



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**GRADO DE DESMINERALIZACIÓN DENTARIA QUE SE PRODUCE POR LA  
EXPOSICIÓN A JUGO DE LIMÓN ARTIFICIAL: ESTUDIO *IN-VITRO***

Trabajo de Titulación presentado en conformidad a los requisitos  
establecidos para optar por el título de  
Odontóloga

Profesora Guía  
Dra. Carmita Eulalia Narvéez Grijalva

Autora  
Daniela de Lourdes Castillo Larrea

Año  
2014

### **DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA**

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante, orientando sus conocimientos para un adecuado desarrollo del tema escogido, y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.”

---

Carmita Eulalia Narvárez Grijalva  
Odontóloga-Epidemióloga  
C.C.: 170764188-0

### **DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE**

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

---

Daniela de Lourdes Castillo Larrea

C.C.: 180343576-5

## **AGRADECIMIENTO**

Siendo el ser supremo quien guía mi vida, le agradezco por permitirme culminar este escalón de mis estudios, también a mis padres que son el soporte y estabilidad emocional, a mis profesores que a lo largo de la carrera y sin egoísmo me han enseñado esta hermosa profesión.

## **DEDICATORIA**

Debo reconocer que sin la ayuda de mi tutora, de los profesores del laboratorio de química de la USFQ y de quienes han colaborado de una u otra manera para la realización de este estudio, no hubiera podido culminar esta interesante investigación; son ellos quienes sublimizan la docencia.

## RESUMEN

El consumo de sustancias ácidas en unión a cloruro de sodio en nuestro medio es un hecho indiscutible que día a día aumenta en proporciones descontroladas, principalmente entre la población escolar y adolescente quienes recibe el estímulo de su consumo desde los centros de expendio de alimentos de los centros de aprendizaje.

**Objetivo.** El estudio buscó evaluar mediante análisis químico la pérdida de iones calcio que se produce de la estructura dental considerando el tiempo de contacto con sustancias ácido abrasivas como el cloruro de sodio y el ácido cítrico, así como establecer cambios en la masa de las unidades dentales estudiadas luego de la exposición a estas sustancias.

**Materiales y métodos.** El diseño de este estudio corresponde a un experimental in vitro, para ello se utilizó una n= de 60 dientes humanos extraídos por motivos terapéuticos que fueron sometidos a exposición de elementos abrasivo y ácido, este último por 20, 40 y 60 minutos.

**Resultados.** Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente mediante pruebas analíticas de ANOVA, Tukey y t'student; lo que permitió determinar que, existe una evidente pérdida de calcio (Ca) dental tras el contacto con cloruro de sodio y la solución de ácido cítrico ( $p=0,0000$ ) en los tiempos establecidos con respecto al grupo control; sin embargo, ésta pérdida no fue proporcional en los tres tiempos empleados, pues no hubo diferencia en la pérdida de mg/g de Ca entre el tiempo 2 y 3 ( $p=0,648$ ). Por otro lado y con respecto al peso total de las unidades de análisis, este contacto no provocó un cambio significativo en la masa o peso ( $P=0,8935$ ) de las muestras de los grupos experimentales y de control.

**Conclusiones.** Estudios complementarios tanto clínicos como epidemiológicos se requieren ejecutar para corroborar los resultados de este estudio y ampliar la evaluación de otros procesos que no se consideraron en esta investigación.

**Palabras claves:** sustancias ácido-abrasivas, calcio, desmineralización dental.

## ABSTRACT

In our area, the high consumption of acidic substances combined with chloride sodium, is a fact that increases every day in uncontrollable proportions, especially among school children and adolescents who receive the stimulus of consumption from their own schools and food shops.

**Objectives:** The study aimed to assess by chemical analysis, the loss of calcium ions on dental structure, considering the contact time with abrasive acidic substances such as sodium chloride and citric acid. Also, the study aimed to identify the changes in the mass of dental units after the exposure to the mentioned substances.

**Materials and methodology:** This study corresponds to a clinical trial "*in vitro*". For this, one n=60 human teeth extracted for therapeutic purposes were exposed to abrasive and acid elements, the latter during 20, 40 and 60 minutes. The statistical analysis was performed with an SPSS 11.5 and Epi-info 2000 version 3.5.4

**Results:** The data obtained was statistically analyzed by ANOVA, Tukey and t'student tests; which allowed to determine that there is a clear loss of dental calcium (Ca) after contact with sodium chloride and citric acid solution ( $p = 0.0000$ ) during the established periods with the control group; however, this loss was not proportional in the three different times established, since there was no difference in the loss of mg/g of Ca between time 2 and 3 ( $p = 0.648$ ). Furthermore, and with respect to the total weight of the units of analysis, this contact did not cause a significant change in the mass or weight ( $p = 0.8935$ ) of the samples of experimental and control groups.

**Conclusions:** Complementary research, clinical and epidemiological studies are needed to corroborate the results of this study and expand the assessment of other processes that are not considered in this research.

**Keywords:** acid-abrasive substances, calcium, dental demineralization.

## ÍNDICE

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....  | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>JUSTIFICACIÓN Y USO DE LOS RESULTADOS</b> .....                               | <b>3</b>  |
| <b>3</b> | <b>MARCO DE REFERENCIA</b> .....   | <b>4</b>  |
| 3.1      | ESMALTE DENTAL.....  | 4         |
| 3.2      | ESTRUCTURA DE LA DENTINA .....   | 5         |
| 3.3      | DESMINERALIZACIÓN DENTAL.....  | 6         |
| 3.3.1    | Histología de la desmineralización a nivel de esmalte.....                       | 7         |
| 3.3.2    | Histología de la desmineralización a nivel de dentina.....                       | 8         |
| 3.4      | EROSIÓN DENTAL.....  | 8         |
| 3.4.1    | Factores Intrínsecos .....   | 11        |
| 3.4.2    | Factores Extrínsecos .....   | 12        |
| 3.5      | SALIVA.....  | 12        |
| 3.5.1    | Composición de la Saliva.....  | 12        |
| 3.5.2    | Funciones de la Saliva.....  | 13        |
| 3.6      | PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO.....  | 15        |
| 3.6.1    | Remineralización dental.....   | 15        |
| 3.6.2    | Fluor.....   | 16        |
| <b>4</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>19</b> |
| 4.1      | OBJETIVO GENERAL.....  | 19        |
| 4.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 19        |
| 4.3      | HIPÓTESIS .....  | 19        |
| <b>5</b> | <b>METODOLOGÍA</b> .....   | <b>20</b> |
| 5.1      | DISEÑO DEL ESTUDIO.....  | 20        |
| 5.2      | UNIDAD DE OBSERVACIÓN Y MUESTRA DEL ESTUDIO .....                                | 20        |
| 5.3      | CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....   | 20        |
| 5.4      | CRITERIOS DE EXCLUSIÓN .....   | 20        |
| 5.5      | DEFINICIONES OPERACIONALES .....   | 21        |
| 5.5.1    | Variables Dependientes.....  | 21        |
| 5.5.2    | Variable Independiente .....   | 21        |
| 5.6      | PROCEDIMIENTOS.....  | 22        |
| 5.6.1    | Limpieza y Almacenamiento de la Muestra .....                                    | 22        |
| 5.6.2    | Preparación de las Muestras .....  | 22        |
| 5.6.3    | Preparación de la Sustancia Acida .....  | 23        |
| 5.6.4    | División de las Unidades de Análisis .....                                       | 24        |
| 5.6.5    | Manipulación de las Unidades de Análisis con la Sustancia Desmineralizante ..... | 25        |
| 5.7      | Procesamiento y Plan de Análisis .....   | 28        |

|           |   |    |
|-----------|---|----|
| <b>6</b>  | <b>PROCEDIMIENTOS PARA GARANTIZAR LOS ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN</b> ..... | 29 |
| <b>7</b>  | <b>RESULTADOS</b> .....   | 30 |
|           | 7.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO .....  | 30 |
|           | 7.2 PRUEBA DE HIPÓTESIS.....  | 32 |
| <b>8</b>  | <b>DISCUSIÓN</b> .....  | 35 |
| <b>9</b>  | <b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....   | 41 |
| <b>10</b> | <b>CRONOGRAMA</b> .....   | 43 |
| <b>11</b> | <b>PRESUPUESTO</b> .....  | 44 |
|           | <b>REFERENCIAS</b> .....  | 45 |
|           | <b>ANEXOS</b> .....   | 48 |

## 1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los alimenticios actuales incrementan el consumo de alimentos de alto contenido ácido los que con excusa de su costo y fácil adquisición son consumidos con alta frecuencia principalmente en la población joven. A este hecho se suma la cultura de consumo de mezclas de alimentos ácidos como el limón y abrasivos como la sal, con consecuencias que se evidencian al examen clínico, pero que sin embargo de esto poco caso producen en la concientización de su consumo, resultando hasta cierto punto contradictorio que estos alimentos son consumidos y con alta frecuencia por escolares informados al respecto.

Dentro del proceso de prácticas pre-profesionales y el contacto con niños y niñas de diversos centros educativos se ha podido observar que dentro de los alimentos preferidos se encuentran el limón con sal, el primero con un alto contenido ácido y con esta combinación son capaces de provocar una caída del pH salival a nivel bucal.

El ciclo repetitivo de desmineralización y remineralización que se presenta en la superficie dental gracias a las propiedades y características propias del esmalte, constituyen un proceso dinámico (Mount & Hume, 1999) y continuo que resulta estrechamente relacionado con la presencia de lesiones cariosas, pero también responsable de la reparación de estas cuando aún se encuentran en sus etapas incipientes. De forma fisiológica consideramos que la boca presenta un pH de 7 que tiende a alterarse tras el consumo de alimentos pero que recupera su estabilidad gracias a la función buffer de la saliva, dentro de este proceso podemos considerar un pH crítico en boca, donde los valores de pH salival se encuentran entre 6.6 y 5.5.

