

6  
2 ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

**ANALISIS CUANTITATIVO *IN VITRO* DE LA EROSION AL  
ESMALTE DE DIENTES PERMANENTES Y TEMPORALES  
PROVOCADA POR REFRESCO.**

**TESIS PROFESIONAL**  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**CIRUJANO DENTISTA**  
P R E S E N T A N :  
**AGUILAR AVILA MIRIAM**  
**MEDRANO UGALDE HUGO ALBERTO**

DIRIGE LA TESIS: DRA. S. AIDA BORGES YAÑEZ  
ASESOR: DR. GERARDO MAUPOME CARVANTES  
ASESOR EXTERNO: DRA. MIREYA GONZALEZ BEGNE



MEXICO, D. F.

1996



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS**

**A MIS PADRES:**

**JORGE AGUILAR J.  
DELIA AVILA C.**

**QUE ME DIERON AMOR Y FORJARON EN MI,  
PRINCIPIOS Y VALORES, POR SU COMPRESION Y  
AYUDA EN LA REALIZACION DE MIS ESTUDIOS, POR  
ESA GRAN HERENCIA Y SU CARIÑO.**

**A MI ABUELITA:**

**MERCED CASTILLO**

**POR TODO EL APOYO Y COMPRESION QUE  
RECIBI DE ELLA.**

**A MIS HERMANAS:**

**DELIA FLOR  
YVONNE  
JORGE**

**POR LOS MOMENTOS INOLVIDABLES QUE HEMOS  
PASADO JUNTOS Y POR LA AYUDA Y CARIÑO QUE  
ME HAN BRINDADO.**

**A MI TIA Y TIO:**

**DANIEL ROMERO  
MARIA DE LOS ANGELES**

**POR AYUDARME Y COMPRENDERME A LO LARGO  
DE ESTE TIEMPO.**

**A MIS PRIMOS:**

**JUDITH  
WENDY  
ISRAEL  
ILDEFONSO**

**POR EL CARIÑO QUE NOS TENEMOS**

**A MIS MEJORES AMIGAS:**

**GAIL SUASTEGUI  
CLAUDIA GONZALEZ  
JUANA BOCIO**

**POR LOS MOMENTOS INOLVIDABLES QUE HEMOS  
COMPARTIDO JUNTAS Y POR SU AMISTAD**

**A TODOS MIS AMIGOS**

**CIRO ZEMPOALTECATL**

**HUGO DE LA ROSA**

**QUIENES ME HAN BRINDADO SU AMISTAD**

**A MI CUQUITA, PEKITAS Y GENARO.**

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MIS PADRES**

**GUILLERMINA UGALDE FLORES  
ELISEO MEDRANO CORNEJO**

**COMO UNA MUESTRA DE AGRADECIMIENTO AL  
CARIÑO, CUIDADOS Y BUEN EJEMPLO QUE ME HAN  
DADO A LO LARGO DE MI VIDA**

### **A MIS ABUELOS**

**MARTHA FLORES LINARES  
FELIPE UGALDE CASTAÑON**

**GRACIAS POR EL APOYO Y CARIÑO QUE ME HAN  
BRINDADO DURANTE TODO ESTE TIEMPO.**

### **A MIS HERMANOS**

**RODRIGO MEDRANO UGALDE  
JONATHAN MEDRANO UGALDE**

**CON CARIÑO Y DESEOS DE QUE LOGREN SUS METAS**

### **A MIS TIOS**

**FELIPE UGALDE FLORES  
PATRICIA FERNANDES MONROY**

**POR LA AMISTAD Y APOYO QUE SIEMPRE HE  
RECIBIDO DE ELLOS**

### **A MI CUÑADA PRIMOS Y SOBRINA:**

**TANIA, FELIPIN, DANI Y SOFIA.**

### **A LEOVAM Y EL GÜERO.**

***A MI GRAN AMIGO Y ESPOSA:***

***LUIS ALBERTO Y GUADALUPE.***

***POR SU GRAN AMISTAD QUE ME HAN BRINDADO  
INCONDICIONALMENTE Y LA COMPRESION QUE HE  
RECIBIDO DE ELLOS.***

***AL DR. FERNANDO SANCHEZ:***

***POR SU AMISTAD QUE ME BRINDA.***

***A MIS AMIGOS***

***POR TODO EL APOYO Y COMPRESION QUE  
ME HAN BRINDADO.***

## **AGRADECIMIENTOS**

**A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**NUESTRA \*\*ALMA MATER\*\***

**Como fuente inagotable de enseñanza por habernos formado como profesionistas.**

**A la Dra. AIDA BORGES YAÑEZ y Dr. GERARDO MAUPOME CARVANTES.**

**Agradecemos por el gran empeño e interés demostrado al brindarnos su tiempo y conocimientos en la realización de esta investigación.**

**A la Dra. Mireya González, Dr. Higinio Arzáte, Dr. Gabriel Torres.**

**Por los comentarios que sirvieron para enriquecer esta investigación y la gran ayuda incondicional que nos proporcionaron.**

**Al Dr. Alfonso Pinéda agradecemos tu ayuda.**

**A todos los profesores que han intervenido en nuestra formación.**

**A . Delia Aguilar, Juan Montoya y Elizabeth Noguerrón.  
Por la colaboración en la edición de esta tesis.**

**A LA HONORABLE MESA DE JURADO.**

## INDICE:

	<b>Pag.</b>
1.- Resumen.	6
2.- Introducción y antecedentes.	7
3.- Esmalte.	9
3.1.1 Análisis del diente.	10
3.1.2 Proteínas del esmalte.	10
3.1.3 Mineralización de dientes.	10
3.2.1 Calcificación.	10
3.2.2 Mecanismos de calcificación.	11
3.2.3 Desarrollo y maduración de los tejidos calcificados.	11
3.2.4 Calcificación del esmalte.	11
3.2.5 Remineralización.	12
3.2.6 Preparación de muestras de esmalte.	12
4.- Película adquirida.	13
4.1.1 Formación.	13
4.1.2 Composición de la película.	14
4.1.3 Funciones de la película salival.	15
5.- Saliva.	16
5.1.1 Terminología.	16
5.1.2 Aspectos químicos.	16
5.1.3 Factores que regulan la composición salival.	18
5.1.4 Propiedades físicas de la saliva.	18
5.1.5 Amortiguadores salivales.	19
5.1.6 Amortiguadores principales.	19
5.1.7 Funciones de la saliva.	20
5.1.8 Método de recolección de saliva.	20
5.2.1 Factores emocionales y físicos que modifican la velocidad de flujo.	20
5.2.2 Constituyentes orgánicos de la saliva.	21
5.2.3 Funciones de las proteínas en la saliva.	21



6.- Refresco.	21
6.1.1 Qué son los refrescos.	23
7.- Microdureza Vickers.	23
7.1.1 Métodos de prueba.	23
7.1.2 Indentación Vickers.	24
8.- Planteamiento del problema	29
9.- Justificación del estudio.	29
10.- Objetivo general.	29
10.1.1 Objetivos específicos.	29
11.- Hipótesis.	30
12.- Materiales y Métodos.	30
12.1.1 Selección de la muestra.	30
12.1.2 Criterios de inclusión.	30
12.1.3 Criterios de exclusión.	30
12.1.4 Preparación de los especímenes.	32
12.1.5 Grupos control	32
12.1.6 Definición de variables dependientes.	34
12.2.1 Definición de variables Independientes.	34
12.2.2 Recolección de saliva.	34
12.2.3 Procedimiento de laboratorio.	41
12.2.4 Preparación del amortiguador de fosfato salino a 0.1M.	41
12.2.5 Análisis cuantitativo.	41
12.2.6 Preparación de los grupos control	43
12.2.7 Materiales y equipo a emplear.	45
12.2.8 Análisis de los datos.	46
13.- Resultados.	47
13.1.1 Ensayos de grupos control.	47
13.1.2 Comparación de resultados de los ensayos con y sin flujo de esmalte temporal y permanente.	47

13.1.3 Comparación de resultados de los ensayos entre grupos de esmalte temporal y permanente.	47
13.1.4 Comparación de resultados de los ensayos entre saliva total y saliva clarificada.	47
13.1.5 Comparación de resultados de los ensayos entre los tres niveles de ingesta.	48
13.1.6 Comparación de resultados de los ensayos entre los tres tiempos de incubación para obtener películas adquiridas de 20min, 6h, 24h.	48
13.1.7 Resultados generales.	49
14.- Discusión.	69
15.- Conclusiones.	72
Bibliografía.	73
1.- DIAGRAMA.1 Esmalte permanente con saliva total según tiempo de incubación, flujo e ingesta.	37
2.- DIAGRAMA.2 Esmalte permanente con saliva clarificada según tiempo de incubación, flujo e ingesta.	38
3.- DIAGRAMA.3 Esmalte temporal con saliva total según tiempo de incubación, flujo e ingesta.	39
4.- DIAGRAMA.4 Esmalte temporal con saliva clarificada según tiempo de incubación, flujo e ingesta.	40
5.- TABLA.1: Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente y temporal con y sin flujo.	50
6.- TABLA.2: Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente y temporal.	50
7.- TABLA.3: Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente y temporal en saliva total y clarificada.	50

8.-	TABLA.4:	Promedio de microdureza resultante de tres niveles de ingesta de refresco en losetas de esmalte permanente y temporal.	51
9.-	TABLA.5:	Promedio de microdureza resultante bajo tres tiempos de incubación de P.A.en losetas de esmalte permanente y temporal.	51
10.-	TABLA.6:	Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente con y sin flujo.	51
11.-	TABLA.7:	Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente con saliva total y clarificada.	52
12.-	TABLA.8:	Promedio de microdureza resultante de tres niveles de ingesta de refresco en losetas de esmalte permanente.	52
13.-	TABLA.9:	Promedio de microdureza resultante bajo tres tiempos de incubación de P.A. en losetas de esmalte permanente.	52
14.-	TABLA.10:	Promedio de microdureza en losetas de esmalte temporal con y sin flujo.	53
15.-	TABLA.11:	Promedio de microdureza en losetas de esmalte temporal en saliva total y clarificada.	53
16.-	TABLA.12:	Promedio de microdureza resultante de tres niveles de ingesta de refresco en losetas de esmalte temporal.	53
17.-	TABLA.13:	Promedio de microdureza resultante bajo tres tiempos de incubación de P.A. en losetas de esmalte temporal.	54
18.-	TABLA.14:	Promedio de microdureza en losetas de esmalte de cuatro grupos control.	54
19.-	FIGURA.1:	Promedio de microdureza de grupos control con y sin antibiótico en agua deionizada y en saliva del 0 al 8° día.	55
20.-	FIGURA.2:	Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente y temporal con y sin flujo del 0 al 8° día.	56
21.-	FIGURA.3:	Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente con y sin flujo del 0 al 8° día.	57

22.-	FIGURA.4: Promedio de microdureza en losetas de esmalte temporal con y sin flujo del 0 al 8° día.	58
23.-	FIGURA.5: Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente y temporal del 0 al 8° día.	59
24.-	FIGURA.6: Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente y temporal con saliva total y clarificada del 0 al 8° día.	60
25.-	FIGURA.7: Promedio de microdureza en losetas de esmalte permanente con saliva total y clarificada del 0 al 8° día.	61
26.-	FIGURA.8: Promedio de microdureza en losetas de esmalte temporal en saliva total y clarificada del 0 al 8° día.	62
27.-	FIGURA.9: Promedio de microdureza resultante de tres niveles de ingesta de refresco en losetas de esmalte permanente del 0 al 8° día.	63
28.-	FIGURA.10: Promedio de microdureza resultante de tres niveles de ingesta de refresco en losetas de esmalte temporal del 0 al 8° día.	64
29.-	FIGURA.11: Promedio de microdureza resultante de tres niveles de ingesta de refresco en losetas de esmalte permanente y temporal del 0 al 8° día.	65
30.-	FIGURA.12: Promedio de microdureza resultante bajo tres tiempos de incubación de P.A. en losetas de esmalte permanente del 0 al 8° día.	66
31.-	FIGURA.13: Promedio de microdureza resultante bajo tres tiempos de incubación de P.A. en losetas de esmalte temporal del 0 al 8° día.	67
32.-	FIGURA.14: Promedio de microdureza resultante bajo tres tiempos de incubación de P.A. en losetas de esmalte permanente y temporal del 0 al 8° día.	68

## RESUMEN:

La erosión es la pérdida de substancia dental producida por una acción química causada generalmente por un ácido. El agente erosivo puede ser extrínseco como por ejemplo bebidas carbonatadas cuando son consumidas en forma excesiva o durante periodos prolongados de tiempo. Esto se puede considerar de gran interés debido a que en México anualmente se venden gran cantidad de refrescos.

En esta investigación *in vitro* se analizó cuantitativamente el efecto de los refrescos bajo patrones de consumo en la población mexicana. Se constituyeron 4 grupos experimentales con 36 losetas de esmalte cada uno; las cuales fueron sometidas a inmersiones de refresco de Cola (pH 2.58), con duración de 5 minutos cada inmersión, estas inmersiones fueron: (1) con incubación previa en saliva total o clarificada, (2) con o sin agitación del refresco, (3) empleando esmalte temporal y esmalte permanente y (4) bajo tres diferentes regímenes de ingesta: (1, 5 y 10 inmersiones al día). La evaluación cuantitativa de la superficie erosionada se realizó durante ocho días con pruebas de microdureza Vickers, analizándose los datos mediante ANOVA de una vía y prueba t de Student. Los resultados mostraron que el tiempo de inmersión en refresco provoca una disminución en la microdureza proporcional al tiempo de exposición, siendo más marcada al inicio de la exposición. El esmalte temporal es más susceptible de sufrir erosión más rápido que el esmalte permanente. Conforme avanzaron los ensayos, esta diferencia dejó de ser importante. No se encontraron diferencias en grado de erosión entre los distintos tiempos de incubación de película adquirida. La ausencia de flujo favoreció un mayor deterioro de las superficies del esmalte.

## INTRODUCCION Y ANTECEDENTES

La erosión es la pérdida de tejido dental mineralizado causada por una acción química no bacteriana.

Su etiología ha sido atribuida a la acidez general de la boca y por acidez localizada<sup>1,2</sup>. La información disponible indica que la saliva por sí misma no causa erosión, sino al contrario protege al esmalte diluyendo y neutralizando los ácidos introducidos dentro de la cavidad bucal<sup>3,4,5</sup>. Investigaciones *in vitro* en dientes humanos, experimentos en animales y estudios controlados han indicado que los alimentos y bebidas ácidas puestas repetidamente en contacto con los dientes durante períodos de tiempo cortos o prolongados producen una desmineralización superficial que posteriormente se convierte en erosión<sup>6,7,25,27</sup>. Esto constituye un verdadero problema clínico de interés para ser investigado, considerando el extenso y creciente consumo de bebidas ácidas que impera en la población con dietas industrializadas<sup>8,9</sup>. Durante 1990 sumaron 1324 millones de cajas o su equivalente de 31,776 millones de botellas de tamaño mediano igual a 390 botellas de este tamaño por habitante por año. La proyección de la industria muestra que para el año 2000, tendrá que satisfacer una demanda nacional de 1960 millones de cajas<sup>29</sup>. En un estudio llevado a cabo en la ciudad de México<sup>8</sup> se entrevistó a 2228 personas y se encontró que el promedio de refrescos que ingerían por año era 627.4 refrescos individuales (355 mL) por persona. También se encontró que las personas que ingieren una mayor cantidad de refresco son los niños en comparación con la gente adulta y que los refrescos de lata o botella cariogénicos no calóricos tenían un pH entre 2.4 y 3.3<sup>9,10,11</sup>. Estos niveles de acidez en la boca pueden ser preocupantes por sus repercusiones clínicas. Esta acción desmineralizante se ha podido comprobar en el refresco de Cola con una velocidad de disolución de aproximadamente 1µm por segundo<sup>38</sup>. Aunque la saliva de la mayoría de los seres humanos tiene un sistema amortiguador muy eficiente para neutralizar los ácidos de la boca, no todos los individuos tienen el mismo grado de protección<sup>11,12,14</sup>. Entre otros factores, los aspectos mismos de cómo replicar las condiciones de la boca y los patrones de alimentación en condiciones experimentales ha probado ser fuente de conflictos en los criterios de los estudios. Uno de los factores más importantes es que muchos de los estudios sobre erosión del esmalte han empleado intervalos de inmersión en refresco extremadamente largos, como por ejemplo 15min<sup>18</sup>, 3h<sup>18</sup>, 2h<sup>13</sup> 24h<sup>10</sup> ó 72h<sup>14</sup>.

La erosión es común en pacientes adultos y se cree que su frecuencia aumenta con la edad. Las lesiones son característicamente sensibles y aparecen por lo general en zonas adyacentes al tejido gingival, su diagnóstico se confirma al descubrir tejidos gingivales sanos en contacto con el área erosionada sobre la estructura dental. Las causas de la erosión son numerosas y variadas, pero todas son de naturaleza química, y es frecuente que el agente erosivo sea extrínseco.

El grado de destrucción de la substancia dental depende del tipo de ácido causal y la frecuencia de exposición a éste. El desarrollo de la erosión es mayor en los órganos dentales del maxilar superior que en los del inferior y los dientes más prominentes en el cuadrante detectado son los que sufren mayor daño erosivo. Cabe aclarar que el género no juega un papel predominante en este tipo de afección.

En sus primeras manifestaciones, la erosión se presenta sólo como manchas extensas e irregulares carentes de lustre natural sobre la superficie del esmalte. En periodos siguientes, se crean rugosidades en el área de la lesión formando depresiones superficiales, cuyos bordes periféricos son acentuados al seguir avanzando la erosión<sup>38</sup>.

Un factor etiológico que debe considerarse en las lesiones erosivas son las bebidas gaseosas, como las de Cola, que ejercen una acción desmineralizante sobre los dientes. Las bebidas gaseosas pueden contener hasta 10% de ácido fosfórico, lo que significa un pH de 2.4 a 2.6. El consumo frecuente de estas bebidas y el hábito de mantenerlas en la boca por unos momentos antes de tragarlas prolonga el contacto de éstas con los dientes, con lo que puede haber erosión o pérdida de substancia dental.

La saliva por sí sola no causa erosión sino al contrario protege el esmalte, limpiando, diluyendo, y neutralizando los ácidos introducidos dentro de la cavidad bucal. La erosión aumenta cuando la secreción salival está muy disminuida o ausente.

En la erosión inactiva o latente que se manifiesta cuando el agente causal ha sido suspendido, los prismas del esmalte son vagamente visibles y no es apreciable la imagen de panal. La superficie de la lesión tiende a estar cubierta por un precipitado reparador de material tanto inorgánico como orgánico proveniente de la saliva. En esta etapa, la desmineralización permanece superficial<sup>38</sup>. El mecanismo primario de la acción erosiva es una desmineralización superficial del esmalte dada por disolución química directa de la substancia interprismática, que es cuando se observa la superficie dental con pérdida

de lustre natural. Posteriormente, estas lesiones se muestran con mayor opacidad debido a que comienzan a desgastarse los sectores terminales de los prismas adamantinos, formándose una faceta poco profunda que avanza periódicamente. En esta etapa tiende a haber un reendurecimiento de la superficie por depósito de materia inorgánica procedente de la saliva. Este proceso reparativo físico-químico sucede principalmente en lesiones de proceso lento o cuando se suspende la erosión.

Más tarde, la faceta erosionada avanzada en su desgaste y las rugosidades que se podían observar anteriormente desaparecen, presentando la lesión una base lisa, dura y pulimentada con aspecto vítreo, localizada al principio enteramente en el esmalte y extendiéndose después hacia la dentina, que en algunos casos se presenta manchada. Los márgenes de la erosión se encuentran bien definidos con bordes cortantes. Una ligera hipersensibilidad acompaña a la pérdida de tejido dental.

## **ESMALTE**

La dentición del hombre es heterodonta (con dos tipos o formas de dientes), los verdaderos dientes pueden definirse como estructuras individuales consistentes de una fina capa externa de esmalte derivada del ectodermo, una capa media mas gruesa de dentina, derivada del mesodermo y una pulpa interna.

El esmalte es un material no vivo, duro, casi totalmente inorgánico. La dentina es muy parecida al hueso en composición orgánica e inorgánica, y contiene finos filamentos protoplásmicos de materia viva que tienen su origen en los odontoblastos, estos se encuentran en una capa cerca de la pared interna de la dentina de la cavidad de la pulpa, la cual contiene también tejido conectivo, vasos sanguíneos y nervios. El diente ha sido constituido y formado por un individuo genético y bioquímico único y por ello puede ser tan variado como la naturaleza lo permita. Cuando se habla de la composición de un diente es preciso recordar constantemente los efectos de la dieta, posición en la boca, localidad geográfica, edad, historia clínica del individuo<sup>42</sup>.



## Análisis del diente.

En 1957 Lefevre y Hodge<sup>43</sup> informaron de los resultados de su análisis químico de dientes y llegaron a las siguientes conclusiones.

- 1.- Los dientes temporales tienen más humedad, menos residuo inorgánico, Ca y P y aproximadamente el mismo contenido de carbonato que los dientes permanentes.
- 2.- Hay poca diferencia, salvo en el contenido de humedad, entre dientes sanos y dientes cariados.
- 3.- La edad no causa cambios en la composición química de los dientes.
- 4.- Hay poca diferencia química entre dientes de varones o mujeres.
- 5.- El agravamiento de ciertas formas de enfermedad periodontal puede causar disminución en el contenido de carbonato de los dientes.
- 6.- La composición de la sustancia del diente es notable constantemente.

## Proteínas del esmalte.

La matriz orgánica del esmalte es sintetizada por células (ameloblastos) derivadas del epitelio estratificado de la cavidad bucal primitiva. La matriz adamantina del diente en desarrollo contiene un sistema heterogéneo de proteínas con algunas características únicas, como la composición de aminoácidos, conformación estructural y propiedades de agregación. Las proteínas adamantinas son consideradas como clase distinta de proteínas estructurales llamadas enamelinas o amelógenas.

Las diferencias entre dientes maduros e inmaduros estriba, principalmente, en el contenido total de proteínas del esmalte humano disminuye desde 15% a 20% aproximadamente en el diente en desarrollo hasta alrededor de 0.05% a 0.2% en la madurez. Durante la maduración del diente hay una pérdida absoluta de 90% de peso de las proteínas del esmalte.

## Mineralización de dientes.

**Calcificación:** Sucesión de eventos en que células específicas son inducidas a formar una matriz orgánica dentro de la cual se depositan sales de calcio insolubles. En tejidos calcificados de mamíferos (de huesos y dientes) y en ciertas bacterias la sal cálcica de mayor importancia es similar en composición al

mineral hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ . La calcificación es un proceso dinámico en el cual la formación y el mantenimiento de la matriz mineralizada son regulados por la actividad celular.

Los componentes orgánicos de los tejidos calcificados son esencialmente de origen celular. Además de los componentes celulares, comprende una matriz de proteínas fibrosas, sustancias fundamentales de proteínas, polisacáridos y lípidos.

### Mecanismos de calcificación.(Teorías).

La iniciación de la calcificación puede realizarse de dos maneras:

- 1.- Por un proceso de nucleación homogénea, con lo cual son aumentadas localmente las concentraciones de calcio y fosfato hasta un punto en que pueda ocurrir la precipitación espontánea de la apatita.
2. Por un proceso de nucleación heterogénea, con el cual un catalizador que está presente, al bajar la energía de activación, permite la formación de apatita a partir de una concentración de calcio y fosfato.

### Desarrollo y maduración de los tejidos calcificados.

El mecanismo de calcificación describe los primeros acontecimientos del proceso global de mineralización. Una vez iniciada la calcificación, el tejido acaba por mineralizarse completamente dentro de un armazón definido por la matriz orgánica. A medida que el tejido va madurando hay una pérdida inicial del material orgánico principalmente de proteínas no colágenas, pero el cambio mayor ocurre con la eliminación de agua y la acumulación de mineral. La maduración de la fase mineral comprende la conversión del fosfato de calcio amorfo en apatita y el crecimiento de los cristales de apatita. El proceso seguido de calcificación varía con cada tipo de tejido.

### Calcificación del esmalte.

Empieza después de la desaparición de la lámina basal a nivel de la unión dentina-esmalte, los ameloblastos comienzan a elaborar una matriz de proteína geliforme y los primeros cristales de apatita crecen epitaxialmente a partir de los cristales de dentina. Los grandes cristales de esmalte siguen creciendo y forman cintas largas al alejarse los ameloblastos de la unión dentina-esmalte. Los cristales están

organizados en unidades estructurales básicas llamadas prismas, que irradian desde la unión dentina-esmalte hacia la superficie externa del esmalte. El corte transversal de los prismas presenta forma de ojo de cerradura y posiblemente cada prisma está formado por un solo ameloblasto. En el esmalte, los cristales de apatita son bastoncitos hexagonales de unos 330 Å de ancho y 300 a 500 Å de largo. El esmalte no contiene fosfato de calcio amorfo, a diferencia de la dentina, ni vesículas de matriz. Bajo difracción de rayos X, la fase mineral corresponde a compuestos apatita e hidroxiapatita (HA).

