

**Resistencia de unión al cizallamiento
de un adhesivo experimental con
extracto de semillas de uva a esmalte
humano inmediatamente posterior al
blanqueamiento**

Dra. Joanna Natalia Vola Gelmini

Maestría en Ciencias Odontológicas

Opción Biología Oral

Tutor: Prof. Dr. Horacio Heinzen, MSc, PhD

Co-tutor: Prof. Dr. Evandro Piva, MSc, PhD, Pos-Doc

Escuela de Graduados – Facultad de Odontología

Universidad de la República

Montevideo – Uruguay, 2021

“Una pequeña diferencia en nuestra manera de hacer las cosas puede generar una enorme diferencia en los resultados”.

Lair Ribeiro

Dedicatoria

A Leonardo, Juan y Augusto.

Agradecimientos

A los Dres. Claudio Fernández y José Crestanello por la donación de los especímenes para realizar este estudio.

A los Dres. Ernesto Borgia y Gustavo Parodi por su orientación en el inicio de este proyecto.

A los Dres. Carlos Cuevas y Juana Rodríguez por su colaboración en la realización de este trabajo.

A la Asistente dental Sofía Sotto y la Lic. en bibliotecología Claudia Silvera por su apoyo.

A la Facultad de Odontología, UdelaR y a la Sra. Karen Schoenberg (VK Import - Ultradent Products) por la donación de materiales.

Tabla de contenido

1. Prefacio	2
2. Resumen	3
3. Abstract	4
4. Abreviaturas	5
5. Introducción	6
5.1. Agentes blanqueadores y su mecanismo de acción	7
5.2. Resistencia de la unión adhesiva en el esmalte blanqueado	9
5.3. Agentes antioxidantes y su mecanismo de acción	10
5.3.1. Antioxidantes sintéticos: Ascorbato de sodio	12
5.3.2. Antioxidantes naturales: Extracto de semillas de uva	13
5.4. Planteamiento del problema y justificación	15
6. Objetivos	16
7. Hipótesis Nula	17
8. Materiales y Métodos	17
8.1. Tipo y diseño de estudio	17
8.2. Formulación de los adhesivos experimentales	17
8.3. Grado de conversión: C=C	19
8.4. Obtención de los especímenes	20
8.4.1. Criterios de selección de la muestra	20
8.4.1.1 Criterios de inclusión	20
8.4.1.2 Criterios de exclusión	21
8.4.2 Características de la muestra	21
8.4.3 Preparación de los especímenes	21
8.5 Distribución de especímenes y procedimiento de blanqueamiento ...	22
8.6 Procedimiento restaurador	23
8.7 Test de resistencia de unión al microcizallamiento	25
8.8 Recolección de datos	27
8.9 Análisis estadístico	28
9. Resultados	28
10. Discusión	30
11. Conclusiones	33
12. Referencias	35
13. Anexos	43

1. Prefacio

A partir de las últimas décadas del siglo XX, la estética se ha constituido en la piedra angular del ejercicio de la Odontología, apuntalada por la renovación de los cánones de belleza, la aplicación de la tecnología adhesiva y el surgimiento de nuevos materiales que han conseguido imitar de modo espléndido las características ópticas de las diferentes estructuras y tejidos dentales. La adhesión aplicada a la Odontología viene siguiendo un compás de desarrollo vertiginoso y saturado. Es en este marco de predominio estético que surge la necesidad de resolver algunos inconvenientes que aún hoy día se presentan, tal como lo es la imposibilidad de restaurar mediante Odontología adhesiva inmediatamente luego de finalizado un tratamiento de blanqueamiento dental. Así nace el interés por los agentes antioxidantes, y más específicamente por su incorporación en los sistemas adhesivos. Esto posibilitaría el recambio de las restauraciones plásticas de forma inmediata posterior a la finalización de un tratamiento de blanqueamiento, evitando demoras e inconvenientes estéticos.

2. Resumen

Introducción: El blanqueamiento dental disminuye la resistencia de unión de las restauraciones adheridas debido a la presencia de radicales libres de oxígeno que interfieren con la penetración y polimerización de los sistemas resinosos. El uso de antioxidantes permite consumir estos radicales y posibilita la realización de restauraciones inmediatamente luego del blanqueamiento. **Objetivos:** Evaluar el efecto de la incorporación de ascorbato de sodio y extracto de semillas de uva al primer de un sistema adhesivo experimental autoacondicionante de dos pasos, en su resistencia de unión inmediata a esmalte humano blanqueado. **Materiales y métodos:** Se utilizaron 42 terceros molares de los que se obtuvieron 84 especímenes que se dividieron aleatoriamente en 2 grupos: la mitad de los especímenes no fue blanqueado (S), mientras que la otra mitad fue sometida a un procedimiento de blanqueamiento (C) con peróxido de carbamida al 45% durante 30 minutos. Posteriormente, los especímenes fueron subdivididos en 3 grupos dependiendo del sistema adhesivo con el que fueron restaurados: adhesivo sin antioxidante (C_{CTRL}), con ascorbato de sodio (AS) al 15%, y con extracto de semillas de uva (ESU) al 10%. Se confeccionaron cilindros de resina compuesta que fueron sometidos a un ensayo de resistencia de unión al microcizallamiento (RUM). **Análisis estadístico:** Se utilizó el programa SigmaPlot 12.0. Se realizó una prueba de ANOVA de dos vías para evaluar el efecto de las variables independientes en la RUM. Se utilizó un nivel de significancia de $\alpha=0,05$. **Resultados:** Los grupos con mayores valores de RUM fueron S-C_{CTRL} (34,67MPa \pm 8,79), S-ESU (35,62MPa \pm 12,03) y C-C_{CTRL} (29,48MPa \pm 6,94), sin diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Los valores de RUM más bajos fueron para S-AS y C-AS. Ninguno de los antioxidantes mejoró la RUM ($p<0,05$). **Conclusión:** La incorporación de ESU al adhesivo no afectó negativamente la RUM. Sin embargo, no fue capaz de mejorar la adhesión luego del blanqueamiento. En el caso del ascorbato de sodio, su incorporación en el primer del sistema adhesivo experimental no fue efectiva.

Palabras clave: Ácido ascórbico, Adhesión dental, Antioxidantes, Blanqueamiento dental, Extracto de semillas de uva, Resistencia al corte.

3. Abstract

Introduction: the presence of residual free radicals after dental bleaching interferes with the penetration and polymerization of dental adhesives resulting in a bond strength reduction. Antioxidants are capable of consuming these free radicals allowing to perform an adhesive restoration immediately after the bleaching procedure. **Purpose:** to evaluate the effect of the incorporation of grape seed extract and sodium ascorbate into an experimental two step self-etching adhesive on the bond strength to bleached enamel immediately after bleaching. **Materials and methods:** 84 specimens were obtained from 42 third molars and randomly divided in 2 groups: one of these did not receive bleaching treatment (S), while the other was bleached with 45% carbamide peroxide for 30 minutes (C). Each group was subdivided into 3 groups depending on the adhesive system used: without antioxidant (C_{CTRL}), adhesive with 15% sodium ascorbate (AS) and adhesive with 10% grape seed extract (ESU). A resin composite cylinder was built up and then submitted to a microshear bond strength test (RUM). **Statistical analysis:** a two way ANOVA test was performed to evaluate the effect of the independent variables on the shear bond strength, using SigmaPlot 12.0 software. The significance level was established at $\alpha=0.05$. **Results:** the groups with best results were S-C_{CTRL}, S-ESU and C-C_{CTRL}, without significant difference among them. The lowest RUM values were found in groups S-AS and C-AS. None of the antioxidants improved the RUM values ($p<0.05$). **Conclusion:** the incorporation of ESU did not decrease the bond strength values. However, it was not capable of enhancing the bond strength after the bleaching process. In the case of sodium ascorbate, its incorporation into the primer of the experimental adhesive system seemed to be ineffective.

Key words: Antioxidants, Ascorbic acid, Dental bonding, Grape seed extract, Shear strength, Tooth bleaching.

4. Abreviaturas

AB: *Agente blanqueador*

PH: *Peróxido de hidrógeno*

PC: *Peróxido de Carbamida*

AA: *Agente antioxidante*

AS: *Ascorbato de sodio*

ESU: *Extracto de semillas de uva*

RUM: *Resistencia de unión al microcizallamiento*

CPO: *Complejos de Proantocianidinas Oligoméricas*

5. Introducción

El aumento en la demanda por una odontología estética ha resultado en una práctica más frecuente de tratamientos dentales estéticos. Entre estos tratamientos, el blanqueamiento en dientes vitales es una opción no invasiva a menudo requerida en la práctica clínica para tratar la coloración dentaria (1,2), que puede ser llevada a cabo mediante un procedimiento relativamente simple (3). Este procedimiento debe ser combinado con tratamientos restauradores en la mayoría de los casos, de manera de lograr resultados estéticos óptimos(4).

La pigmentación dentaria puede ser resultado de la combinación de factores extrínsecos e intrínsecos. Los primeros están asociados a la permeabilidad del esmalte dental, siendo adquiridos durante la fase post eruptiva por la ingestión de sustancias de bajo peso molecular, como café, vino tinto, té negro, mate, refrigerantes a base de cola, tabaco, acúmulo de placa y alimentos con colorantes. Los factores intrínsecos están asociados a la permeabilidad de la dentina, siendo generados en la fase pre eruptiva en relación a la ingestión excesiva de ciertos medicamentos (tetraciclina, minociclina) durante la maduración del germen dental, así como a la alta ingestión de flúor. También pueden estar asociados a sustancias utilizadas en el tratamiento de los conductos radiculares, traumas dentarios que ocasionan hemorragias internas, y pigmentación por amalgamas. Por otro lado, con el paso del tiempo los dientes sufren un proceso de oscurecimiento fisiológico debido al adelgazamiento de la capa de esmalte y a la obliteración normal y gradual de los túbulos dentinarios que hace que su luz se torne cada vez más pequeña, alterando la coloración dentaria inicial(5).

El blanqueamiento dental es el proceso por el cual los dientes se vuelven más blancos mediante la degradación química de los cromógenos. Los cromógenos son las sustancias que producen la coloración dentaria, y son típicamente compuestos orgánicos que poseen cadenas conjugadas extendidas que alternan enlaces simples y dobles. El blanqueamiento de estos componentes orgánicos mediante peróxido de hidrógeno (PH) implica una reacción de oxidación de los dobles enlaces que involucran átomos de oxígeno, carbono y nitrógeno. Esto vuelve al cromógeno un compuesto de color más claro(6,7). Así concebido, el blanqueamiento dental es el conjunto de técnicas conservadoras estéticas en las que sobre la base de los mecanismos de oxidación-reducción, se obtiene un aclaramiento de las estructuras dentarias(8).

5.1. Agentes blanqueadores y su mecanismo de acción

Un agente blanqueador (AB) es un compuesto químico que, colocado en contacto con las estructuras dentarias sufre un proceso de disociación iónica que da origen a radicales libres que reaccionan con las moléculas cromógenas, provocando su ruptura, volviéndolas más pequeñas y menos coloridas (9,10).

El AB más utilizado es el PH, que se presenta comercialmente tanto de esta forma, como también en forma de precursores, entre los que destaca el peróxido de carbamida (PC). Este agente actúa mediante mecanismos de oxidación-reducción. Ambos agentes oxidantes se presentan en diferentes concentraciones, formas y tiempos de aplicación. Las soluciones de peróxido de carbamida son extremadamente inestables en la cavidad oral dada la presencia de agua, lo que lleva a su inmediata disociación en PH y urea. El PH, que es un fuerte agente oxidante, se degrada en oxígeno y agua; en tanto que la urea se degrada en amonio y dióxido de carbono(11). Cuando es aplicado sobre la superficie dentaria, el PH difunde a través de las regiones interprismáticas y porosidades de la estructura adamantina, así como también a través de la matriz orgánica dentinaria debido a su bajo peso molecular(11–13). Luego sufre una disociación iónica que da origen a la formación de potentes radicales libres como son el hidroxilo (HO), perhidroxilo (HOO), oxígeno naciente, aniones superóxido (OO-) y aniones perhidroxilo (HOO-)(10,14). La cantidad de oxígeno liberado difiere en función de la concentración del PH(14).

Los radicales libres generados en las reacciones químicas de oxidación y reducción son extremadamente reactivos. La teoría más aceptada en cuanto al mecanismo de acción de los AB sugiere que estos radicales presentan un electrón no apareado que es altamente energético y tiende a capturar electrones de otras moléculas para lograr estabilizarse, creando al mismo tiempo otros radicales libres (15). Este proceso continuo lleva a la producción de miles de radicales en segundos(16). Éstos reaccionan rápido con el oxígeno, para formar especies reactivas de oxígeno y quebrar las macromoléculas de pigmentos en moléculas cada vez más pequeñas, solubles y ópticamente más claras(1,3,9,10,13,17–20), siendo eliminadas por difusión de la intimidad de las estructuras dentarias produciendo un efecto de blanqueamiento(5,11,16,21).

El PH oxida una gran variedad de componentes orgánicos e inorgánicos. Los mecanismos de estas reacciones son variados y dependen del sustrato, la reacción con el medio ambiente y las condiciones en las que se da la reacción, las que incluyen temperatura, pH, luz, y presencia de metales de transición(7). Por ejemplo,

cuando se utiliza peróxido de carbamida, el medio alcalino que genera la urea favorece el blanqueamiento, ya que en una solución básica se requiere menor energía para la formación de radicales libres a partir del peróxido y la tasa de reacción es más alta(22,23).

Ha sido demostrado que, durante el proceso de blanqueamiento con PH, los radicales hidroxilo en la matriz de apatita son sustituidos por iones peróxido, resultando en la formación de apatita rica en peróxido(1,3,8,24). La dentina y el fluido dentinario pueden actuar como reservorios de radicales libres de oxígeno y peróxido, que pueden persistir hasta que son removidos por la microcirculación pulpar o liberados más tarde por medio de difusión superficial(25).