Si en el medio bucal y más específicamente en contacto con esmalte el pH salival se sitúa por debajo del pH 5.5, se producirá una liberación de iones calcio y fosfato, de la superficie del diente, tras el mismo contacto y acción

remineralizadora de la saliva, estos valores luego de unos minutos tienen a subir observando una estabilización de este pH salival (Mount & Hume, 1999), pero cuando esta caída del pH se presenta por tiempos prolongados superiores a los referidos inicia un proceso de desmineralización, con el desprendimiento de iones calcio y fosfato que no se aprecia visiblemente pudiendo incluso estar comprometida la superficie dental con el desprendimiento clínico visible, conocido de forma regular como erosión dental (Garrett & Harley, 2013).

El pH presente en el jugo de limón es de 2.3, lo que es lo suficiente ácido para producir daño en el esmalte dentario, frente a un consumo prolongado de la sustancia, la superficie del esmalte expuesta a esta se manifiesta alterada con lesiones irreversibles que se presentan como extensas cicatrices que pueden afectar incluso a la dentina cuando estas alteraciones no son detenidas a tiempo (Fajardo & Mafla, 2011).

De ahí la importancia de concientizar entre la población consumidora de estas sustancias del empleo racional y controlado, tomando en cuenta que no únicamente el diente se ve afectado de forma estética sino sobre todo las consecuencias clínicas cuando se observa el apareamiento de sensibilidad dentaria, entre otros.

## 2 JUSTIFICACIÓN Y USO DE LOS RESULTADOS

La capacitación a la población en general sobre hábitos tanto alimentarios como de higiene siempre será la clave para erradicar problemas endémicos como la caries dental, sin embargo aun cuando la erosión dental no pueda ser considerada como un problema relacionado a la presencia de microorganismos, podría en la actualidad decirse que afecta a gran número de individuos en la población especialmente joven, y por ello podría ser considerada como un problema de salud pública.

Los cambios que sufre la estructura dental sobre todo morfológicos son irreversibles, y aunque suceden de forma paulatina y lenta poco se conoce de este proceso, de ahí que la ejecución de este estudio guarda una trascendental importancia pues se pretende mediante el uso de la tecnología determinar mediante pruebas químicas la pérdida de minerales específicamente iones de calcio y relacionarlo con el tiempo de contacto de la superficie dental con las sustancias abrasivas y ácidas como son limón con sal.

Se ha evidenciado con estos resultados como de forma lenta pero continua la estructura va perdiendo sus propiedades, buscando con ello promover cambios en los hábitos de consumo de jóvenes considerados como el grupo etareo mayormente afectado por el consumo elevado y frecuente de estas sustancias. Y de esta manera contar con bases científicas logrando que en un futuro se tomen medidas por parte de las instituciones educativas para prevenir esta problemática y así promover una adecuada alimentación y ayudar a que los jóvenes tengan una mejor salud bucal, brindando medidas de acción preventivas y oportunas.

### **3 MARCO DE REFERENCIA**

#### **3.1 ESMALTE DENTAL**

El esmalte dentario es conocido también como sustancia “adamantina” de color blanco o gris azulado, es el tejido que se encuentra recubriendo la corona de las piezas dentarias y su espesor varía desde 2 a 2,5 mm. Es el tejido más duro del diente y está formado por millones de primas mineralizados que cubren su superficie y no es capaz de sentir estímulos térmicos, químicos o mecánicos, está constituido químicamente por una matriz orgánica (2%), una matriz inorgánica (95%) y agua (3%), el alto contenido de materia inorgánica lo hace vulnerable a la desmineralización en medios ácidos siendo propenso a la caries (Moreno, Narváez, & Bittner, 2011). El componente orgánico más importante es de naturaleza proteica. La matriz inorgánica está constituida por sales minerales cálcicas, básicamente fosfatos, las cuales dan origen a los cristales de hidroxiapatita y otras sales minerales en menor proporción. Los cristales de hidroxiapatita son susceptibles a la acción de los ácidos constituyendo esta característica el sustrato químico que da origen a la caries y erosión dental (Moreno, Narváez, & Bittner, 2011).

La desmineralización se produce cuando la acidez se sitúa por debajo del pH 5.5 que es el pH crítico de la hidroxiapatita, de esta forma se produce una liberación de iones de calcio y fosfato desde el esmalte hacia el medio circundante provocando erosión en las piezas dentarias, como un proceso de destrucción gradual, por causas electrolíticas o químicas, no incluyendo la participación de microorganismos de la flora bacteriana intra oral (Moreno, Narváez, & Bittner, 2011).

El esmalte dental está formado por prismas de forma circular e irregular y contienen la sustancia interprismática, la cual posee el mismo grado de mineralización de cristales de hidroxiapatita que el cuerpo del prisma. Cada prisma atraviesa el esmalte, la superficie de depósito de esmalte es irregular,

se va ensanchando a medida que la calcificación avanza, el diámetro del prisma varía entre 3µm en el límite amelo dentinario y 6µm en la superficie final del diente (Mount & Hume, 1999).

Las Estrías de Retzius son líneas que se originan en el esmalte posiblemente como consecuencia de una interrupción de la calcificación, pueden ser fisiológicas o patológicas y se pueden observar a simple vista especialmente en la zona cervical de dientes jóvenes (Sapp, Eversole, & Wysocki, 2008).

El esmalte difunde la luz blanca monocromática de modo diferente según su grado desmineralización, lo que nos permite estudiar áreas descalcificadas y su posterior recalcificación in vivo. Existen cambios dinámicos que ocurren en el transcurso de la vida de las capas más superficiales del esmalte (Barrancos & Barrancos, 2006). La superficie dental no es estática, la estructura normal es diferente en niños, adolescentes y adultos, por lo que se debe considerar el desgaste normal que es observable tanto clínica como microscópicamente (Barrancos & Barrancos, 2006).

Las grietas del esmalte se presentan como líneas que atraviesan el esmalte, son difíciles de distinguir sin una técnica especial, se requiere de una buena luz o transiluminación con fibra óptica, su origen es multi causal. Las grietas más notables que son visibles con la luz normal del consultorio se encuentran en los incisivos centrales (Barrancos & Barrancos, 2006).

### **3.2 ESTRUCTURA DE LA DENTINA**

La dentina es un tejido altamente calcificado que aloja en su interior a los túbulos dentinarios los cuales contienen las fibras de Tomes, que son prolongaciones protoplasmáticas de una célula, el odontoblasto, ubicado en la pulpa. Se dice que la dentina está compuesta por un 70% de sustancia inorgánica, un 12% de agua y un 18% de sustancia orgánica (Mount & Hume, 1999).

La dentina y la pulpa están estrechamente unidas en su comportamiento biológico, la dentina que se forma antes de la erupción dentaria se denomina dentina primaria, que se encuentra junto al esmalte y posee fibras colágenas gruesas. Una vez erupcionado el diente, el odontoblasto continúa produciendo dentina y a esta se la denomina dentina secundaria como respuesta a pequeñas irritaciones o estímulos que recibe la pulpa, cuando el diente recibe estímulos intensos, la pulpa reacciona produciendo dentina terciaria o de reparación (Mount & Hume, 1999).

### **3.3 DESMINERALIZACIÓN DENTAL**

La desmineralización y remineralización es un ciclo continuo que se repite con la ingesta de los alimentos especialmente los carbohidratos que al metabolizarse en la placa, forman ácidos los cuales reaccionan con el esmalte dental. El cual cede iones de calcio y fosfato que alteran la estructura cristalina de la hidroxiapatita, haciéndola propensa a la remineralización (Montender, Delgado, Martínez, Guzman, & Espejel, 2003).

Si se detiene la producción de ácidos después de 20 a 40 minutos, el pH sube y los minerales en forma iónica tienden a incorporarse a la estructura dentaria. Cuando la cantidad de cristales removidos, ocasiona el colapso de la matriz de proteína estructural se produce la irreversibilidad (Barrancos & Barrancos, 2006) (Montender, et. al., 2003).

Esta lesión clínicamente se identifica como una zona blanquecina, opaca, con pérdida de translucidez que puede afectar uno o varios dientes y se presenta tanto en la dentición temporal como permanente (Montender, et. al., 2003) (Urrejola & Ruiz, 2008).

Es por esto que es importante disminuir el aumento de ácido producido por las bacterias que se acumulan en la placa dental; evitar que se pierda la permeabilidad del esmalte para que agentes químicos como el fluoruro actúen

facilitando la insolubilidad del esmalte y también es importante estimular mecanismos para que los minerales se precipiten en la lesión y se produzca remineralización (Montender, et. al., 2003).

### 3.3.1 Histología de la desmineralización a nivel de esmalte

Las zonas histológicas de la desmineralización a nivel de esmalte son:

- a) **Zona translúcida:** Es el frente de avance de la desmineralización. El esmalte se observa menos estructurado y tiene 1.2% de pérdida mineral por unidad de volumen; indicando la presencia del 1% de espacios o poros en lugar del 0.1% en el esmalte intacto (Bordoni, Escobar, & Castillo, 2010).
- b) **Zona Oscura:** Aparece como una banda opaca sobre la superficie, en la cual se observa poca estructura, donde las sales previamente liberadas vuelven a depositarse, el volumen de los poros varía entre el 2% y 4% (Bordoni, Escobar, & Castillo, 2010).
- c) **Cuerpo de la Lesión.** Es la región de mayor desmineralización y destrucción, hay una pérdida mineral por unidad de volumen de 24%, con aumento de la cantidad de materia orgánica. Los prismas del esmalte aparecen estriados y las estrías de Retzius están incrementadas, el volumen de los poros en la periferia es de 5% y en el interior aumenta hasta el 25% (Bordoni, Escobar, & Castillo, 2010).
- d) **Zona Superficial.** Se ve de color negro, se identifica como esmalte afectado con un espesor de 30  $\mu\text{m}$ , se observa mediante luz polarizada (Bordoni, Escobar, & Castillo, 2010) (Montender, et. al., 2003) (Sapp, Eversole, & Wysocki, 2008).

