



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

INCORPORACIÓN DE
NANOHIPOXIPATITA OBTENIDA
DE LA CÁSCARA DE HUEVO EN
GELES DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO
PARA LA REMINERALIZACIÓN DEL
ESMALTE DURANTE EL
BLANQUEAMIENTO

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN ESTOMATOLOGÍA

ROSA JOSEFINA RONCAL ESPINOZA

LIMA- PERÚ

2025

ASESORA

Dra. Lidia Yileng Tay Chu Jon

Departamento Académico de Clínica Estomatológica - UPCH

JURADO DE TESIS

DR. JORGE LUIS CASTILLO CEVALLOS
PRESIDENTE

DRA. ALEXANDRA MENA SERRANO
VOCAL

DRA. ROMY JANET ANGELES MASLUCAN
SECRETARIO

DEDICATORIA

A mis padres: Marina y Lizardo, por su confianza, por ser mi principal fuente de motivación y porque con su amor incondicional me animan a seguir adelante en cada uno de los proyectos que emprendo.

A mis hermanos: Alfredo y Patricia, por estar siempre presentes con sus actos constantes de cariño y apoyo.

A mi pequeño Mau, quien con su sonrisa me alegra la vida y porque su representación pura de amor me inspira a ser mejor persona.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Lidia Yileng Tay Chu Jon, por ser el pilar fundamental en el desarrollo de este trabajo, por sembrar en mí el gusto por la investigación, por su apoyo constante y, sobre todo, por su valiosa amistad que motiva a enfrentar los desafíos de la vida con una convicción inspiradora.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Fondo de Apoyo a la Investigación Facultades de Medicina, de Estomatología y de Enfermería – UPCH, 2024.

DECLARACIÓN DE AUTOR			
FECHA	26	MAYO	2025
APELLIDOS Y NOMBRES DEL EGRESADO	RONCAL ESPINOZA ROSA JOSEFINA		
PROGRAMA DE POSGRADO	DOCTORADO EN ESTOMATOLOGÍA		
AÑO DE INICIO DE LOS ESTUDIOS	2020		
TITULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN DE GRADO	INCORPORACIÓN DE NANOHIPOXIPATITA OBTENIDA DE LA CÁSCARA DE HUEVO EN GELES DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO PARA LA REMINERALIZACIÓN DEL ESMALTE DURANTE EL BLANQUEAMIENTO		
MODALIDAD DE TRABAJO DE GRADO	TESIS		
Declaración del Autor			
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.			
Teléfono de contacto (fijo / móvil)	949814027		
E-mail	Rosijo312@hotmail.com		



Firma del Egresado
DNI 46707193



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

INCORPORACIÓN DE
NANOHIPOXIAPATITA OBTENIDA
DE LA CÁSCARA DE HUEVO EN
GELES DE PERÓXIDO DE HIDRÓGENO
PARA LA REMINERALIZACIÓN DEL
ESMALTE DURANTE EL
BLANQUEAMIENTO

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
DOCTOR EN ESTOMATOLOGÍA

ROSA JOSEFINA RONCAL ESPINOZA

LIMA- PERÚ

2025

Informe estándar [Más información](#)
Informe en inglés no disponible

16% Similitud estándar [Filtros](#)

Fuentes
Mostrar las fuentes solapadas

1	Internet	hdl.handle.net	5%
		23 bloques de texto	478 palabras coincidentes
2	Internet	iadr.abstractarchives.com	3%
		3 bloques de texto	286 palabras coincidentes
3	Internet	old.cayetano.edu.pe	1%
		6 bloques de texto	115 palabras coincidentes
4	Internet	repositorio.uwienner.edu.pe	<1%
		3 bloques de texto	96 palabras coincidentes

INDICE

RESUMEN

ABSTRACT

	Pág.
I. Introducción	1
II. Objetivos	6
III. Materiales y métodos	7
IV. Resultados	16
V. Discusión	28
VI. Conclusiones	37
VII. Recomendaciones	38
VIII. Referencias bibliográficas	39
IX. Anexos	

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Comparación de la cantidad relativa de mineral, mediante microscopía Raman, entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.	17
Tabla 2. Comparación de los valores de microdureza entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.	19
Tabla 3. Comparación de los valores de ΔE_{ab} entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.	21
Tabla 4. Comparación de los valores de ΔL entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.	22
Tabla 5. Comparación de los valores de Δa entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.	24
Tabla 6. Comparación de los valores de Δb de los agentes aclaradores en diferentes tiempos.	26

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1. Comparación de la cantidad relativa de mineral, mediante microscopía Raman, entre los agentes aclaradores según los diferentes tiempos.	18
Gráfico 2. Comparación de los valores de microdureza de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.	20
Gráfico 3. Comparación de los valores de L^* de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.	23
Gráfico 4. Comparación de los valores de a^* de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.	25
Gráfico 5. Comparación de los valores de b^* de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.	27

LISTA DE ABREVIATURAS

ΔE_{ab}	:	CIELab
MPa	:	Megapascal
HP	:	Peróxido de hidrógeno
HA	:	Hidroxiapatita
T0	:	Tiempo inicial
T1	:	7 días de tratamiento
T2	:	14 días de tratamiento
T3	:	1 semanas después del tratamiento

