiempo de acción y número de aplicaciones del agente clareador, será el grado de oxidación de las moléculas pigmentadas obteniendo una difusión parcial o total de estas. Cuando se alcanza el punto de saturación, los radicales comienzan a degradar las moléculas de carbono de las proteínas y otros componentes de la estructura dentaria que las contengan. Por lo tanto, es crítico detener el proceso de clareamiento antes de que comience la pérdida de matriz orgánica tanto adamantina como dentinaria (Figura VII).

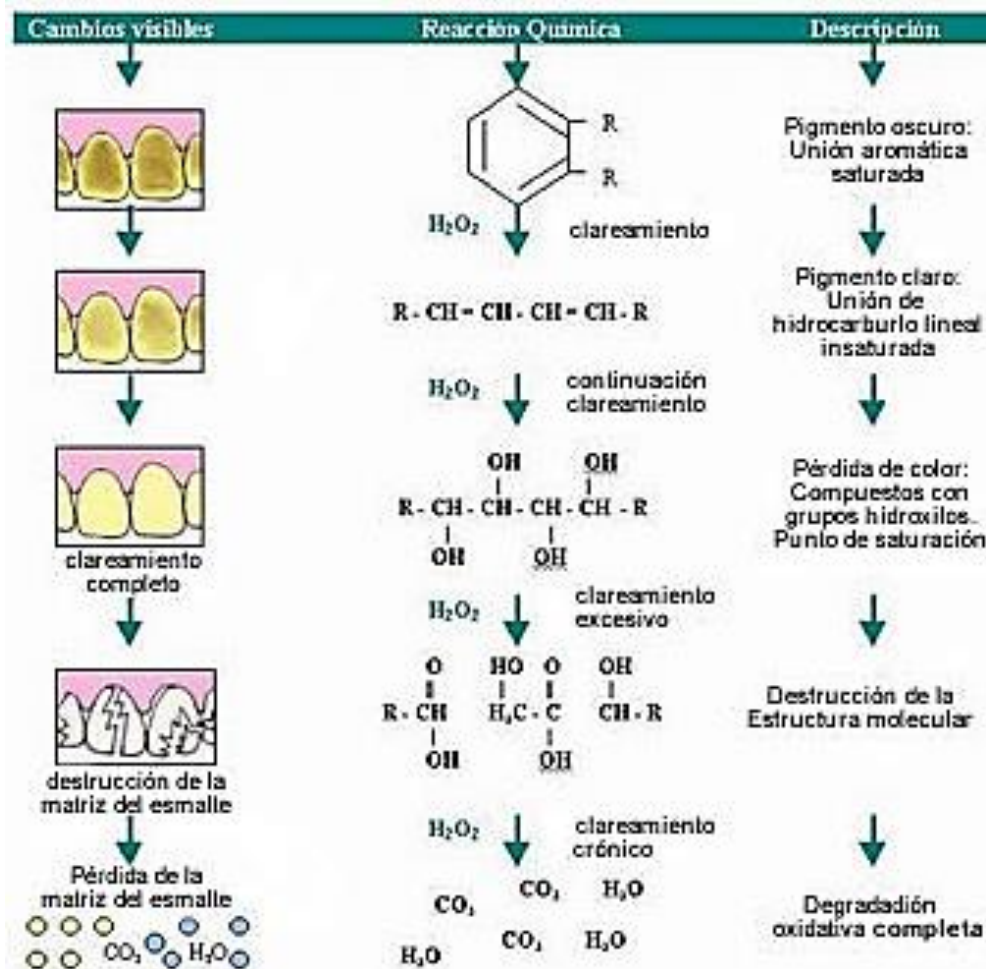


Figura VII. Proceso químico de clareamiento dental.

En cuanto a la difusión del peróxido de hidrógeno, éste se aplica directamente sobre la estructura adamantina, pero existe controversia sobre el potencial de penetración hacia el complejo dentino-pulpar. Estudios realizados por A. Ubaldini en el 2013 demuestran a través de la Espectroscopía micro Raman, la difusión de peróxido de hidrogeno hacia la dentina. Se postula que la dinámica de difusión está determinada por la afinidad del agente al tejido orgánico. En el estudio se observó que un 63% del peróxido de hidrógeno aplicado en la superficie del esmalte alcanza 3 mm de penetración (Ubaldini et al., 2013).

Otro estudio que evaluó el patrón de penetración fue el de S. R. Kwon del año 2011. Este se realizó través de la tinción de Rodamina B la cual es soluble en agua y tiene un peso molecular similar al del peróxido de hidrógeno. A través de la utilización de un microscopio de laser confocal se pudo observar como la Rodamina

B penetró por los espacios interprismáticos en el esmalte y por los túbulos dentinarios en la dentina, y con mayor rapidez, hacia la pulpa (Kwon et al., 2012).

El complejo dentinopulpar tiene un contenido orgánico significativamente mayor al esmalte, y es por esto que la afinidad de los peróxidos es mayor por la matriz orgánica dentinaria. Es así como en el estudio de A. Ubaldini, el año 2013, se observa un comportamiento particular del peróxido a medida que ingresa al tejido dentario. Se describen pocas alteraciones en esmalte, dado su bajo contenido orgánico. A través de éste avanza linealmente hasta llegar al límite amelodentinario, desde donde se observa un patrón amorfo de difusión en dentina. Este cambio podría explicarse por el alto contenido proteico del LAD, atrayendo y dispersando al peróxido de hidrógeno y posteriormente hacia los túbulos dentinarios siguiendo la gradiente de concentración. Otra explicación, no excluyente a la anteriormente mencionada, postula que el cambio de diámetro tubular, desde uno pequeño en el esmalte hacia uno más amplio en dentina, produce una alteración en el flujo del agente a nivel del límite amelodentinario y en consecuencia un patrón de difusión amorfo (Ubaldini et al., 2013).

En volumen de peróxido de hidrógeno que logra penetrar dentro de los tejidos duros depende del tiempo de exposición y de la concentración, lo que ocurre debido a una gradiente de concentración desde el exterior hacia la pulpa a través de los túbulos adamantinos y dentinarios.

Debido a la naturaleza química inestable de los clareadores, su durabilidad es crítica. Independiente del tipo, concentración y presentación comercial del agente, todas son muy sensibles a las condiciones de manipulación y almacenamiento perdiendo significativamente su poder de acción en el tiempo ante la exposición lumínica y a temperaturas elevadas. Se ha demostrado que una solución de peróxido de hidrógeno pierde un 50% de su poder oxidante en 6 meses (Baratieri et al., 2001).. Es por esto que deben almacenarse a bajas temperaturas y en dispositivos que eviten el paso de la luz.

INDICACIONES Y CONTRAINDICACIONES

El tratamiento clareador se realiza en pacientes insatisfechos con su color dentario, sin embargo no se puede aplicar en todos los casos clínicos, sino que en alteraciones de color leves a moderadas (Berga et al., 2007). Se indica en dientes naturalmente amarillos, oscurecidos por envejecimiento fisiológico, con tinciones adquiridas por tabaco, por té o café, en manchas suaves causadas por tetraciclinas o fluorosis moderada, y en dientes que sufrieron cambio de coloración asociado a trauma por la degeneración pulpar o calcificación distrófica producida.

Si bien la invasividad de los tratamientos clareadores es baja, se contraindica en pacientes menores de 13 años por la amplitud de las cámaras pulpares y de los túbulos dentinarios, embarazadas o lactantes, dientes con sensibilidad moderada a severa, dientes con pérdida de esmalte (facetas de desgaste y lesiones no cariosas), fisuras o líneas de fractura, dientes con caries, obturaciones defectuosas y pacientes con enfermedad periodontal.

EFFECTOS ADVERSOS

Si bien los agentes clareadores ejercen su función principal en las moléculas cromóforas, al llevar a cabo su acción entrarán en contacto con el tejido dentario, y posiblemente con los tejidos blandos causando lesiones.

IRRITACIÓN GINGIVAL

En muchos casos, a pesar del aislamiento absoluto efectuado previamente para la protección de los tejidos blandos, no se logra un total hermetismo y el material contacta con éstos, ocasionando posibles molestias en el paciente por su acción cáustica e irritante. Ésta se presenta durante el tratamiento y remite al retirar el estímulo.

SENSIBILIDAD DENTARIA

Es el efecto adverso generado con mayor frecuencia y en forma leve, y se gatilla ante cambios térmicos. Éste se produce generalmente en la primera hora luego de la aplicación del agente clareador. Suele ser transitoria asociada al tiempo de tratamiento pero existe evidencia de casos en los que se ha producido sensibilidad crónica post tratamiento clareador, especialmente al utilizar agentes con mayor concentración. Es por esto que al producirse sensibilidad moderada se opta por la reducción de la dosis y se aplica en intervalos mayores. Además, se pueden aplicar agentes desensibilizantes o soluciones clareadores que contengan flúor. Si se produce sensibilidad severa se debe suspender el tratamiento (Baratieri et al., 2001)..

La sensibilidad dentaria se atribuye al paso de agentes clareadores hacia el tejido pulpar gracias a su bajo peso molecular. Se postula, que existe un cambio de osmolaridad que conlleva a una alteración en el equilibrio hidrodinámico de los túbulos dentinarios generando una estimulación del proceso odontoblástico que se traduce en dolor (Eimar et al., 2012).

EFFECTO EN LAS RESTAURACIONES

No se han observado efectos adversos cuando los agentes son aplicados sobre los distintos tipos de restauraciones (porcelana, amalgama, resinas compuestas, cemento ionómero de vidrio), sin embargo existe controversia en cuanto a la alteración de la textura superficial de ellos.

En la adhesión de las resinas compuestas, se ha reportado que los productos liberados por la oxidación del peróxido, especialmente el oxígeno residual superficial, perjudican tanto en cantidad como en calidad, la formación de tags de resina. Es por esto que se recomienda esperar de 7 a 14 días antes de realizar técnicas restauradoras que empleen sistemas adhesivos (Sundfeld et al., 2005).

EFFECTOS SISTÉMICOS

La interrogante sobre los efectos tóxicos y potencial carcinogénico de los agentes clareadores nace, ya que existe evidencia del efecto de las especies reactivas de oxígeno en la alteración de proteínas y ácidos nucleicos generando daño celular (ADA Council of Scientific Affairs, 2009).

Efectos laxativos leves se han descrito asociados a la ingesta de la solución clareadora debido a su contenido de glicerina.

EFFECTO EN LOS TEJIDOS DENTARIOS DUROS

Existe controversia en los distintos estudios disponibles en la actualidad. Se presume que los potenciales cambios abarcarían diversos efectos, tanto micromorfológicos como de sus propiedades físicas y mecánicas. Se desarrollarán a continuación los eventuales efectos en el esmalte y complejo dentinopulpar.

EFFECTOS DEL CLAREAMIENTO EN EL ESMALTE SUPERFICIAL Y SUBSUPERFICIAL.

ALTERACIONES MICROMORFOLÓGICAS

Existen agentes clareadores que presentan un pH menor al ideal, los cuales generan una leve erosión superficial del esmalte, y una mayor susceptibilidad a la abrasión asociada al posterior cepillado. Sin embargo, cuando se aplica por un tiempo excesivo resulta en efectos mayores, en donde la erosión suele ser preponderante a la abrasión. Si bien es un efecto no deseado, existen pastas dentales clareadoras en el comercio que generan incluso una mayor abrasión que los

sistemas clareadores (Demarco et al., 2011). A pesar de esto, existen diversos estudios en los que estas diferencias resultan no ser estadísticamente significativas.

Es así como S. Gopinath, el año 2013 en un estudio experimental *in vitro* utilizando peróxido de hidrógeno al 35% y a través de microscopía electrónica por scanner (SEM), observó cambios significativos entre los grupos control y de estudio al aplicar tratamientos clareadores en la microrrugosidad del esmalte, e incluso presencia de cracks y depresiones (Sarath et al., 2013). Así mismo en un estudio de M. D' Amario el año 2012, se encontraron cambios micromorfológicos significativos en el esmalte al aplicar peróxido de hidrogeno al 35%. En el estudio se aplicó el clareador 2, 3 y 4 veces en intervalos de 1 semanas, observándose a través de SEM cambios significativos cuando se aplicó 3 y 4 veces en la estructura prismática del esmalte (D'Amario et al., 2012).

Otro estudio que demuestra cambios micromorfológicos es el de C. Miranda donde a través de un estudio *in vitro* y con SEM detectó que al aplicar peróxido de hidrógeno al 35% se intensifican las irregularidades presentes previas al tratamiento, además observó remoción parcial de esmalte aprismástico, muescas, exposición de primas, porosidad aumentada, cráteres y erosión superficial. Estas alteraciones morfológicas medidas en otro estudio, que empleó la misma metodología, fueron insignificantes estadísticamente ya que el peróxido de hidrógeno en altas concentraciones se aplicó por un menor tiempo (Figura VIII).

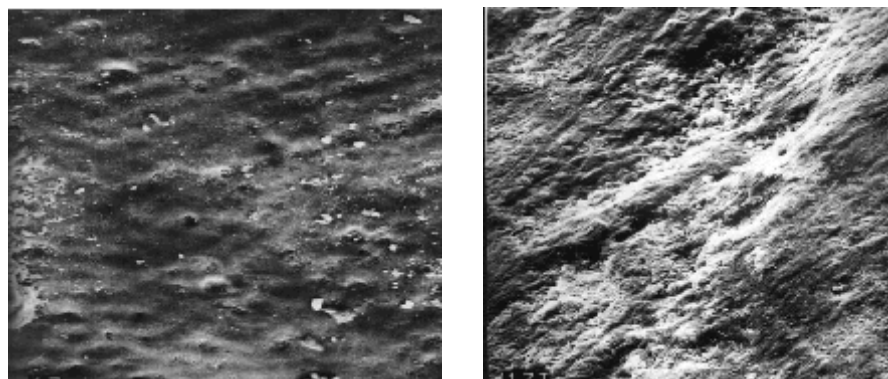


Figura VIII. Microfotografías de la superficie dentaria. (A) Antes del tratamiento clareador. (B) Después del tratamiento clareador.

Cuando la microrugosidad del esmalte está incrementada, se ha observado una mayor susceptibilidad por parte del diente a la incorporación de nuevos pigmentos extrínsecos y a la adhesión de especies bacterianas como el streptococcus mutans (Cadenaro et al., 2008).

Al haber pérdida de sustancia adamantina, es inevitable suponer una pérdida o al menos una alteración en el contenido mineral de este tejido. Según S. Mothilal y colaboradores en un estudio *in vitro* realizado el año 2012 con peróxido de hidrógeno al 35% y 38%, observaron a través de espectroscopía de Raman una reducción significativa de fosfato en el esmalte, la cual se asocia a la disolución mediada por el agente clareador de la matriz inorgánica. Es sabido que el fosfato presenta acción cariostática, reduce la solubilidad del esmalte y actúa como buffer neutralizando el pH de la saliva, biofilm y alimentos (Venkatesan et al., 2012).