Algunos estudios han demostrado que el uso de estos AB, dado su pH, puede producir alteraciones morfológicas en la superficie del esmalte como son el aumento de la rugosidad y disminución de su dureza(10,17,26–29) causados por la pérdida de calcio, sulfato, fósforo y potasio(3,12), disminución de la resistencia a la abrasión debido a la unión de radicales libres a los componentes orgánicos del esmalte(1,18); así como también sensibilidad postoperatoria, irritación pulpar, microfiltración de restauraciones existentes y reabsorción radicular externa(5,13,20,29–31). Estas alteraciones que ocurren en la estructura adamantina son también resultado de un aumento de la porosidad que se manifiesta por una apariencia de sobre grabado, con pérdida de la estructura prismática y aparición de áreas erosivas(12,14).

Dada la naturaleza cáustica del peróxido de carbamida se produce en el esmalte una alteración de la proporción existente entre los componentes orgánicos e inorgánicos, así como también alteraciones en la sustancia orgánica que pueden contribuir a una disminución de la resistencia de la unión adhesiva(5,10,15,32,33). Esta disminución es otra complicación importante que se observa luego de un procedimiento de blanqueamiento, cuando la adhesión se lleva a cabo inmediatamente después del mismo, lo que se atribuye a la presencia de oxígeno residual que interfiere con la infiltración de la resina e inhibe su polimerización(10,14,34,35), reduciendo así la resistencia de la unión adhesiva(19,26). En este sentido, se recomienda esperar entre una y tres semanas luego de un procedimiento de blanqueamiento porque ha sido demostrado que esta disminución es temporal(8,34). Luego de un período de espera, que debe ser como mínimo de dos semanas, los iones de peróxido se descomponen y los radicales hidroxilo de la matriz de apatita que fueron en un principio sustituidos entran nuevamente en dicha matriz, lo que resulta en la eliminación de los cambios estructurales causados por la incorporación de los iones de peróxido, volviéndose a

valores de resistencia de la unión adhesiva similares a los que se observan en los casos en los que no se realizó blanqueamiento (8,10,17,26,28,29,34). Sin embargo, este tiempo de espera es en muchos casos inviable, puesto que hace imposible llevar a cabo restauraciones adheridas en forma inmediata posterior al blanqueamiento, afectando esto el resultado estético final(8,34).

Recientemente ha surgido una nueva teoría en relación al mecanismo de acción de los agentes blanqueadores. Según un estudio de Eimar y col.(21), de existir las moléculas cromógenas, su concentración en el esmalte dental sería extremadamente baja. Por otro lado, la traslucidez del esmalte luego del blanqueamiento decrece significativamente, volviéndose éste más opaco. En dicho estudio se observó que la aplicación de una solución blanqueadora (PH) en piezas dentarias previamente desmineralizadas o desproteinizadas no causaba mayores cambios en la matriz orgánica, ni tampoco en el contenido mineral respectivamente. Sin embargo, se observó un aumento del contenido de oxígeno en las piezas que habían sido desmineralizadas, no así en las que habían sido desproteinizadas, indicando esto que la reacción de oxidación es más intensa en las piezas con alto contenido orgánico. Por lo tanto se concluyó que el AB logra su efecto en el esmalte dental mediante la oxidación de las estructuras orgánicas (el peróxido blanquea el diente oxidando la matriz orgánica transparente, volviéndola un material más blanco y opaco), ya que no se observaron cambios en los contenidos orgánicos e inorgánicos relativos luego de la oxidación, a lo que se suma que los dientes desproteinizados no se oxidaron, y no se volvieron más blancos con el blanqueamiento(21).

5.2. Resistencia de la unión adhesiva en el esmalte blanqueado

Previamente se ha demostrado que la resistencia de unión al microcizallamiento (RUM) de materiales resinosos al esmalte luego del blanqueamiento se ve comprometida debido a las alteraciones antes descritas de la superficie del mismo (9,36), y principalmente al hecho de que el agente blanqueador deja una capa residual de oxígeno libre que inhibe la polimerización de los materiales restauradores interfiriendo con su infiltración en el esmalte (8,30,35,37). Esto da lugar a *tags* resinosos defectuosos, de menor extensión, dispersos, pobremente definidos, estructuralmente incompletos o completamente ausentes(5,8,19,24,38–41). También ha sido demostrado que el oxígeno liberado por el AB queda atrapado en el adhesivo durante la polimerización y puede llevar a la formación

de burbujas generadoras de tensión en la interfaz resina-esmalte, la que resulta granular y porosa(13,20,32,37,41).

Según algunos estudios, la disminución de la resistencia de la unión adhesiva depende de la concentración y del tiempo de aplicación del agente blanqueador(15,28,30). Esta disminución en la resistencia de la unión adhesiva es temporal(9,19), y para superar este problema, el procedimiento adhesivo debe ser pospuesto por un período que varía según los diferentes autores desde 24 horas a 4 semanas, ya que durante este plazo los iones de peróxido se descomponen y son sustituidos por radicales hidroxilo que se reincorporan a la matriz de hidroxiapatita, resultando en la eliminación de los cambios estructurales causados por la incorporación de los iones de peróxido(1,3,36,38–40,8,10,17,19,20,24,29,31).

Como alternativa para superar la demora del tratamiento restaurador han sido propuestos diferentes métodos para mejorar los valores de RUM inmediatamente posterior al blanqueamiento; entre ellos el tratamiento de la superficie adamantina blanqueada con alcohol, el uso de solventes orgánicos en los adhesivos, la remoción de la capa más externa del esmalte y la aplicación de sustancias o agentes antioxidantes (AA) sintéticos o naturales(3,8,10,17,20,27,37,38,40). Estos métodos permitirían la realización de la restauración adherida inmediatamente después de terminado el procedimiento de blanqueamiento, ya que neutralizan el factor etiológico responsable de la incompleta polimerización de los monómeros resinosos(5).

5.3. Agentes antioxidantes y su mecanismo de acción

Una sustancia antioxidante puede ser definida como una sustancia química que, estando presente en baja concentración respecto a un sustrato oxidable, disminuye o inhibe significativamente su oxidación. Los antioxidantes tienen el potencial de neutralizar radicales libres, siendo capaces de reaccionar con ellos en las diferentes etapas de su formación(34,38). Desde el punto de vista biológico, se puede definir un antioxidante como un compuesto que protege los sistemas biológicos contra los efectos potencialmente dañinos de los procesos o reacciones que promueven la oxidación de estructuras celulares(5). Estos compuestos son capaces de reducir el potencial de daño de los radicales libres por medio de su capacidad de barrido. Son lo suficientemente estables como para donar un electrón a un radical libre muy activo y neutralizarlo(2). Su efecto protector se da por medio de uno de dos mecanismos: el primer mecanismo consiste en la donación de un ión hidrógeno al

radical libre, con lo cual el antioxidante se transforma en un radical; el segundo mecanismo consiste en donar un electrón al radical libre, convirtiéndose en un radical de carga positiva.

Varios estudios han reportado que existe una relación directa entre el contenido total de fenoles y la actividad antioxidante. A su vez la actividad antioxidante del contenido fenólico parece estar relacionada a su estructura molecular, más precisamente a la presencia y número de grupos hidroxilo(16). La presencia de un segundo grupo hidroxilo permite aumentar la actividad antioxidante debido a que le confiere al AA una mayor estabilidad y posibilita la formación de quinonas(33).

Los radicales libres son definidos como cualquier especie que contiene uno o más electrones no apareados y que es capaz de tener una existencia independiente. Pueden presentarse en forma de especies reactivas de oxígeno o nitrógeno. Estas especies reactivas pueden provocar daño tisular a través de diferentes mecanismos, como ser dañando el ADN, oxidando los lípidos, dañando proteínas y oxidando enzimas importantes(2). Los radicales, como el oxígeno generado por la degradación del PH, reaccionan con los antioxidantes, lo que resulta en su remoción de las estructuras en las que se encuentran(42).

Los AA absorben los radicales libres de oxígeno liberados por los peróxidos aumentando el potencial de óxido reducción de la superficie libre del esmalte, facilitando de esta forma la polimerización de los radicales libres presentes en la resina(5,10,36). Además han demostrado mejorar la resistencia adhesiva a diferencia de otros métodos que arrojan resultados contradictorios(17,35). En una revisión sistemática sobre el uso de este método se concluyó que el tratamiento con antioxidantes, independientemente de su tipo, forma, concentración y tiempo de aplicación, puede ser considerado adecuado para mejorar la RUM en el diente blanqueado. Asimismo, la aplicación del tratamiento antioxidante puede resultar en un efecto casi tan favorable como la postergación de la adhesión durante por lo menos una semana luego del blanqueamiento(30).

Por otro lado, se ha demostrado que el uso de antioxidantes luego del blanqueamiento puede aumentar la capacidad remineralizante de la saliva, pero las alteraciones en las propiedades topográficas no revierten(2). En cuanto al tiempo de aplicación del agente antioxidante, se recomienda que este sea aplicado durante al menos un tercio del tiempo que se aplica el agente blanqueador en la superficie del esmalte; de ahí que se tome como base un tiempo de aplicación de 10 minutos. Además, este tiempo está determinado, al menos parcialmente, por la concentración en la que el mismo es utilizado(1,3,9,17,20,26,36–38,43–46). A su

vez, parece existir una relación directa entre la cantidad de PH y la cantidad de agente antioxidante requerido(47).

Los antioxidantes pueden ser aplicados en forma de gel o solución. Ha sido sugerido que la aplicación en forma de gel puede disminuir la capacidad de difusión de estos agentes. Por el contrario, la solución tiene una mejor penetración en el esmalte blanqueado, obteniéndose así resultados más satisfactorios en la resistencia de la unión adhesiva(35).

5.3.1. Antioxidantes sintéticos: Ascorbato de sodio

El ascorbato de sodio (AS) es el antioxidante sintético más estudiado y es considerado el estándar de oro(35,37,48). Es una sal de sodio derivada del ácido ascórbico (vitamina C) que se encuentra comúnmente disponible. Está compuesto por vitamina C y sodio y tiene un pH neutro. Presenta baja toxicidad, es soluble en agua, biocompatible y ampliamente utilizado en la industria alimentaria como agente antioxidante(5,8,15,45,46). No obstante, se trata de una sustancia muy inestable, lo que le confiere una vida útil reducida; de color amarillo, que se oxida rápidamente, pudiendo causar manchas en los dientes recién blanqueados. Por otro lado, se ha observado en imágenes de microscopía electrónica de barrido, que la aplicación de ascorbato de sodio resulta en un excesivo grabado de la superficie del esmalte ya blanqueada(5,15). Los efectos del tratamiento antioxidante con AS dependen de las concentraciones del AB y del AA; así como también de los tiempos de aplicación y contacto de este último con la estructura dental(45). En cuanto a su forma de acción, su actividad antioxidante es llevada a cabo mediante una acción de barrido o quelación de radicales libres, así como también suprimiendo la iniciación o evitando el progreso de reacciones en cadena. Otra forma en la que puede actuar es suprimiendo la formación de radicales libres mediante la reducción de hidroperóxidos y peróxido de hidrógeno a alcohol y agua sin la formación de radicales libres en ninguno de los casos. Este AA es capaz de donar dos electrones con gran energía para quelar radicales libres(47). Por otro lado, contiene cuatro grupos hidroxilo que pueden donar hidrógeno a un sistema oxidante (16).

Aunque existen diferencias respecto a la forma y tiempos de aplicación del AS, diferentes estudios han demostrado que su utilización posterior al blanqueamiento revierte la disminución de la resistencia de la unión de la resina al esmalte blanqueado(37,43,44,49,50), neutralizando el efecto de la capa de oxígeno residual y permitiendo la completa polimerización de los materiales a base de resina mediante la restauración del potencial de óxido reducción alterado por el

procedimiento de blanqueamiento(34). Un estudio sugiere que el tiempo mínimo de aplicación del antioxidante requerido para recuperar la resistencia adhesiva es de 60 minutos(46), mientras otro concluye que es más efectiva la aplicación repetida por períodos de 1 minuto(45). Otros autores demostraron que diez minutos de aplicación eran suficientes para revertir la resistencia de la unión adhesiva disminuida(8,31,48). En un estudio de Freire y col.(51) se encontró que un lapso de cinco minutos fue suficiente para que el antioxidante disminuyera los efectos adversos del agente blanqueador(51). También los estudios han demostrado que aumentando el tiempo de aplicación del AA aumenta la resistencia de la unión de la resina al esmalte blanqueado(46), llegando a un tope a los 120 minutos(31). Algunos autores relatan que este período depende del tipo y de la concentración del peróxido utilizado, siendo preconizado su uso durante un tercio del tiempo que fue aplicado el gel de blanqueamiento(37,48). Respecto a la concentración, se ha sugerido que las concentraciones de AS inferiores a 10% son insuficientes para lograr el efecto antioxidante buscado(44), mientras que concentraciones de 10% y 20% conducen a resultados sin diferencias significativas entre ellos(35,46,52). El almacenamiento del AS por largos períodos de tiempo es difícil debido a su inestabilidad. Debe ser almacenado en un contenedor oscuro, no metálico, y a baja temperatura para evitar la pérdida de su forma original(50). Debe ser preparado inmediatamente previo a su uso de manera tal que conserve sus propiedades(53).

5.3.2. Antioxidantes naturales: Extracto de semillas de uva

Recientemente se han buscado alternativas naturales que no impliquen citotoxicidad, sean de fácil obtención, económicamente accesibles y tengan mayor vida útil(36). Los AA de origen natural se encuentran en la naturaleza como metabolito secundario de plantas, ampliamente presentes y disponibles en frutas (nueces, uvas, cerezas, arándanos, extracto de cáscara de pomelo y cacao), vegetales, semillas, flores, y en las hojas y corteza de ciertas especies de árboles (corteza de pino, corteza de limonero, hojas de árbol de avellanas y hojas secas de té verde)(1,5,9,13,17,24,26,27,34,54,55). Su utilización clínica es viable dado su origen natural, incluso forman parte de la composición de suplementos dietarios(9,13,20,24,26). La diferente composición fenólica de estos extractos naturales guarda relación con su capacidad captadora de radicales libres(17).

Los complejos de proantocianidina oligomérica (CPO), presentes en el extracto de semillas de uva (ESU) son una clase de bioflavonoides polifenólicos que tienen

gran capacidad de quelación de radicales libres. Según los análisis de seguridad a que son sometidos los materiales de consumo humano, los CPO tienen un nivel de riesgo para la salud inferior al del AS, el cual se ha demostrado que tiene poder mutagénico para las células somáticas de los mamíferos, mientras que las proantocianidinas no presentan este efecto adverso(1,11,24,47).

