



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

“INFLUENCIA DE AGENTES  
ANTIOXIDANTES LIOFILIZADOS  
SEGÚN CONCENTRACIÓN Y TIEMPO DE  
EXPOSICIÓN EN LA RESISTENCIA DE  
UNIÓN AL MICROCIZALLAMIENTO EN  
EL ESMALTE DENTAL BOVINO  
EXPUESTO AL PERÓXIDO DE  
HIDRÓGENO AL 35%”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
MAESTRA EN ESTOMATOLOGÍA

XIMENA ALEXANDRA DIAZ MURO

LIMA - PERÚ

2024

**ASESOR**

Mg. Leyla Delgado Cotrina

**CO ASESOR**

Mg. Ada Pérez Luyo

**JURADO DE TESIS**

MG. JANETT MAS LOPEZ

PRESIDENTE

MG. JOHN ALEXIS DOMINGUEZ

VOCAL

MG. CARLOS YURI LIÑAN DURAN

SECRETARIO

### **DEDICATORIA.**

A Dios por la perseverancia y motivación.

A mis padres, por su constante apoyo.

### **AGRADECIMIENTOS.**

A mis asesores, novio, familia y amigos por su paciencia y consideración.

### **FUENTES DE FINANCIAMIENTO.**

Tesis Autofinanciada

<b>DECLARACIÓN DE AUTOR</b>			
<b>FECHA</b>	<b>25</b>	<b>ABRIL</b>	<b>2024</b>
<b>APELLIDOS Y NOMBRES DEL EGRESADO</b>	<b>DIAZ MURO XIMENA ALEXANDRA</b>		
<b>PROGRAMA DE POSGRADO</b>	<b>MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA</b>		
<b>AÑO DE INICIO DE LOS ESTUDIOS</b>	<b>2022</b>		
<b>TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO</b>	<b>“INFLUENCIA DE AGENTES ANTIOXIDANTES LIOFILIZADOS SEGÚN CONCENTRACIÓN Y TIEMPO DE EXPOSICIÓN EN LA RESISTENCIA DE UNIÓN AL MICROCIZALLAMIENTO EN EL ESMALTE DENTAL BOVINO EXPUESTO A PERÓXIDO DE HIDRÓGENO AL 35%”</b>		
<b>MODALIDAD DE TRABAJO DE GRADO</b>	<b>Tesis</b>		
<b>Declaración del Autor</b>			
<p>El presente Trabajo de Grado es original y no es el resultado de un trabajo en colaboración con otros, excepto cuando así está citado explícitamente en el texto. No ha sido ni enviado ni sometido a evaluación para la obtención de otro grado o diploma que no sea el presente.</p>			
<b>Teléfono de contacto (fijo / móvil)</b>	<b>966744691</b>		
<b>E-mail</b>	<b>Ximena.diaz@upch.pe</b>		



Firma del Egresado

DNI 74073512

## TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN

ABSTRACT

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>II. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>4</b>
<b>III. HIPÓTESIS.....</b>	<b>17</b>
<b>IV. OBJETIVOS.....</b>	<b>18</b>
III.1 Objetivo general.....	18
III.2 Objetivos específicos.....	18
<b>IV. METODOLOGÍA.....</b>	<b>19</b>
IV.1 Diseño de estudio.....	19
IV.2 Muestra.....	19
IV.3 Criterios de Selección.....	20
IV.4 Definición operacional de variables.....	20
IV.5 Procedimientos y técnicas.....	21
IV.6 Plan de análisis.....	24
IV.7 Consideraciones éticas.....	24
<b>V. RESULTADOS.....</b>	<b>26</b>
<b>VI. DISCUSIÓN.....</b>	<b>30</b>
<b>VII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>42</b>
<b>VIII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>43</b>
<b>IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>44</b>
<b>ANEXOS</b>	

## **Lista de Abreviaturas**

**AA:** Agente Antioxidante

**PH:** Peróxido de hidrógeno

**PC:** Peróxido de carbamida

**MB:** Maqui berry

**CP:** Corteza de pino

**AS:** Ascorbato de sodio

**BD:** Blanqueamiento dental

**MPa:** Megapascales

## RESUMEN

**Antecedentes:** Posterior al blanqueamiento dental se debe postergar de 7 a 21 días la colocación de restauraciones adhesivas debido a una disminución de la resistencia de unión al esmalte por la presencia de moléculas de oxígeno residuales, lo que conlleva a una reducción de la fuerza de unión adhesiva, por lo que se han propuesto diversas sustancias antioxidantes. **Objetivos:** Evaluar la resistencia de unión al esmalte, expuesto previamente a tres agentes antioxidantes, después del blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 35%. **Materiales y métodos:** Se evaluaron superficies de esmalte dental bovino a las que se les aplicó peróxido de hidrógeno al 35%, siguiendo las indicaciones del fabricante. Los antioxidantes empleados fueron: Extracto de Maqui Berry (MB), extracto de corteza de pino (CP) y ascorbato de sodio (AS) al 5% y 10% cada uno; control negativo (SB) y control positivo (SB-SA). Se realizaron ensayos de microcizallamiento en la máquina de ensayo semiuniversal OM100 (ODEME, San Carlos, SP, Brasil. Se analizó la media, desviación estándar y ANOVA/Tukey ( $\alpha=0.05$ ). **Resultados:** Los agentes antioxidantes con los mayores valores de resistencia de unión al microcizallamiento fueron AS 10% a los 5 minutos ( $16.64\pm 1.93$ ), MB 5% a los 5 minutos ( $17.32\pm 1.32$ ) y MB 10% a los 10 minutos ( $17.82\pm 1.46$ ). **Conclusión:** Todos los agentes antioxidantes recuperaron la resistencia de unión al microcizallamiento del esmalte dental bovino luego del blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 35%, a excepción de AS 5% a los 5 minutos, MB 10% a los 5 minutos. Los agentes antioxidantes que incrementaron los valores de resistencia de unión al microcizallamiento fueron AS al 10% a los 5 minutos, MB al 5% a los 5 minutos y MB al 10% a los 10 minutos.

**Palabras claves:** Antioxidantes, blanqueamiento de dientes, esmalte dental (DeCS)

## ABSTRACT

**Background:** After teeth whitening, the placement of adhesive restorations should be postponed for 7 to 21 days due to a decrease in the bond strength to the enamel due to the presence of residual oxygen molecules, which leads to a reduction in the adhesive bond strength. Therefore, various antioxidant substances have been proposed. **Objective:** To evaluate the bonding resistance to enamel exposed to antioxidants after teeth whitening with 35% hydrogen peroxide. **Materials and methods:** Bovine tooth enamel surfaces exposed to 35% hydrogen peroxide were evaluated, following the manufacturer's instructions. The antioxidants used were: Maqui Berry Extract (MB), pine bark extract (CP) and sodium ascorbate (AS) at 5% and 10% each; negative control (SB) and positive control (SB-SA). Microshear tests were carried out on the OM100 semi-universal testing machine (ODEME, San Carlos, SP, Brazil. The mean, standard deviation and ANOVA/Tukey ( $\alpha=0.05$ ) were analyzed. **Results:** The antioxidant agents with the highest resistance values the microshear bond strengths were AS 10% at 5 minutes ( $16.64\pm 1.93$ ), MB 5% at 5 minutes ( $17.32\pm 1.32$ ) and MB 10% at 10 minutes ( $17.82\pm 1.46$ ). **Conclusion:** All antioxidant agents recovered the microshear bond strength of bovine tooth enamel after tooth whitening with 35% hydrogen peroxide, except for AS 5% at 5 minutes, MB 10% at 5 minutes. The antioxidant agents that increased the microshear bond strength values were 10% AS at 5 minutes, 5% MB at 5 minutes, and 10% MB at 10 minutes.

**Key words:** Antioxidants, tooth bleaching, dental enamel (Mesh)

## **I. INTRODUCCIÓN**

El tratamiento de blanqueamiento dental es un procedimiento odontológico comúnmente realizado y que ha tenido alta demanda en los últimos años por la mejora estética de manera conservadora y segura. La principal problemática está en los peróxidos utilizados que suelen generar una serie de cambios en la estructura del esmalte, dificultando obtener una buena adhesión al tejido dentario, teniendo como consecuencia el no poder realizar restauraciones adhesivas inmediatas (1,2,3).

Durante el tratamiento de blanqueamiento dental, se genera una oxidación progresiva y continua de la matriz orgánica del esmalte, por su alta presencia de pigmentos y por no presentar una acción selectiva (1,2,3). Las moléculas, en su degradación, generan moléculas de menor peso que reflejan poca cantidad de luz y crean compuestos más hidrosolubles siendo eliminados fácilmente, paralelamente, ocurre la pérdida de proteínas de la matriz del esmalte, logrando así el aclaramiento de la superficie (2,3,4).

No obstante, la presencia de oxígeno remanente de la fase oxidativa de los peróxidos al permanecer por un periodo de tiempo impide la unión adhesiva de la resina y dificulta la polimerización. Esto imposibilita realizar tratamientos adhesivos inmediatos, siendo postergados hasta por 3 semanas (3,4). Para evitar el aplazo de las restauraciones se ha propuesto la aplicación de antioxidantes sintéticos y naturales (2,4,5,6,7).

Los radicales libres y las ROS (del inglés *reactive oxygen species*) son productos del estrés oxidativo, en este caso provenientes de los productos del blanqueamiento. Si bien cada persona posee una capacidad antioxidante en el medio bucal, esta difiere de individuo a individuo. El estrés oxidativo se produce cuando la capacidad oxidativa y antioxidante del organismo está desequilibrada y favorece la oxidación, que es también la principal causa de enfermedades bucales y dentales. Cuando los antioxidantes están presentes en cantidad suficiente, los radicales libres ganarán un electrón y se convertirán en moléculas normales reduciendo así el daño al cuerpo o equilibrio (8).

Los antioxidantes evitan que los radicales libres soliciten electrones de las células normales al donar activamente electrones a los radicales libres, logrando así el propósito de proteger los diferentes tejidos. También pueden inactivar los radicales libres antes de que ataquen las células del cuerpo, cumpliendo así un rol de apoyo en el tratamiento de problemas bucales como la periodontitis. Asimismo, pueden inhibir eficazmente el crecimiento y la reproducción de las células cancerosas orales (8).

Dado que los antioxidantes salivales no pueden eliminar las especies reactivas del oxígeno residuales en poco tiempo (se requiere más de dos semanas para eliminar el efecto), el uso de antioxidantes, en el proceso de blanqueamiento, permite neutralizar los oxidantes residuales en el ambiente bucal (9), reaccionando sobre ellas en las diferentes etapas de su formación (10). El antioxidante más estudiado y con efectividad comprobada es el ascorbato de sodio (AS) (4,11), no sintetizado por el ser humano. Si bien el AS logra el propósito antioxidante, al perder dos electrones y dos protones para formar ácido L-deshidroascórbico (12), uno de los grandes problemas asociados al AS es su escaso tiempo de vida útil (4,10) por lo que se han venido explorando antioxidantes naturales.

Se ha visto que los antioxidantes naturales ayudan a mejorar la resistencia de unión luego del tratamiento de blanqueamiento dental (12-19). Estudios como el de Xu *et al.* evaluaron la eficacia del extracto de semilla de uva como agente antioxidante natural en diferentes concentraciones: 2.5, 5, 10 y 15, con resultados significativos al aplicarlo al 5% (15). Mukka y colaboradores evaluaron tres extractos herbales: corteza de pino (CP), cáscara de granada y semilla de uva en solución al 5%, donde el extracto de CP produjo valores de resistencia de unión similares a dientes sin tratamiento de blanqueamiento dental previo (18).

Por otro lado, otro producto natural estudiado es el maqui berry (MB), una baya que se ha destacado por ser extremadamente rica en antioxidantes. Esta pequeña fruta, también conocida como *Aristotelia chilensis*, crece en las regiones del sur de Chile y Argentina, y ha ganado reconocimiento mundial debido a su impresionante contenido de compuestos antioxidantes, en particular, las antocianinas (20).

Actualmente no existe evidencia científica consistente que señale la efectividad del MB como antioxidante natural en procedimientos dentales. Asimismo, el extracto de CP ha sido poco estudiado obteniendo resultados similares a los valores de resistencia de unión a piezas dentarias sin tratamiento de blanqueamiento dental (4,18). Es por ello que, el propósito del presente estudio fue evaluar el efecto de los extractos de CP y MB, en diferentes concentraciones y tiempo de exposición, sobre la resistencia de unión al esmalte dental bovino post tratamiento de blanqueamiento dental.

