



**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**PROYECTO MACRO DE INVESTIGACIÓN**

**SEMINARIO DE GRADUACIÓN**

**Análisis molecular del esmalte dental primario por medio de espectroscopía Raman después de inmersión en una bebida carbonatada con y sin barniz de fluoruro**

**Director del seminario:** Dr. Adrián Gómez Fernández

**Profesor asociado:** Dra. Tatiana Vargas Koudriavtsev

**Sustentantes del Seminario de Graduación**

B21380      María José Campos Solís

B03788      Carolina Matamoros Villalobos

**Ciudad Universitaria Rodrigo Facio Brenes**  
**Costa Rica**

**Año 2017**

**PROGRAMA MACRO DE INVESTIGACIÓN**

**HOJA DE APROBACIÓN  
MEMORIA  
SEMINARIO DE GRADUACIÓN**

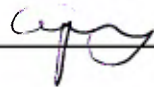
**Nombre del proyecto:**

Análisis molecular del esmalte dental primario por medio de espectroscopía Raman después de inmersión en una bebida carbonatada con y sin barniz de fluoruro

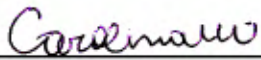
**Sustentantes:**

**Fecha:** Jueves 7 de diciembre 20

B21380      María José Campos Solís

  
\_\_\_\_\_

B03788      Carolina Matamoros Villalobos


  
\_\_\_\_\_

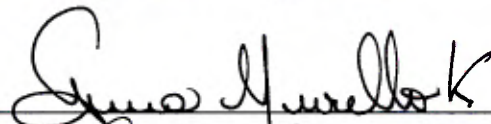
**Miembros del Tribunal**

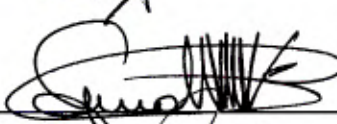
**Nombre:**

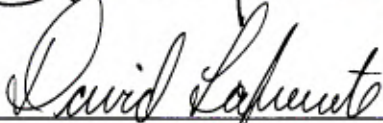
**Firma:**

  
\_\_\_\_\_

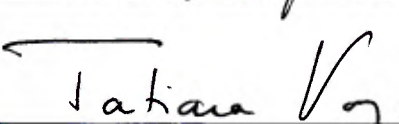
  
\_\_\_\_\_

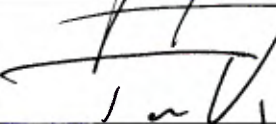
  
\_\_\_\_\_

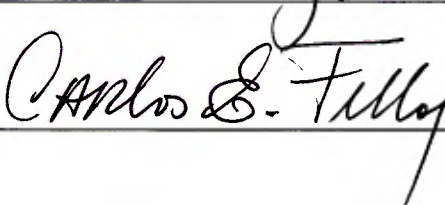
  
\_\_\_\_\_

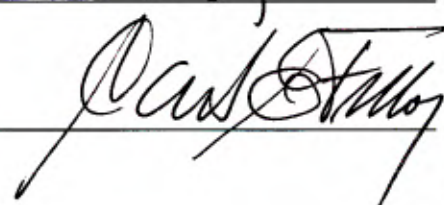
  
\_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

  
\_\_\_\_\_

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

Vicerrectoría de Investigación

Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información (SIBDI)

***Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de trabajos finales de graduación (TFG) en el acervo digital del Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información de la Universidad de Costa Rica (SIBDI-UCR).***

Los abajo firmantes, en su condición de autores del Trabajo Final de Graduación: ***Análisis molecular del esmalte dental primario por medio de espectroscopía Raman después de inmersión en una bebida carbonatada con y sin barniz de flúor.***

AUTORIZAMOS de forma gratuita al SIBDI-UCR, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital del SIBDI-UCR y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser empleado según lo que el SIBDI defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. Los autores del TFG garantizan al SIBDI-UCR que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su título y que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Lic., Licda.

---

# cédula: \_\_\_\_\_

Domicilio:

---

---

Firma \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Lic., Licda.

---

# cédula: \_\_\_\_\_

Domicilio:

---

---

Firma \_\_\_\_\_ Fecha:

---

Para uso interno. Número de tesis: \_\_\_\_\_

## **Dedicatoria**

Queremos dedicar este trabajo a nuestros padres y familiares, quienes han estado siempre presentes para apoyarnos y comprendernos a lo largo de nuestros estudios; sin ellos no habiéramos logrado alcanzar nuestras metas.

A nuestros queridos profesores, quienes han sido nuestros tutores durante toda la carrera, formándonos como profesionales en odontología y aportando a nuestro crecimiento personal.

Carolina y María José.

## **Agradecimientos**

Primeramente agradecemos al doctor Adrián Gómez, investigador principal y profesor en la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica, por su esmero, paciencia y cariño dado a lo largo de este proyecto.

Asimismo a la doctora Tatiana Vargas, quien nos ayudó y guió durante el análisis de los resultados, ya que sin ella este proyecto no hubiera sido posible, gracias por la dedicación y entrega.



## COMUNICACION COMPLETA

### NUESTROS SERVICIOS

Análisis de contenido, corrección de estilo, revisión crítica discursiva, textos políticos, publicitarios, gráficos, académicos y otros, diseño gráfico; asesoría periodística y manejo de redes sociales.

### DIRECCIÓN

San Francisco de Dos Ríos,  
San José, Costa Rica.

### TELÉFONOS

(506) 2226-2213  
(506) 8828-3285

### CORREOS

nerozco@gmail.com  
719-2390, San José, Costa Rica.

San José, 13 de noviembre de 2017

**Señores**  
**Escuela de Odontología**  
**Universidad de Costa Rica**  
**S.O.**

**Estimados Señores:**

Sirva la presente para hacer constar que he revisado y corregido el proyecto macro de investigación, correspondiente al Seminario de graduación titulado: **Análisis molecular del esmalte dental primario por medio de espectroscopía Raman después de inmersión en una bebida carbonatada con y sin barniz de fluoruro**, de las estudiantes **María José Campos Solís**, cédula 2-0727-0742 y **Carolina de los Ángeles de Matamoros Villalobos**, cédula 1-1514-0456 para optar por el grado de Licenciatura en Odontología.

Las correcciones realizadas se concentran en temas de redacción, puntuación, formato, cohesión y coherencia y otros aspectos importantes para una adecuada comprensión del texto. De manera que este documento cumple con los requisitos establecidos por la Universidad de Costa Rica para ser presentado como Trabajo final de graduación.