RESUMEN

Objetivo: Evaluar los efectos de la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) obtenida de la cáscara de huevo en geles de peróxido de hidrógeno para la remineralización del esmalte durante el blanqueamiento. **Material y métodos:** se formularon geles a base de peróxido de hidrógeno (HP) al 10% y 35%, a los que se le incorporó diferentes concentraciones de hidroxiapatita (HA). Se asignaron de forma aleatoria 80 dientes de bovino en 8 grupos (n = 10): HP 10%, HP 10% + HA 3%, HP 10% + HA 6%, HP 35%, HP 35% + HA 3%, HP 35% + HA 6%, grupos control: Whiteness HP (FGM) y agua destilada. Se evaluó la cantidad relativa de mineral mediante espectroscopia Raman, los valores de microdureza se midieron con un microdurómetro Vickers. Todas las evaluaciones se realizaron antes y después de la exposición a los agentes blanqueadores (14 días), además de una semana posterior al blanqueamiento (21 días). Finalmente, se midió el color mediante un espectrofotómetro en cuatro tiempos. **Resultados:** Todos los grupos presentaron disminución de la cantidad relativa de mineral después de haber sido expuestos a los agentes blanqueadores; mientras que, una semana después del tratamiento, se observó una recuperación similar al agua en los grupos HP 10% y HP 10%+ HA 6% ($p>0,05$). Los valores de microdureza (MPa) no presentaron diferencias estadísticamente significativas. Todos los grupos experimentales generaron cambios de color en todos los tiempos. A los 7 días de tratamiento, el grupo HP 10%+HA 6% mostró un cambio de color mayor y con diferencias estadísticamente significativas.

Conclusión: La incorporación de nanohidroxiapatita obtenida de la cáscara de huevo puede generar menos pérdida relativa de mineral, no modifica la

microdureza del esmalte y promueve mayor cambio de color durante el blanqueamiento.

Palabras clave: Hidroxiapatita. Peróxido de hidrógeno. Blanqueamiento. Raman. Microdureza. Color.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the effects of incorporating nanohydroxyapatite (nHA) obtained from eggshell into hydrogen peroxide gels for enamel remineralisation during bleaching. **Materials and methods:** 10% and 35% hydrogen peroxide (HP) based gels were formulated with different concentrations of hydroxyapatite (HA). Eighty bovine teeth were randomly assigned into eight groups (n = 10): HP 10%, HP 10% + HA 3%, HP 10% + HA 6%, HP 35%, HP 35% + HA 3%, HP 35% + HA 6%, control groups: whiteness HP (FGM) and distilled water. The relative amount of mineral was evaluated by Raman spectroscopy, microhardness values were measured with a Vickers microhardness tester. All evaluations were carried out before and after exposure to the bleaching agents (14 days), as well as one week after bleaching (21 days). Finally, colour was measured using a spectrophotometer at four times. **Results:** All groups showed a decrease in the relative amount of mineral after being exposed to the bleaching agents; whereas, one week after treatment, a similar recovery to water was observed in the HP 10% and HP10%+ HA 6% groups ($p>0.05$). The microhardness values (MPa) did not show statistically significant differences. All experimental groups generated colour changes at all times. At 7 days of treatment, the HP10%+ HA 6% group

showed a greater colour change with statistically significant differences.

Conclusion: The incorporation of nanohydroxyapatite obtained from eggshell can generate less relative mineral loss, does not modify enamel microhardness and promotes greater colour change during bleaching.

Keywords: Hydroxyapatites. Hydrogen peroxide. Tooth Bleaching.

Raman Spectroscopy. Hardness. Color.

I. INTRODUCCIÓN

El blanqueamiento dental, es un tratamiento estético que tiene como finalidad aclarar las piezas dentales y, es altamente solicitado, debido a que el color es considerado un factor crítico en la autosatisfacción de los pacientes.¹ Se debe considerar que, la decoloración de los dientes puede verse influenciada por factores extrínsecos asociadas al depósito de manchas en la superficie del diente originadas por la ingesta de alimentos y bebidas cromogénicas, mala higiene oral y consumo de tabaco; estas se pueden eliminar mediante procedimientos profilácticos. Mientras que, las tinciones intrínsecas están relacionadas con las propiedades del esmalte o dentina, se pueden reducir con agentes que penetren el esmalte y la dentina para oxidar los cromógenos.²⁻⁴ Para lograrlo existen diferentes técnicas y productos, siendo considerado el peróxido de hidrógeno (HP) el principio activo más usado.

Según se conoce, el mecanismo de acción de este producto, es generar radicales libres que penetran en las porosidades del tejido dental descomponiendo las moléculas cromóforas responsables de la pigmentación del diente.¹ Es decir, los agentes blanqueadores originan un proceso de oxidación compleja, liberando especies reactivas de oxígeno, las mismas que penetran los poros de las varillas de esmalte llegando a la dentina, originando la descomposición de las moléculas orgánicas y produciendo compuestos más pequeños, más ligeros y más claros.⁵

Es por ello que, el blanqueamiento dental a base de peróxido de hidrógeno también presenta algunas desventajas, como la afectación a la sustancia mineralizada del esmalte dental, reportándose cambios estructurales con una

pérdida de contenido de calcio y fósforo, cambios en la morfología de la superficie y cambios en las propiedades físicas químicas.^{5,6} Según hallazgos *in vitro*, existe un mayor potencial de desmineralización, esto cuando se realiza un blanqueamiento con altas concentraciones de productos de consultorio a base de peróxido de hidrógeno, resultando en una susceptibilidad del diente a la pérdida de mineral; teniendo en cuenta que, las principales causas de desmineralización son: los efectos oxidativos, la composición de los agentes y los sistemas de bajo pH requeridos para un blanqueamiento eficaz.⁷