En cuanto a la concentración Calcio, en el 2011, Tezel realizó un estudio *in vitro* para evidenciar cambios en la superficie adamantina, encontrando que no existen diferencias significativas entre grupos que emplearon peróxido de peróxido de hidrógeno al 35% y el control (Tezel et al., 2011).

ALTERACIONES DE LAS PROPIEDADES MICROMECAÑICAS

La microdureza adamantina está dada por la diferente orientación y cantidad de cristales minerales en las distintas zonas del prisma de esmalte. La evidencia muestra resultados contradictorios dependiendo de la carga empleada en los distintos test de microdureza. Cuando son mayores a 500 mN no se observa diferencia estadísticamente significativa al aplicarla sobre esmalte clareado y no clareado con peróxido de hidrógeno al 35%. Cuando se usan cargas menores es posible observar una menor microdureza del esmalte tratado con agentes clareadores (Elfallah et al., 2013). Por otro lado, la microdureza también se ve afectada por el tiempo de aplicación del producto clareador. Es así como en un estudio de A. Alkhtib, se observa que no hay cambios significativos cuando el tiempo de aplicación es corto, pero cuando se aumenta el tiempo con respecto a las indicaciones del fabricante se observa una disminución en la microdureza al utilizar peróxido de hidrógeno en altas concentraciones (Alkhtib et al., 2013).

El módulo elástico o módulo de Young del esmalte depende de la orientación de los prismas, la cantidad de sustancia orgánica y contenido de agua. Según B. R. Hairul las propiedades micromecánicas tanto de esmalte como dentina se alteran después de la aplicación de peróxido de hidrógeno al 30% durante 24 horas. El módulo de Young del esmalte disminuyó entre un 18% a 32%, siendo éstos significativos (Hairul et al., 2005).

EFFECTOS DEL CLAREAMIENTO EN EL COMPLEJO DENTINO-PULPAR

ALTERACIONES MICROMORFOLÓGICAS

El peróxido de hidrógeno, como se mencionó anteriormente, tiene mayor afinidad por la matriz orgánica y es por esto que se produce mayor alteración a nivel del complejo dentino-pulpar en comparación al esmalte. Según el estudio de A. Ubaldini, a través de espectroscopia fotoacústica infrarroja, se observó una reducción relativa de las amidas tipo I, II y III como de uniones carbono hidrógeno, lo que demuestra la desnaturalización del colágeno a través de la oxidación y consecuente alteración de su estructura proteica secundaria (Ubaldini et al., 2013). Lo mismo se pudo detectar en el estudio de C. Sato del año 2013 donde se observó una disminución del valor de la autofluorescencia del colágeno en los dientes tratados con peróxido de hidrógeno en comparación al control. Cabe destacar que esta disminución de la autofluorescencia se ve acompañada de un aumento en la cantidad de catepsina B, una enzima proteolítica presente en la dentina clareada (Sato et al., 2013). En el mismo estudio se detectó una disminución en la cantidad de fosfato, como de amida I.

Existen autores que han observado un aumento en la cristalinidad dentinaria posterior al tratamiento clareador, esto podría explicarse por un proceso de reorganización de la dentina amorfa. Por otro lado, en un estudio de A. Joiner se observó que los cambios estructurales frente a la exposición de peróxido de hidrógeno al 35% no produjeron cambios significativos en el componente orgánico e inorgánico de los tejidos dentarios, pero mostró un aumento en la cantidad relativa de oxígeno (Joiner et al., 2007).

ALTERACIONES DE LAS PROPIEDADES MICROMECAÑICAS

Debido a la alteración del colágeno, unidad estructural de la dentina, se puede predecir una modificación de sus propiedades mecánicas. Esto es lo que se demuestra en el estudio de H. K. Chng donde las imágenes obtenidas mediante el microscopio de fuerza atómica, muestran una disminución de la superficie de la dentina intertubular posterior al tratamiento clareador, lo que se correlaciona con una disminución significativa en los parámetros de dureza y módulo de Young (Chng et al., 2005).

Otro estudio que reafirma la alteración de las propiedades micromecánicas es el de B. R. Hairul, donde se observa una disminución significativa de la microdureza de la dentina intertubular en un 29% a 55% al igual que su módulo de Young el cual disminuyó en un 19% a 43% (Hairul et al., 2005).

ESTUDIO DEL TEJIDO DENTARIO A TRAVÉS DE MICROSCOPIO ÓPTICO CON LUZ POLARIZADA (MOLP)

El microscopio de luz polarizada corresponde a un subtipo de microscopio óptico de campo claro y emplea una técnica de incremento de contraste. Es uno de los métodos más efectivos para el estudio de materiales anisotrópicos gracias a la calidad de imagen que otorga. Su aplicación en biología permite diferenciar los elementos isotrópicos de aquellos anisotrópicos, y en estos lograr su caracterización mediante el análisis de su microestructura y composición.

La principal diferencia que presenta con el microscopio óptico común, es la incorporación de filtros polarizadores, tanto bajo el condensador como sobre los objetivos. Estos filtros generan campos magnéticos perpendiculares entre sí, por lo que cada uno permite el paso de ondas que oscilan en igual dirección. Es por esta característica que da pie al estudio de sustancias anisotrópicas o birrefringentes. Esta propiedad, presente en el esmalte dental, se da en aquellos materiales cuya estructura interna es asimétrica; en el caso del tejido adamantino, la organización en prismas. Cuando la luz del MOLP incide sobre el esmalte, traspasa este tejido a dos velocidades de propagación, es decir se da la birrefringencia. Los dos rayos refractados vibran en distintos planos dentro del esmalte, los cuales son captados y combinados por el filtro analizador del MOLP.

Cabe destacar que esta técnica es sensible, es decir, da una birrefringencia positiva, cuando el nivel de desmineralización alcanza al menos el 50%.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el patrón y la profundidad de desmineralización observada tras la aplicación de peróxido de hidrógeno al 35% durante 60 minutos en presentación gel y líquida, y en dientes sin tratamiento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar patrones de desmineralización.
- Comparar la profundidad de desmineralización que produce el peróxido de hidrógeno al 35% gel versus el peróxido de hidrógeno al 35% líquido.
- Comparar la profundidad de desmineralización que produce el peróxido de hidrógeno al 35% por 60 minutos en la estructura dentaria en presentación gel y en dientes no tratados.

HIPÓTESIS

La profundidad de desmineralización en dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% gel por 60 minutos es significativamente mayor a la observada en dientes no tratados.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El diseño de investigación de este estudio es experimental comparativo *in vitro*. Se definen tres grupos; uno de control no intervenido y dos grupos experimentales, a uno se le aplicará peróxido de hidrógeno al 35% gel y al otro peróxido de hidrógeno al 35% líquido, ambos por 60 minutos.

Los dientes no intervenidos servirán como control negativo. El grupo experimental 1 serán aquellos dientes tratados peróxido de hidrógeno líquido al 35% y el grupo experimental 2 a lo que se les aplicará peróxido de hidrógeno en gel al 35%. Se muestra definición de grupos en tabla II.

Según el Sistema de Clasificación de Investigación en Salud, de la UK Clinical Research Collaboration, el estudio se clasifica dentro del grupo 5, subgrupo 8. Este se refiere al descubrimiento y desarrollo de enfoques complementarios para terapias médicas convencionales, en el caso de la presente investigación, en sistemas de modelos.

Grupo	Número de muestras	Tipo de intervención
Grupo control	400	No intervenidos.
Grupo experimental 1	400	Clareamiento mediante peróxido de hidrógeno líquido al 35%.
Grupo experimental 2	400	Clareamiento con peróxido de hidrógeno al 35% en gel.

Tabla II. Definición de grupos de estudio.

MARCO ESPACIO-TEMPORAL

En una primera instancia se aplicó el protocolo experimental en el preclínico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso.

Para su análisis, las muestras fueron transportadas en cajas plásticas rotuladas a Santiago, donde el Dr. Alejandro Oyarzún (Cirujano Dentista, Magíster en Ciencias Biológicas Mención Morfología) procedió al estudio de ellas bajo microscopio óptico con ayuda de luz polarizada en las dependencias de la Universidad Finis Terrae.

Finalmente, las muestras y los datos resultantes del análisis fueron transportados a la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso.

SUJETOS

Para la selección dentaria se siguieron los criterios de inclusión y exclusión, descritas en la tabla III.

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
Premolares humanos erupcionados y sanos extraídos por indicación de ortodoncia a pacientes entre 15 y 25 años.	Presencia de: • Alteraciones de color. • Fractura coronaria. • Hipoplasia. • Fluorosis (en cualquier grado). • Restauraciones. • Caries. • Erosión y/o abrasión de esmalte. • Tratamiento clareador previo.

Tabla III. Criterios de inclusión y exclusión.

ASIGNACIÓN

Se recolectaron 30 dientes sanos extraídos por indicación ortodóncica, los cuales se asignaron por aleatorización simple en los 3 grupos de estudio. La distribución se explica posteriormente en el diagrama de flujo (Figura IX).

DIAGRAMA DE FLUJO

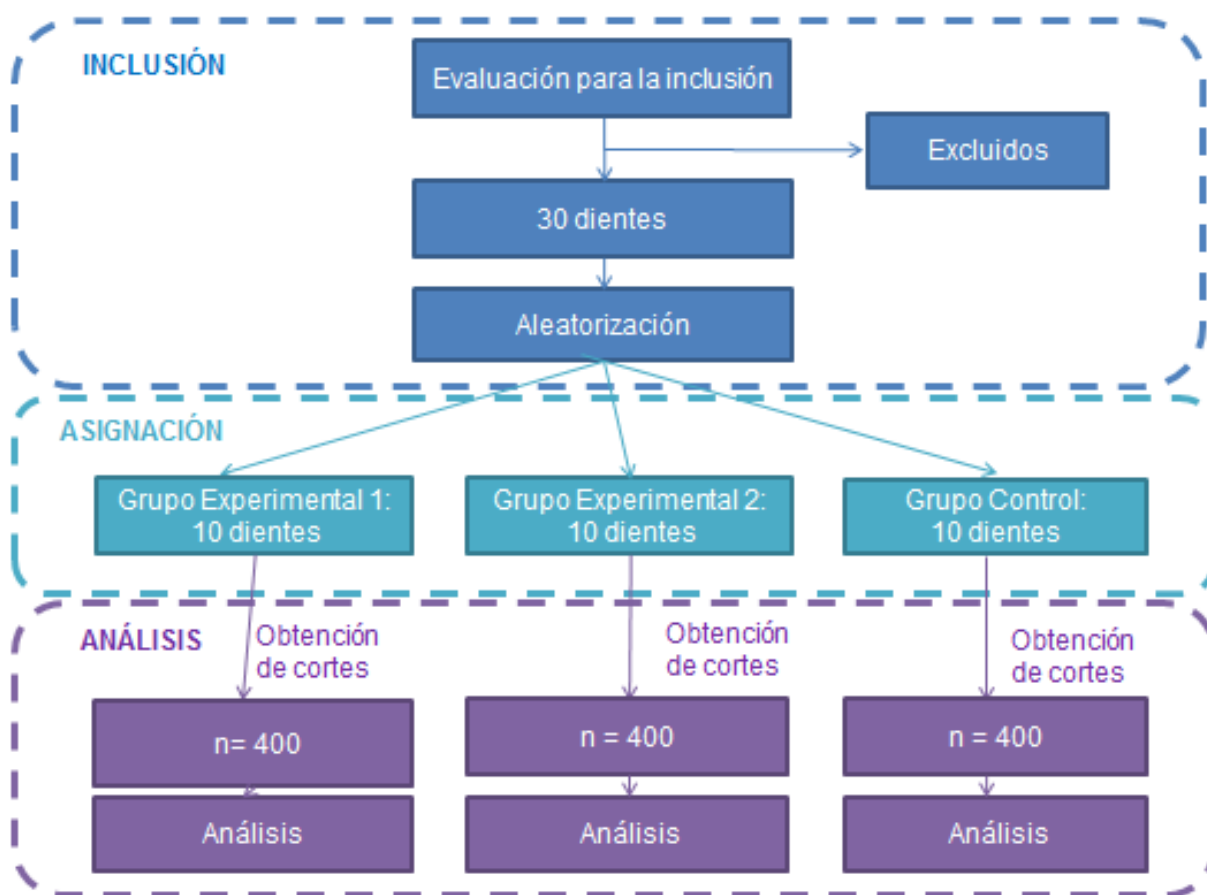


Figura IX. Diagrama de flujo de distribución de las muestras.

DEFINICIONES OPERACIONALES

- Tratamiento con peróxido de hidrógeno al 35% en gel: inmersión del diente en 4 ml de agente clareador por 60 minutos a 37° Celsius.
- Tratamiento con peróxido de hidrógeno al 35% líquido: inmersión del diente en 4 ml de agente clareador por 60 minutos a 37° Celsius.
- No tratado: diente sano extraído por indicación de ortodoncia.
- Profundidad de desmineralización: medida en micrómetros desde la superficie externa del diente hasta donde se observa birrefringencia positiva.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

Las variables se muestran a continuación (Tabla IV).

Nombre de la Variable	Variable dependiente / independiente	Escala	Tipo de Variable
Profundidad de desmineralización a 5X	Dependiente	Micrómetros	Cuantitativa continua
Profundidad de desmineralización a 10X	Dependiente	Micrómetros	Cuantitativa continua

Tabla IV. Definición de variables.

DEFINICIÓN DE HIPÓTESIS DE TRABAJO

Debido a que se comparó el grupo experimental 2 de forma independiente con el grupo control y el grupo experimental 1 es que fue necesario crear dos problemas de investigación para la formulación de las hipótesis nulas y de trabajo.

Problema de investigación 1: La profundidad de desmineralización del grupo experimental 2 es mayor a la del grupo control.

H₀: Profundidad Grupo Experimental 2 ≤ Profundidad Grupo Control

H₁: Profundidad Grupo Experimental 2 > Profundidad Grupo Control

Problema de investigación 2: La profundidad de desmineralización del grupo experimental 2 es menor a la del grupo experimental 1.

H₀: Profundidad Grupo Experimental 2 ≥ Profundidad Grupo Experimental 1

H₁: Profundidad Grupo Experimental 2 < Profundidad Grupo Experimental 1

INTERVENCIÓN

Se recolectaron 30 premolares humanos erupcionados y sanos extraídos por indicación de ortodoncia a pacientes entre 15 y 25 años. Éstos fueron almacenados inmediatamente post extracción en frascos plásticos translúcidos con tapa rosca identificados con un logo autoadhesivo de desecho biológico, inflamable y tóxico. En un costado se identificó el diente, la fecha de extracción y la edad del paciente (ver Figura X).



Figura X. Frasco plástico para recolección y almacenamiento de muestras.