## II. MARCO TEÓRICO

El blanqueamiento dental es un desafío para los profesionales odontólogos porque debido a la generación de residuos de oxígeno o peróxido en la superficie, se imposibilita la colocación inmediata de restauraciones de resina ya que estos subproductos del procedimiento impiden la polimerización completa de los materiales adhesivos (2). El peróxido de hidrógeno libera radicales libres que fragmentan moléculas pigmentadas, lográndose el aclaramiento dental. La persistencia de estos radicales libres interfiere con la penetración de la resina después del grabado ácido y afecta su proceso de polimerización, causando una disminución de la fuerza adhesiva de los materiales utilizados en restauraciones dentales. (19,21) Por otro lado, las altas concentraciones o exposiciones prolongadas a los peróxidos pueden afectar la micromorfología dental, ocasionando erosiones y porosidades relacionadas con subproductos como urea y oxígeno. (1,4,7,22-28,30,32,35,42,44,50,56)

La urea tiene la capacidad de desnaturalizar las proteínas de la estructura dental y afectar la zona interprismática del esmalte (4,16,22). Asimismo, el oxígeno que no posee una actividad específica para los pigmentos, también tiene la capacidad de aumentar la porosidad de la superficie dental, principalmente de la dentina lo que puede potenciarse por la acidez de algunos agentes (22-28,32,35,44,50). El oxígeno liberado durante el proceso de blanqueamiento puede transitar con mayor facilidad en un tejido erosionado y poroso que en estructuras mineralizadas (22).

Autores como Sulieman *et al.* y Faraoni-Romano *et al.* indican que altas concentraciones de peróxido de hidrógeno pueden desmineralizar el esmalte a largo plazo, afectando principalmente su contenido inorgánico (23,24). El mecanismo de acción de los agentes blanqueadores se basa en procesos oxidativos donde el oxígeno

activo interactúa con componentes orgánicos y cromóforos, dependiendo de la concentración y el pH (23,24).

Abouassi *et al.* revelaron que el blanqueamiento con peróxido de carbamida al 10% o peróxido de hidrógeno al 3.6% incrementaban la rugosidad superficial, con erosiones iniciales que pueden ser revertidas mediante la remineralización natural y determinaron que la influencia del procedimiento de blanqueamiento en la morfología y la dureza del esmalte dependía de la concentración de los ingredientes activos (25)

Por consiguiente, las exposiciones prolongadas al blanqueamiento dental pueden significativamente alterar la morfología del esmalte, reduciendo su dureza y aumentando su rugosidad (68,69). Asimismo, concentraciones de peróxido superiores al 15% no mejoran el blanqueamiento y pueden causar daño a la estructura dental (66,67,68). En estudios como Wijetunga *et al.* y Motevasselian *et al.* se ha observado que el blanqueamiento dental puede provocar pérdida mineral en el esmalte, según análisis realizados mediante espectroscopia. Por lo tanto, se sugiere el uso de productos con pH neutro para evitar posibles cambios estructurales y de mineralización (26,27).

Los cambios en la composición mineral durante el blanqueamiento se deben a la sustitución de iones hidroxilo por iones carboxilo del agente blanqueador (27). Estas alteraciones de superficie y la permanencia del oxígeno en las estructuras dentales durante un periodo de tiempo son responsables del aplazamiento de los procedimientos adhesivos inmediatos. Se han empleado diferentes sustancias con el propósito de contrarrestar los efectos de los peróxidos utilizados en los tratamientos de blanqueamiento dental, con el fin de restaurar la adhesión y permitir la realización inmediata de procedimientos restauradores, mostrando resultados eficaces, sin embargo, en algunos casos contradictorios.

Como respuesta a estos efectos secundarios, se han propuesto varias técnicas de tratamiento, como la estrategia de fuerza de adhesión comprometida. Por ejemplo, Barghi y Godwin en el año 1994 sugieren la eliminación de la capa superficial del esmalte, mientras que Kalili *et al.* 1991 proponen el uso de alcohol para tratar el esmalte con tratamiento de blanqueamiento dental. En una línea similar, Sung *et al.* 1999 han recomendado el uso de adhesivos que contienen disolventes orgánicos. Además, otros investigadores han sugerido el uso de agentes antioxidantes como el ascorbato de sodio, el ácido ascórbico y la catalasa, así como enjuagues bucales con actividad antioxidante como el fluoruro de sodio, la clorhexidina y los aceites esenciales (16).

Se ha observado que la disminución en la fuerza de adhesión de la resina al esmalte y la dentina, después del blanqueamiento, depende de la concentración y el tiempo de aplicación de los materiales blanqueadores (28). Esta reducción puede contrarrestarse mediante el uso de ascorbato de sodio como antioxidante (29). Kaya *et al.* 2003 demostraron que el ascorbato de sodio, aplicado incluso durante 10 minutos, es suficiente para revertir la disminución en la fuerza de adhesión (30). Sin embargo, en un estudio posterior de 2008, sugirieron que el antioxidante debe aplicarse durante al menos 60 minutos para obtener la máxima eficacia, y que un mayor tiempo de aplicación del ascorbato de sodio puede resultar en un aumento adicional de la resistencia de adhesión al microcizallamiento (28).

Kunt *et al.* 2011 evaluaron el efecto del tratamiento antioxidante con AS al 10% en la resistencia de unión al microcizallamiento posterior a la aplicación de Whitesmile (White Smile GmbH, Birkenau, Germany) y Opalescence (Ultradent, South Jordan, Utah, USA), ambos conteniendo peróxido de hidrógeno al 35%. Se observó una notable disminución en las fuerzas de unión después del blanqueamiento, las cuales se recuperaron después de posponer el tratamiento adhesivo por dos semanas. Sin embargo,

esta disminución pudo contrarrestarse con éxito mediante el tratamiento antioxidante aplicado durante 10 minutos (31).

Cavalli *et al.* en 2005 investigaron cómo diferentes concentraciones de peróxido de carbamida (PC) y el tiempo posterior al tratamiento afectaban la resistencia de la unión de la resina compuesta al esmalte dental. Durante las dos primeras semanas después del blanqueamiento, se observó una baja fuerza de unión de la resina compuesta al esmalte, lo que sugiere una posible adhesión deficiente de las restauraciones dentales aplicadas en este período. Sin embargo, después de tres semanas, la fuerza de unión volvió a niveles similares al grupo de control no tratado, indicando una recuperación de la estabilidad del esmalte para permitir una adhesión efectiva de las restauraciones dentales. Además, en el estudio se encontró que el uso de concentraciones más altas de peróxido de carbamida no prolongaba el tiempo necesario para lograr una unión efectiva entre la resina compuesta y el esmalte, lo que sugiere que no es necesario utilizar concentraciones más altas para acelerar el proceso de restauración después del blanqueamiento (32).

van der Vyver *et al.* 1997 también evaluaron el impacto de un agente blanqueador de peróxido de hidrógeno (HP) activado por luz en el consultorio sobre la resistencia al microcizallamiento de la resina compuesta al esmalte grabado. Los resultados sugirieron que los procedimientos de unión deberían posponerse durante dos semanas después de cualquier procedimiento de blanqueamiento para revertir el proceso de resistencia al microcizallamiento a una cantidad normal (33).

El estudio realizado por Unlu *et al.* en 2008 se centró en investigar cómo el tiempo de postratamiento afecta la resistencia al microcizallamiento de la resina compuesta al esmalte después del blanqueamiento dental utilizando agentes blanqueadores como CP al 10 % y HP al 35 %. Los resultados de la investigación mostraron que la aplicación inmediata de resina compuesta sobre el esmalte con blanqueamiento dental con geles de

10% PC y 35% HP conduce a una disminución significativa en la resistencia al microcizallamiento. Esto sugiere que el esmalte con blanqueamiento dental no está en su estado óptimo para una adhesión efectiva de la resina compuesta inmediatamente después del tratamiento de blanqueamiento (34).

Para contrarrestar esta disminución en la resistencia al microcizallamiento y mejorar la adhesión de la resina compuesta al esmalte con blanqueamiento dental, se aconseja un retraso en la aplicación de la resina compuesta sobre las superficies de esmalte con blanqueamiento dental. Específicamente, se recomienda esperar al menos 24 horas después del blanqueamiento con geles de 10 % PC y una semana después del blanqueamiento con geles de 35 % HP antes de aplicar la resina compuesta (34).

La recomendación de permitir que el esmalte con tratamiento de blanqueamiento dental se estabilice y recupere sus propiedades óptimas para la adhesión de la resina compuesta se basa en la necesidad de mejorar la durabilidad y la eficacia de las restauraciones dentales. Este enfoque se respalda con el uso de antioxidantes como el ascorbato de sodio al 10% (AS 10%), que ha sido explorado como una alternativa en investigaciones con blanqueamiento dental (34).

El AS 10% fue propuesto inicialmente por Lai *et al.* 2001 y 2002 como una medida eficaz para contrarrestar el impacto negativo del hipoclorito de sodio o el HP en la fuerza de unión de la dentina después de la irrigación del conducto radicular, demostrando así su efectividad (29,35).

En el primer estudio Lai *et al.* 2001 encontraron que la aplicación de AS después del tratamiento con hipoclorito de sodio o HP revirtió efectivamente las fuerzas de unión comprometidas, preservando la integridad de las capas híbridas y fibrillas de colágeno. Además, observaron variaciones en el grosor de la capa híbrida entre diferentes grupos, sugiriendo una influencia significativa de los tratamientos de superficie en la adhesión a

los túbulos dentinarios (29). En el segundo estudio Lai *et al.* 2002 demostraron que la inmersión del esmalte dental expuesto a PC al 10% en una solución de AS al 10% durante 3 horas contrarrestaba el estrés oxidativo, restaurando así la fuerza de unión post-blanqueamiento. La evaluación con microscopía electrónica de transmisión reveló nanofugas más extensas en la interfaz resina-esmalte en dientes blanqueados, sugiriendo una posible reducción de la resistencia de unión debido a la liberación retardada de oxígeno que afecta la polimerización de los componentes de la resina (35).

Coppla *et al.* evaluaron la efectividad del AS al 10% en diferentes tiempos de exposición a esmaltes sometidos al tratamiento de blanqueamiento dental. Se obtuvieron valores de resistencia de unión similares a un diente sin tratamiento de blanqueamiento dental, sin embargo, no existe un protocolo de uso exacto en cuanto a la concentración ni tiempo de exposición a emplear para obtener los resultados mínimos deseados (36).

Kaya *et al.* 2008 compararon los efectos de diferentes tiempos de aplicación (10, 60, 120, 240 y 480 min) de gel AS al 10% sobre la fuerza adhesiva al microcizallamiento después del HP al 35%. Informaron que la máxima eficacia del antioxidante se obtuvo después de un tiempo de aplicación de al menos 60 minutos. A medida que aumentó el tiempo de solicitud, también aumentó la fuerza de unión (28).

En un estudio similar, Freire *et al.* 2011 investigaron el efecto de diferentes tiempos de aplicación de antioxidantes ante la fuerza de unión ante el microcizallamiento (uno de 60 min, uno de 10 min, dos de 10 min, dos de 5 min, dos de 1 min y tres de 1 min) en dentina con del HP al 35%. Se demostró que dos aplicaciones de AS al 35% durante 1 minuto produjeron la misma fuerza de unión que el grupo sin blanquear (37).

Dabas *et al.* 2011, utilizando un diseño de estudio diferente, compararon grupos sin blanqueamiento contra grupos de PC al 17% y utilizaron diferentes concentraciones

de hidrogel de AS (10% y 20%) durante diferentes intervalos de tiempo (30, 60 y 120 min). Se observó que el aumento de la fuerza adhesiva tras la aplicación de AS después del blanqueamiento estaba directamente relacionado con su duración y después de 60 min de tratamiento con antioxidante no hubo diferencias significativas entre la fuerza adhesiva del esmalte con blanqueamiento dental y el grupo control. Sin embargo, un aumento de la concentración no resultó en un aumento de fuerza adhesiva (38).

Alternativamente, Lima *et al.* 2011 investigaron cómo afecta el tratamiento de blanqueamiento dental a la adhesión al esmalte y a la dentina subyacente. Se buscaba determinar si un breve tiempo de aplicación (1 minuto) de un agente antioxidante podría prevenir la pérdida de adhesión tras el blanqueamiento con peróxido de carbamida al 16% o peróxido de hidrógeno al 35%. Los resultados indicaron que el blanqueamiento redujo la adhesión al esmalte cuando la restauración se realizó 24 horas después del tratamiento, pero no afectó la adhesión a la dentina. Además, la aplicación de antioxidantes al 10% durante 1 minuto contrarrestó este efecto adverso en la adhesión al esmalte (39).

Thapa *et al.* 2013 llevaron a cabo una comparación de la adhesión de resina compuesta al esmalte con blanqueamiento dental con peróxido de carbamida al 10%. Se evaluaron diferentes soluciones, incluyendo ácido ascórbico al 10% y 25%, así como alfa-tocoferol. Los resultados indicaron que, luego del blanqueamiento con peróxido de carbamida al 10%, excepto en el caso del alfa-tocoferol al 10%, la aplicación de soluciones de ácido ascórbico al 10% y 25%, y alfa-tocoferol al 25% durante 10 minutos, mejoró de manera significativa la resistencia de unión de la resina compuesta al esmalte (40).