El ESU pertenece al grupo de los taninos condensados, con un peso molecular de entre 500 y 3000 gr/mol. Contiene un 98% de proantocianidina oligomérica(34,36) en forma de componentes fenólicos monoméricos, como la catequina, la epicatequina, el galato de epicatequina y monómeros libres de flavonol(9,17,19,26,34). Se ha descrito en diferentes estudios que su potencia antioxidante es 20 veces mayor que la de la vitamina E y 50 veces mayor que la de la vitamina C, de la cual deriva el AS(9,20,24,26,27,31). Las proantocianidinas tienen propiedades de especificidad por los radicales libres hidroxilo, lo que les da alta actividad quelante en comparación con otros antioxidantes de menor peso molecular. También los radicales superóxido son atrapados por múltiples sitios donantes en estas moléculas. La presencia de ácido gálico(14,34) promueve la esterificación de la epicatequina(14,29,47,56), lo que potencia la capacidad de quelación de radicales libres. Las proantocianidinas contienen múltiples sitios donadores de electrones (sitios hidroxilo) que les permiten unirse a radicales libres, atrapando por ejemplo radicales superóxido, mediante la donación de átomos de hidrógeno(27,42). Sin embargo, los antioxidantes neutros no se convierten en radicales libres como consecuencia de esta reacción, dado que son estables(4).

Algunos estudios han demostrado que la utilización de diversos extractos naturales en concentración de 5%, aplicados durante 10 minutos, revierten la disminución de la resistencia de la unión resina-esmalte blanqueado con PH al 35%, 38% y 40%(9,13,17,20,24,26,36). La aplicación de proantocianidinas al 5% en sustratos blanqueados con PH al 38% durante 10 minutos, generó resultados de resistencia de la unión adhesiva significativamente mayores en comparación con AS al 10%(20). Sin embargo, según algunos estudios, este AA no es capaz de revertir la resistencia de la unión adhesiva en forma completa; lo cual podría deberse al alto peso molecular de esta estructura altamente hidroxilada que puede, además, formar complejos con proteínas y carbohidratos disminuyendo así su acción sobre el oxígeno residual(34,36,47).

También ha sido comprobado que la solución de ESU al 6,5% durante 10 minutos aumenta la resistencia al microcizallamiento de la unión adhesiva cuando el esmalte ha sido blanqueado con PC al 35%(3). Por otro lado, se ha observado que la solución de extracto de semillas de uva al 5% es capaz de mejorar

significativamente la resistencia adhesiva en piezas que habían sido blanqueadas simulando un tratamiento domiciliario con cubetas con peróxido de carbamida al 15% aplicado 8 horas por día, durante 5 días(27).

La utilización de sustancias antioxidantes después de la técnica de blanqueamiento dental puede ser importante, no sólo para restaurar la resistencia de la unión después del tratamiento, sino también para una posible protección de las células pulpares contra la agresión generada por los componentes tóxicos del agente blanqueador, los que son capaces de difundir a través de la dentina(5).

5.4. Planteamiento del problema y justificación

La resolución estética en la mayoría de los casos requiere de un tratamiento que combina la realización de blanqueamiento y restauraciones adheridas. En ocasiones no es posible diferir los procedimientos restauradores el tiempo necesario para permitir la recuperación de las estructuras dentarias de los efectos causados por el agente blanqueador. La aplicación inmediata del agente adhesivo al esmalte blanqueado conduce a una reducción significativa de la resistencia de unión al microcizallamiento (RUM) de las resinas debido al oxígeno residual(19,24,30,40,41). Desde el punto de vista clínico, las consecuencias de esta disminución en la resistencia de la unión adhesiva al esmalte, dada la deficiente infiltración y la incompleta polimerización de la resina compuesta (19,24,38–41) pueden llevar a sensibilidad pulpar, microfiltración de las restauraciones y aparición de lesiones cariosas(29).

Hasta ahora los AA han sido utilizados como un paso previo a la realización del procedimiento adhesivo en sí mismo, lo que implica no sólo un mayor tiempo clínico, sino que aumenta la posibilidad de cometer errores en una técnica que de por sí tiene un alto grado de sensibilidad; tomando el procedimiento adhesivo clínicamente poco realista(54). Por otro lado, el tiempo durante el cual el antioxidante debería actuar para obtener un buen resultado, aumentaría la duración del procedimiento adhesivo(1,3,9,12,17,36,38,47).

El interés por el estudio acerca del efecto del uso de AS y ESU como AA, incluidos cada uno en un adhesivo, radica en la posibilidad que estos agentes brindarían de realizar una restauración adherida en forma inmediata posterior a un tratamiento de blanqueamiento; simplificando el procedimiento sin afectar la resistencia de unión. De esta forma, se evita la realización de un paso clínico extra para aplicar el antioxidante, con lo cual se acortan los tiempos clínicos y se disminuyen las

chances de cometer errores. Esta posibilidad implica una gran ventaja cuando se considera el aspecto estético, ya que no sería necesario para el paciente permanecer por un período de tiempo con sus restauraciones adheridas incambiadas, y por tanto de un color diferente al que presentan sus piezas dentarias ya blanqueadas(1,3,40,17,19,20,24,35,36,38,39). Tanto en los casos de blanqueamiento domiciliario como en consultorio, la simplificación del procedimiento implica que se podría realizar el cambio de las restauraciones inmediatamente luego de terminado el tratamiento; en la misma sesión clínica.

6. Objetivos

Objetivo General

- 1) Evaluar el efecto de la incorporación de los antioxidantes ascorbato de sodio y extracto de semillas de uva en el primer de un sistema adhesivo experimental autoacondicionante de dos pasos, en la resistencia de unión inmediata de este sistema adhesivo a esmalte humano blanqueado con peróxido de carbamida al 45%.

Objetivos específicos

- 1) Formular un sistema adhesivo autoacondicionante experimental de dos pasos que incorpora AS en su primer.
- 2) Formular un sistema adhesivo autoacondicionante experimental de dos pasos que incorpora ESU en su primer.
- 3) Determinar el grado de conversión de los adhesivos experimentales.
- 4) Determinar la RUM inmediata, de los adhesivos experimentales formulados, al esmalte blanqueado.

7. Hipótesis Nula

La incorporación de AS o ESU en el primer de un sistema adhesivo autoacondicionante experimental de dos pasos, no afectará la RUM inmediata del mismo a esmalte humano blanqueado con peróxido de carbamida al 45%.

8. Materiales y Métodos

8.1. Tipo y diseño de estudio

Este es un estudio experimental (*in vitro*) y transversal. Cuenta con la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Odontología, Universidad de la República, Uruguay. Expediente N°091900-000189-18 (Anexo 1).

Todos los individuos que donaron sus piezas dentales para la realización de este estudio firmaron un consentimiento informado previo a la obtención y preparación de los mismos por parte del equipo de trabajo (Anexo 2).

En este estudio la resistencia de unión inmediata de un adhesivo experimental a esmalte humano blanqueado fue evaluada de acuerdo a los siguientes puntos: 1) tratamiento de blanqueamiento del esmalte en dos niveles, con y sin blanqueamiento; 2) sistema adhesivo en tres niveles: control, AS y ESU.

8.2. Formulación de los adhesivos experimentales

Fue formulado un sistema adhesivo experimental autoacondicionante de dos pasos formado por un primer y un adhesivo(57–59). Los componentes y porcentajes en peso de este sistema adhesivo están descritos en la Tabla 1.

Frasco	Componente	% en peso
Primer	GDMA-P	30
	HEMA	30
	Agua	20
	Etanol	20
Adhesivo	Bis-GMA	50
	TEGDMA	25
	HEMA	25
	Fotoiniciador (CQ, EDAB, DPHIHF)	0,4; 0,8; 0,8

GDMA-P: Glicerol dimetacrilato fosfato; HEMA: Hidroxietil metacrilato; Bis-GMA: Bisfenol A Glicerol dimetacrilato; TEGDMA: Trietilenglicol dimetacrilato; CQ: canforquinona; EDAB: etil-4-dimetil amino benzoato; DPHIHF: difeniliodonio hexafluorofosfato.

El primer de este sistema adhesivo experimental fue modificado mediante el agregado de los AA. El extracto de semillas de uva (Mega Natural Gold Grape Seed Extract, Polyphenolics, Madera, California, USA – Figura 1) (Anexo 3) se utilizó en una concentración del 10%. Para ello se incorporaron 0,5 g de ESU en 5 g de adhesivo. El ascorbato de sodio se utilizó al 15%, para lo cual se incorporaron 0,75 g de AS en 5 g de adhesivo(1,3,9,17,20,26,36–38,43–46). El AS fue provisto por el Laboratorio de la Cátedra de Productos Naturales y Farmacognosia, Facultad de Química, Universidad de la República (Merck KGaA, Darmstadt, Germany), ya que no se encuentra comercialmente disponible para uso clínico(53). Los AA fueron pesados en una balanza analítica OHAUS modelo Explorer® Semi Micro. Ambas mezclas se agitaron en una placa de agitación magnética (SCIENCE MED modelo SM-H380-PRO) durante 5 minutos. El procedimiento de mezcla fue llevado a cabo en una habitación oscura con la finalidad de evitar una polimerización prematura. Luego de la completa disolución de los AA, la mezcla se colocó en botellas oscuras que fueron colocadas en un baño ultrasónico (Soner 203 Ultrasonic cleaner, Rocker Scientific Co) durante 15 minutos con la finalidad de eliminar burbujas entrampadas en la mezcla. Un primer sin incorporación de antioxidantes fue utilizado como control.



Figura 1: Extracto de semillas de uva

8.3. Grado de conversión: C=C

Para medir el grado de conversión de dobles enlaces, y verificar que la incorporación del AA al primer no generaba interferencia en el grado de conversión del adhesivo, se utilizó un espectrofotómetro de infrarrojo (Prestige 21, Shimadzu, Tokio, Japón) equipado con una celda de reflectancia total atenuada (ATR). Se adaptó una matriz de silicona a la celda del equipo, se colocó una pequeña muestra del sistema adhesivo previamente mezclado y se tomó un espectro de infrarrojo. Posteriormente la muestra se irradió durante 30 segundos, previa colocación de una tira de poliéster y una lámina de vidrio sobre la misma. Esto permitió uniformizar la distancia de polimerización de las muestras. Por último se tomó otro espectro infrarrojo. El experimento se realizó tres veces para cada uno de los grupos experimentales (n=3).

En cada uno de los espectros se midió la altura de la banda de absorción del enlace C=C (carbono-carbono) alifático en 1638 cm^{-1} y la altura de la banda de absorción del enlace C=C aromático ubicado en 1609 cm^{-1} . Esta última banda de absorción es usada como referencia debido a que durante la reacción de polimerización no cambia la concentración de los dobles enlaces aromáticos y por lo tanto el porcentaje de absorbancia de dicha banda antes y después de la reacción de polimerización permanece constante. El porcentaje de conversión de dobles enlaces en el monómero se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Grado de conversión (\%)} = 100 \left(1 - \frac{\left(\frac{A_{1638}}{A_{1609}}\right)_{\text{polímero}}}{\left(\frac{A_{1638}}{A_{1609}}\right)_{\text{monómero}}} \right)$$

dónde: A1638 es la altura máxima de la banda a 1638 cm⁻¹, A1609 es la altura máxima de la banda a 1609 cm⁻¹(60).

8.4. Obtención de los especímenes

Los procedimientos de obtención, limpieza, almacenamiento y prueba de RUM de los órganos dentarios utilizados en este estudio fueron realizados siguiendo las recomendaciones de la norma ISO/TS11405:2003.

8.4.1. Criterios de selección de la muestra

8.4.1.1 Criterios de inclusión

Se utilizaron 42 terceros molares retenidos, con indicación clínica de extracción, procedentes de pacientes de entre 16 y 40 años que firmaron el consentimiento informado para dicho fin. El tamaño de la muestra (n=14) se estimó con base en un estudio previo que evaluó el efecto de la aplicación de diferentes sustancias antioxidantes en la resistencia de unión al cizallamiento a esmalte blanqueado(61). Tomando un cuenta un diseño de estudio comparativo con 6 grupos, una diferencia mínima detectable de 5,1 en las medias, una desviación estándar de 3,6, potencia de 0,8 y un $\alpha = 0,05$. Sólo se utilizaron piezas dentarias totalmente retenidas para garantizar la ausencia de variaciones o alteraciones vinculadas a la exposición al medio bucal, como por ejemplo diferencias en el grado de mineralización, fisuras, caries, entre otras; que pudieran provocar modificaciones en sus características. Por otro lado sólo se utilizaron molares extraídos de forma íntegra. Se limpiaron con cavitación ultrasónica eliminando restos de tejido adherido y pulpar, cuando correspondía, y se conservaron en agua destilada en refrigerador a una temperatura de 4°C, por un plazo igual o mayor a un mes y menor a los 6 meses entre su obtención y el comienzo de su preparación.

8.4.1.2 Criterios de exclusión

No se utilizaron terceros molares semi-retenidos ni aquellos que debieron ser seccionados para su extracción. Tampoco se utilizaron aquellos molares que no se pudieron mantener una vez extraídos en las condiciones antes especificadas.

8.4.2 Características de la muestra

El muestreo fue no probabilístico, por conveniencia y consecutivo, ya que se utilizaron aquellos molares que se obtuvieron dentro de los plazos establecidos. Se tuvieron en cuenta ciertos parámetros con la finalidad de reducir el riesgo de sesgo de este estudio(62–66). Para minimizar los sesgos generados por el muestreo no probabilístico, los molares se utilizaron en forma consecutiva, incluyendo todos aquellos que estaban accesibles como parte de la muestra. Los especímenes fueron asignados en forma aleatoria a los diferentes grupos experimentales, para lo cual se utilizó el sitio web randomizer.org, obteniéndose un listado aleatorio que fue respetado para realizar la asignación. Se incluyeron grupos control positivo (S-C_{TRL}) y negativo (C-C_{TRL}) para observar los resultados en relación a un parámetro de comparación(11,61,67).