Se suscribe cordialmente,

Marianela Orozco Orozco  
Filóloga  
Cód. 281

## Índice general

Análisis molecular del esmalte dental primario por medio de espectroscopía Raman después de inmersión en una bebida carbonatada con y sin barniz de fluoruro .....	i
Justificación .....	10
Planteamiento del problema .....	11
Marco teórico .....	12
1. Caries dental .....	13
2. Lesiones no cariosas en el esmalte .....	14
3. Agentes remineralizantes.....	17
4. Fluoruro como agente remineralizante.....	17
5. <i>CLINPRO™ WHITE VARNISH</i> barniz de fluoruro con tricalcio fosfato ...	18
6. Espectroscopía Raman .....	19
Objetivo general .....	20
Objetivos específicos .....	20
Metodología .....	21
Discusión .....	29
Conclusiones .....	31
Bibliografía .....	32

## Índice de figuras

<b>Figuras</b>	<b>Página</b>
1. Piezas dentales seleccionadas	22
2. Proceso de marcado de piezas dentales	22
3. Corte de la corona de las piezas dentales.	22
A. SiscoBesQual de 22mm.	
B. Primer corte de la pieza dental para dividir la corona	
C. Muestra con el corte en la corona	
D. Segundo corte para separar la muestra en dos especímenes	
4. Ejemplo de una de las muestras cortadas	23
A. Colocación del Barniz de flúor	23
B. Especimen colocado en Coca Cola	
5. Gráfico 1. Espectros representativos de una zona sana de esmalte primario sin tratamiento de barniz antes y después de la inmersión en bebidas carbonatadas	25
6. Gráfico 2. Espectros representativos obtenidos de una zona sana de esmalte primario (lec. 1) y una zona de esmalte con tratamiento de flúor (lec. 2) posterior a la inmersión en bebidas carbonatadas.	26
7. Gráfico 3. Cambio de la intensidad de fosfato antes y después de inmersión en una bebida carbonatada en muestras con y sin agente remineralizante.	27



## Índice de tablas

<b>Tabla</b>	<b>Página</b>
1. Estadísticas descriptivas de las muestras con y sin tratamiento de barniz.	28
2. Contrastes multivariados	28
3. Pruebas de los efectos intersujetos	29

## Resumen

**Introducción:** La erosión dental es una pérdida irreversible de tejido duro del diente, por acción de un ácido, debido a un proceso químico en el que no se involucran microorganismos. Las bebidas carbonatadas causan diversos daños en los dientes, debido principalmente a que contienen carbohidratos y un bajo pH, lo que conlleva entre otras cosas al desarrollo de caries y a erosión dental. **Objetivo:** Estudiar el efecto de una bebida carbonatada en el fosfato  $\nu_1$  presente en el esmalte dental primario, por medio de la Espectroscopia Raman en dientes con y sin aplicación de barniz de flúor. **Metodología:** Se tomaron diez caninos primarios previamente extraídos. Las muestras se dividieron de manera aleatoria en dos grupos experimentales, las cuales fueron cortadas y separadas de la corona. Se dividió cada muestra en dos especímenes, de los cuales la primera mitad de cada muestra fue colocada en una bebida carbonatada por 30 minutos. La segunda mitad fue tratada con barniz de fluoruro *White Varnish de 3M*, y fue almacenada por 12 horas. Seguidamente fue sumergida por 30 minutos en una bebida carbonatada. A cada muestra se le toman dos mediciones por medio de la espectroscopía Raman, la primera (control) previo a colocar los dientes en Coca Cola. La segunda medición de las muestras se hizo luego de haber sumergido a cada espécimen en Coca Cola. **Resultados:** Se obtuvieron gráficos de cada una de las muestras, en los que se observan los diferentes picos correspondientes a:  $960\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a fosfato  $\nu_1$ , siendo uno de los picos con mayor intensidad. Se ve una diferencia entre el fosfato  $\nu_1$  de la muestra de esmalte sano y la zona de esmalte con tratamiento de flúor posterior a la inmersión en bebidas carbonatadas, observándose una disminución en el pico luego de la inmersión en bebidas carbonatadas con la aplicación de un agente remineralizante. Se observa que las muestras sin barniz pre inmersión en una bebida carbonatada poseen un nivel de fosfato  $\nu_1$  mayor que las muestras sin barniz post inmersión en dicha bebida. Las muestras con barniz pre inmersión en una bebida carbonatada poseen un nivel de fosfato  $\nu_1$  mayor que las muestras con barniz post inmersión en una bebida carbonatadas. **Conclusiones:** Se concluye que después de utilizar una

bebida carbonatada sobre el esmalte primario existe un cambio en el fosfato v1. Tanto en las muestras en las que se utilizó barniz con flúor como en las que no se utilizó después de la inmersión en una bebida carbonatada, se evidenció un cambio, aunque no suficientemente significativo como para concluir que en un grupo se reduce más que en otro, ya que las diferencias no fueron importantes.

## **Justificación**

La salud bucodental en niños y adolescentes es influenciada por varios factores, siendo uno de los principales el tipo de dieta, pues en esta etapa de la vida esta población se encuentra en desarrollo y la alimentación resulta crucial para su crecimiento. Lamentablemente en la actualidad, comúnmente las bebidas y alimentos que son más económicos y fáciles de consumir son aquellos que poseen un alto valor cariogénico<sup>1</sup>.

En Costa Rica, la alimentación se ha visto influenciada en los últimos años por el fenómeno de la globalización. La dieta de los costarricenses ha cambiado radicalmente, debido a mayor variedad de productos extranjeros que se encuentran disponibles en los supermercados y restaurantes. Entre ellos se encuentran las bebidas carbonatas, las cuales gozan de una alta demanda en nuestra país y son consumidas por personas de todas las edades. Los niños y adolescentes consumen cada vez más y más bebidas carbonatadas, entre ellas gaseosas y bebidas energéticas, lo que daña severamente su salud bucodental. Las bebidas carbonatadas contienen carbohidratos y un bajo pH, lo que contribuye a al desarrollo de caries y erosión dental<sup>2</sup>, lo cual causa diversos daños en los dientes.

En la actualidad, la odontología da prioridad a la conservación de las piezas dentales, tanto primarias como permanentes, de tal manera que se preserve la mayor cantidad de estructura dental. Según los investigadores, el concepto de odontología mínimamente invasiva conlleva una serie de premisas, dentro de las que destaca el uso de materiales y equipo que permitan realizar tratamientos de

mínima intervención<sup>3</sup>. Desde la aparición de los agentes remineralizantes como materiales para la odontología de intervención sin invasión, con el paso de los años se han ido creando diferentes técnicas y materiales para realizar procedimientos con mejores resultados para las personas a las que se les aplica.

Los agentes remineralizantes son de gran ayuda para prevenir la aparición clínica o el avance de diversas lesiones en el esmalte dental, siendo muy utilizados en la práctica odontológica.

### **Planteamiento del problema**

Debido a la problemática bucodental que pueden provocar las bebidas carbonatadas, es preciso investigar los efectos de éstas en el esmalte dental primario, así como determinar si los productos disponibles actualmente ayudan a disminuir la incidencia de caries y erosión dental.

El presente estudio se enfoca en observar el efecto que tiene la bebida carbonatada en el esmalte de dientes primarios (previamente extraídos) y la efectividad de un agente remineralizante aplicado en estos dientes. Esto debido al alto consumo de bebidas carbonatadas que existe en Costa Rica, principalmente en niños y adolescentes, y al severo daño que sufren los dientes primarios debido a la composición de estas bebidas.

Es por esto que resulta relevante demostrar si existe una acción protectora por parte de los agentes remineralizantes sobre dientes primarios que entran en contacto con bebidas carbonatadas.