En tal sentido, es importante tener en cuenta que, el proceso de desmineralización y remineralización en la cavidad oral está relacionado con el grado de saturación de los fluidos orales, como la placa dental y saliva, con respecto a los minerales de apatita de la estructura dentaria. En condiciones normales, para mejorar la remineralización parecería adecuado mejorar las concentraciones de calcio o fluoruro en los fluidos orales, para lo cual se ha utilizado tradicionalmente los fluoruros en varias formulaciones, cuyo efecto se debe a la obstaculización de la desmineralización gracias a la formación de precipitados similares al fluoruro de calcio.⁸

Así mismo, para contrarrestar estos efectos adversos que desencadena el blanqueamiento dental se utilizan algunos agentes remineralizantes como calcio, fosfatos de calcio amorfo e hidroxiapatita. Por lo que, Kukut et al.,⁵ investigaron la composición química del esmalte sometido a blanqueamiento con agentes de consultorio a base de peróxido de hidrógeno al 38% usando diferentes protocolos de aplicación de desensibilizantes, incluyendo fluoruro, fosfopéptido de caseína con calcio fosfato, nitrato de potasio y nanohidroxiapatita, resultando que hubo

una disminución de la microdureza en la mayoría de los grupos; sin embargo, a los 14 días hubo una recuperación de la misma.

Por su parte, Sasaki et al.,⁹ realizaron una investigación para determinar la microdureza, rugosidad superficial, cambio de color, y micromorfología del esmalte dental sometido a tratamiento blanqueador con peróxido de hidrógeno (HP) al 7,5% con adición de calcio, fosfato cálcico amorfo, fluoruro de sodio (NaF) e hidroxiapatita (HA); encontrando que el grupo HP + HA fue capaz de reducir la pérdida de microdureza del esmalte.

Además de lo expuesto, se debe considerar que uno de los principales efectos adversos del tratamiento de blanqueamiento dental es la sensibilidad dental, reportándose que un 70% de pacientes la padecen, convirtiéndose en una de las causas más comunes por las que el paciente no completa de forma exitosa el tratamiento.¹⁰ Todo esto a su vez está relacionado con el tiempo de aplicación del agente blanqueador, un tiempo más prolongado o múltiples tratamientos pueden aumentar el riesgo de sensibilidad.¹¹

La sensibilidad está asociada en algunos casos con defectos superficiales microscópicos y poros submicroscópicos en el esmalte dental, se sugiere que este tipo de defectos facilitan la entrada rápida del agente blanqueador hasta la pulpa, aumentando la sensibilidad. Por lo tanto, es importante contar con un producto que fomente la reparación de estos defectos microscópicos puede reducir la sensibilidad.¹¹

Así mismo, es probable que la sensibilidad incómoda y dolorosa inducida por el blanqueamiento sea el resultado de una agresión pulpar por la rápida difusión de las moléculas de HP. El daño pulpar puede desencadenar una reacción

inflamatoria que conduce a la liberación de factores derivados de las células. En base a ello, es importante tener en cuenta que el 97% del esmalte dental está compuesto por hidroxiapatita, mineral que se ve afectado con el uso del peróxido de hidrógeno.¹⁰

La hidroxiapatita puede obtenerse también de otras fuentes y es en los últimos años ampliamente utilizada en tratamientos médicos y odontológicos.¹² Con el aumento de la demanda de técnicas amigables con el medio ambiente, la síntesis de nanohidroxiapatita a partir de fuentes naturales ricas en calcio sigue siendo una opción viable y económica. Uno de estos residuos biológicos, que es una fuente rica de calcio en forma de carbonatos y óxidos, es la cáscara de huevo de gallina, que contiene 94% de carbonato de calcio, 1% de fosfato de calcio, 1% de carbonato de magnesio y 4% de materia orgánica.^{13,14}

Para la obtención de la hidroxiapatita a partir de la cáscara de huevo, existen diferentes tipos de procedimientos, entre ellos el método de precipitación química, considerado una forma sencilla de sintetizar nanopartículas sin la necesidad de utilizar equipos sofisticados,¹⁵ el método de combustión,¹³ precipitación mediada con irradiación ultrasónica,¹⁶ y la utilización de horno microondas doméstico.¹⁷ La síntesis por microondas es un método eficiente y simple para preparar materiales inorgánicos nanocristalinos con una distribución estrecha del tamaño y la forma de las partículas de manera rápida.¹⁸

La utilización de la HA obtenida a partir de la cáscara de huevo en un producto blanqueador puede contribuir en el proceso de remineralización del diente durante el tratamiento para contrarrestar la pérdida de mineral; así mismo, constituye una contribución al medio ambiente, ya que se estima que la producción mundial de

huevos alcanzó aproximadamente 87 millones de toneladas en 2020 (World Egg Organisation, 2021), lo que finalmente resulta en la generación de residuos biológicos, cuyo reciclaje es un gran desafío que aún no se ha resuelto satisfactoriamente, por lo que este material se desperdicia y conduce a la contaminación, favoreciendo la acción microbiana.^{16,19}

A partir de ello, el propósito de investigación fue evaluar los efectos de la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) obtenida de la cáscara de huevo en geles de peróxido de hidrógeno para la remineralización del esmalte durante el blanqueamiento.

II. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar los efectos de la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) obtenida de la cáscara de huevo en geles de peróxido de hidrógeno para la remineralización del esmalte durante el blanqueamiento dental.

Objetivos específicos

1. Evaluar la remineralización dental mediante la espectroscopía Raman, durante el blanqueamiento usando geles de peróxido de hidrógeno con la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) obtenida de la cáscara de huevo.
2. Evaluar la microdureza dental durante el blanqueamiento usando geles de peróxido de hidrógeno con la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) obtenida de la cáscara de huevo.
3. Evaluar el cambio de color dental durante el blanqueamiento usando geles de peróxido de hidrógeno con la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) obtenida de la cáscara de huevo.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Se realizó una investigación experimental *in vitro*, prospectiva, analítica y comparativa.