### 3.3.2 Histología de la desmineralización a nivel de dentina

Las zonas histológicas de la desmineralización a nivel de dentina son:

- a) **Zona 1 o degeneración Grasa:** refleja cambios asociados a la infección por caries, causando una desorganización con liberación de lípidos.
- b) **Zona 2 o transparente:** banda de dentina hipermineralizada en la que los túbulos de la dentina están esclerosados debido al depósito de sales calcificadoras liberadas de la zona desmineralizada.
- c) **Zona 3 o de desmineralización:** formada por dentina más blanda que la normal debido a la acción inicial de las enzimas bacterianas.
- d) **Zona 4 o de coloración parda:** reducción del contenido mineral y presencia de túbulos de dentina distendidos rellenos de bacterias.
- e) **Zona 5 o de cavitación:** ausencia de mineralización y el componente orgánico es disuelto por las bacterias.

Estas características microscópicas se puede observar clínicamente por la facilidad con la cual las capas de dentina blanda de color pardo oscuro se pueden remover con cucharilla (Sapp, Eversole, & Wysocki, 2008).

### 3.4 EROSIÓN DENTAL

Pérdida localizada superficial y progresiva del tejido dental duro causada por sustancias químicas en contacto con los dientes, que no involucra la acción bacteriana, se deben al contacto frecuente y excesivo con medios ácidos de pH bajo manifestándose a nivel del esmalte. El contacto continuo del esmalte con estos productos produce pérdida de sales cálcicas, con disminución de su dureza, lo cual podría llegar a una exposición dentinaria tras la progresión de la

enfermedad, la misma que con el tiempo se asocian a una hipersensibilidad dolorosa (Fajardo & Mafla, 2011).

La mayoría de las causas de erosión son conocidas y se puede atribuir a una dieta con exceso de alimentos con pH ácido, como cítricos y bebidas carbonatadas (con gas) (Lussi, Hellwig, Zero, & Jaeggi, 2006). Estos alimentos provocan un proceso especial de cavitación lisa, en forma de platillo, en las superficies vestibulares de los dientes anteriores (Sapp, Eversole, & Wysocki, 2008) (Garrett & Harley, 2013).

Los dientes erosionados se observan suaves, sedosos, brillantes y algunas veces mate, en el esmalte existe ausencia de periquimatíes y esmalte sano en el margen gingival, lo que se cree que la placa remanente podría actuar como barrera de difusión para los ácidos (Lussi, et. al., 2006) (Fajardo & Mafla, 2011).

El aspecto clínico puede ser muy variable, en la lesión generalizada puede afectarse toda la corona del diente, con pérdida de dentina superficial queda un aspecto vidrioso y desvitalizado, y bordes redondeados a nivel de esmalte (Sapp, Eversole, & Wysocki, 2008).

La patogénesis de las erosiones dentales es un proceso multifactorial en el que diferentes factores del huésped como los parámetros salivales, modulan el tipo y la frecuencia de la exposición exógena y endógena al medio ácido; las sustancias cítricas poseen un pH compatible con la disolución del esmalte y de la dentina (Mount & Hume, 1999) (Lussi, et. al., 2006).

La pérdida de sustancia y función de los dientes se debe a diversos factores como hábitos alimenticios, incluyendo la ingesta de ácidos o bebidas carbonadas; una alteración frecuente relacionada a esta pérdida de sustancia es la erosión dental, que deriva del latín *erodere*, *erosi*, *erosum* (roer, corroer), lo que significa un proceso de destrucción gradual de la estructura dentaria por

acción química de los ácidos y quelantes, no asociada a los producidos por la flora bacteriana, ni factores mecánicos o traumáticos (Garrett & Harley, 2013) (Fajardo & Mafla, 2011) (Lussi, et. al., 2006).

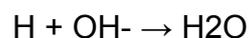
La erosión dental es un problema de salud oral en niños y adultos, por lo que es una de las formas más comunes de desgaste dental tanto en dentición temporal como en la permanente. Afecta a cualquier superficie, pero más común en superficies palatinas de dientes antero superiores y en superficies oclusales de molares inferiores (Fajardo & Mafla, 2011) (Garrett & Harley, 2013).

El consumo prolongado y frecuente de ácidos aumenta el riesgo de erosión dando lugar a un pH intra oral bajo menor a 5,5. Lo que produciría cambios en la morfología de la superficie del esmalte dental (Cabrera & Kanashiro, 2004). Se explica químicamente por un predominio hacia la derecha de la reacción:



**Ecuación 1**

Por lo que al disminuir el pH a niveles ácidos, incrementa la concentración de  $\text{H}^+$ , que reacciona con el  $\text{OH}^-$  formando agua:



**Ecuación 2**

Por esta reacción disminuyen los iones  $\text{OH}^-$ , que son producto de la disolución de la apatita del esmalte ocasionando la desmineralización.

Entonces, estos acontecimientos químicos dejan evidencia física en la superficie del esmalte dental, conocido como patrones de grabado ácido (Cabrera & Kanashiro, 2004).

El ácido a un pH 2, ocasiona una desmineralización de la matriz inorgánica con disolución de los cristales de hidroxiapatita, debido a la unión hidrogeno del ácido con el ion calcio del esmalte, lo que produce pérdida del esmalte dental, sobre todo en las áreas de mayor contacto con la sustancia ácida (Ochoa, Dufoo, & de León, 2008).

Existe mayor gravedad del daño al esmalte dependiendo de: el grado de mineralización, de la duración, de la frecuencia y de la concentración del ácido; a menor pH ácido, hay una mayor descalcificación (Ochoa, Dufoo, & de León, 2008).

El cepillado dental después del contacto con sustancias ácido-abrasivas, se desaconseja ya que causa mayor abrasión mecánica arrastrando los prismas del esmalte debilitados por el ácido, favoreciendo a un predominio de caries (Ochoa, Dufoo, & de León, 2008).

Es primordial que el odontólogo conozca el potencial erosivo de las bebidas y alimentos que se consumen con frecuencia y su pH, para determinar el riesgo del paciente, además es importante saber los contenidos de calcio y fósforo de los alimentos ya que existen algunos que tienen un pH ácido, pero su alto contenido de calcio y fósforo hacen que reduzcan el efecto erosivo (Lussi, et. al., 2006).

La erosión ácida es considerada la causa más frecuente de desgaste dental afectando a ambos sexos sin distinción de edad. Está asociada a diferentes factores de riesgo, se han clasificado de acuerdo a la ingesta de ácidos en intrínsecos y extrínsecos (Fajardo & Mafla, 2011).

#### **3.4.1 Factores Intrínsecos**

- Reflujo de ácidos gástricos
- Vómito recurrente o regurgitación

### 3.4.2 Factores Extrínsecos

- Consumo de alimentos que contengan ácido cítrico
- Consumo de bebidas carbonatadas
- Consumo de bebidas alcohólicas

La erosión dental tiene algunas consecuencias como la pérdida de tejido que puede producir dolor, sensibilidad y poca estética. El manejo y control de esta, sería adecuado si se realiza un diagnóstico a tiempo en el que se detecten posibles factores de riesgo (Garrett & Harley, 2013).

## 3.5 SALIVA

La saliva es secretada por las glándulas salivales, es el principal elemento para la homeostasis bucal, ya que modula el ecosistema de la cavidad oral. Juega un papel clave en la prevención de la caries, neutralizando los ácidos y proporcionando minerales y proteínas para proteger a los dientes. Es secretada por tres pares de glándulas: la parótida, la submandibular y la sublingual y adicionalmente por cientos de glándulas salivales menores en la submucosa (Macpherson, 2013) (Bordoni, Escobar, & Castillo, 2010).

La glándula parótida contribuye con el 25 % del total del volumen de la saliva, la submandibular con el 60 %, la sublingual con el 7 – 8 % y también las glándulas menores con el 7 – 8 %. El aporte de saliva normal en el día es de 1,5 – 2,0 ml/min cuando es estimulada y cuando no es estimulada con 0,3 – 0,4 ml/min; por lo que la contribución de saliva diaria en adultos es de 0,5 – 0,6 litros (Macpherson, 2013).

### 3.5.1 Composición de la Saliva

Aproximadamente el 99,5 % de saliva está compuesta por agua, el 0,5 % por constituyentes inorgánicos y orgánicos incluyendo electrolitos, compuestos

antibacteriales, moco y enzimas. La composición varía entre personas y depende del tipo de alimento ingerido. Entre los constituyentes inorgánicos tenemos: bicarbonato, calcio, cloro, flúor, magnesio, fosfato, potasio, sodio, etc. (Macpherson, 2013). Los orgánicos son: albumina, lípidos, lisozimas, mucina MUC5B y MUC7, proteínas, inmunoglobulina A, urea, etc. Las lisozimas tiene una acción antibacterial, controlando la microflora oral y ayuda a prevenir la halitosis (Macpherson, 2013).

### **3.5.2 Funciones de la Saliva**

Entre sus funciones destacan la lubricación del bolo alimenticio, la protección contra virus, bacterias y hongos, su capacidad tampón, la protección y reparación de la mucosa oral y remineralización dental (Fenoll, et al., 2004). También neutraliza los ácidos producidos por microorganismos acidogénicos, lo que previene la desmineralización del esmalte dental (Bordoni, Escobar, & Castillo, 2010). El pH 6,7 de la boca es neutro, la desmineralización ocurre cuando el pH es de 5,5 (pH crítico) (Macpherson, 2013).