## Marco teórico

El esmalte dental es una biocerámica no compuesta, de origen epitelial, que protege al diente de agresiones químicas y físicas<sup>4</sup>. Está compuesto en un 92-96% de materia inorgánica o fase mineral y un 4% de material orgánico. La fase mineral consiste principalmente en fosfato cálcico en forma de cristales de hidroxiapatita, carbonatados o fluorados<sup>5</sup>, además presenta un 1% de proteínas remanentes del desarrollo. El componente orgánico le brinda al esmalte, con respecto a la hidroxiapatita ideal, propiedades como mayor módulo elástico y dureza que lo hacen más resistente a la fractura y al desgaste<sup>4</sup>.

La formación de esta estructura dental se da por eventos celulares – denominados en conjunto amelogénesis– y eventos bioquímicos, que reciben el nombre de biomineralización. Los ameloblastos, células especializadas en la formación del esmalte, delimitan el espacio biológico para su formación y transportan iones, calcio y fosfato como materia prima para la precipitación de cristales<sup>4</sup>.

El esmalte no presenta células ni vasculatura, por lo tanto, es incapaz de remodelarse o repararse. Los cristales de hidroxiapatita están apilados a lo largo de un eje longitudinal (eje C) y agrupados en haces de hasta mil cristales para formar los prismas del esmalte, entre los cuales hay un espacio interprismático con gran cantidad de agua y de iones que fluyen constantemente<sup>4</sup>.

El área entre los prismas es proteínica, y se denomina esmalte interprismático. En la capa de esmalte sin prisma, los cristales de hidroxiapatita están dispuestos paralelos entre sí y perpendiculares a la superficie del esmalte<sup>5</sup>.

El crecimiento promedio de la corona del diente primario es de 6 a 14 meses, mientras que el crecimiento promedio de los dientes permanentes es de 3 a 4 años. Por lo tanto, los dientes primarios presentan menor espesor de esmalte que sus dientes sucesores<sup>5</sup>.

Los estudios han descrito la presencia de una capa de esmalte sin prisma que es más gruesa y uniforme en los dientes primarios en comparación con los dientes permanentes. La delgadez del esmalte de los dientes primarios y su menor nivel de mineralización (80.6% en esmalte de dientes primarios y 89.7% en

esmalte de dientes permanentes) son las principales diferencias entre el esmalte de los dientes primarios en comparación con los dientes permanentes<sup>4</sup>.

Dado que los aspectos químicos, morfológicos y fisiológicos varían entre los dientes permanentes y los dientes primarios, el comportamiento de los dientes primarios parece ser diferente bajo ciertas condiciones, como la caries, el proceso de erosión y la fuerza de adhesión<sup>5</sup>.

El esmalte dental es el tejido más duro del cuerpo humano, este se encarga de proteger la dentina y pulpa de las fuerzas de masticación<sup>6</sup> y otros factores externos; sin embargo puede ser destruido o dañado irreversiblemente a pesar de sus muchos factores de resistencia. El ácido es uno de los factores que puede destruir el esmalte y puede ser provenir directamente de la comida o bacterias<sup>7</sup>.

## **1. Caries dental**

La caries dental es un proceso que puede tener lugar en cualquier superficie del diente donde se permita que el biofilme dental se desarrolle durante un período de tiempo<sup>8</sup>.

El biofilme dental no es una colección casual de bacterias sino una comunidad de microorganismos unidos a una superficie. Esta comunidad trabaja en conjunto, ya que posee una fisiología colectiva. Algunas de las bacterias son capaces de fermentar un sustrato de carbohidrato para producir ácido, haciendo que el pH del biofilme disminuya<sup>8</sup>.

Las caídas repetidas en el pH pueden dar lugar a la desmineralización de la superficie del diente. Sin embargo, el ácido producido es neutralizado por la saliva, por lo que el pH aumenta y la estructura dental puede ser remineralizada. La acumulación de los resultados de los procesos de desmineralización y remineralización pueden resultar en una pérdida neta de minerales, que produce entonces una lesión cariosa. Alternativamente, los cambios pueden ser tan leves que la lesión cariosa nunca se hace evidente<sup>8</sup>.

La formación del biofilme y su actividad metabólica no pueden evitarse,

pero la progresión de la enfermedad puede ser controlada de tal forma que una lesión clínicamente visible nunca se transforme en una cavidad franca. El proceso puede detenerse e incluso las lesiones cariosas avanzadas en el esmalte pueden tornarse inactivas. Por otra parte, la progresión de la lesión en la dentina puede resultar en invasión bacteriana, muerte de la pulpa y propagación de la infección en los tejidos periapicales y dolor<sup>8</sup>.

## **2. Lesiones no cariosas en el esmalte**

Una lesión no cariosa es un desgaste dental no carioso, que puede variar en tamaño, forma, simetría y ubicación. Puede causar dolor y tener implicaciones estéticas. Usualmente la región bucocervical es la más vulnerable y los tejidos afectados incluyen esmalte, dentina o cemento. Se han descrito cuatro grupos de lesiones no cariosas en el esmalte<sup>9</sup>: abfracción, abrasión, atrición y erosión.

### *Abfracción*

El término se refiere a una lesión cervical en forma de cuña, resultante de la flexión de los dientes causada por la carga oclusal. Su principal etiología es el estrés de tracción de origen oclusal. Sin embargo, aunque hay suficiente evidencia científica, esto se mantiene en controversia. Las fuerzas oclusales laterales se generan durante la masticación y parafunción, y la flexión de los dientes ocurre en el fulcro cervical. Esta flexión concentra estrés de tracción, que rompen las uniones químicas de la estructura cristalina de esmalte y dentina. Luego, pequeñas moléculas entran en las microfracturas y previenen la reformación de estas uniones químicas, dando como resultado la lesión en esmalte<sup>10</sup>.

### *Abrasión*

Es la pérdida de estructura dental debido al repetido contacto mecánico con objetos que no sean los dientes. Se considera que es patológico: cualquier objeto colocado contra los dientes puede causar abrasión<sup>10</sup>.

### *Atrición*

Es la pérdida de estructura dental debido al contacto diente contra diente. El desgaste de la atrición se puede observar en la cara oclusal de los dientes posteriores, el borde incisal de los anteriores, la superficie palatina de los dientes maxilares anteriores y la superficie labial de los de los dientes mandibulares anteriores. Las superficies afectadas, por lo general, están duras, lisas y brillantes, aunque algunos dientes pueden estar filosos e irregulares<sup>10,11</sup>.

Las áreas de la atrición pueden presentar una decoloración amarillenta-café si el desgaste ha penetrado el esmalte. El desgaste también puede ocurrir interproximalmente, causando mesialización y separación entre dientes. Las causas son diversas, siendo algunas de estas el bruxismo, la dieta, la maloclusión y las partículas abrasivas<sup>10</sup>.