8.4.3 Preparación de los especímenes

Las coronas fueron separadas de las raíces 1 mm por debajo del límite amelo-cementario con un disco de diamante. La porción coronaria fue luego seccionada mesio-distalmente de manera de obtener dos caras libres de esmalte por pieza, vestibular y lingual, para realizar los procedimientos de blanqueamiento y restauración, con un total de 84 especímenes y un n=14(1,9,17,24,33,36,38,68). Estas porciones coronarias fueron incluidas en un cilindro de resina acrílica de autocurado (JET, Clássico LTDA; SP, Brasil). Para ello, la pieza seccionada se colocó sobre una loseta de vidrio con la cara libre de esmalte hacia abajo y fijada a la misma por medio de una cinta adhesiva doble faz. Sobre el diente se colocó un molde de 2,5cm de diámetro por 1cm de altura abierto por ambos extremos que se llenó con la resina acrílica. Una vez polimerizada, se obtuvo un espécimen de forma cilíndrica donde quedó expuesta en uno de sus extremos la superficie adamantina sobre la que se realizaron los procedimientos. Esta superficie no debía sobresalir

de la resina acrílica más de 1 mm, de forma de evitar deformaciones en el momento de someterlo al test de resistencia de unión al microcizallamiento.

La superficie adamantina fue aplanada utilizando lija al agua con un grado de abrasividad equivalente a P600, a una velocidad de 350 RPM, durante 30 segundos; en una pulidora metalográfica de doble disco (J.P.S. Etudes Constructions; París, Francia; Laboratorio de laminación y molienda, Instituto de Ciencias Geológicas, Facultad de Ciencias, UdelaR) (Figura 2).



Figura 2: Pulidora metalográfica

8.5 Distribución de especímenes y procedimiento de blanqueamiento

Los 84 especímenes se numeraron secuencialmente y luego se distribuyeron aleatoriamente en 6 bloques (n=14) diferentes de acuerdo con el grupo para el que se utilizarían mediante el uso de un generador de números aleatorios (Research Randomizer 4.0; Geoffrey C. Urbaniak y Scott Plous) (Tabla 2).

Grupo 1 (S-C_{TRL}): no recibió tratamiento de blanqueamiento y se utilizó el adhesivo sin antioxidante. Grupo control.

Grupo 2 (S-AS): no recibió tratamiento de blanqueamiento y se utilizó el adhesivo con ascorbato de sodio 15% como agente antioxidante.

Grupo 3 (S-ESU): no recibió tratamiento de blanqueamiento y se utilizó el adhesivo con extracto de semillas de uva 10% como agente antioxidante.

Grupo 4 (C-C_{TRL}): se realizó blanqueamiento con peróxido de carbamida al 45% (Opalescence Quick PF, Ultradent Products, Inc, UT, USA) durante 30 minutos según las indicaciones del fabricante, simulando un tratamiento en consultorio (Anexo 4). El gel fue aplicado sobre la superficie dentaria y cubierto con film adherente imitando una cubeta individual. Cumplidos los 30 minutos, el gel fue removido con agua destilada. Se procedió inmediatamente a realizar la restauración como se detallará más adelante utilizando el adhesivo sin antioxidante.

Grupo 5 (C-AS): El procedimiento de blanqueamiento fue realizado como se describió anteriormente. Se procedió inmediatamente a realizar la restauración como se detallará más adelante utilizando el adhesivo con ascorbato de sodio 15% como agente antioxidante.

Grupo 6 (C-ESU): El procedimiento de blanqueamiento fue realizado como se describió anteriormente. Se procedió inmediatamente a realizar la restauración como se detallará más adelante utilizando el adhesivo con extracto de semillas de uva 10% como agente antioxidante.

Tabla 2. Distribución de los especímenes: grupos de estudio

GRUPO	BLANQUEAMIENTO	ADHESIVO
1: S-C_{TRL}	SIN blanqueamiento	Control
2: S-AS	SIN blanqueamiento	Ascorbato de sodio
3: S-ESU	SIN blanqueamiento	Extracto de semilla de uva
4: C-C_{TRL}	CON blanqueamiento	Control
5: C-AS	CON blanqueamiento	Ascorbato de sodio
6: C-ESU	CON blanqueamiento	Extracto de semilla de uva

8.6 Procedimiento restaurador

Inmediatamente luego de terminado el procedimiento de blanqueamiento, en los grupos 4, 5 y 6, la superficie adamantina fue grabada con gel de ácido fosfórico al

35% (Ultra Etch, Ultradent Products, Inc; South Jordan, UT, USA) durante 10 segundos, lavada con agua destilada durante 20 segundos y secada con aire libre de aceite durante 10 segundos(69,70).

El sistema adhesivo fue aplicado conforme el protocolo de aplicación de un adhesivo comercial (Clearfil SE, Kuraray) de iguales características al sistema adhesivo experimental formulado para este estudio. El primer se frotó sobre la superficie del esmalte durante 10 segundos, luego de lo cual se dejó actuar sobre dicha superficie durante 10 segundos más. Concluido este tiempo, se facilitó la evaporación del solvente residual con un chorro de aire durante 5 segundos. Luego se aplicó con cepillo aplicador una capa de adhesivo hidrofóbico, que se extendió con un chorro de aire y se polimerizó durante 10 segundos con una lámpara led (Radii-cal, SDI, Baywater, Victoria, Australia); previamente testada con el radiómetro (Ophir, Optronics; North Logan, UT, USA), $1000\text{mw}/\text{cm}^2$ (Anexo 5). El sistema adhesivo experimental fue aplicado de la misma forma tanto en los casos en que se utilizó como control, como en los casos en que se le incorporó ESU o AS. Se construyó un bloque de resina compuesta (Brilliant NG, Universal Duo-Shade Nano-Hybrid Composite, Coltene Whaledent; RJ, Brasil) cilíndrico de 1.5mm de diámetro por 1mm de altura utilizando una matriz de silicona de condensación, de manera de asegurar la uniformidad de sus dimensiones.

La resina compuesta fue colocada en un único incremento y cubierta por una tira de poliéster y luego una lámina de vidrio, cuya finalidad es evitar que se genere una capa inhibida por contacto con el oxígeno. Luego fue foto-polimerizada durante 20 segundos a una distancia constante de aproximadamente 1mm dado por el espesor de la tira de poliéster y del portaobjetos, ya que la fibra óptica de la lámpara de fotocurado fue colocada en cada caso en contacto con este último (Figura 3). El procedimiento restaurador fue realizado por un único operador con experiencia en dicha técnica restauradora para eliminar potenciales diferencias inter-operador. Los especímenes fueron luego almacenados durante 24 h a 37°C en agua destilada previo al testeo.

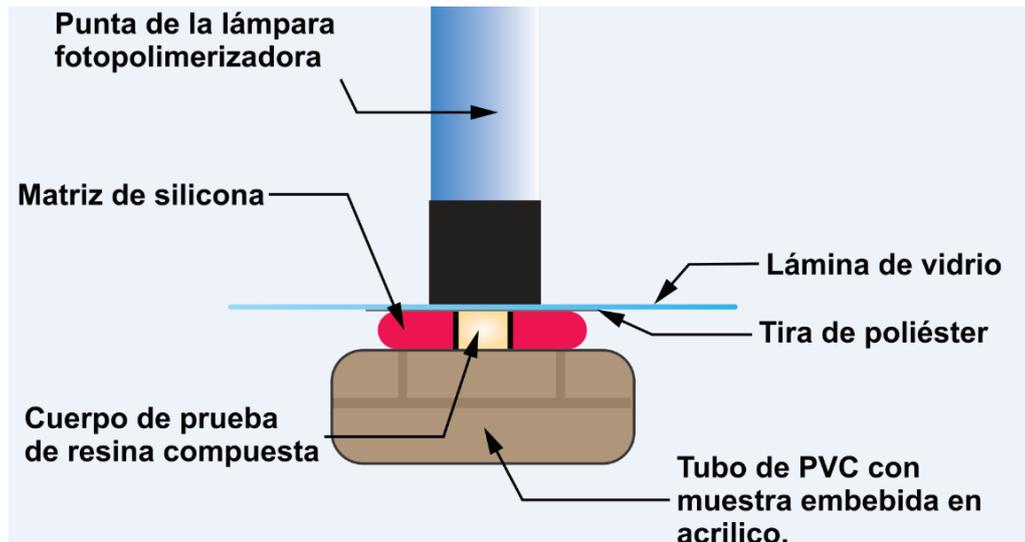


Figura 3: Esquema de polimerización

8.7 Test de resistencia de unión al microcizallamiento

Para las pruebas de cizallamiento, se siguieron las pautas de la norma ISO/TS11405:2003; respetándose todos los parámetros en ella especificados, excepto por la ejecución del test en sí mismo(16,35,43). Un alambre de ortodoncia de acero inoxidable (0.2 mm de diámetro) fue adaptado alrededor de cada uno de los cuerpos de prueba de resina compuesta y alineado con la superficie de unión. La resistencia al microcizallamiento fue evaluada en una máquina universal de ensayos mecánicos (EMIC DL 500, Instron Equipamentos Científicos Ltda; São José dos Pinhais, PR, Brasil) (Figura 4); que es calibrada anualmente. La prueba de cizallamiento fue realizada a una velocidad de 0.5mm/minuto, utilizando una celda de carga de 100 N, hasta la ruptura del espécimen. El operador de la máquina universal de ensayos mecánicos fue cegado a los grupos testeados.



Figura 4: Máquina universal de ensayos mecánicos

La resistencia de unión al cizallamiento se midió en MPa, y fue calculada utilizando la carga requerida (N) para despegar la resina compuesta y el área de la superficie adherida (mm^2); (Tensión=carga/área). El diagrama de flujo de la metodología se describe en la Figura 5.

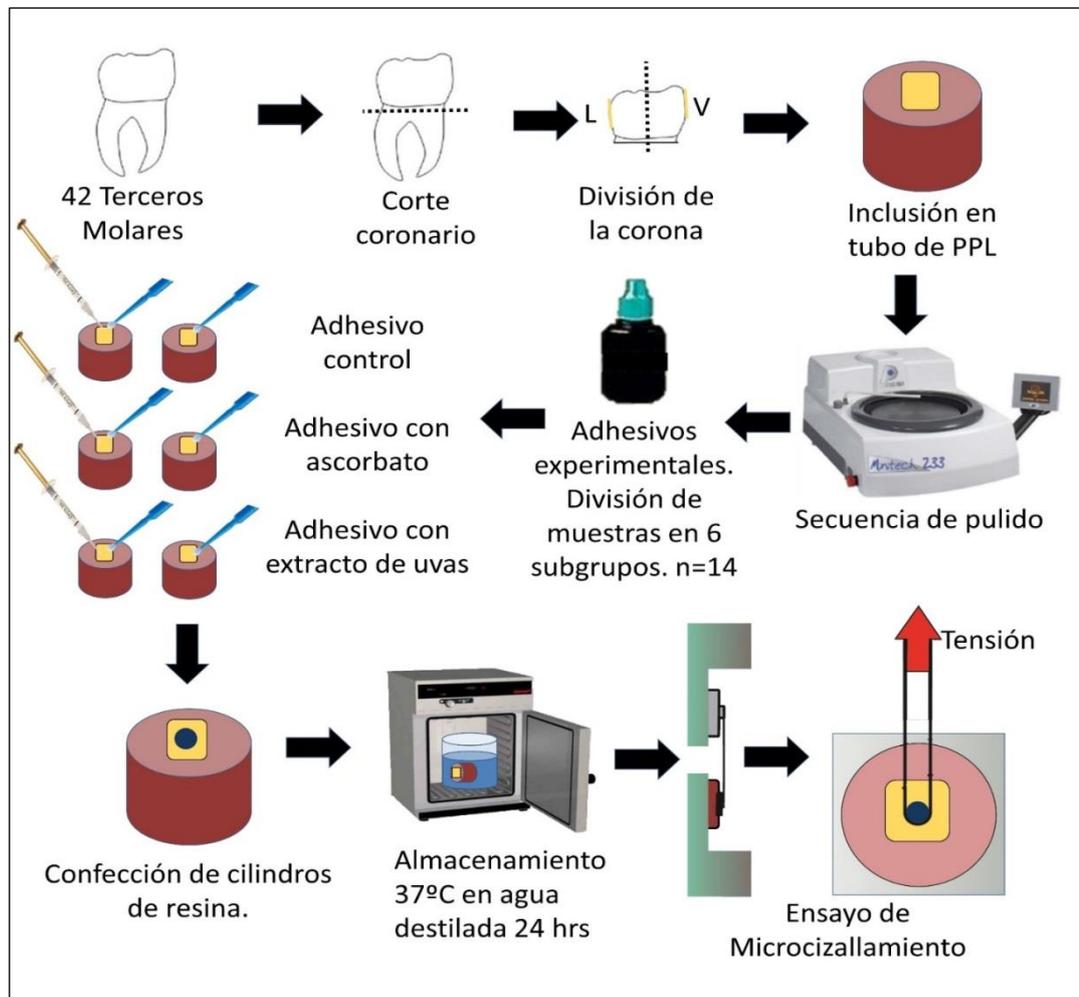


Figura 5: Esquema de metodología

8.8 Recolección de datos

La mayoría de las instancias experimentales se realizaron en el Centro de Desarrollo y Control de Biomateriales de la Facultad de Odontología, Universidad Federal de Pelotas, Pelotas, Brasil. Los datos fueron recolectados en una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2016 (Microsoft, Redmond, WA, USA).

La variable dependiente analizada en este estudio, resistencia de unión al microcizallamiento, es una variable cuantitativa continua.

Las variables independientes son: aplicación de agente blanqueador, que es si o no, e incorporación de AA al primer del sistema adhesivo, que nuevamente es si o no.

8.9 Análisis estadístico

Todas las pruebas estadísticas fueron realizadas con el programa SigmaPlot 12.0 (GmbH, Alemania). Los datos de la resistencia de unión al cizallamiento obtenidos para cada uno de los grupos fueron previamente analizados para comprobar la normalidad y homocedasticidad de los mismos. Con esta finalidad se realizaron los test de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Luego de comprobar la normalidad y homocedasticidad de los datos se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de dos vías, para evaluar el efecto de las variables independientes (blanqueamiento y adhesivo) en la resistencia de unión al cizallamiento. Las comparaciones múltiples fueron realizadas a través del test de Tukey. Se calcularon los desvíos estándar y los coeficientes de variación. Para todos los análisis estadísticos se utilizó un nivel de significancia de $\alpha=0,05$.