En términos generales, el mecanismo de acción de una sustancia antioxidante reside en su capacidad para estabilizar los radicales libres. Esto significa que pueden

prevenir la oxidación provocada por los radicales libres, tanto en el medio intracelular como en las membranas, lo que a su vez evita cualquier daño a los sistemas y órganos de nuestro cuerpo. (37-40).

En el estudio de da Silva *et al.* 2010 se demostró que la aplicación de ascorbil fosfato de sodio (derivado de la Vit C) revirtió la fuerza de unión comprometida en el esmalte con blanqueamiento dental. (41) Alternativamente, Sasaki *et al.* 2009 evaluaron la resistencia al corte del esmalte y la dentina humanos basándose en un tratamiento de blanqueamiento dental con PC 10% y un tratamiento con agentes antioxidantes que contienen 10% de  $\alpha$ -tocoferol y 10% de AS formulados en solución y gel. Demostraron que sólo un 10% de  $\alpha$ -tocoferol revertía los efectos oxidantes del tratamiento blanqueador sobre el esmalte (42).

Después de una serie de investigaciones comparativas sobre los efectos de diferentes tiempos de aplicación y concentraciones de gel de ascorbato de sodio (AS) en la fuerza adhesiva después del blanqueamiento dental, se determinó que el uso de AS al 10% durante 10 minutos ofrece una mayor efectividad antioxidante que los tiempos de aplicación anteriores, que variaban desde 1 minuto hasta 3 horas. Al parecer este tiempo específico proporciona resultados óptimos en términos de fuerza adhesiva al esmalte, comparado con intervalos más cortos o más largos. Este hallazgo sugiere que una aplicación más breve de AS puede ser suficiente para contrarrestar los efectos negativos del blanqueamiento dental en la fuerza de unión al esmalte, ofreciendo así una alternativa efectiva y práctica para mejorar los resultados del tratamiento de blanqueamiento dental.

Vidhya *et al.* 2011 también informaron que el extracto de semilla de uva al 5% puede actuar como un antioxidante ante el HP al 35%, disminuyendo el efecto adverso de la decoloración (43). En un estudio comparativo de Kum *et al.* 2004, se investigaron

los efectos de tres antioxidantes diferentes (catalasa, etanol al 70% y agua pulverizada) aplicados durante 3 minutos. La aplicación de catalasa y etanol como antioxidante antes del blanqueamiento mejoró significativamente la unión del esmalte/resina compuesta en comparación con el grupo rociado con agua ( $P < 0.05$ ). Sin embargo, el etanol no logró alcanzar el nivel de fuerza de unión en el grupo de control negativo no blanqueado (44).

Utilizando un antioxidante diferente, Arumugam *et al.* 2014 también demostraron que el AS 10 %, el 6.5 % de proantocianidina y el 5 % de licopeno aumentaban la fuerza de unión del esmalte con blanqueamiento dental, pero el ascorbato de sodio mostró una fuerza de unión significativamente mayor en comparación con la proantocianidina y el licopeno (45).

En Kadiyala *et al.* 2015, compararon y evaluaron el efecto del aloe vera con AS 10% sobre la resistencia al corte de la resina compuesta al esmalte humano blanqueado con PC al 35%. Se descubrió que el tratamiento de la superficie del esmalte con blanqueamiento dental con aloe vera y AS 10% proporcionaba una fuerza de unión consistentemente mejor y, como tal, el aloe vera se puede utilizar como alternativa al AS 10% (46).

Subramonian *et al.* 2015 y Akaksakalli *et al.* 2013 también evaluaron el efecto del extracto de corteza de pino al 5% donde coincidieron que la aplicación del antioxidante por 10 minutos de exposición demostró una mejora significativa en la fuerza de unión por encima del AS al 10% (47,48).

Abraham *et al.* 2013 investigaron el impacto de un extracto de semilla de uva al 5% (proantocianidina) en la adhesión de la resina compuesta al esmalte con blanqueamiento dental, utilizando agentes adhesivos de quinta (Prime & Bond NT) y séptima (Xeno V) generación. Los resultados indicaron que la aplicación del extracto de semilla de uva como antioxidante después del blanqueamiento con peróxido de hidrógeno

al 38% mejoró de manera significativa la unión de la resina compuesta al esmalte tratado. Además, se observó una mayor resistencia al corte de la resina compuesta al esmalte cuando se utilizaron agentes adhesivos de quinta generación. (49).

Sharafeddin *et al.* en dos estudios diferentes pero complementarios (Sharafeddin y Farshad 2015; Sharafeddin *et al.* 2013) mostraron que la solución de ascorbato de sodio al 10%, extracto de cáscara de granada al 5% y 10%, extracto de semilla de uva al 5% y 10%, extracto de té verde al 5% y gel de hoja de aloe vera produjeron el mismo efecto sobre la resistencia al corte del esmalte con blanqueamiento dental, utilizando el peróxido de carbamida al 10% y HP al 38% (19,21).

Mukka *et al.* 2016 se propusieron restaurar la fuerza de unión después de la aplicación de peróxido de hidrógeno al 40%, utilizando antioxidantes como extracto de semilla de uva 5%, corteza de pino 5% y extracto de cáscara de granada 5%. Descubrieron que la corteza de pino 5% demostró un aumento significativo en la fuerza de unión de la resina compuesta al esmalte después del blanqueamiento, en comparación con el extracto de semilla de uva 5% y el extracto de cáscara de granada 5%. Este hallazgo sugiere que la corteza de pino 5% puede ser más efectivo para restaurar la fuerza de unión en este contexto específico de blanqueamiento dental (18).

Xu *et al.* 2018 estudiaron si el extracto de semilla de uva podía restaurar la resistencia de unión al microcizallamiento del esmalte justo después del blanqueamiento dental. Se aplicaron las concentraciones de 2.5%, 5%, 10% y 15% a la superficie del esmalte bovino después del blanqueamiento con peróxido de hidrogeno al 35%. Los resultados mostraron que el grupo de 2.5 % no demostró recuperación de la resistencia de unión, pero desde una aplicación de  $\geq 5\%$  se pudo recuperar la resistencia de unión. Por lo tanto, se concluye que el extracto de semilla de uva puede restaurar la resistencia

de unión comprometida después del blanqueamiento en 1 minuto si la concentración es  $\geq 5\%$  (50).

Nair *et al.* 2019 llevaron a cabo una comparación entre el efecto del 6.5% de extracto de semilla de uva, el AS 10% y el 5% de aloe vera, concluyendo que el antioxidante de semilla de uva mostraba la mayor eficiencia para restablecer la fuerza de unión después del blanqueamiento dental (51). Recientemente, dos investigaciones han indicado que una concentración del 5% de extracto de semilla de uva es el mínimo eficaz cuando se aplica durante 1 minuto.

Elawsya *et al.* 2020 evaluaron el impacto del blanqueamiento dental en la adhesión de la resina al esmalte, así como el efecto de varios antioxidantes. Se probaron dos agentes blanqueadores distintos: peróxido de hidrógeno al 40% y peróxido de carbamida al 35%. Cada agente blanqueador se dividió en cinco subgrupos, correspondientes a diferentes antioxidantes utilizados: ascorbato de sodio al 10%, extracto de semilla de uva al 10%, extracto de té verde al 10%, y ácido alfa lipoico al 5%. Los resultados demostraron que la aplicación de soluciones de ascorbato de sodio al 10%, extracto de semilla de uva al 10%, o extracto de té verde al 10% durante 10 minutos después del blanqueamiento permitió una adhesión segura al esmalte. Con excepción del ácido alfa lipoico, todos los antioxidantes fueron efectivos para restaurar la fuerza de unión comprometida después del blanqueamiento (52).

Xu *et al.* 2021 examinaron la efectividad de dos antioxidantes, extracto de semilla de uva y ascorbato de sodio, en una gama de concentraciones que incluyeron 2.5%, 5%, 10% y 15%, para restaurar la fuerza de unión entre la resina y el esmalte después del procedimiento de blanqueamiento dental. Mediante pruebas de resistencia de unión al microcizamiento en muestras de dientes tratadas con diversas concentraciones de antioxidantes, se encontró que las muestras tratadas con un 5% de extracto de semilla de

uva o un 15% de ascorbato de sodio lograron recuperar significativamente la fuerza de unión (15).

Moharam *et al.* 2022 evaluaron el efecto de diferentes agentes antioxidantes ante la resistencia de unión al microcizallamiento del esmalte con tratamiento de blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 40%, utilizando un adhesivo experimental. Se utilizaron el extracto de baya de Açai al 10% y ascorbato de sodio al 10%. El extracto de baya de Açai demostró ser el antioxidante más efectivo, mientras que el adhesivo comercial (Solobond M) mostró una mejor restauración de la resistencia de unión que el adhesivo experimental. Estos hallazgos sugieren que el extracto de baya de Açai puede restaurar eficazmente la resistencia de unión del esmalte con tratamiento de blanqueamiento dental, y que el adhesivo comercial (Solobond M) puede ser más efectivo que el experimental en este contexto (53).

Maddula *et al.* 2023 evaluaron el impacto del ascorbato de sodio al 10%, el extracto de semilla de uva al 5% y de corteza de pino al 5% en la resistencia de unión al microcizallamiento de la resina compuesta aplicada sobre esmalte con tratamiento de blanqueamiento dental con peróxido de carbamida al 35%. Posteriormente, se dividieron en dos subgrupos según el tiempo de unión: Subgrupo A (24 horas) y Subgrupo B (3 semanas). Se encontró que retrasar el procedimiento de unión durante 3 semanas resultó en una fuerza de unión similar en comparación con los grupos que se unieron inmediatamente después de la aplicación de antioxidantes. La aplicación inmediata de todos los antioxidantes pudo restaurar la fuerza de unión comprometida. Entre ellos, el extracto de semilla de uva al 5% mostró el mayor aumento en la resistencia al corte, seguido por el extracto de corteza de pino al 5% y finalmente el ascorbato de sodio al 10% (54).

Basados en toda esta información el propósito del presente estudio fue evaluar cómo varía la resistencia de unión al esmalte en dientes bovinos sometidos a tratamiento de blanqueamiento dental, al ser expuestos a diferentes concentraciones y tiempos de exposición de agentes antioxidantes derivados de la corteza de pino y el maqui berry.

### **III. HIPÓTESIS**

Existe mayor resistencia de unión al microcizallamiento en el esmalte dental bovino con previo tratamiento de blanqueamiento dental, ante el uso del extracto de la corteza de pino y extracto de maqui Berry en comparación al ascorbato de sodio evaluados en diferentes concentraciones y tiempos de exposición.

## **IV. OBJETIVOS**

### **III.1 Objetivo General**

Evaluar *in vitro* el efecto de antioxidantes liofilizados al 5% y 10% sobre la resistencia de unión al microcizallamiento en el esmalte dental bovino luego del blanqueamiento según el tiempo de exposición

### **III.2 Objetivos específicos**

1. Comparar la resistencia de unión al esmalte dental bovino con blanqueamiento expuesto a AS, CP y MB al 5% y 10%.
2. Comparar la resistencia de unión al esmalte dental bovino con blanqueamiento expuesto a AS, CP y MB a los 5 y 10 minutos de aplicación.

## V. MATERIALES Y MÉTODOS

### IV.1. Diseño del estudio

El presente estudio fue experimental, *in vitro*.

### IV.2. Muestra

Se utilizaron 140 superficies de esmalte dental bovino de los incisivos centrales y laterales superiores. Se realizaron cortes obtenidos de la región media de la corona para obtener un área mínima de 6x6mm. Con el objetivo de estandarizar procesos y determinar el tamaño muestral, se realizó una prueba piloto basada en el estudio de Mukka *et al.* y Xu *et al.* (18,50) Los datos se determinaron a través del programa STATA 18.0 según el cálculo de tamaño de muestra mediante la comparación de 2 medias bajo la prueba T de Satterthwhite asumiendo varianzas desiguales ( $H_0: m_2=m_1$  vs.  $H_a: m_2 \neq m_1$ ), considerando el nivel de confianza al 95% y un margen de error al 5%. (Anexo 1)

El tamaño muestral mínimo fue de 9 unidades por grupo, por lo que se decide considerar una unidad adicional para cubrir el margen de error durante la ejecución. Obteniendo 10 unidades por grupo.