### *Erosión*

Es una pérdida irreversible de tejido duro del diente por acción de un ácido, debido a un proceso químico en el que no se involucran microorganismos<sup>2</sup>. Los ácidos generalmente son de origen extrínseco cuando derivan de la dieta, la medicación y de otras fuentes. También puede ser causada por factores intrínsecos, cuando provienen del ácido gástrico que contacta la superficie del esmalte; esto puede ocurrir por el vómito, regurgitación o reflujo ácido<sup>11</sup>. La forma en la que se pierde la superficie dental es un proceso diferente al efecto que causan las bacterias que producen ácido<sup>12</sup>.



En la etapa inicial de la erosión ocurre un reblandecimiento de la superficie del diente; la estructura del diente gradualmente se disolverá capa por capa, dando así una pérdida progresiva del tejido. Aunque la pérdida del tejido no se regenera, el proceso de la pérdida de estructura tiene un gran significado clínico<sup>11</sup>.

La erosión dental tiene una alta prevalencia, especialmente entre niños. Un reciente estudio realizado en el Reino Unido en niños de 12-14 años, muestra que la erosión afecta al 56.3% de los niños de 12 años de edad, y al 64.1% de los niños de 14 años de edad<sup>13</sup>.

Factores como el flujo salival y la capacidad buffer de la saliva juegan un rol importante en la formación de las lesiones de erosión<sup>2</sup>. Aquellos pacientes con xerostomía están propensos a la erosión dental, ya que no tienen la capacidad buffer para bebidas ácidas por falta de saliva, por lo que la remineralización no se da. La disminución del flujo salival puede ocurrir en la anorexia nerviosa, síndrome de Sjogren, y otras<sup>13</sup> afecciones; además es un efecto secundario de muchas drogas.

Varios estudios demuestran una relación entre la frecuencia de ingesta de gaseosas y otras bebidas con un bajo pH y un potencial incremento en la formación de lesiones de erosión dental. Las bebidas gaseosas carbonatas, y otras bebidas no-carbonatadas, tienen un pH bajo, contienen carbohidratos refinados (azúcares) y otros aditivos que pueden someter al esmalte dental a la disolución ácida, formación de caries y erosión. El contenido de ácido total y el tipo de ácido (fosfórico, cítrico, etc.) son los factores primarios que contribuyen a la destrucción del esmalte<sup>2</sup>.

La erosión dental y la formación de caries pueden causar grandes daños al esmalte dental, particularmente en adolescentes que ingieren altas cantidades de gaseosas y otras bebidas azucaradas con bajo pH<sup>2</sup>.

### **3. Agentes remineralizantes**

Un agente remineralizante se puede definir como una sustancia capaz de promover la remineralización del tejido dental<sup>4</sup>.

La saliva es el agente remineralizante natural por excelencia, dado su contenido de ión fosfato ( $\text{PO}_4^{-3}$ ). Bajo condiciones fisiológicas, logra de manera eficiente mantener el equilibrio entre la sustancia dental y la biopelícula; en condiciones adversas, busca revertir el proceso de desmineralización<sup>4</sup>; es decir, cuando el pH tiende a disminuir debido a la deficiente remoción de la biopelícula o a la ingesta de azúcares.

Después de un ataque ácido, el fluido salival amortigua los iones hidrógenos ( $\text{H}^+$ ) producidos por las bacterias. Cuando el pH es superior a 5,5, de manera natural se presenta la remineralización, ya que con respecto al mineral dental<sup>4</sup> la saliva está sobresaturada de iones calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ), fluoruro ( $\text{F}^-$ ) y  $\text{PO}_4^{-3}$ .

Los agentes remineralizantes se indican en aquellas lesiones menos graves que tienen mayor potencial de remineralización. Dentro de estas se encuentran las opacidades visibles después de secar y aquellas lesiones subclínicas, que pueden detectarse con métodos diagnósticos de mayor sensibilidad —luz de fluorescencia cuantitativa (QLF), fibra óptica de transiluminación (FOTI), etc.— o cuando se sospecha su presencia en pacientes considerados de alto riesgo de caries<sup>4</sup>.

### **4. Fluoruro como agente remineralizante**

El fluoruro ha sido conocido por muchos años gracias a su efectividad en la protección del esmalte dental contra las caries, ya que reduce de la disolución del esmalte y promueve la remineralización<sup>14</sup>.

Las revisiones recientes han arrojado que el mecanismo de acción del fluoruro para la protección y reparación del esmalte se debe posiblemente a que reduce la solubilidad ácida tanto del esmalte como de la dentina. Se demostró que el fluoruro induce la formación de fluorapatita (FA) o hidroxiapatita fluorada,

mediante la reacción directa con la hidroxiapatita o promoviendo la transformación de otras fases del fosfato de calcio. La formación de FA o FHA reduce la solubilidad de la hidroxiapatita<sup>14</sup>.

Los barnices de fluoruro (fluoruro de sodio al 5%) han sido usados para prevenir la caries dental en la dentición primaria y permanente,. Algunas ventajas asociadas a los barnices con fluoruro son: liberación sostenida por hasta seis meses, puede ser fácilmente aplicado en el diente, menos ingesta de fluoruro, se aplica como semi-liquido en una base de resina para aumentar adherencia al esmalte<sup>2</sup>.

## **5. *CLINPRO™ WHITE VARNISH* barniz de fluoruro con tricalcio fosfato**

El barniz *Clinpro™ White Varnish* posee el tri-calcio fosfato (TCP), una forma única de fosfato de calcio que libera calcio y fosfato, que ayuda con el proceso de formación de la flúorhidroxiapatita.

El TCP, a diferencia de otros aditivos de calcio, puede coexistir con el - fluoruro gracias a que está protegido con ácido fumárico, que se activa en el momento de entrar en contacto con la saliva; esto lo hace capaz de liberar el calcio y el fosfato en la superficie del diente. Como consecuencia de lo anterior, se deposita en el diente un mineral de alta calidad y más resistente al desafío ácido. También contribuye con la reducción de la sensibilidad dental y con ello se fortalece el proceso de mineralización.

Una vez aplicado, *Clinpro™ White Varnish* fluye a lo largo de las superficies dentarias y entra en contacto con la saliva, liberando fluoruro y calcio de manera dirigida y sostenida.

*Clinpro™ White Varnish* al ser activado por la saliva, fluye muy bien en toda la superficie dentinal, alcanzando superficies difíciles de acceder. Entre sus bondades pueden citarse: no se necesita secar la superficie del diente para su

aplicación; libera iones flúor hasta por 24 horas; tiene sabor a menta y está endulzada con xylitol.

El barniz *Clinpro™ White Varnish* viene en formato de dosis individuales, eliminando la posibilidad de contaminación cruzada. Es posible encontrarlo en paquete de 100 o de 50 dosis con 0.5 ml de fluoruro. Los paquetes incluyen los pinceles para la aplicación dentro de la envoltura de aluminio.

## 6. Espectroscopía Raman

La técnica de espectroscopía Raman permite obtener el espectro vibracional de minerales, analizando la luz dispersada, causada por la excitación de un láser monocromático (invisible o casi invisible) <sup>15</sup>.

En los sistemas de Raman, las muestras se posicionan debajo de un microscopio óptico y los especímenes pueden ser escaneados con resolución lateral<sup>15</sup>.