9. Resultados

Tabla 3. Resultados de grado de conversión

Grupo	Media	DE
Control	67,31 ^a	0,09
Extracto Comercial	64,66 ^a	3,2
Ascorbato de Sodio	61,87 ^a	3,46

Letras iguales significan que no hay diferencia estadísticamente significativa

En la tabla 3 se muestran los resultados del grado de conversión de los materiales evaluados. El adhesivo experimental formulado tuvo un grado de conversión de 67,31%. Este valor es comparable al valor obtenido en estudios previos que incluyen adhesivos comerciales y experimentales (71–75). Como se puede observar, la incorporación de los AA no generó una diferencia estadísticamente significativa en el grado de conversión, observándose valores de p mayores a 0,05.

Tabla 4. Resultados de Resistencia de Unión al Microcizallamiento de los diferentes grupos evaluados (MPa)

Adhesivo	Sin blanqueamiento	Con blanqueamiento	p = 0,014*
C_{TRL}	A34,67 (8,79) ^a	A 29,48 (6,94) ^a	
ESU	A35,62 (12,03) ^a	B 23,19 (12,5) ^{ab}	
AS	A16,17 (7,74) ^b	A 16,59 (12,69) ^b	
p < 0,001**			p = 0,074***
Diferentes letras mayúsculas (líneas) y minúsculas (columnas) indican diferencias estadísticamente significativas (p < 0,05). *Valor de p para el factor blanqueamiento. **Valor de p obtenido para el factor adhesivo. ***Valor de p obtenido para la interacción blanqueamiento vs adhesivos			

La Tabla 4 muestra los valores de RUM en Mega Pascales (MPa) en función del blanqueamiento y el adhesivo utilizado. De acuerdo al análisis estadístico, la resistencia de unión al cizallamiento fue significativamente influenciada por el blanqueamiento ($p = 0,014$) y el tipo de adhesivo utilizado ($p < 0,001$); sin embargo, la interacción entre ambos factores no fue significativa ($p = 0,074$).

Entre los grupos donde no fue realizado el blanqueamiento previo a la realización de los procedimientos restauradores, el grupo donde se utilizó el adhesivo modificado con AS fue el que presentó valores de RUM significativamente menores ($p < 0,001$). La diferencia para este parámetro entre el grupo C_{TRL} y ESU no fue estadísticamente significativa ($p = 0,968$).

Por otro lado, para los grupos donde se realizó el blanqueamiento previo a la realización de las restauraciones, comparado con el grupo control, el grupo restaurado con el adhesivo con AS obtuvo un valor de RUM significativamente menor ($p = 0,004$).

Considerando el factor blanqueamiento, el único grupo donde este factor fue significativo fue donde se aplicó el sistema adhesivo con ESU en su composición ($p = 0,002$). La diferencia entre los grupos C_{TRL} y AS no fue estadísticamente significativa ($p = 0,191$ y $0,153$, respectivamente).

10. Discusión

En el presente estudio, la resistencia de unión al cizallamiento entre un sistema adhesivo y esmalte humano fue evaluada tomando en consideración el blanqueamiento previo o no del esmalte, así como la incorporación de dos antioxidantes distintos a la formulación de un sistema adhesivo experimental autoacondicionante de dos pasos. De acuerdo con los resultados, la RUM fue significativamente influenciada por la incorporación de ascorbato de sodio al adhesivo. Este grupo presentó valores significativamente menores. En cuanto al ESU, su incorporación al adhesivo no afectó la RUM. Considerando esto, la hipótesis nula testeada en este estudio fue parcialmente rechazada.

Es bien conocido que los radicales libres a través de los cuales se logra el blanqueamiento dental disminuyen la resistencia de la unión adhesiva en forma significativa (8,9,19,24,30,36,38–41). En contraste con varios estudios previos(3,15,32,34), en este estudio el proceso de blanqueamiento no disminuyó significativamente la RUM lo que se evidencia cuando se comparan los valores obtenidos en los grupos control. Es posible que el agente blanqueador utilizado en este estudio (PC 45%) no genere una alta concentración de estos radicales, ya que una concentración dada de peróxido de carbamida está compuesta por 3,5 partes de PH y 6,5 partes de urea, motivo por el cual el agente antioxidante no genera un cambio significativo en los valores de resistencia de la unión(76,77). Además el PC libera el principio activo en forma más lenta, y dado que el tiempo de aplicación del AB fue de 30 minutos, se podría pensar que este tiempo no fue suficiente para permitir la liberación una cantidad de radicales libres tal, que condujera a una disminución en la RUM(78). Es por esto que las conclusiones que se pueden obtener a partir de los resultados de este estudio están limitadas.

Debido a que se ha vuelto más frecuente combinar restauraciones adheridas con procedimientos de blanqueamiento dental(34), se ha propuesto la utilización de AA para posibilitar la realización del procedimiento adhesivo inmediatamente posterior al blanqueamiento(8,10). Los AA absorben los radicales libres de oxígeno liberados por los peróxidos aumentando el potencial de óxido reducción de la superficie libre del esmalte, facilitando de esta forma la polimerización de los radicales libres presentes en la resina(5,10,36). Estos AA pueden ser sintéticos como el AS(35), o de origen natural como el ESU(5,34). Mientras que el AS es inestable(5), tiene una vida útil reducida y resulta mutagénico para las células somáticas de los mamíferos; el ESU no presenta estas desventajas(1,11,24,47). A esto se suma que presenta una potencia antioxidante 50 veces mayor que la de la vitamina C, de la cual deriva

el AS(27,31). Hasta ahora los AA han sido incorporados al procedimiento restaurador adhesivo en forma de solución, y como un paso previo al mismo, lo que requiere de la colocación del agente y la espera de un lapso de tiempo, en general de 10 minutos(48), luego del cual se enjuaga el agente antioxidante y se prosigue con la adhesión en sí misma(1,3,9,17,20,26,36–38,43–46). Esta forma de uso agrega un paso clínico al procedimiento adhesivo, lo que lo vuelve una técnica más sensible aún, aumentando las posibilidades de cometer errores, y alargando los tiempos clínicos, volviéndolos no realistas(54). Por esta razón, en estudio se decidió incorporar los antioxidantes al primer del sistema adhesivo y determinar si esta técnica, hasta ahora no utilizada, resultaba efectiva a la hora de eliminar radicales libres para promover una unión adhesiva con valores de resistencia adecuados(61,79). En una primera etapa se valoró el grado de conversión del adhesivo experimental observándose un grado de conversión del 60%, comparable con el de algunos adhesivos comerciales (Clearfil SE, Kuraray 63%)(60,80). Una vez incorporados los AA (AS y ESU) al adhesivo experimental se volvió a estudiar este parámetro, con la finalidad de determinar si dicha modificación producía alguna alteración en el grado de conversión. Se observó que no había diferencias estadísticamente significativas en el parámetro estudiado, por lo cual se determinó que la incorporación de los antioxidantes no alteraba el grado de conversión del adhesivo.

En función de los resultados obtenidos, la incorporación de ESU al adhesivo experimental no disminuyó la RUM. Esto surge de comparar los grupos no blanqueados donde se probó el adhesivo con y sin ESU, en donde no se observó una diferencia estadísticamente significativa entre ellos (S-C_{TRL} 34,675±8,79; S-ESU 35,628±12,03). Se podría pensar que el ESU no interfiere con el procedimiento adhesivo. Sin embargo, cuando se consideran los grupos donde se utilizó ESU, la RUM fue significativamente menor en el grupo con blanqueamiento previo. Dado que el blanqueamiento per se no tuvo el mismo efecto en los grupos control, parece existir una interacción desfavorable entre esta formulación del adhesivo y los radicales generados por el blanqueamiento.

Se utilizó ESU dado que en estudios previos fue capaz de mejorar(1,3,11,17,29,31,47) e incluso restaurar la RUM(14,20,26,27,34,36,56). Sin embargo, en este estudio el ESU no fue capaz de mejorar los valores de la RUM luego del blanqueamiento, lo que surge de comparar los grupos S-ESU (35,628±12,03) y C-ESU (23,199±12,503). Este resultado concuerda con el obtenido en el estudio de Sharafeddin y col. (38). Esto podría deberse a que, a diferencia de los estudios previos, el ESU fue aplicado utilizando el primer del

sistema adhesivo como vehículo lo que implica una limitación en el tiempo de contacto (20 segundos contra 10 minutos en los estudios previos) y posibles interacciones químicas con los componentes del primer. Según Dhingra y col.(47) el agente antioxidante debe ser aplicado por un tiempo no menor a un tercio del tiempo de aplicación del agente blanqueador; de ahí que la mayoría de los estudios apliquen el agente antioxidante como un paso previo, y por un lapso no menor a 10 minutos. Estos resultados deben ser considerados con precaución debido a que la estrategia de blanqueamiento utilizada no disminuyó significativamente la RUM en los grupos control, por lo cual podría tratarse de un falso negativo.

En los estudios reportados anteriormente, el ESU se utilizó en concentraciones que varían entre 5%(9,14,17,20,26,27,29,36,56), 6,5%(3,34,47) y 10%(1,11,31,38). En este estudio se utilizó el ESU al 10% por ser esta la mayor concentración probada con buenos resultados, de manera de intentar compensar su limitado tiempo de acción.

Si bien los estudios hasta ahora realizados hablan del uso de proantocianidinas como agente antioxidante(3,20,26,27,29,34,47,56), al revisar la metodología se constata que utilizan extracto de semillas de uva en solución. Este extracto está compuesto en un 98% por CPO(34,36), pero contiene otros componentes. Es por esta razón que se comenzó con un proceso de purificación y caracterización del ESU de que se disponía (complemento dietario) para poder utilizar CPO y controlar las posibles interacciones químicas. Sin embargo, esto no fue posible debido a la limitación de tiempo y cantidades de extracto necesarias. Este procedimiento fue realizado en el Laboratorio de la Cátedra de Farmacognosia y Productos naturales de la Facultad de Química, Universidad de la República, y se detalla en el Anexo 6. En este estudio se utilizó el AS como parámetro de comparación, ya que este agente antioxidante es uno de los más evaluados en la literatura y es considerado el estándar de oro(35,37,48). En estudios preexistentes en donde este agente fue utilizado como un paso previo al procedimiento adhesivo se obtuvieron buenos resultados en relación a la resistencia de la unión, que en algunos casos fue mejorada(44,48,52,81) y en otros restaurada al nivel del control sin blanqueamiento(44,48).

A diferencia de los estudios antes mencionados, en este estudio el AS fue incorporado en el primer del sistema adhesivo. Según los resultados obtenidos esta estrategia no fue efectiva. Por un lado, parece haber alterado el adhesivo, lo que se evidencia en los valores de la resistencia de la unión cuando se comparan los grupos que no recibieron blanqueamiento y se observa que cuando se utilizó el

primer sin antioxidante ($34,675 \pm 8,79$) la resistencia de la unión fue significativamente mayor que cuando se incorporó AS al primer ($16,175 \pm 7,744$).

Por otro lado, cuando se utilizó el primer con AS incorporado sobre el esmalte blanqueado no hubo mejorías en la RUM. Esto coincide con los resultados obtenidos en estudios previos ($67,68,81$).

Un factor que puede incidir es el tiempo de contacto del AS con el esmalte blanqueado. Este tiempo estuvo limitado por la forma en que fue utilizado y fue de 20 segundos. Estudios previos han reportado que la aplicación de AS durante 10 minutos es efectiva para aumentar (48) e incluso restituir la RUM disminuida (31), y que aumentando el tiempo de aplicación con un tope en 120 minutos aumenta la RUM (46). En este estudio se utilizó una concentración de AS de 15%. Según estudios previos el AS en concentraciones inferiores a 10% no puede restituir la RUM disminuida; mientras que a su vez concentraciones mayores a 20% no llevan a mejores resultados (52).

A futuro se podría experimentar con el uso de otro agente blanqueador, así como con diferentes AA. Además, el análisis del tipo de falla (adhesiva o cohesiva) podría arrojar luz acerca de una posible alteración del primer al incorporarle los AA. Esto permitiría determinar si la falla se da a nivel del adhesivo o no; constituyendo una limitación de este estudio. Por otro lado, si se lograra formular un sistema adhesivo que incorporado el antioxidante diera buenos resultados, se debería investigar acerca de la vida útil y condiciones de almacenamiento del mismo. En este estudio no se evaluó el comportamiento en el tiempo (envejecimiento) del adhesivo. Si bien los valores de RUM pueden ser bajos, estos podrían ser estables en el tiempo.

Según la bibliografía consultada, no existen estudios clínicos que prueben el uso de antioxidantes en forma inmediatamente posterior al blanqueamiento, lo que puede deberse a la inconsistencia de los resultados obtenidos en los estudios *in vitro* hasta ahora realizados y a la diversidad de las metodologías empleadas.

11. Conclusiones

Según los resultados de este estudio el peróxido de carbamida al 45% utilizado durante 30 minutos no disminuyó la RUM cuando el procedimiento adhesivo fue realizado inmediatamente posterior al blanqueamiento.

La incorporación de ESU al primer del adhesivo experimental no afectó los valores de RUM logrados con este adhesivo. Por el contrario, la incorporación de AS perjudicó el desempeño del adhesivo.

Dentro de las limitaciones de este estudio, el ESU incorporado en el agente adhesivo no fue capaz de mejorar los valores de RUM posterior al blanqueamiento. Dado que podría tratarse de un falso negativo debido a que el agente blanqueador utilizado no disminuyó significativamente la RUM, podrían llevarse a cabo nuevos estudios que utilicen agentes blanqueadores que generen mayor concentración de radicales libres.

