



**EFFECTO DEL FLUORURO DE SODIO 5% SOBRE EL ESMALTE DENTAL POST
CLAREAMIENTO, IN VITRO**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL

TÍTULO DE CIRUJANO DENTISTA

ALUMNOS: LUIS FELIPE NEHME SANCHO

RODRIGO PATRICIO VARGAS IBACACHE

DOCENTE GUÍA: PROF. DR. JAIME SARMIENTO

CÁTEDRA DE OPERATORIA DENTAL

VALPARAÍSO – CHILE

2014

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a los pilares fundamentales de mi vida: mis padres, Luis Nehme y Sandra Sancho, pues sin ellos, jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora logré. Gracias por sus incansables esfuerzos y por ser para mí un gran ejemplo a seguir.

También quiero agradecer a dos grandes mujeres de mi familia, mi hermana Paula y mi abuela por estar siempre presentes en cada uno de mis desafíos.

Por otra parte, el camino universitario lejos de los míos implicó conocer y maravillarme con dos “nuevas tías” Marianella y Eugenia, quienes me aceptaron en la calidez de su casa transformándolo para mí en un hogar en donde fui un hijo más.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a mis fieles compañeros y amigos, Rodrigo, Kai y Sergio, con quienes pasamos muchas aventuras, las que a fin de cuentas se transformaron aprendizajes que siempre guardaré.

Luis Felipe Nehme Sancho

Con todo mi cariño y admiración para la persona que se la ha jugado 24 años por darme lo mejor, convertirme en una persona de bien, ser incondicional y estar siempre, siempre ahí. Esto es para ti, tu sacrificio de toda una vida.

Maritza Ibacache - Mamá.

Para mi novia, por aguantarme, mis amigos, por hacerme reír, mi familia, por ser mi base, mi compañero y amigo de tesis-pregrado por su comprensión y a todas las personas e instituciones que han sido importantes en este camino, su buena onda, cariño y apoyo en todos estos años de estudio, de todo corazón este trabajo es para ustedes.

Mely, Bugueño, Kai, Nehme y CARES...

Rodrigo Patricio Vargas Ibacache

AGRADECIMIENTOS

Nuestros agradecimientos a nuestro profesor guía, Dr. Jaime Sarmiento C. por abrirnos la mente, darnos herramientas para tomar las mejores decisiones y hacernos tomar este difícil trabajo como una buena experiencia de vida.

También mencionar al Dr. Alejandro Oyarzun, por su buena disposición, espíritu de trabajo y apoyo con su laboratorio en la Universidad Finis Terrae, a nuestra profesora informante, la Dra. María Paz Moran, por su buen ánimo y ojo crítico, y a todas las personas que se dieron un tiempo para guiarnos hacia la luz del final del túnel cuando todo era oscuro.

Un agradecimiento especial al Dr. Gonzalo Salinas M. y otros por su ayuda desinteresada durante la recolección de las tan anheladas muestras.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO	2
I.- HISTOLOGÍA DEL TEJIDO DENTARIO	2
Esmalte	2
Órgano dentino-pulpar	5
Dentina	5
Odontoblastos	6
Pulpa	6
Cemento.....	6
II.- PIGMENTACIONES DENTARIAS.....	7
Definición.....	7
Clasificación	7
III.- CLAREAMIENTO.....	10
Historia	10
Agentes clareadores.....	11
Efectos adversos generales.....	13
IV.- DESMINERALIZACIÓN Y REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE.....	16
Desmineralización del esmalte	16
Remineralización	17
Rol de los fluoruros.....	17
Aplicación tópica de los fluoruros.....	19
V.- MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA	20
Polarización de la luz.....	20
Birrefringencia óptica (doble refracción).....	20
HIPÓTESIS	22
OBJETIVOS	23
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
MATERIALES	24
Diseño del estudio	24

Universo	24
Muestra	24
Criterios de inclusión	24
Criterios de exclusión.....	24
Variables.....	25
Análisis de datos.....	25
MÉTODOS.....	26
Almacenamiento.....	26
Preparación de la muestra.....	26
Imágenes histológicas	27
Morfometría	28
Resultados.....	29
Discusión	37
Limitaciones	41
CONCLUSIONES.....	42
SUGERENCIAS.....	43
RESUMEN.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	45

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la estética dental es uno de los factores más importante para los pacientes y personas en general, siendo el color uno de los cuales se destaca más dentro del equilibrio estético, ya que es más perceptible que otras desarmonías. Es por esto, que a lo largo de los años se han ido desarrollando distintos métodos para intentar incidir sobre las propiedades del color dentario, siendo uno de ellos, el clareamiento con variados productos y formas de aplicación, que repercuten principalmente en el valor y secundariamente en la cromaticidad.

Últimamente, el clareamiento dental no es de uso exclusivo en dientes con pigmentaciones severas o de origen patológico, sino más bien, un alto porcentaje de pacientes con dientes sanos acuden al dentista para clarear sus dientes buscando alcanzar ciertos cánones de belleza impuestos por la publicidad y televisión.

Con esto, el clareamiento se ha hecho una práctica diaria al alcance de muchos; pero esta presión de los pacientes sumado al poco conocimiento de los efectos adversos y de cómo contrarrestarlos, pueden generar el riesgo de daños irreversibles sobre el tejido dentario. Lo anterior, sumado al eventual deterioro de las restauraciones, aumenta los costos de la intervención estética.

Dentro de los efectos adversos nos podemos percatar que al utilizar peróxidos de altas concentraciones, se genera desmineralización en el esmalte superficial y subsuperficial, produciendo modificaciones similares a lesiones producidas por biofilm. Dada esta situación, proponemos ver y describir cómo se comportan estas desmineralizaciones al aplicar gel de fluoruro de sodio 5%, posterior al clareamiento, en un estudio in vitro.

MARCO TEÓRICO:

I.- HISTOLOGÍA DEL TEJIDO DENTARIO

Esmalte

El esmalte dental es un material extracelular, libre de células, por lo cual no se podría clasificar como tejido; este material es el más duro y mineralizado del cuerpo humano, el cual cubre la dentina en su porción coronaria para protegerla del medio bucal, donde su superficie externa esta en íntima relación con éste medio.

Su espesor varía dentro del mismo diente y entre dientes distintos, no es una capa uniforme, siendo vestibular más espeso que palatino, y mesial su mayor espesor. La mayor cantidad de esmalte es encontrada en zonas donde se recibe más carga como lo son las cúspides de molares, premolares, caninos y bordes de incisivos.

Es acelular, avascular y no posee inervación, por lo que frente a cualquier noxa reacciona con pérdida de sustancia la cual puede ser reversible o irreversible.

El esmalte difunde la luz blanca monocromática de un modo diferente según su grado de mineralización, esto nos permite estudiar áreas descalcificadas y su posterior recalcificación *in vivo*.

COMPOSICIÓN QUÍMICA

Dentro de su composición química encontramos:

Matriz orgánica: 1 a 2%, constituida principalmente por proteínas como enalamina y proteínas de los penachos, y lípidos. El esmalte superficial en un espesor de 0,1 a 0,2 mm es más duro y posee más material orgánico, su mayor dureza se debe a la exposición a saliva y constante precipitación de sales de calcio y fosforo.

Matriz inorgánica: 95% es sustancia calcificada del esmalte, la cual le otorga su dureza, está contenida en cristales de hidroxapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ de mayor dimensión que los encontrados en otras partes del organismo. Desde el punto de vista óptico, son translúcidos y birrefringentes.

Agua: 3% Se localiza en la periferia del cristal constituyendo la capa de hidratación. (Gómez de Ferraris, 2004)

ESTRUCTURA HISTOLÓGICA DEL ESMALTE

La unidad estructural básica del esmalte son los “prismas de esmalte” los cuales están compuestos por cristales de hidroxapatita, además cuenta con unidades secundarias originadas a partir de la anterior.

Los prismas de esmalte en su conjunto forman el esmalte prismático, y en la periferia y en la zona de unión o límite amelodentinario (LAD) se encuentra el esmalte aprismático.

UNIDADES ESTRUCTURALES PRIMARIAS

Esmalte prismático

Son estructuras longitudinales de unos 4 micrones de espesor promedio. En un corte transversal se ven una serie de cúpulas circulares que terminan en una base irregular, las cuales se pueden denominar como “ojo de cerradura”. Dentro de los prismas, los cristales no están paralelos, en la región de la cabeza están orientados en sus ejes longitudinales paralelos al prisma, pero en la cola su dirección es oblicua o hasta perpendicular. Todo esto visto gracias al Microscopio electrónico de barrido (MEB).

Los prismas se originan por los ameloblastos desde el LAD hasta la superficie dentaria siguiendo un curso sinuoso determinando la forma y tamaño del diente.

El diámetro de los prismas varía entre 3 micras en las cercanías del LAD y 6 micras en la superficie. Su longitud promedio son 9 micrones.

Su dirección, desde la dentina hasta la superficie, es sinuosa, formando “eses”. Este recorrido le da propiedades ópticas al esmalte.

Rodeando los prismas tenemos materia orgánica que es muy escasa denominada Vaina de los prismas. Esta vaina es muy insoluble, de un grosor estimado de 0,1 micras; los cristales en su interior están orientados en otra dirección y con tamaño diferente al de los prismas, son escasos y dejan un mayor espacio entre cristales. (Barrancos J, 2004)

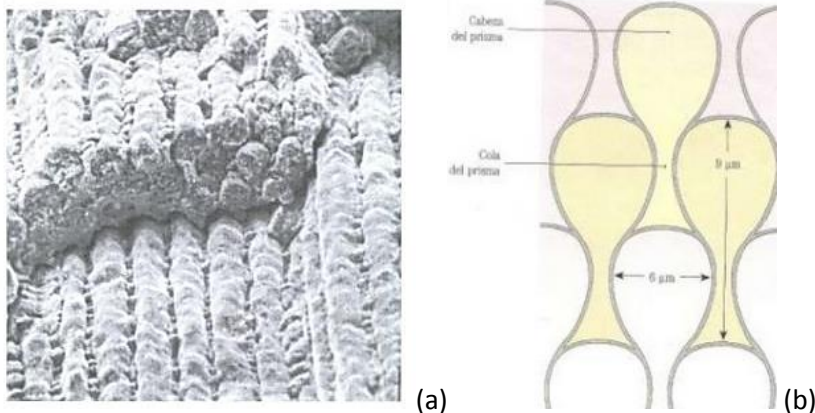


Figura 1: (a) Imagen tomada con MEB que muestra prismas de esmalte y su estructura característica (X 1.220) (Barrancos, 2006)

(b) Esquema de "ojo de cerradura"

Esmalte aprismático

Material adamantino carente de prismas, el cual se ubica en la superficie externa del esmalte prismático, su espesor aproximado es de 30 micras. Lo podemos encontrar en dientes temporales y en el 70% de los dientes definitivos.

UNIDADES ESTRUCTURALES SECUNDARIAS DEL ESMALTE (Barrancos J, 2004)

Existen variaciones estructurales originadas a partir de unidades primarias como resultado de 3 mecanismos: Diferente grado de mineralización, Cambio de recorrido de los prismas y la interacción entre esmalte y dentina subyacente o periferia. Entre ellas encontramos las siguientes:

- ***Estrías de Retzius o líneas incrementales:*** Se forman a partir de un incremento en la mineralización del esmalte, posiblemente por su interrupción o perturbación en la calcificación, marcando la aposición continua de capas de esmalte durante la formación de la corona; generalmente en ángulo oblicuo a los prismas.

Al llegar a la superficie del diente, las estrías de Retzius forman una ligera depresión poco profunda que asemejan las marcas de anillos de los cortes de árboles. Entre 2 depresiones se forman las denominadas periquematías, las cuales son observables a simple vista como un ligero levantamiento, especialmente en zona cervical de dientes jóvenes.