Para preservar los dientes se utilizó buffer fosfato salino el cual tiene las propiedades de ser una solución de pH neutro, isotónica, que no altera la estructura dentaria. Además, la solución contiene azida de sodio al 0,1% para evitar el crecimiento de microorganismos.

Luego, en el preclínico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso se eliminaron los restos orgánicos presentes en las superficies dentarias con una escobilla de profilaxis de copa blanda con agua potable y se aplicó el peróxido de hidrógeno al 35% en líquido y gel según el grupo experimental que corresponda. Para estandarizar el volumen de agente clareador, se dispensó 4 ml por cada recipiente plástico de 10 ml, donde luego se introdujo un solo diente por cada uno de éstos (Figura XI).

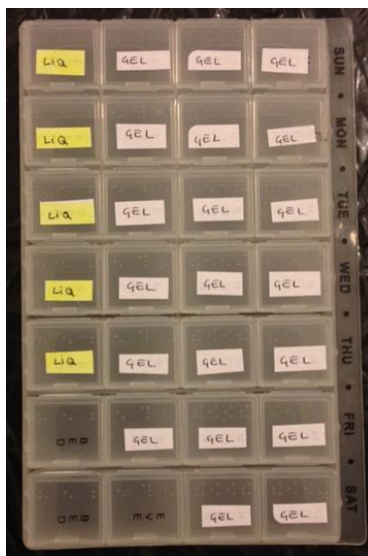


Figura XI. Recipiente plástico rotulado empleado para experimentación.

Para estandarizar la temperatura, primero se colocó el recipiente con el agente clareador en un horno (Figura XII) a 37° Celsius por una hora, y luego se introdujeron los dientes en éstos por una hora más.



Figura XII. Horno Cultura Vivadent.

Una vez finalizado este tiempo, el diente se lavó bajo un chorro de agua potable por 5 minutos, cuidando manipularlo solo de la raíz. Por último fueron dispuestos sobre una servilleta clínica para que los dientes se secan a temperatura ambiente.

Para su análisis, las muestras fueron transportadas en cajas plásticas rotuladas a Santiago, donde el Dr. Alejandro Oyarzún (Cirujano Dentista, Magíster en Ciencias Biológicas Mención Morfología) en las dependencias de la Universidad Finis Terrae procedió al estudio de ellas. Allí, se realizó en una primera instancia el corte

coronario de los dientes mediante el uso de un micrótopo Isomet 1000® (Figura XIII).



Figura XIII. Micrótopo Isomet 1000®.

Luego se montaron en un porta objetos a través del uso de resina para montaje de técnicas de microscopio Eukitt®, como se observa en la figura XIV.

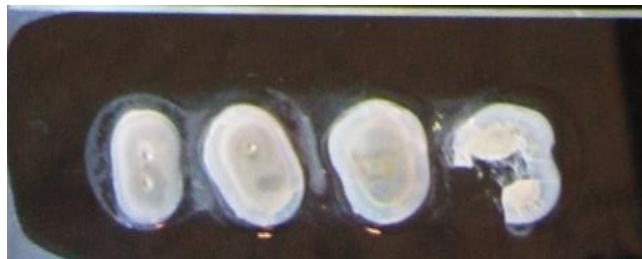


Figura XIV. Resina para montaje de técnicas de microscopio Eukitt®.

Finalmente para obtener los cortes histológicos, se empleó un disco de diamante, el cual se presenta en la figura XV, a continuación.

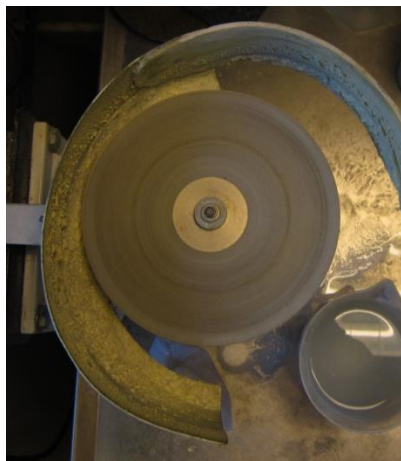


Figura XV. Disco de diamante.

Estos cortes fueron observados posteriormente bajo el microscopio óptico Axiostar Plus-ZEISS® (Figura XVI) y uso de luz polarizada, previa inmersión en agua destilada, donde se observarán con aumento de 5x y 10x.



Figura XVI. Microscopio óptico Axiostar Plus-ZEISS®.

Se obtuvieron así las muestras antes señaladas las que se fotografiaron digitalmente, a través del software QCapture Pro®. Por último se midió la profundidad de birrefringencia positiva en micrómetros a través del software AxioVision SE 64® (Figura XVII).

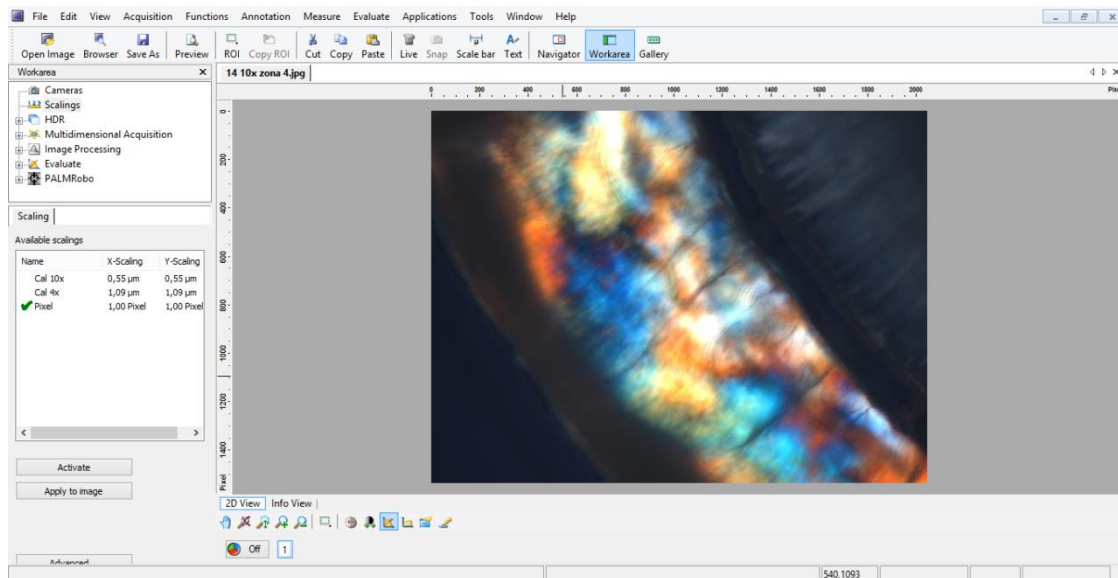


Figura XVII. Software AxioVision SE 64®.

PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN

Instrumentos de medición: las fotografías fueron analizadas con el programa computacional Axiovision Microscopy Software-Carl Zeiss®, el que incorpora una escala de medición que permite determinar cuántos micrómetros mide realmente una porción seleccionada de la fotografía, calibrándose según el aumento con el que se haya trabajado (5x o 10x).

Escala de Medición: micrómetros medidos desde la superficie dentaria hasta donde se determine que existan cambios en la birrefringencia.

Precisión: otorgada por el mismo programa computacional, el que incorpora una escala de medición certificada, que convierte una porción seleccionada de la fotografía a micrómetros.

CALIBRACIÓN DE OPERADORES

La medición de las variables en este caso no requiere calibración ya que fueron realizadas por un operador único, el Dr. Alejandro Oyarzún; Cirujano Dentista, Magíster en Ciencias Biológicas Mención Morfología.

POBLACIÓN Y MUESTREO

No se cuenta con población objetivo o universo ya que al tratarse de un estudio *in vitro*, no puede realizarse inferencia estadística.

La asignación de las muestras a los diferentes grupos de estudio, tras ser seleccionadas según los criterios de inclusión y exclusión, se realizó a través de aleatorización simple.

TAMAÑO MUESTRAL

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó el método de muestreo de poblaciones infinitas (Figura XVIII).

$$n = \frac{z_{\alpha/2}^2}{4E^2}$$

Figura XVIII. Método de muestreo de poblaciones infinitas (fórmula).

Donde:

- n es el número de sujetos necesarios en cada una de las muestras;
- z es la desviación estándar, cuyo valor para el nivel de error $\alpha/2$ es 1,96;
- E es el error de muestreo permitido correspondiente a 0,05.

$$n = \frac{3,8416}{0,01} = 384,16$$

Dado que n corresponde a 384,16; y el número de datos a recopilar por diente es de 40, el n se redondeó a 400, distribuyendo 10 dientes por grupo.

CONSIDERACIONES BIOÉTICAS

En este estudio no aplican las consideraciones bioéticas.

Al tratarse de desechos biológicos no identificables se hace relevante la bioseguridad de los operadores. Se utilizaron métodos de barrera para la manipulación de éstos. Cada operador contó con: guantes de látex, delantal, mascarilla, lentes de protección y gorro, además de pinzas para manipular los dientes.

Las muestras se almacenaron en envases plásticos rotulados con la simbología de desecho biológico, tóxico e inflamable, con tapa rosca. Estos envases se mantuvieron en cajas plásticas transparentes con tapa. Durante la aplicación del protocolo, se contó con bandejas plásticas de flanco alto para ubicar las muestras.

Los procedimientos fueron llevados a cabo en el preclínico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Valparaíso.

Los riesgos a los cuales se exponen los operadores son: corte con el disco durante la preparación de las muestras e irritación tisular por contacto con agentes clareadores.

Los costos asociados al estudio fueron cubiertos por sus integrantes.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS A UTILIZAR

Para determinar el comportamiento de los grupos estudios a 5X y 10X se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (prueba K-S) y se compraron con la curva normal o gaussiana. Con este procedimiento se evidencia si las variables deben ser analizadas bajo pruebas estadísticas paramétricas o no paramétricas.

Dado que esta prueba resultó rechazada en los tres grupos de estudio, es decir, no hay homogeneidad de varianza, se determinó que el comportamiento es no paramétrico y por lo tanto se aplicó para la comparación de las variables la prueba U de Mann Whitney. Esta prueba se aplica a muestras independientes y se usa para comprobar la heterogeneidad de dos muestras ordinales o continuas.

RESULTADOS

RESULTADOS DESCRIPTIVOS

Patrón de desmineralización

La desmineralización producida por la acción del peróxido de hidrógeno al 35% muestra un patrón en banda y homogéneo a través de la superficie dentaria. Esto se observa independiente a la presentación comercial del agente clareador. La banda de birrefringencia positiva presentó un espesor variable según la zona dentaria de donde se extrajo la muestra y según el diente en cuestión. Su límite interno se mostró difuso pero siempre dentro del tejido adamantino (Figuras XIX y XX).

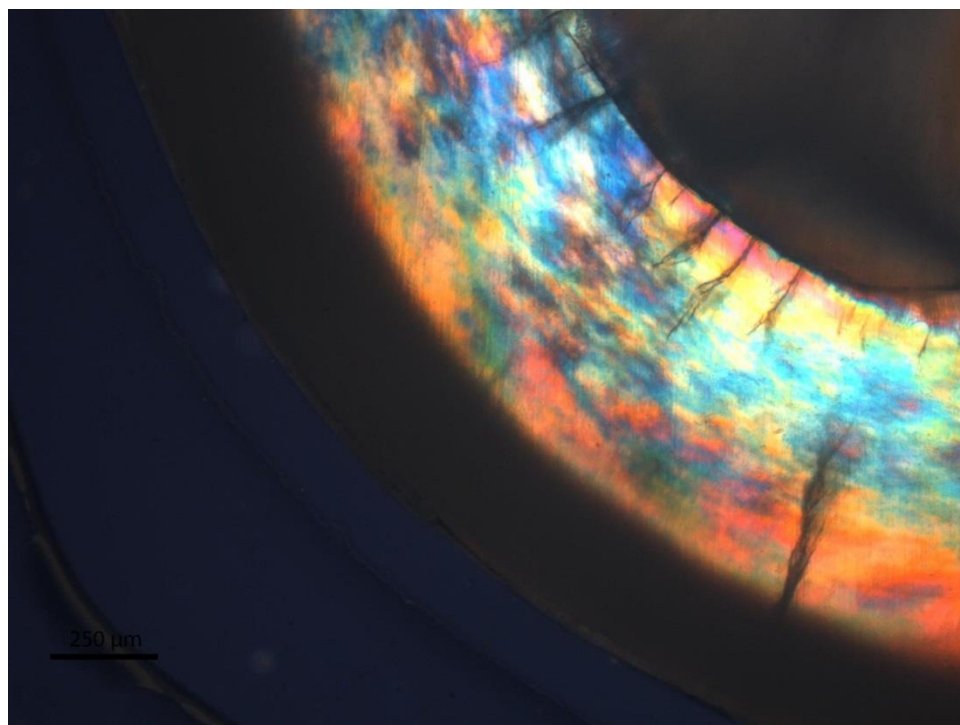


Figura XIX. Muestra N° 7.5X.3. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% gel.

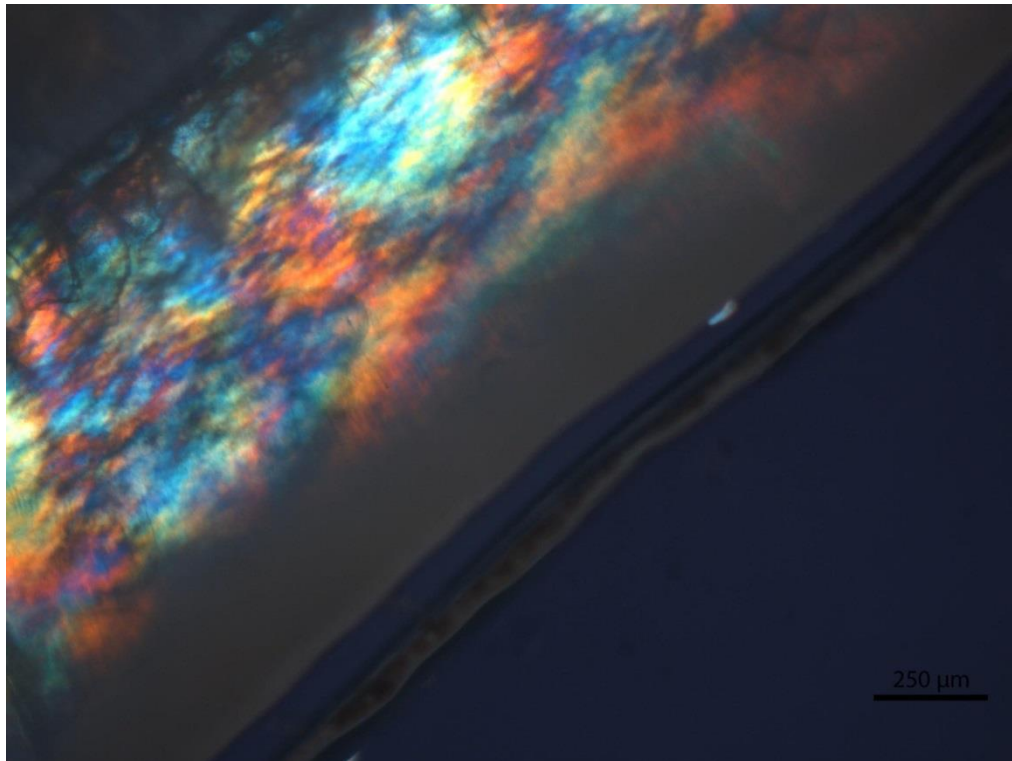


Figura XX. Muestra N° B.5X.4. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% líquido.