### Remineralización.

En 1912, Heat<sup>27</sup> informó que el esmalte ablandado artificialmente por un ácido puede volver a endurecerse por inmersión en saliva. Estudios más recientes han confirmado esta observación, especialmente cuando se utilizan soluciones de iones de calcio y fosfato, recuperándose en estos casos casi un 90% de la dureza.

La caries inicial del esmalte, en sus etapas visibles son designadas como área translúcida, zona oscura y cuerpo o centro de la lesión. La caries detenida presenta una ancha zona oscura debida probablemente a la remineralización de la lesión. Este esmalte remineralizado es menos poroso y contiene colecciones densas de cristales extraños que son más grandes y más parecidos a una lámina que los cristales de HA del esmalte<sup>24,38</sup>.

La presencia de iones sodio y fluoruro aumenta el límite de pH arriba del cual las soluciones de HA pueden volver a endurecer el esmalte ablandado por amortiguadores, en tanto que otros iones, como  $P_2O_7^{4-}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Mg^{2+}$  y  $Zn^{2+}$ , parecen tener un efecto inhibitor.

### Preparación de muestras de esmalte.

Debido a la anatomía del diente es difícil obtener esmalte exento de dentina. En intentos efectuados se han desarrollado cinco métodos, solos o en combinación, y aunque no son perfectos, son los mejores de que hoy se dispone<sup>12</sup>.

1.- Se puede usar cincel dental sin filo para extraer el esmalte o la dentina. Este es un procedimiento tedioso.

- 2.- Una sequeta o un disco de corte de diamante, de uso ordinario se usa para obtener capas de esmalte o dentina o finas secciones de planos longitudinales u horizontales que pueden usarse como portaobjetos en microscopia de uso ordinario.
- 3.- Con el uso de un disco pulidor de diamante se logran obtener mayores cantidades de esmalte o dentina, pero ha de observarse gran cuidado para no contaminar el material deseado.
- 4.- Técnica de flotación de Manly y Holge (densidad diferencial), consiste en centrifugar las partículas de esmalte y dentina una vez pulverizado el diente, las partículas son introducidas en una solución de bromoformo-acetona.
- 5.- Métodos químicos, se usan ácidos para separar por ataque capas consecutivas de esmalte y dentina a fin de obtener soluciones de la materia deseada.

### **PELÍCULA ADQUIRIDA.**

Es una capa orgánica, homogénea, libre de bacterias y acelular, que se forma en el esmalte y en otras superficies duras por medio de la adsorción selectiva de las proteínas salivales.

#### **Formación.**

La película adquirida (PA) se forma después de la erupción de los dientes por medio de la adsorción de las proteínas salivales o de las glucoproteínas de las superficies dentales<sup>45,46,47</sup>. Las glucoproteínas y el fosfato de calcio presentes en la saliva se adsorben en el esmalte superficial y ayudan a mantener su integridad, el cual de lo contrario se desgastaría con mucha rapidez. La película adquirida está formada por proteínas salivales específicas, sus principales proteínas provienen de proteínas de alto peso molecular de toda la saliva y péptidos ácidos y proteínas que contienen prolina y que provienen de la saliva de la parótida<sup>31</sup>.

Esta formación de película no se reduce a los dientes únicamente, la película se forma en tiras de polietileno ligadas a los dientes<sup>49</sup>, en cuentas de vidrio expuestas a la saliva<sup>50</sup>, y en varios materiales empleados en la restauración<sup>51</sup>, así como en las dentaduras artificiales. Su formación se ha estudiado *in vivo* por los siguientes métodos:

- a). Desgastando trozos de esmalte pulido fijos a prótesis totales.
- b). Raspando las superficies normales del esmalte varias horas después de una profilaxis.
- c). Desmineralizando cortes de dientes extraídos a intervalos después de una profilaxis.

La película adquirida tiene una existencia independiente, al contrario de lo que sucede con la placa, y en la formación de la película no se requiere de la presencia de bacterias. *In vitro* la película adquirida se formará sobre esmalte inmerso en saliva que contiene antibiótico para inhibir el crecimiento bacteriano o en saliva de la que se han eliminado las bacterias por medio de filtración. La formación es rápida en cualquier superficie sólida expuesta a un medio bucal<sup>18</sup>. Después de limpiar y pulir el esmalte en un lapso de 20 minutos se forman en esta superficie masas en forma de domo de un material amorfo, de tamaño entre 5 y 20µm. Estos depósitos iniciales ya contienen bacterias, después de una hora, los depósitos globulares se encuentran presentes en mayor número y algunos de ellos ya se han fusionado. Después de 24 horas se fusionan completamente y toda la superficie dental estará cubierta por un material amorfo y después de 48 horas es fácil reconocer la presencia de microorganismos en forma de filamentos y cocos. La película adquirida es un material casi siempre de 1,3 y hasta 10µm de espesor, libre de bacterias<sup>31</sup>.

### Composición de la película.

Está formada por la adsorción selectiva de ciertas proteínas salivales sobre la apatita del esmalte, no hay conversión finita *in vivo* de la película adquirida. La película adquirida puede eliminarse de los dientes limpios extraídos mediante un rápido tratamiento con ácido. La porción insoluble en ácido de la película se separa del diente y se puede apartar de éste de manera tal que quede flotando como una membrana. De acuerdo con los análisis químicos, los aminoácidos representan entre 45% y 50% de la película insoluble; los carbohidratos que reaccionan con anticonas representan entre 10% y 15% del peso seco. Entre ellos se incluyen las hexosas, las pentosas y los ácidos hexurónicos, pero no los aminoazúcares. Hay una alta proporción de aminoácidos ácidos (aproximadamente 20% del total de los aminoácidos), un contenido bajo de aminoácidos, azufre y hay rastros de ácido murámico y diaminopimélico.

Por lo general la película completa (soluble en ácido e insoluble en ácido) tiene un alto contenido de glicina, serina y ácido glutámico, ácido aspártico, prolina, alanina y leucina (cada uno representa más del

6% del total de aminoácidos). Toda la película tiene un bajo contenido de azufre y aminoácidos aromáticos.

La composición de carbohidratos de toda la película incluye glucosa, galactosa, glucosamina, galactosamina, manosa y fucosa.

Se han identificado hasta 10 proteínas diferentes en las películas, la proporción de cada proteína depende en gran medida del sujeto, ya que cada uno presenta un perfil característico de proteínas de la película; las proteínas salivales típicas son amilasa, lisozima, IgA, albúmina, IgG.

La composición de la película inicial es alterado por bacterias que vienen de la saliva o crecen fuera de la superficie dental en indentaciones o irregularidades. Hay una gran variación de microorganismos que se pueden encontrar en la interfase placa-película, por ejemplo: *S. sanguis* y *S. mutans*, parecen adherirse bien al mineral cubierto por glucoproteína salival. *S. salivarius* se adhiere mejor al mineral no cubierto y *S. mutans* a mineral cubierto por dextrano. La matriz entre la bacteria y la película u otras bacterias suele tener la forma de materia amorfa o fibrillas finas, o elementos globulares, por lo general compuestos por polímeros de carbohidratos.

### Funciones de la película salival.

- 1.- Las proteínas salivales pueden producir agregación de microorganismos antes de depositarse en el diente y con ello impiden la colonización del diente.
- 2.- La hidroxiapatita salival puede reducir la pérdida de mineral del esmalte superficial a través de la erosión.
- 3.- Del mismo modo pueden fijarse a la película otros iones protectores que no son el calcio ni el fosfato, como el fluoruro.
- 4.- La película puede proporcionar una capa que tiende a reducir el desgaste superficial de los cristales de esmalte. Un factor importante en esto es la velocidad de su re-formación que ocurre segundos después de la abrasión del esmalte.
- 5.- La película puede reducir la adherencia de las bacterias al diente debido a su poca energía superficial libre.
- 6.- Las proteínas de la película ricas en prolina son sensibles a la colagenasa bacteriana. Por lo tanto, pueden desviar tales enzimas del tejido destruido en la enfermedad periodontal inflamatoria crónica.

- 7.- La película protege al diente restringiendo la difusión de los productos de sacarosa y otros azúcares desdoblados por los ácidos. El efecto es más notable en las películas que tienen por los menos siete días de antigüedad y puede observarse aun por debajo de películas bacterianas delgadas compuestas por estreptococos cariogénicos.
- 8.- Las proteínas salivales tienen marcadores de superficie que pueden inhibir la adhesión bacteriana o hacer que las bacterias se adhieran a superficies como el epitelio, desde el cual pueden esparcirse cuando se produce la descamación de células epiteliales.
- 9.- La película contiene factores antibacterianos, que incluyen IgG, IgA, IgM, complemento, (principalmente C<sub>3</sub>) y lisozimas.
- 10.- La película contiene un péptido llamado sialina, el cual ayuda a neutralizar el pH ácido.

## SALIVA

### Terminología.

Se refiere a la mezcla de secreciones en la cavidad oral. Esta mezcla consiste en fluidos derivados de las principales glándulas salivales (parótida, submandibulares, sublinguales); de las glándulas menores de la mucosa oral y de los residuos del exudado gingival (no es una secreción glandular)<sup>21</sup>.

Tiene una gran importancia en la disminución de la caries, esto se puede explicar sencillamente por el mecanismo de lavado que efectúa sobre los restos de alimentos, bacterias y sus productos solubles. A pesar de que varios factores antibacterianos diferentes se han aislado e identificado en secreciones individuales, la actividad antibacteriana de toda la saliva pierde potencia gradualmente<sup>19</sup>.

### Aspectos químicos.

El fluido salival está constituido por un 99.3% de agua y alrededor de 0.2% de sustancias inorgánicas y 0.5% de sustancias orgánicas. La porción inorgánica está formada por iones de potasio, fósforo, cloro, sodio, magnesio, calcio, azufre. La proporción más grande de contenido orgánico lo representa la mucina (forma el complejo con factores antimicrobianos tales como IgA, lisozima y

cistatina), en menor proporción albúmina, globulina, amilasa, colesterol, úrea, ácido úrico, creatinina. La maltosa y el amoníaco se encuentra en cantidades variables.

Estudios *in vitro*<sup>26</sup> han demostrado que la MGI (mucina de alto peso molecular) tiene mayor afinidad por la hidroxiapatita sintética, por lo que se especula que la MGI funciona como una interfase sobre los tejidos blandos y duros formando una barrera permeable de protección contra la deshidratación y agentes agresores. Se han demostrado sus propiedades como agente lubricante y formando parte de las películas intrabucales que protegen contra la erosión. También se ha observado que la MGI atrapa o concentra otros tipos de moléculas protectoras entre la interfase de los tejidos y el medio ambiente bucal.

Está demostrado que la producción aproximada diaria de saliva es de 1 a 1.5 litros. Sin embargo, estimaciones de 500 a 600 mL, suelen ser mucho más realistas<sup>17</sup>. En estado de reposo, observamos que los valores más altos corresponden a la glándula submandibular, ya que ésta presenta la mayor tasa de secreción en reposo. En el caso de la saliva estimulada, el volumen de secreción proporcionado por la glándula parótida puede exceder al de la submandibular como respuesta a los estímulos, como por ejemplo comer.

La secreción de cada glándula presenta una composición única. Por ejemplo, la secreción de glándulas salivales submandibulares contiene aproximadamente un 50% más de calcio (6.8 mg de calcio/100 mL) que la de las glándulas parotidas (4.1 mg de calcio/100 mL). La composición de la saliva producida en cualquier glándula varía con el ritmo de flujo, que a su vez cambia según tipo, intensidad y duración del estímulo utilizado para obtener la muestra. Esta composición de la saliva puede variar con los cambios en el estímulo, aunque se obtienen resultados más reproducibles en el análisis de secreción de las glándulas separadas que en la saliva mezclada. Aun en ese caso hay variaciones en diferentes horas del día o divergencias relacionadas con los alimentos<sup>21</sup>. También varía la presencia de material suspendido (bacterias, células epiteliales y mucina). Al centrifugar la saliva, las cifras que se obtienen en ciertos constituyentes son más bajas que en el material no centrifugado. La presencia de bacterias vivas en la saliva y la pérdida de CO<sub>2</sub> después de la recolección causa cambios en la composición en reposo. Finalmente es difícil recolectar saliva bajo condiciones fisiológicas, ya que la saliva cuya secreción se estimula al masticar cera o liga de hule, puede ser distinta a la que se produce en respuesta a los alimentos.



La saliva varía considerablemente en diferentes individuos y también en el mismo individuo bajo distintas circunstancias por lo tanto es imposible un calculo cuantitativo exacto.

### Factores que regulan la composición salival.

**Fatiga.-** El cansancio disminuye la concentración de algunos componentes salivales, como es el caso de las inmunoglobulinas, mientras que otros como la urea , potasio, sodio, y cloruro incrementan sus valores.

**Hormonas.-** La adenocorticotrófica y la cortisona disminuyen el sodio salival y modifican la osmolaridad. Las hormonas tirotrófica, triyodotironina y tetrayodotironina modifican la concentración de yodo salival. La paratohormona incrementa los niveles de calcio, en tanto que la tirocalcitonica los disminuye<sup>52</sup>.

**Factores psicológicos.-**El estres modifica la velocidad del flujo salival, teniendo repercusión directa sobre la composición.

### Propiedades físicas de la saliva.

**Cantidad:-**El flujo salival es aproximadamente de 0.5ml por minuto en promedio.

**Consistencia:** Le confiere un aspecto viscoso y la propiedad de formar hilos elásticos. Se cree que la viscosidad es determinada por grupos sialato que se sitúan en las cadenas laterales de las glucoproteínas salivales, esta propiedad es de suma importancia para la lubricación de la cavidad oral así como para la formación del bolo alimenticio.

**Color:** Es incolora o ligeramente opalescente. Esto está determinado por la concentración de solutos que posee.

**Densidad:** Es de 1.002 a 1.012 densidad peso específico de una substancia y es determinada por la cantidad de solutos, principalmente proteínas, que se encuentran en una solución.

**pH:** Es de 5.7 a 7 con un promedio de 6.7 tiene la particularidad de variar mucho y está determinado por la concentración de un elemento inorgánico, que es el hidrógeno. Inmediatamente después de

recolectada la saliva se inicia la pérdida del  $\text{CO}_2$  lo cual incrementa el pH a medida que transcurre el tiempo. Por lo tanto la acidez se debe medir inmediatamente, o bien coleccionar la muestra bajo hielo. El pH expresa la cantidad de iones de hidrógeno ionizados presentes en una solución. Se considera como pH neutro el 7, el aumento en la concentración de hidrógeno hace que el pH descienda por abajo de 7, lo cual es considerado como pH ácido. La disminución en la concentración de hidrogeniones se traduce en la elevación del pH por arriba de 7, lo cual es considerado un pH alcalino.

### Amortiguadores salivales.

Un amortiguador es una solución que tiende a mantener un pH constante. Una gráfica del pH comparado con el equivalente de ácido o de alcalino agregado a un amortiguador corresponde a la curva de titulación. El pK marca sobre la curva el punto en que se observa el menor cambio (cuando las concentraciones de la base y el ácido conjugados son iguales). En la saliva los sistemas amortiguadores principales son bicarbonato-ácido carbónico ( $\text{HCO}_3/\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{pK}_1=6.1$ ) y fosfato ( $4\text{PO}_4/\text{H}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{pK}_2=6.0$ ). El bicarbonato es el más importante de los amortiguadores salivales<sup>19</sup>.

### Amortiguadores principales.

Fosfato, Bicarbonato, Fluoruro, Yodo<sup>33</sup>.

**Bicarbonato:** Es una sal del ácido carbónico, en el cual uno de los iones hidrógenos es substituido por un elemento básico. El equilibrio entre bicarbonato, fosfato y calcio, mantiene el pH bucal con tendencia a la neutralidad, ya que si se toma ácido (entre 5.5 y 5.6) se inicia la disolución de los cristales de apatita, produciéndose una lesión en el diente. De esta manera tenemos que el contenido de fosfato inorgánico disminuye muy temprano en la mañana y alcanza su máximo en la tarde, en cambio las concentraciones de los iones como el sodio, yodo y cloro muestran una relación totalmente inversa a la mencionada. Finalmente la concentración del ion potasio es independiente por completo y lo muestra este ritmo de variación cada 12 horas.

## Funciones de la saliva.

- 1.- **Digestión:** Debido a la amilasa salival o ptialina encargada de digerir almidones. Esta función se lleva a cabo con un pH óptimo de 6.8. Cuando el pH tiende a disminuir la actividad de la amilasa disminuye también.
- 2.- **Preparación y lubricación de los alimentos para su deglución:** Esta acción está dada por las glucoproteínas salivales gracias a las cuales se forma el bolo alimenticio.
- 3.- **Actividad de limpieza:** Mediante la supresión de residuos alimenticios, células descamadas, gérmenes, treponemas y hongos.
- 4.- **Función bactericida:** La saliva elimina bacterias en forma mecánica, para que éstas sean deglutidas y digeridas por los jugos gástricos. Se han descrito como sustancias bactericidas, lisozima, sodio, potasio, cloro, calcio, magnesio, amortiguadores.
- 5.- **Acción de Buffer o Neutralizante:** Dada por el bicarbonato y el fosfato, lo anterior incrementa el efecto bactericida de la saliva y actúa como un factor anticariogénico.
- 6.- **Mantenimiento de la integridad dentaria.**

## Método de recolección de saliva:

El proceso usado más común para la recolección experimental de saliva es la recolección estimulada de saliva total en un recipiente de plástico. El sujeto masca parafina y entonces deposita la saliva en el recipiente. Cuando es saliva estimulada también puede ser colectada tras estimular la boca con una sustancia agridulce o aplicando ácido a la lengua.

## Factores emocionales y físicos que modifican la velocidad del flujo:

**La ansiedad:** Puede resultar o influir en la reducción de flujo o en algunos individuos incrementa el flujo. Aparentemente la personalidad y la manera en la cual una persona responde a la influencia de estrés, la velocidad de flujo es reducida o incrementada. Las enfermedades emocionales afectan la velocidad de flujo, los pacientes reprimidos exhiben una reducción de la velocidad de flujo<sup>54</sup>.

**Flujo en reposo.-** Implica secreción salival sin previo estímulo, puede ser cuantificado por el uso de cánulas especiales y su valor es aproximadamente de 19 mL/h.

**Flujo psíquico.-** Probado por Pavlov<sup>41</sup> muestra la presencia de reflejos que incrementan la secreción salival, este flujo se calcula que es de 2.34 mL en 5 min<sup>55</sup>.

**Flujo estimulado.-** Es provocado por sustancias como el ácido cítrico, la acetilcolina, la simple masticación de una liga; este flujo se caracteriza por producir una saliva diluida y es el comúnmente utilizado para estudiar la saliva.

### Constituyentes orgánicos de la saliva.

El contenido total de proteínas en la saliva es en promedio de 300 mg/100 mL, pudiendo variar entre las proteínas que se encuentran en la saliva: amilasa, lisozima, glucoproteínas (mucinas, gamaglobulinas) y lipoproteínas. Por estudios de electroforesis se han detectado en la saliva aproximadamente de 30 a 40 proteínas diferentes.

### Funciones de las proteínas en la saliva.

- 1.- Determinar la presión coloidosmótica de la saliva (influye en la viscosidad).
- 2.- Agentes bactericidas.
- 3.- Lubricación de la mucosa oral.
- 4.- A través de la gamaglobulina son un mecanismo de defensa.
  - a).- Proteínas de bajo peso molecular forma anticuerpos contra *S. mutans*.
  - b).- Proteínas de bajo peso molecular confieren protección contra otros grupos de bacterias.

## REFRESCO

Pocos productos de la industria alimenticia han sido tan discutidos como los refrescos de Cola y en particular la Coca-Cola. Los refrescos de Cola han dominado por décadas el mercado nacional e internacional. En nuestro país hoy tienen el 80% del mercado<sup>35</sup>. La Coca-Cola se ha convertido a nivel mundial en el más conspicuo símbolo del modo de vida norteamericano. Sus ventas en más de 150 países

lo confirman. El origen de la Coca-Cola se remonta a 1885 cuando el coronel sureño John S. Pemberton en Atlanta-Georgia, inició con cuatro socios una pequeña empresa llamada "Pemberton Chemical Co".

Esta empresa se dedicaba a la fabricación de menjurjes "milagrosos" muy típicos de la época para evitar la caída del cabello, para la tos, tinturas para el pelo y jarabes de frutas para beberse como bebidas refrescantes. Desde 1886 se registró a la Coca con el nombre "French Wine Coca-Ideal Nerve and Tonic Stimulant". Se vendía como medicamento más o menos casero. La primera fórmula tenía agua, azúcar, vino, hojas de coca y nuez de cola; al poco tiempo le eliminaron el vino y quedó ya el nombre de Coca-Cola, pero continuaba vendiéndose como remedio para la fatiga, el dolor de cabeza, la migraña y la depresión.

El consumidor compraba el jarabe y lo diluía con agua carbonatada, haciéndose así lo que hoy llamamos un "refresco", de hecho de la misma manera nacieron todos los refrescos que se preparaban en las farmacias, donde se vendían jarabes concentrados. Al poco tiempo los hermanos Candler le compraron a Pemberton su bebida en 2,300 dólares. Ellos tuvieron la idea de promocionar al producto con publicidad, a la que dieron comienzo con unos calendarios en los que anunciaba el producto diciendo: *Bebida deliciosa para verano o invierno...para el dolor de cabeza, sentimiento de cansancio, alivia la fatiga mental o física*<sup>35</sup>.

La industria embotelladora de refrescos y aguas envasadas forma parte de una compleja cadena productiva entre cuyos eslabones fundamentales destacan la producción azucarera, la de jugos y concentrados. En el año de 1990 el total de las 236 empresas estaba compuesto de 18 empresas grandes con una producción de más de 11 millones de cajas anuales, 83 industrias medianas con una producción de entre 5 y 11 millones de cajas y 135 pequeños negocios con una producción de menos de 5 millones de cajas<sup>29,34</sup>. Las ventas de la industria durante 1990 sumaron 1324 millones de cajas o su equivalente de 31,776 millones de botellas de tamaño mediano igual a 390 botellas de este tamaño por habitante por año.

La proyección de la industria muestra que para el año 2000 tendrá que satisfacer una demanda nacional de 1960 millones de cajas.

Frecuentemente el consumo de jugos de fruta y bebidas ácidas puede causar erosión dental bajo circunstancias desfavorables en la boca. Las bebidas que contienen ácido cítrico pueden ser más erosivas que las que contienen ácido fosfórico. No hay duda de que la composición química de bebidas ácidas es

importante con respecto a la erosión dental; la erosión fue clasificada clínicamente por Eccles y Jenkins (1974)<sup>25</sup>.

¿Qué son los refrescos?

Estas bebidas son productos refrescantes que satisfacen la necesidad imperiosa de la sed. Son asimismo elementos coadyuvantes del proceso de la digestión, por estar carbonatados, sirven además como golosina y por su contenido de azúcar pueden considerarse como productos alimenticios. Pero desafortunadamente se encontró que los refrescos son considerados, nutricionalmente hablando, sólo un consumo de calorías vacías que pueden llegar a perjudicar la salud de los consumidores<sup>30</sup>. Por ejemplo, la sacarosa, uno de sus principales constituyentes, llega a ser causa del incremento de caries sobre todo en la población infantil. Los refrescos esencialmente son agua cargada de dióxido de carbono, a la que se le ha añadido azúcar y otros edulcorantes, algún ácido, materiales colorantes y un agente de sabor artificial<sup>33</sup>.

### **MICRODUREZA VICKERS.**

Existen diversos tipos de medición de dureza, algunos de estos métodos están dados en unidades de peso y algunas en unidades de tiempo. En una prueba de indentación la medida de dureza es una función de varios parámetros, encabeza varios modelos a ser usados a interpretar y cuantificar medidas de valores de dureza como son: fuerza de tensión, flujo plástico, superficie de energía y fuerza de unión química. El primer punto que afecta una prueba de dureza es el tamaño de muestra, esto fue mostrado en algunas pruebas, el tamaño del grano tuvo un efecto importante cuando este es de la misma clase, como el diámetro de la indentación.

Métodos de prueba:

Los diversos métodos de prueba de dureza varían en técnica y equipo a emplear:

**1.- Prueba de Marca:** En esta simplemente se observa si un material es capaz de marcar en otros (La prueba Mohs).

**2.- Prueba de Barrido:** En la cual una dureza determinante de un material como el diamante es cargado y empujado a través de una superficie a hacer una ranura. La extensión y profundidad de la ranura es una medida de dureza (La prueba Bierbaum).