La espectroscopía Raman es una herramienta muy útil para analizar la composición química de materiales sintéticos y biológicos y tiene el potencial de proporcionar información sobre los cambios bioquímicos de bajo nivel en el tejido<sup>23</sup>. La técnica se ha utilizado comúnmente en los últimos años como resultado del desarrollo de láseres y detectores de dispositivos de carga acoplada (CCD), los cuales aumentan la velocidad para obtener los espectros. Esta herramienta se ha utilizado en el campo de la medicina para estudiar tejidos duros, ADN y glóbulos blancos *in vitro*<sup>16,17,18,19</sup>. Más recientemente, la MRS también se ha utilizado *in vivo* para estudiar lesiones pre malignas en placas de mama y ateroscleróticas <sup>20, 21</sup>.

Otra de sus ventajas se encuentra en que la muestra ocupa una preparación mínima, además de ser un método no invasivo, de ahí que ha sido introducida en la biofísica para obtener información de la estructura molecular en estudios *in vivo* e *in vitro*. La resolución de amplio espectro con la microscopía

Raman es una herramienta excelente para analizar el esmalte humano en el nivel micrométrico<sup>22</sup>.

El análisis Raman es comúnmente comparado con la espectroscopía de absorción infrarroja (IR). Mientras que la técnica de IR mide la absorción de la luz por moléculas específicas, usando una fuente de luz broadband, la técnica Raman mide la característica emisión Raman inducida por moléculas bajo una irradiación de láser monocromático<sup>15</sup>. El método posee varias ventajas sobre la radiación infrarroja como el fácil análisis de espectro/banda y la respuesta lineal a las concentraciones de minerales/químicos<sup>15,23</sup>.

También se ha utilizado en odontología para estudiar minerales sintéticos<sup>24</sup>, la formación de fluoruro de calcio en el esmalte<sup>18</sup>; las características Raman orientativas del esmalte, es decir, la dirección en la que los cristales de hidroxiapatita se encuentran en el esmalte superficial<sup>21</sup>; la identificación de fases minerales en el cálculo dental<sup>25</sup> y la interface resina-dentina en los dientes restaurados<sup>26, 27</sup>.

### **Objetivo general**

Estudiar el efecto de una bebida carbonatada en el fosfato  $\nu_1$  presente en el esmalte dental primario en dientes con y sin aplicación de barniz de fluoruro por medio de la espectroscopia Raman.

### **Objetivos específicos**

- Analizar la concentración de fosfato  $\nu_1$  en el esmalte dental primario previo a sumergir las muestras en una bebida carbonatada.
- Determinar la variación en los valores del fosfato  $\nu_1$  en el esmalte dental primario posterior a 30 minutos de sumersión en una bebida carbonatada.

- Conocer la variación en los valores del fosfato  $v_1$  en el esmalte dental primario previamente tratado con un barniz de fluoruro y posterior a 30 minutos de sumersión en una bebida carbonatada.

## **Metodología**

### **A. Selección y preparación de piezas dentales**

Se tomaron diez caninos primarios extraídos en la Clínica de Odontopediatría y Ortodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de Costa Rica, clínicas privadas y otras entidades. Luego de la extracción se limpiaron y se colocaron en un equipo ultrasónico para eliminar tejido remanente y pigmentaciones extrínsecas. Las piezas dentales se mantuvieron en agua destilada a temperatura ambiente para evitar su deshidratación.

Criterios de inclusión de las piezas dentales:

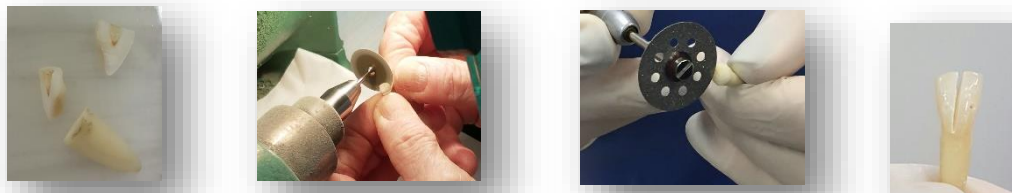
- Caninos primarios superiores o inferiores.
- Todas las superficies de la corona libres de caries dental.
- Con al menos 2/3 de raíz.
- 

Las piezas se dividieron de manera aleatoria en dos grupos experimentales (Fig. 1). Cada pieza dental se marcó para su identificación, con una pieza de alta velocidad y una broca de punta fina en la superficie vestibular, específicamente en la superficie mesial y distal (Fig. 2). Esto con el fin de poder distinguir la zona que iba ser leída en el espectrómetro Raman. Seguidamente se cortó la corona en la zona medial hasta dos milímetros más abajo del esmalte con un disco BesQual de 22 mm (Fig. 3), para luego hacer un corte transversal y separar las dos porciones de la corona; de esta forma se obtuvieron 20 especímenes (Fig. 4).

**Figura. 1.** Piezas dentales seleccionadas



**Figura. 2.** Marcado de piezas dentales.

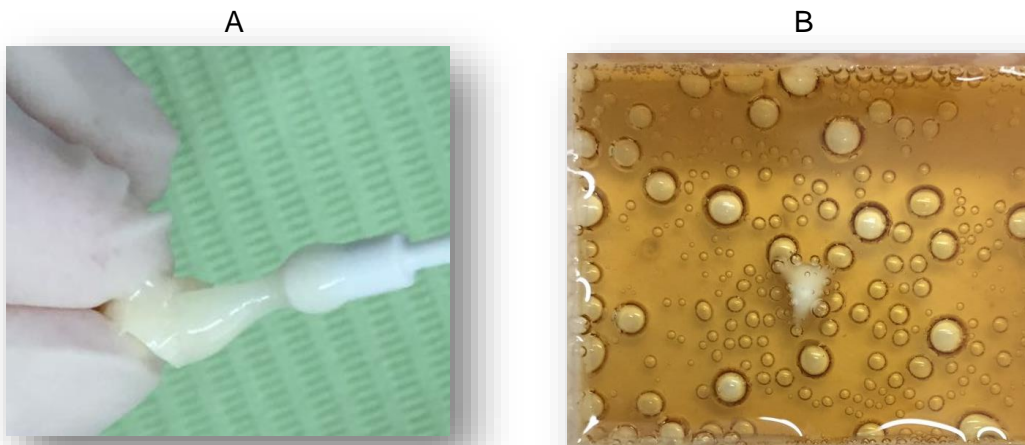


**Figura. 3.** Corte de la corona de las piezas dentales. A. SiscoBesQual de 22mm. B. Primer corte de la pieza dental para dividir la corona. C. Muestra con el corte en la corona. D. Segundo corte para separar la muestra en dos especímenes.