- ***Bandas de Hunter-Schreger:*** Constituidas por manojos de 6 a 8 prismas paralelos entre sí que cambian de dirección; son bandas claras y oscuras producidas por la decusación de los prismas, de anchos variables y límites imprecisos. Ocupan las 4 quintas partes del esmalte y están presentes en todos los dientes definitivos.
- ***Penachos Adamantinos:*** Denominados también penachos de Linderer, generalmente se encuentran bajo una convexidad más pronunciada. Estos penachos se ubican en el tercio más interno del esmalte, en relación al LAD y siguen la dirección de los prismas.
- ***Laminillas o microfisuras del esmalte:*** Son fallas que se extienden de forma transversal desde el LAD hasta la superficie; parecen deberse a interrupciones en la calcificación o a líneas de tensión creadas en el esmalte en formación.

Órgano dentino-pulpar

Histológicamente y en su origen estos tejidos se comportan como una solo ente, que comparten funciones biológicas y fisiopatológicas.

Dentina:

La dentina en su composición química contiene en promedio 70% sustancia inorgánica, 12% de agua y 18% de sustancia orgánica, esta puede variar según zona y edad.

Estructuralmente es un tejido altamente calcificado, que contiene una enorme cantidad de conductillos que alojan en su interior la prolongación protoplasmática del odontoblasto. En estos túbulos existe la dentina peritubular e intertubular, las que se diferencian por el diferente grado de calcificación, en donde la dentina peritubular es altamente calcificada en comparación con la intertubular que presenta un menor grado de calcificación, por poseer una mayor matriz orgánica. (Ibarra, G. 2007)

Los túbulos dentinarios tienen un diámetro de 2,5 a 4 μm que al ir acercándose al límite amelodentinario (LAD) pueden llegar a 1 μm y a veces bifurcarse. Con respecto a su cantidad se pueden encontrar en la cercanía pulpar hasta 65.000 túbulos por milímetro cuadrado, 35.000 a mitad de camino y 15.000 cerca del LAD. (Barrancos J, 2004).

Del punto de vista del grado de calcificación, ésta no es uniforme a lo largo de las diferentes áreas, las zonas menos calcificadas son la dentina periférica, LAD y la dentina recién formada en cercanía a la pulpa, estas por poseer mayor matriz orgánica.

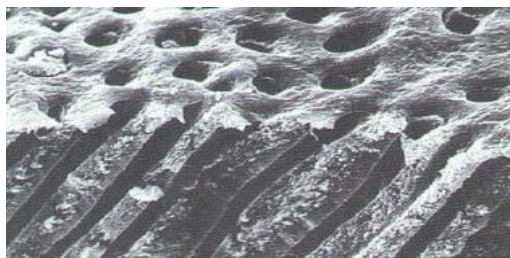


Figura 2: imagen de ME, se muestra dentina en un corte longitudinal, se observan tubulillos dentinarios. (Barrancos J, 2004)

Odontoblastos:

Estos pertenecen tanto a dentina como a pulpa, ya que si bien se encuentran en la zona pulpar, sus procesos odontoblásticos recorren el túbulo dentinario.

Se forman desde las células embrionarias de la papila dentaria, son células alargadas y polarizadas de 10 μm de longitud y 4 μm de ancho que se ubican en la capa periférica de la pulpa. Se presentan en forma ordenada y contienen una gran batería enzimática y productiva. (Barrancos J, 2004).

Pulpa:

Tejido conectivo laxo muy especificado, que se encuentra rodeado de tejido duro (esmalte y dentina).

Forma junto a la dentina un complejo dentino pulpar muy especializado e interrelacionado. Se compone de células, fibras, matriz fundamental amorfa, nervios, vasos sanguíneos y linfáticos. Posee un 75% de agua y 25% de sustancia orgánica, la cual fluctúa con la edad. (Barrancos J, 2004).

Su principal función es la de crear y dar sustento a la dentina y proveer una alta sensibilidad nerviosa.

Cemento:

El cemento está muy relacionado con el periodonto de inserción más que con el órgano dentino pulpar. Su crecimiento en capas paralelas llamadas laminillas dadas por células especializadas con el nombre de cementoblastos.

En zonas donde se producen mayores fuerzas mecánicas la reacción del cemento es de aumentar en grosor, lo que puede conllevar a cierta deformación de la raíz dental.

En él se distinguen 3 zonas, interna, media y externa, que se encuentran a lo largo de la raíz del diente, estas zonas son poco permeables y no poseen ningún tipo de sensibilidad por no percibir inervación. (Barrancos J, 2004).

II.- PIGMENTACIONES DENTARIAS

Definición

El color dental juega un papel importante en la atracción física general de un individuo. Se ha demostrado que una sonrisa atractiva afecta enormemente la percepción de los atributos de apariencia y de la personalidad. Los cambios de coloración de los dientes puede alterar significativamente el atractivo de una sonrisa, además puede causar una falta de correspondencia con las restauraciones existentes, las cuales requerirán sustitución a pesar de que su función sea adecuada (Shereen et al 2008).

Las tinciones dentarias se producen por unos elementos llamadas cromóforos que pueden ser absorbidos por la superficie del esmalte, o provenir del interior del diente, con lo cual las podemos clasificar en tinciones intrínsecas, extrínsecas y combinación de ambas (Barrancos, 2006; baratieri et al, 2001; Hattab et al 1999).

Clasificación:

Tinciones intrínsecas

Son aquellas en donde la sustancia que pigmenta se encuentra en el interior del diente o forma parte de la estructura interna del tejido. Pueden ser permanentes o transitorias, congénitas o adquiridas y además pueden aparecer de forma generalizada, afectando toda la dentición, o bien aisladamente, afectando a un solo diente (Bonilla V et al., 2007; Sulieman, 2004; Habbat et al, 1999).

Las alteraciones cromáticas localizadas por lo general se dan con el diente ya formado como consecuencia de la acción de un agente extraño. Afecta a la estructura interna del diente, afectando sólo a uno o varios dientes aislados. El color que adquieren es muy variado en función del agente causal (Bonilla V et al., 2007).

1. Procesos pulpares y traumatismos: Hemorragias, Calcificaciones y Necrosis.

Tratamientos de endodoncia mal efectuados o traumas dentarios producen hemorragia en el interior de la cámara pulpar, donde los hematíes sufren hemólisis, introduciéndose en el interior de los túbulos en forma de sulfato de hierro, generando un pigmento negro que oscurece el diente. (Baratieri et al, 2001)



Figura 3: Diente con cambio de coloración por un traumatismo y consecuente necrosis pulpar

2. Patologías dentales: Caries, Reabsorción radicular, Hipoplasias del esmalte.

3. Material obturación, endodoncia y otros.

Son muchos los materiales usados en odontología que pueden producir cambios de color, como por ejemplo: Amalgama, Composite (sin pulir o con mucho tiempo en boca), Materiales de endodoncia (gutapercha y los irrigantes) y otros materiales como el Yodo, Nitrato de plata, Cobre. Aceites volátiles, Eugenol, Compuestos fenólicos, Pastas poliantibioticas. (Bonilla V et al., 2007)

Dentro de las alteraciones de color generalizadas tenemos las causadas por procesos ambientales o genéticos, provocando la coloración de toda la dentición, o al menos de varios dientes (Hattab et al 1999). Casi todas se producen durante el periodo de formación dental, aunque en algunas ocasiones, afecta al diente ya desarrollado como es el caso del envejecimiento. La tinción se produce porque el pigmento se incorpora en la estructura íntima del tejido, o bien es el tejido el que, por alteraciones, se colorea. (Bonilla V et al., 2007; Barrancos, 2006; baratieri et al, 2001).

Las podemos resumir en:

1.- Factores ambientales	
Prenatales	Postnatales
<ul style="list-style-type: none"> • Infección materna: Rubéola, cytomegalovirus • Medicamentos Tetraciclinas • Toxemia del embarazo o preclampsia 	<ul style="list-style-type: none"> • Infecciones Sarampión, Varicela, Escarlatina • Medicamentos Tetraciclinas, Flúor • Déficit nutricional • Desórdenes hemapotoyeticos
1.- Factores genéticos o hereditarios	
Solo dentarios	Con desordenes sistémicos
<ul style="list-style-type: none"> • Amelogénesis imperfecta • Dentinogénesis imperfecta • Displasia dentinaria 	<ul style="list-style-type: none"> • Epidermolisis bulosa • Porfiria Eritropoyética • Osteogénesis imperfecta

(Habatt et al, 1999)

Las tinciones intrínsecas que más a menudo se presentan son las de ingestión de tetraciclinas durante la formación del diente, donde es un clásico la aparición de bandas de color amarillo, marrón, azul, negro o gris, dependiendo la severidad (Suliaman, 2004) y el Flúor, la afectación por fluorosis se produce por un exceso en la ingesta del ión flúor durante el proceso de formación de los dientes. Si excedemos el límite, se producen alteraciones de la formación del esmalte asociado con cambios en el color del diente (Gomez S, 2010).

Envejecimiento y color post mortem: Es un hecho conocido que con el paso del tiempo se produce un oscurecimiento de los dientes, volviéndose más amarillos. Otro fenómeno que produce coloración dental es el proceso de coloración hacia el rosa que se produce en los dientes de cadáveres.

Tinciones extrínsecas

Se producen por los cromóforos que se depositan en la superficie del diente atravesando la película adquirida o que existan restos de la membrana de Nashmith. Sin esta estructura proteínica previa es imposible que se produzca el depósito de pigmentos (Suliman 2004).

1. Alimentos y hábitos sociales

Son muchas las sustancias alimenticias u otras sustancias en contacto con los dientes las que pueden producir coloración dental aunque de forma extrínseca.

a) Alimentos (café, té, vino, cola, etc.): dentro de las tinciones por alimentos tenemos dos grandes grupos, las manchas poco duraderas y las permanentes aunque extrínsecas.

En ocasiones cuando el contacto con la sustancia cromófora es muy prolongado en el tiempo, el colorante es capaz de asociarse al 4% de contenido orgánico del esmalte, transformándose en una coloración intrínseca, y oscureciendo de forma permanente el color del diente.

b) Tabaco: otro factor a considerar es el hábito de fumar, ya sea cigarrillos, puros o pipa. El mecanismo de acción es similar al de los alimentos, salvo que en estos casos se trata de la nicotina y el alquitrán los que se depositan en la superficie dental o incluso llega a penetrar en los túbulos dentinarios, siendo muy difícil su eliminación.

c) Clorhexidina: es un hecho conocido que el uso regular de enjuagues de clorhexidina para controlar la placa bacteriana en pacientes periodontales, provoca la aparición de manchas de color negro en la superficie de los dientes.

2. Tinciones bacterianas

El depósito de ciertas bacterias o de sustancias bacterianas en los dientes también puede provocar cambios en el color de tipo externo. Son cuatro los depósitos bacterianos colorantes que en función del color pueden variar de depósitos blancos amarillentos al anaranjado y del verde al negro (Bonilla V et al 2007; Habbat et al 1999).

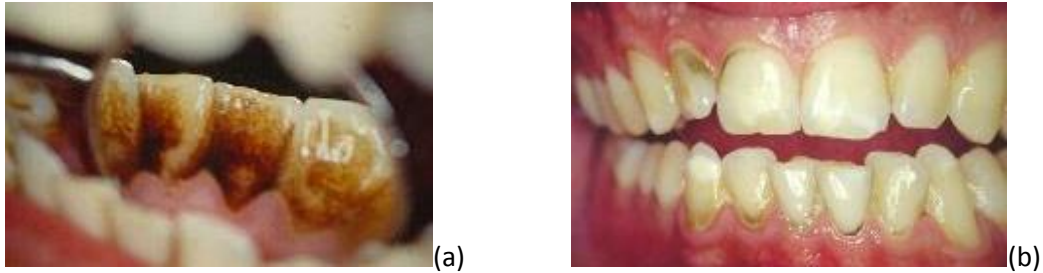


Figura 4: Dientes con cambio de coloración por abuso del tabaco (a) y por tinciones bacterianas verdes (b)

III.- CLAREAMIENTO

Historia

Desde hace muchos años que las personas han requerido tener sus dientes más blancos, es por esto que desde el siglo XIX se han estado buscando productos que cumplan con estas expectativas.