Tamaño de la muestra

El cálculo del tamaño de la muestra se realizó en el programa G*power 3.1, empleando la comparación de múltiples medias con un intervalo de confianza del 95%, potencia estadística al 80% y datos obtenidos de una prueba piloto.

Se seleccionaron dientes bovinos de acuerdo con los siguientes criterios, incluyendo piezas sin fractura coronaria o que presenten anomalías de estructura, almacenados adecuadamente en un tiempo no mayor de 2 meses; excluyendo a los dientes con pigmentaciones de tipo intrínseca.

Variables

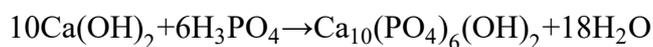
- Agente blanqueador: Compuesto para aclarar las piezas dentarias. Para esta investigación se usó peróxido de hidrógeno al 35% y 10%. Además, se incorporó nanohidroxiapatita en concentraciones de: 3% y 6% en la formulación del gel. Se consideró también al Whiteness HP 35% (FGM, São Paulo, Brasil) como control.
- Color: Es un fenómeno de la luz y al mismo tiempo una sensación para la visión. Como sensación subjetiva para el ojo humano, es susceptible a múltiples interpretaciones.²⁰ Para esta investigación el color se medirá usando un espectrofotómetro, a través de la escala Scielab.

- Microdureza: Es una propiedad física que tienen los materiales y se define como la facilidad o dificultad que estos presentan al ser rayados o penetrados por un indentador de otro material.²¹ Se medirá usando un microdurómetro Vickers
- Remineralización: Es un fenómeno complejo que depende de cualidades relacionadas con la saliva y la presencia de flúor, por lo que existen variaciones individuales.²² Es la evaluación de la cantidad relativa de mineral que se realiza mediante la espectroscopia Raman, utilizando el espectro de hidroxiapatita

Técnicas y procedimientos

Síntesis de hidroxiapatita

La hidroxiapatita se preparó mediante el método sol-gel según la metodología de Ansari et al.²³ Se calcinó la cáscara de huevo de gallina a 850 °C por 3 horas en un horno mufla RG-2090A (Blue M, Illinois, EE.UU.) para obtener óxido de calcio (CaO), que al ser suspendido en agua destilada en agitación magnética por 1 hora a 40 °C se transformó en Ca(OH)₂. Luego, se preparó una suspensión de hidróxido de calcio (Ca(OH)₂) a 0.5 M y otra suspensión de ácido fosfórico (H₃PO₄) a 0.3 M (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). La proporción molar entre ambos precursores fue 10:6 según la reacción química:



La solución de H₃PO₄ se añadió mediante goteo a la solución de Ca(OH)₂ en agitación magnética a 200 rpm usando un agitador MS-H-Pro (DLAB Scientific Co., Beijing, China), e inmediatamente el pH de la mezcla se ajustó a 10.5 con

hidróxido de amonio usando un medidor multiparámetros Edge (Hanna Instruments, Padua, Italia). La mezcla se mantuvo así en agitación durante 2 horas.

La solución se dejó reposando durante 24 horas a temperatura ambiente y luego se filtró con papel Whatman N° 40 (Whatman International Ltd., Maidstone, Inglaterra) lavando con agua destilada. El gel formado se secó a 120 °C durante 2 horas obteniendo un sólido que fue sometido a un tratamiento térmico de 600 °C por 3 horas para cristalizar los granos. Posteriormente, se pulverizó la muestra en un mortero de ágata hasta obtener partículas menores a 40 µm.

Formulación del gel

Para la formulación del gel se usó el Peróxido de Hidrógeno al 50% (Ausimont Spa, Alemania), el cual fue diluido con agua desionizada hasta conseguir las dos concentraciones requeridas: al 35% y al 10%; además se usó como espesante la goma xantana (Deosen, Shandong, China), teniendo como base la siguiente formulación:

Goma xantana 3%

Peróxido de hidrógeno..... 10ml

Los componentes para la formulación fueron pesados usando una balanza analítica (Sartorius, Göttingen, Alemania), luego fue incorporado el espesante de forma lenta hasta que se logró la homogenización del gel, el cual fue acondicionado en jeringas de 10 ml, rotuladas con códigos y almacenado en refrigeración para evitar la liberación del oxígeno de la formulación.

En el caso de los grupos en donde se incorporó la hidroxiapatita, las

concentraciones fueron de 3% y 6%. El orden para la preparación fue:

- Peróxido de hidrógeno.
- Incorporación de HA de forma lenta y agitar todo momento hasta conseguir una mezcla homogénea.
- Espesante.

Por tanto, los geles fueron formulados a base de peróxido de hidrógeno al 10% y 35%, a los que se le incorporó diferentes concentraciones de hidroxiapatita, los grupos experimentales fueron distribuidos de la siguiente manera:

- Agente blanqueador HP 10%
- Agente blanqueador HP 10% + HA 3%
- Agente blanqueador HP 10% + HA 6%
- Agente blanqueador HP 35%
- Agente blanqueador HP 35% + HA 3%
- Agente blanqueador HP 35% + HA 6%
- Agente aclarador Whiteness HP Maxx 35% (FGM, São Paulo, Brasil).
- Agua destilada

Preparación de la muestra:

Se asignaron de forma aleatoria un total de 80 dientes de bovino a 8 grupos (n = 10 para cada grupo). Antes del tratamiento, los dientes se limpiaron con ultrasonido (Gnatus, São Paulo, Brasil) durante 3 minutos y fueron almacenados en agua destilada desde el momento de la extracción hasta la aplicación del producto.