En las muestras no tratadas pudieron observarse ocasionalmente patrones en banda similares a aquellos producidos en los grupos experimentales sin embargo su magnitud fue notoriamente menor (Figuras XXI y XXII).

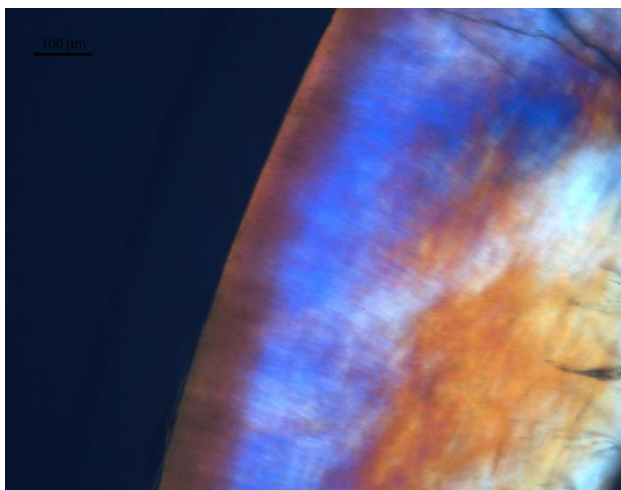


Figura XXI. Muestra N° II.10X.5. Sin tratamiento.

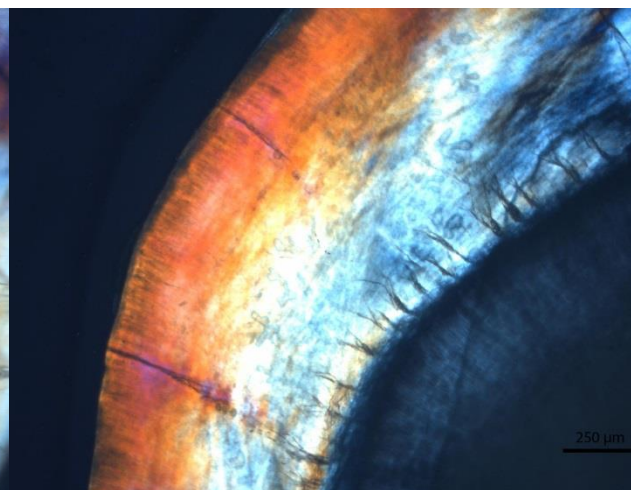


Figura XXII. Muestra N° VIII.5X.7. Sin tratamiento.

Cabe destacar, que en un número reducido de muestras se detectó la presencia de zonas hipermineralizadas superficiales con birrefringencia negativa, las

cuales influyeron en la profundidad alcanzada por el agente clareador en el esmalte subyacente. En la microfotografía se presentan como bandas blancas, de tamaño reducido y de límites difusos. La birrefringencia positiva generada en el esmalte subyacente a esta región hipermineralizada alcanza una menor profundidad (Figuras XXIII y XXIV).

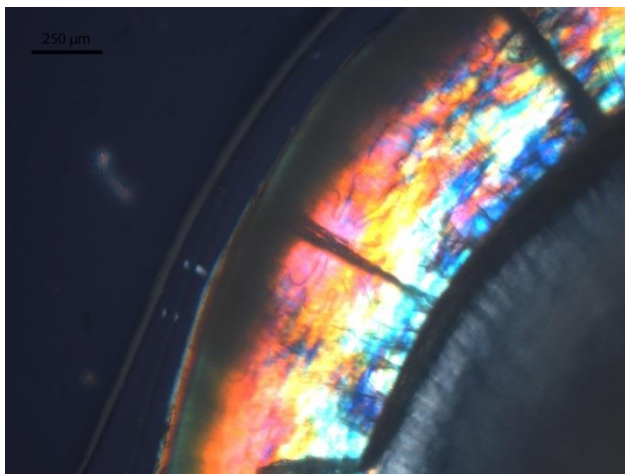


Figura XXIII. Muestra N° 3.5X.3 Tratado con peróxido de hidrógeno 35% gel. Se observa zona hipermineralizada.

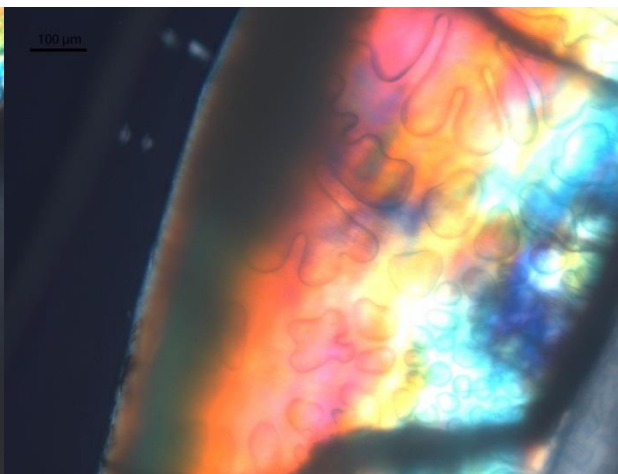


Figura XXIV. Muestra N° 3.10X.3 Tratado con peróxido de hidrógeno 35% gel. Se observa zona hipermineralizada.

RESULTADOS ESTADÍSTICOS DESCRIPTIVOS

Como se mencionó anteriormente, primero se determinó si los datos se encontraban dentro del comportamiento normal. Se utilizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. A continuación, se muestran los resultados por grupo de estudio con cada uno de los aumentos, 5X y 10X respectivamente.

Grupo control con aumento 5X

DISTRIBUCIÓN DEL GRUPO CONTROL CON AUMENTO 5X

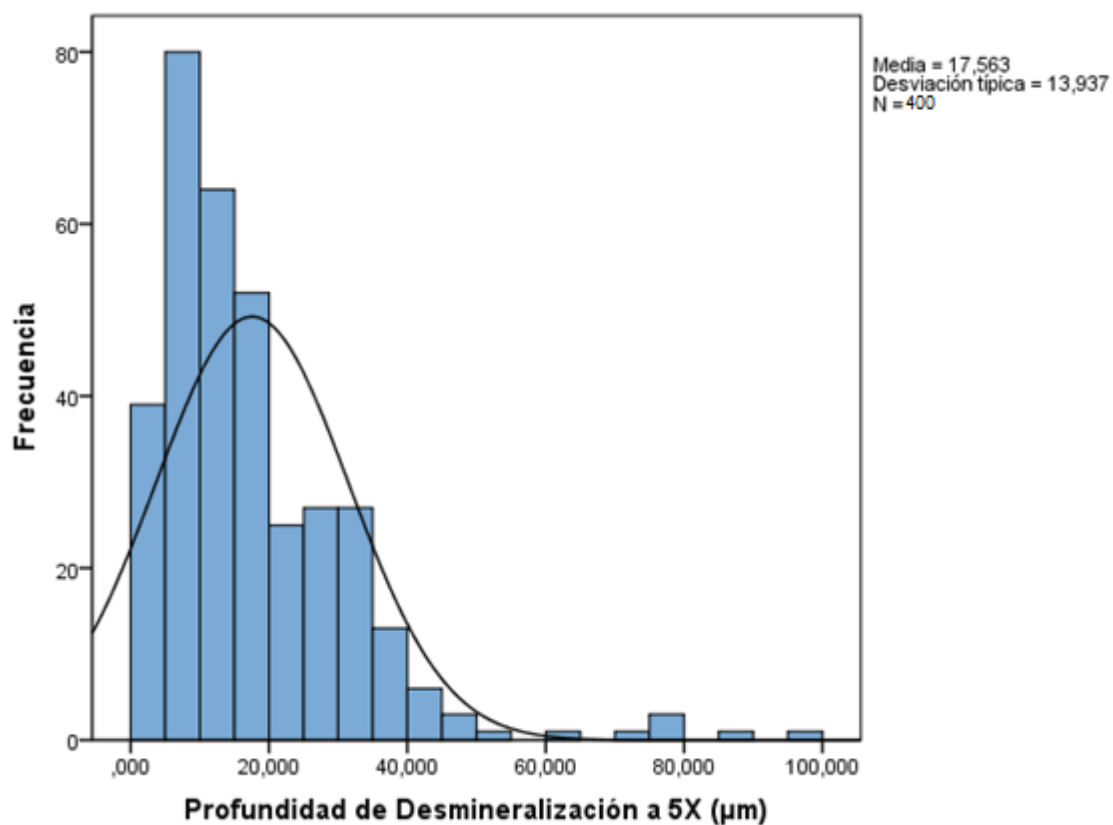


Figura XXV. Distribución del grupo control con aumento 5X.

En el gráfico (Figura XXV) se observa que la distribución es asimétrica positiva, es decir la mayoría de los datos de profundidad de desmineralización, se encuentran en los valores bajos de la distribución. Además, aplicando la prueba K-S a esta muestra se obtiene un valor de significancia de 0,00, por lo que queda rechazada, Por tanto los datos no se ajustan a una curva gaussiana.

Grupo experimental 1 con aumento 5X

DISTRIBUCIÓN DEL GRUPO EXPERIMENTAL 1 CON AUMENTO 5X

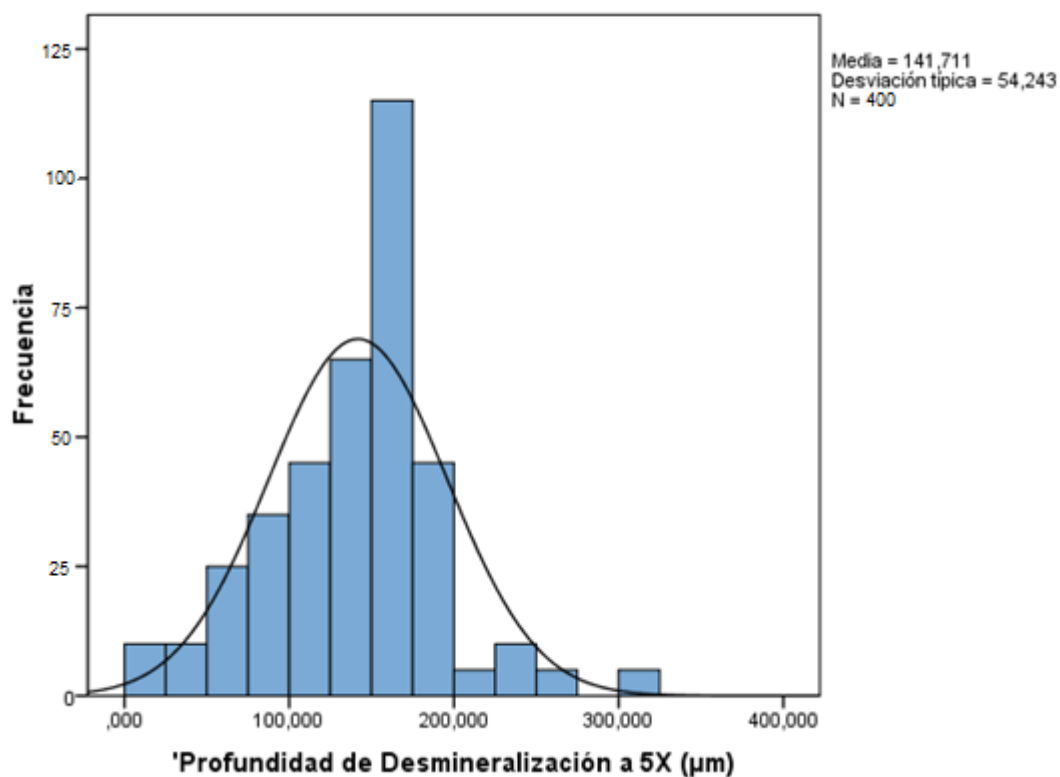


Figura XXVI. Distribución del grupo experimental 1 con aumento 5X.

En el gráfico (Figura XXVI) se observa que la distribución es asimétrica negativa, es decir las profundidades de birrefringencia positiva medidas se concentran en los valores bajos de la distribución. Además, aplicando la prueba K-S a esta muestra se obtiene un valor de significancia de 0,02, por lo que ésta queda rechazada. Por tanto los datos no se ajustan a una curva gaussiana.

Grupo Experimental 2 con aumento 5X

DISTRIBUCIÓN DEL GRUPO EXPERIMENTAL 2 CON AUMENTO 5X

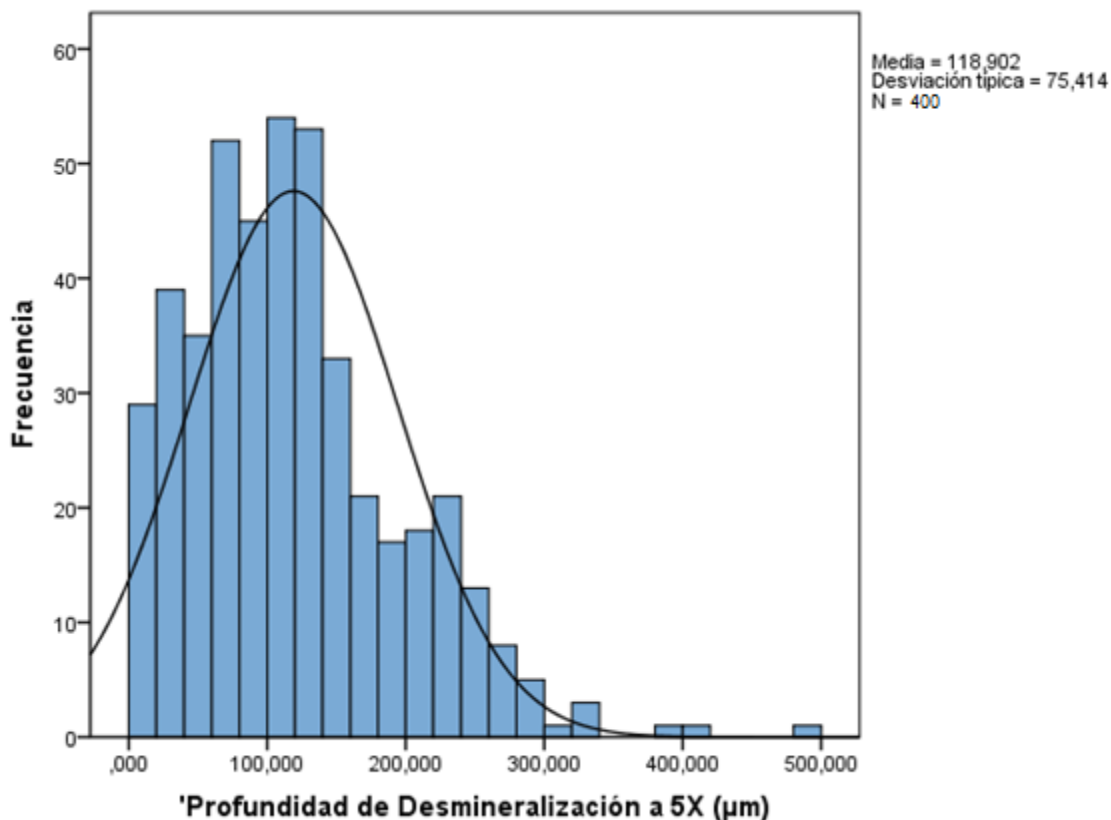


Figura XXVII. Distribución del grupo experimental 2 con aumento 5X.