En 1877, Chapplein utilizó ácido oxálico en experiencias poco satisfactorias y luego cambió este compuesto de dióxido de hidrógeno, cloro y luz ultravioleta pero no informó sobre casos clínicos favorables.

En 1895, Westlake describió el uso del peróxido de hidrógeno, éter y corriente eléctrica y comunicó éxito cierto en su tratamiento.

Kane en 1926 empleó ácido clorhídrico y calor para realizar tratamientos semipermanentes, pero la manipulación era muy riesgosa y no se conocían con certeza las concentraciones del ácido utilizado.

Parking y Cohen unieron en sus tratamientos el uso del peróxido de hidrógeno con calor y comunicaron un 70% de casos satisfactorios, mientras que en 1979, Harrington y Naklin en su reporte de casos concluyen: “La infiltración de superoxol a través de los túbulos dentarios puede iniciar una reabsorción inflamatoria en el área cervical externa” la cual en la actualidad está confirmada.

Según Mc Cornick en el año 1983, su estudio realizado en perros muestra que los efectos de la difusión o filtración de materiales cáusticos al periodonto cervical puede cambiar el ph del medio, a uno ligeramente ácido y esto es óptimo para procesos de reabsorción de tejidos duros, este medio sería favorable para que los polimorfonucleares, neutrófilos y los osteoclastos elaboren hidrolasas ácida responsables de la desmineralización de los componentes del tejido duro, iniciándose así el proceso de reabsorción inflamatoria.

En 1989, Haywood y Heymann describieron una investigación realizada con peróxido de carbamida, comunicaron resultados favorables y en 1990 realizaron un estudio in vitro que les permitió llegar a la conclusión de que este compuesto no alteraba la superficie ni la estructura dentaria.

Anitua y Gascon en 1992 recomiendan el uso de la combinación de peróxido de carbamida con perborato de Na.

En 1997, Mestanza C. En su estudio en premolares in vitro utiliza el peróxido de carbamida al 16% para tratar discromías dentales en piezas no vitales que no tienen fácil acceso a la cámara pulpar y ya en 1999, Barrancos Money sugiere como tratamiento intracoronario alternativo al peróxido de carbamida al 35% en el consultorio por media hora y una mezcla de peróxido de carbamida al 15% con perborato de sodio para un tratamiento ambulatorio. (Ros M, et al. 2005)

Agentes clareadores

En la actualidad son dos los agentes clareadores más usados por los dentistas, se trata del peróxido de hidrógeno y el peróxido de carbamida, este último es un producto derivado de la urea y el peróxido de hidrógeno. (Joiner A, 2006). En los dos casos se pueden encontrar en el mercado en una alta variedad de productos y formulaciones, usándose principalmente el peróxido de hidrógeno para técnicas In office (o en consultorio) y el peróxido de carbamida para técnicas de uso domiciliario.

Ambos agentes no son equivalentes en concentración, donde un peróxido de hidrógeno 3,6% es similar al peróxido de carbamida al 10%, sin embargo, en general la eficacia de ambos agentes es semejante mientras se conserven estas proporciones en cuanto a formato de producto y formulación. (Joiner A, 2004)

Existen también otros agentes usados como clareador en la literatura, como el percarbonato de sodio, (Date R, et al. 2003) y el clorito de sodio, (Attin T, et al. 2004). Sin embargo no existe la evidencia que sustente estos productos con resultados significativos en cuanto a su eficacia. (Joiner A, 2006).

La acción química de los agentes clareadores es la de oxidar compuestos orgánicos que poseen extensas cadenas conjugadas de enlaces simples y dobles, los cuales reciben el nombre de cromóforos. La reacción de oxidación ocurre destruyendo uno por uno los dobles enlaces de los cromóforos y mediante variados mecanismos en los cuales interviene la temperatura, pH, luz y la presencia de metales. Bajo condiciones alcalinas el que actúa principalmente es el ion peróxido (HO_2^-). Otras condiciones llevan a la formación de radicales libres (O-H) y (O-O). (Joiner A, 2006).

Otro aspecto muy importante en las técnicas de clareamiento son los factores concentración del clareador y el tiempo en que está en contacto con la superficie dentaria.

En cuanto a la concentración esta es inversamente proporcional al número de aplicaciones, donde a mayor concentración, menor número de aplicaciones y menor tiempo requerido, (Suliman M, et al, 2004) y (Leonard R, et al. 1998). La concentración y el tiempo están estrechamente ligados y hay una gran gama de productos en el mercado que entrelazan estos factores para lograr eficacia y atender a lo que el paciente requiere.

También hay otros mecanismos, luz y temperatura, que se han usado para mejorar la efectividad de la aplicación de los peróxidos y disminuir tanto los tiempos de uso, como número de aplicaciones o concentración, sin embargo el uso de calor excesivo, promueve daño pulpar irreversible con la aparición de patología pulpar (Eldeniz A, 2005) y el uso de luz si bien aumenta un tanto la eficacia del tratamiento con algunas tinciones específicas, su uso aun es controversial en relación a costo beneficio.

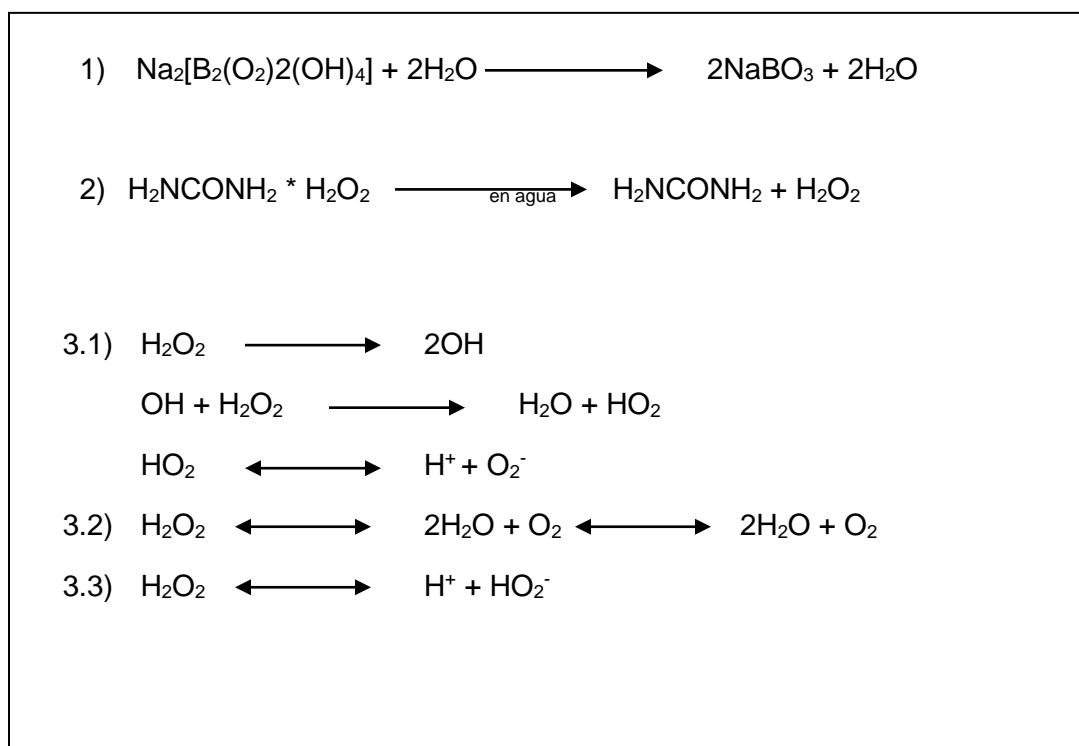


Figura 5: Formación de peróxido de hidrógeno desde perborato de sodio (ecuación 1) y desde peróxido de carbamida (ecuación 2). El peróxido de hidrógeno forma radicales libres hidroxilo, perhidroxilo y aniones superóxidos (ecuación 3.1), las moléculas oxido reactivas que son inestables se transforman en oxido (ecuación 3.2) y en aniones de peróxido de hidrógeno (ecuación 3.3). (Galleguillos, P. (2008) Efecto del clareamiento dental in vitro sobre el tejido coronario. Tesis de título.)

Efectos adversos generales

Reabsorciones cervicales, inflamación en tejidos periodontales y dientes jóvenes.

Debido al mayor diámetro que presentan los túbulos de dentina en dientes jóvenes, se le facilita a través de estos, el paso a la solución blanqueadora hacia los tejidos periodontales y de este modo se produce la reabsorción cervical externa. (Lozada, N. 2000). Kehoe en 1987 demostró que al ponerse en contacto los agentes blanqueadores con la zona inferior a la unión cemento – esmalte, se produce un cambio de pH que podría contribuir a la inflamación y la reabsorción externa del diente.

Sensibilidad en los tejidos blandos

Clínicamente, no se producen con gran frecuencia problemas en los tejidos blandos, sin embargo la mayor proporción de ocurrencia de estos episodios de irritación de la encía o mucosa, se da en la fase inicial del tratamiento. Varios autores como Meneghini en 1979 y Larjava en 1984 reportaron que los fibroblastos gingivales son afectados por el peróxido de hidrógeno. De igual forma Tipton y colaboradores en 1995, concluyen que el peróxido de carbamida también es citotóxico para los fibroblastos gingivales, produciendo así efectos adversos en la viabilidad, morfología celular, en la proliferación y producción de fibronectina y colágeno, los cuales se ven significativamente reducidos. (Lozada, N. 2000).

Para tratamientos en casa se debe verificar la correcta adaptación de la cubeta para evitar estos problemas. En los tratamientos en consultorio, por la mayor concentración de peróxido usado se debe proteger el periodonto con un buen aislamiento absoluto o utilizar los materiales que en el mercado existen para tal fin.

Sensibilidad dentaria

La sensibilidad dental esta relaciona con el paso de los peróxidos a través del esmalte y dentina, los cuales generarían irritación pulpar con el consiguiente aumento en la sensibilidad (Feinman, R. 1995). Es por esto que no se recomienda el tratamiento con peróxidos en pacientes con hipersensibilidad dentaria no controlada.

Los pacientes refieren padecer sensibilidad dentaria hasta una semana después del tratamiento clareador, esta se ve claramente aumentada al usar soluciones de mayor concentración, las que son usadas para efectos más rápidos. (Haywood, V. 1997).

El efecto secundario más frecuente en tratamientos para uso en casa es la sensibilidad dental a los cambios de temperatura en la primera hora luego de

remover el protector, esto, según Croll en 1987 se da por a la naturaleza de libertad de difusión del material, más que al bajo pH de la solución.

Efectos sobre los tejidos duros del diente

La mayoría de los autores concluyen que los agentes blanqueadores de uso casero o en consultorio, causan desmineralización por la desnaturalización de las proteínas, pérdida del contenido mineral del esmalte e incremento de las reacciones radicalarias (peróxido de hidrógeno-alta concentración) (Cavalli et al 2004), pérdida del contenido de calcio (Al-Salehi, 2007), fosfato, sulfuro, potasio, magnesio, flúor, disminución de la relación calcio- fosfato aún en presencia de saliva, flúor o haciendo control de placa, (Cavalli et al 2004) disolución de fosfato y aumento del contenido de zinc. Como cada elemento en el diente tiene una fuerte afinidad por el oxígeno para formar óxidos, este es más rápidamente ionizado y eliminado del diente cuando está en una solución rica de oxígeno como es el peróxido de hidrógeno (Lee, K. et al. 2006).