Las raíces de los dientes se cortaron 2 mm apicalmente hasta la unión cemento-

esmalte con discos de diamante (Azdent, China) y las coronas se incrustaron en una mezcla líquida-acrítica autopolimerizable (Vitacryl, Lima, Perú) incolora. Las superficies de esmalte se pulieron con papel abrasivo de carburo de silicio de grano 400 y se pulirán con papeles de óxido de aluminio de grano 600 y 1200 (3M®, Minnesota, EE, UU), hasta que quedó expuesta un área circular de 10 mm de diámetro. A continuación, las muestras fueron sumergidas 3 días en té negro (McColin's^{RM}, Lima, Perú) para homogenizar el color y posteriormente, se sometieron a análisis de composición química, microdureza superficial y color.

Blanqueamiento dental

Antes de la exposición a los agentes blanqueadores, las muestras se secaron con papel absorbente estéril. Los geles elaborados a base de peróxido de hidrógeno al 35% (HP35%, HP35%+HA3%, HP35%+HA6%) fueron aplicados en la superficie dentaria mediante una jeringa de 10 ml. Se aplicó 1ml del gel blanqueador extendiéndola sobre la superficie del esmalte por 45 minutos al día con la ayuda de un microbrush (cotisen, Hebei, China), el tiempo de tratamiento fue una vez por semana, durante 2 semanas. Mientras que, los geles elaborados a base de peróxido de hidrógeno al 10% (HP 10%, HP10%+HA3%, HP10%+HA6%) fueron aplicados diariamente por 45 minutos al día durante 2 semanas. Finalmente, el gel blanqueador Whiteness HP Max (FGM, São Paulo, Brasil), se preparó siguiendo las indicaciones del fabricante, y se aplicó sobre el esmalte por 45 minutos al día, una vez por semana, durante 2 semanas.

Los geles experimentales fueron preparados antes de cada aplicación y después de cada procedimiento, el gel fue removido de la superficie dental usando gasa

estéril; luego, las muestras se lavaron con agua destilada. Durante todo el experimento las muestras se almacenaron en agua destilada, medio que fue renovado diariamente.

Tiempos de evaluación

T0: Tiempo inicial (antes del tratamiento)

T1: 7 días de tratamiento

T2: 14 días de tratamiento

T3: 1 semana después del tratamiento.

Evaluación de la cantidad de minerales - Espectroscopía confocal Raman

La evaluación de la cantidad relativa de mineral se realizó mediante la técnica de espectroscopia Raman, utilizando el espectro de hidroxiapatita (HAP, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) como unidad de seguimiento. Todas las evaluaciones se realizaron antes y después de la exposición a los agentes aclaradores (14 días), además de una semana posterior al blanqueamiento (21 días).

Se tomaron 20 espectros Raman en el mismo punto durante un tiempo de 0,5 segundos para cada espectro y se ajustaron para obtener una mejor relación señal / ruido.

Las bandas características de HA se encontraron en los espectros obtenidos, por lo que se tomó la banda ν_1 (aprox. 960 cm^{-1}) correspondiente al ion fosfato (PO_4^{3-}) para monitorear la cantidad de mineral presente en las muestras.

Para este ensayo se observaron los cambios en la intensidad del pico en el modo vibracional más fuerte del ion fosfato (PO_4^{3-}) a 960 cm^{-1} , que corresponde a un

modo de estiramiento simétrico $\nu_1(\text{PO}_4^{3-})$. El espectro Raman fue registrado empleando un sistema de microscopía Raman confocal Alpha 300 RA (WITec GmbH, Ulm, Alemania) del Laboratorio de Micología y Biotecnología “Marcel Gutiérrez Carrera” de la Universidad Agraria la Molina. La excitación de las muestras se realizó con una fuente de láser con una longitud de onda de 532 nm con una potencia de 50 mW y rejilla de difracción de 300 líneas/mm. El haz incidente se enfocó sobre la muestra a través de un objetivo 20X Zeiss EC Epiplan. El modo de adquisición fue por escaneo lineal. El tiempo de adquisición fue de 10 s por medición, con un total de 20 espectros de 0.5 s cada uno, promediados en cada punto. El procesamiento de los espectros adquiridos fue realizado empleando el software Project FIVE 5.9 (WITec GmbH, Ulm, Alemania).

Evaluación de microdureza

Los valores de microdureza de las superficies del esmalte se obtuvieron con un probador de microdureza (Shimadzu HMV / 2000, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japón). El número de dureza Vickers (VHN) se determinó colocando una carga de 100 gf en el penetrador de diamante, se dejó que el penetrador descansara sobre la superficie del esmalte durante 10 s. Se realizaron cinco hendiduras a una distancia de 100 μm entre cada muestra para minimizar las interacciones entre las marcas vecinas. Luego se calculó su promedio.

La microdureza del esmalte dental mediante la fórmula $HV = 1.8544 (F/D^2)$, donde HV representa la dureza Vickers en Kgf/mm^2 , F es la carga aplicada en Kgf , d es la longitud promedio de las diagonales de la huella dejada por el indentador, expresada en mm .

La microdureza fue evaluada en tres tiempos: antes y después de la exposición a los agentes aclaradores (14 días), además de una semana posterior al blanqueamiento (21 días).