En el gráfico (Figura XXVII) se observa que la distribución, al igual que en los otros casos, es asimétrica positiva mostrándose las profundidades de desmineralización en su mayoría dentro de los valores bajos de la distribución. Además, aplicando la prueba K-S a esta muestra se obtiene un valor de significancia de 0,00, es decir, queda rechazada. Por tanto, los datos no se ajustan a una curva gaussiana.

A continuación, en la tabla V se detallan los resultados estadísticos obtenidos para cada grupo de estudio con aumento 5X:

GRUPO	MEDIA	I.C. MEDIA 95%	MEDIANA	DESV. ESTÁNDAR	MÍN	MÁX	COEF. VAR.
Control	17,56	16,09 a 19,04	13,98	13,94	1,09	97,28	0,794
Experimental 1	141,7	129,2 a 154,2	147,6	54,24	4,35	313,61	0,384
Experimental 2	118,9	111,9 a 125,9	109,7	75,4	3,92	488,46	0,634

Tabla V. Parámetros estadísticos obtenidos con aumento 5X para cada grupo.

Se observa que la media de las profundidades de desmineralización obtenidas en el grupo control es de 17,56 con una variabilidad de 13,94. Además, se estima que con un intervalo de confianza del 95% la profundidad de birrefringencia positiva media está entre 16,09 y 19,04. Por otra parte, el 50% de los valores de profundidad obtenidos fueron de 13,96. Cabe destacar que en este grupo todos los parámetros estadísticos poseen valores más bajos que en los grupos experimentales 1 y 2.

En el grupo experimental 1 (muestras tratadas con peróxido de hidrógeno al 35% líquido) la profundidad de desmineralización media es de 141,7 con una variabilidad de 54,24. Además, se estima con un intervalo de confianza del 95% que la profundidad de birrefringencia positiva media está entre 129,2 y 154,2. Por otra parte, el 50% de las profundidades de desmineralización obtenidas, es decir, la mediana es de 147,6. Además, este grupo es el que presenta menos variación comparando los tres distintos grupos (0,384) y presenta los valores estadísticos más altos en comparación a los otros dos grupos de estudio.

Por último, en el grupo experimental 2 (muestras tratadas con peróxido de hidrógeno al 35% gel), se observa que la profundidad de desmineralización media es de 118,9 con una variabilidad de 75,4. Esto demuestra que los valores promedios de este grupo se encuentran muy por sobre el grupo control pero levemente por debajo del grupo experimental 1. Además, se estima con un intervalo de confianza del 95% que la profundidad de desmineralización media está entre 111,9 y 125,9. Por otro lado, la mediana es de 109,7.

Grupo control con aumento 10X

DISTRIBUCIÓN DEL GRUPO CONTROL CON AUMENTO 10X

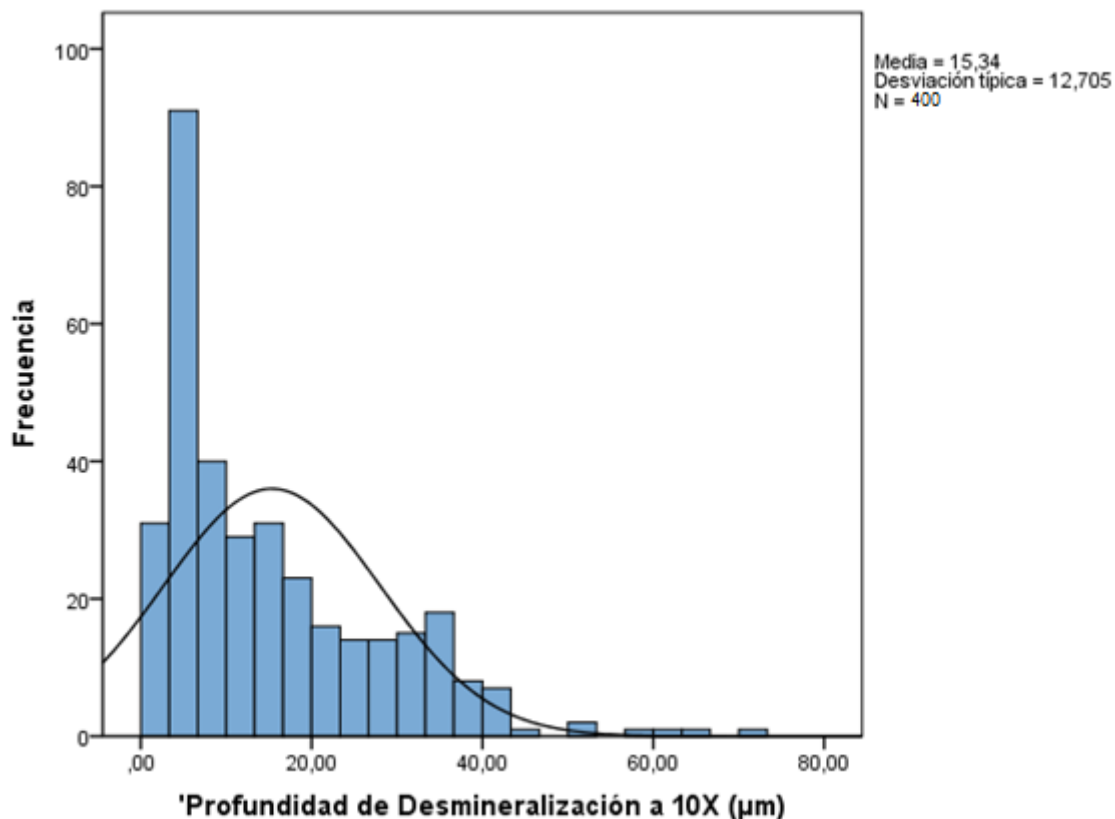


Figura XXVIII. Distribución del grupo control con aumento 10X.

En el gráfico (Figura XXVIII), se observa que la distribución es asimétrica positiva, es decir la mayoría de los datos de profundidad de desmineralización se encuentran en los valores bajos de la distribución. Además, aplicando la prueba K-S a esta muestra se obtiene un valor de significancia de 0,00, quedando rechazada. Por tanto, los datos no se ajustan a una curva gaussiana.

Grupo experimental 1 con aumento de 10X

DISTRIBUCIÓN DEL GRUPO EXPERIMENTAL 1 CON AUMENTO 10X

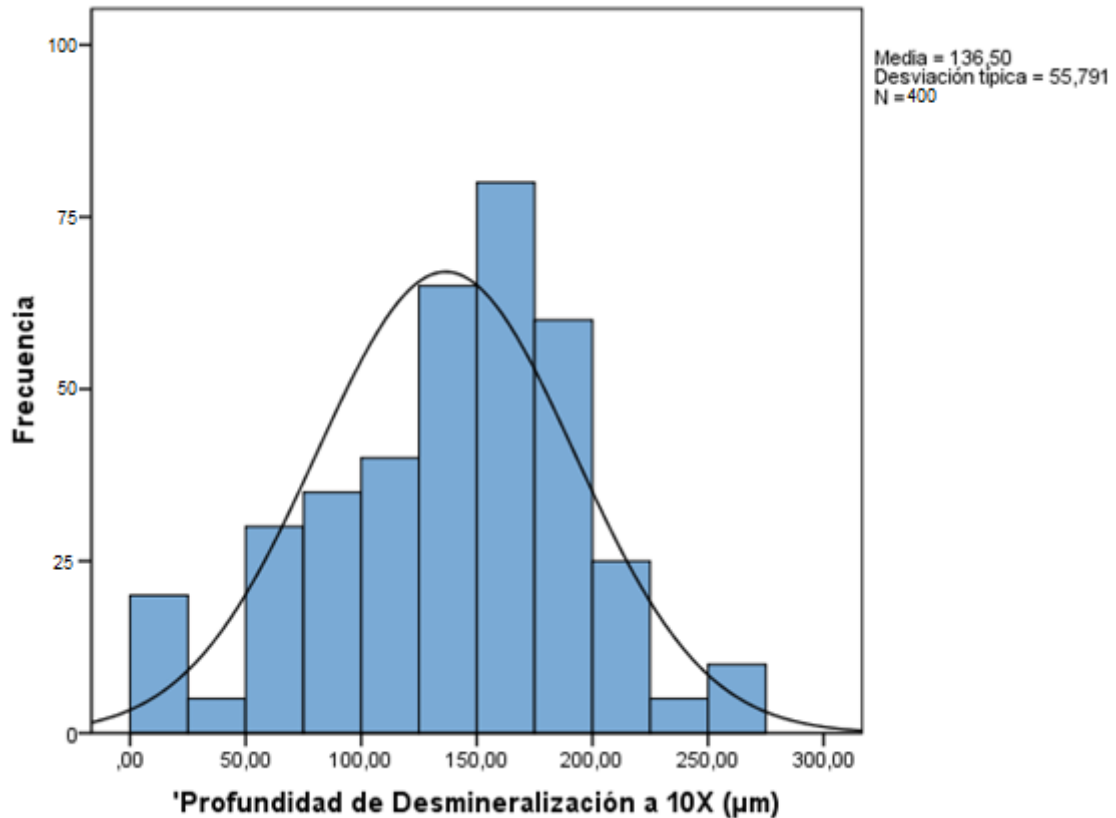


Figura XXIX. Distribución de grupo experimental 1 con aumento de 10x.

En el gráfico (Figura XXIX), se observa que la distribución de los datos obtenidos al calcular la profundidad de desmineralización es asimétrica negativa, sin embargo, no cumple con los requisitos de una curva gaussiana debido a que en la prueba K-S se obtiene un valor de 0,059, por lo que queda rechazada.

Distribución del Grupo Experimental 2 10X

DISTRIBUCIÓN DEL GRUPO EXPERIMENTAL 2 CON AUMENTO 10X

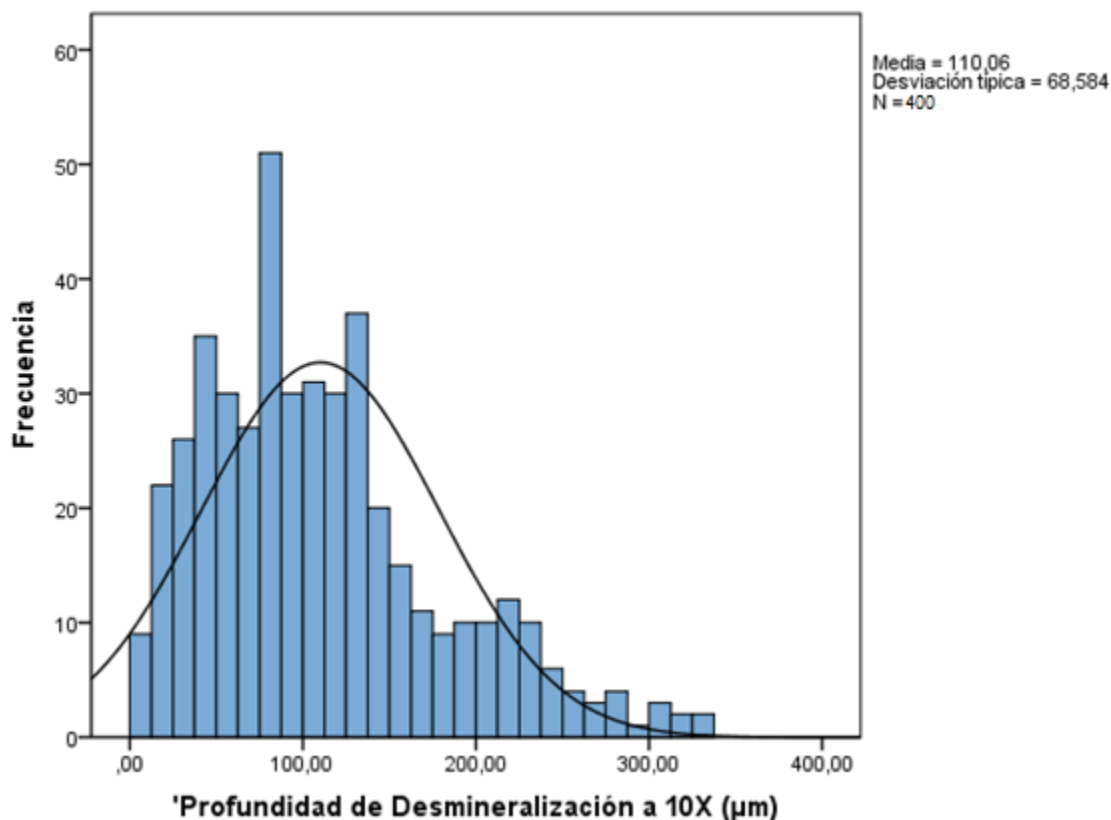


Figura XXX. Distribución del grupo experimental 2 con aumento 10X.

En el gráfico (Figura XXX), se observa que la distribución es asimétrica positiva, es decir la mayoría de los datos de profundidad de desmineralización se encuentran en los valores bajos de la distribución. Además, aplicando la prueba K-S a esta muestra se obtiene un valor de significancia de 0,00, es decir, queda rechazada. Por tanto, los datos no se ajustan a una curva gaussiana.

A continuación, en la tabla VI se detallan los resultados estadísticos obtenidos para cada grupo de estudio con aumento 10X:

GRUPO	MEDIA	I.C. MEDIA 95%	MEDIANA	DESV. ESTÁNDAR	MIN	MÁX	COEF VAR.
Control	15,34	13,99 a 16,69	11,4	12,70	0,55	73,08	0,828
Experiment al 1	136,5	123,7 a 149,3	145,0	55,79	3,3	252,02	0,409
Experiment al 2	110,06	103,7 a 116,4	97,29	68,58	3,2	331,89	0,623

Tabla VI. Parámetros estadísticos obtenidos con aumento 10X para cada grupo.