**Figura. 4.** Ejemplo de una de las muestras cortadas

Se dividió cada muestra en dos especímenes, de los cuales la primera mitad de cada muestra fue colocada en una bebida carbonatada (Coca Cola®) por 30 minutos. La segunda mitad fue tratada con barniz de fluoruro marca *White Varnish de 3M*; fueron almacenadas a una temperatura de 37 grados centígrados por 12 horas y luego fueron sumergidas por 30 minutos en una bebida carbonatada (Fig. 5).A



**Figura. 5**

A. Colocación del Barniz de flúor

B. Especimen colocado en Coca Cola

## **B. Mediciones con espectroscopía Raman**

Todas las mediciones se realizan a un tiempo de integración de 0,5 segundos a 100mW de potencia, con 50 acumulaciones y a una magnificación de lente de 50x; además, se asegura que los especímenes se encuentren totalmente secos en cada medición, para así evitar cualquier fluorescencia provocada por alguna película de agua en la superficie dental.



A cada muestra se le toman dos mediciones: la primera (control) previo a sumergirlas en la bebida carbonatada. La segunda medición se efectúa luego de haber sumergido a cada espécimen en Coca Cola®. Cada una de las mediciones se almacena como un archivo .spc, para su posterior análisis.

### **C. Procesamiento de datos**

Los datos obtenidos del espectrómetro Raman se visualizan en una computadora, luego fueron transformados del formato .txt al formato.xls, para entonces importarlos al programa PeakFit, para graficar el espectro Raman, lo cual proporciona información sobre su amplitud (intensidad), área, centro y datos de anchura para cada pico. Una vez obtenidos los datos y los gráficos pertinentes, se tabulan en un cuadro resumen según un formato .xls, para luego realizar la estadística de los datos.

### **D. Análisis estadístico**

Las mediciones obtenidas para el área bajo la banda de fosfato  $\nu_1$  se analizaron utilizando el programa informático InStat (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EE.UU.). Se realizó un análisis multivariante de la varianza (MANOVA).

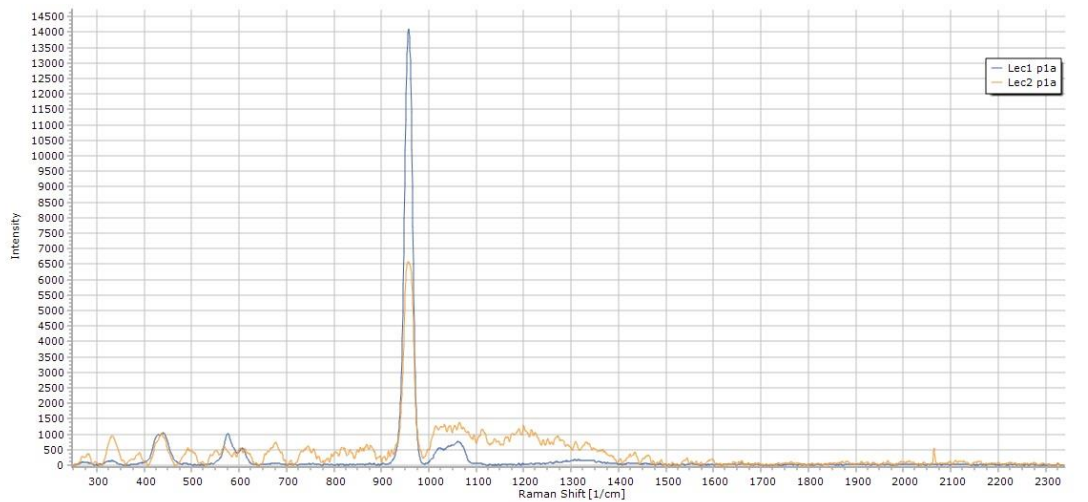
### **E. Resultados**

Se obtuvieron gráficos de cada una de las muestras analizadas bajo espectroscopía Raman, en los cuales se observan los diferentes picos, acordes a:  $960\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a fosfato  $\nu_1$ , siendo uno de los picos con mayor intensidad.

En el Gráfico 1 se observa la lectura del fosfato  $\nu_1$  de la muestra sin tratamiento de barniz antes de la inmersión en bebidas carbonatadas (línea azul) y la lectura del fosfato  $\nu_1$  posterior a la inmersión en bebidas carbonatadas (línea

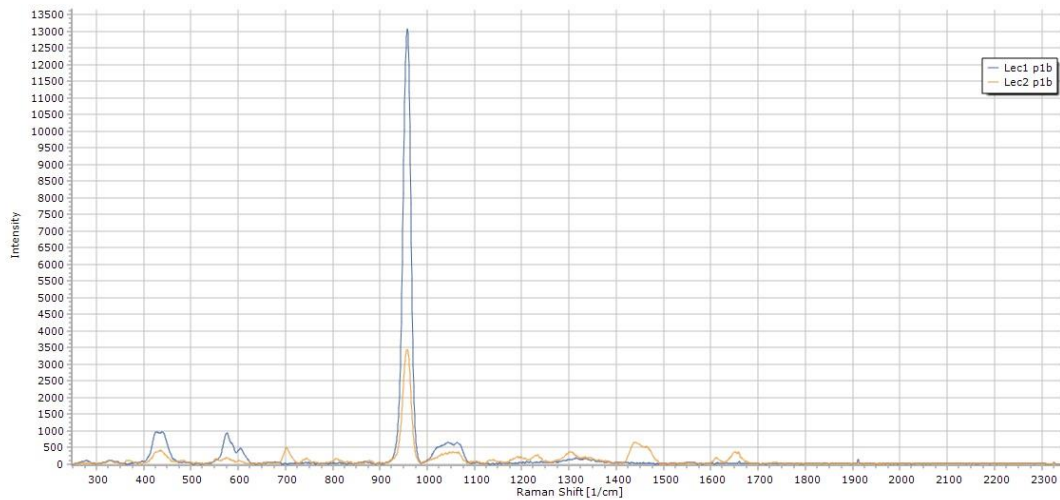
amarilla). Se observa una diferencia entre el fosfato  $\nu_1$  de la muestra antes y el de la muestra después de la inmersión en bebidas carbonatadas, presentándose una disminución en el pico luego de la inmersión en bebidas carbonatadas.

**Gráfico 1.** Espectros representativos de una zona sana de esmalte primario sin tratamiento de barniz antes y después de la inmersión en bebidas carbonatadas.



En el gráfico 2, se observa la lectura del fosfato  $\nu_1$  de las muestras correspondiente a una zona de esmalte primario sin ningún tratamiento (línea azul) y posterior a la inmersión en una bebida carbonatada con la aplicación de un agente remineralizante (línea amarilla).

**Gráfico 2.** Espectros representativos obtenidos de una zona sana de esmalte primario (lec. 1) y una zona de esmalte con tratamiento de flúor (lec 2) posterior a la inmersión en bebidas carbonatadas



Se observa una diferencia entre el fosfato *v1* de la muestra de esmalte sano y la zona de esmalte con tratamiento de fluoruro posterior a la inmersión en bebidas carbonatadas. Se presenta una disminución en el pico luego de la inmersión en bebidas carbonatadas con la aplicación de un agente remineralizante.

En el eje Y del Gráfico 3, se observan los niveles de fosfato (unidades arbitrarias) de las muestras; en el eje X se presentan los momentos pre y post inmersión de la muestra en una bebida carbonatada.

Se observa que las muestras sin barniz pre inmersión en la bebida poseen un nivel de fosfato *v1* mayor que las muestras sin barniz post inmersión en una bebida carbonatada.