12. Referencias

1. Subramonian R, Mathai V, Angelo J, Ravi J. Effect of three different antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2015;18(2):144–8.
2. Güleç Alagöz L, Karadağlıoğlu İ, Ulusoy N. Antioxidants used in restorative dentistry. *Cyprus J Med Sci*. 2019;4(2):141–5.
3. Arumugam MT, Nesamani R, Kittappa K, Sanjeev K, Sekar M. Effect of various antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2014;17(1):22–6.
4. Khamverdi Z, Rezaei-Soufi L, Kasraei S, Ronasi N, Rostami S. Effect of epigallocatechin gallate on shear bond strength of composite resin to bleached enamel: an in vitro study. *Restor Dent Endod*. 2013 Nov;38(4):241–7.
5. Lopes MB, Felizardo KR, Brigantini LC, Berger SB, Laxe LAC, Salvio LA. Influence of antioxidants on bond strength of bleached dental substrates. 1 Lopes MB, Felizardo KR, Brigantini LC, Berger SB, Laxe LAC, Salvio LA Influ antioxidants Bond strength Bleach Dent substrates HU Rev 2018;44(1)63–76 HU Rev. 2018;44(1):63–76.
6. Carey CM. Tooth whitening: What we now know. *J Evid Based Dent Pract*. 2014;14(1):70–6.
7. Joiner A. The bleaching of teeth: A review of the literature. *J Dent*. 2006;34(7):412–9.
8. Rana R, Kaushik M, Sharma R, Reddy P, Mehra N. Comparative evaluation of effects of natural antioxidants on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel. *Indian J Dent Res*. 2019;30(1):112–6.
9. Aulakh GS, Sharma P, Juneja A, Kumar P. Effect of grape seed extract and sodium ascorbate solution on the shear bond strength of ceramic brackets bonded to bleached enamel. *J Dent Spec*. 2016;4(2):108–12.
10. Nari-Ratih D, Widyastuti A. Effect of antioxidants on the shear bond strength of composite resin to enamel following extra-coronal bleaching. *J Clin Exp Dent*. 2019;11(2):126–32.
11. Mohan M, Sudha K, Malini DL, Bindhu MS. Effect of three different antioxidants on shear bond strength of composites to bleached enamel-An in vitro study. *Indian J Dent Adv*. 2017;9(1):3–7.
12. Patil J, Reddy A, Shome Venigalla B, Shekar K, Ravichandra C, Binoy D.

- Effect of different concentrations of carbamide peroxide and green tea extract on the color and shear bond strength of enamel-an in vitro study. *Endodontology*. 2015;27(2):129–35.
13. Sharafeddin F, Mehran M, Shiva M. Effect of immediate application of pomegranate peel, grape seed and green tea extracts on shear bond strength of in-office bleached enamel. *Res J Biol Sci*. 2013;8(3):83–7.
 14. Nair M, Nesamani R, Sanjeev K, Sekar M, Renganathan S. Effect of single and two step application of antioxidant incorporated bleaching agents on bond strength of resin composite and surface changes in enamel. *Biol Med*. 2016;8(7):1–5.
 15. Kavitha M, Selvaraj S, Khetarpal A, Raj A, Pasupathy S, Shekar S. Comparative evaluation of superoxide dismutase, alpha-tocopherol, and 10% sodium ascorbate on reversal of shear bond strength of bleached enamel: An in vitro study. *Eur J Dent*. 2016;10(1):109–15.
 16. Sultan MS, Elkorashy ME. Influence of natural antioxidants on microshear bond strength to bleached enamel: chemical versus laser assisted bleaching. *Egypt Dent J*. 2017;63(2):419–27.
 17. Mukka PK, Komineni NK, Pola S, Soujanya E, Karne AR, Nenavath B, et al. An in-vitro comparative study of shear bond strength of composite resin to bleached enamel using three herbal antioxidants. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(10):89–92.
 18. Alqahtani MQ. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *Saudi Dent J*. 2014;26(2):33–46.
 19. Ozelin AA, Guiraldo RD, De Carvalho RV, Lopes MB, Berger SB. Effects of green tea application time on bond strength after enamel bleaching. *Braz Dent J*. 2014;25(5):399–403.
 20. Vidhya S, Srinivasulu S, Sujatha M, Mahalaxmi S, Sujatha M, Mahalaxmi S. Effect of grape seed extract on the bond strength of bleached enamel. *Oper Dent*. 2011;36(4):433–8.
 21. Eimar H, Siciliano R, Abdallah MN, Nader SA, Amin WM, Martinez PP, et al. Hydrogen peroxide whitens teeth by oxidizing the organic structure. *J Dent*. 2012;40(2):25–33.
 22. Dahl JE, Pallesen U. Bleaching Biological Aspects. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003;14(4):292–304.
 23. Minoux M, Serfaty R. Vital tooth bleaching: biologic adverse effects-a review. *Quintessence Int (Berl)*. 2008;39(8):645–59.
 24. Aksakalli S, Ileri Z, Karacam N. Effect of pine bark extract on bond strength of

- brackets bonded to bleached human tooth enamel. *Acta Odontol Scand*. 2013;71:1555–9.
25. Titley K, Torneck C, Smith D, Chernecky R, Adibfar A. Scanning electron microscopy observations on the penetration and structure of resin tags in bleached and unbleached bovine enamel. *J Endod*. 1991;17(2):72–5.
 26. Abraham S, Ghonmode WN, Saujanya KP, Jaju N, Tambe VH, Yawalikar PP. Effect of grape seed extracts on bond strength of bleached enamel using fifth and seventh generation bonding agents. *J Int Oral Heal*. 2013;5(6):101–7.
 27. Manoharan M, Shashibhushan KK, Poornima P, Naik S, Patil D, Shruthi AS, et al. Effect of newer antioxidants on the bond strength of composite on bleached enamel. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2016;34(4):391–6.
 28. Grazioli G, Valente LL, Isolan CP, Pinheiro HA, Duarte CG, Münchow EA. Bleaching and enamel surface interactions resulting from the use of highly-concentrated bleaching gels. *Arch Oral Biol*. 2018;87:157–62.
 29. Bansal M, Kaur P, Cyriac AR, Kadian N, Jaiswal P, Rathee K. Impact of different antioxidants on the bond strength of resin-based composite on bleached enamel-an in vitro study. *J Contemp Dent Pract*. 2019;20(1):64–70.
 30. Feiz A, Mosleh H, Nazeri R. Evaluating the effect of antioxidant agents on shear bond strength of tooth-colored restorative materials after bleaching: A systematic review. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2017 Jul;71(March):156–64.
 31. Gogia H, Taneja S, Kumar M, Soi S. Effect of different antioxidants on reversing compromised resin bond strength after enamel bleaching: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2018;21(1):100–4.
 32. Kadiyala A, Saladi HK, Bollu IP, Burla D, Ballullaya SV, Devalla S, et al. Effect of different antioxidants on shear bond strength of composite resins to bleached human enamel. *J Clin Diagnostic Res*. 2015;9(11):40–3.
 33. Suneetha R, Pavithra S, Thomas J, Nanga GSP, Shiromany A, Shivrayan A. An in vitro comparative study of shear bond strength of composite resin to bleached enamel using synthetic and herbal antioxidants. *J Int Oral Heal*. 2014;6(6):77–81.
 34. Nair R, Bandhe S, Ganorkar OK, Saha S, Sial S, Nair A. A comparative evaluation of the three different antioxidant treatments on the bond strength of composite resin to bleached enamel: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2019;22(1):82–6.
 35. De Carvalho HC, Guiraldo RD, Poli-Frederico RC, Maciel SM, Moura SK, Lopes MB, et al. Correlation between antioxidant activity and bonding strength on bleached enamel. *Acta Biomater Odontol Scand*. 2016;2(1):102–

- 7.
36. Khamverdi Z, Khadem P, Soltanian A, Azizi M. In-vitro evaluation of the effect of herbal antioxidants on shear bond strength of composite resin to bleached enamel. *J Dent (Tehran)*. 2016 Aug;13(4):244–51.
 37. Lai S, Tay F, Cheung G, Mak Y, Carvalho R, Wei S, et al. Reversal of Compromised Bonding in Bleached Enamel. *J Dent Res*. 2002;81(7):477–81.
 38. Sharafeddin F, Farshad F. The effect of aloe vera, pomegranate peel, grape seed extract, green tea, and sodium ascorbate as antioxidants on the shear bond strength of composite resin to home-bleached enamel. *J Dent (Shīrāz, Iran)*. 2015;16(4):296–301.
 39. Sharafeddin F, Farshad F, Azarian B, Afshari A. Effect of green tea extract as antioxidant on shear bond strength of resin composite to in-office and home-bleached enamel. *J Dent Biomater*. 2016 Sep;3(3):269–75.
 40. Da Silva JMG, Botta AC, Barcellos DC, Pagani C, Torres CRG. Effect of antioxidant agents on bond strength of composite to bleached enamel with 38% hydrogen peroxide. *Mater Res*. 2011;14(2):235–8.
 41. Dishman M V., Covey DA, Baughan LW. The effects of peroxide bleaching on composite to enamel bond strength. *Dent Mater*. 1994;10(1):33–6.
 42. Berger SB, De Souza Carreira RP, Guiraldo RD, Lopes MB, Pavan S, Giannini M, et al. Can green tea be used to reverse compromised bond strength after bleaching? *Eur J Oral Sci*. 2013;121(4):377–81.
 43. Lima Fonseca A, Fonseca da Silva M, Freitas Santiago M, Palialol Muniz AR, Aguiar Baggio FH, Marchi GM. Effect of bleaching treatment and reduced application time of an antioxidant on bond strength to bleached enamel and subjacent dentin. *J Adhes Dent*. 2011;13(13):537–42.
 44. Türkün M, Celik EU, Kaya AD, Arici M. Can the hydrogel form of sodium ascorbate be used to reverse compromised bond strength after bleaching? *J Adhes Dent*. 2009;11(1):35–40.
 45. Ismail EH, Kilinc E, Hardigan PC, Rothrock JK, Thompson JY, Garcia-Godoy C. Effect of two-minute application of 35% sodium ascorbate on composite bond strength following bleaching. *J Contemp Dent Pract*. 2017;18(10):874–80.
 46. Dabas D, Uppin V, Patil A. Evaluation of the effect of concentration and duration of application of sodium ascorbate hydrogel on the bond strength of composite resin to bleached enamel. *J Conserv Dent*. 2011;14(4):356.
 47. Dhingra A, Gupta AK, Minocha A, Sen N. Comparative evaluation of immediate bond strength to bleached enamel following application of various

- antioxidant solutions. *Dent J Adv Stud*. 2017;5(2):84–9.
48. Türkün M, Kaya AD. Effect of 10% sodium ascorbate on the shear bond strength of composite resin to bleached bovine enamel. *J Oral Rehabil*. 2004;31(12):1184–91.
 49. Alencar MS, Bombonatti JFS, Maenoso RM, Soares AF, Wang L, Mondelli RFL. Effect of two antioxidants agents on microtensile bond strength to bleached enamel. *Braz Dent J*. 2016;27(5):532–6.
 50. Kunt GE, Yılmaz N, Şen S, Dede D ömür. Effect of antioxidant treatment on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel. *Acta Odontol Scand*. 2011;69(5):287–91.
 51. Freire A, Souza EM, Caldas DB de M, Rosa EAR, Bordin CFW, de Carvalho RM, et al. Reaction kinetics of sodium ascorbate and dental bleaching gel. *J Dent*. 2009;37(12):932–6.
 52. Kimyai S, Valizadeh H. The effect of hydrogel and solution of sodium ascorbate on bond strength in bleached enamel. *Oper Dent*. 2006;31(4):496–9.
 53. Garcia EJ, Mena-Serrano A, Mello De Andrade A, Reis A, Helena R, Grande M, et al. Immediate bonding to bleached enamel treated with 10% sodium ascorbate gel: a case report with one-year follow-up. *Eur J Esthet Dent*. 2012;7:154–62.
 54. Epasinghe DJ, Yiu CKY, Burrow MF, Tay FR, King NM. Effect of proanthocyanidin incorporation into dental adhesive resin on resin-dentine bond strength. *J Dent*. 2012;40(3):173–80.
 55. Castellan CS, Bedran-Russo AK, Karol S, Pereira PNR. Long-term stability of dentin matrix following treatment with various natural collagen cross-linkers. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2011;4(7):1343–50.
 56. Lokhande P, Manne D, Shivanna V, Nishad SV. Evaluation of 5% proanthocyanidin and 30% alpha-tocopherol on shear bond strength of composite to bleached enamel: An In vitro study. *J Dent Res Rev*. 2019;5(4):128–31.
 57. Moreira AG, Cuevas-Suárez CE, da Rosa WL de O, Ogliari AO, Petzhold CL, Piva E, et al. Piperonyl methacrylate: copolymerizable coiniciator for adhesive compositions. *J Dent*. 2018;79:31–8.
 58. Leal FB, Lima GS, Collares FM, Samuel SM, Petzhold CL, Piva E, et al. Iodonium salt improves the dentin bonding performance in an experimental dental adhesive resin. *Int J Adhes Adhes*. 2012;38:1–4.
 59. Fontes ST, Ogliari FA, Lima GS, Bueno M, Schneider LFJ, Piva E.