En la tabla se observa que la media de las profundidades de desmineralización obtenidas en el grupo control con aumento 10X es de 15,34 con una desviación estándar de 12,70. Asimismo, con un intervalo de confianza del 95% la profundidad de birrefringencia positiva media está entre 13,99 y 16,69. Por otra parte, el 50% de los valores de profundidad obtenidos fueron de 11,4. Cabe destacar que en este grupo todos los parámetros estadísticos poseen valores más bajos que en los grupos experimentales 1 y 2, al igual que lo observado con aumento 5X.

En el grupo experimental 1 (muestras tratadas con peróxido de hidrógeno al 35% líquido) la profundidad de desmineralización promedio es de 136,5 con una variabilidad de 54,24. Además, se estima con un intervalo de confianza del 95% que la media está entre 123,7 y 149,3. Por otra parte, la mediana es de 145,0. Además, este grupo es el que presenta menos variación comparando los tres distintos grupos (0,384) y presenta los valores estadísticos más altos en comparación a los otros dos grupos de estudio. En comparación a los valores obtenidos para el mismo grupo pero con aumento 5X, el comportamiento es similar pero se muestran valores mas bajos.

Por último, en el grupo experimental 2 (muestras tratadas con peróxido de hidrógeno al 35% gel), se observa que la profundidad de desmineralización media es de 110,06 con una variabilidad de 68,58. Esto demuestra que los valores promedios se de este grupo se encuentran muy por sobre el grupo control pero levemente por debajo del grupo experimental 1, al igual que con el aumento 5X. Además, se estima con un intervalo de confianza del 95% que la profundidad de desmineralización media está entre 103,7 y 116,4. Por otro lado, la mediana es de 97,29.

RESULTADOS ESTADÍSTICOS COMPARATIVOS

Debido a que la distribución de los datos es asimétrica, se utilizaron pruebas no paramétricas como las de U Mann Whitney para realizar comparaciones entre los distintos grupos. El mejor estadístico para este caso corresponde a la mediana.

A continuación, se muestran los gráficos de cajas y bigotes donde se comparan los grupos de estudio con aumento 5X y 10X respectivamente.

Comparación entre grupos de estudio con aumento 5X

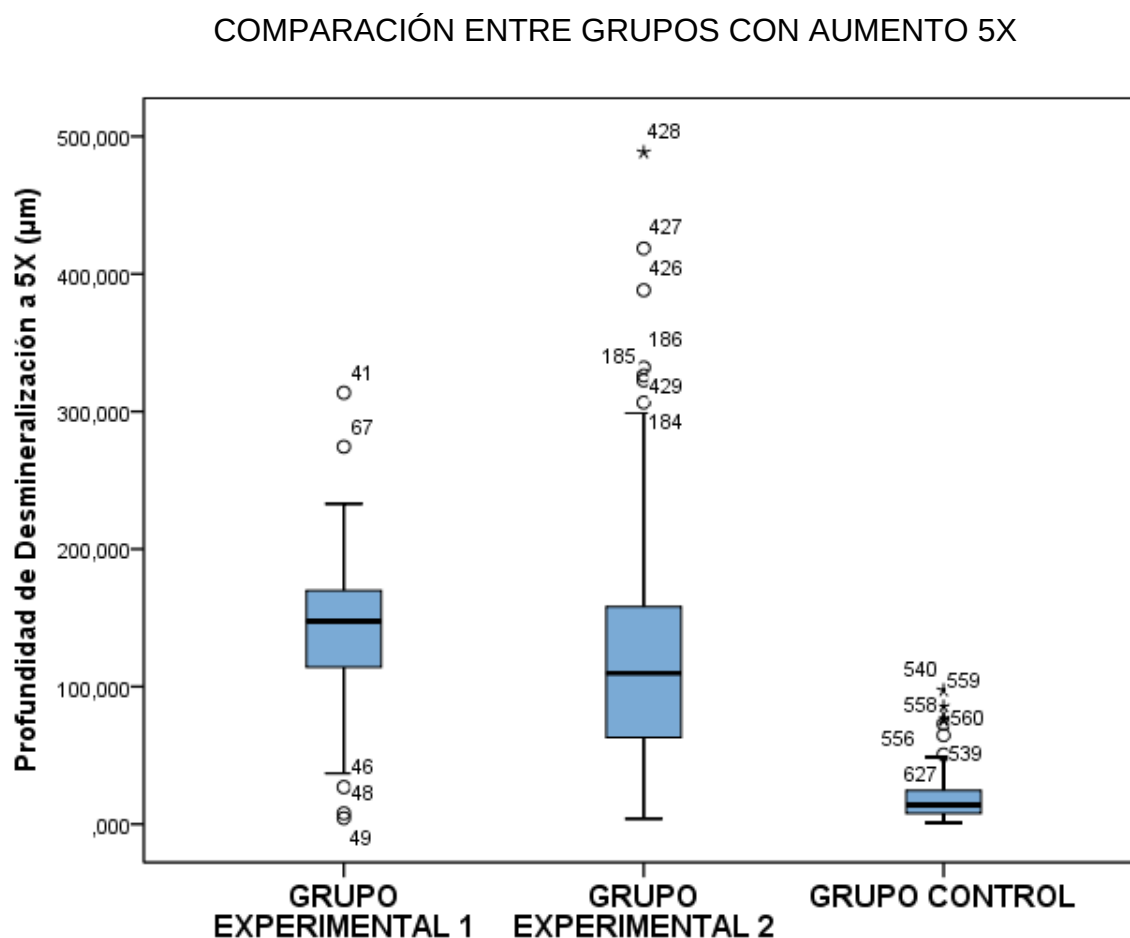


Figura XXXI. Comparación entre grupos con aumento 5X.

En el gráfico (Figura XXXI), se muestra que los valores de profundidad de desmineralización (expresados como una birrefringencia positiva) que se obtuvieron en el grupo experimental 2 (muestras tratados con peróxido de hidrógeno al 35% gel), son mayores a las obtenidos en el grupo control (muestras sin tratamiento), tanto en los parámetros estadísticos de mediana como en los percentiles 25 y 75. También, se ve que el valor máximo de profundidad de desmineralización del grupo experimental 2 es mayor al del grupo control. Sin embargo, los valores mínimos de ambos grupos son similares.

Por otra parte, se muestra que las profundidades de desmineralización obtenidas en el grupo experimental 2 son inferiores a las obtenidas en el grupo experimental 1 (muestras tratadas con peróxido de hidrógeno al 35% líquido), tanto en los parámetros estadísticos de mediana como en los percentiles 25 y 75. No obstante, el mínimo del grupo experimental 1 es mayor al mínimo del grupo experimental 2.

Para determinar la significancia estadística de las diferencias entre los distintos grupos, se aplicó la prueba de U Mann Whitney. Se estableció que los valores obtenidos en el grupo 2 son significativamente mayores a los recolectados en el grupo control. Por otro lado, el grupo 2, mostró profundidades de penetración estadísticamente inferiores a las encontradas en el grupo 3. A continuación se muestra una tabla resumen (Tabla VII).

Comparación entre grupos de estudio con aumento 10X

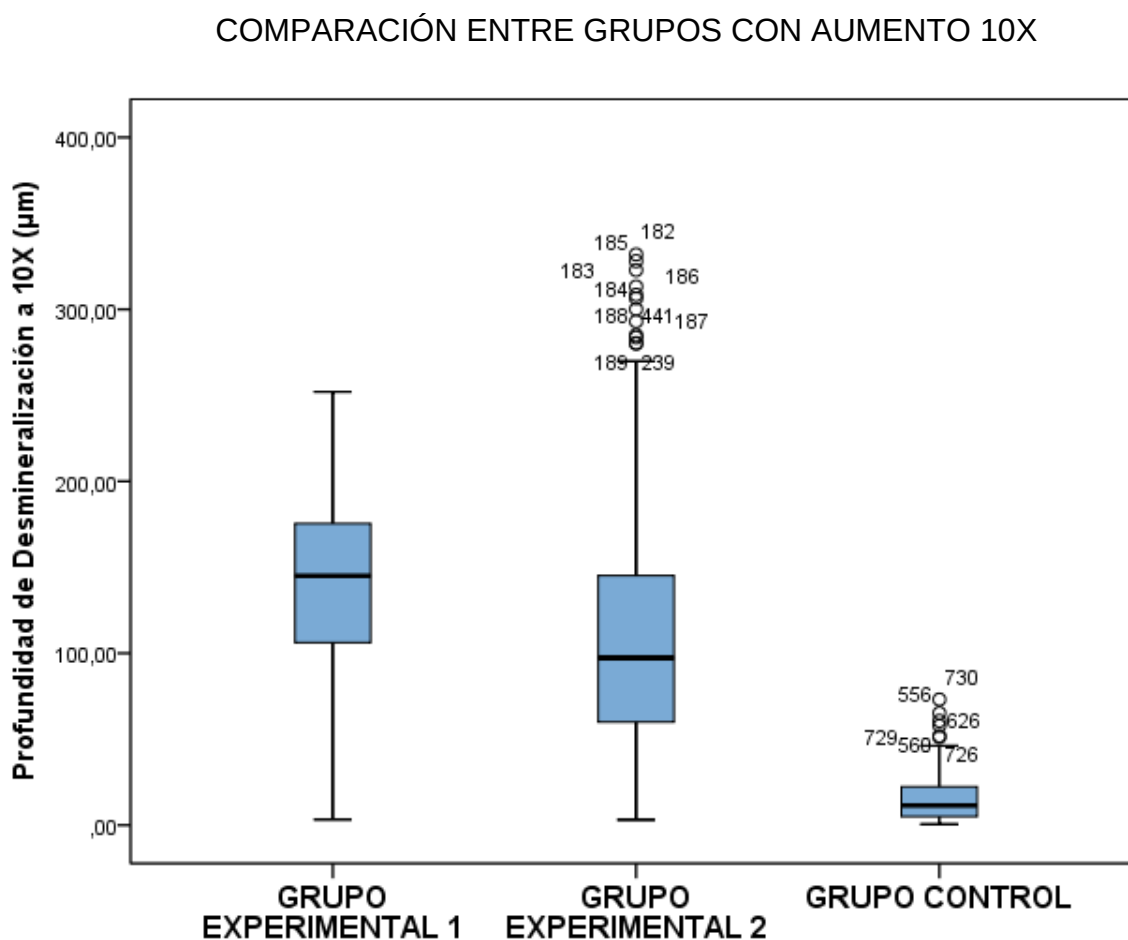


Figura XXXII. Comparación entre grupos con aumento 5X.

En el gráfico (Figura XXXII), se observa que los valores de profundidad de desmineralización (expresados como una birrefringencia positiva) que se obtuvieron en el grupo experimental 2 (muestras tratados con peróxido de hidrógeno al 35% gel), son mayores a las obtenidos en el grupo control (muestras sin tratamiento), tanto en los parámetros estadísticos de mediana, en los percentiles 25 y 75, y además en su mayor profundidad de desmineralización. A diferencia de los valores obtenidos con el aumento 5X los valores mínimos de los tres grupos son similares.

Por otra parte, se muestra que las profundidades de desmineralización obtenidas en el grupo experimental 2 son inferiores a las obtenidas en el grupo

experimental 1 (muestras tratadas con peróxido de hidrógeno al 35% líquido), tanto en los parámetros estadísticos de mediana como en los percentiles 25 y 75.

Para determinar la significancia estadística de las diferencias entre los distintos grupos, se aplicó la prueba de U Mann Whitney. Se estableció que los valores obtenidos en el grupo 2 son significativamente mayores a los recolectados en el grupo control. Por otro lado, el grupo 2, mostró profundidades de penetración estadísticamente inferiores a las encontradas en el grupo 3. A continuación se muestra una tabla resumen (Tabla VII).

PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA

Para el cálculo de la significancia estadística de los resultados obtenidos según cada uno de los problemas de investigación se empleó la prueba de U Mann-Whitney. A continuación se desarrolla la regla de decisión de las hipótesis de trabajo según los datos expuestos en la Tabla VII.

	COMPARACIONES	U - MANN WHITNEY	PROB. DE SIGNIFICACIÓN	DECISIÓN
5X	Grupo experimental 2 y grupo control	7968,5	0,000	El grupo experimental 2 es significativamente mayor que el grupo control
	Grupos experimentales 1 y 2	12320,5	0,000	El grupo experimental 1 es significativamente mayor que el grupo experimental 2
10X	Grupo experimental 2 y grupo control	6532,5	0,000	El grupo experimental 2 es significativamente mayor que el grupo control.
	Grupo experimental 1 y 2	11782,0	0,000	El grupo experimental 1 es significativamente mayor que el grupo experimental 2

Tabla VII. Comparación entre grupos de estudio con aumento 5X y 10X.

Problema de investigación 1: La profundidad de desmineralización del grupo experimental 2 es mayor a la del grupo control.

Al ser la probabilidad de significación menor a 0,05 se rechaza la hipótesis nula, aceptando por ende la hipótesis alternativa.

H₀: Profundidad Grupo Experimental 2 $\leq$ Profundidad Grupo Control

H₁: Profundidad Grupo Experimental 2 $>$ Profundidad Grupo Control

Problema de investigación 2: La profundidad de desmineralización del grupo experimental 2 es menor a la del grupo experimental 1.

Al ser la probabilidad de significación menor a 0,05 se rechaza la hipótesis nula, aceptando por ende la hipótesis alternativa.

H₀: Profundidad Grupo Experimental 2 $\geq$ Profundidad Grupo Experimental 1

H₁: Profundidad Grupo Experimental 2 $<$ Profundidad Grupo Experimental 1

En resumen, se observa una mayor profundidad de desmineralización en los dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% en presentación líquida, luego en gel, y finalmente la menor profundidad se midió en los dientes no tratados.

DISCUSIÓN

Actualmente, existe una amplia gama de investigaciones con distintas metodologías que estudian los múltiples efectos producidos por los agentes clareadores sobre la estructura dentaria, siendo sus resultados de gran controversia.

Uno de los principales efectos observados es la desmineralización superficial y subsuperficial del esmalte. En el presente estudio, se encontraron diferentes grados de desmineralización la cual estuvo presente en todas las muestras, tanto en los grupos experimentales como en el grupo control. La presencia de una leve desmineralización en el grupo control se explica porque los dientes expuestos al medio bucal están en un proceso constante de desmineralización y remineralización el cual produce una capa externa mineralizada y una desmineralización subsuperficial, la que se percibe en las muestras (Baratieri et al., 2001)..

Estos resultados concuerdan con los observados en otros estudios tales como los de Miranda y Demarco (Miranda et al., 2005; Demarco et al., 2011). Por otro lado, Berga en un estudio *in vivo* a través de microscopía electrónica de scanner (SEM) no observó alteraciones estadísticamente significativas compatibles con pérdida de calcio y fósforo (Berga et al., 2007), por lo que se concluye que al ser un estudio *in vivo* la saliva juega un rol preponderante en la remineralización.