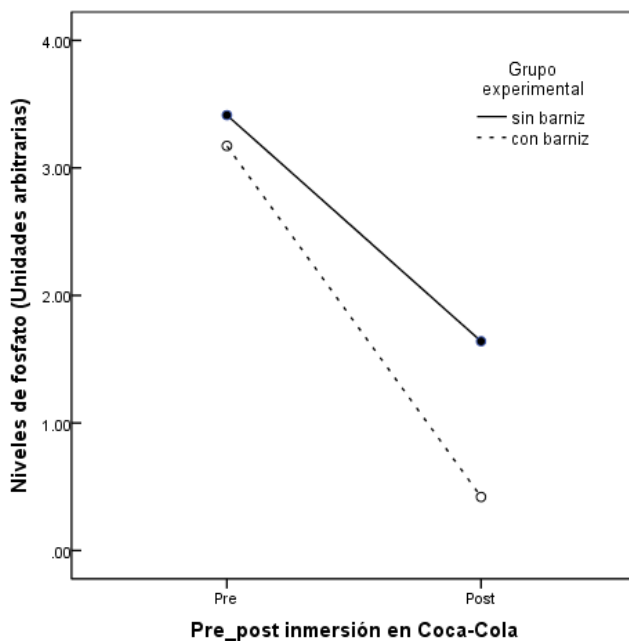
Las muestras tratadas con barniz pre inmersión en una bebida carbonatada poseen un nivel de fosfato *v1* mayor en comparación con las mismas muestras luego de colocarlas en el líquido durante 30 minutos.

Comparando ambas muestras, aquellas que no tuvieron tratamiento con barniz, poseen niveles mayores de fosfato *v1* tanto pre como post inmersión en

una bebida carbonatada en relación con aquellas muestras que sí tuvieron tratamiento con el fluoruro.

### Gráfico 3. Intensidad de fosfato

Cambio de la intensidad de fosfato antes y después de la inmersión de muestras con y sin agente remineralizante en una bebida carbonatada.



En la Tabla 1 se evidencia una diferencia del mínimo y máxima área bajo la curva pre y post inmersión de las muestras en la bebida carbonatada. Además, se observa una diferencia entre la media del área bajo la curva post inmersión sin barniz y con barniz.

**Tabla 1:** Estadísticas descriptivas de las muestras sin y con tratamiento de barniz de fluoruro después de la inmersión en bebida carbonatada.

MITAD		N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. típ.
Sin barniz	área bajo la curva pre	10	1.69	4.96	3.4137	1.03448
	área bajo la curva post	10	1.20	2.50	1.6404	.38058
	N válido (según lista)	10				
Con barniz	área bajo la curva pre	10	1.82	5.37	3.1720	1.18110
	área bajo la curva post	10	.13	.74	.4198	.23566
	N válido (según lista)	10				

Hay una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de fosfato antes y después del tratamiento (Tabla 2), pero cuando se comparan los grupos experimentales con y sin uso de agente remineralizante no existe diferencia estadísticamente importante.

**Tabla 2: Contrastes multivariados<sup>b</sup>**

a. Estadístico exacto.

b. b. Diseño intersección mitad Diseño intra-

Efecto		Valor	F	GI de la hipótesis	GI del error	Sig.
Pre_post	Traza de Pillai	.792	68.619 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.000
	Lambda de Wilks	.208	68.619 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.000
	Traza de Hotelling	3.812	68.619 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.000
	Raíz mayor de Roy	3.812	68.619 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.000
Pre_post * mitad	Traza de Pillai	.151	3.211 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.090
	Lambda de Wilks	.849	3.211 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.090
	Traza de Hotelling	.178	3.211 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.090
	Raíz mayor de Roy	.178	3.211 <sup>a</sup>	1.000	18.000	.090

**Tabla 3: Pruebas de los efectos intersujetos**

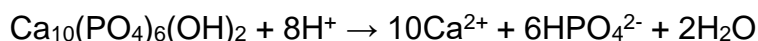
Variable dependiente: Diferencia entre áreas

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	4.791 <sup>a</sup>	1	4.791	3.211	.090
Intersección	102.401	1	102.401	68.619	.000
Mitad	4.791	1	4.791	3.211	.090
Error	26.862	18	1.492		
Total	134.054	20			
Total corregida	31.653	19			

a. R cuadrado = ,151 (R cuadrado corregida = ,104)

## Discusión

El esmalte dental es el tejido corporal más altamente mineralizado con minerales que constituyen el 96% de sus componentes, siendo el resto agua y materia orgánica. El componente mineral primario es la hidroxiapatita, con la fórmula básica  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , aunque normalmente se incorporan otros iones tales como fluoruros. La porción orgánica del esmalte no contiene colágeno, como ocurre en la dentina y el hueso. En cambio, tiene dos clases únicas de proteínas llamadas amelogeninas y esmalte. El papel de estas proteínas no se entiende, pero posiblemente está implicado en el desarrollo y la integridad estructural del esmalte. La disolución del esmalte en un ácido se produce como resultado de la interacción de iones de hidrógeno e hidroxiapatita.



Por lo tanto, la cuantificación del grupo fosfato en la hidroxiapatita es un buen indicador del grado de mineralización del esmalte.

Estudios previos de los tejidos dentales han utilizado la banda de fosfato  $\nu_1$ , situada en torno a  $960\text{ cm}^{-1}$ , lo que indica el estiramiento P-O asociado con la hidroxiapatita<sup>28, 29</sup>. Esto representa la energía vibratoria asociada con el enlace entre fosfato y oxígeno en la molécula de hidroxiapatita y no puede ser alterada.

Por lo tanto, esto puede usarse para analizar cambios en la concentración del grupo fosfato dentro de la molécula de hidroxiapatita.

Con el fin de comparar las muestras, el área bajo la banda se utiliza para comparar las bandas producidas por diferentes especímenes<sup>30</sup>. Un espectro de fondo, resultante de luz dispersa y corriente oscura producida por el detector, está presente durante la recolección espectral. Sin embargo, utilizando el software para calcular el área bajo la banda, este espectro de fondo se elimina del cálculo final, facilitando una comparación precisa de bandas producidas a partir de diferentes muestras.

En este estudio, la pérdida de fosfato se evaluó después de la aplicación de la sumersión de las piezas dentales en una bebida carbonatada con y sin agente remineralizante (por espectroscopia Raman). Se ha demostrado que el fosfato ejerce una acción cariostática, reduce la solubilidad del esmalte y actúa como un tampón en la neutralización de los valores salivales, bacterianos, de biofilme y de pH de los alimentos. Los fosfatos interferían con los procesos enzimáticos en las superficies del esmalte para aumentar la resistencia del huésped, disminuir la adhesión bacteriana e interferir con la síntesis de la formación de polisacáridos extracelulares. Finalmente, el fosfato mantiene calcio en el biofilme y niveles de fósforo.

No se encontró suficiente literatura científica para poder contrastar la investigación realizada, ya que son limitados los estudios sobre el uso de agentes remineralizantes sobre dientes primarios o permanentes utilizando espectroscopia Raman.