Milnar, Cabrera y Azrak et al, afirman que el esmalte dental puede sufrir una pérdida de minerales asociada al procedimiento de blanqueamiento dental, que se acentúa al disminuir el pH. De igual modo, la tasa de concentración de fosfato y calcio disminuye, alterando el componente orgánico de la matriz del esmalte, la cual está acompañada de cambios estructurales con presencia de estrías, alteraciones de la capa aprismática y un aumento de la rugosidad superficial (Azrak et al., 2010) Se ha reportado que, dependiendo de la concentración de peróxido de hidrógeno, el pH varía; en concentraciones menores al 5% en solución, el pH es ligeramente ácido, mientras que con una concentración del 35% el pH disminuye notablemente. Esta característica ácida, su fácil degradación y la posibilidad de reacción con moléculas orgánicas determinan su citotoxicidad. Por lo tanto, con un peróxido de alta concentración, hay mayor producción de radicales y el pH será menor, lo que conlleva tener un alto potencial desmineralizante para los tejidos duros del diente y un mayor potencial desnaturalizante para la fase orgánica del esmalte. (Azrak et al. 2010) (Cimilli H, Pameijer CH, 2001)

Servecan F. y col estudiaron los cambios en el contenido mineral, la matriz orgánica y las estructuras proteicas del esmalte y dentina humana tratadas con peróxido de carbamida al 17% y peróxido de hidrógeno al 38%. Los resultados indican que el peróxido de hidrógeno al 38% causó una significativa desmineralización por la desnaturalización de las proteínas y una disminución de la concentración de las proteínas, los polisacáridos y la relación mineral/proteína. No se

observaron cambios cuantitativos ni macromoleculares en la matriz ni en el contenido inorgánico con peróxido de carbamida al 17%.

Morfología de esmalte y dentina

Hay cierta controversia con respecto a cambios significativos provocados por peróxidos en la morfología y superficie del esmalte dental, cierta evidencia concluye que el tratamiento clareador no produce cambios a nivel superficial en los tejidos duros del diente. Sin embargo otros hallazgos señalan un leve aumento en la porosidad del esmalte inmediatamente posterior al tratamiento de 14 días con peróxido de carbamida 10%, el cual se revierte 3 meses después (Turkun, M. 2002). Muchos de estos resultados ambiguos se pueden explicar por los diferentes protocolos de experimentación y a la falta de recreación con condiciones naturales intra orales, de hecho Justino et al. el 2004 demostraron que los efectos adversos que se producían en tratamientos de clareamiento exentos del uso de saliva, no se producían en dientes expuestos a saliva natural o en condiciones naturales, de acá la importancia del uso de saliva ya sea artificial o natural para el estudio in vitro de los efectos de los agentes clareadores.

Otro factor muy importante es el pH del agente clareador, en el cual, se demuestra que mientras más bajo es este, los resultados en cuanto a erosión y cambio superficial en esmalte se acrecientan, sin embargo lo más probable es que los estudios que utilizan productos o soluciones con pH relativamente bajo, describen probablemente la erosión causada más por lo ácido de la solución, que por los efectos de los peróxidos. (Joiner, A. 2007).

En general, la mayoría de los estudios indican que los productos que contienen tanto peróxido de hidrógeno o carbamida, no tienen efectos significativos en cuanto a la morfología de esmalte y dentina, incluso si se usan productos de mayores concentraciones. (Joiner, A. 2007).

Microdureza superficial (MDS) de esmalte y dentina

La medición de la microdureza superficial es un método simple para la determinación de las propiedades mecánicas de la superficie del esmalte y la dentina, está relacionada con la pérdida o ganancia de mineral de los tejidos duros dentales.

En múltiples estudios se ha demostrado que los productos clareadores no tienen un resultado significativo sobre la MDS, de hecho un tratamiento con peróxido de hidrógeno 35% en esmalte humano, no mostró ninguna reducción significativa de MDS. (Suliman, M. 2004). Sin embargo otros autores obtienen resultados diferentes en donde la MDS se ve reducida.

Para mejorar la MDS los estudios sugieren la aplicación de fluoruros en el vehículo que sea, además que el uso del peróxido de carbamida genera condiciones más favorables para el esmalte. (Attin, T. et al. 2009)

Subsuperficie de esmalte y dentina

Dado que el peróxido se difundirán a través del esmalte hacia la unión esmalte - dentina, algunos estudios han investigado los efectos de los agentes blanqueadores en la subsuperficie de esmalte y dentina, este efecto del clareamiento ha sido estudiado con dientes enteros o fragmentos, que luego son cortados y pulidos para revelar el esmalte debajo de la superficie interna y áreas de dentina, según esto, en general los estudios publicados indican que los peróxidos de hidrógeno o carbamida no tienen efectos nocivos significativos sobre la subsuperficie del esmalte y la microdureza o ultraestructura de la dentina. (Joiner, A. 2007).

IV.- DESMINERALIZACIÓN Y REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE

Desmineralización del esmalte

Se define como la pérdida o disminución de minerales del esmalte por ataques ácidos, erosión, adhesión y blanqueamiento. Se inicia por la ionización del fosfato de la apatita del esmalte, liberando calcio. (Bizhang et al, 2006) Es preciso indicar que esto es un proceso dinámico, entre la superficie del esmalte, el fluido del biofilm y la saliva. Una vez que se ingieren carbohidratos fermentables, se producirán ácidos, los cuales, al bajar el pH iniciarán la desmineralización. Esta actividad metabólica del biofilm no puede ser evitado pero si controlado (Kidd, E y Fejerskov, O. 2008)

Dentro de las lesiones tempranas, podemos describir 4 zonas: translúcida, oscura, cuerpo de la lesión y zona superficial.

La zona translúcida se encuentra localizada en el área más profunda de la lesión. La remoción de minerales del esmalte produce un espacio que crea una región translúcida. Por lo general esta zona solamente puede ser observada con microscopio de luz polarizada, en el que se ve una parte de esmalte mucho más poroso que el esmalte normal. La zona oscura es la segunda en orden de profundidad y al ser observada al microscopio de luz polarizada (teñida con un pigmento) se ve de color oscuro.

El cuerpo de la lesión es la zona más grande y es un reservorio desorganizado de minerales que han sido removidos de la estructura de los cristales de hidroxiapatita. La zona superficial es la que menos minerales ha perdido en el

proceso de desmineralización, ya que al estar en contacto con la saliva es menor la pérdida de minerales (Carrillo, C. 2010)

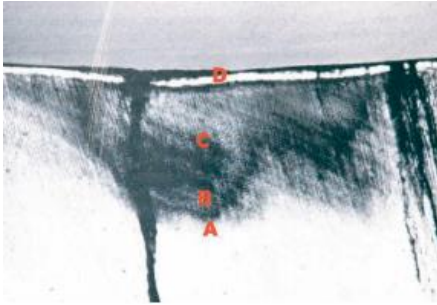


Figura 6: Lesión incipiente de esmalte bajo agua en MOLP. (a) Zona translúcida, (b) Zona oscura, (c) Cuerpo de la lesión y (d) Zona superficial

Remineralización

Los expertos han definido al proceso de remineralización como “Cualquier modificación de las estructuras duras del diente por inclusión de minerales en su interior, cuando previamente han sido desmineralizados” (Gomez, S. 2010)

Otra definición es la dada por Torres C. (2010) “Remineralización es el proceso de precipitación de calcio, fosfatos y otros iones en el esmalte parcialmente desmineralizado. Los iones pueden proceder de la disolución de tejido desmineralizado, de una fuente externa o la combinación de ambas”.

Este proceso debe ocurrir bajo un pH neutro o básico, condición en la cual los minerales se precipitan en los defectos del esmalte desmineralizado.

Rol de los fluoruros

El Flúor es representado en la tabla periódica con la letra F y con número atómico 9, pertenece a la familia de los halógenos y es el elemento más electronegativo y el elemento no metálico más reactivo.

El ion fluoruro es el trigésimo elemento más común en el planeta, y como es muy reactivo es muy raro encontrarlo en estado libre, por lo que normalmente esta combinado en sales de fluoruros como: Fluoruro de Calcio o fluorita (CaF_2), Fluoraluminio de sodio o criolita (Na_3AlF_6) y Fluorofosfato de calcio o fluorhidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$)



Figura 7: Cristal de Fluorapatita

De la fluorita y la criolita se obtiene la mayor cantidad de sales solubles de fluoruros para uso odontológico, siendo lo más común el Fluoruro de Sodio (NaF) y el Monofluorfosfato de Sodio (Na_2FPO_3)

Los expertos han señalado que los roles más significativos de los fluoruros son su habilidad para inhibir la desmineralización de esmalte y cemento y de promover la remineralización de estos, siendo esto último lo más importante clínicamente. (Gomez, S. 2010)

Si los fluoruros son aplicados de forma tópica en alta concentración, se depositan mayor cantidad de ion fluoruro sobre la capa superficial del esmalte, el cual reacciona con los iones de Calcio provenientes de la saliva y del esmalte formando fluoruro de calcio (Figura x), el cual precipita sobre el esmalte.

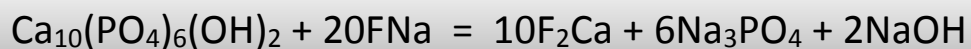


Figura 8: Reacción de fluoruro de sodio formando Fluoruro de Calcio

A partir del fluoruro de calcio, se produce el intercambio con la hidroxiapatita, reemplazando su grupo hidroxilo por fluoruros formando la fluorhidroxiapatita, la cual es más estable y permanente, aumentando la resistencia del esmalte superficial a la desmineralización. (Gomez, S. 2010)

Se pueden encontrar 5 mecanismos por el cual se incorporan los fluoruros a la hidroxiapatita:

- Adsorción: Captación no específica sobre el cristal por fuerzas electrónicas de los iones, es rápido y fácilmente reversible en las primeras horas de exposición a fluoruros.
- Intercambio: se produce un intercambio heteroiónico entre los fluoruros y el grupo hidroxilo de la hidroxiapatita. Este intercambio aumenta la resistencia a la disolución ácida de los cristales.

- Recristalización: Proceso lento en el cual se incorporan grandes cantidades de fluoruros.
- Precipitación: El crecimiento del cristal ocurre por decantación de iones calcio, fosfatos y fluoruros presentes en el medio.
- Acreción: Se denomina así a la adquisición de fluoruros durante la amelogenesis.

Aplicación tópica de los fluoruros

Los fluoruros podemos encontrarlos de diferente forma en el mercado para ser aplicados a los pacientes, entre ellas las más importantes son: Barnices fluorados, colutorios fluorados, geles fluorados y dentífricos fluorados.

- Barnices Fluorados: Tenemos el fluoruro de silano al 0,1% (1000ppm) y el **barniz de fluoruro de sodio al 5%** (22.600 ppm) (Ekenbäck et al., 2000). Aparentemente son de alto costo, pero si son bien utilizados pueden superar en su eficacia a los sellantes de fosas y fisuras en la relación costo beneficio.
- Colutorios fluorados: En las últimas décadas los colutorios han sido ampliamente usados como método de prevención masivo en poblaciones escolares, por su gran relación costo beneficio. Se pueden encontrar en soluciones al 0,9% (910 ppm) y en 0,05% (226 ppm). Los estudios demuestran que la eficacia de los enjuagatorios reduce la incidencia de caries por sobre el 30% en comparación a grupos controles.
- Geles Fluorados: Son geles acidulados de alta concentración de fluoruros. No son los más eficientes ni más eficaces, pero si son uno de los más aceptados por los odontólogos.
- Dentífricos fluorados: Podemos encontrar pastas desde los 400 a los 5000 ppm. Es altamente documentada su habilidad en el control de la caries dental, siendo reconocido como el método más simple del control de ésta. Su eficacia puede alcanzar un 40%.
Existe una relación proporcional entre la cantidad de fluoruros y la acción cariostática en donde a mayor cantidad de fluoruros (500ppm) mayor efecto remineralizante y menor incidencia de caries.