Las metodologías correspondientes a la evaluación de la cantidad de minerales y microdureza fueron registradas en T0, T2, T3; con la intención de determinar la variación antes, al finalizar y transcurrida una semana después de tratamiento.

Medidas de color

La distribución del color (L^* , a^* y b^*) de cada muestra se midió con un espectrofotómetro digital [Vident Integrated Technologies and Applications (VITA) Easyshade Advance, Zahnfabrik, Bad Säckingen, Germany]. Se tomaron medidas en la región del tercio medio de las muestras y se repitió tres veces en cada evaluación, y luego se calcularon sus promedios. El espectrofotómetro se calibró con un estándar de reflectancia blanca de acuerdo con el protocolo del fabricante antes de cada medición.

La diferencia de color general de la muestra en cada grupo se calculó mediante las siguientes expresiones:

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{1/2}$$

El color fue evaluado en cuatro tiempos: evaluación inicial, a los 7 días después de la exposición a los agentes aclaradores y 14 días después, finalizando con una semana posterior al blanqueamiento (21 días).

Consideraciones éticas

La presente investigación se encuentra registrada con Código SIDISI N° 204931 y fue exonerada de revisión por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, ya que no involucró la participación de seres humanos, con el registro Nro.CAREG-ORVEI-177-21 (Anexos 1)

Plan de análisis

Los datos obtenidos de las fichas de recolección, fueron almacenados en hojas de cálculo en Microsoft Excel para luego ser analizados en el programa estadístico IBM SPSS versión 23. El análisis incluyó estadística descriptiva a través de las medidas de tendencia central como la mediana y media, además de las medidas de dispersión, principalmente desviación estándar. Respecto a la estadística inferencial, todos los datos fueron inicialmente evaluados mediante la prueba de Shapiro Wilk para determinar su distribución.

Para el caso del ensayo correspondiente a la evaluación de la cantidad relativa de mineral, medida en porcentajes, en donde los datos no siguieron la normalidad, se usó la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de la prueba post hoc U de Mann-Whitney para la evaluación entre grupos; mientras que, para el análisis entre tiempos se consideró el test de Friedman, y la prueba estadística Wilcoxon en los casos donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

En la metodología correspondiente a la evaluación de microdureza se usó el análisis de varianza para determinar las diferencias entre los 8 grupos de estudios y para las comparaciones intragrupo se empleó la prueba post hoc de Tukey.

Además, se realizó el análisis entre los 3 tiempos mediante la prueba ANOVA para muestras pareadas, seguida de la prueba de Bonferroni en los casos donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Finalmente, al estadística utilizada para la evaluación del color fue la no paramétrica, considerando a la prueba Kruskal-Wallis, seguida de la prueba post hoc U de Mann-Whitney para la evaluación entre grupos; mientras que, para el análisis entre tiempos se consideró el test de Friedman, y la prueba estadística Wilcoxon en los casos donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

IV. RESULTADOS

Evaluación de la cantidad relativa de mineral - Espectroscopía confocal Raman

Los valores correspondientes a la intensidad del pico $\nu_1(\text{PO}_4^{3-})$ registradas en el tiempo T2 y tiempo T3 fueron ponderados porcentualmente a partir de la media de la intensidad registrada en las muestras antes de ser sometidas al tratamiento de blanqueamiento (T0), según el grupo correspondiente; y empleando como modelo de ajuste a la curva sigmoideal de Boltzmann. Este procedimiento permitió expresar porcentualmente la cantidad relativa de iones fosfato (PO_4^{3-}) en cada uno de los tiempos.

En la tabla 1, se presentan los valores de las medianas y desviación estándar de los porcentajes de la cantidad relativa de mineral de iones fosfato (PO_4^{3-}) en cada uno de los grupos estudiados. El test de Kruskal Wallis determinó que existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, siendo que, todos los grupos presentaron una disminución de la cantidad relativa de mineral después de haber sido expuestos a los agentes blanqueadores; sin embargo, el que experimentó una disminución mayor fue el grupo HP 35%, presentando estos valores diferencias significativas con el grupo control (agua); mientras que, evidenció coincidencias con los valores registrados en los grupos HP10%+ HA3% y HP35%+HA6%.

Respecto al T3, una semana después del tratamiento, también se registraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, presentando una recuperación similar al agua los grupos HP 10% y HP10%+HA6% ($p > 0,05$).

Tabla 1: Comparación de la cantidad relativa de mineral, mediante microscopía Raman, entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.

GRUPOS	CANTIDAD RELATIVA DE MINERAL %	
	T2 14 días	T3 21 días
HP 10%	106.38 (24.14) a	109.76 (15.88) a
HP10%+HA3%	71.96 (7.78) bc	81.97 (12.93) bc
HP10%+HA6%	87.57 (22.22) a	101.95 (15.05) a
HP 35%	58.02 (13.53) c	71.70 (16.63) c
HP35%+HA3%	72.03 (10.14) c	76.68 (9.45) c
HP35%+HA6%	59.06 (7.03) c	71.50 (6.60) c
WHITENESS	90.45 (17.20) ab	67.67 (9.70) c
Agua	86.51 (11.20) ab	100 (12.83) a
<i>p</i> *	0.00	0.00

*Comparación entre grupos mediante Kruskal Wallis y el postest de U de Mann-Whitney. Letras diferentes representan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$); la comparación solo es válida en cada columna.

El gráfico 1 muestra que todos los grupos, a excepción del HP 10%, experimentan una pérdida de la cantidad relativa de mineral; sin embargo, una semana después del tratamiento (T3), todos convergen a valores similares, uniformizándose la cantidad de mineral. Los grupos en donde se presentaron diferencias estadísticamente significativas según tiempos fueron: HP10%+HA3%, HP 35%, HP35%+HA3% y HP35%+HA6%.