La saliva es un protector natural de las estructuras de la boca contra los gérmenes que provocan la caries dental y a su vez actúa neutralizando los ácidos. Al segregarse la saliva durante el día, se produce un efecto protector el cual aumenta con una buena higiene oral (Garrett & Harley, 2013).

Está compuesta por lisozimas que actúan en la ruptura de la pared de las bacterias conocida como bacteriólisis, la saliva también contiene otras enzimas como la inmunoglobulina A, lactoferrina y lactoperoxidasa que producen un efecto antibacteriano.

Entre los microorganismos menos acidúricos relacionados con la salud dental, se encuentra el *Streptococcus Sanguinis* (*S. sanguinis*) y el *Streptococcus Gordonii* (*S. gordonii*); estos contribuyen a la alcalinización de la placa, por medio de la generación de amonio, lo que ayuda en el equilibrio de la

mineralización previniendo el desarrollo de la microbiota cariogénica como es el *Streptococcus Mutans* (*S. mutans*) (Reyes, et al., 2012).

La capacidad tampón de la saliva es un factor importante que influye en el pH salivar y en el proceso de remineralización dental, siendo la concentración de bicarbonato su principal componente; se relaciona con el flujo salivar, ya que cualquier circunstancia que disminuya el flujo salivar tiende a disminuir su capacidad tampón e incrementa el riesgo de caries (Fenoll, et al., 2004).

Las alteraciones en la secreción salivar, cuantitativas y/o cualitativas, tienen efectos adversos locales como caries, mucositis oral, candidiasis, infecciones orales, dificultades masticatorias, etc. y efectos extra orales como disfagia de penetración, halitosis, pérdida de peso (Fenoll, et al., 2004).

La disminución de la secreción salivar se expresa clínicamente por la sensación de “boca seca” o xerostomía, aunque esta puede también aparecer, en ocasiones, sin descenso del flujo salivar (Fenoll, et al., 2004).

Se dice que la edad condiciona una disminución de la secreción salivar como consecuencia del proceso fisiológico de envejecimiento con atrofia parenquimatosa. Otras investigaciones demuestran que los sujetos ancianos sanos presentan un flujo salivar normal con gran reserva funcional, especialmente en las glándulas parotídeas (Fenoll, et al., 2004).

Se aconseja ingerir goma de mascar sin azúcar ya que estimula el flujo salivar, ayuda a neutralizar los ácidos; lo que podría contrarrestar los efectos destructivos de los ácidos de la dieta (Lussi, et. al., 2006).

## 3.6 PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO

### 3.6.1 Remineralización dental

La remineralización es un proceso que se realiza sobre los tejidos duros (esmalte, dentina y cemento), en el cual el calcio, el fosfato y otros iones se precipitan dentro del esmalte dental parcialmente desmineralizado. Estos iones proceden de la disolución del tejido mineralizado, de una fuente externa o de ambos; la remineralización sucede a un pH neutro, en este proceso se depositan minerales presentes en los fluidos bucales en defectos del esmalte desmineralizado (Jefferies, 2014) (Montender, et. al., 2003).

Esta remineralización ocurre tras la pérdida de minerales o por un ataque ácido, donde el principal material es la hidroxiapatita con una porción pequeña de fluoruro de calcio ( $\text{CaF}_2$ ) en lesiones blancas reversibles, lo que incrementa el proceso de remineralización y disminuye la progresión de la caries. El compuesto mineral que en un inicio se deposita es una forma soluble, después de un tiempo son trasladados dentro de la lesión en forma de compuestos insolubles (Montender, et. al., 2003).

En la cavidad bucal los dientes están sometidos a un proceso constante de desmineralización-remineralización con lo cual actúa el intercambio iónico activo, si la saliva se mantiene en un pH superior a 5.5 junto con valores adecuados de calcio y fosfato los dientes permanecerían sanos, pero debido a la ingesta inadecuada y prolongada de alimentos cítricos este baja a niveles de 2 a 3 en la escala del pH (Fajardo & Mafla, 2011).

Por lo tanto si el medio bucal se neutraliza o la placa desaparece por la acción del cepillado se produce depósito de mineral lo cual proviene del fosfato y de otras sales presentes en la saliva, proceso que se denomina remineralización (Jefferies, 2014) (Garrett & Harley, 2013).

### 3.6.2 Fluor

El flúor es un elemento químico que tiene bajo peso atómico y muy electronegativo que se une con el calcio para formar fluoruro de calcio o con el sodio para formar fluoruro de sodio, que son compuestos estables. El flúor está asociado a tejidos calcificados como el hueso y los dientes por su gran afinidad por el calcio (Miñana, 2010) (Afonso, Pessan, Igreja, Cantagallo, Danelon, & Delbem, 2013).

El flúor previene la caries de algunas maneras, la más significativa es la inhabilitación de la desmineralización y el incremento de la remineralización del esmalte dentario, también tiene un efecto antibacteriano penetrando en las bacterias en forma de ácido fluorhídrico con lo cual disminuye la obtención de energía de las mismas (Sales-Peres, Marsicano, Garcia, Forim, Silva, & Sales-Peres, 2013)

Los principales mecanismos de acción del flúor son:

- Transformación de la hidroxiapatita (HAP) en fluorapatita (FAP), siendo esta última más resistente a la descalcificación, presentando reversibilidad de acuerdo a la concentración de flúor alrededor del esmalte dental.
- Inhibición de la desmineralización y catálisis de la remineralización del esmalte, siendo reacciones químicas reversibles, de tal forma que si incrementa la acidez, se produce pérdida de calcio por alteración de la estructura de las moléculas de hidroxiapatita y fluorapatita (Madlena, 2013). En la hidroxiapatita el cristal comienza a disolverse con un pH menor a 5,5; mientras que para la fluorapatita se disuelve a un pH menor a 4,5 (pH crítico) (Miñana, 2010) (Botelho, Del Bel Cury, Silva, Andalo, & Cury, 2014).

Entonces el ácido que se encuentra en la boca, es neutralizado por sistemas tampón (calcio, fosfatos, saliva), lo que causa un depósito de calcio y fósforo utilizables para revertir la reacción y hacer posible la remineralización, creándose nuevas moléculas de hidroxiapatita y de fluorapatita. Por lo que el esmalte desmineralizado poseería mayor capacidad para captar el flúor que el esmalte sano. Además, el proceso de desmineralización y remineralización dental es un proceso dinámico que duraría toda la vida del diente. La reversibilidad de este mecanismo justifica la recomendación del uso de flúor durante toda la vida, y no sólo durante la infancia. El empleo de flúor tópico en bajas dosis de forma continua induce la remineralización dental (Rakhmatulina, Beyeler, & Lussi, 2013) (Sales-Peres, Mars et. al., 2013).

Al parecer en todos los casos el factor más importante en la prevención de la caries dental es la exposición al fluoruro en dosis bajas pero continuadas en la cavidad Oral (Miñana, 2010).

De los diferentes tipos de administración de flúor, la forma tópica es la más recomendada, si la prevalencia de caries es alta, la fluoración del agua es un buen método, además tiene un efecto preventivo en función de la dosis con la cual la toxicidad de este se encontraría en niveles bajos a lo considerado perjudicial (Miñana, 2010).

La administración de flúor puede ser sistémica o local, la primera es a través del agua potable y la segunda la administración local por medio de sustancias tópicas aplicadas directamente sobre la superficie dentaria por medio de geles, colutorios o pastas fluoradas a una concentración de 1500 ppm (Botelho, et. al., 2014) (Sales-Peres, et. al., 2013).

El consumo adecuado de flúor produce mineralización a nivel del esmalte dental por lo que reduce el riesgo de caries, sin embargo en cantidades excesivas produce manchas en el esmalte, por lo que la concentración recomendable es de 1ppm de fluoruro en agua o <1mg/ldeH<sub>2</sub>O, buscando así

un equilibrio entre el efecto preventivo y el riesgo mínimo de fluorosis (Afonso, et. al., 2013) (Miñana, 2010).

En cuanto a la acción preventiva del flúor, hoy por hoy se acepta que el flúor tópico administrado después de la erupción dental, es el principal responsable de la acción protectora de la caries dental, y el exceso de flúor sistémico administrado antes de los 6 años es un factor importante responsable de la fluorosis dental (Miñana, 2010) (Sales-Peres, et. al., 2013).

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar mediante análisis químico la pérdida de iones calcio que se produce de la estructura dental considerando el tiempo de contacto con sustancias ácido abrasivas como el cloruro de sodio y el ácido cítrico, así como establecer cambios en la masa de las unidades dentales estudiadas luego de la exposición a estas sustancias.

### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Evaluar el grado de desmineralización manifestado por la pérdida de iones calcio de la estructura dentaria en función del tiempo de inmersión en ácido cítrico.
- Determinar mediante medición de peso los cambios en masa que se producen en la estructura dental tras el contacto con ácido cítrico y cloruro de sodio.

### **4.3 HIPÓTESIS**

La desmineralización dental es proporcional al desprendimiento de iones calcio de la estructura dental y ésta es proporcional al tiempo de contacto con el cloruro de sodio y la solución de ácido cítrico.

## **5 METODOLOGÍA**

### **5.1 DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se diseñó un estudio *in-vitro* cuantitativo, experimental por ser controlado y al azar.

### **5.2 UNIDAD DE OBSERVACIÓN Y MUESTRA DEL ESTUDIO**

Este estudio incluyó 60 terceros molares sanos, dientes extraídos por indicación terapéutica, recolectados en centros odontológicos y de diferentes clínicas odontológicas de la ciudad de Quito, almacenados en un medio húmedo y en refrigeración hasta su uso.

### **5.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Terceros molares extraídos por indicación terapéutica.
- Dientes sin evidencia de lesiones cariosas, fracturas ni lesiones no cariosas.
- Dientes sin ninguna restauración.