Los grupos experimentales fueron:

**MB5\_5:** MB 5% expuesto a 5 min

**MB5\_10:** MB 5% expuesto a 10 min

**MB10\_5:** MB 10% expuesto a 5 min

**MB10\_10:** MB 10% expuesto a 10 min

**CP5\_5:** CP 5% expuesto a 5 min

**CP5\_10:** CP 5% expuesto a 10 min

**CP10\_5:** CP 10% expuesto a 5 min

**CP10\_10:** CP 10% expuesto a 10 min

**AS5\_5:** AS 5% expuesto a 5 min

**AS5\_10:** AS 5% expuesto a 10 min

**AS10\_5:** AS 10% expuesto a 5 min

**AS10\_10:** AS 10% expuesto a 10 min

**B:** Solo blanqueamiento (control negativo)

**SB\_SA:** Sin blanqueamiento ni antioxidante (control positivo)

### **IV.3 Criterios de selección**

Se incluyeron todas las piezas dentarias bovinas sanas. Se excluyeron piezas dentarias con alteración en la estructura del esmalte como erosiones, desgaste, lesiones de caries, lesiones no cariosas, fisuras y otras que modifiquen las características del tejido dental.

### **IV.4 Definición operacional de variables**

Resistencia de unión al microcizallamiento: Fuerza necesaria que conserva unidas dos estructuras de diferentes composiciones. Operacionalmente es definido como el valor de la carga necesaria para producir una falla y generar el desprendimiento del material restaurador en el tejido dentario. Variable dependiente cuantitativa con unidad de medida en Megapascales (MPa).

Antioxidante: Molécula con la capacidad de atrasar o prever la oxidación de otras moléculas. Las interacciones oxidativas pueden generar radicales que empiezan

reacciones en cadena. Los antioxidantes culminan estas reacciones retirando intermedios de los radicales e impiden otras reacciones, oxidándose ellos mismos.

Operacionalmente es una sustancia capaz de disminuir el tiempo necesario para realizar procedimientos adhesivos en el esmalte dental. Variable de tipo cualitativo de escala nominal. Categorías: CP 5%, CP 10%, MB 5%, MB 10%, AS 5% y AS 10%.

Tiempo: Plazo determinado donde se realiza una acción o se desarrolla un acontecimiento. Operacionalmente está definido como el periodo de exposición de los antioxidantes en dientes con tratamiento de blanqueamiento. Variable cualitativa de escala nominal. Categorías: 5 y 10 minutos.

#### **IV.5. Procedimientos y Técnicas**

*Preparación de los especímenes:* Los dientes bovinos se extrajeron y limpiaron seguido de un alisado y raspado radicular de la superficie para eliminar los tejidos residuales con una cureta Gracey 13/14 (Master, Islamabad, Pakistán) después se lavaron con agua corriente. Cada diente se cortó a nivel de UCA separando la raíz, manteniendo la corona. Esta última fue dividida en dos. Los cortes se realizaron con la máquina de corte de precisión OCP 100 (Odeme, San Carlos, SP, BR). El tejido pulpar se retiró con una cureta para dentina (Saona, Lima, Perú). Se procedió a realizar el pulido de las superficies dentales resultantes con una lija de agua de grano 600 (3M ESPE St. Paul, EE. UU) en dirección como si se escribiera el número arábigo “8” durante 30 segundos, fueron enjuagadas y secadas con el rociador de aire/agua. Cada segmento de corona se fijó en un tubo de PVC con acrílico de autocurado (Vitacryl y Vitacron, Bogotá, Colombia), permitiendo la exposición del esmalte vestibular.

Los especímenes quedaron almacenados en agua destilada desionizada a temperatura ambiente hasta la fase experimental y fueron distribuidos al azar (2,4,5,9-11,14-19)

a los 14 grupos(n=10), los cuales fueron el grupo control (SA\_SB, B), grupo de AS (AS5\_5, AS5\_10, AS10\_5, AS10\_10), grupo de MB (MB5\_5, MB5\_10, MB10\_5, MB10\_10) y grupo de CP (CP5\_5, CP5\_10, CP10\_5, CP10\_10) respectivamente y se estableció un estudio ciego para lo cual los grupos fueron codificados de tal forma que el investigador no conocía a qué grupo estuvo evaluando en las pruebas de microcizallamiento. Esta codificación se mantuvo hasta finalizar el análisis estadístico ver Anexo imagen F.

*Preparación de los antioxidantes:* Los antioxidantes empleados se muestran en Anexo 2.

Maqui Berry (MB): Se separaron 5 gr y 10 gr de Maqui Berry (KOYAH, Lowell, IN, USA) para ser disueltos en 100 ml de agua destilada desionizada para crear 5% y 10% de solución.

Corteza de pino (CP): Se separaron 5 gr y 10 gr de Pine Bark Extract, (Harvest Naturals Supplement Partners LLC, Phoenix, AZ, USA) para ser disueltos en 100 ml de agua destilada desionizada para crear 5% y 10% de solución.

Ascorbato de sodio (AS): Se separaron 5 gr y 10 gr de Sodium L-ascorbate  $\geq 98\%$  (Sigma Aldrich®, Merck, Darmstadt, Alemania) para ser disueltos en 100 ml de agua destilada para crear 5% y 10% de solución. Las soluciones resultantes fueron colocadas en jeringas de tuberculina.

Para la disolución homogénea de los antioxidantes se utilizó el agitador magnético C-MAG HS4 (IKA-Werke, Staufen, Alemania) por 10 minutos por cada solución, proporcionado por el Laboratorio de materiales dentales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

*Procedimiento de blanqueamiento y aplicación de los antioxidantes:* Los especímenes de los grupos 1-13 fueron expuestos a peróxido de hidrógeno al 35%

(Whiteness HP MAXX, FGM Productos Odontológicos Ltda, Joinville, SC, Brazil). Se procedió a mezclar y aplicar el producto según las indicaciones del fabricante (2 sesiones 2 aplicaciones de blanqueamiento dental por 15 minutos y entre sesiones un intervalo de tiempo de 7 días). Al finalizar el blanqueamiento, los ejemplares fueron enjuagados con un spray de aire/agua durante 30 segundos para posteriormente ser secadas con aire.

Inmediatamente se procedió a aplicar 0.1 ml de antioxidante (12-16) (Anexo 5 Figura D). según cada grupo a evaluar durante 5 y 10 minutos. Después del tratamiento antioxidante, los especímenes se enjuagaron con un spray de aire/agua durante 30 segundos y posteriormente fueron secadas. El grupo 14 no recibió tratamiento de blanqueamiento ni aplicación del antioxidante

*Procedimiento adhesivo:* Finalizada la aplicación de los AA, se realizó un acondicionamiento de la superficie del esmalte con grabado ácido empleando ácido fosfórico al 35% (3M ESPE St. Paul, EE. UU), durante 15 segundos, luego las muestras se lavaron y secaron con spray aire/agua (14-19). Posteriormente se aplicó el adhesivo Single Bond Universal (3M ESPE, St. Paul, EE. UU) en su modo grabado y lavado para luego fotoactivar con la lámpara LED Valo (Ultradent, South Jordan, EE.UU.) con una intensidad de  $1000 \text{ mW/cm}^2$  durante 10 segundos.

Sobre la superficie del esmalte se colocó un tubo de silicona (Odeme, San Carlos, SP, BR) de 0.8 mm de diámetro de luz interna, que sirvió como matriz de 2 mm de altura, el cual se llenó con resina fluida 3M ESPE Filtek Z350 XT flow (3M ESPE, St. Paul, EE.UU.) color A2; la resina se fotoactivó durante 20 segundos. Se colocaron 4 tubos de resina por cada superficie bovina (Anexo 6), los tubos de silicona se retiraron con una hoja de bisturí N° 15 (Biolife, Sozhou, China) (2,4,5,9-

11,14-19). Los especímenes se conservaron en agua destilada desionizada a 37 °C a durante 24 h (4,5,9-11,14-19).

*Prueba de microcizallamiento:* Los especímenes se colocaron en la máquina de microcizallamiento semiuniversal OM100 (ODEME, San Carlos, SP, Brasil). Al rededor de cada cilindro de resina se colocó un alambre de acero inoxidable en forma de 8 de 0.2 mm, un extremo estuvo fijado al equipo y el otro extremo a la base del cilindro de resina. Una vez instalado se aplicó la fuerza de microcizallamiento. Los valores de resistencia de unión fueron registrados en Newtons y transformados a Megapascuales (MPa) para los análisis respectivos (Anexo 7)

#### **IV.6 Plan de análisis**

Los datos recolectados fueron procesados según el programa Excel 2019 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA). De igual manera, los datos de resistencia de unión fueron analizados mediante estadística descriptiva bivariada (media y desviación estándar), en el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) versión 29 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) aplicando un nivel de confianza del 95% y un nivel de significancia menor a 0.05. Asimismo, se realizó un análisis de distribución normal de los valores de resistencia de unión al microcizallamiento con la prueba de Shapiro Wilk y la prueba de ANOVA/Tukey para evaluar la presencia de diferencia entre los grupos e identificar los grupos específicos con diferencia estadística significativa.

#### **IV.7. Consideraciones éticas**

El presente estudio fue aprobado por la Dirección Universitaria de Asuntos Regulatorios en Investigación (DUARI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. De igual manera, se obtuvo la autorización del Laboratorio de Materiales Dentales de la

Facultad de Estomatología para la ejecución de la investigación. El presente estudio no contó con conflictos de interés ni conllevó a riesgo alguno para el uso de dientes bovinos ni manipulación de las soluciones experimentales.

## VI. RESULTADOS

Los datos descriptivos y la comparación del promedio y desviación estándar de la resistencia de unión según antioxidante, concentración y tiempo de exposición se muestran en la Tabla 1. El análisis de normalidad determinó una distribución normal de los datos. Los agentes antioxidantes con los mayores valores de resistencia de unión al microcizallamiento fueron AS 10% a los 5 minutos ( $16.64 \pm 1.93$ ), MB 5% a los 5 minutos ( $17.32 \pm 1.32$ ) y MB 10% a los 10 minutos ( $17.82 \pm 1.46$ ); seguido por los grupos AS 5% a los 10 minutos ( $15.82 \pm 1.36$ ), AS 10% a los 5 minutos ( $16.64 \pm 1.93$ ), AS 10% a los 10 minutos ( $16.45 \pm 1.88$ ), CP 5% a los 5 minutos ( $16.14 \pm 1.99$ ). Los agentes antioxidantes con los menores valores a la resistencia de unión al microcizallamiento fueron AS 5% a los 5 minutos ( $12.27 \pm 1.70$ ), MB 10% a los 5 minutos ( $13.00 \pm 1.12$ ) y CP 10% a los 10 minutos ( $13.47 \pm 1.83$ ). Las muestras de esmalte que no recibieron blanqueamiento ni antioxidante presentaron un promedio de resistencia de unión SA\_SB ( $14.46 \pm 1.58$ ).

En cuanto a la comparación entre grupos, existe una diferencia significativa entre el AS 5% a los 5 minutos ( $12.27 \pm 1.70$ ) y AS 5% 10 minutos ( $15.82 \pm 1.36$ ) obteniendo un mejor resultado a mayor tiempo de exposición. En cambio, entre el AS 10% en 5 minutos y 10 minutos no presentan una diferencia significativa. Con respecto al MB al 5% existe una diferencia significativa entre los grupos de 5 minutos ( $17.32 \pm 1.32$ ) y 10 minutos ( $13.75 \pm 1.51$ ) de exposición. De igual manera entre los grupos de MB 10% en 5 minutos ( $13.00 \pm 1.12$ ) y 10 minutos ( $17.82 \pm 1.46$ ) obteniendo un mejor resultado a mayor tiempo de exposición. Por otro lado, los grupos de CP 5% demuestran una diferencia significativa entre los tiempos de exposición de 5 minutos ( $16.14 \pm 1.99$ ) y 10 minutos ( $15.47 \pm 1.85$ ). A diferencia de la CP 10% que no evidencia diferencia significativa entre

los tiempos de exposición a los 5 minutos (14.48±1.86) y 10 minutos (13.47±1.83) de exposición. Resultados se pueden observar en el Gráfico de cajas.

Tabla 1. Resistencia de unión según antioxidante, concentración y tiempo de exposición (MPa).