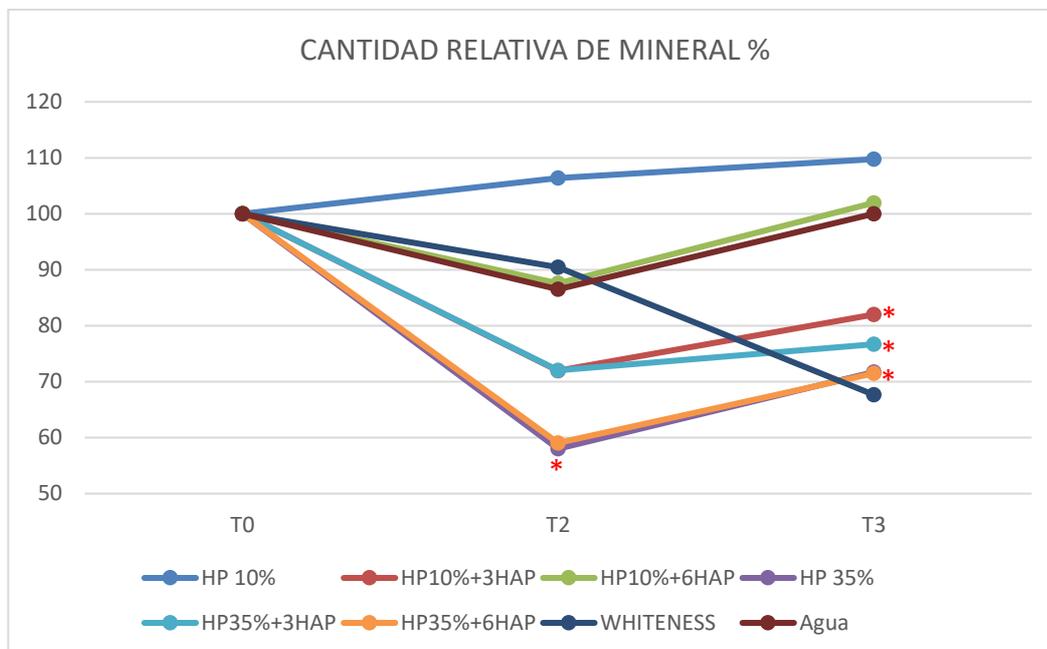


Gráfico 1: Comparación de la cantidad relativa de mineral, mediante microscopía Raman, entre los agentes aclaradores según los diferentes tiempos. El asterisco (*) indica el grupo con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Evaluación de microdureza

La tabla 2 muestra las medias y desviación estándar de microdureza medida en MPa, se observa que todos los grupos experimentan disminución de los valores de microdureza a los 14 días de exposición a los agentes blanqueadores; sin embargo, los valores más bajos corresponden a los grupos de HP10%+HA6% y WHITENESS sin mostrar diferencias estadísticamente significativas con el agua. En la semana posterior al blanqueamiento (21 días- 14 días) se recuperaron los valores de microdureza.

Tabla 2: Comparación de los valores de microdureza entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.

GRUPOS	MICRODUREZA (MPa)		
	T2-T0	T3-T0	T3-T2
	14 días- inicial	21 días - inicial	21 días-14 días
HP 10%	-17.90 (13.97) ab	-1.79 (8.47)	16.11 (14.31) ab
HP10%+HA3%	-25.44 (22.54) ab	6.01 (16.54)	31.45 (24.18) a
HP10%+HA6%	-10.13 (8.10) a	-3.38 (18.28)	6.75 (18.03) b
HP35%	-16.12 (15.48) ab	-10.35 (11.72)	5.77 (20.43) b
HP35%+HA3%	-18.59 (13.03) ab	-5.75 (8.84)	12.84 (10.83) ab
HP35%+HA6%	-32.64 (18.36) b	0.87 (9.44)	33.51 (18.69) a
WHITENESS	-13.73 (15.21) ab	-2.15 (12.90)	11.58 (16.70) ab
Agua	-7.93 (10.57) a	1.29 (5.05)	9.22 (12.97) ab
<i>p</i>	0.012	0.138	0.001

Diferentes letras en superíndice indican una diferencia estadísticamente significativa entre grupos; ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$); la comparación solo es válida en cada columna.

El gráfico 2 muestra que 14 días después de la exposición a los agentes aclaradores los valores de microdureza caen; sin embargo, una semana posterior al blanqueamiento los valores se recuperan.