Figura 9: Imagen de referencia de un dentrífico fluorado (Caristop pasta dental 2500ppm - MAVER) y un barniz fluorado (Vanish™ 5% Sodium Fluoride White Varnish with Tri-Calcium Phosphate – 3M ESPE)

V.- MICROSCOPIA ÓPTICA DE LUZ POLARIZADA

Microscopia de luz polarizada es una técnica de mejora del contraste, que puede ser utilizada tanto para el análisis cuantitativo y cualitativo de muestras ópticas anisotrópicas. Estos microscopios utilizan técnicas convencionales, pero deben estar equipados con un polarizador colocado en la trayectoria de la luz antes de la muestra y un analizador posterior a esta. De este modo se produce la interacción de la luz polarizada en un plano con una muestra birrefringente (con doble refracción), que genera un contraste de imagen. (Olympusmicro, 2013)

Polarización de la luz

Cuando la luz viaja a través de un material polarizador lineal, se selecciona un plano de vibración y se pasa por el polarizador, mientras que los vectores de campo eléctrico que vibran en todas las demás orientaciones se bloquean. La luz polarizada linealmente es transmitida a través de un polarizador, la que puede pasar o ser absorbida por un segundo polarizador, dependiendo del vector eléctrico de la orientación de transmisión de la segunda materia polarizante.

Birrefringencia óptica (doble refracción)

Los primeros indicios de la existencia de la luz polarizada surgieron hacia 1669, cuando Erasmus Bartholin descubrió que los cristales del espato de Islandia (una variedad transparente e incolora de calcita) producen una doble imagen cuando

los objetos son vistos a través de los cristales de la luz transmitida. (Olympusmicro, 2013)

Los cristales anisotrópicos tienen cristalográficamente distintos ejes e interactúan con la luz de manera que es dependiente de la orientación del enrejado cristalino con respecto a la luz incidente. Cuando la luz entra a ejes no equivalentes en un cristal anisotrópico, esta es refractada en dos rayos cada uno polarizado con direcciones de vibración perpendiculares y con diferentes velocidades, este fenómeno se conoce como birrefringencia. (Galleguillos, P. 2008)

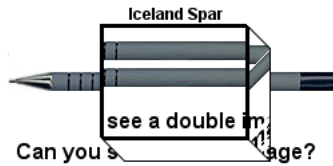


Figura 10: Se muestra la doble refracción de un cristal de espato de Islandia sobre un bolígrafo y texto.

HIPÓTESIS

El fluoruro de Sodio 5% generará remineralización en los dientes clareados con peróxido de hidrógeno 35%

OBJETIVOS

- General: Describir los cambios ocurridos en el esmalte mediante el uso de NaF 5% en dientes desmineralizados post clareamiento.
- Específicos:
 - Comprobar la ausencia de alteraciones estructurales en el grupo control sano.
 - Comprobar la presencia de alteraciones en la estructura del esmalte luego de la aplicación de H₂O₂ 35% como agente clareador.
 - Analizar la presencia o ausencia de remineralización luego de aplicar NaF 5% sobre el esmalte alterado post clareamiento con H₂O₂ 35%.

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES

1. Diseño del estudio

Se trata de un estudio experimental de tipo descriptivo. Categorizado como desarrollo de tratamiento mediante productos farmacéuticos en HRCS (5.1), que en este caso es el agente remineralizante (NaF).

Cuenta con 3 grupos de estudio, uno será un grupo control (G1), otro será intervenido con peróxido de hidrógeno 35% (G2), y por último uno con peróxido de hidrógeno 35% y posteriormente la inclusión en fluoruro de sodio 5% (G3).

G1: contara con 10 dientes, (control)

G2: contara con 10 dientes, (solo Peróxido)

G3: contara con 10 dientes, (Peróxido + Flúor)

Los dientes expuestos al peróxido de Hidrógeno 35% (G2 y G3) serán cubiertos totalmente por este durante 35 minutos en un horno de temperatura constante a 37° C. Posterior a esto los dientes del grupo 3 (G3) serán cubiertos completamente con fluoruro de sodio 5% y serán puestos en el horno a 37° C por 35 minutos.

2. Universo

30 premolares extraídos por indicación de ortodoncia en consultorios de Valparaíso y Salamanca durante enero y febrero del 2014, los que cumplieran con el requisito de no tener fracturas, caries, tinciones, ni obturaciones.

3. Muestra

Nuestro propósito fue utilizar un número de muestra similar a la de los estudios tomados como referencia. Se estableció que según las limitaciones que se presentaron, principalmente el alto valor del corte, desgaste y observación de las muestras bajo el microscopio óptico de luz polarizada, la muestra al azar debía ser de un tamaño de 10 dientes para todos los grupos.

4. Criterios de inclusión

Premolares extraídos por indicación de ortodoncia.

5. Criterios de exclusión

Premolares que presenten líneas de fracturas, caries, tinciones, o algún defecto de esmalte tal como fluorosis, hipoplasias, hipocalcificación, etc.

6. Variables

Fase Uno:

Nombre de la variable	Variable dependiente/independiente	Escala	Tipo de variable
Tratamiento con peróxido de hidrógeno 35%	Independiente	Si/No	Cualitativa nominal
Desmineralización	Dependiente	Si/No	Cualitativa nominal

Tabla I: Resumen de variables mencionadas en la fase uno del estudio

Fase Dos:

Nombre de la variable	Variable dependiente/independiente	Escala	Tipo de variable
Tratamiento con NaF 5%	Independiente	Si/No	Cualitativa nominal
Remineralización	Dependiente	Si/No	Cualitativa nominal

Tabla II: Resumen de variables mencionadas en la fase dos del estudio

Tratamiento con peróxido de hidrógeno 35%: Aplicación de peróxido de hidrógeno al 35% (recetario magistral) según protocolos de productos comerciales (*Pola Office (SDI)*).

Desmineralización: Cambio en la birrefringencia natural, desde negativa a positiva.

Tratamiento con NaF 5%: Aplicación de NaF 5% (Recetario magistral) por 35 minutos.

Remineralización: Cambio en la birrefringencia positiva (desmineralización) a birrefringencia negativa.

7. Análisis de datos

Se utilizará la descripción de las muestras, con una variable cualitativa de desmineralización y Remineralización respectivamente, en la que se determinará presencia o no del efecto. Para esto se utilizara el test de X^2 con el fin de buscar dependencia entre las variables.

MÉTODOS

1.- Almacenamiento

Los dientes recién extraídos se almacenaran en un frasco (40 ml) tabulado, en el cual se indicara día de la extracción y la edad del paciente.

Los dientes una vez extraídos se cepillaran, lavaran con suero fisiológico y esterilizaran en autoclave, luego serán almacenados enteros, con azida de sodio, en un lugar refrigerado con una temperatura de 1° a 4° C (Figura 11).



Figura 11: Muestras almacenadas en azida de sodio, con fecha de exodoncia y edad

2.- Preparación de la muestra

Los 20 dientes (G2 + G3) serán puestos individualmente en compartimientos tipo pastillero, los cuales estarán con peróxido de Hidrógeno 35% en gel suficiente para cubrirlos completamente durante 35 minutos. Para esto los dientes fueron puestos en una rejilla de plástico y sujetos por su ápice con la ayuda de silicona pesada (Marca: *Precise* de la Densply) para poder sumergir todos al mismo tiempo.

Una vez retirados del agente clareador se lavaran profusamente con agua destilada durante 1 minuto cada uno y se elegirán 10 de estos al azar para ser llevados a otro compartimento tipo pastillero, el cual contendrá el flúor 5% tipo gel, en el cual se incluirán completamente por 35 minutos.

Este grupo (G3) también será lavado profusamente con agua destilada para remover el gel de flúor.

Las muestras o especímenes después de cada tratamiento, serán lavados profusamente en agua destilada de alta pureza (10 veces).



Figura 12: Se muestra el proceso seguido en el estudio

Cada espécimen se cubre con película de Parafilm “M” (Laboratory film Chicago Illinois 60631) para proteger al diente, luego se incluyen en metilmetacrilato hasta que polimeriza. Una vez que el acrílico este polimerizado se realizaran cortes transversales de la corona de los dientes con una maquina cortadora para tejido mineralizado (Isomet 1000 Bueler), con disco diamante y refrigeración constante.

De cada espécimen se obtendrán 3 a 4 cortes, cada corte de 0,5 mm de espesor, este es colocado en un porta objeto con resina de montaje histológico (Eukitt). Una vez seco y los cortes adheridos se desgastan con disco de diamante de 600 grit y bajo refrigeración constante o papel de lija al agua (Norton) de 1600 grit. Para finalizar se montan como preparación histológica y se observan en el microscopio óptico de luz polarizada.

Cabe destacar que previo a esto, se realizaron 3 pruebas pilotos para elegir el mejor método para observar las muestras, uno de ellos fue el que describimos, otro fue usando nitrato de plata como tinción y por último intentamos con tinción de azul de toluidina.

3.- Imágenes histológicas

Por transiluminación, se harán en microscopio Zeiss Axio Star con aumento de 5x y 10x, usando iluminación de luz polarizada.

Las fotos se toman con cámara digital refrigerada (Q imagine) y estas se guardan como archivos thif o jpg.

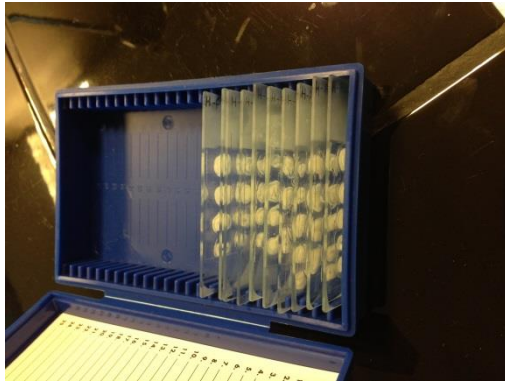


Figura 13: Muestras listas para ser observadas en el MOLP

4.- Morfometría

Las imágenes con aumentos estandarizados, se analizarán mediante software Axio Visión 4.7, las cuales se calibrarán con una regla micrometrada (Zeiss) para tomar mediciones.

Resultados

Para analizar los resultados, partiremos describiendo las imágenes obtenidas (las más representativas) de cada grupo, es decir, control sano, control con peróxido de hidrógeno a 35% y grupo con tratamiento de peróxido de hidrógeno 35% y posterior aplicación de fluoruro de sodio 5%.

Descripción grupo control sano (G1):

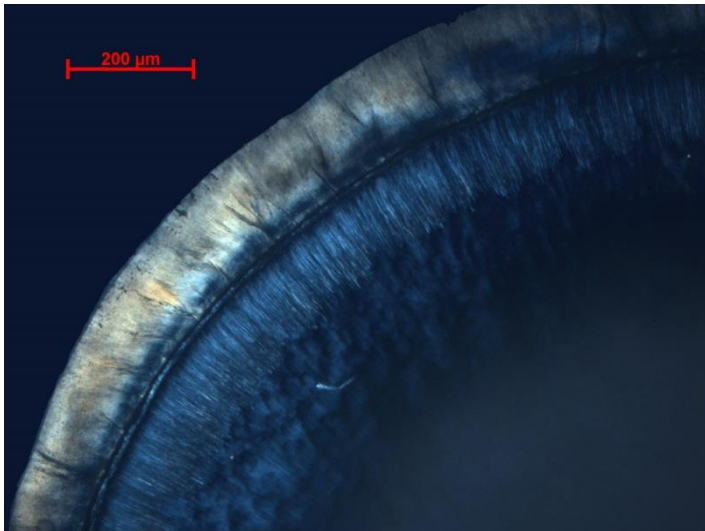


Figura 14: Foto control sano 5x

En este grupo, se puede observar esmalte dental sano, el cual, como característica propia, tiene birrefringencia negativa en todo su espesor.