<b>Antioxidante</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Promedio (DE)</b>
AS 5%	5min	12.27 (1.7) <sup>g</sup>
	10 min	15.82 (1.36) <sup>bc</sup>
AS 10%	5 min	16.64 (1.93) <sup>abc</sup>
	10 min	16.45 (1.88) <sup>bc</sup>
MB 5%	5min	17.32 (1.32) <sup>ab</sup>
	10 min	13.75 (1.51) <sup>ef</sup>
MB 10%	5min	13.00 (1.12) <sup>fg</sup>
	10 min	17.82 (1.46) <sup>a</sup>
CP 5%	5min	16.14 (1.99) <sup>bc</sup>
	10 min	15.47 (1.85) <sup>cd</sup>
CP 10%	5min	14.48 (1.86) <sup>de</sup>
	10 min	13.47 (1.83) <sup>efg</sup>
Grupo control + (SA_SB)		14.46 (1.58) <sup>de</sup>
Grupo control - (B)		9.51 (1.44) <sup>h</sup>

Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa (p<0.001)

AS: Ascorbato de Sodio

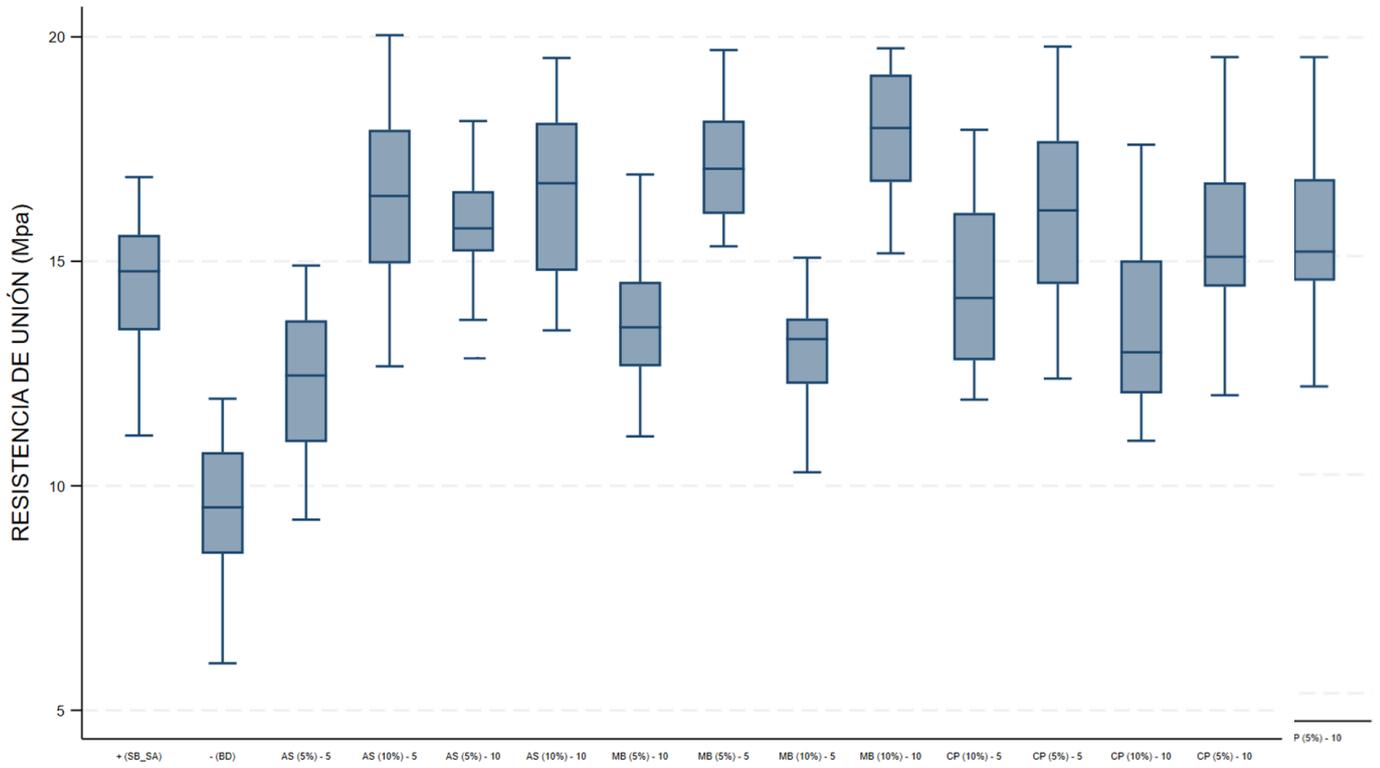
MB: Maqui Berry

CP: Corteza de Pino

SA\_SB: Sin blanqueamiento ni antioxidante

B: Sólo blanqueamiento

Gráfico de cajas: Resistencia de unión según antioxidante, concentración y tiempo de exposición.



## VII. DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue analizar cómo los agentes antioxidantes (AS, MB y CP) influyen en la resistencia de unión al esmalte dental bovino después de someterse a un tratamiento de blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 35%. Los resultados revelaron que todos los agentes antioxidantes lograron restaurar la adhesión, ya sea igualando o superando la resistencia de unión de un diente sin blanqueamiento dental.

En el presente estudio se encontró que el AS 5% y AS 10% lograron restablecer la resistencia de unión al microcizallamiento en el esmalte dental bovino. Estos resultados coinciden con los resultados de Jung *et al.*, Bulut *et al.*, Kimyai *et al.*, Beltagui *et al.*, Anil *et al.* y Mena-Serrano *et al.*, quienes encontraron una recuperación de la resistencia de unión al esmalte o dentina en sustratos humanos / bovinos luego de la exposición a antioxidantes. Sin embargo, no coinciden con los resultados de Lai *et al.*, García *et al.* y Siqueira *et al.* probablemente por que emplearon AS10% en tiempos de exposición desde 60 minutos a 3 horas y la presentación del antioxidante utilizada fue en gel.

El ascorbato de sodio, una sal derivada de la vitamina C con pH neutro, ampliamente empleada en la industria alimentaria y sin reportes de efectos biológicos adversos o riesgos en la práctica clínica (4), es efectivo para recuperar de manera inmediata la resistencia de unión adhesiva en el esmalte y dentina luego de la exposición a agentes blanqueadores.

Lai *et al.* 2001 exploraron el efecto del antioxidante AS 10% como una alternativa para contrarrestar la pérdida de fuerza de unión de la dentina tras la irrigación del conducto radicular con hipoclorito de sodio al 5.25% y HP 10%. Se aplicaron diferentes tratamientos superficiales incluyendo agua destilada, AS 10%, HP 10%, y HP seguido de

AS 10%, utilizando dos tipos de adhesivos Single Bond (3M ESPE, Neuss, Alemania) y Excite (Ivoclar-Vivadent, Zúrich, Suiza). Los resultados mostraron que la aplicación de AS después del tratamiento con hipoclorito de sodio o HP revirtió efectivamente las fuerzas de unión comprometidas. La microscopía electrónica reveló que la desproteinización fue incompleta en los grupos tratados con hipoclorito de sodio, resultando en capas híbridas remanentes de espesor reducido y fibrillas de colágeno escasamente distribuidas y oscurecidas. Sin embargo, la aplicación de AS ayudó a preservar la integridad de las capas híbridas y las fibrillas de colágeno, demostrando una resistencia de unión al microcizallamiento comparable al control. Las restauraciones de resina presentaron variaciones en el grosor de la capa híbrida entre los diferentes grupos analizados, sugiriendo una influencia significativa de los tratamientos de superficie en la adhesión a los túbulos dentinarios (29).

El siguiente año, Lai *et al.* 2002 comprobaron que la inmersión del esmalte dental expuesto a PC 10% en una solución de AS 10% durante 3 horas compensaba el estrés oxidativo provocado por los subproductos del peróxido de carbamida, demostrando que el AS 10% es un antioxidante efectivo para restaurar la fuerza de unión post blanqueamiento. En la evaluación con microscopía electrónica de transmisión después de la inmersión en nitrato de plata amoniacal para la evaluación de nanofugas la interfase resina-esmalte en dientes con blanqueamiento mostraron nanofugas más extensas en forma de granos de plata aislados y depósitos de plata en forma de burbujas, concluyendo que es probable que la reducción de la resistencia de la unión entre la resina y el esmalte luego del blanqueamiento, se deba a una liberación retardada de oxígeno que afecta la polimerización de los componentes de la resina (35).

El principal mecanismo de acción de la AS es evitar la formación de radicales libres, neutralizándolos y acelerando así la eliminación del oxígeno residual. Se sabe que

el peróxido de hidrógeno aplicado directamente o liberado del peróxido de carbamida, debido a su bajo peso molecular, puede penetrar el esmalte hasta llegar a la pulpa dental, y que existe una disolución continua del peróxido de hidrógeno que no sólo queda retenido en el esmalte con tratamiento de blanqueamiento sino también se suma a la cantidad de peróxido de hidrógeno como resultado de la polimerización de los sistemas adhesivos empleados en el procedimiento adhesivo (33,55,56).

Dado que los adhesivos dentales se polimerizan mediante un mecanismo de polimerización de radicales libres esto implica mayor producción de radicales libres a través de iniciadores redox activados por luz, por consiguiente, cuando se aplica peróxido de hidrógeno en el proceso de blanqueamiento dental, el peróxido de hidrógeno se descompone, liberando oxígeno que se queda atrapado en el esmalte. La liberación de oxígeno en las áreas donde se aplica el agente blanqueador puede afectar la polimerización del adhesivo dental. La polimerización es el proceso mediante el cual los monómeros en el adhesivo se unen para formar una estructura más grande y estable. Sin embargo, debido a la presencia de oxígeno liberado durante el blanqueamiento y también por la composición del sistema adhesivo, la polimerización del adhesivo puede no ser completa en esas áreas expuestas al agente blanqueador (29).

El AS ha sido empleado clínicamente en pacientes, en pocos casos. Siqueira *et al.* 2012 realizaron el tratamiento de blanqueamiento con HP 35%. Luego se aplicó sobre las superficies dentales un gel antioxidante de AS 10% durante 60 minutos para luego realizar restauraciones con resinas compuestas directas en el sector antero superior e inferior (57).

García *et al.* 2012 hicieron seguimiento de un año de una mujer joven que presentó agenesia de los incisivos laterales superiores. Se realizó una remodelación anatómica con resina directa inmediatamente después del blanqueamiento dental con (HP 35%) y

ambulatorio (PC 16%), seguido de la aplicación de un gel de ascorbato de sodio al 10% durante 60 minutos, para permitir la remodelación inmediata con restauración directa de resina compuesta. La evaluación clínica y radiográfica después de un año reveló que las restauraciones se mantuvieron estables y no se encontraron signos de enfermedad pulpar o periodontal, tampoco se observaron alteraciones de forma ni color. Por lo tanto, este enfoque puede considerarse eficiente y el uso de gel de AS pudo ayudar al profesional a realizar procedimientos de unión inmediatamente después de los tratamientos de blanqueamiento (58).

Mena-Serrano *et al.* 2023 evaluaron el efecto de la aplicación de antioxidantes sobre la fuerza de adhesión del esmalte dental bovino con tratamiento de blanqueamiento dental con HP 35% después de 24 horas y 3 años de almacenamiento en agua. Utilizaron como agentes antioxidantes el gel de AS 10%, extracto de semilla de uva al 5% (GS) y aloe vera 5% (AV) por 10 minutos de aplicación. El procedimiento de restauración se realizó inmediatamente después del blanqueamiento, a los 7 y 14 días posteriores al tratamiento. En este estudio, se evaluó la resistencia de unión a la microtracción, la mitad de las muestras se probaron después de 24 horas, mientras que la otra mitad se almacenaron en agua durante 3 años antes de la prueba. Se encontraron valores de unión más bajos en las muestras tratadas con blanqueamiento y restauradas inmediatamente en comparación con el grupo de control, pero estas diferencias no fueron significativas después de 3 años de almacenamiento en agua. Se concluyó que el agente antioxidante AS 10% fue el más eficaz para mejorar la fuerza de unión inmediata. Sin embargo, independientemente del agente antioxidante utilizado, los valores de fuerza de unión se mantuvieron o recuperaron después de 3 años de almacenamiento en agua. Concluyeron que se podría utilizar AS 10 % para evitar retrasos en los procedimientos de unión después

del blanqueamiento en el consultorio sin comprometer la fuerza de unión con el tiempo (59).

El AS es el antioxidante más investigado en las últimas décadas debido a su potencial para neutralizar el peróxido de hidrógeno. Sin embargo, es importante enfatizar que la concentración, la forma de presentación (solución o gel), el tiempo de aplicación y el tipo de adhesivo empleado influyen en su eficacia.

Debido a que las soluciones de AS pierden su efecto antioxidante muy rápidamente, deben prepararse justo en el momento de su uso (7-12). A raíz de buscar una solución que pueda superar o igualar la reacción del AS sobre la estructura dental, sin la limitación de la estabilidad, se han investigado otros antioxidantes para evaluar su efecto en los procesos adhesivos posteriores al blanqueamiento dental como extracto de semilla de uva (4,15,16,18,19,21,22,43,49,50,59,69), té verde (4,15,16,19,21,22) corteza de pino (4,16,22,18,47,48) aloe vera (4,16,19,22,59) cascará de granada (4,16,19,21,22) y extracto de arándano (4,13,53).