### **5.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Dientes deciduos.
- Dientes con caries, fracturas o lesiones no cariosas en cualquiera de sus superficies.
- Dientes con tratamiento pulpar.

## 5.5 DEFINICIONES OPERACIONALES

### 5.5.1 Variables Dependientes

Desmineralización dental y Peso de los dientes.

Tabla 1. Variables dependientes en estudio

| VARIABLE                 | DEFINICIÓN   | INDICADOR   | ESCALA   |
|--------------------------|--|---|--|
| Desmineralización dental | Pérdida de Calcio en la estructura mineral del diente. | Peso/volumen $\mu\text{g}$ de calcio por mililitros de solución total | Microgramos Ca/ Mililitro solución ( $\mu\text{g Ca/ml}$ ) |
| Desmineralización dental | Pérdida de calcio de la estructura mineral del diente. | Pérdida de Calcio en miligramos del peso inicial en g de los dientes  | Miligramos Ca/ gramos total (mg Ca /g)                     |

### 5.5.2 Variable Independiente

Tiempo de inmersión en jugo de limón artificial

Tabla 2. Variable independiente en estudio

| VARIABLE  | DEFINICIÓN   | INDICADOR             | ESCALA  |
|---|--|-----------------------|---|
| Tiempo de inmersión en jugo de limón artificial | Es el intervalo de tiempo que permanecerá el diente en una sustancia ácida | Tiempos de exposición | 1= 20 minutos<br>2= 40 minutos<br>3= 60 minutos |

**Composición del jugo de limón artificial:** ácido cítrico puro libre de calcio y 1 litro de agua destilada.

## 5.6 PROCEDIMIENTOS

### 5.6.1 Limpieza y Almacenamiento de la Muestra

La muestra de 60 terceros molares se recolectó en frascos adecuados para el efecto, conteniendo agua destilada buscando mantener de forma íntegra las características de dichos dientes.

Se realizó luego el lavado con suero fisiológico y cepillo dental removiendo los restos de tejidos blandos adheridos a la superficie dental procedimiento que fue complementado con la desinfección con clorhexidina al 2% de las piezas dentales recolectadas.

Una vez limpios cada uno de los dientes fue nuevamente almacenado hasta su uso. Como lo muestra la figura 1.



Figura 1. Almacenamiento de la muestra

### 5.6.2 Preparación de las Muestras

Como paso a seguir cada diente se sometió a la impermeabilización y sellamiento de toda su superficie, mediante esmalte de uñas, dejando expuesta únicamente la superficie coronaria de dichos dientes tanto vestibular como

palatino, vedamiento este que se ejecuto buscando evitar que el contacto de la sustancia a probar afecte a otras estructuras que no sea el esmalte coronario.

### 5.6.3 Preparación de la Sustancia Acida

Para realizar el experimento se solicitó la asesoría del PHD en química Carlos Fabára y el ensayo se realizó en las instalaciones del laboratorio de la Facultad de Química de la Universidad San Francisco de Quito (USFQ). Como primer paso e intentando simular las condiciones de ingesta de limón con sal, se realizaron pruebas previas para determinar la capacidad ácida de la mezcla de la sustancia en cuestión. Ver figura 2.



Así entonces con una solución de ácido cítrico puro libre de calcio (componente esencial del limón) se mezcló con agua destilada hasta obtener una sustancia de un pH equivalente a 2. Como lo muestra la figura 3.



Figura 3: Acido cítrico puro libre de calcio y agua destilada (pH 2).

#### 5.6.4 División de las Unidades de Análisis

La muestra de 60 unidades de análisis se dividió en 4 grupos de 15 dientes cada uno, considerados un grupo como grupo de prueba o grupo control, así tenemos entonces un  $n=15$  por grupo. Estos 15 dientes se dividieron a su vez en 3 grupos de 5 dientes cada uno, a los cuales se los llamo repetición 1, repetición 2 y repetición 3 para cada tiempo de exposición, con lo cual tuvimos 4 tiempos de exposición (tratamientos) y 3 repeticiones para cada tiempo de exposición, como lo muestra la figura 4. Estas repeticiones fueron realizadas de forma aleatoria. Ver anexo 1.



Figura 4. Unidades de análisis

### 5.6.5 Manipulación de las Unidades de Análisis con la Sustancia Desmineralizante

Se procedió a pesar en la balanza de precisión (en gramos) los cinco dientes de cada grupo, antes y después de sumergir en la sustancia ácida. Ver figura 5.



**Figura 5. Peso de dientes en balanza de precisión**

Después a cada diente se le froto cloruro de sodio (componente esencial de la sal) durante 15 segundos con un cepillo dental que se lavo con agua destilada para cada grupo de dientes y luego los dientes tomaron contacto con el jugo de limón artificial, sustancia ácida previamente preparada. Se sumergieron los grupos de dientes durante los tiempos establecidos para identificar el grado de pérdida de calcio según el tiempo de exposición al ácido cítrico. La exposición a la sustancia ácida se la realizó por 20 minutos, 40 minutos y 60 minutos, mientras que el grupo control se lo mantuvo únicamente en agua destilada durante 60 minutos. Como lo muestra la figura 6.



**Figura 6. Cloruro de sodio**

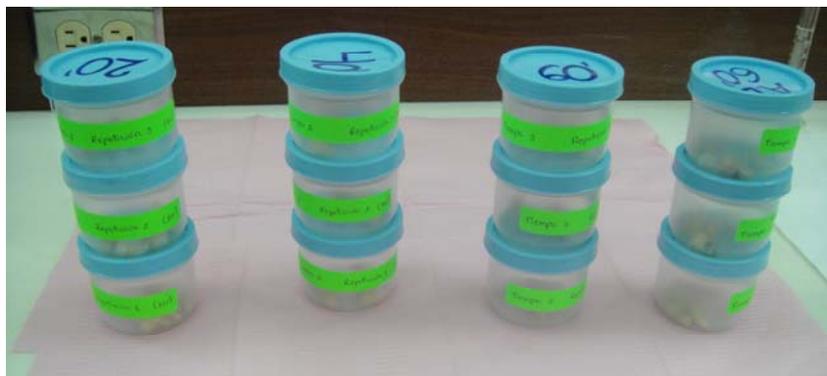
En la búsqueda de simular el contacto de la superficie dental con la sustancia ácida y respetando estos periodos de tiempo establecidos según el grupo, las muestras se retiraron del contacto con el jugo de limón artificial y se secaron al ambiente para luego ser colocadas de forma inmediata en un recipiente seco y estéril.

Para evitar cualquier modificación en cuanto al pH de la sustancia ácida (misma que no debe subir de 2 a 3), se realizaron mediciones periódicas empleando un pH digital, como lo muestra la figura 7.



**Figura 7. pH digital**

Como se indicó los dientes retirados de la sustancia ácida fueron secados al ambiente y colocados en recipientes secos y estériles como lo muestra la figura 8.



**Figura 8. Muestras almacenadas**

En cada uno de los frascos en donde se mantuvo la sustancia ácida y los dientes por los tiempos establecidos, se procedió a medir la cantidad de pérdida de calcio en microgramos sobre mililitro ( $\mu\text{g/ml}$ ), como lo muestra la figura 9, esto se lo hizo a través del espectrofotómetro de absorción atómica del laboratorio, ver anexo 2 y 3. Se registraron los valores en tablas previamente diseñadas. Luego se realizó una transformación de la unidad de análisis de volumen a peso, pasando de microgramos por mililitro ( $\mu\text{g/ml}$ ) a miligramos por gramo ( $\text{mg/g}$ ).



**Figura 9. Espectrofotómetro de absorción atómica.**

## 5.7 PROCESAMIENTO Y PLAN DE ANÁLISIS

Los datos obtenidos de la medición de la concentración de iones de calcio en la sustancia ácida de cada uno de los grupos de dientes, fueron recolectados en tablas diseñadas para el efecto en el programa Excel. Luego se obtuvieron los respectivos promedios, desviaciones estándares y finalmente se realizaron comparaciones múltiples de medias aplicando las pruebas de ANOVA y Test de Tukey, calculando sus respectivos intervalos de confianza y el valor de significación estadística para el 95% de nivel de confianza. Para la diferencia de masa dental al inicio y final del ensayo se aplicó la prueba t'student para diferencia de dos promedios. Los cálculos estadísticos se realizaron con los paquetes de SPSS versión 20 y Epi-info 2000 versión. 3.1.1.

## **6 PROCEDIMIENTOS PARA GARANTIZAR LOS ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN**

Debido a ser un estudio experimental, el protocolo de ejecución del estudio no requiere el compromiso con participantes, sin embargo se conto con cartas de donación de los dientes para el estudio proporcionadas por los odontólogos donadores de estos dientes. Ver anexo 4 y 5.

Los análisis químicos se ejecutaron en el laboratorio de la Facultad de Química de la USFQ ajustándonos a las exigencias y protocolos previstos por dicho centro de estudios, previo aprobación y colaboración por parte del Dr. Carlos Fabára, comprometiéndose un buen uso.

Para garantizar la transparencia en la investigación, se respaldo el informe con material fotográfico, análisis estadístico e informes técnicos sobre los resultados obtenidos.

## **7 RESULTADOS**

### **7.1 ANÁLISIS DESCRIPTIVO**

Con la muestra del estudio de 60 piezas dentales extraídas, se conformaron tres grupos experimentales de 15 piezas cada uno y 15 para el grupo control. En cada una de los grupos se hicieron tres repeticiones del ensayo en las que se utilizaron cinco piezas por repetición.

Con respecto al objetivo planteado en la investigación sobre evaluar el grado de desmineralización manifestado por la pérdida de iones calcio de la estructura dentaria en función del tiempo de exposición al cloruro de sodio y solución de ácido cítrico; en la tabla 3 y 4 se puede observar la pérdida de calcio por tiempo de inmersión, de forma total y parcial en los tres grupos experimentales como en el grupo control. Los promedios más altos se observan en las tres repeticiones del grupo 2 que corresponde a 40 minutos de exposición a la sustancia ácida.