- Tetrahydrofuran as alternative solvent in dental adhesive systems. *Dent Mater.* 2009;25(12):1503–8.
60. Herrera-González AM, Caldera-Villalobos M, Pérez-Mondragón AA, Cuevas-Suárez CE, González-López JA. Analysis of double bond conversion of photopolymerizable monomers by FTIR-ATR spectroscopy. *J Chem Educ.* 2019;96(8):1786–9.
 61. Elawsya ME, El-shehawy TM, Zaghloul NM. Influence of various antioxidants on micro-shear bond strength of resin composite to bleached enamel. *J Esthet Restor Dent.* 2020;(April):1–9.
 62. Cavalcanti A, Arias V, Martins C, Marchi G, Pimenta L, Bovi G. Variability of shear and microtensile bond strength tests to enamel and dentin. *Rev odonto ciênc.* 2009;24(3):305–8.
 63. Sarkis-Onofre R, Skupien JA, Cenci MS, Moraes RR, Pereira-Cenci T. The role of resin cement on bond strength of glass-fiber posts luted into root canals: A systematic review and metaanalysis of in vitro studies. *Oper Dent.* 2014;39(1):31–44.
 64. Romano F, Ambrosano G, Magnani M, Nouer D. Analysis of the coefficient of variation in shear and tensile bond strength tests. *J Appl Oral Sci.* 2005;13(3):243–6.
 65. Lenzi TL, Gimenez T, Tedesco TK, Mendes FM, Rocha RDEO, Ocida DPR. Adhesive systems for restoring primary teeth : a systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *Int J Pediatr Dent.* 2016;26:364–76.
 66. Da Rosa WL de O, Piva E, Da Silva AF. Bond strength of universal adhesives: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2015;43(7):765–76.
 67. Torres C, Koga A, Borges A. The effects of anti-oxidant agents as neutralizers of bleaching agents on enamel bond strength. *Brazilian J Oral Sci.* 2006;5(16):971–6.
 68. Kimyai S, Oskoe S, Rafighi A, Valizadeh H, Ajami A, Zadeh Z. Comparison of the effect of hydrogel and solution forms of sodium ascorbate on orthodontic bracket-enamel shear bond strength immediately after bleaching: An in vitro study. *Indian J Dent Res.* 2010;21(1):54–8.
 69. Cuevas-Suárez CE, da Rosa WL de O, Lund RG, da Silva AF, Piva E. Bonding performance of universal adhesives: An updated systematic review and meta-analysis. *J Adhes Dent.* 2019;21(1):7–26.
 70. Takamizawa T, Barkmeier WW, Tsujimoto A, Endo H, Tsuchiya K, Erickson RL, et al. Influence of pre-etching times on fatigue strength of self-etch

- adhesives to enamel. *J Adhes Dent*. 2016;18(6):501–11.
71. Almeida SM, Meereis CTW, Leal FB, Carvalho R V., Boeira PO, Chisini LA, et al. Evaluation of alternative photoinitiator systems in two-step self-etch adhesive systems. *Dent Mater* [Internet]. 2019;1–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.11.008>
 72. Arrais CAG, Pontes FM, dos Santos LPS, Leite ER, Giannini M. Degree of conversion of adhesive systems light-cured by LED and halogen light. *Braz Dent J*. 2007;18(1):54–9.
 73. Marques De Melo R, Bottino MA, Galvão RKH, Soboyejo WO. Bond strengths, degree of conversion of the cement and molecular structure of the adhesive-dentine joint in fibre post restorations. *J Dent*. 2012;40:286–94.
 74. Carvalho RM, Manso AP, Geraldeli S, Tay FR, Pashley DH. Durability of bonds and clinical success of adhesive restorations. *Dent Mater*. 2012;28:72–86.
 75. Navarra CO, Cadenaro M, Frassetto A, Fontanive L, Di Lenarda R, Breschi L. Degree of conversion of self-etch adhesives: In situ Micro-Raman analysis. *Oper Dent*. 2016;41(5):501–10.
 76. Li Y, Greenwall L. Safety issues of tooth whitening using peroxide-based materials. *Br Dent J*. 2013;215(1):29–34.
 77. Rodríguez-Martínez J, Valiente M, Sánchez-Martín MJ. Tooth whitening: From the established treatments to novel approaches to prevent side effects. *J Esthet Restor Dent*. 2019;31(5):431–40.
 78. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully Cbe C. Hydrogen peroxide tooth-whitening (bleaching) products: Review of adverse effects and safety issues. *Br Dent J*. 2006;200(7):371–6.
 79. Kiremitçi A, Yalçın F, Gökalp S. Bonding to enamel and dentin using self-etching adhesive systems. *Quintessence Int*. 2004;35(5):367–70.
 80. Cuevas-Suárez CE, Ramos TS, Rodrigues SB, Collares FM, Zanchi CH, Lund RG, et al. Impact of shelf-life simulation on bonding performance of universal adhesive systems. *Dent Mater* [Internet]. 2019;35(9):e204–19. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dental.2019.05.023>
 81. Sasaki RT, Flório FM, Basting RT. Effect of 10% sodium ascorbate and 10% α -tocopherol in different formulations on the shear Bond strength of enamel and dentin submitted to a home-use bleaching treatment. *Oper Dent*. 2009;34(6):746–52.
 82. Cuevas-Rodríguez EO, Yousef GG, García-Saucedo PA, López-Medina J, Paredes-López O, Lila MA. Characterization of anthocyanins and

proanthocyanidins in wild and domesticated mexican blackberries (*Rubus* spp.). *J Agric Food Chem*. 2010;58(12):7458–64.

83. Xu X, Xie B, Pan S, Yang E, Wang K, Cenkowski S, et al. A new technology for extraction and purification of proanthocyanidins derived from sea buckthorn bark. *J Sci Food Agric*. 2006;86(3):486–92.
84. Polo Diez L maría. *Fundamentos de cromatografía*. 1st ed. Dextra Editorial S.L.; 2015. 411 p.

13. Anexos

Anexo 1: Expediente de aprobación Comité Ética



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Sección Comisiones y Claustro

Montevideo, 23 de agosto de 2018.-

Reunido el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Odontología, resuelve aprobar el proyecto titulado:

"Resistencia de unión al esmalte humano de un adhesivo modificado con proantocianidinas inmediatamente posterior al blanqueamiento", cuyo responsable es la Dra. Joanna Vola y le ha correspondido el número de expediente 091900-000189-18.

Dr. Ernesto Borgia
Pte. Comité de Ética en Investigación
Facultad de Odontología

Acreditación del Comité de Ética en Investigación de la F.O.: Resol. No. 983 del 07/11/2017 de la Dirección Gral. de la Salud.

Consentimiento informado

INFORMACIÓN

En el marco del cursado de mi Maestría, estoy llevando a cabo un proyecto de investigación sobre adhesión de materiales restauradores al esmalte dentario. Para ello necesito coleccionar terceros molares retenidos que deban ser extraídos, en los cuales se llevará a cabo una restauración adherida que será sometida a diferentes tests que permitirán evaluar la adhesión de la misma.

Estas restauraciones serán realizadas por quien suscribe Dra. Joanna Vola, bajo la tutoría de los Dres. Evandro Piva y Horacio Heinzen.

Todos los datos recabados serán registrados en una ficha especialmente diseñada para esta investigación y serán confidenciales, no asociando nunca la pieza dentaria restaurada con el paciente de quien procede. Los resultados que surjan de esta investigación serán publicados en revistas científicas arbitradas para su difusión. Por lo tanto, solicito su consentimiento para utilizar el/los molares que le deban extraer.

Ante cualquier duda o consulta se puede comunicar con la Dra. Joanna Vola al 099754762.

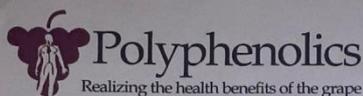
Firma.....

CONSENTIMIENTO

Quien suscribe.....CI....., declaro que entendí perfectamente el procedimiento y el objetivo de los tests a realizar en la investigación; y otorgo mi consentimiento para usar el/los molares con tal fin.

Firma.....

Anexo 3: Composición del extracto de semillas de uva



CERTIFICATE OF ANALYSIS

MegaNatural® Gold Grape Seed Extract

Product ID №: VW7000



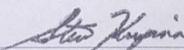
Lot №: 129142507-01

DATE OF MANUFACTURE: May 09, 2014

DATE OF EXPIRATION: **May 09, 2018**

SHELF LIFE: 4 years from date of manufacture, in original factory-sealed container.
 RECOMMENDED STORAGE: in tightly closed, opaque container at ambient temperature (~70° F, ~21°C); avoid moisture.

CHEMICAL	RESULTS	SPECIFICATIONS	METHODS
Total Phenolics (wt/wt) (Gallic Acid Equivalents, dry basis)	93.8 %	NLT 90%	Folin & Ciocalteu
pH	3.9	2.0 – 5.5	4% in water
Heavy Metals			
Arsenic (As)	0.085 ppm	LT 3.0 ppm	AOAC 993.14 (ICP/MS)
Lead (Pb)	0.07 ppm	LT 5.0 ppm	"
Cadmium (Cd)	LT0.001 ppm	LT 0.3 ppm	"
Total Mercury (Hg)	0.005 ppm	LT 0.1 ppm	"
Pesticide Residues	within limits	within limits	USP <561>
PHYSICAL			
Moisture	3.8 %	NMT 8.0%	USP <731> (Halogen bulb)
Insoluble substances	0.3 %	NMT 5.0%	1% in water
Bulk Density			
Untapped (free flow)	0.35 g/mL	0.25 – 0.50 g/mL	USP <616>
Tapped	0.50 g/mL	0.40 – 0.65 g/mL	"
Particle Size	Conforms	min 98% thru 40-mesh US max 20% thru 100-mesh US	USP <786> "
MICROBIOLOGICAL			
Total Plate Count	LT 10 cfu/g	LT 1,000 cfu/g	AOAC 966.23
Yeast & Mold	LT 10 cfu/g	LT 100 cfu/g	BAM, Ed.8 - Rev A, 1998
Salmonella	Negative	Negative, per 25g	AOAC RI 030803
<i>E. coli</i>	Negative	Negative (LT 3/g MPN)	AOAC 966.24
Coliforms	Negative	Negative (LT 3/g MPN)	AOAC 966.24
<i>Staph. aureus</i>	Negative	Negative (LT 3/g MPN)	AOAC 987.09


 Steve Kupina – Director, Tech Sales (QC)

June 17, 2014
 Date of Issue

INGREDIENTS: 100% grape seed extract (no excipients)

APPEARANCE: Rose-beige powder	PLANT SOURCE: Grapes (<i>Vitis vinifera</i>)
FLAVOR: Bitter and astringent	DESCRIPTION: Grape seed extract powder
✓ US PATENT: 6,544,581	PLANT PART USED: Seed
GM STATUS: Non-GM (EU standards)	GROWING TECHNIQUE: Traditional cultivation
MFG PROCESS: Extraction/Concentration	PROCESSED IN USA: From US-grown wine grapes
SOLVENT OF PROCESS: Water	CERTIFIED: NOT irradiated or ETO-treated
EXTRACTION RATIO: 30–50 : 1	

Effective Date: January 3, 2014
 Provisional Specifications; subject to change

Revised: January 3, 2014
 COA-VW7000-R03 Jan-2014

Polyphenolics • 12667 Road 24 • Madera, CA 93637
Phone: 559-661-5556 Fax: 559-661-5630 www.polyphenolics.com
 Division of Constellation Brands, Inc.

Opalescence® Quick 45% PF Tooth Whitening System

ES

Descripción:

Opalescence Quick es un exclusivo sistema de blanqueamiento para el consultorio. Es un gel claro, viscoso y pegajoso de peróxido de carbamida al 45 % (pH=6,5). Se ha comprobado también que Opalescence Quick 45% PF reduce la susceptibilidad a las caries, mejora la microdureza del esmalte y la salud del esmalte.

Todos los productos Opalescence tienen cualidades exclusivas que incluyen liberación sostenida, propiedades adhesivas y la aplicación mediante una cubeta fabricada a medida.

Indicaciones:

Opalescence Quick 45% PF ha demostrado ser efectivo para remover decoloraciones presentes desde la erupción del diente y/o manchas de la edad. Se obtiene éxito en diferentes grados con tetraciclinas y decoloraciones marrones de fluorosis. Opalescence Quick 45% PF se utiliza también en dientes no vitales para blanqueamiento intracoronal. Opalescence Quick 45% PF es más conservador (en comparación con coronas, veneers, etc.) para tratar dientes oscuros y decolorados. Esto incluiría decoloraciones causadas por factores congénitos, sistémicos, metabólicos, farmacológicos, traumáticos o iatrogénicos, como: fluorosis dental, manchas por tetraciclina y minociclina adulta, trauma, eritroblastosis fetal, ictericia y porfiria. El peróxido es un agente oxidante fuerte. El blanqueamiento ocurre porque el peróxido penetra en el esmalte y en la dentina, oxidando las manchas que afectan al diente. El blanqueamiento se lleva a cabo primero y más rápidamente a nivel del esmalte. Por ejemplo, la mayoría de las manchas desfigurantes de tetraciclina están a nivel de la dentina; por lo tanto, su oxidación (blanqueamiento) lleva más tiempo.

Como los materiales restauradores no blanquearán, recomendamos blanquear los dientes oscurecidos antes de colocar restauraciones para que las restauraciones combinen con los nuevos tonos más claros (espere 2 semanas después del blanqueamiento para colocar restauraciones). Ahora, los dentistas pueden devolver el color original a los dientes naturales e incluso llevarlos a tonos más claros nunca antes experimentados por el paciente.

Información General:

Debe prestarse especial atención a la fabricación de la cubeta debido a las características pegajosas, viscosas y de liberación sostenida, en comparación con los productos de blanqueamiento anteriores.

Para evitar o reducir la irritación, es aconsejable limitar el contacto del peróxido a las superficies del diente, cuidando de no tocar los tejidos blandos. Si se siguen las instrucciones, se obtendrán resultados más predecibles en días, en lugar de semanas. Los resultados se obtienen más rápidamente, reduciendo la exposición crónica y a largo plazo al peróxido. Nuestra experiencia ha demostrado que lo ideal es utilizar un material suave y delgado (Sof-Tray® de .035"), ya que es mucho más cómodo. Con una cubeta fina, el paciente no nota que la tiene colocada pues hay menos invasión de los espacios interoclusales. Además, la buena terminación de la misma y la creación de espacios de reserva reducen aún más la presión sobre los dientes y las encías.

Procedimiento previo al tratamiento:

1. Antes del tratamiento blanqueador debe efectuarse un diagnóstico. Asegúrese de que los tejidos blandos estén saludables para minimizar el trauma hacia los mismos. Deberían acondicionarse las restauraciones defectuosas y/o las zonas con caries. Las superficies radiculares expuestas pueden experimentar sensibilidad. De haber grandes zonas expuestas, o si las restauraciones son inadecuadas, los pacientes pueden experimentar desde una molestia suave a un dolor moderadamente severo. A veces esto puede solucionarse mediante un simple recorte adicional de la cubeta o cubriendo las zonas con un agente adhesivo.

2. Remueva el sarro y las manchas externas. Si se traumatiza el tejido, espere de una a dos semanas antes de comenzar el tratamiento blanqueador para minimizar una posible sensibilidad gingival.

3. Espere 2 semanas después del tratamiento para tomar el color para nuevas restauraciones y para cementados con resina de fijación. Este es el tiempo que toma la estabilización del color y es importante antes de colocar las restauraciones con el color de los dientes definitivos.

4. En la cubeta puede aparecer una coloración ligeramente púrpura después del blanqueamiento, causada por amalgamas adyacentes.

Esta decoloración no tiene consecuencias de ningún tipo de acuerdo a nuestros años de experiencia en blanqueamiento.

5. Al blanquear dientes que tengan restauraciones de amalgama, éstos pueden parecer más oscuros. Esto se debe a que la restauración interna se volverá más visible a través del esmalte blanqueado. Debe informarse al paciente de que puede ser necesario efectuar restauraciones estéticas más extensas después del blanqueamiento.