**3.- Prueba de Corte:** En la cual un instrumento cortante o afilado es usado para quitar o eliminar un pedazo de tamaño estandar.

**4.- Prueba de Abrasión:** En la cual una muestra es cargada contra un disco rotatorio y la proporción de desgaste es determinado opticamente y la perdida de peso es usado como una medida de dureza.

**5.- Prueba de Erosión:** Es una variación sobre la prueba de abrasión, en la cual la abrasión es sobre la superficie de una muestra y la pérdida de peso en un tiempo dado es usado como una medida de dureza.

**6.- Prueba de Amortiguación:** En la cual un péndulo con un muy duro y puntiagudo pivote, es colocado y balanceado sobre la superficie de una muestra y el tiempo a reducir la amplitud de la oscilación, es usado por un 50% como una medida de dureza. (La prueba del péndulo o prueba de Herbert).

**7.- Prueba de Rebote:** Una prueba facilmente adaptada a mediciones sobre grandes rangos de temperatura en donde una bola es rebotada sobre la superficie de una muestra, y la altura del rebote es tomado como una medida de dureza. (El nombre Shore es algunas veces asociado con esta medida de dureza).

**8.- Prueba de Indentación Estática:** Es el mas usado generalmente, el mas extensamente analizado, y el mas abundante en la amplitud del dato que es proporcionado. Una bola, cono o pirámide es forzado dentro de una superficie y el peso por unidad de área de impresión es considerando los materiales de dureza. Varios tipos de pruebas tales como son: Brinell, Vickers, Rockwell y Knoop.

## **INDENTACION VICKERS**

El número de dureza Vickers es basado sobre el promedio de la longitud de las dos diagonales formadas por el cuadrado basado en la indentación, por ejemplo si una diagonal es alineada sobre una superficie entonces la otra es paralela a la dirección, además, esto es solo sobre planos simétricos de la indentación, de modo que la indentación resultante será cuadrada.

Sobre otros planos, la tendencia a las indentaciones sera deformada como el resultado de accidentes debido a la aparición de dislocaciones y medidas de error. Además hay pocos o ningún estudio de Anisotropia usando el diamante Vickers.

Esta técnica consiste basicamente en colocar sobre la platina del aparato de microdureza la muestra, en este caso la loseta de esmalte, y con el lente de 10X se enfoca la muestra, posteriormente se gira el lente para colocar la punta de diamante con un peso de 100gramos, y se determina el tiempo de aplicación sobre la loseta de esmalte en este caso se hizo durante 15 segundos, debido a que al aplicar un mayor tiempo la indentación resultaria con deformaciones al igual que si aplicamos un peso mayor de 100g y por lo tanto obtendriamos resultados erroneos. Estas dos variables (tiempo-peso) afectan la determinación de valores de dureza absolutos para las muestras; cuando se incrementa la dureza la aplicación del peso aumenta, esto es por que el volúmen de la muestra usado para someterse es mas grande y el mecanismo para producción o sometimiento es dependiente sobre un volumen limitado el cual llega a ser mas significativo que el tamaño de indentación disminuido. El desarrollo de esta idea es que la poca profundidad cerca de la superficie hace que el volumen de la zona de deformación pueda llegar a ser una fracción significativa de el volumen total afectado cuando un muy bajo peso es usado para hacer la indentación.

Una vez obtenida la indentación en la loseta se procedio a tomar las medidas de ambos lados de la indentación (valor vertical y horizontal) con estos valores se aplica la fórmula y se obtiene el valor de microdureza Vickers. Para cada espécimen y se toman dos indentaciones para tener un margen de error en las mediciones.

$$HV=18.544 \frac{(P)}{d^2}$$

**HV**=Número de microdureza de Vickers.

**P**= peso

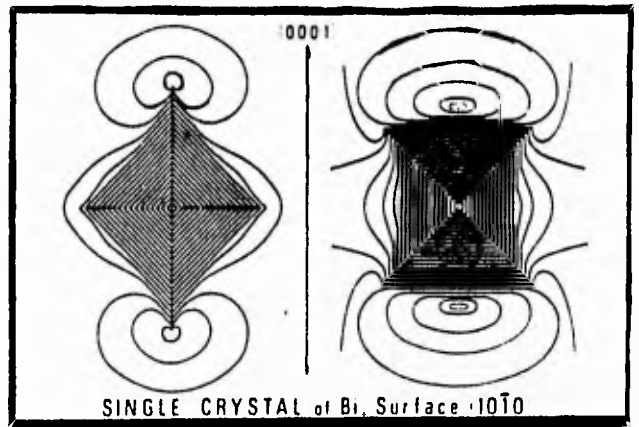
**d**=Longitud de la diagonal de la indentación  $\mu\text{m}$ .

Es importante que el material a indentar este bien pulido y no haya superficies rugosas o imperfecciones ya que esto puede hacer que al tomar la indentación esta aparezca deforme con los bordes no bien definidos y por lo tanto la medida de dureza sea erronea.

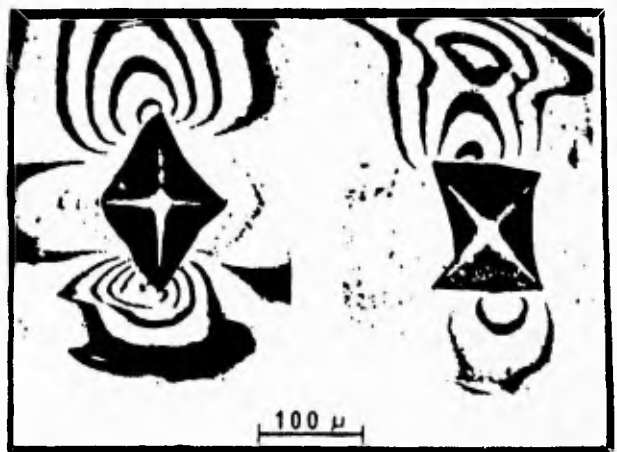


Por otra parte por las características que tiene este tipo de medida la presencia de imperfecciones o rugosidades podría ser una ventaja para alterar los resultados con respecto a la erosión.

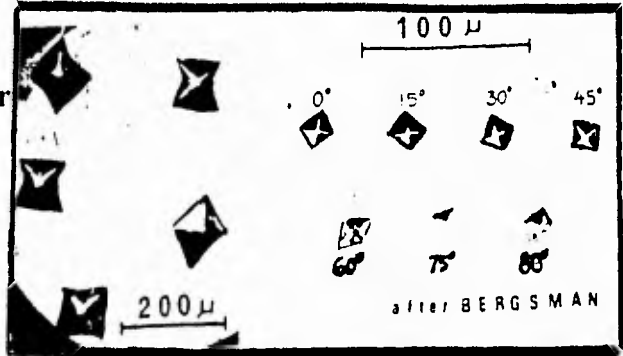
**FigI.** Figura en la que se muestran los patrones de interferencia de dos indentaciones Vickers sobre la superficie de un cristal sencillo. La distribución de las franjas revela el origen plástico de la indentación en la fig(b), resultante de las líneas paralelas entre si



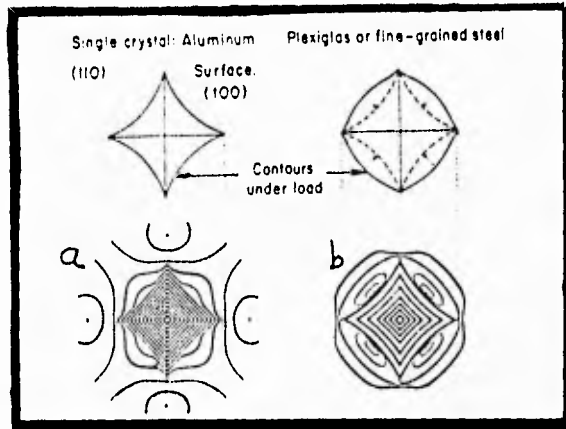
**FigII.** muestra la interferencia de dos indentaciones Vickers sobre la superficie de un cristal sencillo y muestra la deformación de la indentación causada por el incorrecto pulido de la loseta de esmalte.



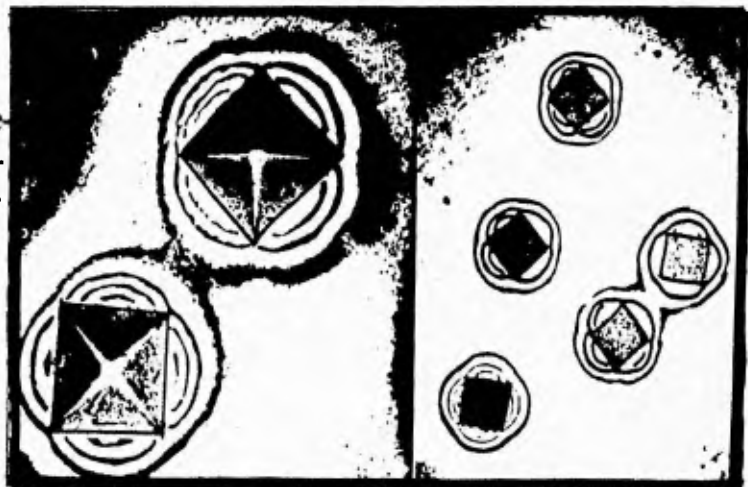
**FigIII.**Muestra las diversas deformaciones causadas a las microindentaciones por el --exceso de peso aplicado y el prolongado periodo de tiempo utilizado en la loseta al hacer la indentación.



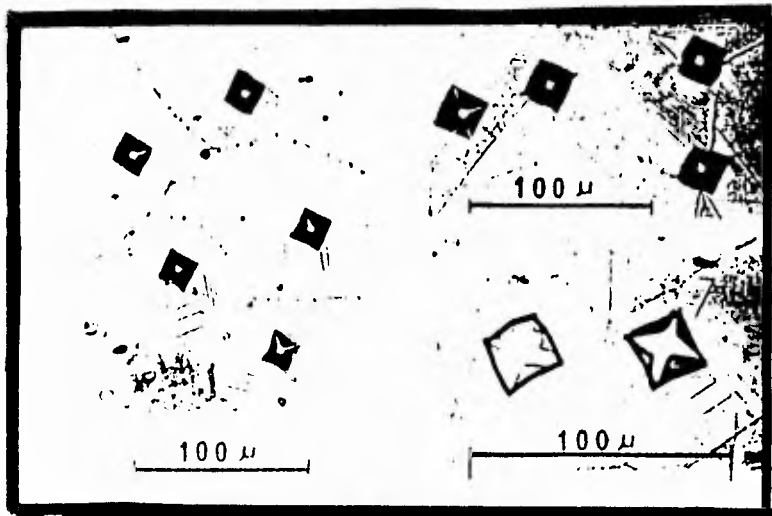
**FigIV.**La figura (b), muestra la anisotropía causada a la indentación en comparación a la figura (a), la cual presenta sus contornos en forma correcta al estar las líneas paralelas unas a otras.



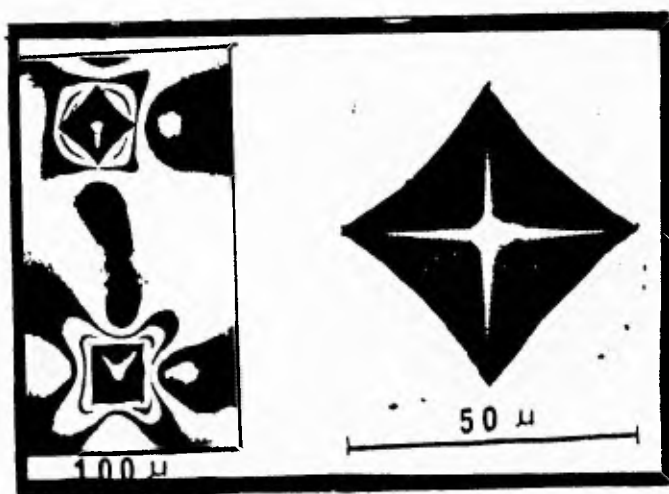
**FigV.**En estas figuras se muestra una serie de microindentaciones que corresponden a las formas definidas de las muescas hechas en el esmalte en los primeros días de la prueba de dureza.



FigVI Muestra una serie de microindentaciones espaciadas a  $100\mu\text{m}$ , las cuales muestran la poca porosidad que se tenia en los primeros días de las pruebas de dureza..



FigVII. Microindentaciones realizadas correctamente al utilizar una carga y un tiempo de indentación adecuado, observe la armonía que se presenta entre ambas indentaciones.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Cuantificar el efecto erosivo *in vitro* provocado por refresco utilizando características similares a la cavidad oral como son la saliva, niveles de ingesta<sup>8</sup>, el tipo de movimiento que se lleva a cabo en la boca o el tiempo en ingerir el refresco y la protección que da la película adquirida (en sus tres distintos períodos de incubación) a la superficie del esmalte. Todo esto medido en un aparato de microdureza Vickers y analizando los datos mediante ANOVA de una vía y prueba t de Student.

## JUSTIFICACION DEL ESTUDIO

El presente trabajo de tesis representa la tercera etapa de una investigación sobre la interrelación refresco/erosión sobre el esmalte. En estos estudios se estableció que el patrón de consumo de refresco puede ser aplicado a un ambiente experimental, a fin de establecer intervalos de inmersión de losetas de esmalte en refresco que sean semejantes a la exposición real en la población. De esta forma, es posible establecer de una forma más fiel el efecto de los refrescos sobre los tejidos dentales.

## OBJETIVO GENERAL

El objetivo de la presente investigación *in vitro* fue cuantificar el efecto erosivo de los refrescos en el esmalte humano de acuerdo con la presencia de flujo o agitación en el medio erosivo; tres diferentes tiempos de incubación para formar películas salivales adquiridas, la incorporación de saliva total o saliva clarificada como medio de incubación, y el uso de esmalte de dientes temporales o de dientes permanentes.

El grado de erosión fue representado por la determinación experimental de la caída de microdureza Vickers del esmalte.

## OBJETIVOS ESPECIFICOS

- ◆ Determinar si la saliva clarificada o total alteran el efecto erosivo del refresco sobre el esmalte humano.
- ◆ Determinar si la erosión provocada por refresco es diferente en esmalte temporal y en esmalte permanente.
- ◆ Determinar si la erosión provocada por el refresco difiere de acuerdo al régimen de exposición del esmalte.

- ♣ Determinar si la erosión es distinta por la presencia de flujo o agitación en el medio erosivo.
- ♣ Determinar si existe algún efecto protector al emplear tres tiempos de incubación para formar películas salivales adquiridas distintas.

## **HIPOTESIS**

- ♣ No hay diferencia en el grado de erosión detectado en el esmalte almacenado en saliva humana clarificada y total.
- ♣ No hay diferencia en el grado de erosión detectado en esmalte temporal y esmalte permanente.
- ♣ No hay diferencia en el grado de erosión detectado en el esmalte bajo tres diferentes tiempos de exposición al refresco.
- ♣ No hay diferencia en el grado de erosión detectado en el esmalte cuando las inmersiones en refresco ocurren bajo presencia de flujo simulado con un agitador magnético.
- ♣ No hay diferencia en el grado de erosión detectado en el esmalte protegido por películas salivales adquiridas creadas bajo tres regímenes distintos.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Selección de la muestra:**

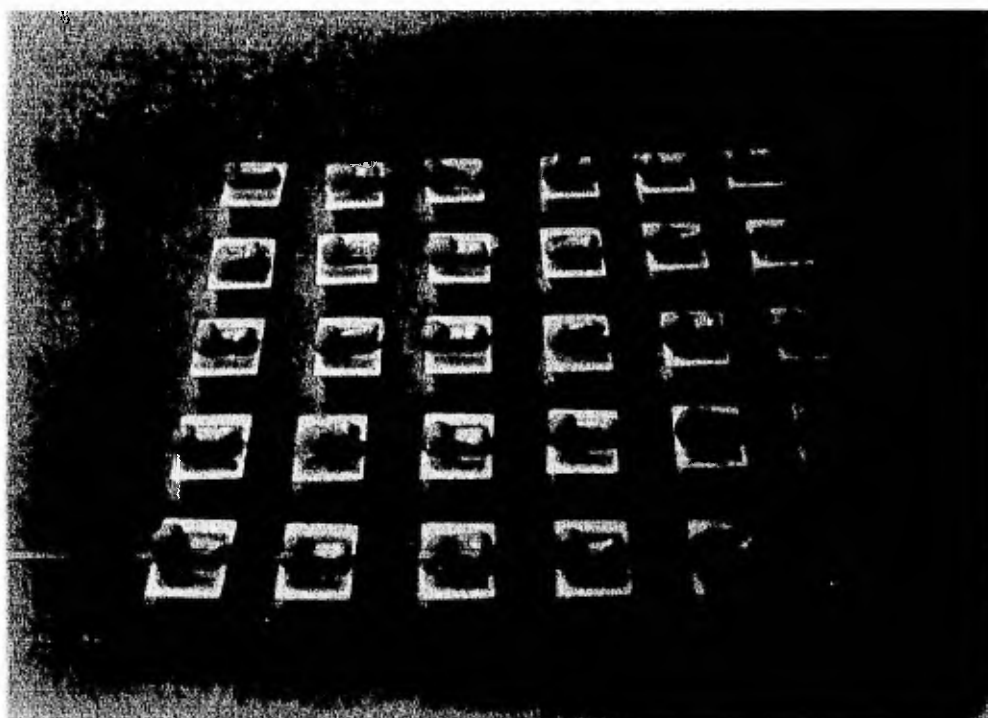
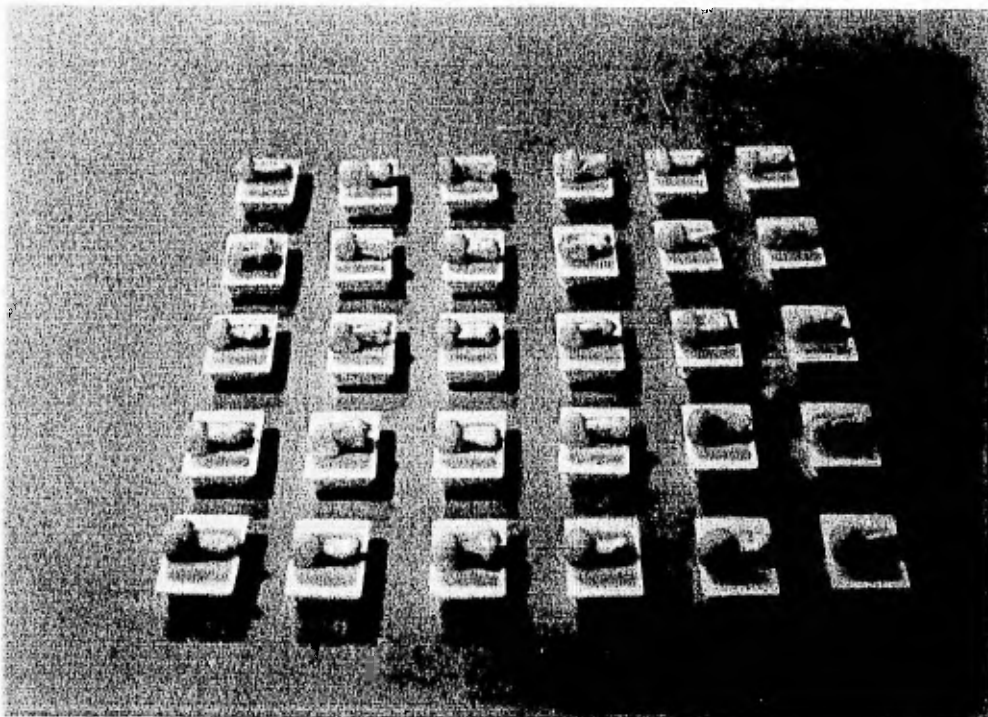
Mediante la donación de dientes se obtuvieron un total de 50 dientes temporales y 50 dientes permanentes libres de caries. Los dientes recolectados para el estudio fueron incisivos, premolares y molares.(fig. a,b)

### **Criterios de Inclusión:**

- I. Dientes sin caries.
- II. Dientes sin restauraciones en la cara palatina o vestibular del diente.

### **Criterios de exclusión:**

- I.- Dientes pigmentados.
- II.- Dientes con corona protésica o fracturados durante la extracción.



## Preparación de los especímenes:

Se realizó la inclusión de cada diente con acrílico autopolimerizable en aros de inclusión dejando el diente en un plano paralelo al aro de inclusión. Cada diente fue colocado en un microtomo y se realizó el corte con un disco de diamante de 1mm de grosor montado en un motor eléctrico. Utilizando agua como refrigerante, se hicieron los cortes de una sola intención por la superficie bucal y/o palatina de cada diente, se obtuvo una loseta cuadrangular de 3 por 3 por 1 mm de grosor, obteniendo 72 losetas temporales y 72 losetas permanentes.(fig.c,d).

Cada loseta fue pulida minuciosamente con lija del No 600 (3M U.S.A.) finalizando el pulido con partículas de hidróxido de alumina para así lograr una superficie plana y sin ralladuras que interfieran con las mediciones.

Se formaron 4 grupos principales de losetas de esmalte destinadas a los siguientes regímenes experimentales:

**GRUPO 1:** 36 LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE CON SALIVA TOTAL.

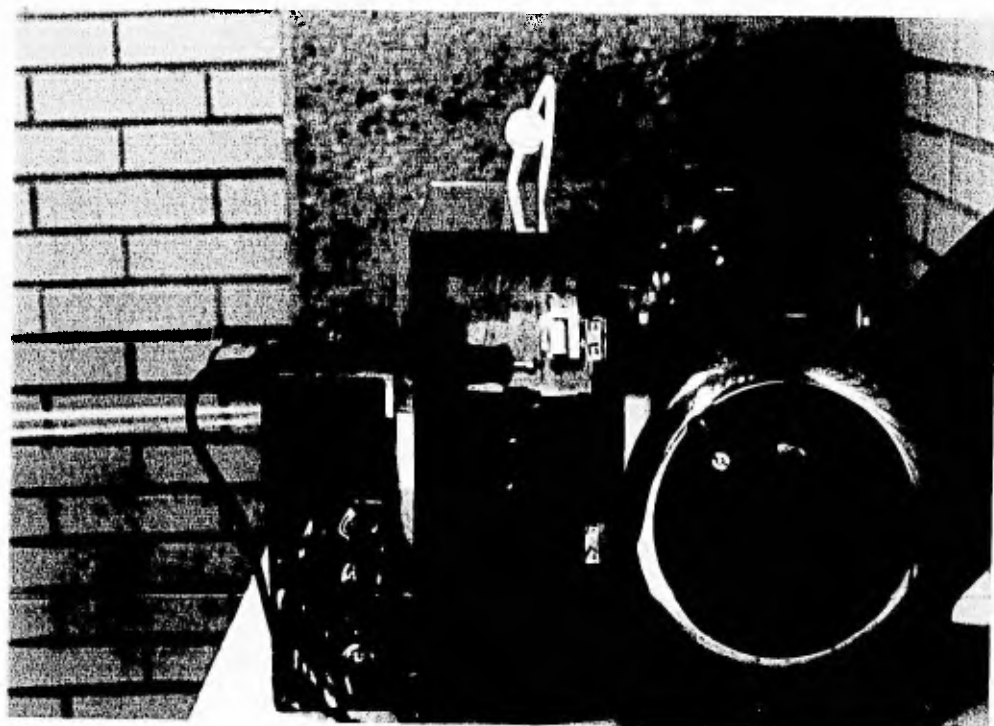
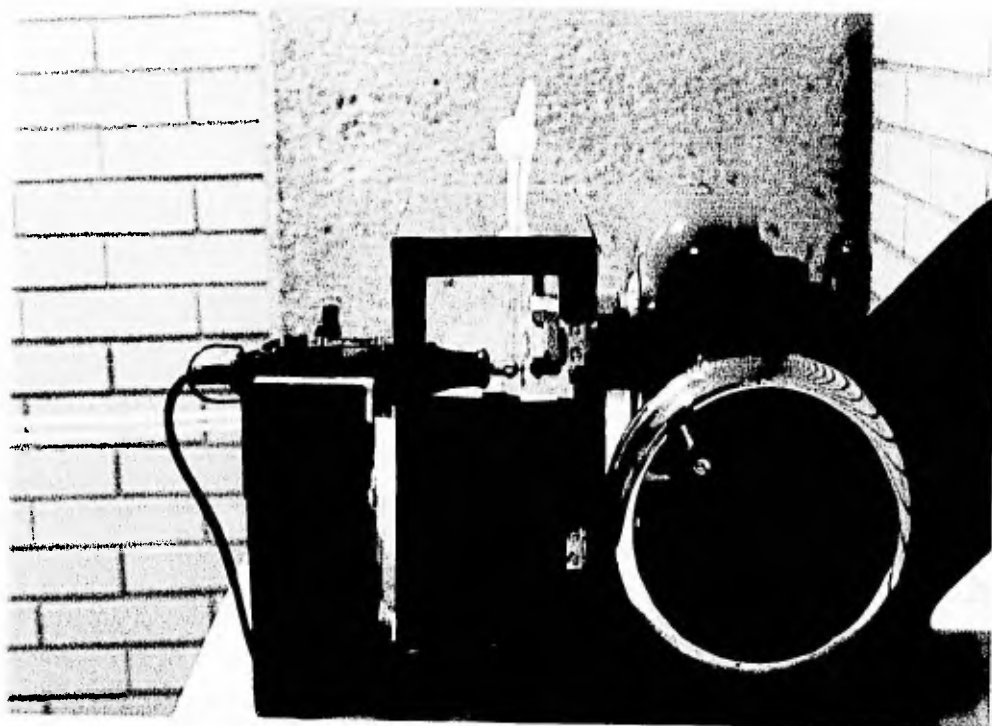
**GRUPO 2:** 36 LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE CON SALIVA CLARIFICADA.