En los dos tercios internos se pueden apreciar las bandas de Hunter Schreger, las cuales tienen un pequeño cambio en la birrefringencia más positiva por la decusación (entrecruzamiento) de los prisma. (Figura 14)

Cabe destacar que de todas las muestras de este grupo, una presenta cierto grado de cambio en la birrefringencia natural de negativa a positiva, lo cual indicaría un grado de desmineralización el cual está dado por el azar y por el componente biológico y físico individual del paciente del cual se obtuvo la muestra.

En una imagen con mayor aumento (10x), se puede apreciar que los prismas de esmalte están ubicados de forma paralela, siguiendo un camino sinuoso, llegando de forma perpendicular a la superficie. Incluso en algunas muestras se pueden observar las líneas incrementales o estrías de Retzius (Figura 15).

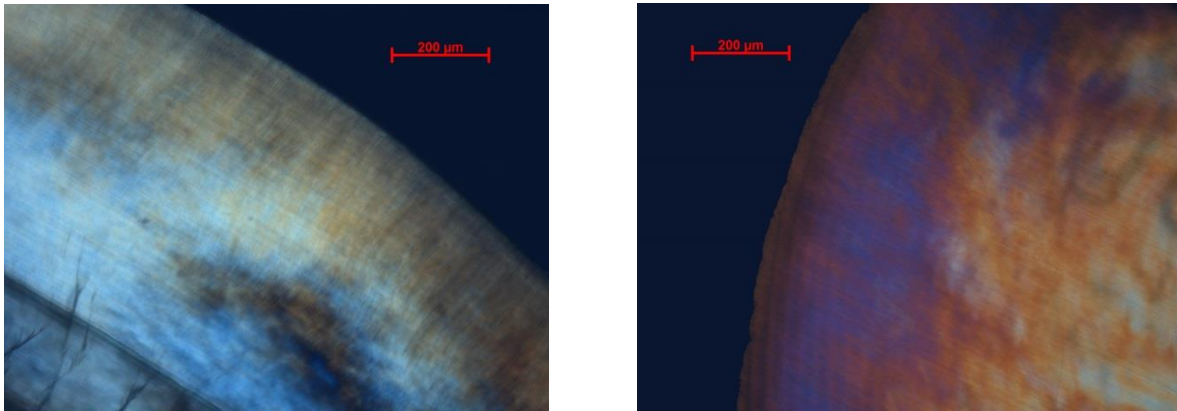


Figura 15: Foto control sano 10x

Descripción grupo control con Peróxido de Hidrógeno 35% (G2):

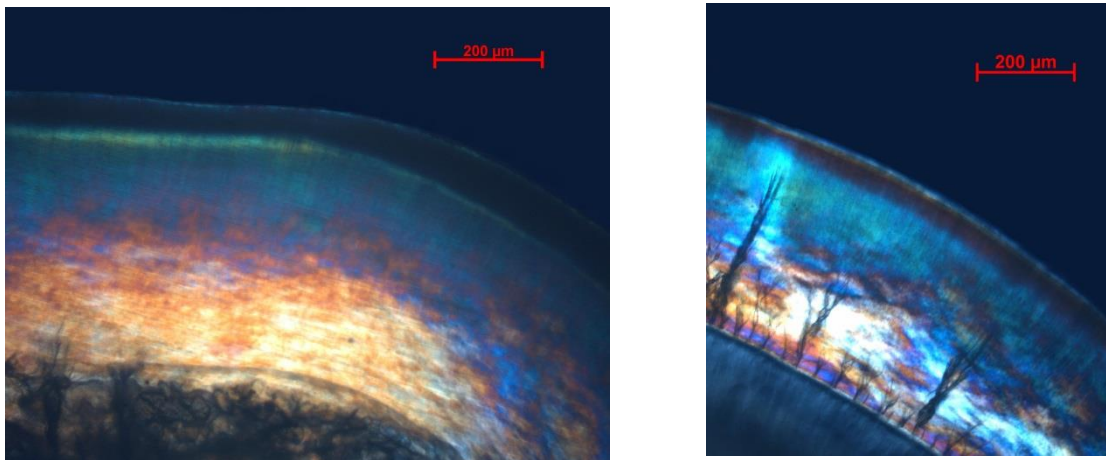
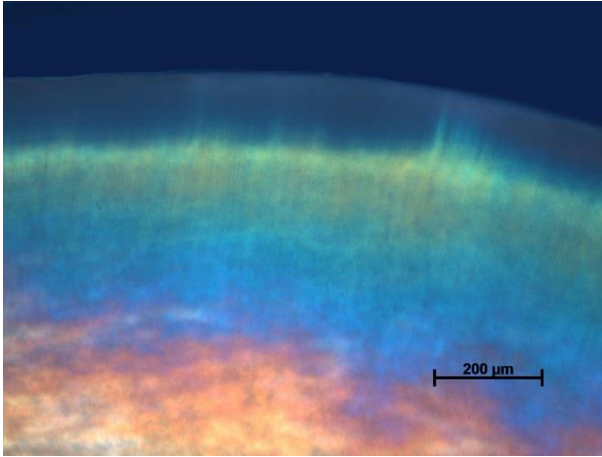


Figura 16: Control con peróxido de hidrógeno 35% (5x)

Se pueden apreciar los mismos elementos que en los dientes no tratados, vale decir, las bandas de Hunter Schreger y los prismas de esmalte que siguen el mismo patrón observados anteriormente.

En la zona más externa, se puede observar una delgada zona superficial de birrefringencia negativa, sobre una zona de espesor variable (de 110,2 μ m promedio) con birrefringencia positiva (zona oscura). Hacia el interior del esmalte la birrefringencia vuelve a ser negativa (Figura 16).



En imágenes con aumento de 10x se pueden ver diferencias entre los prismas de la zona más interna del esmalte, los cuales van desapareciendo a medida que se acercan a la zona más externa de birrefringencia positiva (Figura 17).

Figura 17: Control con peróxido de hidrógeno 35% (10x)

Descripción grupo experimental con tratamiento de peróxido de hidrógeno 35% y posterior aplicación de fluoruro de sodio 5% (G3)

Al igual que en las muestras del grupo control sano y con peróxido de hidrógeno 35%, se pueden apreciar las bandas de Hunter Schreger y los prismas de esmalte, los cuales siguen el mismo patrón ya observado.

En las muestras con aumento 5x, se puede evidenciar en la parte externa del esmalte, una zona con birrefringencia variable entre negativa y positiva difusa, de espesor irregular (57,56 μm promedio), asemejando una imagen moteada (Figura 18).

En la figura x3 (a) Se pueden apreciar laminillas o microfisuras del esmalte, las cuales se aprecian con una birrefringencia positiva.

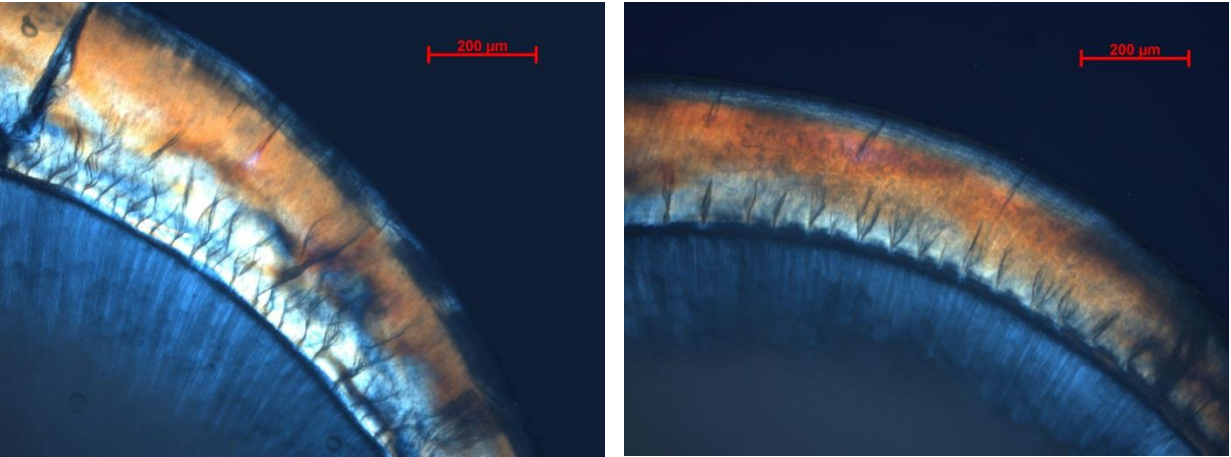


Figura 18: Grupo experimental (5x)

En las imágenes de 10x se puede apreciar diferencias en el esmalte desde la parte más interna a la zona más externa. Las cuatro quintas partes del esmalte, desde adentro hacia afuera, se aprecia normal con una birrefringencia negativa, luego viene una zona variable de birrefringencia positiva, y posteriormente se vuelve a presentar una zona irregular y de espesor variable de birrefringencia negativa, la cual llega hasta el límite externo del esmalte.

En esta zona de birrefringencia negativa más externa, no se aprecian los prismas del esmalte, más bien, se observa una zona irregular sin un patrón determinado (Figura 19).

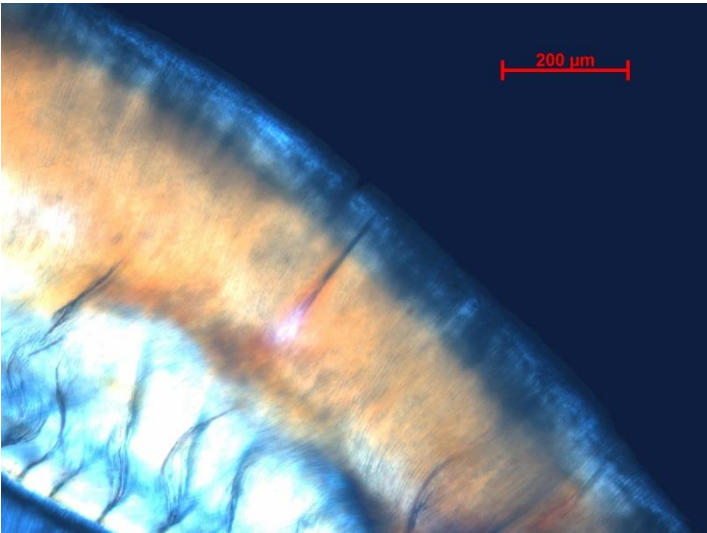


Figura 19: Grupo experimental 10x

Tabla de resultados

En la Tabla III se aprecia un resumen de los resultados obtenidos de la experimentación, luego de ser observadas todas las muestras en el microscopio.

Diente	Grupo	Estado
1	A	Sano
2	A	Sano
3	A	Sano
4	A	Desmineralizado
5	A	Sano
6	A	Sano
7	A	Sano
8	A	Sano
9	A	Sano
10	A	Sano
11	B	Desmineralizado
12	B	Desmineralizado
13	B	Desmineralizado
14	B	Sano
15	B	Sano
16	B	Sano
17	B	Desmineralizado
18	B	Desmineralizado
19	B	Desmineralizado
20	B	Desmineralizado
21	C	Remineralizado
22	C	Remineralizado
23	C	Remineralizado
24	C	Desmineralizado
25	C	Desmineralizado
26	C	Desmineralizado
27	C	Sano
28	C	Remineralizado
29	C	Desmineralizado
30	C	Desmineralizado

A: Grupo control Sano (G1) B: Grupo control H ₂ O ₂ 35% (G2) C: Grupo Experimental (G3)

Tabla III: Resultados obtenidos luego de la experimentación

En esta tabla III, se puede apreciar que el primer grupo (G1) o grupo control sano, solo un diente de 10 se encuentra afectado, el cual puede ser un hecho del azar. El segundo grupo (G2) solo tratado con H₂O₂ 35%, se puede observar que 7 de los 10 dientes sufrieron algún cambio en la birrefringencia del esmalte de negativa a positiva, y por último en el grupo experimental (G3) tratado con H₂O₂ 35% y luego aplicarle NaF 5%, podemos observar 5 dientes afectados con cambio en la birrefringencia de negativa a positiva, 4 dientes que se aprecia una zona difusa de birrefringencia positiva/negativa y 1 diente al cual no le ocurrió nada.