Las proantocianidinas (PAC) son antioxidantes naturales no enzimáticos que se encuentran de manera abundante en semillas de uva, extractos de corteza de pino, arándanos, té verde y cáscaras de algunos frutos y vegetales, aunque también pueden ser sintetizadas. (12,15,18) Clasificadas como polifenoles debido a su estructura química, estas moléculas contienen múltiples grupos fenólicos y son comunes en una variedad de plantas. Se destacan por su capacidad para neutralizar los radicales libres y proteger las células del daño oxidativo, lo que les confiere diversos beneficios para la salud. Dentro de los polifenoles, las proantocianidinas representan un tipo específico con estructuras moleculares que incluyen flavonoides, como flavonoles, unidos por enlaces de tipo éster o enlaces carbono-carbono, donde son ampliamente estudiadas y reconocidas por su importancia en la salud y la nutrición (12).

Uno de los compuestos ampliamente estudiado por presentar altas concentraciones de PAC es el extracto de semilla de uva con resultados ampliamente efectivos. El Maqui Berry y el extracto de corteza de pino son sustancias que presentan altas concentraciones de PAC. Actualmente no existe evidencia científica consistente que señale la efectividad del Maqui como agente antioxidante natural en procedimientos dentales. Asimismo, el extracto de corteza de pino ha sido evaluado en algunas investigaciones obteniendo resultados similares a los valores de resistencia de unión a piezas dentarias sin blanqueamiento dental (4,16,22,18,47,48).

En relación a MB en el presente estudio se encontró que fue efectivo para revertir el efecto del peróxido de hidrógeno de manera inmediata a 5 % y 10 %. Cabe resaltar que el MB 10% a 10 minutos presentó el mayor valor de resistencia de unión comparado con los otros grupos evaluados. Estos resultados se evidencian por la elevada cantidad de polifenoles dentro de su composición.

El maqui (*Aristotelia chilensis*) planta nativa del Pacífico Sur, altamente apreciado a escala global por sus concentraciones elevadas de compuestos bioactivos. En Chile, la producción anual de frutos de maqui se estima en 130 mil toneladas, mayoritariamente en forma seca, con más del 80% de esta producción destinada a la exportación hacia países como Corea del Sur (60,61,62).

Los frutos del maqui son populares como bocadillos y se emplean en la preparación artesanal de mermeladas y licores. A nivel industrial, se utilizan para la fabricación de colorantes naturales, helados, jugos y en la industria farmacéutica para la producción de suplementos antioxidantes, gracias a las altas concentraciones de antocianinas presentes en la fruta (62,63,64).

La evidencia disponible indica que las hojas de maqui poseen un valor antioxidante notable en comparación con otras partes de la planta. Estudios anteriores han investigado la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles en los frutos, tallos y hojas del maqui, concluyendo que las hojas sobresalen con una concentración polifenólica de  $78.5 \pm 0.43$  mM EAG (equivalentes de ácido gálico) y un poder antioxidante de  $189.50 \pm 10.25$  mM EAG. (61,62) Este fenómeno se atribuye a la presencia de compuestos bioactivos como alcaloides, flavonoles, ácidos fenólicos y taninos (63,64). Por esta presencia de compuestos fenólicos le reconocen su actividad anticancerígena, antimutagénica, antiinflamatoria y antioxidante (64,65).

Ormazabal en el 2014 discute en su tesis la prevalencia de los polifenoles como antioxidantes en extractos herbales comerciales, particularmente en los derivados de *berries*, donde las antocianinas son especialmente abundantes. Destaca la variabilidad en concentración y actividad antioxidante entre los diferentes preparados comerciales de extractos de berries. Ormazabal evaluó la actividad antioxidante de extractos de arándano, murtila y maqui, concluyendo que el extracto de maqui, rico en polifenoles, exhibe la mayor actividad anti lipoperoxidante, representada por el menor EC50 (concentración efectiva). Este extracto contiene una mayor cantidad de antioxidantes lipofílicos en comparación con los de arándano y murtila, lo que sugiere una mayor afinidad por los lípidos de la membrana microsómica. Se concluye que el alto contenido de polifenoles en el extracto de maqui, junto con su excelente capacidad antioxidante, lo hacen ideal para formulaciones fitofarmacéuticas antioxidantes, con la ventaja de requerir pequeñas cantidades para lograr una alta actividad antioxidante, lo que sugiere un riesgo reducido de efectos adversos o interacciones medicamentosas en formulaciones farmacéuticas basadas en este extracto (65).

Genskowsky *et al.* 2015 investigaron las características de la baya de Maqui Berry cultivada en Chile, centrándose en su contenido de polifenoles, incluyendo ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas, así como su capacidad para neutralizar radicales libres. Identificaron un total de 19 compuestos polifenólicos, con una alta presencia de antocianinas y flavonoles, particularmente los derivados de delphinidina y quercetina, respectivamente, en la baya de maqui. Estos hallazgos sugieren que el Maqui Berry podría tener aplicaciones en la industria alimentaria, ya sea como ingrediente en alimentos funcionales o como conservante natural, gracias a su perfil antioxidante y propiedades antibacterianas, lo que podría explicar los resultados prometedores encontrados en los grupos de estudio relacionados con el Maqui Berry (66).

En relación al CP se encontró que fue efectivo para revertir el efecto del peróxido de hidrógeno de manera inmediata al 5 % y 10% con resultados, siendo que a 5% a 5 minutos presentó los mayores valores. Estos resultados coinciden con los resultados de Mukka *et al.* (*Pinus roxburghii*) y Akaksakalli *et al.* (*Pinus cooperi*), quienes encontraron una recuperación de la resistencia de unión al esmalte o dentina en sustratos humanos/bovinos con la diferencia que aplicaron CP 5% a 10 minutos de exposición, es decir mayor tiempo de aplicación siendo que en el presente estudio los mayores valores se encontraron a los 5 minutos, lo cual es más práctico cuando se piensa en tiempos clínicos. (18,48) Por otro lado, no coinciden con los resultados de Subramonian *et al.* (*Polyalthia longifolia*) probablemente a que en su estudio se utilizó HP 37.5% y evaluó no solo el extracto de CP 10%, sino también el extracto de semilla de uva al 10% y AS 10% donde los tres grupos recuperaron la resistencia de unión, siendo el CP 10% el grupo con mayores valores, sin embargo, no encontraron diferencia significativa ante el grupo control (Presentación en solución) (47).

La CP (*Pinus massoniana*) de la familia Pinaceae se cultiva en las regiones del sur del río Changjiang, China, las regiones del norte de Vietnam e India y el Cabo de Hornos de África, especialmente en las montañas del sur de China. Su corteza se utiliza en la medicina tradicional china para promover la constricción, la hemostasia y la desintoxicación, y se ha prescrito de diversas formas para el tratamiento de la artralgia del reumatismo y la hipertensión en China y otros países de Oriente (67,68).

Yingyu *et al.* 2005 encontraron que el extracto de corteza de *Pinus massoniana* tiene compuestos fenólicos y sus derivados (67). Por lo que indican que el CP puede servir como una fuente fácilmente accesible de antioxidantes naturales (68). Los principales compuestos bioactivos del extracto de corteza de PC son las PAC, que desempeñan funciones importantes en la detención del ciclo celular, la inducción de la apoptosis y la inhibición de la migración de células cancerosas *in vivo* e *in vitro* (86). El CP, como extracto vegetal más nuevo, contiene principalmente PAC, que son mejores eliminadores de radicales libres e inhibidores del daño tisular oxidativo que la vitamina C, la vitamina E y el betacaroteno (68).

Subramonian *et al.* 2015 también evaluaron el efecto del AS 10%, extracto de semilla de uva 10% y CP 10% sobre la resistencia al corte de la resina compuesta al esmalte tratado con HP 37.5%. Los resultados mostraron que el uso de antioxidantes revirtió eficazmente la fuerza de unión comprometida del esmalte con blanqueamiento y, entre los antioxidantes, la aplicación de CP 10% después del blanqueamiento generó la mayor fuerza de unión (47).

Aksakalli *et al.* 2013 investigaron el efecto de una solución de CP 5% aplicado en 10 minutos sobre la resistencia de unión al microcizallamiento de brackets metálicos adheridos con resina compuesta al esmalte humano después del blanqueamiento con HP 40%. Los resultados reflejaron que una solución de AS 10 % o una solución CP 5 %

expuesto por 10 minutos revirtieron la fuerza de unión, lo que fue indicativo del hecho de que se podía usar una solución de corteza de pino en lugar de ascorbato de sodio (48).

Mukka *et al.* 2016 buscaron recuperar la fuerza de unión luego del uso del HP 40% empleando antioxidantes como extracto de semilla de uva al 5%, CP 5% y extracto de cáscara de granada al 5%. El CP 5% aumentó significativamente la fuerza de unión de la resina compuesta al esmalte con blanqueamiento que el del 5% de extracto de semilla de uva y el 5% de extracto de cáscara de granada (18).

Vidhya *et al.* 2011, revelaron que la aplicación de una solución del extracto de semilla de uva al 5% durante 10 minutos exhibió la misma eficacia que una solución de AS 10% por 10 minutos para aumentar la fuerza de unión de los dientes con tratamiento de blanqueamiento con HP 38%, generando una nueva posibilidad para evitar posponer el procedimiento restaurador (43).

Xu *et al.* 2021 evaluaron la capacidad de dos antioxidantes, extracto de semilla de uva y ascorbato de sodio en diferentes concentraciones 2.5, 5, 10 and 15%, para restaurar la fuerza de unión entre resina y esmalte después del blanqueamiento dental. Se realizaron pruebas de resistencia de unión al microcizallamiento en muestras de dientes tratadas con diferentes concentraciones de antioxidantes. Se observó que las muestras tratadas con 5% de extracto de semilla de uva o AS 15% recuperaron la fuerza de unión (15).

El tiempo de aplicación de antioxidante por lo general se ha establecido en 10 minutos sin embargo de acuerdo con nuestros resultados podemos verificar que esto va a depender del tipo de antioxidante y probablemente está relacionado a la concentración de PAC que presentan. En el caso del AS, a mayor concentración menos tiempo de aplicación, así AS 10% solo requiere de 5 minutos de aplicación. En el caso del MB y CP la concentración de 5% requirieron de 5 minutos de aplicación.

Nair *et al.* compararon el efecto del 6.5% de extracto de semilla de uva con AS 10% y el 5% de aloe vera, y concluyeron que el antioxidante semilla de uva (PAC) era el más eficiente para revertir la fuerza de unión después del blanqueamiento dental (69). Recientemente, dos estudios demostraron que el 5% es la concentración mínima eficiente de extracto de semilla de uva cuando se aplica durante 1 min (15,50). Este hallazgo sugiere que sustancias con alto contenido de PAC podrían requerir menos tiempo de aplicación clínica del antioxidante para lograr efectividad.

Por otro lado, es importante resaltar que el tipo de adhesivo empleado durante la restauración podría influir en los valores de resistencia de unión. Khoroushi y Saneie, 2012, informaron que el AS 10% no pudo revertir la fuerza de adhesión de las restauraciones realizadas con un de adhesivo de un solo paso, pero los dientes con blanqueamiento restaurados con un sistema adhesivo convencional de 3 pasos no presentaron una disminución en la fuerza de unión (70). Abraham *et al.* informaron que el 5% de PAC (extracto de semilla de uva) puede aumentar la resistencia de la unión del esmalte con blanqueamiento en dientes restaurados utilizando sistemas adhesivos de grabado y enjuague (49).

Una limitación del presente estudio es que fue un ensayo *in vitro* lo que puede ocasionar resultados limitados debido a que no reproducen fielmente la realidad ya que existen otras variables que no se consideran en la cavidad bucal, sin embargo, los estudios *in vitro* ofrecen la posibilidad de realizar experimentos controlados, de bajo costo, útiles para analizar procesos complejos en un ambiente seguro y sin riesgos, permitiendo aislar y controlar los diferentes factores que influyen en un proceso biológico, lo que no sería posible en un contexto real. Es importante que los resultados del presente estudio sean fortalecidos con estudios clínicos.

Por otro lado, debido a que el tiempo clínico es muy relevante al momento de la atención clínica y dado que los antioxidantes naturales presentan una coloración específica y altas concentraciones de PAC es importante estudiar el efecto de estas en el color de los dientes recientemente con tratamiento de blanqueamiento y la posibilidad de reducir los tiempos de aplicación.

Queda claro que el uso de antioxidantes inmediatamente después del procedimiento de blanqueamiento ayuda a recuperar la fuerza de unión comprometida de la resina compuesta al esmalte con blanqueamiento de manera inmediata. Los hallazgos respaldaron la hipótesis, demostrando una validez significativa al identificar al MB y CP como sustancias antioxidantes capaces de revertir la fuerza de unión reducida provocada por el HP 35% debido a su capacidad de donar electrones a los radicales libres neutralizando su efecto, hecho importante en casos estéticos inmediatos y donde el tiempo es un factor restrictivo. Además, se observó que mejora la adhesión, lo que sugiere su aplicabilidad en diversas áreas de la odontología.