**GRUPO 3:** 36 LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL CON SALIVA TOTAL.

**GRUPO 4:** 36 LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL CON SALIVA CLARIFICADA.

**GRUPOS CONTROL:** En un estudio anterior se hicieron ensayos de grupos control para determinar si la presencia de antibiótico y/o el almacenamiento en agua doblemente deionizada y saliva clarificada por si solos alteraban el grado de erosión observado experimentalmente en las losetas de esmalte.

Se formaron 8 grupos control con las siguientes características: (1) las losetas fueron almacenadas en agua doblemente deionizada con y sin antibiotico, (2) fueron sumergidas en refresco bajo uno de tres diferentes regímenes (1,5 y 10 inmersiones al día), (3) otras losetas fueron almacenadas durante 8 días en agua doblemente deionizada o en saliva clarificada. Estos líquidos fueron cambiados diariamente.



© 1994 by [unreadable]



## DEFINICION DE VARIABLES:

### Variables dependientes:

**Erosión:** Pérdida de estructura dental debida a la acción de los ácidos, se midió por microdureza Vickers ( $\mu\text{m}$ ) 100g de carga por 15 seg<sup>19</sup>.

### Variables Independientes:

**Refresco:** Bebida refrescante gaseosa no alcoholica que contiene agua carbonatada, carbohidratos, azúcares extrínsecos con un pH de 2.58, se usaron 5ml por inmersión<sup>8,9,34</sup>.

**Exposición al refresco:** Periodo de tiempo en el que el esmalte humano fue expuesto al refresco, el tiempo fue de 5 minutos por inmersión. Los regímenes de exposición fueron, una, cinco ó 10 veces al día.

**Tipo de esmalte de diente:** Origen del esmalte empleado para diseñar la loseta experimental. escala: temporal y permanente.

**Flujo:** Simulación del movimiento del refresco. El flujo fue durante 5 minutos por cada exposición de refresco.

**Saliva total:** Saliva usada sin separación de solutos o partículas en suspensión (se usaron para incubar 15 mL). **Saliva clarificada:** Separación de los componentes pesados de la saliva llevado a cabo por centrifugación (se usaron para incubar 15 mL).

**Película adquirida:** Capa orgánica acelular y exenta de bacterias compuestas principalmente por glucoproteinas salivales que se encuentra sobre el esmalte. Se dejó formar sobre las losetas de esmalte durante 20 minutos, 6 horas y 24 horas.

### Recolección de saliva.

Para la recolección de saliva los sujetos estuvieron sentados en una posición de relajación, con la cabeza un poco inclinada durante un minuto, y se les pidió evitar pensar en comida, ruido, problemas, etc, ya que esto influye en la consistencia, propiedades y flujo. Pasado el minuto se les pidió que se enjuagaran

la boca con agua purificada. A partir de ese momento comenzaron a masticar un trozo de liga de hule 20 veces y acumular la saliva hasta concluir un minuto y escupir hacia el interior de un tubo de plástico contenido en hielo. La saliva fue recolectada a intervalos de 1 minuto y hasta completar 5 minutos.

Antes de comenzar la recolección de saliva se pusieron a enfriar los tubos recolectores en un vaso con hielo para evitar el crecimiento de cualquier bacteria y evitar que la saliva sufriera alguna transformación.

Para los dos grupos experimentales de losetas de esmalte permanente, la saliva fue de un donador adulto aparentemente sano y la recolección se hizo de 8:00 a 9:00 AM, haciendo un día la recolección y otro no. Para los dos grupos experimentales de losetas de esmalte temporal la saliva fue de un donador niño aparentemente sano y la recolección de saliva se hizo de 8:00 a 9:00 AM, haciendo un día la recolección y otro no.

- a) Para el primer grupo experimental se usaron 36 losetas de esmalte permanente las cuales se colocaron en incubación (en celdas múltiples para cultivo) con saliva total. Los grupos experimentales se clasificaron de la siguiente manera: (Diagrama. 1.)

**Grupo A:** formación de película adquirida en 20 minutos.

**Grupo C:** formación de película adquirida en 6 horas.

**Grupo E:** formación de película adquirida en 24 horas.

- b) Para el segundo grupo experimental también se usaron 36 losetas de esmalte permanente y se incubaron en saliva clarificada la cual se centrifugó a 2000 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 minutos, siguiendo los mismos regímenes de incubación (se usó una centrifuga clínica marca Universal). Los grupos se clasificaron como: (Diagrama. 2.)

**Grupo B:** formación de película adquirida en 20 min.

**Grupo D:** formación de película adquirida en 6 horas.

**Grupo F:** formación de película adquirida en 24 horas.

- c) El tercer grupo experimental se hizo con losetas de esmalte temporal, se usaron 36 y se incubaron en saliva total. Se clasificaron de la siguiente manera:(Diagrama.3.)

**Grupo G:** formación de película adquirida en 20 minutos

**Grupo I:** formación de película adquirida en 6 horas

**Grupo K:** formación de película adquirida en 24 horas

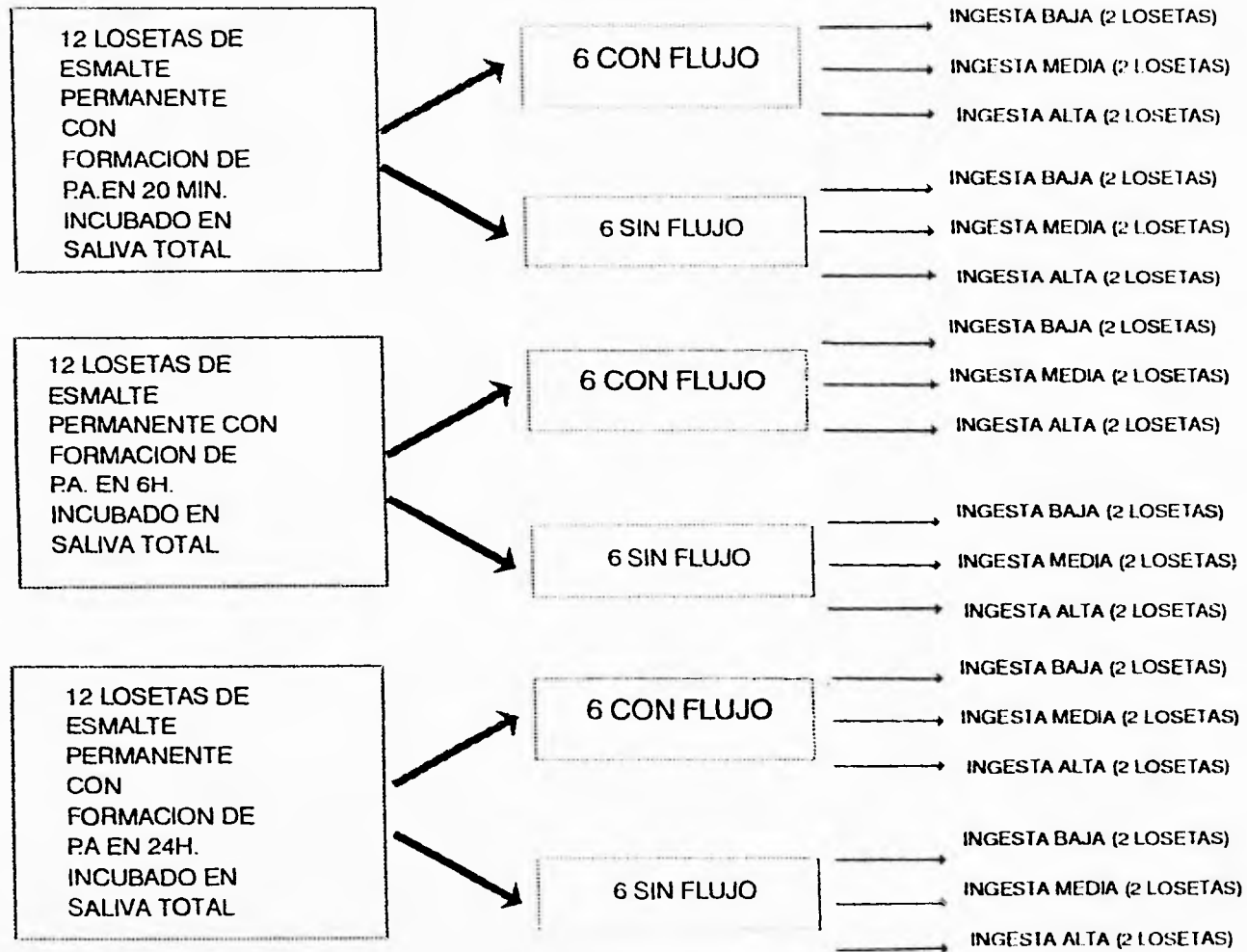
- d) Para el cuarto grupo experimental se usaron 36 losetas de esmalte temporal y se incubaron en saliva clarificada a 2000 rpm durante 15 minutos. Se clasificaron de la siguiente manera:(Diagrama.4.)

**Grupo H:** formación de película adquirida en 20 minutos

**Grupo J:** formación de película adquirida en 6 horas.

**Grupo L:** formación de película adquirida en 24 horas.

DIAGRAMA 1: ESMALTE PERMANENTE CON SALIVA TOTAL SEGUN TIEMPO DE INCUBACION, FLUJO E INGESTA



**DIAGRAMA 2: ESMALTE PERMANENTE CON SALIVA CLARIFICADA  
SEGUN TIEMPO DE INCUBACION, FLUJO E INGESTA**

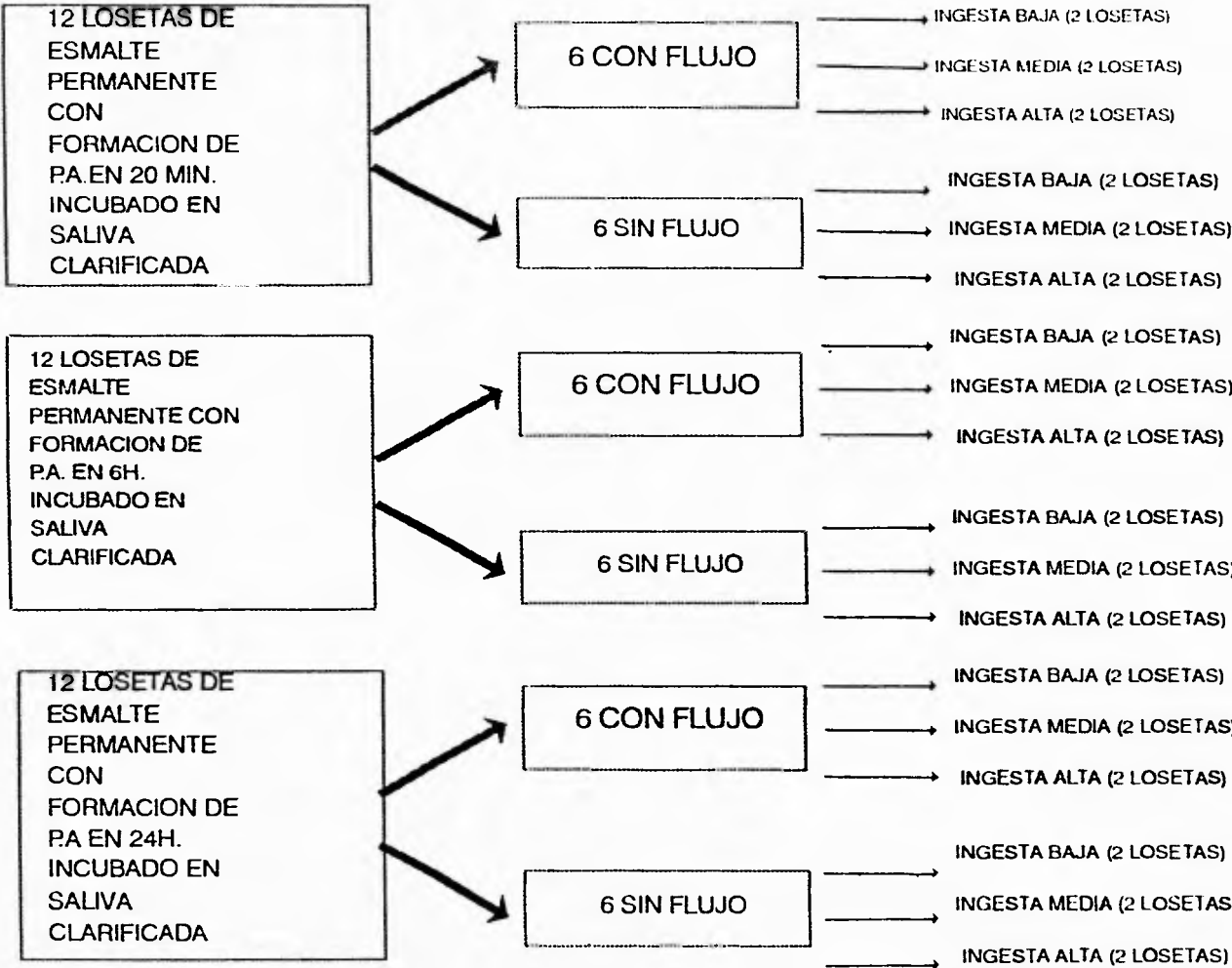


DIAGRAMA 3: ESMALTE TEMPORAL CON SALIVA TOTAL SEGUN TIEMPO DE INCUBACION, FLUJO E INGESTA

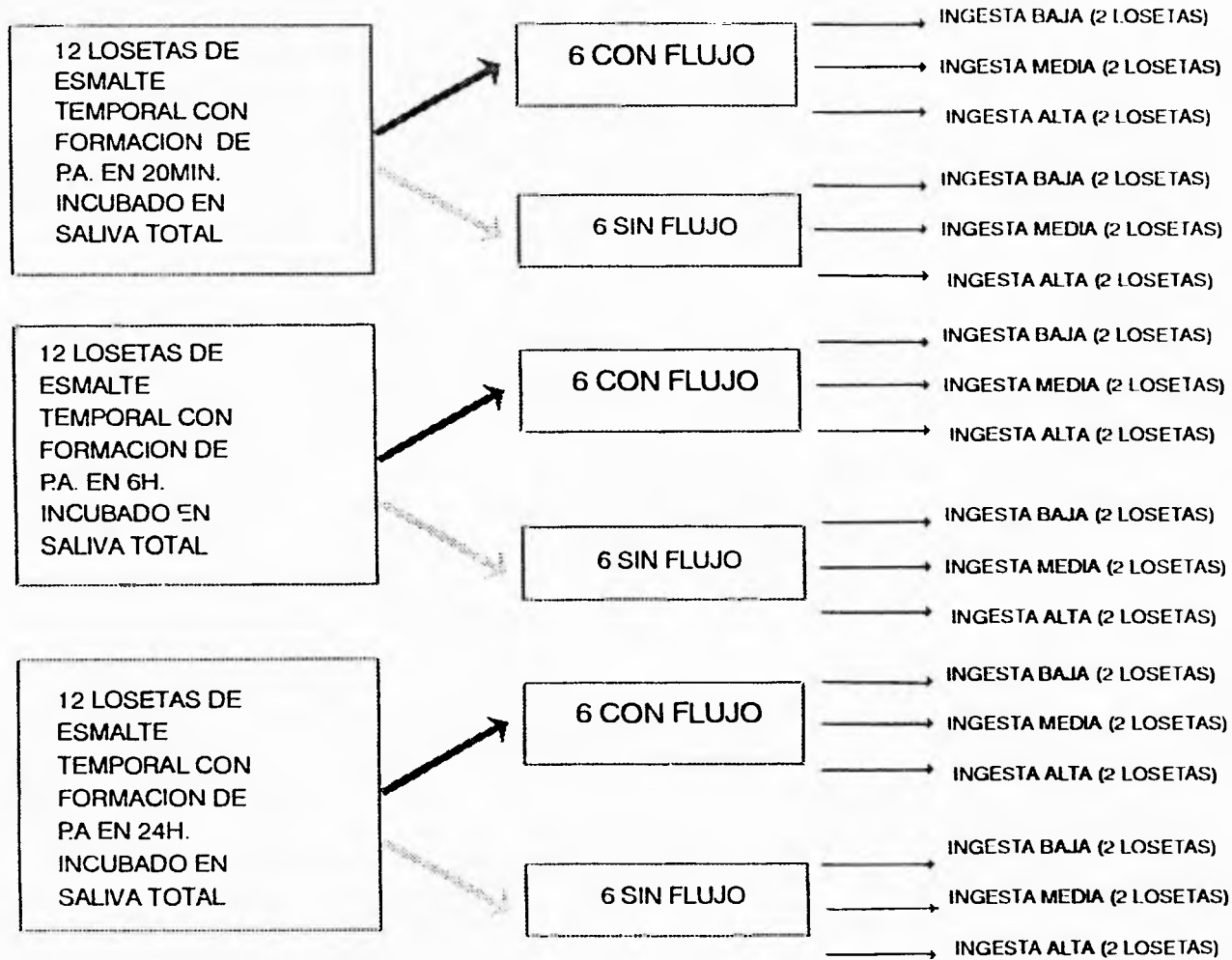
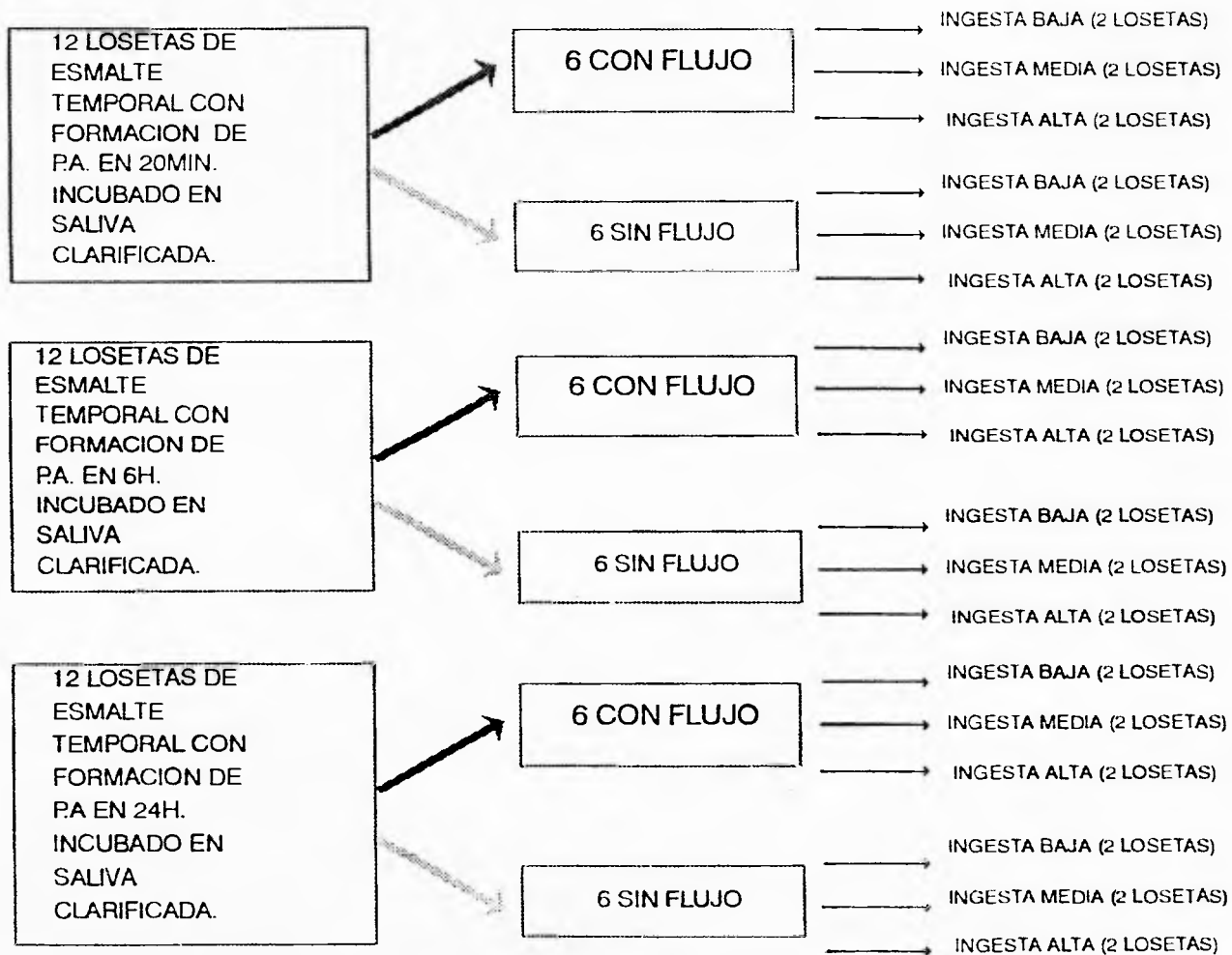


DIAGRAMA 4: ESMALTE TEMPORAL CON SALIVA CLARIFICADA  
SEGUN TIEMPO DE INCUBACION, FLUJO E INGESTA



## Procedimientos de laboratorio.

Después del periodo de formación de la (P.A), las losetas de esmalte se sumergieron en refresco de acuerdo a los diferentes grupos experimentales:

- 1) Las losetas se sumergieron en refresco con o sin flujo proveniente de un agitador magnético.
- 2) Las losetas se sumergieron en refresco bajo uno de tres diferentes regímenes de ingesta (ingesta baja, 1 inmersión al día; ingesta media, 5 inmersiones al día; ingesta alta, 10 inmersiones al día).

Las losetas se protegieron del daño que pudieran causarles los magnetos del agitador mediante unos contenedores que fueron fabricados con malla nylon para mosquitero. Se colocaron dos losetas para cada uno de los 12 diferentes grupos experimentales, cada uno de estos especímenes fue tratado individualmente con inmersiones de 5 minutos cada uno en refresco Coca Cola de pH 2.58. Después de las inmersiones en refresco, las losetas se lavaron en amortiguador de fosfato salino a 0.1M (PBS). Cuando las losetas no estuvieron expuestas a inmersiones de refresco se almacenaron en agua doblemente deionizada. (fig e,f).

## Preparación del amortiguador de fosfato salino a 0.1 M.

Ocho gramos de NaCl (Carlo Erba, Italia, F.W. 58.45), 0.2g KCL (Carlo Erba, Italia, F.W. 74.55), 1.44g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O (Baker, Phillipsburg N.J F.W 136.091) se mezclan con 800 mL de agua doblemente deionizada usando un agitador magnético. El pH se ajustó a 7.2 con HCL y se añadió agua doblemente deionizada hasta aforar a 1000 mL.

## Análisis cuantitativo.

Cada loseta de esmalte se colocó en la platina de un aparato de microdureza (Shimadzu, Kyoto), y se hicieron dos indentaciones para cada espécimen espaciadas por 100µm con un diamante de tipo Vickers bajo 100 gramos de carga durante 15 segundos, con el fin de controlar el margen de error que pudiera existir al tomar las lecturas.





Figure 1. A series of 12 vials containing a standard solution of 1.0% sodium chloride in distilled water. The vial on the right is the standard solution. The vial on the left is the sample solution. The vials in the middle are the standard solution.

Posteriormente se procedió a medir la longitud de la huella en sus dos ejes (vertical y horizontal), para sacar un promedio y posteriormente aplicar la fórmula para obtener el número de microdureza de Vickers (Vickers Microhardness Number) (HV)<sup>16</sup> (fig. g,h).

$$HV=18.544 \frac{(P)}{d^2}$$

**HV**=Número de microdureza de Vickers.

**P**= peso

**d**=Longitud de la diagonal de la indentación  $\mu\text{m}$ .

Los datos cuantitativos de la dureza de la superficie erosionada se capturaron en una base de datos y posteriormente analizaron mediante regresión lineal múltiple, ANOVA de una vía y prueba t de Student.