**Tabla 3. Pérdida de Ca en mg/g según repeticiones y tiempo de inmersión en solución ácida**

| Repeticiones Grupo 1       | n= | Promedio de Ca | Desviación Estándar |
|----------------------------|----|----------------|---------------------|
| 1                          | 5  | 0,0430         | 0,0017593           |
| 2                          | 5  | 0,0440         |                     |
| 3                          | 5  | 0,0470         |                     |
| Total                      | 15 | 0,0447         |                     |
| Repeticiones Grupo 2       |    |                |                     |
| 1                          | 5  | 0,054000       | 0,0022361           |
| 2                          | 5  | 0,053000       |                     |
| 3                          | 5  | 0,058000       |                     |
| Total                      | 15 | 0,055000       |                     |
| Repeticiones Grupo3        |    |                |                     |
| 1                          | 5  | 0,056000       | 0,0036839           |
| 2                          | 5  | 0,049000       |                     |
| 3                          | 5  | 0,057000       |                     |
| Total                      | 15 | 0,054000       |                     |
| Repeticiones Grupo control |    |                |                     |
| 1                          | 5  | 0,0018         | 0,0004706           |
| 2                          | 5  | 0,0011         |                     |
| 3                          | 5  | 0,0022         |                     |
| Total                      | 15 | 0,0017         |                     |

**Tabla 4. Promedio total de Calcio perdido en mg/g según los tiempos de inmersión en los grupos experimentales y el grupo control**

| Tratamientos por Grupo | Repetición 1 mg/g | Repetición 2 mg/g | Repetición 3 mg/g | Promedio mg/g | Desviación Estándar |
|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------|---------------------|
| (Grupo 1) 20 min       | 0,043             | 0,044             | 0,047             | 0,0447        | 0,0018              |
| (Grupo 2) 40 min       | 0,054             | 0,053             | 0,058             | 0,055         | 0,0022              |
| (Grupo 3) 60 min       | 0,056             | 0,049             | 0,057             | 0,054         | 0,0037              |
| ( Control) 60 min      | 0,0018            | 0,0011            | 0,0022            | 0,0017        | 0,0005              |

## 7.2 PRUEBA DE HIPÓTESIS

Según los resultados estadísticos de la prueba de ANOVA, que se observa en la tabla 5 la pérdida de calcio por la exposición de los dientes al cloruro de sodio y la solución de ácido cítrico fue algo mayor en el grupo 2, correspondiente a 40 minutos, esta diferencia fue estadísticamente significativa ( $p=0,0000$ ) con respecto a las otras tres mediciones. Por lo que con esta prueba se aceptaría la hipótesis de estudio, sin embargo se requieren pruebas de comparación múltiple de medias para obtener un resultado concluyente.

**Tabla 5. Pérdida de calcio según tiempo de exposición en los grupos experimentales y grupo control**

| Grupo/Tiempo | n= | Promedio | Varianza | DE     | Prueba Signif |
|--------------|----|----------|----------|--------|---------------|
| G1 (20 min)  | 15 | 0,0447   | 0        | 0,0018 | P0,0000       |
| G2 (40 min)  | 15 | 0,055    | 0        | 0,0022 |               |
| G3 (60 min)  | 15 | 0,054    | 0        | 0,0037 |               |
| G4 (60 min)  | 15 | 0,0017   | 0        | 0,0005 |               |

\*Para la diferencia de promedios se aplicó Anova

Una vez aceptada la hipótesis de estudio (H1) se requiere comprobar si los promedios intra-grupo de pérdida de iones calcio son diferentes según los tiempos de exposición, para ello se sometió a las medias (promedios) obtenidas en los cuatro grupos de estudio, la prueba estadística de comparación múltiple de medias o diferencia significativa de TUKEY, encontrándose que los promedios de los tiempos 2 y 3 estadísticamente no

presentan diferencias significativas Ver tabla 6. Por lo que el promedio de la pérdida de calcio fue similar en los tiempos de 40 y 60 minutos de exposición, con este resultado la hipótesis de estudio no se cumplió a cabalidad de acuerdo a lo que se había establecido.

**Tabla 6. Comparación múltiple de promedios de calcio perdidos por tiempo de exposición**

| (I) TIEMPO | (J) TIEMPO | Significación Estadística. | Intervalo de confianza al 95% |                 |
|------------|------------|----------------------------|-------------------------------|-----------------|
|            |            |                            | Límite inferior               | Límite superior |
| 1          | 2          | 0,000                      | -0,012595                     | -0,008072       |
|            | 3          | 0,000                      | -0,011595                     | -0,007072       |
|            | 4          | 0,000                      | 0,040705                      | 0,045228        |
| 2          | 1          | 0,000                      | 0,008072                      | 0,012595        |
|            | 3          | 0,648                      | -0,001262                     | 0,003262        |
|            | 4          | 0,000                      | 0,051038                      | 0,055562        |
| 3          | 1          | 0,000                      | 0,007072                      | 0,011595        |
|            | 2          | 0,648                      | -0,003262                     | 0,001262        |
|            | 4          | 0,000                      | 0,050038                      | 0,054562        |
| 4          | 1          | 0,000                      | -0,045228                     | -0,040705       |
|            | 2          | 0,000                      | -0,055562                     | -0,051038       |
|            | 3          | 0,000                      | -0,054562                     | -0,050038       |

\*Prueba de DSH Tukey

Otro de los objetivos establecidos fue determinar en las unidades de análisis los cambios en el peso inicial y final tras el contacto con el ácido cítrico y cloruro de sodio. En la tabla 7 y 8 se puede observar que el peso total inicial de los dientes del grupo experimental (n=45) antes y después de ser sometidos al experimento no tuvo una pérdida importante de masa y estadísticamente no existe diferencias significativas. De igual manera no se observan cambios significativos en el peso total de los dientes del grupo control.

**Tabla 7. Comparación de los pesos inicial y final del grupo experimental**

| Grupos Experimentales | n= | Promedio | DE     |                    | 95% Intervalo de confianza para la diferencia |          |
|-----------------------|----|----------|--------|--------------------|---|----------|
|                       |    |          |        |                    | Inferior                                      | Superior |
| Peso Inicial          | 45 | 1,767    | 0,3176 | 0,8935             | -0,124  | 0,142    |
| Peso Final            | 45 | 1,758    | 0,319  | Prueba t<br>0,1342 | -0,124  | 0,142    |

**Tabla 8. Comparación de los pesos inicial y final del grupo control**

| Grupo Control | n= | Promedio | DE     |                    | 95% Intervalo de confianza para la diferencia |          |
|---------------|----|----------|--------|--------------------|---|----------|
|               |    |          |        |                    | Inferior                                      | Superior |
| Peso Inicial  | 15 | 1,723    | 0,2623 | P= 0,9752          | -0,798  | 0,804    |
| Peso Final    | 15 | 1,72     | 0,2623 | Prueba t<br>0,0314 | -0,193  | 0,199    |

## 8 DISCUSIÓN

Uno de los principales objetivos de la odontología moderna es la conservación del tejido dental y la intervención operatoria con el mínimo compromiso de su estructura. Sin embargo de forma cada vez más frecuente se acuden a los servicios clínicos, pacientes en especial jóvenes refiriendo consumo excesivo de sustancias ácidas acompañadas por cloruro de sodio, es decir sal común, hecho que resulta innegable pues desde los centros escolares primarios su consumo es difundido entre todos los menores, dando como consecuencia una evidente pérdida de la estructura dental, circunscrita en la mayoría de casos a esmalte manifestada por una lesión suave, lisa y brillante, mientras que a nivel gingival suele encontrarse esmalte sano (Lussi, et. al., 2006) (Fajardo & Mafla, 2011) (Sapp, Eversole, & Wysocki, 2008), lesión esta denominada de erosión dental.

La sustancia empleada en este estudio, fue el ácido cítrico, con un pH de 2, lo que garantiza que el pH se mantenga estable y no exista contaminantes o variaciones en los procesos que pudiera observarse si se utilizara el limón común. Muchos autores (Jensdottir, Nauntofte, Buchwald, & Bardow, 2007) (Solorzano, Davila, & Premoli, 2008) (López & Cerezo, 2008) (Dlaigan, Shaw, & Smith, 2001) refieren el empleo de estas sustancias justamente pensando que el control de los procesos puede ser ejecutado con total facilidad, refiriendo el éxito en cuanto a los objetivos por ellos trazados, de la misma manera se puede afirmar que el contacto de las estructuras dentarias con esta sustancia determina cambios en cuanto a pérdida de calcio dental (Moreno, Narvárez, & Bittner, 2011) (Cabrera & Kanashiro, 2004), situación que se observó en este estudio.

Sin embargo, con respecto al peso de los dientes tanto de forma individual como global, estos cambios no tuvieron una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), hecho que puede estar asociado a que únicamente se realizó el ensayo a través del contacto con la sustancia ácido-abrasiva y no simulando todo el

proceso que generalmente se observa ya en la realidad. Pues el consumo de limón con sal, se lo realiza desde la propia fruta, es decir que los dientes entran en contacto no solo con el jugo sino también con la cáscara de la fruta, en especial los dientes anteriores; lo que provoca un mecanismo de arrastre y no únicamente de contacto con el ácido cítrico y cloruro de sodio. Este contacto jugo-cáscara, influye aún más en la pérdida de sustancia adamantina, pues es importante resaltar que es en la cáscara de la fruta, donde mayor cantidad de ácido cítrico existe, más la consistencia de la sal, hace áspera esta combinación lo que provocaría a la ya afectada superficie del esmalte, un proceso abrasivo (Rakhmatulina, Beyeler, & Lussi, 2013) (Barrancos & Barrancos, 2006).