## **VII. CONCLUSIONES**

1. Todos los agentes antioxidantes recuperaron la resistencia de unión al microcizallamiento del esmalte dental bovino luego del blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 35%, a excepción de AS 5% a los 5 minutos, MB 10% a los 5 minutos.
2. Los agentes antioxidantes exhibieron un incremento en los valores de resistencia de unión al microcizallamiento del esmalte dental bovino luego del blanqueamiento dental con peróxido de hidrógeno al 35% con valores destacados para AS al 10% a los 5 minutos, MB al 5% a los 5 minutos y MB al 10% a los 10 minutos.

## **VIII. RECOMENDACIONES**

- Se recomienda considerar el uso de algún solvente compatible con los agentes antioxidantes para agilizar el proceso de mezcla durante la fabricación de la solución antioxidante.
- Es importante considerar la interacción de los agentes adhesivos, ya que su composición podría incluir fenoles, lo cual podría influir en los resultados de los estudios.
- Se recomienda complementar los hallazgos con estudios que proporcionen datos sobre sólo la influencia del color de los antioxidantes en el color de los dientes.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Halabi S, Matsui N, Nikaido T, Burrow M, Tagami J. Effect of office bleaching on enamel bonding performance. *J AdhesDent.* 2019; 21(1):167-177.
2. Azizi F, Bahrami K, Imani M, Golshah A, Safari-Faramani R. Effect of bleaching with carbamide peroxide on shear bond strenght of orthodontic brackets: A meta-analysis of in vitro studies. *J Ortho* 2020; 18(1):214-224.
3. Güleç Alagöz L. Karadağlıoğlu İ, Ulusoy N. Antioxidants used in Restorative Dentistry. *Cyprus J Med Sci* 2019; 4(2): 141-145.
4. Olmedo D, Kury M, Resende B, Cavalli V. Use of antioxidants to restore bond strength after tooth bleaching with peroxides. *Eur J Oral Sci.* 2021; 129(1):127-173.
5. Imani M, Azizi F, Bahrami K, Golshah A, Safari-Faramani R. In vitro bleaching effect of hydrogen peroxide with different time of exposition and concentration on shear bond strength of orthodontic brackets to human enamel: A meta-analysis of in vitro studies. *Int Orthod.* 2020;18(1):22-31.
6. Solís C. Aclaramiento dental: revisión de la literatura y presentación de un caso clínico. *Rev ADM* 2018; 75(1): 9-25.
7. Alqahtani, M. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. *The Saudi Dental Journal* 2014; 157(1):48-62.
8. Qi F, Huang H, Wang M, Rong W, Wang J. Applications of Antioxidants in Dental Procedures. *Antioxidants (Basel).* 2022 Dec 18;11(12):2492.
9. Bulut H., Turkun M., Kaya A.D. Effect of an antioxidizing agent on the shear bond strength of brackets bonded to bleached human enamel. *Am. J. Orthod.* 2006;129:266–272.
10. Baldión P. Influence of post-bleaching time on a composite resin bond strength to enamel. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* 2013; 25(1) 92-116.
11. Saati K, Niknejad S, Khadem P, Valizadeh S. Effect of 10% sodium ascorbate applied for different time periods on shear bond strength of composite to bleached enamel. *J Oral Res* 2019; 8(4):337-342.
12. Englard S., Seifter S. The biochemical functions of ascorbic acid. *Annu. Rev. Nutr.* 1986;6:365–406.

13. Ghaleb M, Orsini G, Putignano A, Dabbagh S, Haber G, Hardan L. The Effect of Different Bleaching Protocols, Used with and without Sodium Ascorbate, on Bond Strength between Composite and Enamel. *Materials (Basel)*. 2020;13(12):2710.
14. De Fora J. Influence of antioxidants on bond strength of bleached dental substrates *Rev HU* 2018; 44(1):63-76.
15. Xu YX, Li W, Su M. Use of two kinds of antioxidants to restore the bond strength of bleached enamel. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2021; 39(4):453-457.
16. 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. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials* 2017; 71(1):156-164.
17. 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):244-251.
18. Mukka PK, Komineni N, Pola S, Soujanya E, Karne AR, Nenavath B, Shiva S, Vuppunuthula P. An In-vitro Comparative Study of Shear Bond Strength of Composite Resin to Bleached Enamel using three Herbal Antioxidants. *J Clin Diagn Res*. 2016; 10(10): ZC89-ZC92.
19. 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. *Dent Shiraz Univ Med Sci*. 2015;16(4):296-301.
20. Fredes C. Antioxidantes en berries nativos chilenos *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 2009,8(6):469-478.
21. Sharafeddin F, Motamedi M, Modiri Sh. Effect of immediate application of pomegranate peel, grape seed and green tea extracts on composite shear bond strength of in-office bleached enamel. *Res J Biologic Scien*. 2013; 8: 83–87.
22. Zanolli J, Marques A, da Costa D, de Souza A, Coutinho M. Influence of tooth bleaching on dental enamel microhardness: a systematic review and meta-analysis. *Aust Dent J*. 2017 Sep;62(3):276-282.

23. Sulieman M, Addy M, Macdonald E, Rees JS. A safety study in vitro for the effects of an in-office bleaching system on the integrity of enamel and dentine. *J Dent.* 2004;32(7):581-590.
24. Faraoni-Romano J, Da Silveira A, Turssi C, Serra M. Bleaching agents with varying concentrations of carbamide and/or hydrogen peroxides: effect on dental microhardness and roughness. *J. Esthet. Restor. Dent.* 2008;20:395–402.
25. Abouassi T, Wolkewitz M, Hahn P. Effect of carbamide peroxide and hydrogen peroxide on enamel surface: an in vitro study. *Clin Oral Investig.* 2011;15(5):673-680.
26. Wijetunga C, Otsuki M, Abdou A, Luong M, Qi F, Tagami J. The effect of in-office bleaching materials with different pH on the surface topography of bovine enamel. *Dent. Mater. J.* 2021;40:1345–1351.
27. Motevasselian F, Kermanshah H, Dortaj D, Lippert F. Effect of pH of In-Office Bleaching Gels and Timing of Fluoride Gel Application on Microhardness and Surface Morphology of Enamel. *Int J Dent.* 2023:1041889.
28. Kaya A, Türkün M, Arici M. Reversal of compromised bonding in bleached enamel using antioxidant gel. *Oper Dent.* 2008;33(4):441-447.
29. Lai S, Mak Y, Cheung G, Osorio R, Toledano M, Carvalho R, et al. Reversal of compromised bonding to oxidized etched dentin. *J Dent Res.* 2001; 80:1919–1924.
30. Kaya A, Türkün M. Reversal of dentin bonding to bleached teeth. *Oper Dent.* 2003;28(6):825-829.
31. Kunt G, Yılmaz N, Sen S, Dede D. Effect of antioxidant treatment on the shear bond strength of composite resin to bleached enamel. *Acta Odontol Scand.* 2011;69(5):287-291.
32. Cavalli V, de Carvalho R, Giannini M. Influence of carbamide peroxide-based bleaching agents on the bond strength of resin-enamel/dentin interfaces. *Braz Oral Res.* 2005;19(1):23-29.
33. van der Vyver P, Lewis S, Marais J. The effect of bleaching agent on composite/enamel bonding. *J Dent Assoc S Afr.* 1997;52(10):601-603.

34. Unlu N, Cobankara F, Ozer F. Effect of elapsed time following bleaching on the shear bond strength of composite resin to enamel. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;84(2):363-368.
35. Lai S, Tay F, Cheung G, Mak, Y, Carvalho R, Wei S, Toledano M, Osorio R, Pashley D. Reversal of Compromised Bonding in Bleached Enamel. *J Dent Res.* 2002;81(7):477-481.
36. Coppla F, Freire A, Bittencourt B, Armas- Vega A, Benitez A, Calixto L, et al. Influence of simplified, higher-concentrated sodium ascorbate application protocols on bond strength of bleached enamel. *J Clin Exp Dent.* 2019; 11:21– 26.
37. Freire A, Durski M, Ingberman M, Nakao L, Souza E, Vieira S. Assessing the use of 35 percent sodium ascorbate for removal of residual hydrogen peroxide after in-office tooth bleaching. *J Am Dent Assoc.* 2011;142(7):836-841.
38. Dabas D, Patil A, Uppin V. 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):356-360.
39. Lima A, Fonseca F, Freitas M, Palialol A, Aguiar F, Marchi G. 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(6):537-542.
40. Thapa A, Vivekananda P, Thomas M. Evaluation and comparison of bond strength to 10% carbamide peroxide bleached enamel following the application of 10% and 25% sodium ascorbate and alpha-tocopherol solutions: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2013;16(2):111-115.
41. da Silva A, Lima A, Cavalcanti A, Marchi G. Effects of 3% sodium ascorbyl phosphate on the hardness and bond strength of human enamel bleached with 10% carbamide peroxide. *Gen Dent.* 2010;58:174–178.
42. Sasaki R, Arcanjo A, Flório F, Basting R. Micromorphology and microhardness of enamel after treatment with home-use bleaching agents containing 10% carbamide peroxide and 7.5% hydrogen peroxide. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(6):611-616.

43. Vidhya S, Srinivasulu S, Sujatha M, Mahalaxmi S. Effect of grape seed extract on the bond strength of bleached enamel. *Oper Dent.* 2011;36:433–438.
44. Kum K, Lim K, Lee C, Park K, Safavi K, Fouad A, Spångberg, L. Effects of removing residual peroxide and other oxygen radicals on the shear bond strength and failure modes at resin-tooth interface after tooth bleaching. *Am J Dent.* 2004;174:267-270.
45. Arumugam M, 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):22-26.
46. Kadiyala A, Saladi H, Bollu I, et al. Effect of Different Anti-Oxidants on Shear Bond Strength of Composite Resins to Bleached Human Enamel. *J Clin Diagn Res.* 2015;9(11):40-43.
47. Subramonian R, Mathai V, Christaine 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):144-148.
48. 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(6):1555-1559.
49. Abraham S, Ghonmode W, Saujanya K, Jaju N, Tambe V, Yawalikar P. Effect of grape seed extracts on bond strength of bleached enamel using fifth and seventh generation bonding agents. *J Int Oral Health.* 2013;5(6):101-107.
50. Xu Y, Zhou J, Tan J. Use of grape seed extract for improving the shear bond strength of total-etching adhesive to bleached enamel. *Dent Mater J.* 2018;37:325– 331.
51. Nair R, Bandhe S, Ganorkar O, 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):82-86.
52. Elawsya M, El-Shehawy T, Zaghloul N. Influence of various antioxidants on micro-shear bond strength of resin composite to bleached enamel. *J Esthet Restor Dent.* 2021;33(2):371-379.

53. Moharam L, Salem H, Hassan S. Effect of açai berry extract application on the bond strength to the bleached enamel using an experimental etch-and-rinse adhesive. *J Clin Exp Dent*. 2022;14(12):e1015-e1023.
54. Maddula D, Vasepalli M, Martha S, Birapu U, Punithavathy R, Raparla M. Comparative Evaluation of Effect of Different Antioxidants on Shear Bond Strength of Composites on Bleached Enamel: An In Vitro Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2023;16(1):87-92.
55. Borges A, Zanatta R, Barros A, Silva L, Pucci C, Torres C. Effect of hydrogen peroxide concentration on enamel color and microhardness. *Oper Dent*. 2015;40(1):96-101.
56. Grazioli G, Valente LL, Isolan CP, Pinheiro HA, Duarte CG, Münchow EA. 2018. Bleaching and enamel surface interactions resulting from the use of highly-concentrated bleaching gels. *Arch Oral Biol*. 87:157–162.
57. Siqueira S, García E, Loguercio A. Restauraciones directas con resina compuesta inmediatas al blanqueamiento dental: relato de caso. *Rev Asoc Odontol Argent* 2012; 100:23-27.
58. Garcia E, Mena-Serrano A, de Andrade A, Reis A, Grande R, Loguercio A. 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(2):154-162.
59. Mena-Serrano A, Aldás Fierro E, Estrada X, et al. Effect of Sodium Ascorbate, Grape Seed Extract, and Aloe Vera Application after In-Office Bleaching on the Bond Strength of Enamel: A 3-Year Evaluation. *Int J Dent*. 2023; 2023:4625818.
60. Velázquez L, Quiñones J, Inostroza K, Sepúlveda G, Díaz R, Scheuermann E, Domínguez R, Lorenzo JM, Velásquez C, Sepúlveda N. Maqui (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz): A Natural Antioxidant to Improve Quality of Meat Patties. *Antioxidants (Basel)*. 2022;11(7):1405.
61. Ipinza R., Magni C, Gutiérrez B, Torres J. La Domesticación Del Maqui (*Aristotelia chilensis*): Un Estudio de Caso en Chile. *INFOR* 2019, 19–24.
62. López J, Vera C, Bustos R, Florez-Mendez J. Native Berries of Chile: A Comprehensive Review on Nutritional Aspects, Functional Properties, and Potential Health Benefits. *J. Food Meas. Charact*. 2021, 15, 1139–1160.