Preparación de los grupos control:

Con el fin de determinar si la presencia de antibióticos y/o el almacenamiento en agua doblemente deionizada o en saliva alteraban independientemente el patrón de erosión observado experimentalmente, se realizaron ensayos control. Los grupos difirieron en que (1) las losetas fueron almacenadas en agua doblemente deionizada sin antibiótico, y (2) las losetas fueron almacenadas en agua doblemente deionizada con antibiótico. Estos líquidos fueron cambiados diariamente.

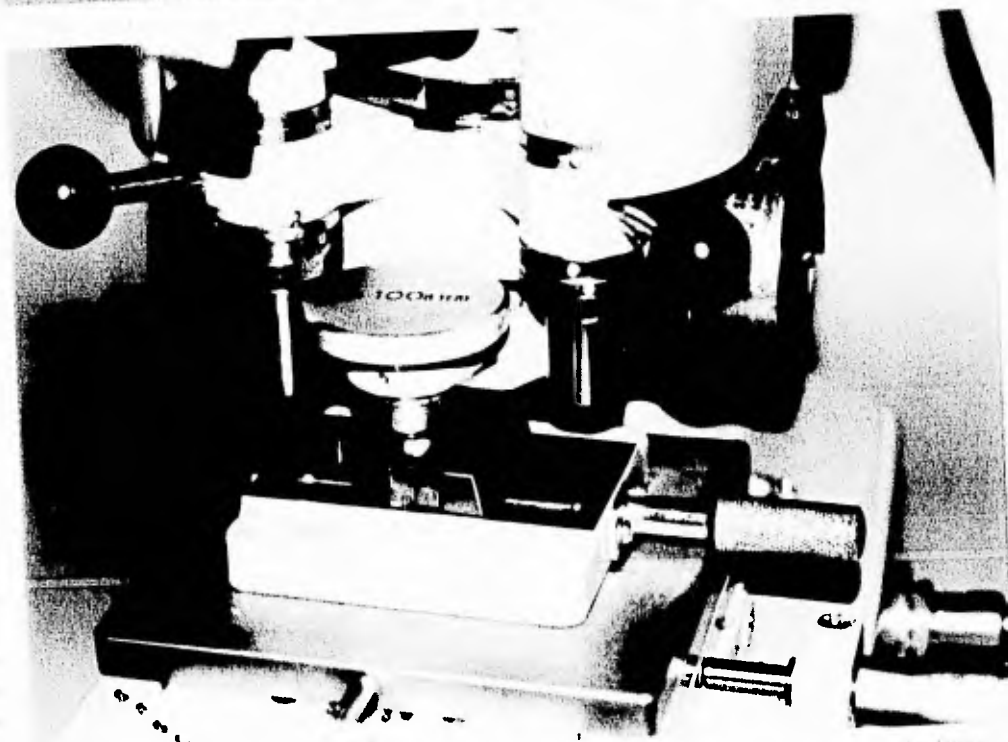
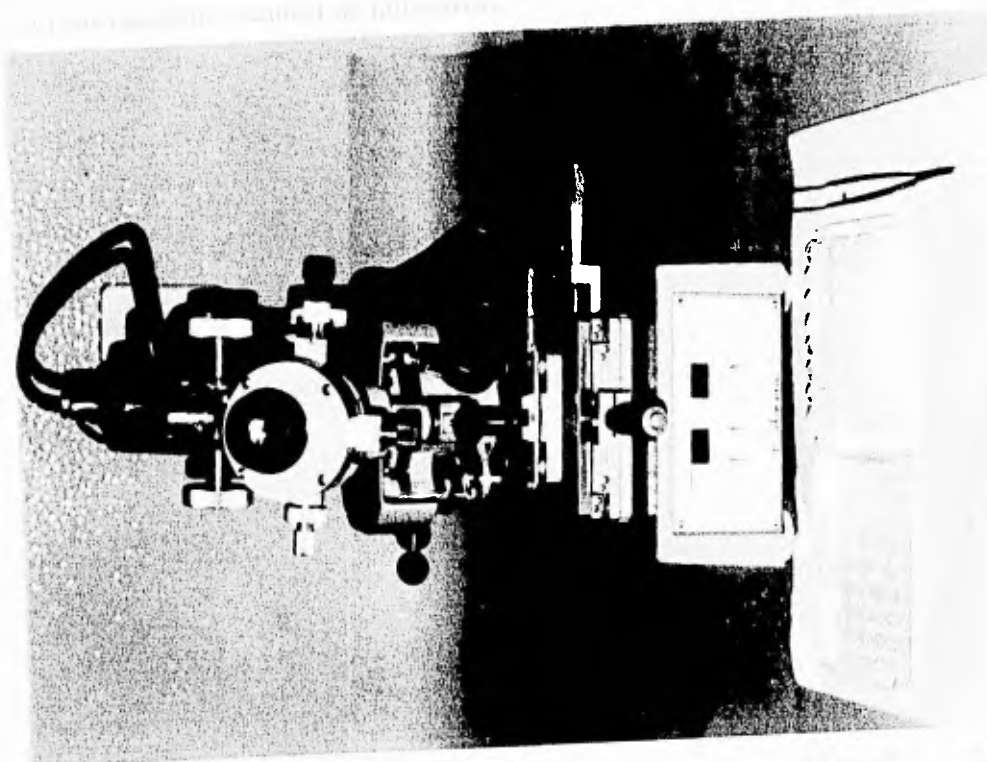


Fig. 1. The microscope used in the study of the structure of the cell wall of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The objective lens is 100x.

## **MATERIALES Y EQUIPO A EMPLEAR.**

- 1.- 50 dientes temporales.
- 2.- 50 dientes permanentes.
- 3.- Acrilico autopolimerizable.(proalon)
- 4.- Aros de inclusión.
- 5.- Discos de diamante 1mm de grosor.X-929-7 TP Abrasive Tecnology,Inc. U.S.A.
- 6.- Agua como refrigerante
- 7.- Microtomo Gebrauchshin weise Für Mihat-Mikrotom Typ 1212 Erns Leitz Wetzlar (German).
- 8.- Motor de baja velocidad.Moto-Tool Dremel model 285 type 1, 2 speed 15000rpm,28000rpm U.S.A.
- 9.- Papel de carburo de Silicio No600 ultrafina.3M U.S.A.
- 10.- Hidróxido de alumina.0.3 a 0.05
- 11.- Celdas multiples para cultivo (Costar corp. 48 well cell Culture Cluster,U.S.A.
- 12.- Agua deionizada.
- 13.- Refresco Coca Cola(pH 2.58).
- 14.- Un donador de saliva niño.
- 15.- Un donador de saliva adulto.
- 16.- 4 Sterile disposable polypropylene centrifuge tubes 50mL.Corning New York U.S.A.
- 17.- 4 Sterile disposable polypropylene centrifuge tubes 15mL. Corning New York U.S.A.
- 18.- 40 ligas de hule.
- 19.- Hielo.
- 20.- Una hielera.Nicer Insulated ICE Buckets.
- 21.- 100 recipientes de plastico de 30 ml.
- 22.- Malla para mosquitero de nylon.
- 23.- Pinzas de curación.
- 24.- 4 pipetas.Narrow stem sedi-pet transfer pipets.
- 25.- Un agitador magnético.Nuova II. Stir plate-Thermolyne
- 26.- 4 moscas.
- 27.- Una centrifuga clinica Universal (0-3500 rpm).

- 28.-Un aparato de microdureza.Shimadzu,Kyoto Microhardness tester.
- 29.- Cinta semitransparente para sellar.Parafilm"M"American National Greenwich.
- 30.- Cronómetro o reloj.Timer-M.H. Rhodes. Inc.Avon,Conn.
- 31.- Bolsa para basura.
- 32.- Baberos desechables para el donador.
- 33.- Papel para medir pH.Macherey-Nagel pH-fix 7.0-14 D-52348 DÜREN Méx.

### **Análisis de los datos**

Se calculó el promedio de microdureza para cada uno de los grupos en cada uno de los ocho días de exposición. Se compararon los promedios para cada grupo por día por medio de la t de Student. En los casos en los que se compararon tres grupos, se utilizó el análisis de Varianza.

Se analizaron 144 losetas de esmalte divididas en cuatro grupos principales de 36 losetas cada uno.

Para comprobar las hipótesis el análisis se realizó para cada uno de los siguientes grupos.

*Tipo de esmalte*

*Tipo de saliva*

*Presencia o ausencia de flujo*

*Nivel de ingesta*

*Tipo de incubación*

## **RESULTADOS.**

### **Ensayos de grupos control.**

Los resultados de los grupos control arrojaron los siguientes resultados. En los grupos con y sin antibiótico, no hubo diferencias estadísticamente significativas en la microdureza del esmalte en ninguno de los tres días valorados. Tampoco hubo diferencias estadísticamente significativas en el grupo con almacenamiento de agua doblemente deionizada y saliva. (Fig. 1).

### **Comparación de resultados de los ensayos con y sin flujo de esmalte temporal y permanente.**

No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el promedio de microdureza del esmalte en el día 1 entre el grupo con flujo (agitación) y el grupo sin flujo (Fig. 2). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas del 2° al 8° día, en donde el promedio de microdureza fue menor en el grupo de losetas sin flujo que en el grupo con flujo.

### **Comparación de resultados de los ensayos entre grupos de esmalte temporal y permanente.**

Esta situación también fue observada al hacer el análisis por separado en el esmalte permanente (Fig.3) y temporal (Fig. 4).

Independientemente de las consideraciones metodológicas al comparar la dureza observada en esmalte proveniente de dientes temporales y de dientes permanentes, se realizó la comparación entre las lecturas de dureza entre ambos tipos de dientes. La caída en la microdureza fué mucho más marcada en el esmalte temporal que en el permanente en los primeros dos días de incubación, y de ahí hasta el 8° día los valores alternaron entre diferencias estadísticamente significativas y no significativas (Fig. 5).

### **Comparación de resultados de los ensayos entre saliva total y saliva clarificada.**

En principio, parece ser que cuando los resultados en esmalte permanente y temporal se conjuntan, no hay una diferencia estadísticamente significativa entre la microdureza del esmalte detectada en losetas cuya película adquirida se derivó de saliva total y aquellas incubadas en saliva clarificada, en los primeros

tres días de exposición. Los días 4 y 5 sí hay una diferencia significativa (las losetas con saliva clarificada son más afectadas en su dureza), y nuevamente en los días 6, 7 y 8 esta diferencia desaparece (Fig. 6).

Estos comportamientos variables vuelven a presentarse al examinar por separado los datos provenientes de los grupos en esmalte permanente (Fig. 7) y temporal (Fig. 8), en esmalte permanente los días 2 y 4 se presentaron diferencias estadísticamente significativas; en el esmalte temporal, las diferencias significativas fueron los días 1, 2 y 8.

#### **Comparación de resultados de los ensayos entre los tres niveles de ingesta.**

El nivel de ingesta (bajo, medio y alto) jugó un papel de importancia en la disminución de la microdureza en este ensayo. Del día 1º al 8º se detectó una microdureza significativamente menor en el grupo de alta ingesta que en el grupo de baja ingesta. Eventualmente esta diferencia también abarcó al grupo de ingesta media, colocándolo entre el grupo de alta ingesta y el de baja ingesta. Esta situación ocurrió tanto en el ensayo con esmalte permanente (Fig.9) como en el ensayo con esmalte temporal (Fig. 10) y también cuando las lecturas de los dos tipos de esmalte fueron analizadas conjuntamente (Fig.11).

#### **Comparación de resultados de los ensayos entre los tres tiempos de incubación para obtener películas adquiridas de 20 min, 6 h y 24 h.**

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la microdureza entre los tres tiempos de incubación ni en el ensayo con esmalte permanente (Fig. 12), ni el ensayo con esmalte temporal (Fig. 13), ni cuando los datos de los dos ensayos fueron conjuntados (Fig. 14). En breve, ninguno de los tiempos de formación de película adquirida empleados confirió propiedades protectoras de mayor relevancia al ataque ácido sobre el esmalte, en tanto que una película formada a los pocos minutos era tan efectiva (o tan inefectiva) para proteger al diente como una película que se había formado durante 24 horas.

## **Resultados generales.**

Existe una disminución en la microdureza del esmalte bajo las condiciones experimentales realizadas, conforme iban siendo expuestas las losetas a los baños en refresco. Esta disminución es mucho más marcada en la primera inmersión en refresco que en las inmersiones subsecuentes (Fig.2 a 14). Conforme el número de baños aumentó, la microdureza descendió paulatinamente. Después del día 1, siempre hubo diferencias estadísticamente significativas entre las lecturas de la microdureza de cada día y la inmediata subsecuente (esto es, entre los días 2 y 3, el 3 y 4, etc).

Después del octavo día, la sensibilidad de la técnica no permitió seguir realizando lecturas de los cambios en la superficie de las losetas de esmalte. Ya que las superficies estaban tan erosionadas que no fue posible hacer una indentación claramente definida y que pudiera ser medida confiablemente, se llevó a cabo la investigación solamente hasta el día 8 de incubación.

No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en la microdureza de las losetas de esmalte en el día cero a través de ningún grupo experimental.



**TABLA1. PROMEDIO DE MICRODUREZA DE 4 GRUPOS CONTROL EN LOSETAS DE ESMALTE, CON Y SIN ANTIBIOTICO, AGUA DEIONIZADA Y SALIVA (FIG.1).**

DIA	N=18 LOSETAS		N=6 LOSETAS	
	CON	SIN	AGUA	CON
	ANTIB	ANTIB	DD	SALIVA
0	295.60	323.40	344.50	379.70
1	260.70	268.40	341.60	386.60
2	240.30	280.90	372.90	424.50
3	305.30	295.90	363.10	408.70
4			335.80	404.90
5			321.90	393.80
6			327.40	386.60
7			324.60	383.10
8			327.40	401.20

**TABLA2. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL CON Y SIN FLUJO (FIG.2).**

DIA	N=12 LOSETAS		N=12 LOSETAS		t	p
	CON	FLUJO	SIN	FLUJO		
	X	S	X	S		
0	344.62	35.63	350.44	39.62	0.93	0.356
1	294.96	44.27	289.89	45.15	0.68	0.497
2	264.68	40.32	219.63	71.64	4.65	0.000
3	247.41	41.94	184.60	74.57	6.23	0.000
4	237.26	50.27	169.85	71.57	6.54	0.000
5	219.27	50.49	147.89	75.70	6.66	0.000
6	226.79	49.83	137.58	79.90	8.04	0.000
7	198.33	42.31	120.40	78.05	7.45	0.000
8	196.45	42.06	108.61	79.41	8.29	0.000

**TABLA 3. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE CON Y SIN FLUJO (FIG.3).**

DIA	N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		t	p
	CON	FLUJO	SIN	FLUJO		
	X	S	X	S		
0	346.94	35.59	354.65	48.21	0.770	0.443
1	317.73	41.70	314.11	37.09	0.390	0.699
2	280.72	39.92	225.81	74.86	3.880	0.000
3	256.94	48.52	185.74	88.89	4.220	0.000
4	247.45	57.39	185.88	79.37	3.770	0.000
5	274.52	49.40	152.42	84.96	5.010	0.000
6	256.19	45.60	147.05	93.78	6.280	0.000
7	207.10	46.46	122.99	88.54	5.050	0.000
8	195.15	46.09	104.44	91.51	5.310	0.000

**TABLA4. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL CON Y SIN FLUJO (FIG.4).**

DIA	N=6 LOSETAS CON FLUJO		N=6 LOSETAS SIN FLUJO		t	p
	X	S	X	S		
0	342.30	36.02	346.23	28.71	0.510	0.611
1	272.20	34.21	265.66	39.40	0.750	0.455
2	248.64	34.29	213.46	68.77	2.750	0.008
3	237.88	32.04	183.46	58.11	4.920	0.000
4	227.08	40.25	153.81	59.69	6.110	0.000
5	204.02	47.45	143.37	66.06	4.470	0.000
6	197.40	34.35	128.11	63.02	5.790	0.000
7	189.55	36.27	117.82	67.13	5.640	0.000
8	197.75	38.23	112.78	66.20	6.667	0.000

**TABLA5. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL (FIG.5).**

DIA	N=12 LOSETAS ESMALTE PERM.		N=12 LOSETAS ESMALTE TEMP.		t	p
	X	S	X	S		
0	350.79	42.25	344.27	32.39	1.04	0.30
1	315.92	39.23	268.93	36.79	7.42	0.000
2	253.26	65.67	231.05	56.78	2.17	0.032
3	221.34	79.63	210.67	54.05	0.94	0.349
4	216.67	75.43	190.44	62.58	2.27	0.025
5	193.47	80.44	173.70	64.76	1.62	0.107
6	201.62	91.54	162.75	61.29	2.99	0.003
7	165.04	81.99	153.69	64.61	0.92	0.358
8	149.80	85.21	155.26	68.64	0.42	0.672

**TABLA6. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL CON SALIVA TOTAL Y CLARIFICADA (FIG.6).**

DIA	N=12 LOSETAS SALIVA TOTAL		N=12 LOSETAS SALIVA CLARIFICADA		t	p
	X	S	X	S		
0	351.83	34.42	343.23	40.43	1.38	0.171
1	294.63	34.84	290.22	52.80	0.59	0.550
2	950.12	59.86	234.20	63.83	1.54	0.125
3	225.55	68.45	206.46	66.71	1.70	0.092
4	219.47	77.64	187.64	58.42	2.78	0.006
5	195.87	82.44	171.29	61.32	2.03	0.004
6	182.87	87.83	181.50	72.03	0.10	0.918
7	164.00	79.72	154.73	67.54	0.75	0.453
8	162.27	80.45	142.79	72.96	1.52	0.130

**TABLA7. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE CON SALIVA TOTAL Y CLARIFICADA (FIG.7).**

DIA	N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		t	p
	SALIVA	TOTAL	SALIVA	CLARIFICADA		
	X	S	X	S		
0	357.53	43.26	344.06	40.70	1.360	0.178
1	302.29	38.45	329.56	35.50	3.130	0.003
2	253.77	62.15	252.76	69.89	0.060	0.949
3	232.97	84.79	209.72	73.45	1.240	0.218
4	236.55	83.79	196.78	60.90	2.300	0.025
5	210.70	91.75	176.24	64.01	1.850	0.069
6	202.53	103.26	200.72	79.60	0.080	0.934
7	169.38	90.90	160.95	73.07	0.420	0.675
8	149.26	87.78	150.34	83.81	0.050	0.957

**TABLA8. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL EN SALIVA TOTAL Y CLARIFICADA (FIG.8).**

DIA	N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		t	p
	SALIVA	TOTAL	SALIVA	CLARIFICADA		
	X	S	X	S		
0	346.14	21.56	342.39	40.71	0.490	0.627
1	286.97	29.39	250.89	34.81	4.750	0.000
2	246.47	58.14	215.64	51.69	2.380	0.020
3	218.14	46.92	203.20	60.08	1.180	0.244
4	202.39	67.88	178.50	55.15	1.640	0.106
5	181.04	70.11	166.35	59.00	0.960	0.339
6	163.22	64.74	162.28	58.56	0.060	0.949
7	158.85	67.66	148.52	61.93	0.680	0.501
8	175.29	71.23	135.24	60.48	2.570	0.012

**TABLA9. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE DE TRES NIVELES DE INGESTA DE REFRESCO EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE (FIG.9)**

DIA	N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		
	INGESTA	BAJA	INGESTA	MEDIA	INGESTA	ALTA	
	X	S	X	S	X	S	
0	355.88	45.29	352.54	42.50	343.96	39.68	>0.050
1	326.92	46.14	316.30	33.69	304.55	34.99	>0.050
2	292.64	37.32	258.65	50.89	208.50	74.77	<0.050
3	268.15	58.29	209.90	70.12	185.97	86.78	<0.050
4	256.51	52.66	220.06	72.10	173.43	77.28	<0.050
5	237.77	53.64	189.28	72.09	153.36	90.30	<0.050
6	254.56	44.47	182.61	94.57	167.70	102.21	<0.050
7	210.85	52.33	154.58	76.47	129.70	92.50	<0.050
8	194.38	56.75	138.71	85.95	116.31	91.84	<0.050

**TABLA10. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE DE TRES NIVELES DE INGESTA DE REFRESCO EN LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL (FIG.10).**

DIA	N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		p
	INGESTA	BAJA	INGESTA	MEDIA	INGESTA	ALTA	
	X	S	X	S	X	S	
0	342.78	28.92	352.11	36.49	337.91	31.05	>0.050
1	286.46	31.03	270.90	33.49	249.43	37.02	<0.050
2	265.57	39.21	234.58	33.53	193.02	67.27	<0.050
3	236.72	29.23	208.81	44.75	186.49	69.57	<0.050
4	214.35	39.73	182.19	58.43	174.78	78.55	>0.050
5	214.39	53.34	170.81	46.16	135.89	68.87	<0.050
6	203.29	32.48	149.03	46.42	135.94	75.67	<0.050
7	198.69	35.54	142.37	51.55	120.00	74.39	<0.050
8	200.14	33.31	146.73	60.58	118.93	78.79	<0.050

**TABLA11. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE DE TRES NIVELES DE INGESTA EN REFRESCO CON LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL (FIG.11).**

DIA	N=12 LOSETAS		N=12 LOSETAS		N=12 LOSETAS		p
	INGESTA	BAJA	INGESTA	MEDIA	INGESTA	ALTA	
	X	S	X	S	X	S	
0	349.33	38.17	352.33	39.18	340.94	35.38	>0.050
1	306.69	43.94	293.60	40.38	276.99	45.23	<0.050
2	279.10	40.26	246.61	44.33	200.76	70.79	<0.050
3	252.44	43.30	209.36	58.19	186.23	77.81	<0.050
4	235.43	50.83	201.12	67.68	174.10	77.09	<0.050
5	226.08	54.22	180.04	60.61	144.63	79.93	<0.050
6	228.93	46.42	165.82	75.62	151.82	90.40	<0.050
7	204.77	44.67	148.47	64.81	124.85	83.18	<0.050
8	197.26	46.12	142.72	73.67	117.62	84.66	<0.050

**TABLA12. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE BAJO TRES TIEMPOS DE INCUBACION DE P.A. EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE (FIG.12).**

DIA	N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		p
	PELICULA	.20MIN	PELICULA	6HRS	PELICULA	24HRS	
	X	S	X	S	X	S	
0	356.52	41.11	352.70	45.99	343.16	40.08	>0.050
1	309.43	46.29	324.98	35.61	313.36	34.68	>0.050
2	256.81	68.07	264.22	67.43	238.76	61.43	>0.050
3	237.26	85.71	220.51	86.64	206.26	64.95	>0.050
4	208.20	86.45	243.84	61.07	197.96	71.76	>0.050
5	192.24	87.33	201.05	76.31	187.12	80.13	>0.050
6	200.28	98.17	211.67	82.81	192.92	95.86	>0.050
7	170.22	91.50	167.11	73.91	157.79	82.63	>0.050
8	142.35	79.90	152.71	87.00	154.33	91.50	>0.050

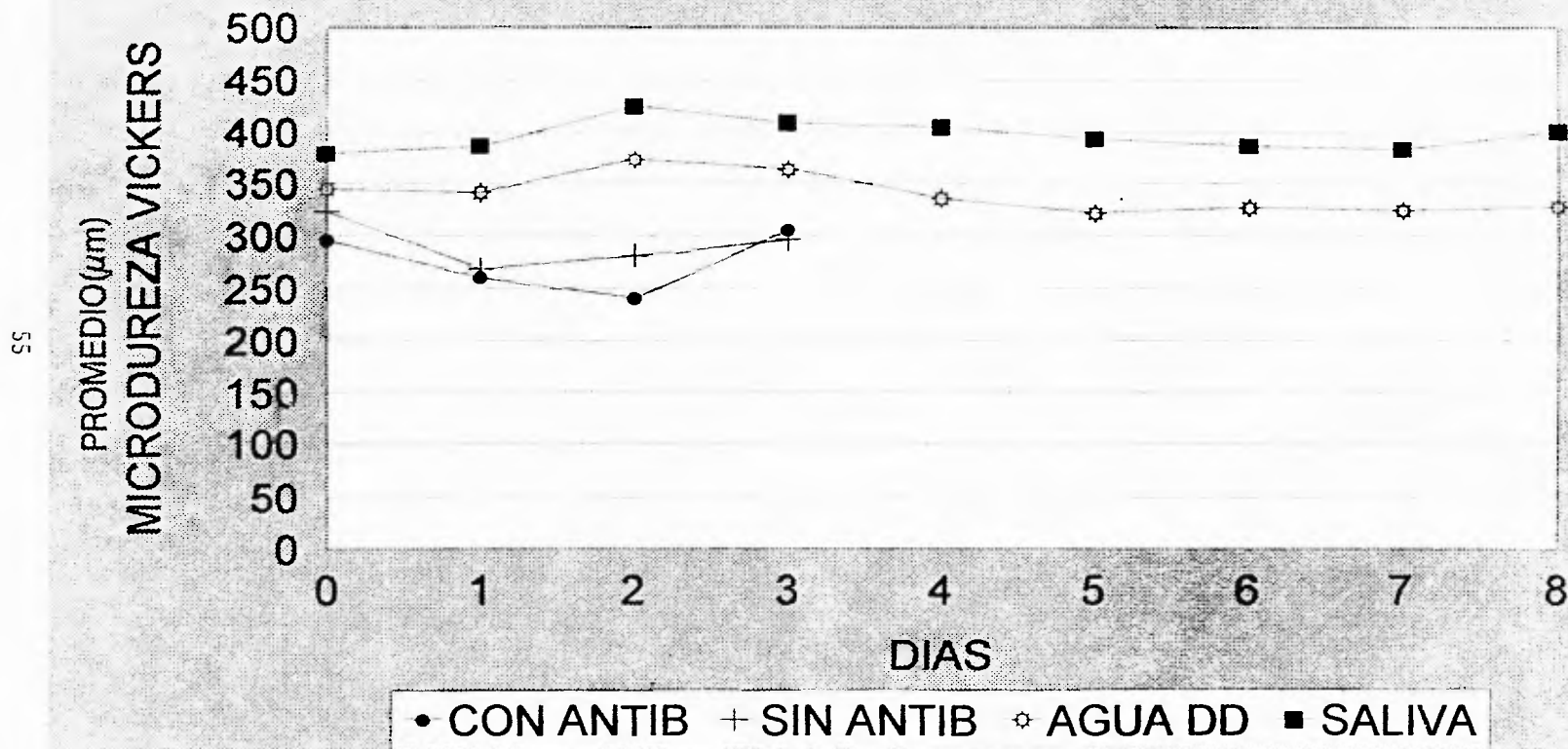
**TABLA13. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE BAJO TRES TIEMPOS DE INCUBACION DE P.A. EN LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL (FIG.13.)**