Además, la saliva cumple la función de formar la película salival o adquirida. Cabe destacar que previo a la intervención *in vivo* se realiza una profilaxis a las distintas muestras eliminándola. Ésta película disminuye la velocidad de transferencia de iones calcio y fósforo durante el tratamiento clareador y por ende al eliminarla aumenta la tasa de desmineralización dentaria. Cabe destacar, que en estos estudios como el de Cadenaro, una vez concluido el tratamiento, el tejido dentario entra nuevamente en contacto con la saliva permitiendo la remineralización superficial del esmalte (Cadenaro et al., 2008).

Debido a lo anterior, se destaca la importancia del medio de conservación de las muestras en los estudios *in vitro*, donde estudios como los de Fioranelli, utilizan saliva artificial como medio de conservación para aproximarse a las condiciones bucales (Fioranelli et al., 2008). Sin embargo, en esta investigación se utilizó un buffer fósforo como medio de conservación, ya que mantiene intacta la estructura dentaria y se buscó identificar los potenciales efectos del tratamiento clareador en ausencia de factores amortiguadores como la saliva y aditivos de la presentación comercial como los fluoruros.

En cuanto a la profundidad de desmineralización, observamos que ésta alcanza sólo el esmalte y parte de su espesor. Otros estudios como el de Gasic postulan que la desmineralización abarca más allá que la superficie adamantina, observando a través de SEM que la pérdida de minerales se extiende hasta el límite amelodentinario (Gasic et al., 2012).

Por su parte, Kwon utilizó un agente de similar peso molecular al peróxido de hidrógeno, rodamina, la cual logró penetrar fácilmente esmalte y dentina a través del espacio interprismático y los túbulos dentinarios (Kwon et al., 2012). Esto hace pensar que la capacidad de difusión del peróxido de hidrógeno es mayor a la que se logra estimar a través de microscopía óptica con luz polarizada, ya que la desmineralización que logramos observar es limitada puesto que se necesita de una pérdida de al menos 50% de minerales para ser detectable.

Otro aspecto relevante es el patrón de desmineralización, el cual al igual que en el estudio de Abaldini se evidenció como una banda homogénea a través del esmalte. Este autor concluye que la dinámica de difusión está determinada por la afinidad del agente clareador al tejido orgánico y ya que en el esmalte éste último es bajo, la interacción es mínima y por ende, su distribución es homogénea (Ubalini et al., 2013).

Para explicar las considerables diferencias de profundidad obtenidas dentro de cada muestra se deben considerar múltiples factores. Dentro de un mismo diente podemos encontrar zonas de hipo o hipermineralización lo que se traduciría en un aumento o disminución de la permeabilidad respectivamente. Otro factor a considerar es la ausencia de contacto entre el agente clareador y la superficie dentaria por barreras físicas o presencia de burbujas.

Considerando la alta variabilidad entre los distintos dientes, además de los factores mencionados anteriormente, es importante destacar la edad o tiempo que lleva el diente en boca en relación a los ciclos de desmineralización y remineralización que ha sido expuesto.

Además, las profundidades de desmineralización variaron entre los grupos experimentales, siendo mayor en el grupo tratado con peróxido de hidrógeno líquido. Se puede inferir que la mayor osmolaridad de los geles podría afectar su ingreso a los tejidos dentarios, ya que por norma, la movilización de fluidos va en dirección a la mayor presión osmótica.

Dentro de las limitaciones de este trabajo de investigación se debe mencionar que el microscopio óptico con luz polarizada no es la herramienta ideal para este tipo de análisis, ya que sólo muestra resultados de desmineralización cuando ésta alcanza un 50%. Además, al ser un estudio in vitro y como se mencionó anteriormente, no se cuenta con las condiciones bucales reales bajo las cuales se realiza un tratamiento clareador ni con la acción salival. La vitalidad pulpar por su parte, es una de las principales defensas del tejido dentario ante los distintos agentes nocivos, por lo que al emplear dientes extraídos se pierde la presión pulpar positiva y con ello la limitación de la penetración de estos agentes (Hanks et al., 1993). Finalmente, el rango etario, determinado según la evidencia científica disponible, podría reducirse para limitar la dispersión de datos.

CONCLUSIONES

La desmineralización producida por la acción del peróxido de hidrógeno al 35% (tanto gel como líquido), muestra un patrón en banda y homogéneo a través de la superficie dentaria de espesor variable y con su límite interno difuso.

La profundidad de desmineralización en dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% gel por 60 minutos es significativamente mayor a la observada en los dientes no tratados.

Por otra parte, la profundidad de desmineralización observada en dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% líquido es significativamente mayor a la encontrada en los dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% gel. Debido a esto, se logra inferir que la consistencia del agente clareador influye en la capacidad de desmineralizar el esmalte.

Cabe destacar, que las mayores profundidades de desmineralización fueron encontradas en los dientes tratados con peróxido de hidrógeno líquido, seguido de los dientes tratados con peróxido de hidrógeno gel y muy por debajo de las profundidades anteriormente observadas, se encuentran la de los dientes no tratados.

SUGERENCIAS

Para profundizar en el estudio de los efectos en el tejido dentario del clareamiento dental vital, es pertinente realizar otros estudios similares pero con una metodología que contemple el protocolo de clareamiento doméstico o at home, ya que es un tratamiento clareador que está siendo cada vez más utilizado a nivel mundial y que emplea peróxido de carbamida en gel como agente clareador, el cual se presenta a diferentes concentraciones y se aplica bajo distintos tiempos de acción.

Otro aspecto a considerar, es realizar estudios que estén basados en la observación de las muestras bajo el microscopio electrónico de barrido tales como la electroscopía de Raman o la microscopía electrónica de scanner, ya que éstos métodos corresponden al gold estándar de observación de tejido dentario y permite una mayor precisión de los resultados, puesto que la microscopía óptica con luz polarizada sólo permite detectar cambios de la birrefringencia del esmalte a partir de una pérdida de minerales cercanas al 50%.

Además, sería útil tener una mayor cantidad de estudios *in vivo*, que relacionen los efectos del clareamiento a nivel histológico con las implicancias clínicas que los pacientes presentan, ya que aún sigue siendo el dolor el principal efecto no deseado en estos tratamientos, por lo que se hace inminente pensar que existe afectación del tejido dentinario.

Por último, se torna real la necesidad de formular un protocolo de atención de nuestros pacientes en donde se estipule el agente y la concentración recomendada a utilizar en los distintos grados de tinciones que presenten los pacientes, a modo de estandarizar la atención y prevenir futuras complicaciones.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar la profundidad de desmineralización de dientes tratados según el protocolo in office con peróxido de hidrógeno al 35% en consistencia líquida y gel con la existente en dientes no tratados.

Se seleccionaron 30 premolares sanos extraídos por indicación de ortodoncia en pacientes cuya edad fluctuara entre los 15 y 25 años. Los dientes se dividieron aleatoriamente en tres grupos de 10 dientes cada uno. Un grupo experimental 1 tratado con peróxido de hidrógeno al 35% líquido, otro grupo experimental 2 tratado con peróxido de hidrógeno al 35% gel y un grupo control sin tratamiento alguno.

De cada diente se obtuvieron cinco cortes transversales coronarios y se montaron en porta objetos. Cada corte se observó mediante microscopio óptico con luz polarizada, conectado a un programa de captura de imágenes con el que se obtuvieron fotografías digitales de las muestras bajo aumento de 5X y 10X. Luego, con el software Axiovision SE64 se midió la profundidad de desmineralización en ocho zonas aleatorias obteniendo así 400 muestras por cada grupo de estudio.

Se encontró que la profundidad de desmineralización en dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% gel es significativamente mayor a la observada en los dientes no tratados. Además, la profundidad de desmineralización observada en dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% líquido es significativamente mayor a la encontrada en dientes tratados con peróxido de hidrógeno al 35% gel. Debido a esto, se infiere que la consistencia del agente clareador influye en la capacidad de desmineralizar el esmalte.

Cabe destacar, que las mayores profundidades de desmineralización fueron encontradas en los dientes tratados con peróxido de hidrógeno líquido, seguido de los dientes tratados con peróxido de hidrógeno gel y muy por debajo de las profundidades anteriormente observadas, se encuentran la de los dientes no tratados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS PRIMARIAS

1. Demarco F. F.; Meireles S.S.; Sarmiento H. R.; Venancio R.; Botero T.; Chaves S. B.(2011): Erosion and abrasion on dental structures undergoing at-home bleaching. *Clinical Cosmetic and Investigation Dentistry*. 3: 45 – 52.
2. Saita M.; Kobatashi K.; Yoshino F.; Hase H.; Nonami T.; Kimoto K.; Lee M. (2012): ESR investigation of ROS generated by H₂O₂ bleaching with TiO₂ coated HAp. *Dental Material Journal*. 31(3): 458 – 464.
3. Joiner A. (2006): The bleaching of teeth: a review of the literature. *J.Dent*. 34(7):412-9.
4. ADA Council of Scientific Affairs. Tooth Whitening/Bleaching: Treatment Considerations for Dentists and their Patients. Septiembre 2009.
5. Berga A.; Forner L.; Amengual J. (2007): In vivo evaluation of the effects of 10% carbamide peroxide and 3,5% hydrogen peroxide on the enamel Surface. *Med Oral Patol Ci Bucal* 12: 404-7.
6. Gasic J.; Kesic L.; Popovic J.; Mitic A.; Nikolic M.; Stankovic S.; Barac R. (2012): Ultrastructural changes in the cemento-enamel junction after vital tooth bleaching with fluoride and fluoride-free agents – a pilot study. *Med Sci Monit*. 18(3): PR5-12.
7. Tezel H.; Atalayin C.; Erturk O.; Karasulu E. (2011): Susceptibility of enamel treated with bleaching agents to mineral loss after cariogenic challenge. *International Journal of Dentistry*, 2011: 1 -8.
8. Cadenaro M.; Breschi L.; Nucci C.; Antonioli F.; Visintini E.; Prati C.; Matis B.A.; Di Lenarda R. (2008): Effect of Two In-Office Whitening Agents on the Enamel Surface In Vivo: A Morphological and Non-contact Profilometric Study. *Operative Dentistry*. 33(2):127-34.
9. Fioranelli G.; Arakaki Y.; Ferraz T. (2008): Spectrophotometric assessment of the effects of 10% carbamide peroxide on enamel translucency. *Restorative Dentistry. Brazilian Oral Research*. 22(1):90-5.
10. Miranda C.; Pagani C.; Benetti A.; Matuda F. (2005): Evaluation of the bleached human enamel by scanning electron microscopy. *Journal of Applied Oral Science*. 13(2):204-11.
11. Permeability of Carbamide Peroxide and Hydrogen Peroxide Vital Bleaching Materials, in vitro. *Journal Dental Research*. 72(5):931-8.
12. Moncada G. A.; Aránguiz V.; Urzúa I. (1999): Blanqueamiento en Odontología. Primera Edición. Arancibia Hnos. y Cía. Ltda.
13. Kwon S. R.; Wertz P. W.; Li Y.; Chang D. C. N. (2012): Penetration Pattern of Rhodamine Dyes into Enamel and Dentin: Confocal Laser Microscopy Observation. *International Journal of Cosmetic Science*. 34(1):97-101.

14. Eimar H.; Siciliano R.; Abdallah M.; Nader S. A.; Amin W. M.; Martinez P.; Celemin A.; Cerruti M.; Tamimi F. (2012): Hydrogen Peroxide Whitens Teeth by Oxidizing the Organic Structure. *Journal of Dentistry*. 2:e25-33.
15. Chng H.K.; Ramli H.N.; Yap A.U.J.; Lim C.T. (2005): Effect of Hydrogen Peroxide on Intertubular Dentine. *Journal of Dentistry*. 33(5):363-9.
16. Ubaldini A.; Baesso M.; Medina Neto A.; Sato F.; Bento A.; Pascotto R. (2013): Hydrogen Peroxide Diffusion Dynamics in Dental Tissues. *Journal of Dental Research*. 92(7):661-5.
17. D'Amario M.; D'Attilio M.; Baldi M.; De Angelis F.; Marzo G.; Vadini M.; Varvara G.; D'Arcangelo C. (2012): Histomorphologic Alterations of Human Enamel After Repeated Applications of a Bleaching Agent. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 25(4):1021-7.

REFERENCIAS SECUNDARIAS

18. Sarath G.; Vandana J.; Vidhya S.; Kittappa K.; Sanjeev K.; Sekar M. (2013): Effect of
19. Bleaching with two different concentrations of Hydrogen Peroxide containing sweet potato extract as an additive on human enamel: An in vitro spectrophotometric and scanning electron microscopy analysis. *Journal of Conservative Dentistry*. 16(1):45-9.
20. Venkatesan S. M.; Narayan G. S.; Ramachandran A. K.; Indira R. (2012): The effect of two bleaching agents on the phosphate concentration of the enamel evaluated by Raman spectroscopy: An ex vivo study. *Contemporary Clinical Dentistry*. 3(Suppl 2): S172–S176.
21. Elfallah H. M.; Swain M. V. (2013): A Review of the Effect of Vital Teeth Bleaching on the Mechanical Properties of Tooth Enamel. *The New Zealand Dental Journal*. 109(3):87-96.
22. Alkhtib A.; Manton D. J.; Burrow M. F.; Saber-Samandari S.; Palamara J. E.; Gross K. A.; Reynolds E. C. (2013): Effects of bleaching agents and Tooth Mousse (™) on human enamel hardness. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*. 4(2):94-100.
23. Hairul Nizam B.R.; Lim C.T.; Chng H.K.; Yap A.U.J. (2005): Nanoindentation Study of Human Premolars subjected to Bleaching Agent. *Journal of Biomechanics*. 38(11):2204-11.
24. Dudea D.; Florea A.; Miha C. (2009): The Use Of Scanning Electron Microscopy In Evaluating The Effect Of A Bleaching Agent On The Enamel Surface. *Romanian Journal of Morphology and Embriology*. 50(3): 335-440.
25. Sato C.; Rodrigues F.A.; Garcia D.M.; Vidal C.M.P.; Pashley D.H.; Tjäderhane L.; Carrilho M.R.; Nascimento F.D.; Tersariol I.L.S. (2013): Tooth Bleaching Increases Dentinal Protease Activity. *Journal of Dental Research*. 92(2):187-92.