Análisis estadístico

En la descripción anterior se utilizaron promedios de las zonas afectadas del esmalte, estos fueron obtenidos en una medición al azar de 5 muestras por grupo, dando estos resultados:

Muestra	medición 1	medición 2	medición 3	medición 4	PROMEDIO
1	85,33	103,42	92,44	78,88	90,0175
2	122,65	132,48	133,46	131,96	130,1375
3	139,02	133,52	130,89	131,61	133,76
4	111,1	120,57	142,08	156,23	132,495
5	82,18	70,78	49,21	56,26	64,6075
					110,2035

Tabla IV: Medición de efecto de H₂O₂ 35%

Muestra	medición 1	medición 2	medición 3	medición 4	PROMEDIO
1	87,65	89,57	93,68	99,21	92,5275
2	49,48	57,63	62,95	7,81	44,4675
3	46,75	50,43	43,28	33,64	43,525
4	50,12	65,5	66,72	58,27	60,1525
5	48,8	27,07	49,71	62,91	47,1225
					57,559

Tabla V: Medición de efecto del NaF 5% luego de H₂O₂ 35%

Se aplicó un test de normalidad para ver la distribución de las muestras, el test utilizado fue el test *Shapiro-Wilk* el cual nos dio como resultado que las variables siguen una distribución distinta a lo normal, por lo cual podemos usar test tipo no paramétricos.

Al ser variables cualitativas y buscar la dependencia entre ellas, se utilizó el test o prueba χ^2 o "chi-cuadrado".

- Peróxido de Hidrógeno 35% produce desmineralización

H0: El uso de H₂O₂ 35% es independiente de la desmineralización del esmalte dental.

H1: El uso de H₂O₂ 35% es dependiente de la desmineralización del esmalte

Desmineralización			
H2O2 35%	SI	NO	
SI	7	3	10
NO	1	9	10
	8	12	

Tabla VI: Grupo control sano y Grupo control H₂O₂ valores observados

dental.

Sólo se analizaron las muestras de G1 y G2 para determinar si el peróxido de hidrógeno 35% genera o no desmineralización.

Con los valores de las tablas, el valor obtenido fue de $\chi^2 = 7,5$; este valor se comparó con el percentil de la distribución χ^2 con grado de libertad 1 y nivel de significancia del 5% el cual es de: $\chi^2 = 3.84$

Por lo tanto como el valor estadístico es superior al valor crítico, concluimos que debemos rechazar la hipótesis nula (H0) y por lo tanto asumir que existe relación entre el uso de Peróxido de hidrógeno 35% y desmineralización del esmalte.

- Fluoruro de sodio 5% produce remineralización en esmalte dental previamente clareado.

H0: El NaF 5% es independiente de la remineralización en esmalte dental clareado.

H1: El NaF 5% es dependiente de la remineralización en esmalte dental clareado.

Se analizaron los grupos G2 y G3 excluyendo los dientes sanos de cada grupo (que no se vio ningún efecto en las muestras).

Remineralización			
H ₂ O ₂ 35%	SI	NO	
NaF 5%	4	5	9
Sin NaF 5%	0	7	7
	4	12	

Tabla VII: Grupo contro H₂O₂ y Grupo experimental NaF valores obtenidos.

Con los datos presentados en las tablas, el valor obtenido fue $X^2 = 4,14$; este valor se comparó con el percentil de la distribución X^2 con grado de libertad 1 y nivel de significancia del 5% el cual es de: $X^2 = 3.84$

Por lo tanto como el valor estadístico es superior al valor crítico, concluimos que debemos rechazar la hipótesis nula (H0) y por lo tanto asumir que existe relación entre el uso de Fluoruro de sodio 5% y remineralización del esmalte dental clareado.

Discusión

El blanqueamiento dental está cada vez más de moda por los cambios en los estilos de vida y fuerte patrón estético en los cánones de belleza actuales, debido a esto han ido apareciendo en el mercado diferentes productos para acercar estos tratamientos a las personas.

Hasta hace un tiempo, eran considerados como uno de los tratamientos más conservadores por el profesional, ya que no se conocían muy bien los efectos nocivos que conllevaban. Es por esto que el tema ha sido estudiado por diferentes autores para evaluar la seguridad y posibles contras que pueden tener estos productos.

Este estudio utilizó peróxido de hidrógeno 35%, una de las mayores concentraciones de uso clínico. Es sabido que los cambios superficiales y subsuperficiales que provocan los agentes clareadores están directamente relacionados a su concentración, es decir que a mayor concentración de peróxido de hidrógeno, mayor es el efecto en el esmalte dental, tal es así que Cavalli (2004) y da Costa *et al.* (2012) señalan que con un peróxido de alta concentración, hay mayor producción de radicales libres y el pH disminuye, lo que conlleva tener un alto potencial desmineralizante para el esmalte. Cabe señalar además que como el esmalte no tiene capacidad de reparación biológica, los cambios provocados por agentes clareadores son sumativos, alterando su contenido mineral tal como se muestra en nuestro estudio.

En la mayoría de los estudios no se encontraron cambios, ya sean en morfología, microdureza superficial, química y ultraestructura, ya sea con peróxido de hidrógeno o carbamida a diferentes concentraciones (Suliman 2004; Worschech *et al.* 2003; Duschner *et al.* 2006; Joiner *et al.* 2004), además según Attin (2009) no hay efectos perjudiciales en un nivel macroscópico, como la fractura de los dientes o pérdida visible de tejido duro, sin embargo según las imágenes analizadas en el presente estudio si se verifican cambios a niveles superficiales y subsuperficiales, encontrándose profundidades de penetración del peróxido de en promedio 110 μm . En minoría algo parecido muestran los estudios *in vitro* de Borges *et al.* (2012) quienes si observan cambios en la superficie del esmalte, como la disminución de la microdureza de este.

El peróxido de hidrogeno tiene un alto poder oxidante, y esta capacidad puede darse tanto en estructuras orgánicas como inorgánicas, su acción es creada mediante la formulación de radicales libres, que en el caso de un clareamiento dental tienden a atacar a los cromóforos en primer lugar y como se comprueba en este

estudio, al esmalte dental. Este estudio viene a enriquecer los conocimientos de lo que puede suceder al realizar blanqueamientos cosméticos y la sumatoria de estos en el tiempo.

En la literatura tomada como marco referencial, los resultados son muchas veces controversiales y difieren de un autor al otro, según Joiner (2006) parte de esta literatura no es contundente, y estos temas merecen una mayor evaluación. Además esta multiplicidad de resultados se debe a las variadas metodologías, productos utilizados, concentraciones y propiedades químicas de los agentes clareadores. Además muchos de estos estudios no tomaron en cuenta las diferencias ultraestructurales entre esmalte dental humano y bovino, así como no tomaron en cuenta el factor de tiempo en boca del diente, la conservación y manipulación de estos durante el estudio. En el presente trabajo se tomaron en cuenta estos factores, por lo que se usaron dientes “jóvenes”, sin mucho tiempo en boca, se manipularon y almacenaron cuidando siempre la integridad del esmalte, sin embargo en cuanto a materiales y metodología utilizada los otros estudios pueden tener mayor valor estadístico dada la alta tecnología utilizada en los análisis y la mayor inversión.

Por todas estas razones es que la segunda parte, y más importante, de nuestro trabajo consistió en la aplicación de Fluoruro de sodio 5% sobre el esmalte dental clareado, con el fin de intentar contrarrestar los efectos nocivos que tiene el clareamiento con altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.

En diversos estudios se han referido a este tema avalando que si existe un efecto del fluoruro sobre el esmalte, el cual es protector (Attin *et al.* 2009, Martín *et al.* 2010, Borges *et al.* 2012).

Las soluciones fluoradas son un mecanismo hace muchos años conocido para la remineralización de lesiones en esmalte, según Monterde (2002) La presencia de los iones flúor en los fluidos bucales, aún en concentraciones bajas, es necesaria para obtener una protección contra la caries; a su vez la desmineralización provocada por los agentes clareadores es de similares características a la de las lesiones cariosas (Figura 20) por lo que la creación de nuevos protocolos en cuanto al uso de fluoruros en los tratamientos clareadores son necesarios, es por esto que según los resultados de nuestro estudio, el uso posterior al clareamiento de fluoruro de sodio en una alta concentración, sería favorable para contrarrestar los efectos adversos que los peróxidos causan sobre el esmalte dental, tal y como lo expresa Attin *et al.* (2009).

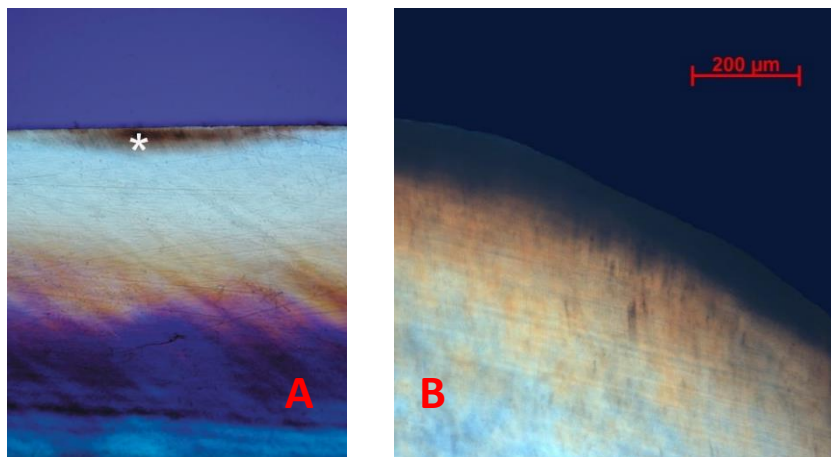


Figura 20

(A): Lesión insipiente de esmalte bajo agua en MOLP marcada con asterisco. (de Arruda. 2012)

(B): Esmalte tratado con H_2O_2 35%

Esta altamente estudiado que el mejor vehículo para la aplicación de flúor en los dientes es el barniz, según Gómez (2010) este vehículo ha dado los mejores resultados por su alta concentración y la gran sustentividad en el tiempo, como este es un estudio in vitro, hay muchas variables naturales que no se pueden reproducir, por lo que la utilización de un barniz complicaba de sobre manera la forma de manejar las muestras dada la gran adhesión que este presenta a la superficie dentaria, es por esto que se optó por otro vehículo como es el gel de fluoruro de sodio 5% (22600 ppm), enviado a preparar por recetario magistral, si bien en la literatura in situ no tiene tan buenos resultados como un barniz, para este tipo de estudio lo resuelto puede ser perfectamente extrapolable.

En algunos trabajos como el de Borges *et al.* (2012) se evidenció un aumento en la micro dureza del esmalte de forma significativa en comparación con el grupo control. Esto se debe a que los fluoruros se incorporan en la superficie del diente, formando una capa de fluoruro de calcio que aumenta los valores de dureza del esmalte.

En el presente estudio también se manifiestan cambios en el esmalte luego de la aplicación de Fluoruro de sodio, los cuales fueron observados en el MOLP y donde se evidencia una capa de variable espesor, distinta a lo observado normalmente, que puede ser interpretada como una precipitación de estos fluoruros dentro y por sobre la superficie del esmalte, esto se puede traducir en un aumento de la micro dureza. Tal y como lo propone Gómez (2010) y Monterde *et al.* (2002), quienes aseguran que la forma en que actúan los geles fluorados es por precipitación tanto en la superficie como en la subsuperficie.