DIA	N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		N=6 LOSETAS		p
	PELICULA	.20MIN	PELICULA	6HRS	PELICULA	24HRS	
	X	S	X	S	X	S	
0	341.67	36.47	347.88	23.96	343.25	36.26	>0.050
1	275.42	28.37	264.25	41.33	267.12	39.92	>0.050
2	228.96	50.36	224.40	61.49	239.81	59.20	>0.050
3	217.25	49.43	203.38	56.95	211.39	56.83	>0.050
4	202.49	62.69	190.22	66.97	178.61	58.09	>0.050
5	178.79	55.07	174.79	79.52	167.50	59.35	>0.050
6	169.72	63.68	162.65	67.28	155.89	54.00	>0.050
7	158.09	61.48	156.96	72.05	146.01	61.82	>0.050
8	152.37	67.26	151.75	68.66	161.68	72.39	>0.050

**TABLA14. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE BAJO TRES TIEMPOS DE INCUBACION DE P.A. EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL (FIG.14.)**

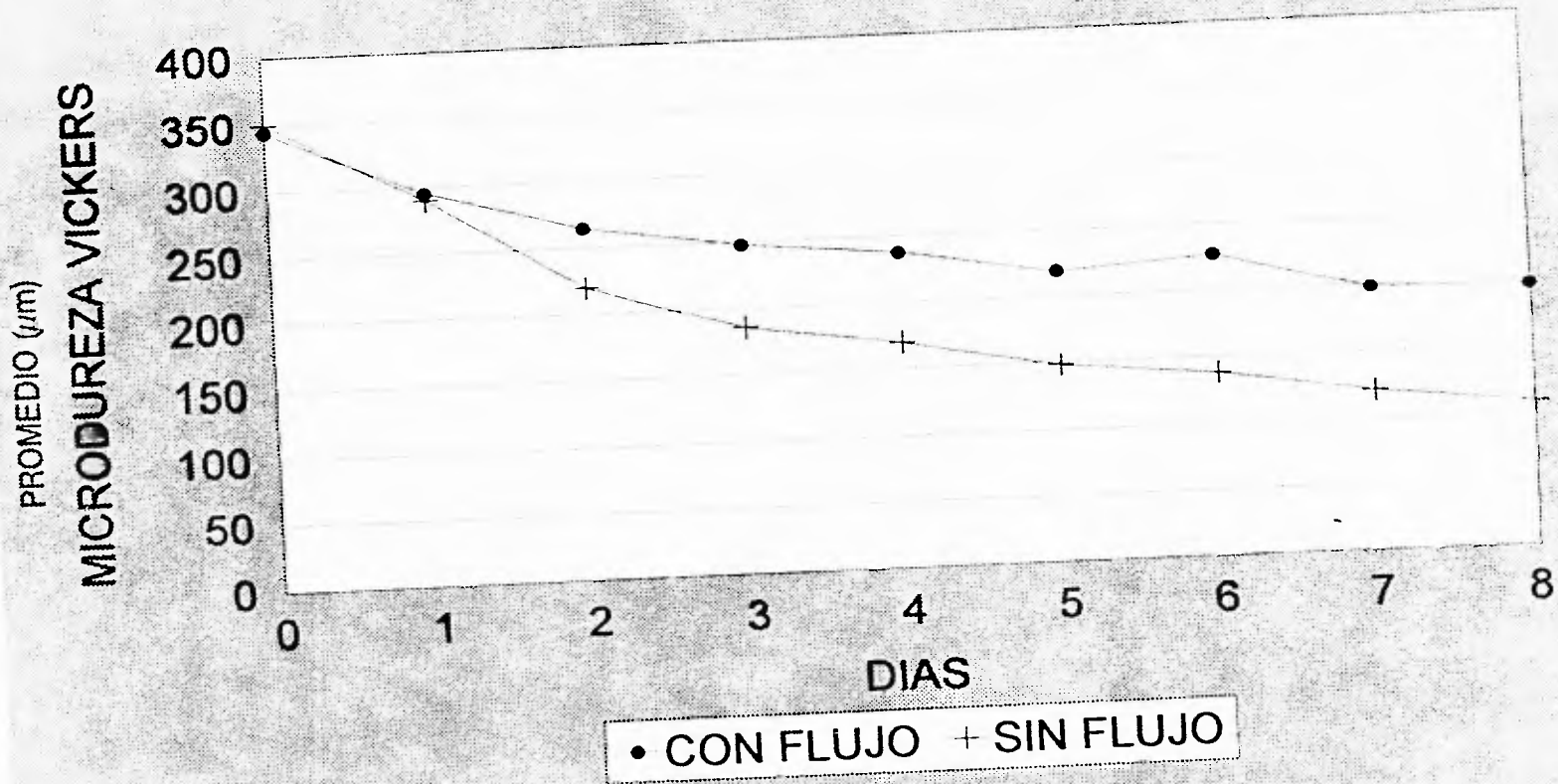
DIA	N=12 LOSETAS		N=12 LOSETAS		N=12 LOSETAS		p
	PELICULA	.20MIN	PELICULA	6HRS	PELICULA	24HRS	
	X	S	X	S	X	S	
0	349.10	39.17	350.29	36.36	343.20	37.81	>0.050
1	292.42	41.69	294.61	48.97	290.24	43.75	>0.050
2	242.89	60.89	244.31	66.94	239.28	59.68	>0.050
3	227.25	69.95	211.94	73.05	208.83	60.43	>0.050
4	205.34	74.76	217.03	68.95	188.28	65.32	>0.050
5	185.52	72.55	187.92	78.23	177.31	70.45	>0.050
6	185.00	83.30	187.16	78.64	174.40	79.20	>0.050
7	164.16	77.36	162.04	72.39	151.90	72.43	>0.050
8	147.36	73.24	152.23	77.53	158.01	81.70	>0.050

FIG.1. PROMEDIO DE MICRODUREZA DE GRUPOS CONTROL CON Y SIN ANTIBIOTICO EN AGUA DEIONIZADA Y EN SALIVA DEL 0 AL 8º DIA



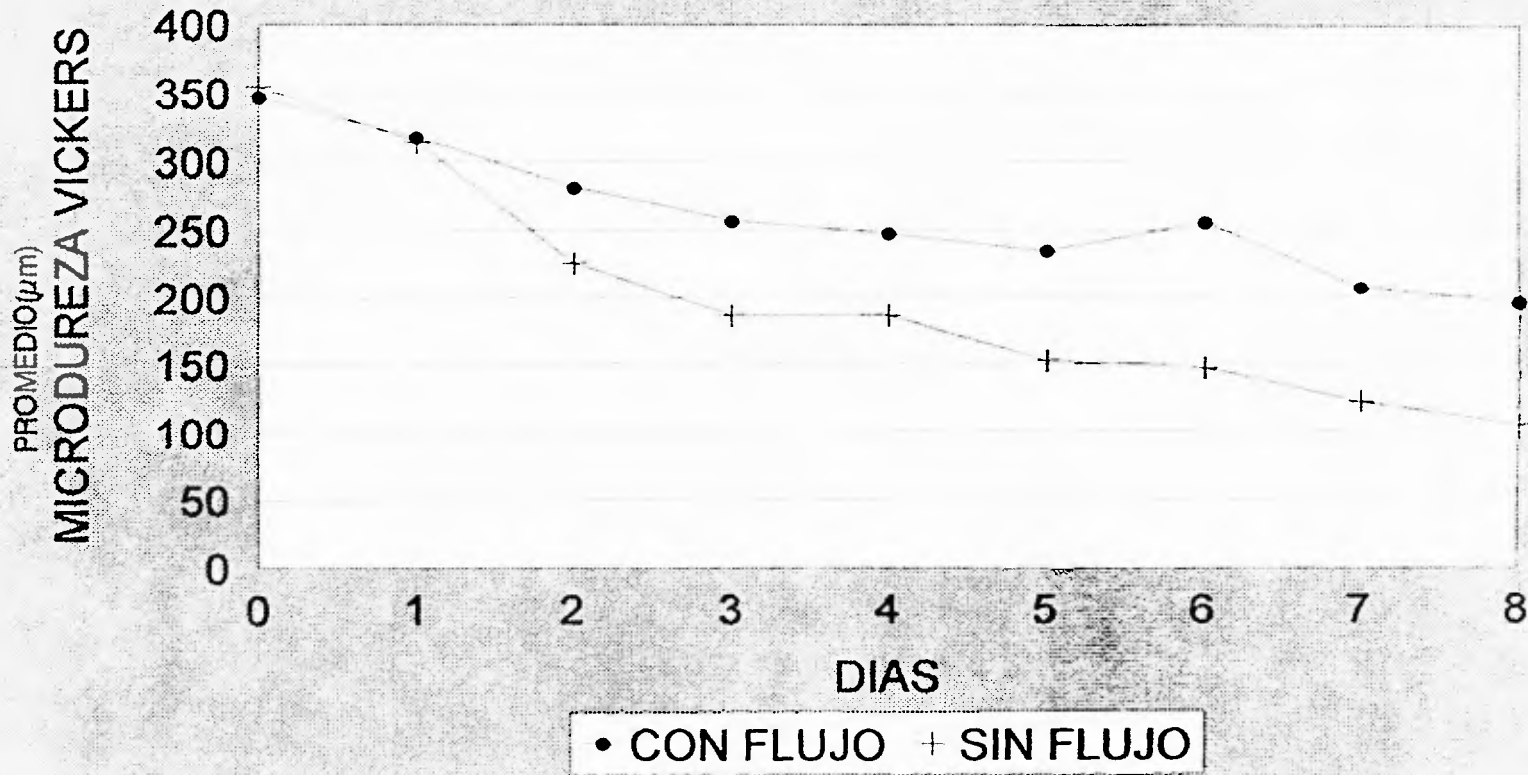
FUENTE DIRECTA

FIG.2. PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL CON Y SIN FLUJO DEL 0 AL 8º DIA



FUENTE DIRECTA

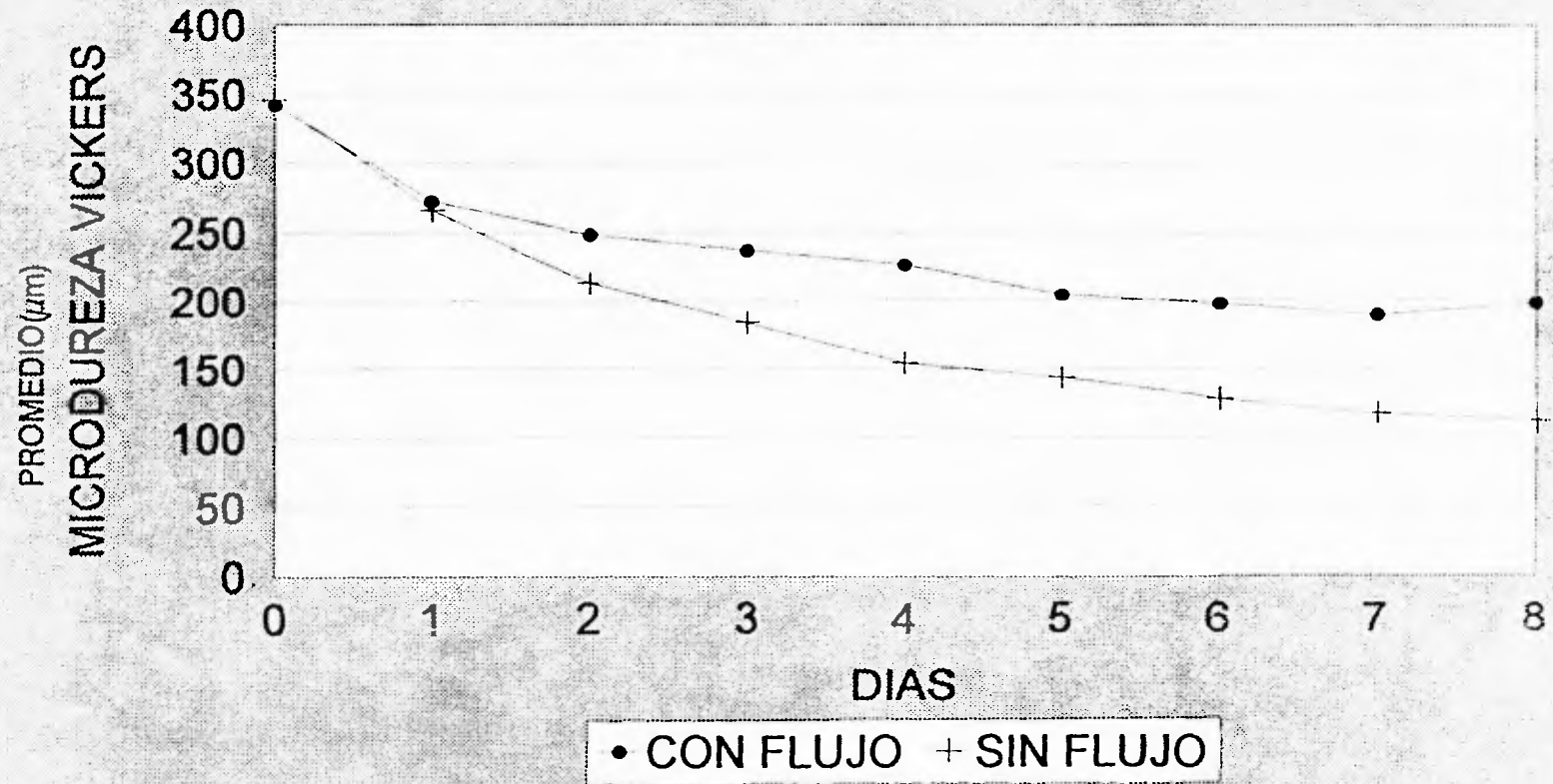
FIG.3.PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE CON Y SIN FLUJO DEL 0 AL 8ºDIA



FUENTE DIRECTA



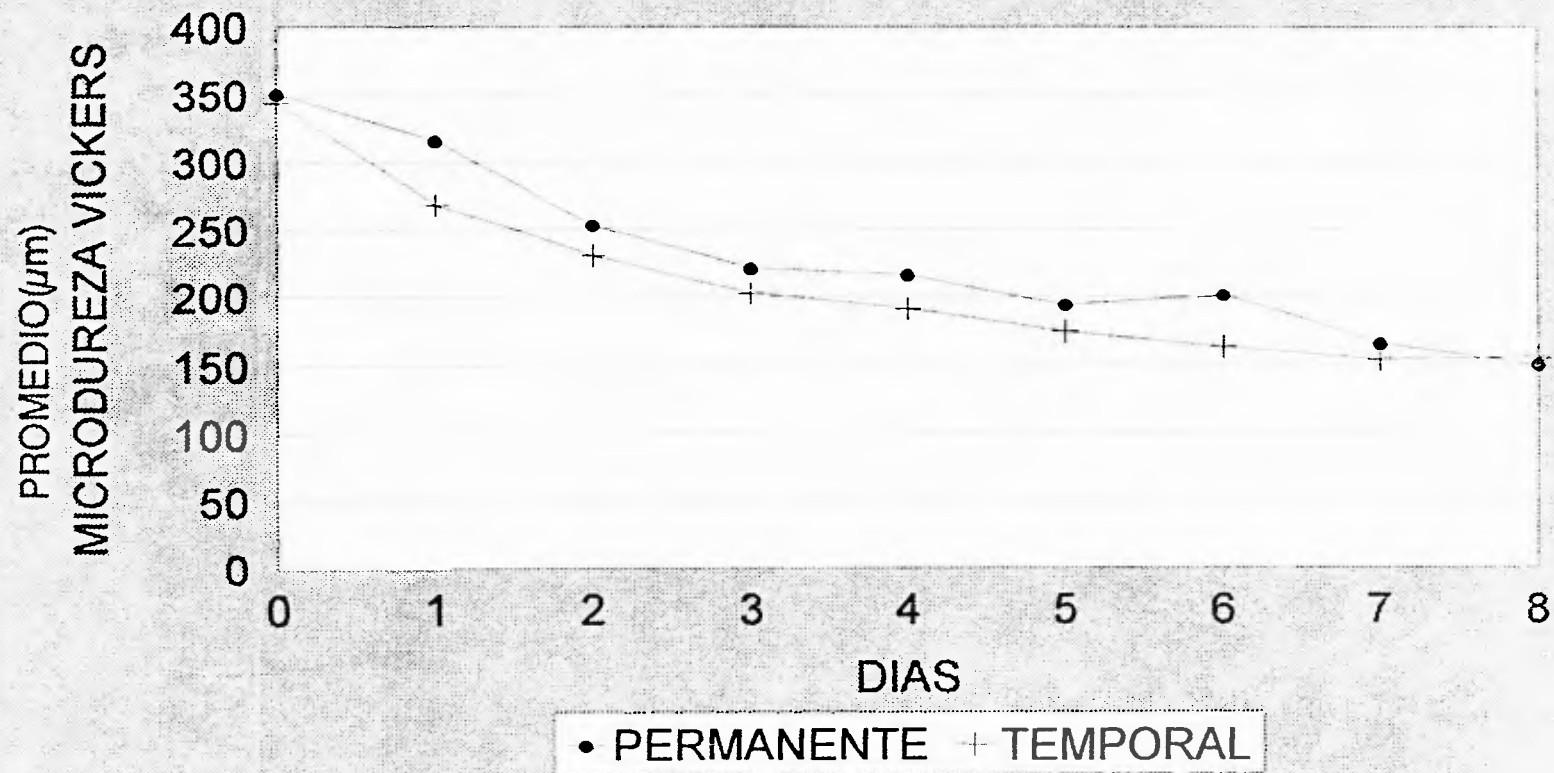
FIG.4.PROMEDIO DE MICRODUREZA DE LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL CON Y SIN FLUJO DEL 0 AL 8ºDIA



88

FUENTE DIRECTA

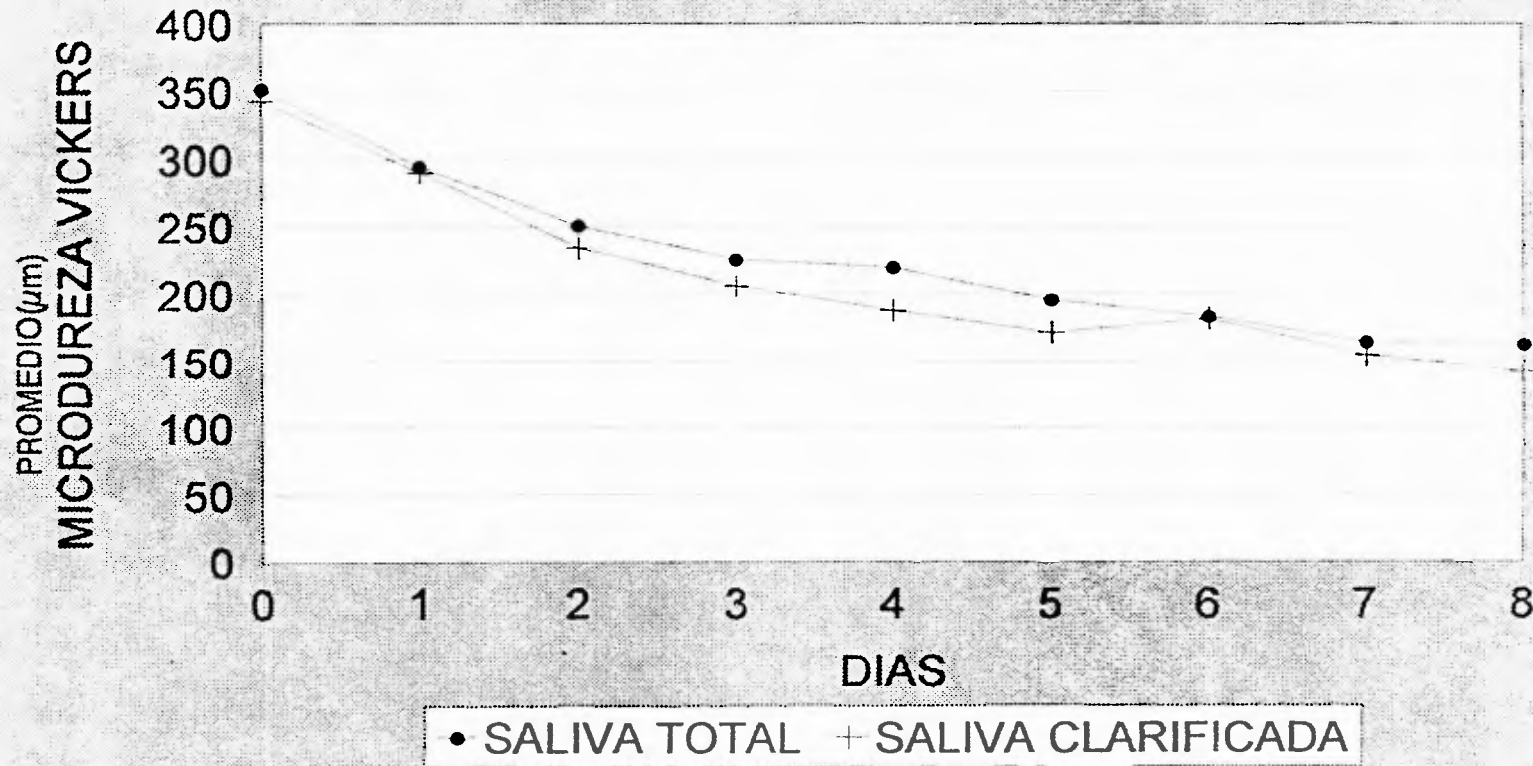
FIG.5.PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE.Y TEMPORAL DEL 0 AL 8ºDIA