La valoración del peso como anteriormente fue referido, buscó establecer cambios tras los procesos químicos realizados. Sin embargo el cambio de masa en este estudio fue más evidente en los grupos que tuvieron el contacto con la sustancia ácida pero estadísticamente no existió diferencias entre ellos, aparentemente el solo contacto con ácido cítrico y cloruro de sodio, produce pérdida de calcio pero sería la interacción de otros factores (técnica de cepillado o hábitos bucales perjudiciales) lo que sumado a este consumo de sustancias desencadenaría una mayor pérdida de tejido dental (Ochoa, Dufo, & De León, 2008), como generalmente es observado en la clínica. Así entonces, puede decirse que la desmineralización dental no fue proporcional al desprendimiento de iones calcio, pero definitivamente es resultante de una pérdida de estructura, si la comparamos con el grupo control.

Otro punto interesante y que merece ser analizado es el hecho de que en este estudio se optó por ejecutar pruebas químicas, como la evaluación de pérdida de calcio con métodos de absorción atómica; a diferencia de estudios que refieren el uso de micro durómetro y/o microscopio electrónico de barrido (MEB), para determinar los cambios en la superficie que el ácido cítrico en unión con cloruro de sodio o sal común provoca en la estructura del esmalte dental. Sin embargo, la dificultad en cuanto a conseguir estos equipos y realizar

el análisis posterior, hizo que se considere un análisis químico como el que fue ejecutado, pues la literatura refiere que es evidente e innegable la similitud existente entre estos métodos (Di Prinzio, Camero, Garcia, & Camero, 2007) (Albaladejo, 2007).

Por otro lado, la evaluación de peso inicial y final de los dientes utilizados fue una opción complementaria de análisis que se considera válida y que en muchos estudios presentes en la literatura científica, se refiere como procedimiento idóneo en la evaluación del cambio que este tipo de sustancias provoca sobre la estructura dental (López, 2002) (López & Cerezo, 2008), aunque en el presente estudio esta diferencia no fue significativa.

Al respecto de la pérdida de calcio de la estructura del esmalte dental, se debe considerar, que éste tiene características únicas, con un gran predominio de componentes inorgánicos (Moreno, Narváez, & Bittner, 2011) (Fajardo & Mafla, 2011) que son los que principalmente se afectarían frente a este tipo de exposición.

El calcio es uno de los elementos claves en la composición química adamantina pero no es el único elemento presente (Jensdottir, Nauntofte, Buchwald, & Bardow, 2007) (Mount & Hume, 1999), aparentemente el contacto con el cloruro de sodio y ácido cítrico por los tiempos testados en este estudio no fue suficiente para destruir esta compleja formación inorgánica adamantina. Esta puede ser la explicación del por qué no existió una diferencia sustancial entre dos de los tres tiempos probados en que las piezas dentales permanecieron sumergidas en la solución ácida (40 y 60 minutos), sin embargo fue evidente y los resultados obtenidos lo confirman, la homogeneidad existente de pérdidas de calcio en las tres repeticiones, lo que garantiza que durante el ensayo no se introdujeron sesgos sistemáticos ni aleatorios, hecho de resalte en cualquier estudio *in vitro* controlado como el aquí referido.

Al comparar los tres grupos en conjunto puede apreciarse una evidente diferencia entre los grupos experimentales y el grupo control, considerando que en éste último, los dientes permanecieron inmersos por 60 minutos en agua destilada, la cual tiene un pH neutro, sin ningún contacto al ácido cítrico ni elemento abrasivo.

Matemáticamente hablando, puede evidenciarse que el grupo más agredido en cuanto a pérdida de iones de calcio fue el grupo 2, sometido a 40 minutos en solución de ácido cítrico con un pH 2, la literatura refiere (Moreno, Narvárez, & Bittner, 2011) (Di Prinzio, Camero, Garcia, & Camero, 2007) que el contacto de esmalte con pH menor a 5,5 provocará cambios innegables en este, traducidos por la pérdida de sustancias inorgánicas.

El mismo condicionamiento ácido empleado sobre la superficie dental con fines restauradores provoca una alteración en la superficie dental compatible con la erosión que las diferentes sustancias o bebidas ácidas o carbonatadas producen (López, 2002) (Garrett & Harley, 2013) (López & Cerezo, 2008) (Lissera, Luna, & Battellino, 2003) (Castaneda & De La Garza-Ramos, s.f.). En el proceso restaurador, el tiempo de contacto del diente con la sustancia ácida recomendada entre los 15 a 30 segundos (Cuniberti & Rossi, 2009) (Albaladejo, 2007), provoca una área desmineralizada que permita el posterior intrincamiento de los sistemas adhesivos dentro de su estructura, iniciando con estos el proceso producido por las resinas híbridas utilizadas en operatoria dental (Cuniberti & Rossi, 2009) (Albaladejo, 2007).

Cabe mencionar, que en este estudio no se utilizó el ácido fosfórico al 37 % que generalmente se emplea en este tipo de ensayos, que aunque tiene un pH bastante similar al ácido cítrico, difiere del poder de acción que tiene sobre la superficie adamantina, siendo este último menos agresivo (Cuniberti & Rossi, 2009), por lo que la pérdida de iones de calcio fue distinta en cada tiempo de exposición.

Según los resultados de este estudio, la pérdida de calcio no es proporcional al tiempo de inmersión en medio ácido de los dientes en los tiempos 2 y 3, lo que no permitiría aceptar la hipótesis de estudio como se la había planteado con relación al tiempo de exposición ya que de acuerdo al análisis estadístico, ésta no se cumplió a cabalidad, pero tampoco permitiría aceptar la hipótesis nula pues si hubo diferencia entre tres, de los cuatro grupos que fueron conformados para el estudio.

Siendo entonces, la erosión dental una condición patológica en la cual se disuelve la porción mineral de diente, en la actualidad se reconoce como una causa de pérdida de estructura dental principalmente del esmalte. Este problema se atribuye al aumento del consumo de productos procesados y de bebidas ácidas que contribuyen a que se incremente este problema de salud dental (Costa, et al., 2014).

Por lo tanto, se requieren ejecutar estudios complementarios para corroborar los resultados reportados en este estudio y ampliar en los temas de investigación otros procesos como el de la remineralización dental que no pudo ser evaluada en esta investigación, mientras que en un estudio *in vivo* se podrían observar cambios más evidentes que el demostrado en éste.

Al haber puesto de manifiesto que la pérdida de estructura del esmalte dental está relacionada a hábitos alimenticios como es la ingesta de ácidos en la dieta, produciendo una pérdida gradual de la estructura dental ocasionada por procesos electrolíticos o químicos (Fajardo & Mafla, 2011), se requiere iniciar campañas preventivas considerando que el consumo de ácido cítrico y cloruro de sodio es un hábito masivo en niños y adolescentes de nuestro medio donde el problema definitivamente se agudiza por la inmadurez con la que el diente recién erupcionado se presenta en boca (Bordoni, Escobar, & Castillo, 2010) (Madlena, 2013).

Finalmente el odontólogo no únicamente debe constituirse en el reparador de tejido perdido por diferentes circunstancias sino y sobre todo en un transmisor de conceptos preventivos que permitan mantener la integridad del diente desde su nacimiento hasta la muerte del individuo, así entonces, desde los gremios y academia deben lanzarse propuestas para el control de la erosión considerándola como un problema de salud pública.

## 9 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En las circunstancias que este estudio fue ejecutado, es factible concluir que:

- El análisis químico ejecutado permitió evidenciar una pérdida de iones de calcio de la estructura dental tras el contacto con el ácido cítrico a un pH 2.
- Los resultados estadísticos demostraron que la pérdida de calcio por la exposición de los dientes al cloruro de sodio y solución de ácido cítrico fue mayor que el grupo control pero no diferente significativamente en los tres tiempos evaluados.
- El pH 2 de una solución ácida probada provocó cambios en la masa de la estructura dental estadísticamente no diferentes entre los grupos experimentales.
- El ácido cítrico a un pH 2, causa patrones de pérdida mineral en la superficie del esmalte dental, comprobado por la pérdida de iones calcio mediante absorción atómica.
- El pH 2 de una solución ácida, tiene relación con la presencia de patrones de grabado ácido en la estructura dental, identificada de forma clínica en el esmalte dental.
- El agua destilada que tiene un pH neutro (pH7) en la cual se sumergieron los dientes del grupo control, no afecta el esmalte dental en cuanto a pérdida de iones de calcio

los resultados del estudio, la revisión de la literatura existente en este sentido y el análisis estadístico realizado se puede recomendar:

- Realizar estudios hasta el punto donde el ácido cítrico actúa en los dientes.
- Estudios complementarios tanto clínicos como epidemiológicos se requieren ejecutar para corroborar los resultados de este estudio y ampliar la evaluación de otros procesos que no se consideraron en esta investigación.
- Realizar un estudio en el que se evalúe la cantidad de calcio en el diente sano y después de la pérdida de calcio.
- Se requieren convenios interinstitucionales para mejorar y optimizar el acceso a laboratorios y equipos que contribuirían a elevar la calidad científica de los trabajos de investigación.
- Se requiere de equipos especiales para análisis químico e histológico como es el microscopio electrónico de barrido.
- Se requiere además, el apoyo de profesionales que apoyen la realización de estudios clínicos y epidemiológicos.