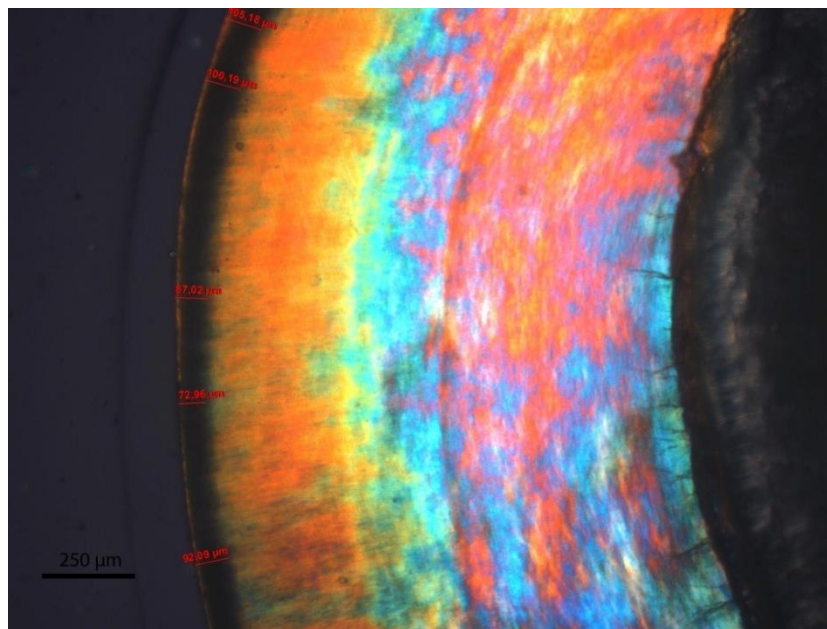
26. Joiner A. (2007): Review of the Effects of Peroxide on Enamel and Dentine Properties. *Journal of Dentistry*. 35(12):889-96.
27. Llambés G., Llena C., Amengual J., Forner L. (2011): In vitro Evaluation of the Efficacy of Two Bleaching Procedures. *Medicina Oral Patología Oral y Cirugía Bucal*. 1;16(6):e845-51.
28. Lanata E. J. (2003): *Operatoria Dental, Estética y Adhesión*. Editorial Grupo Guía.
29. Hanks C. T.; Fat J. C.; Wataha J. C.; Corcoran J. F. (1993): Cytotoxicity and Dentin
30. Azer S.; Machado C.; Sanchez E.; Rashid R. (2009): Effect of home bleaching systems on enamel nanohardness and elastic modulus. *Journal of Dentistry*. 37(3):185-90.
31. Ünlü N.; Cobankara F. K.; Altinöz C.; Özer F. (2004): Effect of home bleaching agents on the microhardness of human enamel and dentin. *Journal of Oral Rehabilitation*. 31(1):57-61.
32. Zimmerman B.; Datko L.; Cupelli M.; Alapati S.; Dean D.; Kennedy M. (2010): Alteration of Dentin-Enamel Mechanical Properties Due to Dental Whitening Treatments. *Journal of Mechanical Behaviour of Biomedical Materials*. 3(4):339-46.
33. Pinto C.; Paes Leme A.; Cavalli V.; Giannini M. (2009): Effect of 10% Carbamide Peroxide Bleaching on Sound and Artificial Enamel Carious Lesions. *Brazilian Dental Journal*. 20(1):48-53.
34. Markovic L.; Jordan R. A.; Lokota N.; Gaengler P. (2007): Micromorphology of Enamel Surface After Vital Tooth Bleaching. *JOE vol. 33 nro. 5*.
35. Santini A.; Pulham C.; Rajab A.; Ibbetson R. (2008); The effect of a 10% carbamide peroxide bleaching agent on the phosphate concentration of tooth enamel assessed by Raman spectroscopy. *Dental Traumatology*. 24: 220-223.
36. Sundfeld R.; Fraga A.; Marra P.; Marcal M.L.; Barbieri A. (2005): Effect of Time interval between Bleaching and Bonding on Tag Formation. *Bull Tokyo Dent Coll*. 46(1 – 2): 1 – 6.
37. Pécora J. D.; Sousa M. D.; Silva R. G.; Saquy P. C.; Vansan L.P.; Miranda da Cruz A.; Ferreira da Costa W. (1996): *Guia de Clareamento Dental*. 1ª Edición. Livraria Santos Editora.
38. Markovic L.; Fotouhi K.; Lorenz H.; Jordan R. A.; Gaengler P.; Zimmer S. (2010): Effects of Bleaching Agents on Human Enamel Light Reflectance. *Operative Dentistry*. 35(4):405-11.
39. Gómez de Ferrari Ma. E., Campos Muñoz A. (2002). *Esmalte - Histología y embriología bucodental* – 271-216 – Editorial médica Panamericana. Buenos Aires - Argentina.
40. Gasga J.R. (2001): Estudio del esmalte dental humano por microscopía electrónica y técnicas afines. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales*. 21: 81 – 85.

41. Baratieri L. N.; Monteiro S.; Caldeira M. A.; Cardoso L. C.; Ritter A.V.; Cardoso A. C. (2001) Odontología Restauradora, Fundamentos e Possibilidades. Editorial Santos, Brasil.

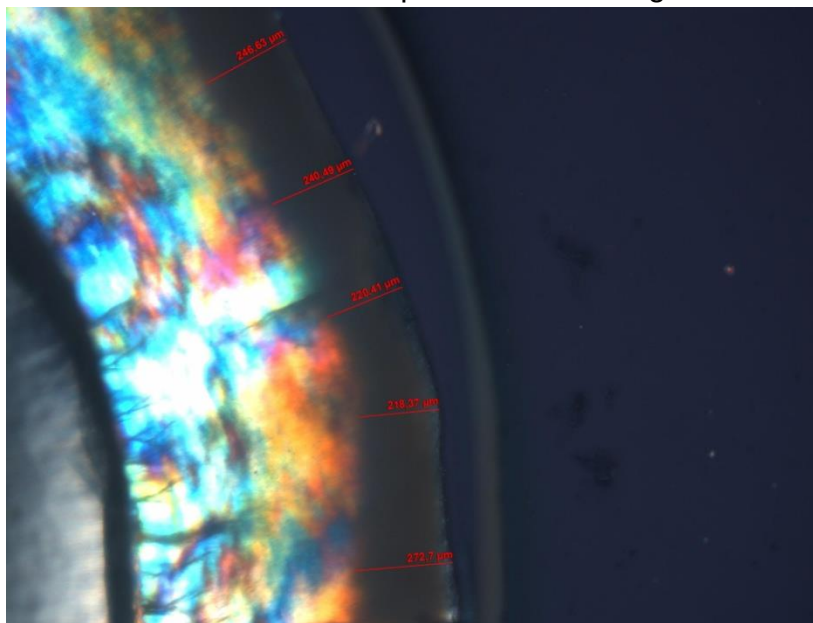
ANEXOS

FOTOGRAFÍAS DE MUESTRAS CON MEDICIONES EN AUMENTO 5X:

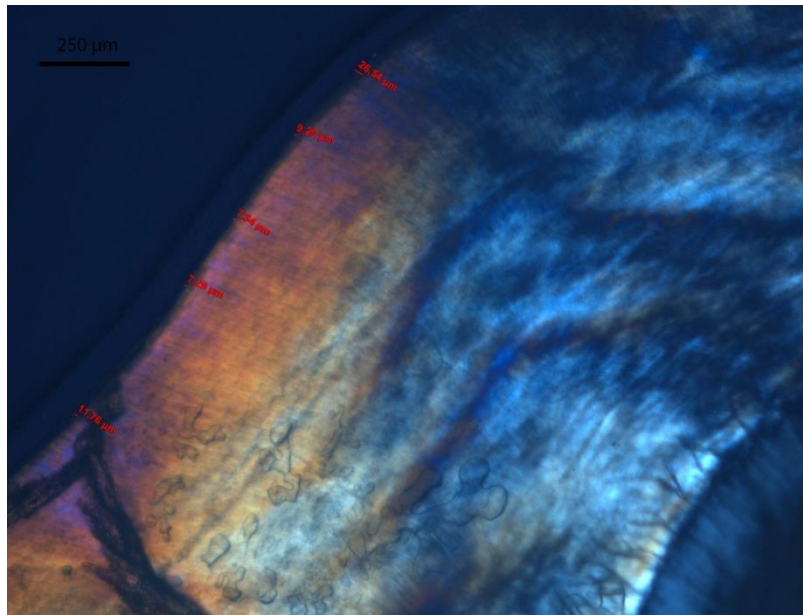
Muestra C.5X.1. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% líquido.



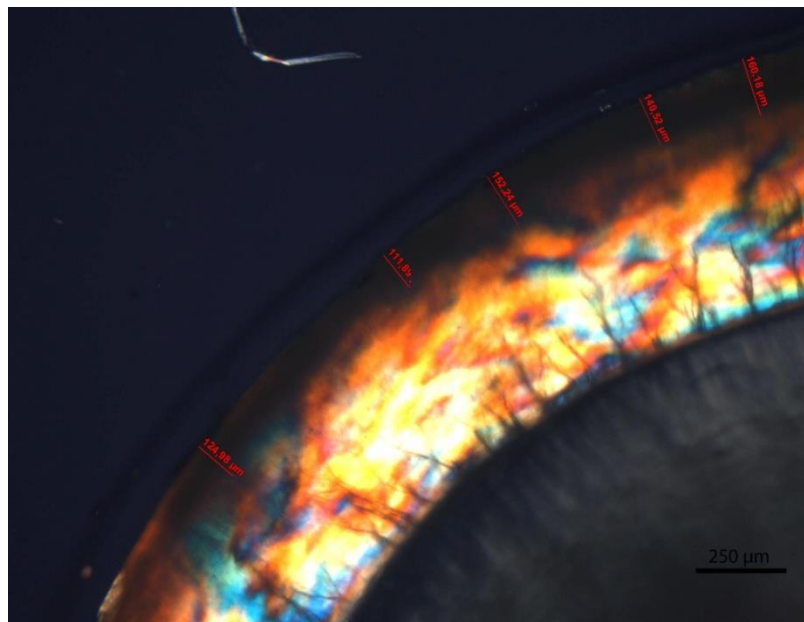
Muestra N°3.5X.1. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% gel.



Muestra IX.5X.1.Sin tratamiento clareador.

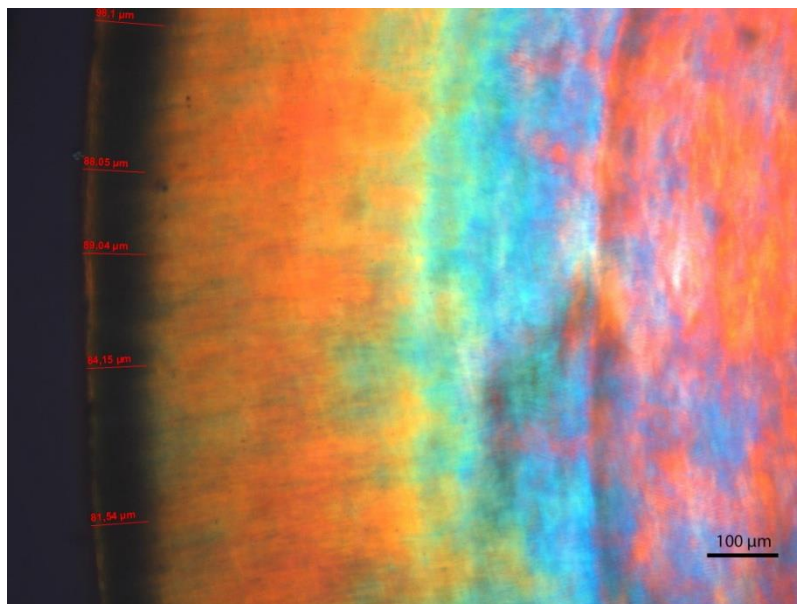


Muestra N° 19.5X.2. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% gel.

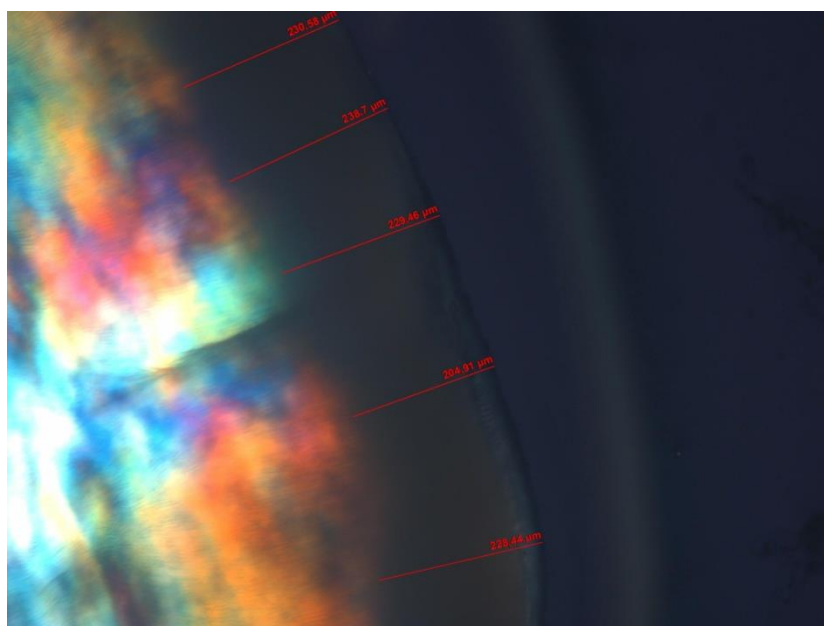


FOTOGRAFÍAS DE MUESTRAS CON MEDICIONES EN AUMENTO 10X:

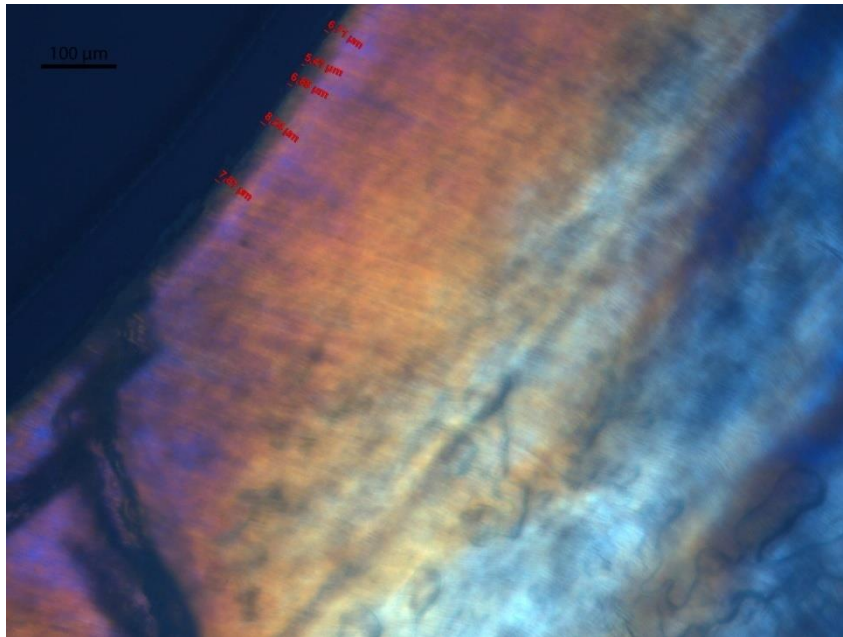
Muestra C.10X.1. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% líquido.



Muestra N°3.10X.1. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% gel.



Muestra IX.10X.1.Sin tratamiento clareador.



Muestra N° 19.10X.2. Tratado con peróxido de hidrógeno al 35% gel.