FUENTE DIRECTA

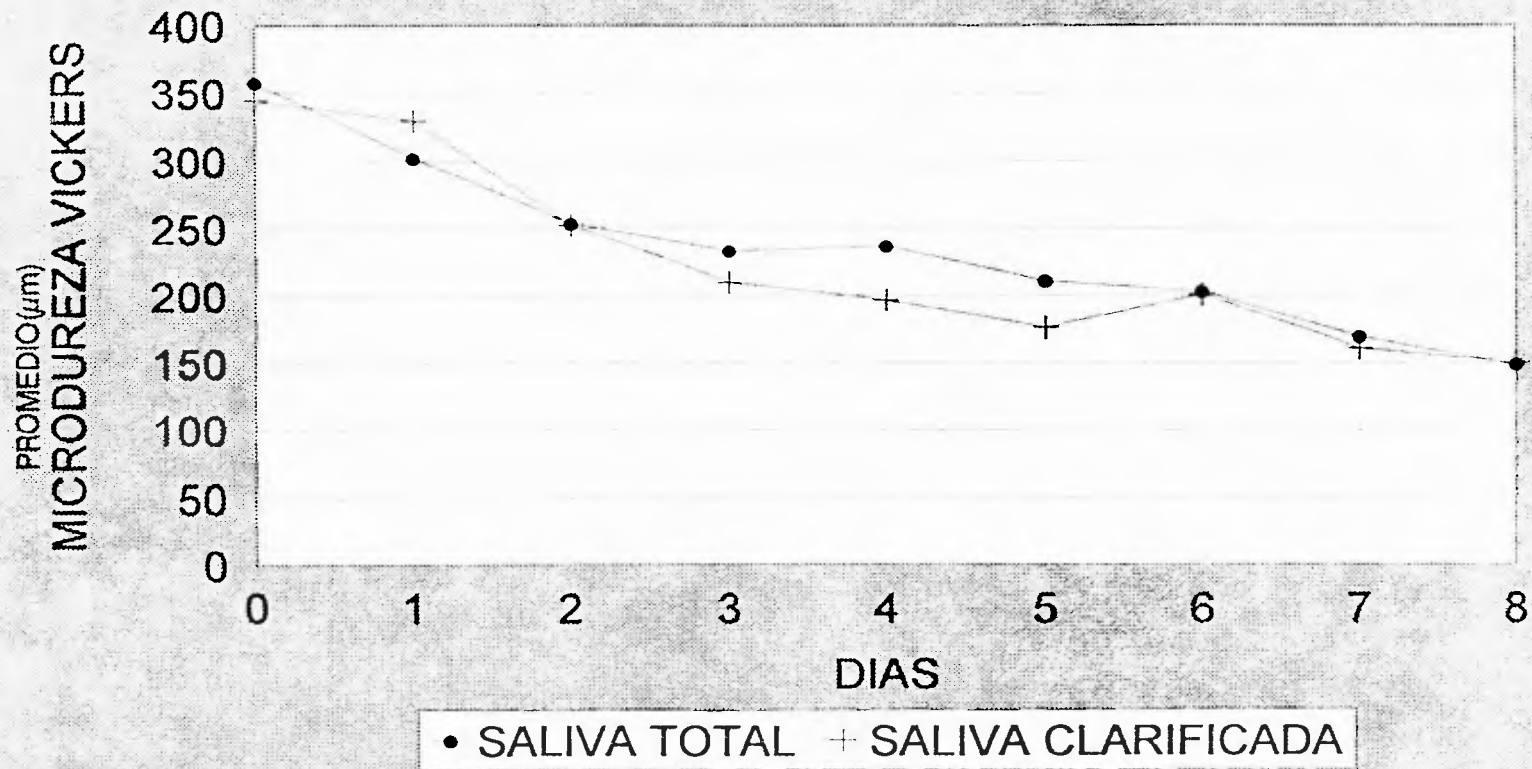
FIG.6.PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL CON SALIVA TOTAL Y CLARIFICADA DEL 0 AL 8ºDIA

09



FUENTE DIRECTA

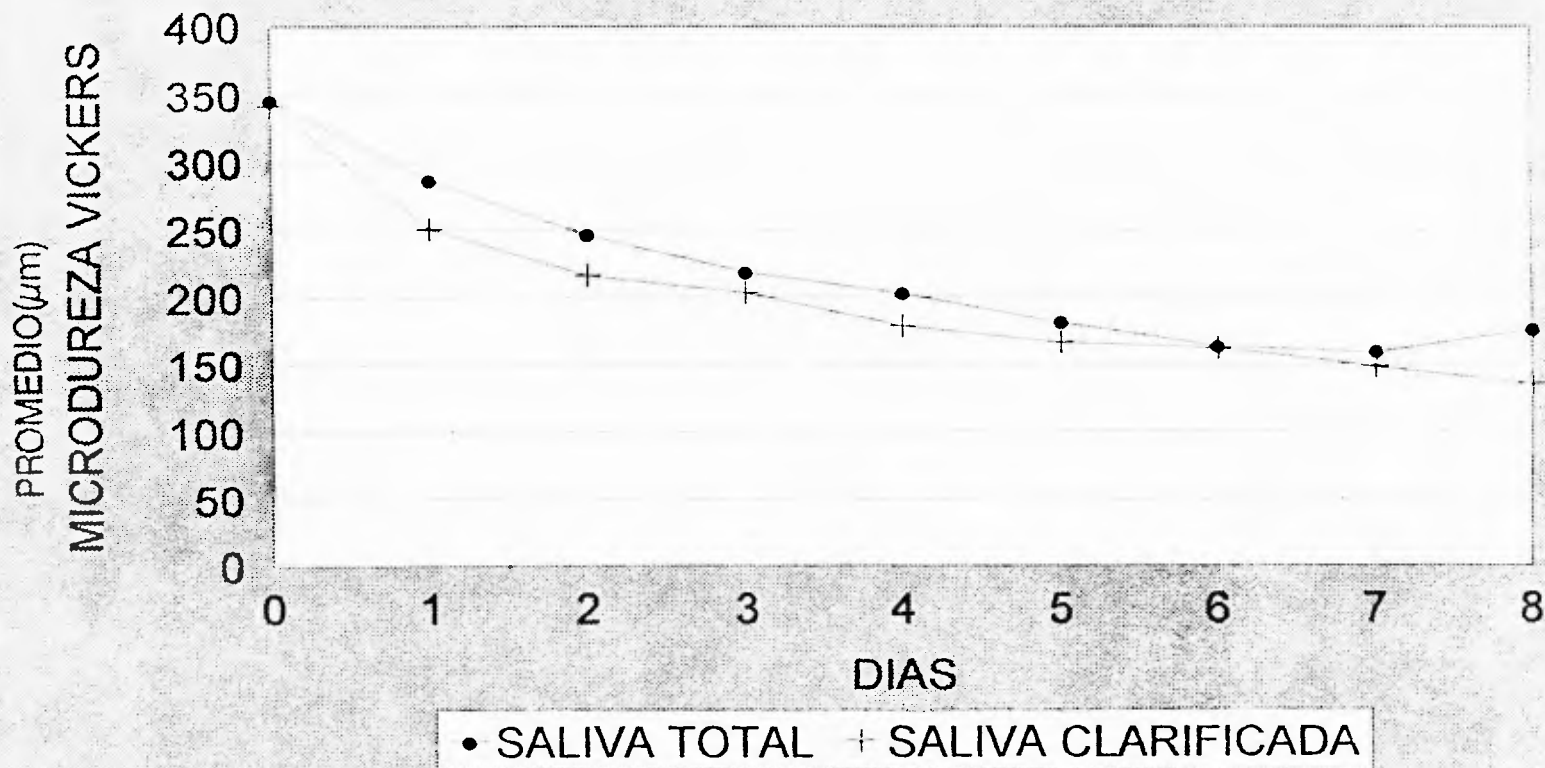
FIG.7.PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE CON SALIVA TOTAL Y CLARIFICADA DEL 0 AL 8° DIA



• SALIVA TOTAL + SALIVA CLARIFICADA

FUENTE DIRECTA

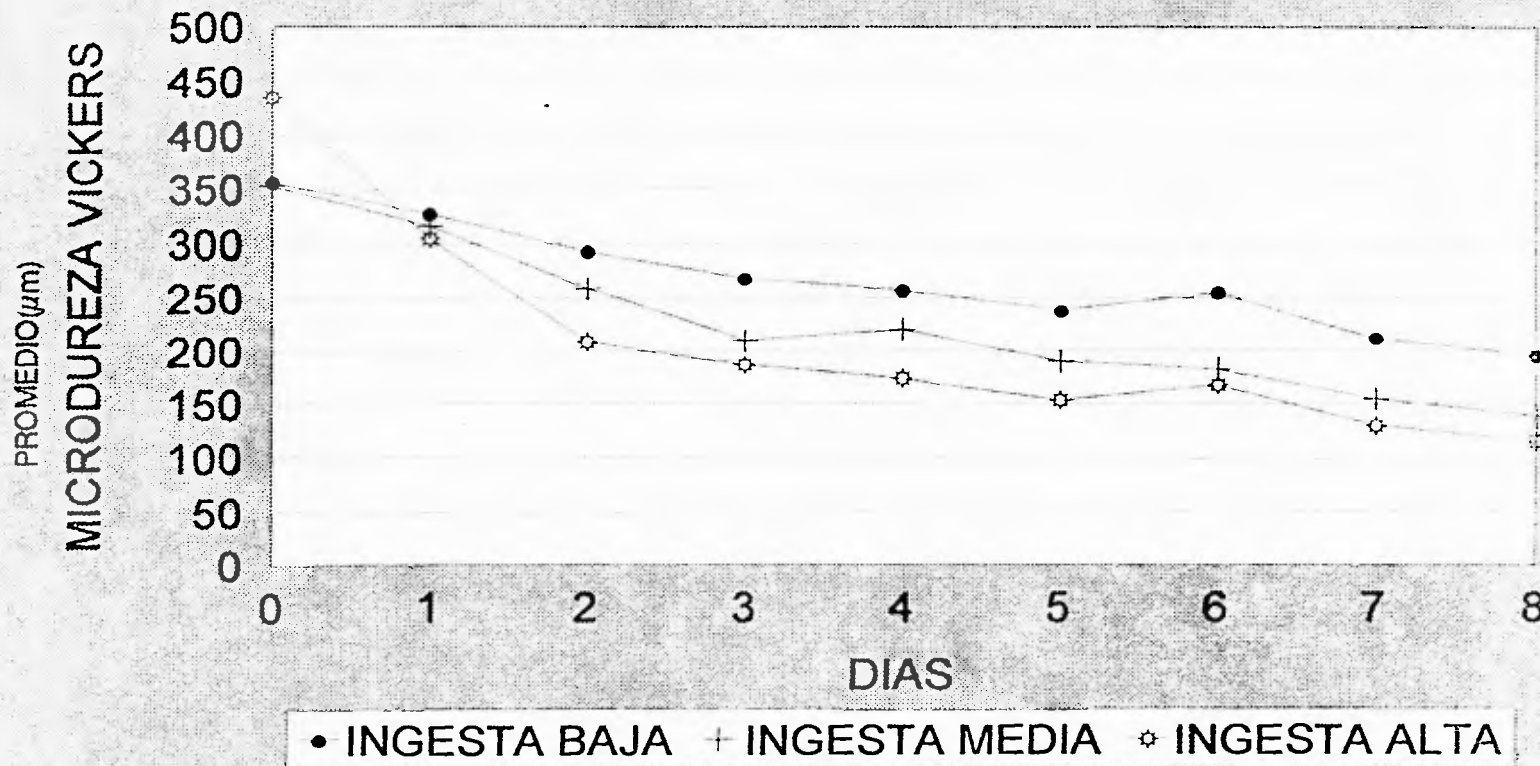
FIG.8.PROMEDIO DE MICRODUREZA EN LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL EN SALIVA TOTAL Y CLARIFICADA DEL 0 AL 8ºDIA



FUENTE DIRECTA

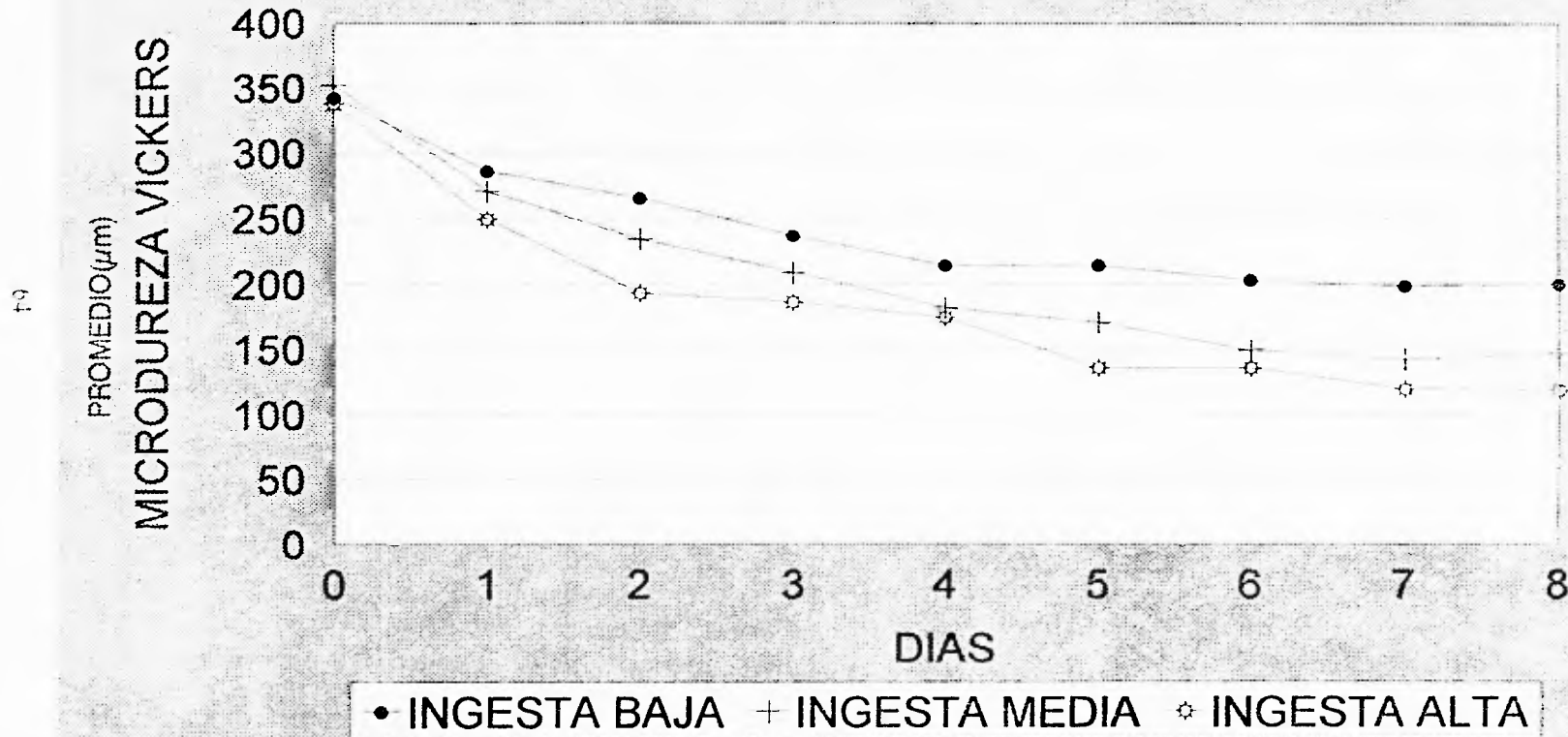


FIG.9.PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE DE TRES NIVELES DE INGESTA DE REFresco EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE DEL 0 AL 8ºDIA



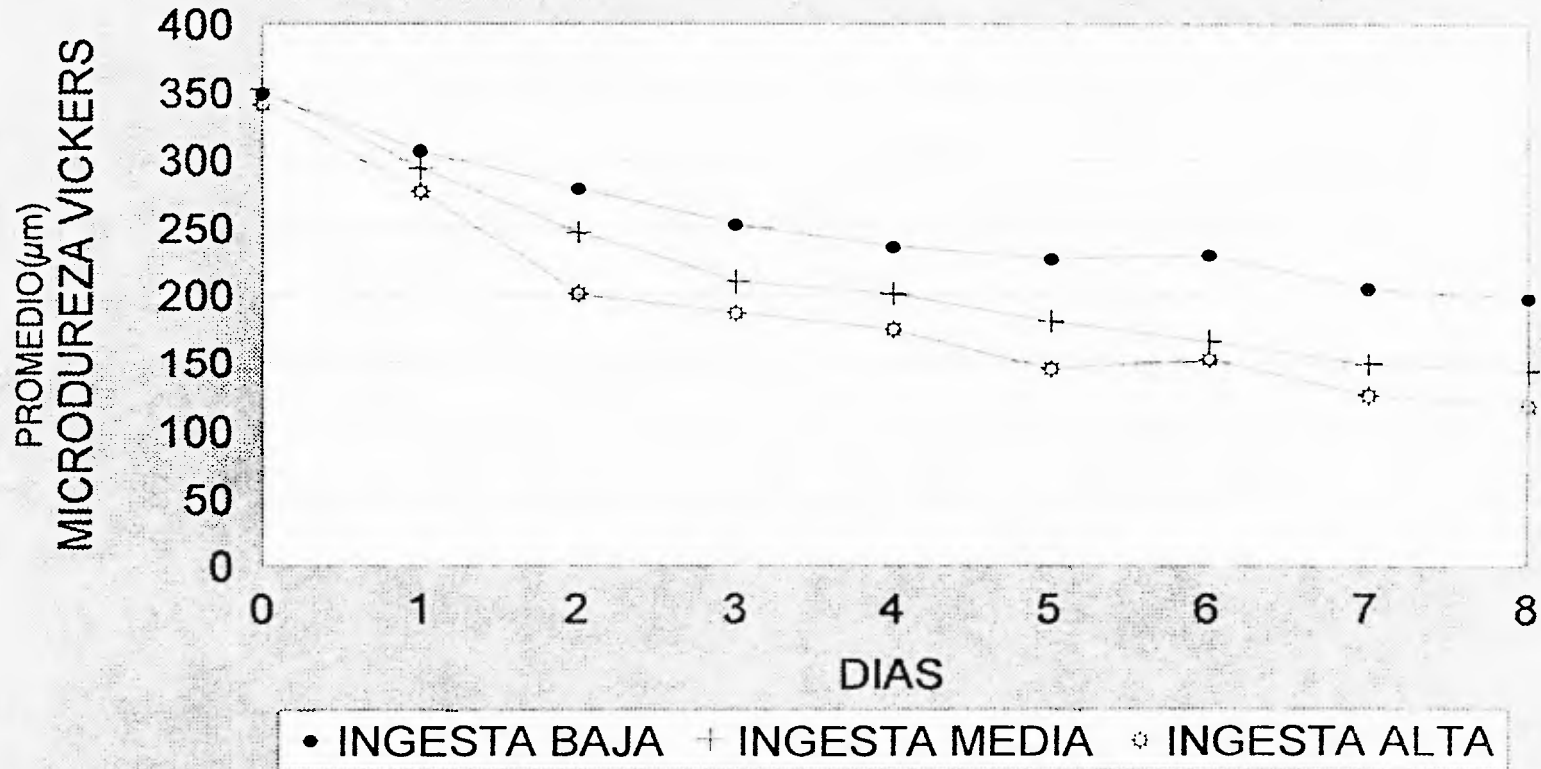
FUENTE DIRECTA

FIG.10. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE DE TRES NIVELES DE INGESTA DE REFresco EN LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL DEL 0 AL 8ºDIA



FUENTE DIRECTA

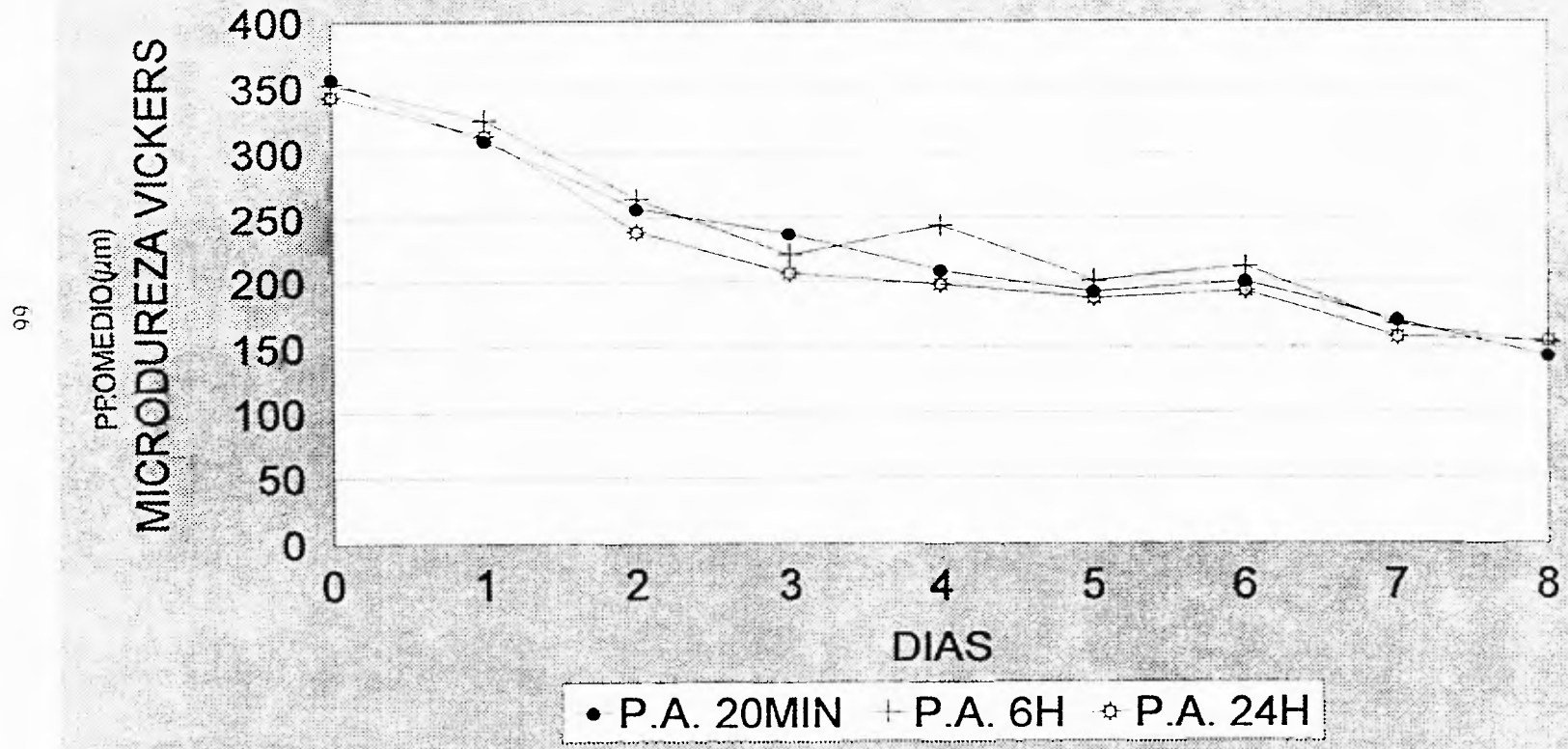
FIG. 11. PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE DE TRES NIVELES DE INGESTA DE REFRESCO EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL DEL 0 AL 8º DIA



FUENTE DIRECTA

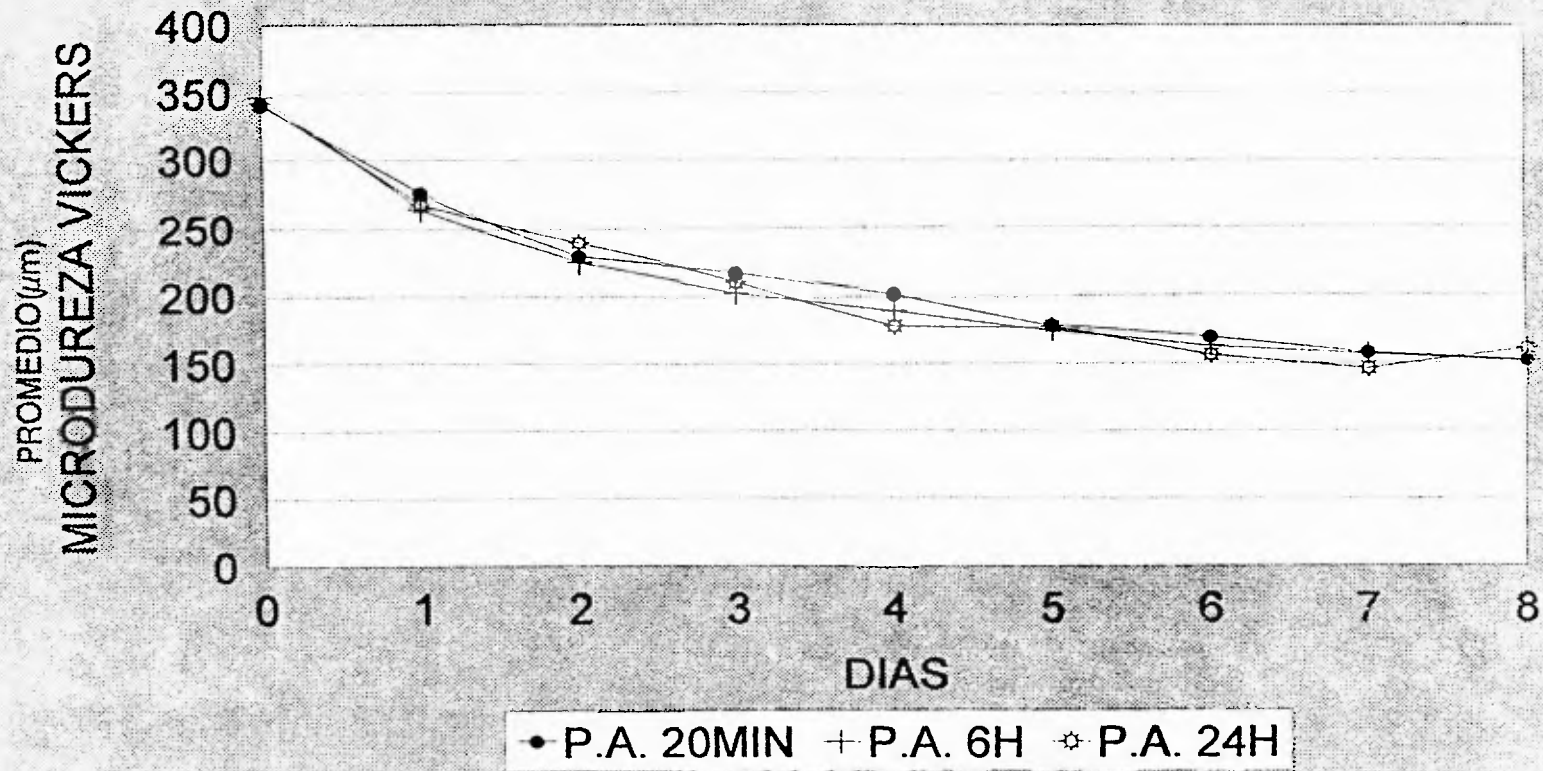


FIG.12.PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE BAJO TRES TIEMPOS DE INCUBACION DE P.A. EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE DEL 0 AL 8ºDIA