## 10 CRONOGRAMA

Tabla 9. Cronograma

| ACTIVIDAD                                    | AÑO 2013-2014 |      |       |         |       |       |      |       |       |        |
|--|---------------|------|-------|---------|-------|-------|------|-------|-------|--------|
|  | NOV.          | DIC. | ENERO | FEBRERO | MARZO | ABRIL | MAYO | JUNIO | JULIO | AGOSTO |
|  | SEMANAS       |      |       |         |       |       |      |       |       |        |
| Inscripción del tema de tesis                | ■             |      |       |         |       |       |      |       |       |        |
| Corrección del planteamiento y justificación |               | ■    | ■     |         |       |       |      |       |       |        |
| Corrección de marco teórico                  |               |      | ■     | ■       | ■     | ■     | ■    | ■     | ■     | ■      |
| Recolección de la Muestra                    |               |      |       |         |       | ■     | ■    | ■     | ■     | ■      |
| Tabulación y análisis de datos               |               |      |       |         |       |       |      |       | ■     | ■      |
| Elaboración de la discusión                  |               |      |       |         |       |       |      |       |       | ■      |
| Conclusiones y recomendaciones               |               |      |       |         |       |       |      |       |       | ■      |
| Entrega de tesis para correcciones           |               |      |       |         |       |       |      |       |       | ■      |
|  |               |      |       |         |       |       |      |       |       |        |

## 11 PRESUPUESTO

Para realizar el estudio se necesitó:

Tabla 10. Presupuesto

| PRESUPUESTO                          |             |
|--------------------------------------|-------------|
| DETALLE                              | COSTO TOTAL |
| Fotocopias y reproducción Documentos | 300         |
| Materiales e insumos de Odontología  | 200         |
| Servicios profesionales              | 1000        |
| Transporte y alimentación            | 100         |
| Otros                                | 100         |
| <b>TOTAL</b>                         | <b>1700</b> |

## REFERENCIAS

- Afonso, R., Pessan, J., Igreja, B., Cantagallo, C., Danelon, M., & Delbem, A. (2013). *In situ protocol for the determination of dose-response effect of low-fluoride dentifrices on enamel remineralization*. *SciELO*, 525-532.
- Albaladejo, A. (2007). *Metodo de preparacion del especimen para evaluar la micromorfologia de la interfase adhesiva resina-dentina con un microscopio electronico de barrido*. *Odontoestomatol*, XXIII (4), 197-206.
- Barrancos, J., & Barrancos, P. (2006). *Operatoria Dental: integracion clinica*. (4ta. Ed.). Buenos Aires, Argentina: Medica Panamericana.
- Bordoni, N., Escobar, A., & Castillo, R. (2010). *Odontologia Pediatrica: La salud bucal del nino y el adolescente en el mundo actual*. Buenos Aires, Argentina: Medica Panamericana.
- Botelho, J., Del Bel Cury, A., Silva, W., Andalo, L., & Cury, J. (2014). The effect of fluoride toothpaste on root dentine demineralization progression a pilot study. *Oral Health*, 1-5.
- Cabrera, A., & Kanashiro, C. (2004). *Efecto del pH del agua de piscina en esmalte de dientes deciduos humanos. Estudio con microscopia electronica de barrido*. *Estomatol Herediana*, 59-62.
- Castañeda, R. & De La Garza, M. (s.f.). *Efecto Erosivo por Bebidas Carbonatadas*. Oral Suplemento.
- Costa, Y., Gomes, F., de Farias, E., Mariz, F., Auad, S., de Paiva, S. (2014). Association between Dental Erosion and Diet in Brazilian Adolescents Aged from 15 to 19: A population-Based Study. *The Scientific World Journal*, 1-7.
- Cuniberti, N., & Rossi, G. (2009). *Lesiones Cervicales no Cariosas: La Lesion Dental del Futuro*. Gador, 1-8.
- Di Prinzio, A., Camero, S., Garcia, S., & Camero, M. (2007). *Efecto de las Sustancias Gaseosas y Efervescentes sobre el Esmalte Dental mediante Microscopia Electronica de Barrido*. *CIASEM*, XVI (1).
- Dlaigan, Y., Shaw, L., & Smith, A. (2001). *Dental erosion in a group of British 14-year-old, school children*. *British Dental Journal*, 145-149.
- Fajardo, M., & Mafla, A. (2011). *Diagnostico y Epidemiologia de Erosion Dental*. *Salud UIS*, 179-189.
- Fenoll, C., Munoz, J., Sanchiz, V., Herreros, B., Hernandez, V., Minguez, M. (2004). *Unstimulated Salivary Flow Rate, pH and Buffer Capacity of*

*Saliva in Healthy Volunteers.* Revista Espanola de Enfermedades Digestivas, 96 (11), 773-783.

Garrett, M., & Harley, K. (2013). *Dental erosion: an on going challenge faced by UK dentist.* Faculty Dental, IV.

Jefferies, S. (2014). *Advances in Remineralization for Early Carious Lesions: A Comprehensive Review.* AEGIS Publications, XXXV (4).

Jensdottir, T., Nauntofte, B., Buchwald, C., & Bardow, A. (2007). *Effects of Calcium on the Erosive Potential of Acidic Candies in Saliva.* 68-73.

Lissera, R.; Luna, E. & Battellino, L. (2003). *Relación entre la capacidad erosiva de jugos y bebidas y cambios en la permeabilidad del esmalte dentario humano.* Medicina Oral. Volumen V.

López, A. (2002). *Efecto erosivo valorado a traves de la microdureza superficial del esmalte dental, producido por tres bebidas industrializadas de alto consumo en la ciudad de Lima.* Estudio in vitro.

López, O., & Cerezo, M. (2008). *Potencial erosivo de las bebidas industriales sobre el esmlate dental.* Manizales.

Lussi, A., Hellwig, E., Zero, D., & Jaeggi, T. (2006). *Erosive tooth wear: Diagnosis, risk factors and prevention.* American Journal of Dentistry. XIX (6), 319-325.

Macpherson, P. (2013). *The role of saliva in oral health and disease.* MA Healthcare Ltd, IX (10), 568-573.

Madlena, M. (2013). *Experiences with amine fluoride containing products in the management of dental hard tissue lesions focusing on Hungarian studies: A review.* Acta Medica Academica, 189-197.

Miñana, V. (2010). *El Fluor y la Prevencion de la Caries en la Infancia.* Acta Pediatrica, 129-134.

Montender, M., Delgado, J., Martinez, I., Guzman, C., & Espejel, M. (2003). *Desmineralizacion-Remineralizacion del Esmalte Dental.* Asociacion Dental Mexicana, LIX (6), 220-222.

Moreno, X., Narváez, C., & Bittner, V. (2011). *Efecto In Vitro de las Bebidas Refrescantes sobre la Mineralizacion de la Superficie del Esmalte Dentario de Piezas Permanentes Extraidas.* Int. J. Odontostomat, 157-163.

Mount, G., & Hume, W. (1999). *Conservacion y Restauracion de la Estructura Dental.* (1ra. Ed.). Madrid, Espana: Harcourt Brace.

- Ochoa, L., Dufoo, S., & de León, C. (2008). *Principales repercusiones en la cavidad oral en pacientes con anorexia y bulimia*. *Odontologica Mexicana*, XII (1), 46-54.
- Rakhmatulina, E., Beyeler, B., & Lussi, A. (2013). *Inhibition of enamel erosion by stannous and fluoride containing rinsing solutions*. *Research and Science*, 192-198.
- Reyes, E., Martin, J., Yevenes, I., Neira, M., Palma, P., Gordan, V. (2012). *Actividad y Efecto de Ureasa y Arginina Deiminasa en Saliva y Biopelícula Oral Humana*. Facultad del Odontología Universidad de Antioquia, XXIII (2), 343-352.
- Sales-Peres, A., Marsicano, J., Garcia, R., Forim, M., Silva, M., & Sales-Peres, S. (2013). *Effect of natural gel product on bovine dentin erosion in vitro*. *Scielo*, 597-600.
- Sapp, P., Eversole, L., & Wysocki, G. (2008). *Patología Oral y Maxilofacial Contemporánea*. Madrid, España: Ediciones Harcourt España.
- Solorzano, E., Davila, L., & Premoli, G. (2008). *Estudio in vitro sobre los efectos de la cocaína sobre tejidos duros del diente*. *Revista Cubana de Estomatología*.
- Urrejola, A., & Ruiz, G. (2008). *Ayer y Hoy de las Patologías Dentales*. *Odontologica Granadina*, IX (2).

## **ANEXOS**

## ANEXO 1

### Diseño Completamente al Azar (DCA).

| <b><u>DISEÑO COMPLETAMENTE AL AZAR</u></b> |                     |                     |                     |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|
| <b>TRATAMIENTOS</b>                        | <b>REPETICIÓN 1</b> | <b>REPETICIÓN 2</b> | <b>REPETICIÓN 3</b> |
| TIEMPO 1                                   | 2                   | 4                   | 1                   |
| TIEMPO 2                                   | 1                   | 3                   | 4                   |
| TIEMPO 3                                   | 3                   | 2                   | 2                   |
| TIEMPO 4                                   | 4                   | 1                   | 3                   |

## ANEXO 2

### Espectrofotómetro de Absorción Atómica



## ANEXO 3

### Procedimiento con el Espectrofotómetro de Absorción Atómica



## **ANEXO 4**

### **Carta de Donación de los Dientes**

Mayo del 2014

Srta.

Daniela Castillo

Presente.-

Respondiendo a vuestra petición por la necesidad de elementos básicos para la tesis como son los dientes; con mucho agrado he querido donar 35 dientes extraídos de mis pacientes.

Espero colaborar con su interesante investigación.

Cordialmente,

Dr. Fabián Rosero

Periodoncista-Implantólogo

C.I. 171320291-7

## **ANEXO 5**

### **Carta de Donación de los Dientes**

Mayo del 2014

Srta.  
Daniela Castillo  
Presente.-

Respondiendo a tu petición y conociendo el interesante tema de investigación, con el mayor agrado colaboro con 35 dientes, extraídos por indicaciones terapéuticas.

Saludos cordiales,

Dr. David García  
Máster en Rehabilitación Oral y Especialista en Implantología  
C.I. 180255862-5