Algunos autores como da Costa *et al.* 2012, indican que los fluoruros solo tendrán efectos dentro de las primeras 24Hrs, los cuales se perderán por procesos abrasivos a los cuales los dientes están expuestos. Estos hallazgos podrían ser justificadas por el contacto a corto plazo de los agentes remineralizantes con el esmalte. Se debe asumir que una sola aplicación no es suficiente para suministrar la cantidad suficiente de minerales para mantener la integridad y microdureza del esmalte. Al ser nuestro estudio *in vitro*, y no tener la acción de la saliva y mucho menos de la masticación, solo podemos extrapolar nuestros datos a lo observado acá por el hecho que el NaF 5% fue aplicado una sola vez, pero podríamos decir que esta es una de las limitaciones del estudio.

Otros estudios (Lewinsein *et al.* 2004, Bizhang *et al.* 2006) encontraron que la pérdida mineral del esmalte se redujo significativamente cuando se aplicó flúor tópico después del blanqueamiento

Sin duda la obtención de un resultado duradero en el tiempo es de vital importancia. Como esta evidenciado por Arruda (2012), el esmalte clareado aumenta su porosidad; así se asume el porqué de su cambio en valor, el cual es similar al del esmalte grabado con ácido orto fosfórico. Este hecho hace pensar que la aplicación de fluoruros posterior al clareamiento ayudaría a mantener los resultados estéticos obtenidos, sellando la porosidad, y de este modo evitando la adhesión de nuevos cromóforos sobre la superficie del esmalte, con el correspondiente beneficio para el paciente.

Para finalizar nuestra discusión es atingente indicar que en el grupo G1, o control sano, no se apreciaron efectos estadísticamente significativos, al igual que en todos los estudios vistos anteriormente, los cuales el almacenamiento de las muestras fue en distintos medios, como suero fisiológico, agua destilada o saliva artificial, sin encontrar cambios en ninguno de ellos.

Limitaciones:

Encontramos varias limitaciones en este estudio las cuales procedemos a enumerar

1. Los costos de este estudio son demasiado elevados, es por esto que la muestra no pudo ser más grande.
2. Dificil obtención de la muestra, ya que al recolectar los dientes varios de estos presentaban fracturas en el esmalte por el uso de fórceps, entre otros.
3. El no almacenar, o utilizar, en saliva artificial los dientes antes, durante o después del tratamiento al cual fueron expuestos.
4. Al ser estudio in vitro, no podemos evaluar el cambio de coloración y el efecto del NaF en el tiempo.
5. Los cortes histológicos fueron desgastados sin un espesor uniforme o estándar, por lo que la observación de algunos de éstos fue bastante difícil y puede llevar a error en los resultados.
6. Se utilizó un gel de NaF 5% y no un Barniz de NaF 5%, el cual es el vehículo más eficiente, pero para evitar cualquier tipo de sesgo por marca comercial, fue enviado a preparar por recetario magistral donde la única opción era gel.

CONCLUSIONES

En el marco de esta tesis, podemos concluir lo siguiente:

1. En las muestras no tratadas, grupo control sano, no se encontraron alteraciones estructurales excepto en una muestra la cual es producto del azar.
2. El peróxido de hidrógeno al 35% en gel, además del efecto clareador esperado, produce alteración estructural en el esmalte dentario al ser usado según los protocolos establecidos.
3. Al aplicar Fluoruro de sodio 5% gel en las muestras tratadas con H₂O₂ 35% se puede apreciar cierto grado de precipitación de fluoruros, lo cual se puede afirmar como un efecto protector del esmalte.

SUGERENCIAS

En la realización de esta tesis, surgieron varias ideas como invitación para nuevos estudios.

- Se propone usar dientes pigmentados para ver si el efecto sobre el esmate del agente clareador es distinto, por la mayor afinidad a los pigmentos.
- Sería pertinente y recomendado el estudio del efecto que tendría el fluoruro previo y/o durante el tratamiento clareador.
- Crear un protocolo de saliva artificial para estudios futuros, y el uso de esta en el almacenamiento y desarrollo del experimento.
- Sería interesante evaluar otro tipo de agente remineralizante de última generación y compararlo con el NaF 5%.
- Se sugiere la evaluación de un posible estudio in situ de la situación encontrada, utilizando dientes que tengan indicación de exodoncia.
- Resultaría conveniente aumentar la muestra utilizada para darle mayor validez a este tipo de estudios.
- Se deja abierta la posibilidad de realizar futuras investigaciones que aporten nuevas evidencias acerca de este tema.

RESUMEN

En los últimos tiempos la estética se ha ligado fuertemente a la odontología, es desde aquí donde nacen los tratamientos clareadores. Por esta razón es que se hace necesario analizar y describir lo que provocan estos tratamientos en el esmalte dental y si la aplicación de fluoruro de sodio 5% posterior a este tratamiento ayuda en la remineralización.

Materiales y método.

Se utilizaron 30 premolares completamente sanos, extraídos por indicación de exodoncia. Se crearon 3 grupos de 10 dientes cada uno donde:

- G1: control sano.
- G2: H₂O₂ 35% por 35 minutos
- G3: H₂O₂ 35% con posterior aplicación de NaF 5% por 35 minutos

Los grupos fueron cortados transversalmente y analizados bajo microscopio de luz polarizada.

Resultados.

Se puede apreciar que en G1, 9 dientes de 10 se encuentran sanos. En G2, 7 de los 10 dientes sufrieron desmineralización (birrefringencia de negativa a positiva), 110.2 µm promedio, en G3, 5 dientes desmineralizados, 4 dientes se aprecia una zona difusa de birrefringencia positiva/negativa (remineralización), 57.56 µm promedio y 1 diente sano. Se aplicó test X² para evaluar relación entre variables, donde hay relación significativa entre H₂O₂ y desmineralización, y entre NaF y remineralización.

Conclusiones.

En el grupo control sano, no se encontraron alteraciones estructurales.

El peróxido de hidrógeno al 35% en gel, produce alteración estructural en el esmalte dentario.

Al aplicar Fluoruro de sodio 5% gel en las muestras tratadas con H₂O₂ 35% se puede apreciar cierta precipitación de fluoruros, esto se puede afirmar como un efecto protector.

BIBLIOGRAFÍA

Al-Salehi SK, et al (2007) *The effect of 24 h non-stop hydrogen peroxide concentration on bovine enamel and dentine mineral content and microhardness. J Dent* 2007;35:845-850.

Aparecido J, Andaló L (2009) "Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions?" *Braz Oral Res* 2009;23(Spec Iss 1):23-30

Attin T, et al. (2004): "Influence of different bleaching systems on fracture toughness and hardness of enamel". *Operative Dentistry* 2004;29:188–95.

Attin, T. et al.: (2009) "Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: A review". *dental materials* 25 (2009) 143–157

Azer S, Hague A, Johnstona W (2008) "Effect of pH on tooth discoloration from food colorant in vitro". :10.1016/j.jdent.2010.07.014

Azrak B, et al. (2010) *Influence of bleaching agents on surface roughness of sound or eroded dental enamel specimens. J Esthet Restor Dent.* 2010 Dec; 22(6): 391-9.

Barrancos, J.; Barrancos, P. (2004) *Blanqueamiento –Operatoria Dental. Integración clínica, 4ta Ed. Ed. Médica Panamericana S.A. Buenos Aires. Argentina.*

Bistey T, et al. (2007) *In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. J Dent* 2007;35:325-330.

Bonilla V et al. (2007) "Alteraciones del Color de los Dientes". *REDOE Febrero del 2007.*

Borges, AB et al. (2010): "Influence of Remineralizing Gels on Bleached Enamel Microhardness In Different Time Intervals" *Operative Dentistry*, 2010, 35-2, 180-186

Cavalli, et al (2004) *Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. Dent Mater* 2004;20:733-739.

Cimilli H, Pameijer CH (2001) *Effect of carbamide peroxide bleaching agents on the physical properties and chemical composition of enamel. Am J Dent.* 2001 Apr; 14(2): 63-6.

Cochrane N, et al. (2010) "New Approaches to Enhanced Remineralization of Tooth Enamel" *J Dent Res* 89(11):1187-1197, 2010

Da Costa, M et al. (2013): "Impact of remineralizing agents on enamel microhardness recovery after in-office tooth bleaching therapies" *Acta Odontologica Scandinavica*, 2013; 71: 343–348.

Date R, et al. (2003): "Delivery, substantivity and clinical response of a direct application percarbonate tooth whitening film". *American Journal of Dentistry* 2003;16(Special Issue):3B–8B.

De Arruda, AM et al. (2012): "Effect of Hydrogen Peroxide at 35% on the Morphology of Enamel and Interference in the De-remineralization Process: An In Situ Study" *Operative Dentistry*, 2012, 37-5, 518-525.

Eldeniz A, et al.. (2005): "Pulpal temperature rise during light-activated bleaching". *Journal of Biomedical material Research Part B Applied Biomaterials* 2005;72B:254–9.

Feinman RA.: (1.995) Safe and effective bleaching. *Ultradent Restaurative Monograph*, 11-18

Galleguillos, P. (2008) "Efecto del clareamiento dental in vitro sobre el tejido coronario". *Tesis de título. Valparaíso.*

Gómez de Ferraris (2004)

Gómez S. (2010) *Fluorterapia en Odontología: fundamentos y aplicaciones clínicas, 4ta Ed. Ed. Santiago Gómez Soler, Valparaíso. Chile.*

Gumy C. Ibarra, Maria E. Guerra, Vilma Tovar, José. V. Díaz, Milagros Díaz.: (2007) "Estudio descriptivo de la dentina en un diente permanente de paciente VIH con Microscopía Electrónica de Barrido" *Acta odontol. venez v.45 n.3 Caracas sep. 2007*

Hattab et al. (1999) "Dental Discoloration: An Overview" *1 Esthet Dent* 11:291-310, 1999

Haywood VB.: (1.997) *Historical development of whiteners: clinical safety and efficacy. Aesthetics*, 98-104.

Joiner A, et al. (2004): "In vitro evaluation of a novel 6% hydrogen peroxide tooth whitening product." *En Journal of Dentistry* 2004;32(Suppl. 1):19–25.

Joiner A. (2006): "The bleaching of teeth: A review of the literature." *En Journal of dentistry* 2006;34 412 – 419.

Lee KH, et al. (2006) *Mineral loss form bovine enamel by a 30% hydrogen peroxide solution. J Oral Rehabil* 2006; 33:229-233

Leonard R, et al. (1998): "Use of different concentration of carbamide peroxide for bleaching teeth: an in vitro study". *Quintessence International* 1998;29:503–7.

Lozada, N et al. (2000): "Riesgos y beneficios del blanqueamiento dental" Acta odontol. venez v.38 n.1 Caracas ene. 2000

Lussi A, Hellwig E, Klimek J (2011) "Fluorides – Mode of Action and Recommendations for Use" Schweiz Monatsschr Zahnmed 122: 1030–1036 (2012)

Lynch R, Smith S (2012) "Remineralization Agents – New and Effective or Just Marketing Hype?" Adv Dent Res 24(2):63-67, 2012

Ros M, et al. (2005) "Whitening. Bibliographic revision" (en línea). Disponible en: <http://www.multimedgrm.sld.cu/articulos/2005/v9-4/13.html> [Accesado el 24 de octubre de 2013]

Sulieman M, et al. (2004): "The effect of hydrogen peroxide concentration on the outcome of tooth whitening": an in vitro study. Journal of Dentistry 2004;32:295–9

Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. Journal of Dentistry 2004;32:581–90.

Sulieman, M (2004): "An overview of bleaching techniques: I. History, chemistry, safety and legal aspects" en Dent Update 2004; 31: 608-616

Torres, C (2010) "Efectos microquímicos del peróxido de hidrógeno de alta concentración y el ácido fosfotrico sobre la capa superficial y subsuperficial en esmalte bovino" Tesis doctoral, universidad de Granada.

Turkun M, Sevgican F, Pehlivan Y, Aktener BO. Effects of 10% carbamide peroxide on the enamel surface morphology: a scanning electron microscopy study. Journal of Esthetic and Restorative Dentistry 2002;14:238–44.