## Conclusiones

- Después de utilizar una bebida carbonatada sobre el esmalte primario existe un cambio en el fosfato  $v1$ .
- Se evidenció un cambio en las muestras, tanto en las que se utilizó barniz con flúor como en las que no se empleó este biomaterial luego de estar inmersas en una bebida carbonatada. Sin embargo, no es posible concluir que en un grupo se reduce más que en otro, ya que las diferencias no fueron estadísticamente significativas.



## Bibliografía

Akkus, A., Akkus, O., Roperto, R., & Lang, L. 2016. Investigation of intra and inter-individual variations of mineralisation in healthy permanent human enamel. By Raman Spectroscopy. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 14(4): 321.

Buschman, HP., Marple, ET., & Wach, ML. 2000. *In vivo determination of the molecular composition of artery wall by intravascular Raman spectroscopy*. *Anal Chem*; 72: 3771–3775.

Castañeda-Valladares, R. E., & Myriam-Angélica, D. G. 2010. Efecto erosivo por bebidas carbonatadas. (Spanish). *Revista Oral*, 11(S2): 17.

Castellanos, J. E., Marín-Gallón, L. M., Úsuga-Vacca, M. V., Castiblanco-Rubio, G.

A., & Biermann, S. M. 2013. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Universitas Odontológica*, 32(69): 49-59.

Curtis, J., Farley, B., & Goldstein, R. 2002. Abfraction, abrasion, attrition and erosion. *Esthetics in dentistry*, volume 2: 501-516.

De Menezes-Oliveira, M. H., Torres, C. P., Gomes-Silva, J. M., Chinelatti, M. A., De Menezes, F. H., Palma-Dibb, R. G., & Borsatto, M. C. 2010. *Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth*. *Microscopy Research & Technique*, 73(5): 572.

Devlin, H., Bassiouny, M., & Boston, D. 2006. Hardness of enamel exposed to Coca-Cola[R] and artificial saliva. *Journal of Oral Rehabilitation*, (1): 26.

Frank, CJ., McCreery, RL., & Redd, DCB. 1995. *Raman spectroscopy of normal and diseased human breast tissues*. *Anal Chem*; 67: 777 – 783.

Gutiérrez, B., & Planells, P. 2010. *Actualización en Odontología mínimamente invasiva: remineralización e infiltración de lesiones incipientes de caries*. *CientDent*: 7; 3: 183-191.

Haghgou, H., Haghgoo, R., & Asdollah, F. 2016. Comparison of the microhardness of primary and permanent teeth after immersion in two types of carbonated beverages. *Journal Of International Society Of Preventive And Community Dentistry*, 4: 344-348.

Ignjatović, Z., Stojšin, I., Brkanić, T & Lončar, J. 2012. The effect of excessive Coca-Cola consumption on the development of dental erosions. *Serbian Dental Journal* 59: 148.

Kidd, E. M. 2005. *Essentials of dental caries : The Disease and its management*. Oxford: Oxford University Press.

Kitchens, M., & Owens, B. M. 2007. Effect of carbonated beverages, coffee, sports and high energy drinks, and bottled water on the in vitro erosion characteristics of dental enamel. *Journal Of Clinical Pediatric Dentistry*, 31(3): 153.

Lachowski, K. M., Ferreira, D., de Oliveira, T. A., & Pita Sobral, M. A. 2014. Effect of the mixture of coffee or chocolate to milk in the progression of des-mineralization of tooth enamel - An in Vitro Study. *pesquisa brasileira em Odontopediatria e clinica integrada*, 14(3): 183-190.

Levallois, B., Terrer, E., Panayotov, Y., Salehi, H., Tassery, H., Tramini, P., & Cuisinier, F. 2012. Molecular structural analysis of carious lesion using micro-Raman spectroscopy. *European Journal Of Oral Sciences*, 120(5): 444-451.

Li, X., Wang, J., Joiner, A., & Chang, J. 2014. The remineralisation of enamel: are view of the literature. *Journal Of Dentistry*, 42 (Supplement (1), S12-S20).

Miyazaki, M., Sato, H., Onose, H., Moore, BK., & Platt, JA. 2003. *Analysis of the enamel/adhesive resin interface with laser Raman microscopy*. *Oper Dent*; 28: 136 –142.

Mushtaq, F., Ahmed, M. 2016. Frequency and etiological factors of non carious cervical lesions. *Pakistan Oral & Dental Journal*: volume 6: 312.

O'Shea, DC., & Bartlett, ML. 1974. *Compositional analysis of apatites with laser-raman spectroscopy: (OH, F, Cl) apatites*. *Arch Oral Biol*; 19: 995–1006.

Ozaki, M., Suzuki, M., Itoh, K., Wakumoto, S., & Hisamitsu, H. 1991. *Laser-Raman spectroscopic study of the adhesive interface; analysis between 4-META/MMA-TBB resin and bovine or human enamel*. Dent Mater J; 10: 105 –120.

Puppels G., Demul FFM., Otto. C., Greve, J., Robertnicoud, M., Arndtjovin, DJ. & Jovin, TM. 1990. *Studying single living cells and chromosomes by confocal Raman micro- spectroscopy*. Nature; 347: 301–303.

Puppels. GJ., Garritsen, HSP., Segersnolten, GMJ., Demul, FFM., & Greve J. 1991. *Raman microspectroscopic approach to the study of human granulocytes*. Biophys J.60: 1046 –1056.

Tramini, P., Pelissier, B., Valacarcél, J., Bonnet, B., & Maury, L. 2000. *A Raman spectroscopic investigation of dentin and enamel structures modified by lactic acid*. Caries Res; 34: 233 – 240.

Tsuda, H., & Arends, J. 1994. *Orientational micro-Raman spectroscopy on hydroxyapatite single crystals and human enamel crystallites*. J Dent Res; 73: 1703–1710.

Tsuda, H., & Arends, J. 1997. Raman spectroscopy in dental research: a short review of recent studies. *Advances In Dental Research*, 11(4): 539-547.

Tsuda, H., Jongebloed, WL. & Stokroos, I., Arends, J. 1993. *Combined Raman and SEM study on CaF<sub>2</sub> formed on/in enamel. By APF treatments*. Caries Res; 27: 445– 454.

Tsuda, H., Jongebloed, WL.,Stokroos, I., & Arends, J. 1996. *A micro-Raman spectroscopic syudy of hydrazine- treated human dental calculus*. Scanning Microsc; 10: 1015–1023.

Tsuda, H., Reuben, J., & Arends, J.1996. *Raman spectra of human dentin mineral*. Eur J Oral Sci; 104: 123–131.

Wentrup-Byrne, E., Armstrong, CA., Armstrong, RS., & Collins, BM. 1997. *Fourier transform Raman microscopic mapping of molecular components in a human tooth*. J Raman Spectrosc; 28: 151–158.

Zavala-Alonso, V., Loyola-Rodríguez, J. P., Terrones, H., Patiño-Marín, N., Martínez-Castañón, G. A., & Anusavice, K. 2012. Analysis of the molecular

structure of human enamel with fluorosis using micro-Raman spectroscopy. *Journal Of Oral Science*, 54(1): 93-98.