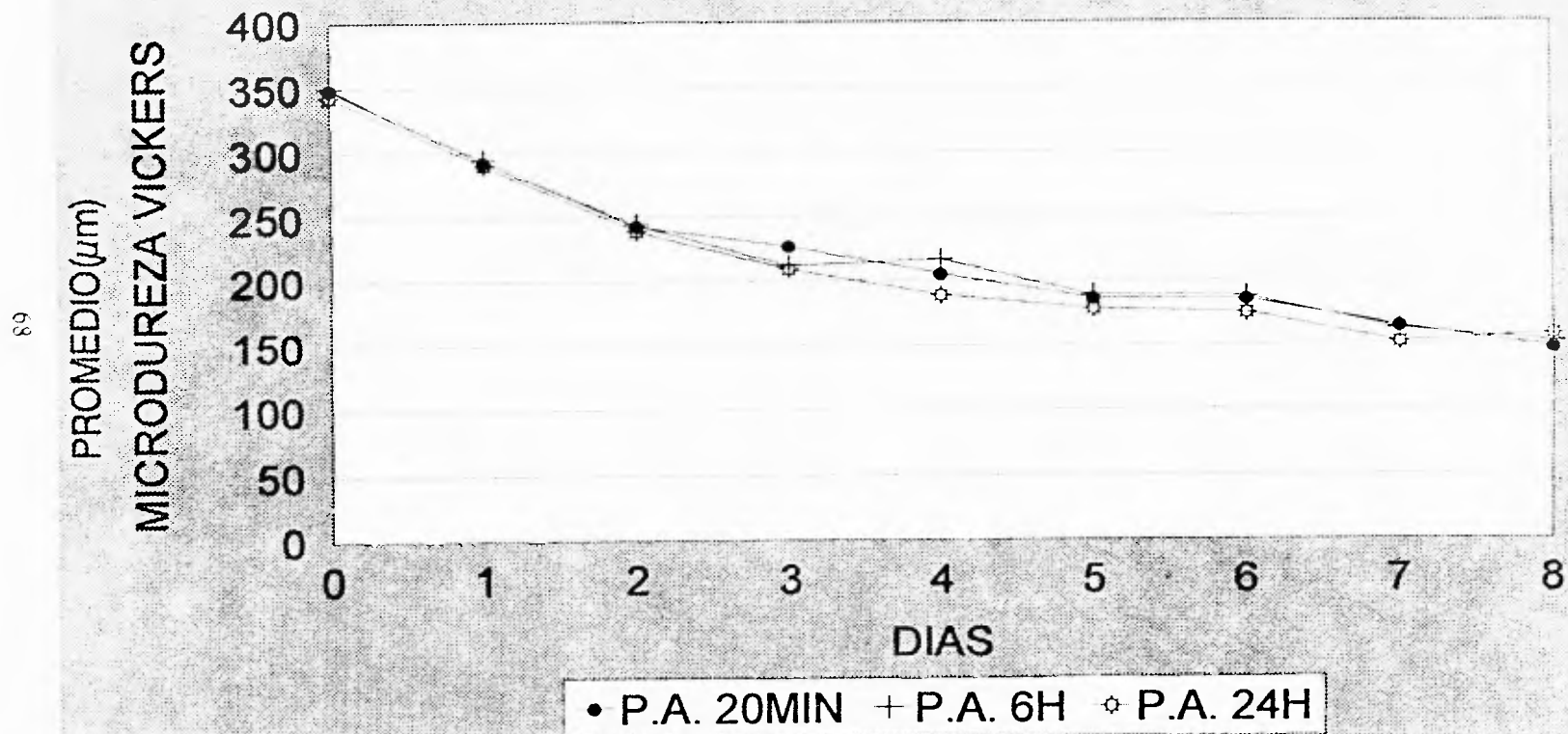
FUENTE DIRECTA

FIG.13.PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE BAJO TRES TIEMPOS DE INCUBACION DE P.A. EN LOSETAS DE ESMALTE TEMPORAL DEL 0 AL 8º DIA



FUENTE DIRECTA

FIG.14.PROMEDIO DE MICRODUREZA RESULTANTE BAJO TRES TIEMPOS DE INCUBACION DE P.A. EN LOSETAS DE ESMALTE PERMANENTE Y TEMPORAL DEL 0 AL 8°DIA



FUENTE DIRECTA

## DISCUSIÓN.

Los cambios ocurridos en la dureza se pueden atribuir a varios factores. Primero, los cambios sobre todo en la porosidad de las superficies de las losetas pudieron haber ocurrido principalmente por una concentración local de elementos que podrían resultar en la caída de la microdureza observada. Por otro lado, una disminución preferencial y/o una degradación en la muestra podría haber tenido el mismo efecto.

Debido a que los estudios cuantitativos sobre erosión del esmalte son escasos<sup>34</sup> es difícil discutir los resultados bajo condiciones experimentales similares a las nuestras. Sin embargo, en otros diseños experimentales<sup>15</sup>, se ha encontrado que el tiempo de inmersión en bebidas ácidas provoca una disminución en la microdureza proporcional al tiempo de exposición. No es de sorprender que la exposición de bebidas ácidas deteriore la integridad del esmalte. Siendo sorprendente la rapidez con que esto empieza a ocurrir. El mayor cambio erosivo en los ensayos se presentó después de la primera inmersión.

Cabe mencionar que se detectó una caída similar de la microdureza en las losetas bajo la presencia de antibiótico tanto como sin él. Esto indica que la dureza de todas las losetas al inicio de los ensayos era igual, para efectos del propósito experimental.

En una forma más general, se puede mencionar que estos comportamientos permiten realizar predicciones acerca de qué los valores de microdureza que se observaron (bajo las condiciones experimentales descritas) después de ciertos tiempos de inmersión. En particular, es interesante señalar que prácticamente no hubo diferencias entre las lecturas obtenidas de los ensayos de baja y de mediana ingestas, sugiriendo así que una caída similar en la microdureza puede obtenerse de cinco inmersiones al día en refresco o de 10 inmersiones. Esto fue más marcado hacia los últimos días de incubación, ya que en los primeros días del experimento las diferencias entre los regímenes de ingesta eran más aparentes.

Es bien sabido que la saliva provee de cierta protección al diente contra la caries dental<sup>59</sup>, reportes previos de estudios *in vitro* indicaron que parte de este mecanismo protector es mediado por la formación de la película adquirida del esmalte en la superficie dental<sup>24,60,57</sup>, y que éstas películas adquiridas difieren en su composición proteica debido al tiempo de incubación y el tipo de saliva empleada para su

formación<sup>61,62</sup>. Estudios tanto *in vivo* como *in vitro* demostraron que la película se forma mediante una adsorción selectiva de muchas proteínas salivales y glucoproteínas al diente durante un proceso complejo y dinámico que incorpora además lípidos y carbohidratos en la maduración de la película<sup>63,64</sup>.

Aún no está bien establecido qué componente específico, o combinación de componentes, participan en la modificación de las capacidades protectoras para la superficie del diente. La protección otorgada por la película puede ser resultado de muchos factores, incluyendo una adsorción selectiva de proteínas secundarias, un reacomodo de las regiones lipofílicas de las moléculas proteicas, desarrollo de algunas estructuras secundarias o terciarias específicas, adsorción de otras moléculas, o el efecto directo del calcio y fosfato de la saliva sobre el esmalte<sup>57,65</sup>. Estudios *in vitro* (Loomis et al)<sup>20</sup> han demostrado que bajo pH ácidos (4.5 - 1.5) la estructura secundaria de las glucoproteínas cambia totalmente por lo que su función protectora se pierde totalmente. Procesos como la salida de iones (especialmente  $Ca^{++}$  o la unión de bacterias específicas (*estreptococos Mutans*) suelen ocurrir al cambiarse la estructura secundaria de estas proteínas. En esta investigación, se encontró que el tipo particular de película adquirida usado resaltó algunas de las diferencias esperadas entre los tres niveles de ingesta (baja, media y alta), pero, al mismo tiempo, no se pudieron encontrar diferencias entre ellas cuando no se empleó película adquirida. Lassi et al<sup>57</sup> encontraron un ablandamiento diferente de la superficie después de emplear dos bebidas ácidas aparentemente similares (pH 3.9 y 3.8), mostrando que el efecto de los tipos de ácido, de las diferentes cantidades de ácidos libres y asociados, y de las diferentes condiciones ambientales pueden jugar un papel importante en la constante de disolución mineral. Featherstone et al.<sup>34</sup> estudiaron los componentes de la saliva por separado, intentando establecer con mayor precisión el papel de cada combinación de componentes, encontrando que no hay una proteína específica o un grupo de proteínas que por sí mismas puedan explicar los resultados observados en ensayos con saliva total y con saliva dializada.

Sin embargo, es importante mencionar que en nuestros estudios realizados en saliva total y saliva clarificada, las diferencias que se presentaron en los resultados se pueden atribuir principalmente a que en saliva total existen todos los componentes salivales juntos los cuales pueden ejercer sus funciones biológicas de protección por separado o en conjunto; mientras que en la saliva clarificada algunos de estos componentes proteicos con funciones protectoras específicas pudieron haberse precipitado. De acuerdo a estos reportes científicos, la intención de nuestro diseño experimental fue superar algunos de los

problemas de interpretación a través de aumentar la variedad de ambientes salivales en los ensayos, y comparar sus efectos en las pruebas de microdureza del esmalte. Desafortunadamente, fue evidente que el único mensaje que es posible concluir cabalmente de los hallazgos es que no importa si la película adquirida se deja formar o madurar por 20 minutos o 6 horas o 24 horas, en cualquiera de estos casos, existe un elemento de protección similar, o visto de forma opuesta, existe una ineffectividad similar para actuar (en las condiciones experimentales descritas) contrarrestando el ataque erosivo.

La acción erosiva del efecto es similar bajo cualquiera de los tres regímenes, posiblemente a través de mantener en acción los gradientes de intercambio iónico, gracias a un contacto íntimo y constante del refresco contra el esmalte durante el tiempo de exposición. Esto parece estar apoyado por el hallazgo de que la ausencia de flujo favoreció un mayor deterioro de las superficies del esmalte, posiblemente debido a que el flujo salival favorece la limpieza de la superficie y deposición de otras proteínas salivales con acción de protección específica. No se debe descartar el papel que juegan las cargas iónicas por encima y por debajo de la película adquirida, las cuales pueden en un momento dado facilitar la salida de  $\text{Ca}^{++}$  conduciendo al proceso de desmineralización. El mecanismo de transferencia de estos gradientes a través de la película adquirida, su transportación o efecto a través de las capas y estructuras proteicas de la película adquirida, y/o su capacidad para localizarse entre la película adquirida y el esmalte son áreas que no fueron contempladas en este diseño experimental pero que evidentemente revisten un gran interés para investigaciones subsecuentes. La respuesta a estas preguntas es necesaria para explicar más apropiadamente el fenómeno que nos ocupa.

Es posible suponer que la razón principal por la que los refrescos (en la forma en la que son consumidos normalmente) no causan una erosión ininterrumpida del esmalte es porque las condiciones *in vivo* permiten una protección específica. Esta protección específica dada principalmente por la pérdida de  $\text{CO}_2$  y por la presencia de sustancias como amoníaco, urea, peptidos básicos y bicarbonato, es eficaz en neutralizar la desmineralización de la superficie del esmalte a través de varios mecanismos, como la neutralización activa de un pH ácido por simple dilución en la saliva y/o en otros alimentos y bebidas.

Circunscribiéndonos al terreno de lo que tenemos disponible como información derivada de esta investigación y dejando el terreno de lo hipotético, parece razonable continuar esta investigación a través

de determinar adecuada y detalladamente la situación *in vivo*, tanto en sus mecanismos de operación como en identificar y caracterizar los factores que juegan un papel protector de los dientes frente a la acción erosiva de los refrescos.

## CONCLUSIONES.

- ♠ 1.- El tiempo de inmersión en bebidas ácidas provoca una disminución en la microdureza proporcional al tiempo de exposición.
- ♠ 2.- El esmalte temporal es más susceptible de sufrir erosión más rápido que el esmalte de dientes permanentes. Sin embargo, conforme avanzaron los días del ensayo, esta diferencia dejó de ser importante.
- ♠ 3.- Hubo menos diferencias entre las lecturas obtenidas de los ensayos de alta y mediana ingesta, sugiriendo así que una caída similar en la microdureza puede obtenerse de cinco inmersiones al día en refresco o de 10 inmersiones. Esto fue más evidente en los últimos días del ensayo.
- ♠ 4.- No se pudieron encontrar diferencias en grado de erosión entre los distintos tiempos de incubación de película adquirida.
- ♠ 5.- La ausencia de flujo favoreció un mayor deterioro de las superficies del esmalte, posiblemente por la concentración de cargas iónicas bajo la película adquirida, mismas que operaron directamente sobre el esmalte sin sufrir perturbaciones por el flujo.



## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Sognaes RF. Microradiographic observation on demineralization gradients in the pathogenesis of hard tissue destruction, arch. Oral Biol. 1959;(1):106-21.
- 2.- Bodecker CF. Dental erosion. Dent Cosmos 1933;(75):1056-62.
- 3.- Bodecker CF. Clinical Research needed for erosion-abrasion, New York J Dent 1951;(17):407-10.
- 4.- Bodecker CF. Again, erosion-abrasion, New York J Dent. 1953;(19):154-56.
- 5.- Shulman EH, Robinson HB. Salivary citrate content and erosion of teeth. J. Dent. Res 1948;(27):541-43.
- 6.- Wynn W; et al. Enamel demineralization. Dent. Progr. 1960;(1):4-7.
- 7.- Hartles RL, Wagg BJ. Erosive effect of drinking fluids on the molar teeth of the rat. Oral Biol 1962;(7):307-15.
- 8.- Maupomé Carvantes G, Sanchez Reyes V, Laguna Ortega S, Andrade Delgado LC, Diez de Bonilla Calderon J. Patrón de consumo de refrescos en una población mexicana. Salud Pública de México 1995;37:323-28.
- 9.- Mistry M, Grenby TH. Erosion by soft drinks of rat molar teeth assessed by digital image analysis. Caries Res 1993;(27):21-5.
- 10.- Gedalia Y, Lonat-Bendat D, Ben-Mosheh S, Shapira L. Tooth enamel softening with a Cola type drink and rehardening with hard cheese or stimulated saliva in situ. J Oral Rehabil 1991;18:501-6.
- 11.- Bargin JA, Austin LT. Decalcification of teeth as a result of obstipation with long continued vomitin J Amer. Dent 1937;(24):1271-73.
- 12.- Grenby TH, Phillips A, Desai T, Mistry M. Laboratory studies of the dental properties of soft drinks. J Nutrition 1989;(62):451-64.
- 13.- Mccay CM, and Will L. Erosion of molar teeth by acid beverages. J. Nutr 1949;39:313-24.
- 14.- Meurman JH and Frank RM. Progression and surface ultrastructure of *in vitro* caused erosive lesions in human and bovine enamel. Caries Res 1991;25:81-7.
- 15.- Grenby TH et al. Laboratory studies of the dental properties of soft drinks. J Nutrition 1989;(62):451-64.



- 16.- J.J.Mc Colm. Ceramic Hardness. Dureza-Pruebas-Materiales ceramicos.University of Bradford,England 1990,324pp. Plenum Press.New York.
- 17.- T.Kodaka,K.Debari,M.Yamada,M.Kuroiwa.Correlation between Microhardness and Mineral Content in Sound Human Enamel. Caries Res 1992;(26):139-41.
- 18.- I.Kleinberg. Salivary Control of the Composition and Metabolism of Dental Plaque. Chapter 10 The Salivary System.
- 19.- Steven d. Bradway, Michael J. Levine. Salivary Glands and Saliva.Enciclopedia of Human Biology by Academic Press,Inc. 1991;Vol 6:689-703.
- 20.- Loomis RE, González M, Loomis P. Investigación of Cis/trans proline isomeris in a multiple occurring peptide fragment from human salivary proline-rich glycoprotein. Int.J.Peptide Protein Res. 1991;38:428-439.
- 21.- W.M.Edgar. Saliva: its secretion,composition and functions. Dental Journal 1992; april 25:172-305-312.
- 22.- Kashket.T.Yaskell. Limitations in the Intraoral Demineralization of bovine Enamel. Caries Res 1992;26:98-103.
- 23.- Morten Rykke,Eirik Ellingsen and Torleif Sonju. Chemical analysis and scanning electron microscopy of adquired pellicle formed *in vivo* on stannous fluoride treated enamel. Dental Faculty University of Oslo Cariology 1990;sept 25:205-209.
- 24.- J.H.Meurman,R.M.Frank. Scanning Electron Microscopic Study of the Effect of Salivary Pellicle on Enamel Erosion. Caries Res 1991;25:1-6.
- 25.- J.H.Meurman,R.M.Frank. Progesion and Surfase Ultrastructure of *in vitro* Caused Erosive Lesion in Human and bovine Enamel. Caries Res 1991;25:81-87.
- 26.- Banderas.J.A, González.M. Saliva y cavidad bucal:parte II. Proteínas salivales:Funciones biológicas en el mantenimiento de la homeostasis bucal. Practica Odontológica 1994;15(7):13-20.
- 27.- Donald.W.Legler and Lewis. Menaker. Definición etiología,epidemiológica e implicaciones clinicas de la caries dental.Caries dental.Salvat.1986;223-238.
- 28.- E.Theilade y D.Birkhed.Dieta y caries dental.Caries Doyma 1986;106-137.
- 29.- Industria. Una empresa refrescante.Espacios. 1992;Vol 4,No 40:21-24.

- 30.- Antonio Pérez Verdía. ¿Qué son los refrescos. 1992;Vol.4 No40:27.
- 31.- Anders Thylstrup, Ole Fejerskow. Película, formación, composición y posibles modos de actuación. Caries Doyma 1986;:31-39.
- 32.- González.M, Ledesma.C., Banderas.J.A. Saliva y cavidad bucal: parte I Glándulas salivales: mecanismos fisiológicos de la secreción salival. Práctica Odontológica 1994;Vol15 No6:7-15.
- 33.- Anónimo. Sólo consumo de calorías vacías el beber refrescos, AMEDC. El Herald, Siglas y Guarismo. 1995 Marz 7:3F.
- 34.- Anónimo. En México 2 transnacionales Pepsi y Coca. Excelsior 1986 Oct 20:pág:7.
- 35.- Arturo Lomeli. Refresco de cola, una historia fantástica. El Universal Noticias y Divulgaciones. 1994;nov 13:pág:4 (I).
- 36.- A.M.González,Trejo.A.MadrigalColín. Análisis estructural y químico del esmalte dental humano por técnicas de microscopía electrónica. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México, 1994. 115pp. Tesis (Licenciatura en Odontología).
- 37.- Higuchi W.I, Gray. J.A, Hefflerren and Patel. Mechanism of enamel dissolution in acid buffer. Journal Dental Research. 1990;41:633-45.
- 38.- Hernández M.J.G. Proceso de disolución *in vitro* del esmalte dental humano durante un ataque ácido, observado por microscopía electrónica. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México, 1994. 100pp. Tesis (Licenciatura en Odontología).
- 39.- F.P.Ashley, P.Y.Coward, R.A.Jalil and R.F.Wilson. Relationship between calcium and inorganic phosphorus concentrations of both resting and stimulated saliva and dental plaque in children and young adults. Arch Oral Biol. 1991;Vol.36,No6:431-34.
- 40.- Matsuo and F.Lagerlöf. Relationship between total and ionized calcium concentrations in human whole saliva and dental plaque fluid. Arch Oral Biol. 1991;Vol.36,No.7:525-27.
- 41.- Ana Isabel Tomez Bello. Placa Bacteriana y control. México D.F. Universidad Nacional Autónoma de México, 1988. pp96. Tesis (Licenciatura en Odontología).
- 42.- Eugene.P.Lazzari. Cariología Departamento de Bioquímica y Biofísica. Interamericana, segunda edición. Impreso en México, 1984, pp270.

- 43.- Chemical analyses of tooth samples composed of enamel, dentine and cementum. II. J Dent Res. 1937;16:279.
- 44.- J.H. Westbrook and H. Conrad. The Science of Hardness Testing and its Research Applications. American Society for metals printed in the United States of America pp.520
- 45.- Mayhall. C.W. Studies on the composition of the enamel pellicle. Ala. J. med. Sci. 1975;12:252-71.
- 46.- Sönju Tand, Rölla. G. Chemical analysis of pellicle formed in two hours on cleaned human teeth *in vivo*. Rate of formation and amino acid analyses. Caries Res. 1972;7:30-35.
- 47.- Tinanoff. N. The significance of the acquired pellicle in the practice of dentistry. J. Dent Child. 1976;43:20-25.
- 48.- Mandel I.D, Levy B.H, Wasserman B.H. Histochemistry of plaque formation. J. Periodontol. 1957;28:132-137.
- 49.- Sönju. T and Glantz P.O. Chemical composition of salivary integuments formed *in vivo* on solids with some established surface characteristics. Arch. Oral. Biol. 1975;20:687-91.
- 50.- Sönju. T, Skjörland K. Pellicle composition and initial bacterial colonization on composite and amalgam *in vivo*. In microbial aspects of dental caries. Microbiology Abstracts. 1976;1:133-141.
- 51.- Meckel A.M. The formation and properties of organic films on teeth. Arch Oral Biol. 1965;10:585.
- 52.- Dreizen S. et al. The effect of ACTH and cortisone on the sodium and potassium levels of human saliva. J dent Res. 1952;31:271.
- 53.- Lilienthal B. An analysis of the buffer system in saliva. J Dent Res. 1955;34:516.
- 54.- Beck. H, and Wainwright W.W. Critical discussion of former salivary phosphorus studies and their value in the establishment of normal standards. J dent Res. 1937;17:197-207.
- 55.- Lashley K.S. Reflex secretion of the human parotid gland. Exp Psychol. 1916;1:461.
- 56.- Manly R.S. and Hodge H.C. Methods for separation and determination of purita. J Dent Res. 1939;18:133.
- 57.- Featherstone. J.D.P, Behrman. J.N. and Bell J.F. Effect of whole saliva components on enamel demineralization *in vitro*. Crit Rev Oral Biol Med. 1933;4(3/4):357-62.
- 58.- Sin autor. En manos de la pepsi más del 20 por ciento de la producción. La Jornada 1991; agosto 31: sección B. 28

- 59.- Mandel I.D. Dental Caries Am Sci.1979;67:680-88.
- 60.- Zahradnik R.T, Propas D.and Moreno E.C. *In Vitro* enamel demineralization by streptococous mutans in the presence of salivary pellicles. J Dent Rest. 1977;56:1107-10
- 61.- Fisher S.J,Prakopol .A,Kajisa Land Murray P.A. External radiolabelling of components of pellicle on human enamel and cemento.Arch Oral Biol 1987;32:509-19.
- 62.- Slomiamy B.L,Murty V.L.M,Zdebska E,Slomiamy A,Gwozdziński K and Mandel I.E.Tooth surface pellicle lipids and their role in the protection of dental enamel against lactic acid diffusion in man. Arch Oral Biol 1986;31:187-91.
- 63.- Hay D.I. and Moreno E.C. Differential adsorption and chemical affinities of proteins for apatitic surface. J. Dent Res 1979;58:930-40.
- 64.- Jensen J.L, Lamkin M.S and Oppenheim F.G.Adsorption of human salivary proteins to hidroxyapatite: A comparison between whole saliva and glandular salivary. J Dent Res 1992;71:1569-76.
- 65.- Kaotsky M.B and Featherstone J.D.B. Effect of salivary components on dissolution rates of carbonated apatites. Caries Res 1993;27:373-77.
- 66.- Lussi A,Jäggi and Schärer S. The influence of different factors *in vitro* enamel erosion.Caries Res 1993;27:387-93.