63. Vidal J, Avello L, Loyola C, Campos P, Aqueveque, M, Dungan R, Galotto L, Guarda M. Microencapsulation of Maqui (*Aristotelia chilensis* [Molina] Stuntz) Leaf Extracts to Preserve and Control Antioxidant Properties. *Chil. J. Agric. Res.* 2013, 73, 17–23.
64. Rodríguez L, Trostchansky A, Vogel H, Wood I, Palomo I, Wehinger S, Fuentes E. A Comprehensive Literature Review on Cardioprotective Effects of Bioactive Compounds Present in Fruits of *Aristotelia chilensis* Stuntz (Maqui). *Molecules.* 2022;20,27(19):6147.
65. Ornazabal F. Capacidad antioxidante de extractos secos provenientes de berries: maqui (*Aristotelia chilensis*), murtila (*Ugni molinae*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*) [Tesis de grado]. Universidad De Chile; 2014.
66. Genskowsky E, Puente LA, Pérez-Álvarez JA, Fernández-López J, Muñoz LA, Viuda-Martos M. Determination of polyphenolic profile, antioxidant activity and antibacterial properties of maqui [*Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz] a Chilean blackberry. *J Sci Food Agric.* 2016;96(12):4235-4242.
67. Yingyu C, Xie H, Wang J. Potential biomedical properties of *Pinus massoniana* bark extract. *Phytother Res.* 2005;19(1):34-38.
68. Feng J, Zhang XL, Li YY, Cui YY, Chen YH. *Pinus massoniana* Bark Extract: Structure-Activity Relationship and Biomedical Potentials. *Am J Chin Med.* 2016;44(8):1559-15157.
69. Nair M, Nesamani R, Sanjeev KB, 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;8:1– 5.
70. Khoroushi M, Saneie T. Post- bleaching application of an antioxidant on dentin bond strength of three dental adhesives. *Dent Res J (Isfahan).* 2012; 9:46–53.

## ANEXOS

Anexo 1. Calculo de tamaño muestral durante prueba piloto (programa STATA 18.0)

```
Estimated sample sizes for a two-sample means test
Satterthwaite's t test assuming unequal variances
H0: m2 = m1 versus Ha: m2 != m1

Study parameters:

      alpha =      0.0500
      power =      0.8000
      delta =      6.4200
       m1 =      8.8950
       m2 =     15.3150
      sd1 =      5.0740
      sd2 =      3.3530

Estimated sample sizes:

           N =          18
  N per group =          9
```

Anexo 2. Tabla de Agentes Antioxidantes

Agente Antioxidante	Maqui Berry (MB)	Maqui Berry, KOYAH, Lowell, IN, USA. Lote: 111722K177 EXP.: 17/11/2024
	Corteza de Pino (CP)	Pine Bark Extract, Harvest Naturals, Supplement Partners LLC, Phoenix, AZ, USA. Lote: PB200229-220113 EXP.: 13/01/2024
	Ascorbato de Sodio (AS)	Sigma Aldrich®, Merck, Darmstadt, Alemania. Lote: K51646768933 EXP.:18/05/2026

Anexo 3. Cuadro de operacionalización de variables

<b>Variable</b>	<b>Definición conceptual</b>	<b>Definición operacional</b>	<b>Tipo</b>	<b>Escala de medición</b>	<b>Valores y categorías</b>
<i>Antioxidantes</i>	Molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas	Sustancia capaz de disminuir el tiempo necesario para realizar procedimientos adhesivos	Cualitativa	Nominal	Extracto de corteza de pino al 5% Y 10%  Extracto de maqui Berry al 5% y 10%  Ascorbato Sódico al 5% y 10%
<i>Resistencia de unión al <u>microcizallamiento</u> (variable dependiente)</i>	Capacidad que tienen los elementos estructurales de mantenerse unidos	Carga necesaria para producir una fractura en la interfaz de unión entre dos materiales cuando se aplican fuerzas paralelas en sentido contrario	Cuantitativo	De Razón	MPa
<i>Tiempo</i>	Período determinado durante el que se realiza una acción o se desarrolla un acontecimiento	Periodo que transcurre en la exposición a los sustratos antioxidantes en dientes aclarados.	Cualitativo	Nominal	5 minutos  10 minutos

Anexo 4. Preparación de los especímenes

A



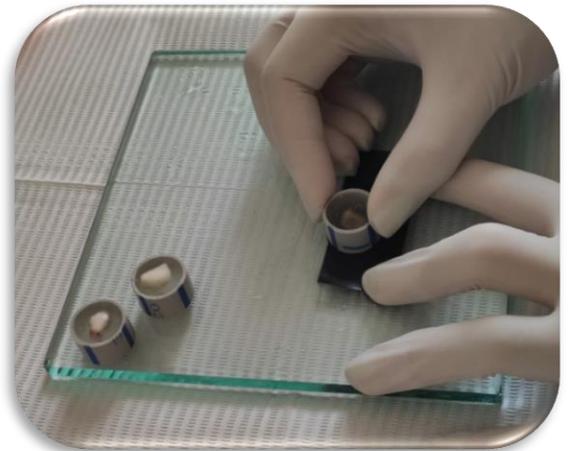
B



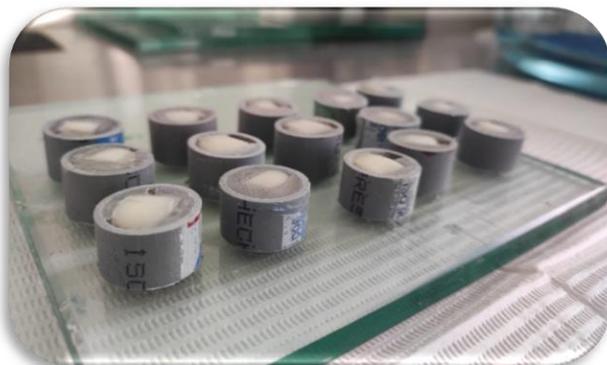
C



D



E



F



Anexo 5. Preparación de los antioxidantes

A1



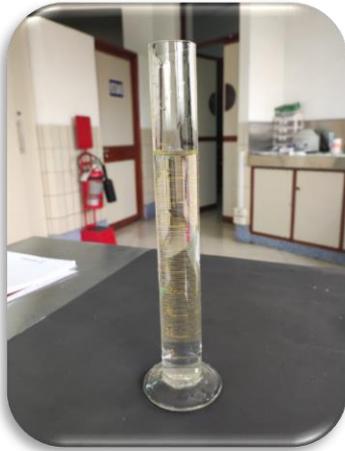
A2



A3



B1



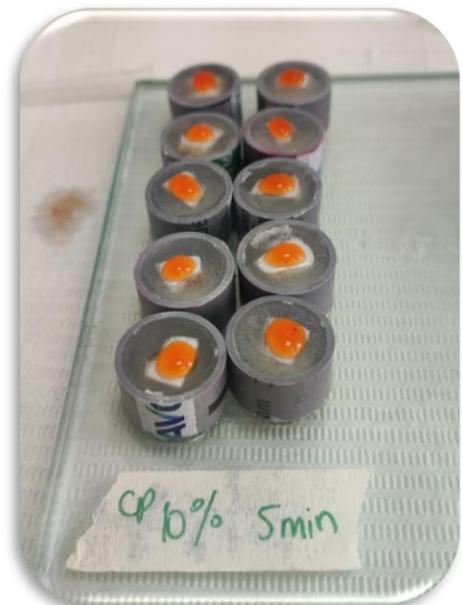
B2



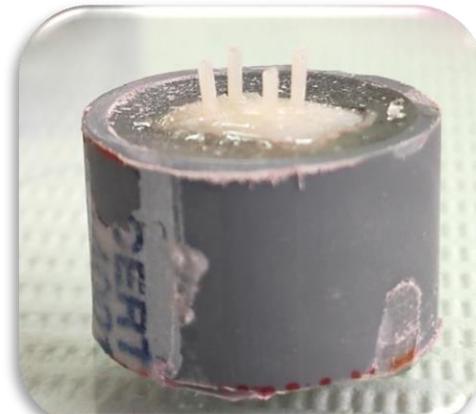
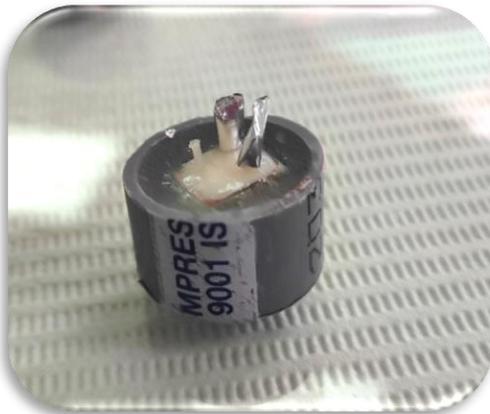
C



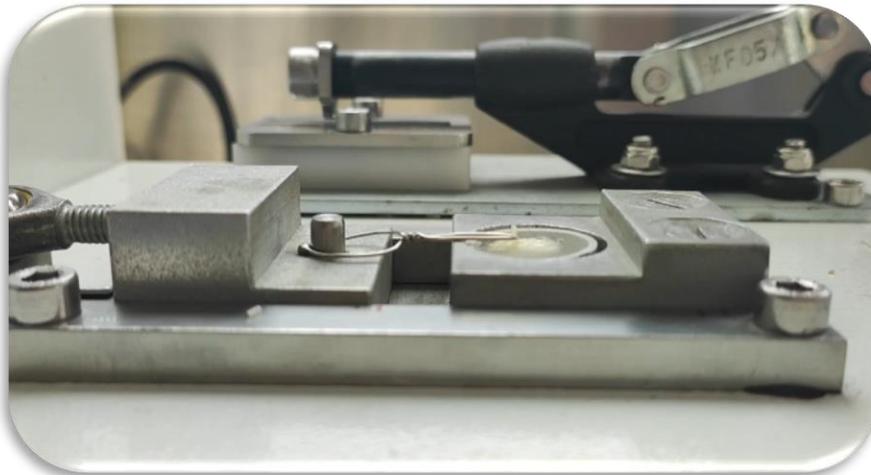
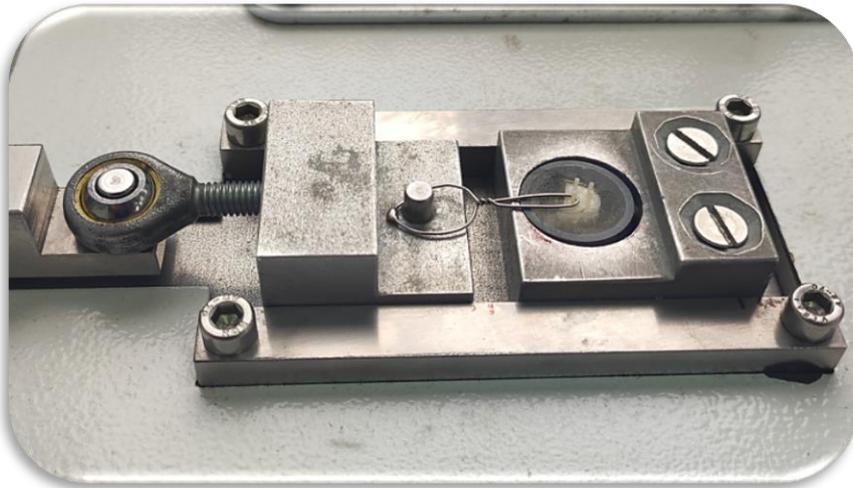
D



## Anexo 6. Procedimiento adhesivo



Anexo 7. Prueba de microcizallamiento



Anexo 8. Ficha de recolección de datos

FICHA TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

PROYECTO	
SOLICITANTE	
LABORATORIO	
TECNICO RESPONSABLE	
FECHA	

N° Muestra	001	002	003	004	005	...	...	...	...	...
MB al 5% exp. 5 min										
MB al 5% exp. 10 min										
MB al 10% exp. 5 min										
MB al 10% exp. 10 min										
CP al 5% exp. 5 min										
CP al 5% exp. 10 min										
CP al 10% exp. 5 min										
CP al 10% exp. 10 min										
AS al 5% exp. 5 min										
AS al 5% exp. 10 min										
AS al 10% exp. 5 min										
AS al 10% exp. 10 min										
SOLO BD (-)										
SIN BD ni AA (+)										

OBSERVACIONES