6. Algunos dientes no responden al blanqueamiento, y ocasionalmente los colores originales vuelven poco después de terminado el tratamiento.

A menudo, esto se debe a una modificación temporaria del color causada por la deshidratación (y luego la rehidratación) de los dientes. En las manchas intrínsecas difíciles, las porciones más anchas del diente suelen blanquearse menos (por ej. el tercio gingival se blanquea menos que el tercio medio y el tercio incisal).

7. Cuando el paciente no utilice la cubeta, deberá guardarla siempre en su estuche.

Procedimiento:

1. Fabrique la cubeta a medida utilizando las instrucciones para laboratorio, o envíe el modelo de yeso y la orden de trabajo (incluida en el avío) a Ultradent.

2. Cargue la cubeta colocando una capa continua de gel sobre la cara facial de la misma, desde el borde incisal hasta más o menos la mitad (o un poco menos), de molar a molar. Esto debería utilizar como máximo de 1/3 a 1/2 de una jeringa.

3. Los tiempos de tratamiento varían de paciente a paciente. Una sesión no debería durar más de 30 minutos y depende del confort del paciente. Si se utiliza como tratamiento para un impulso inicial, se necesita sólo una sesión en el consultorio. Luego el paciente es enviado a su domicilio con peróxido de carbamida al 10%, 15%, 20% o 35%, con las indicaciones del régimen de blanqueamiento a seguir. El paciente no debería comenzar con el blanqueamiento domiciliario hasta pasadas 24 horas del tratamiento en el consultorio. Los pacientes que efectúen blanqueamiento domiciliario deberían ser evaluados cada 5-7 días en el consultorio. El profesional puede agendar los controles con mayor o menor frecuencia, dependiendo de las necesidades del paciente y el grado de progreso. La cantidad de días requeridos para completar el tratamiento dependen sobre todo del tipo de decoloración y de su severidad.

Por ejemplo, las decoloraciones por tetraciclina requerirán más tiempo de tratamiento que otro tipo de decoloraciones desfigurantes.

4. Ocasionalmente, la sensibilidad y la irritación gingival pueden requerir tratamiento. El primer tratamiento de elección es la aplicación de UltraEZ, un gel viscoso y pegajoso de nitrato de potasio que puede utilizarse en la misma cubeta que Opalescence desde 1-2 horas hasta toda la noche, según sea necesario. Los tratamientos alternativos incluyen:

a. El paciente puede utilizar la cubeta con un gel sin sabor, pegajoso y viscoso, casi neutro (Flor-OpalSM). El uso diurno aísla los dientes del frío, logrando la remisión de la sensibilidad.

b. Administración apropiada de analgésicos antiinflamatorios suaves.

Precauciones

1. Lea y entienda todas las instrucciones. Utilice la lámina recomendada y administre un régimen de tratamiento adecuado para mantener al paciente en un nivel de confort óptimo.

2. Opalescence Quick 45% PF NO es para uso domiciliario.

3. Antes de comenzar el tratamiento, la salud gingival y general debe ser buena.

4. Como precaución de seguridad, Opalescence NO debería utilizarse durante el embarazo.

5. Si el paciente tiene alergia o sensibilidad química conocida a los peróxidos, carbopol, glicerina, etc., NO debe usar Opalescence Quick 45% PF. El sabor a menta puede ser irritante para algunos pacientes. Si el paciente tiene una sensibilidad conocida a la menta, no lo utilice.

6. Las restauraciones deberían sellarse adecuadamente y toda la dentina expuesta y sensible debería cubrirse. Si hay antecedentes de sensibilidad, trátela efectuando una restauración adecuada, colocando un agente adhesivo dentinario, etc., o selle temporalmente con el sellante de dentina.

7. Las zonas hipocalcificadas pueden existir y no siempre son visibles a simple vista. Éstas se blanquearán mucho más rápido, volviéndose más visibles durante el blanqueamiento. Continúe con el tratamiento hasta que la superficie dental no afectada se empareje. Reevalúe 2 semanas después del tratamiento, cuando el color se haya estabilizado.

8. De persistir la molestia gingival o dental (como ser sensibilidad extrema a las temperaturas), informe al paciente que retire la cubeta, discontinúe el tratamiento y agende una nueva cita para volver a tratarlo en otro momento. El paciente también puede ser enviado a su domicilio con Opalescence domiciliario.

9. Mantenga el control de todos los blanqueadores Opalescence, entregando sólo lo que sea necesario hasta la próxima consulta de evaluación (aproximadamente 3 a 5 días). Vigile el progreso para prevenir un blanqueamiento más allá del nivel deseado o translucidez.

10. Comprenda las expectativas de cada paciente antes de comenzar el tratamiento. Infórmeles que las restauraciones existentes (coronas, incrustaciones color diente, etc.) no blanquearán, aún cuando el diente natural sí lo haga.

11. Todos los agentes blanqueadores Opalescence se suministran en jeringas precargadas de dosis unitarias de 1.2 ml. El material NO ES para ser inyectado. Descarte las jeringas cuando estén vacías.

12. El material deberá refrigerarse para mantener su vida útil. Mantenga Opalescence Quick 45% PF lejos del calor y/o sol directo. Cuando se refrigera, Opalescence Quick 45% PF puede tomar un aspecto congelado. Cuando la jeringa retome la temperatura ambiente, volverá a su aspecto original. Esto es normal y no afecta para nada la efectividad general del producto.

13. Los pacientes con oclusión difícil o con bruxismo pueden requerir de una cubeta más gruesa. Recomendamos el material de 0.060". Evite el tratamiento si el paciente puede tragar o aspirar la cubeta.

Instrucciones para el Laboratorio:

1. Vacíe la impresión con yeso de fraguado rápido o yeso dental. El alginato debe vaciarse cuanto antes para asegurar la fidelidad. No utilice demasiado yeso para evitar trabajo innecesario, pero mantenga una masa suficiente como para asegurar la remoción del modelo de la impresión sin fracturas. Corte la base con la recortadora en forma paralela a la oclusión hasta unos pocos milímetros del margen gingival para facilitar la manipulación. Las zonas del paladar y la lengua deben ser removidas. Permita que el modelo se seque durante 2 horas.

2. La resina LC Block-Out de Ultradent® proporciona rápidamente espacios (reservorios) en la cubeta. Coloque una capa de resina de unos 0,5 mm de espesor, dejando un espacio libre de 1,5 mm hacia gingival. NO APLIQUE resina en las superficies oclusales ni incisales. Esto evitará que el margen de la cubeta se abra al morder y que la cubeta se monte sobre las encías. Los pacientes experimentarán menor presión sobre los dientes gracias a los reservorios, ya que no existirán presiones ortodónticas. Fotocure LC Block Out durante aproximadamente 2 minutos (Ultra Lume®). Puede utilizar una lámpara de fotocurado intraoral manual (20-40 segundos por diente). Limpie la capa de inhibición por oxígeno.

3. Caliente la lámina a utilizar con la estampadora (UltraVac® o utilice Econo Vacuum Former) hasta que se combe aproximadamente 1 pulgada. Active el vacío y adapte el plástico blando sobre el modelo. Enfríe y remueva el modelo.

4. Corte el exceso de material con tijeras aserradas (Utility Cutters de Ultradent®).

5. Con pequeñas tijeras táctiles aserradas (Ultra Trim), recorte con cuidado y precisión hasta alejarse de 0.25 a 0.33mm del margen gingival. Recorte con suavidad alrededor de las papilas interdentes. ¡Estas pueden irritarse y provocar dolor si la cubeta las cubre!

6. Vuelva a colocar la cubeta sobre el modelo de yeso. Revise las dimensiones. Flamee puliendo las esquinas, un cuadrante a la vez (Blazer® Micro Torch).

7. Mientras aún esté caliente, presione la periferia de cada segmento firmemente contra el modelo (con los dedos húmedos) durante tres segundos. Si alguna zona se encuentra muy lejos de la longitud deseada, caliente suavemente y estire hasta el lugar deseado. Si el material de la cubeta se afina demasiado, deberá fabricarse otra.

8. Una vez que se ha fabricado la cubeta, límpiela con un cepillo suave y agua fresca. Guárdela en el estuche mientras no la utilice.

Anexo 5: Clearfil SE Flowchart



S1970E2-01

06/2007

Anexo 6: Procesamiento del ESU

El procesamiento del extracto de semillas de uva fue llevado a cabo en el Laboratorio de la Cátedra de Farmacognosia y Productos naturales de la Facultad de Química de la UdelaR y consistió en purificar el compuesto provisto por el fabricante en primera instancia, para luego controlar las fracciones obtenidas y realizar como último paso una caracterización(82–84)

Prueba del extracto – purificación

Se utilizó la técnica de cromatografía, técnica que consiste básicamente en separar componentes mediante diversos mecanismos. En la cromatografía existen dos fases: una fase inmóvil también llamada fase estacionaria, y una fase móvil. Los componentes de la mezcla son arrastrados por la fase móvil a lo largo de la fase estacionaria, proceso que se denomina elución, resultando en la separación debido a las diferencias en las constantes de distribución de los componentes de la mezcla entre las fases móvil e inmóvil. La distribución final de los componentes en función de su posición sobre el lecho estacionario, o del tiempo en que eluyen se denomina cromatograma.

La purificación se llevó a cabo mediante la cromatografía en columna, cromatografía líquida. Consiste en una técnica en la cual la mezcla a separar eluye de la columna a través de la fase estacionaria, en este caso representada por una

resina porosa en que los poros son de un rango definido (Sephadex LH20 gel, Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden).

La fase estacionaria separa selectivamente las moléculas en función de su tamaño molecular; cuando la fase móvil fluye a través de la columna. La separación de los componentes del extracto se da a expensas de la variación del tamaño molecular entre la sustancia analizada y la columna cromatográfica. La muestra se introduce en pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan dependiendo de las interacciones físicas con la fase estacionaria a medida que adelantan por la columna. El grado de retención de los compuestos de la muestra depende de la naturaleza del compuesto (tamaño molecular en este caso) y del tamaño de los poros de la fase estacionaria, así como también de la polaridad de la fase móvil. En este caso el mecanismo de separación de los componentes entre las fases estuvo dado por la diferencia de tamaño molecular. La fase estacionaria es orgánica, y posee cavidades en las que las moléculas de los componentes a separar pueden penetrar y ser retenidos, siendo las moléculas de mayor tamaño las primeras en ser eluidas de la columna.

Prueba de las fracciones

Las fracciones (fracciones del total de la fase móvil utilizada) obtenidas mediante la columna fueron ordenadas según su polaridad y sembradas en una TLC (Thin layer chromatography). La TLC es una técnica cromatográfica líquida que utiliza una placa inmersa verticalmente en una fase móvil llamada eluyente. Esta placa cromatográfica es un soporte para una fase estacionaria polar (comúnmente una capa uniforme y delgada de sílica gel, de ahí el nombre de TLC) adherida a una superficie sólida (placa de vidrio, aluminio, etc). La sílica posee grupos silanoles (silicio unido a alcohol) lo que vuelve este material muy polar, con gran afinidad por los solventes polares. Los productos a examinar se disolverán en un disolvente orgánico cuyo punto de ebullición sea lo suficientemente bajo como para evaporarse luego de su aplicación. Se siembra la muestra a analizar utilizando generalmente una pipeta que toca sobre la placa preparada. La elección del eluyente depende del componente a separar y del material en que la separación se lleve a cabo. La fase móvil se coloca dentro de la cuba que contiene la placa. El eluyente sube por capilaridad separando los compuestos previamente sembrados. Estos compuestos compiten con la fase móvil por los sitios activos de la sílica que son polares. Los compuestos más polares son más afines con los silanoles, mientras que los compuestos más apolares no compiten con la fase móvil, por lo cual tienen mayor movilidad. Es así que en una TLC lo que está más retenido es lo más polar,

mientras que lo que está menos retenido es lo más apolar. Es decir que los primeros compuestos eluidos son los más apolares pues tienen menos afinidad por la fase estacionaria, y por último eluye lo más polar, quedando sobre la sílice. La fase estacionaria en una TLC es fija. Puede realizarse con fines analíticos o preparativos, para aislar cantidades mayores de compuestos. La TLC posee mayor capacidad separativa que la cromatografía en columna y en este caso, combina dos mecanismos distintos de separación, el peso molecular y la polaridad de los compuestos en estudio. Una vez completada la cromatografía se trata el gel de sílica con un solvente, luego de lo cual se puede obtener el compuesto puro.

La cromatografía preparativa se utilizó para determinar la presencia de un compuesto en particular del que se observó que había gran cantidad en una fracción. Se sospechó que este compuesto era catequina. Los compuestos pueden ser observados a simple a vista, pero cuando esto no es posible se utiliza un revelador; es decir una solución química o solvente más polar que permita que los diferentes compuestos suban por la placa y se separen entre sí. En este caso se utilizó vainillina, que revela de rojo los polifenoles. Se revelan únicamente los bordes para no teñir todo el compuesto.

La relación de frente (RF) es el parámetro que representa la distancia que hay entre el frente (lugar a donde llegó la fase móvil) y el lugar de la siembra. La RF de un compuesto que sale en la parte superior de la placa es 1, si no se movió del lugar de la siembra es 0, y si queda a mitad de camino es 0,5. Por lo tanto la RF varía entre 0 y 1, y se mide con una regla. Se trata de una cromatografía en donde las separaciones se dan por polaridad.

Cuanto más grupos alcohol (OH) existan, mayor será la polaridad. Los primeros monómeros en salir son la catequina y epicatequina, y por último salen los polímeros, que son más polares, ya que presentan más grupos OH.

Una de las fracciones obtenidas presentaba siempre tres compuestos; por lo cual se raspó la placa, se colocó el material obtenido en un solvente para eliminar la sílica y obtener el compuesto puro. El objetivo era, mediante resonancia nuclear magnética, determinar la estructura del compuesto, pero no se pudo realizar debido a la escasa cantidad del mismo.

Determinación de la actividad de las fracciones

Obtenidas las fracciones es conveniente medir su actividad. En este caso su actividad química antioxidante. Determinada ésta se pasa al último paso que es la purificación de esa fracción. Nunca se llegó a realizar la purificación o caracterización de las fracciones.