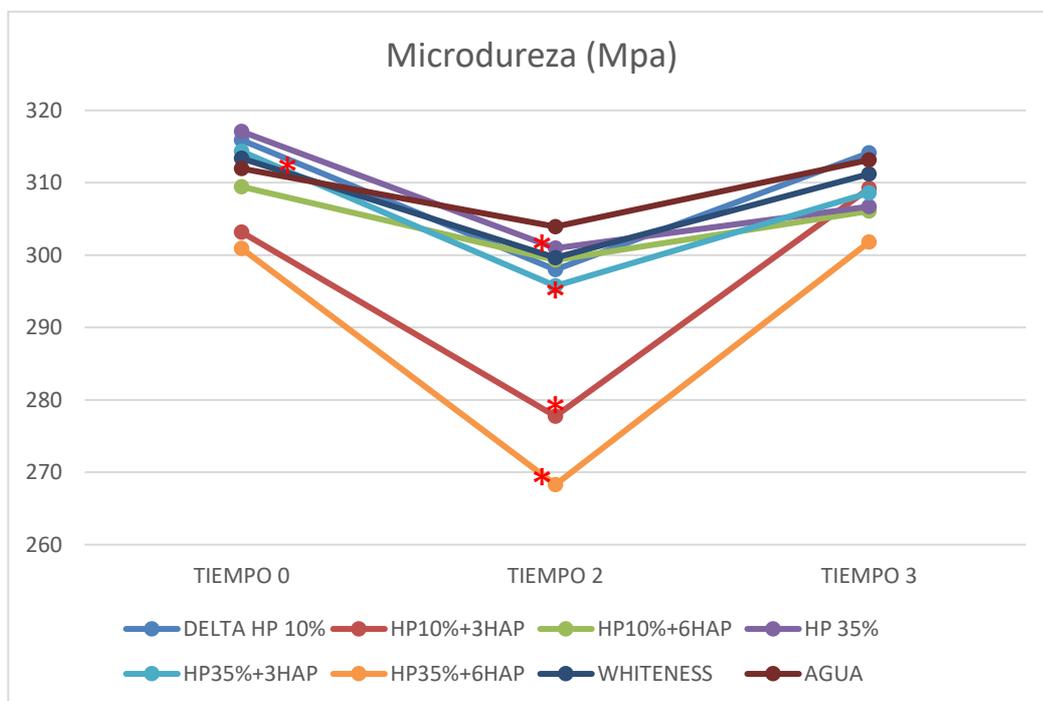


Gráfico 2: Comparación de los valores de microdureza de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos. El asterisco (*) indica el grupo con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Medidas de color

La tabla 3 muestra que respecto a ΔE todos los grupos experimentales generaron cambios de color en todos los tiempos. A los 7 días de tratamiento (T1-T0), el grupo HP10%+HA6% mostró un cambio de color mayor y con diferencias estadísticamente significativas respecto a los demás grupos; mientras que, a los 14 días de tratamiento (T2-T0) este grupo se mantiene con los valores más altos, sin mostrar diferencias con los demás grupos excepto con HP 35% y HP35%+HA3%, esto se mantiene durante los 14 días del tratamiento. En la semana posterior al blanqueamiento (T3-T2) el ΔE presentó valores por debajo de 4, no evidenciando cambios significativos en el color.

Tabla 3: Comparación de los valores de ΔE_{ab} entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.

GRUPOS	ΔE_{ab}			
	T1-T0	T2-T0	T3-T0	T3-T2
	7 días-Inicial	14 días-Inicial	21 días-Inicial	21 días-14días
HP 10%	15.44 (4.79) ab	20.54 (4.60) ab	21.76 (5.00) abc	2.28 (1.60) abd
HP10%+HA3%	18.68 (2.78) bc	22.00 (4.72) a	22.76 (4.86) b	2.06 (1.44) ad
HP10%+HA6%	19.68 (4.18) c	22.06 (4.83) a	22.53 (4.30) b	3.07 (1.12) ac
HP 35%	14.14 (4.72) a	16.42 (5.54) c	18.09 (7.00) ac	3.48 (2.48) bc
HP35%+HA3%	14.81 (3.20) a	17.76 (3.90) bcd	19.04 (5.04) bc	3.70 (1.70) c
HP35%+HA6%	16.12 (3.87) ab	21.37 (5.41) ad	22.21 (5.28) bc	1.68 (0.86) d
WHITENESS	16.03 (5.77) ab	18.61 (6.17) ac	19.98 (6.93) bc	3.19 (1.75) ac
Agua	10.86 (2.40) d	10.86 (3.02) e	11.29 (3.20) d	3.58 (1.83) bc
<i>p</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Diferentes letras en superíndice indican una diferencia estadísticamente significativa entre grupos; ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$); la comparación solo es válida en cada columna.

La tabla 4 muestra las medias y desviación estándar de la luminosidad. A los 7 días de tratamiento (T1-T0) el grupo de HP10%+HA6% presentó los valores más altos de cambios de color, sin diferencias estadísticamente significativas con el grupo HP 10%, HP10%+HA3%, HP35%+HA6% y WHITENESS. Respecto a la evaluación a 14 días (T2-T0), y a los 21 días (T3-T0) el comportamiento fue similar. En la semana posterior al blanqueamiento (T3-T2) la variación fue mínima, los grupos HP10%+HA6%, HP 35%, HP35%+HA3% y WHITENESS mostraron valores iguales al grupo de agua.

Tabla 4: Comparación de los valores de ΔL entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.

GRUPOS	Δ LUMINOSIDAD			
	T1-T0	T2-T0	T3-T0	T3-T2
	7 días-Inicial	14 días-Inicial	21 días-Inicial	21 días-14días
HP 10%	6.75 (5.33) ab	9.47 (5.27) ab	10 (4.59) ab	0.53 (1.41) a
HP10%+HA3%	6.17 (4.42) ab	8.07 (5.67) ab	9.04 (5.32) ab	0.97 (1.99) ad
HP10%+HA6%	9.57 (5.09) a	11.15 (5.99) a	13.19 (5.48) a	2.04 (1.68) abc
HP 35%	1.90 (8.91) b	4.65 (8.66) bc	7.38 (10.34) b	2.73 (2.52) be
HP35%+HA3%	3.29 (6.52) b	6.05 (6.67) abc	8.87 (7.19) ab	2.82 (2.63) be
HP35%+HA6%	5.70 (5.45) ab	9.88 (7.18) ab	10.49 (7.17) ab	0.61 (1.20) a
WHITENESS	4.94 (8.47) ab	6.86 (8.49) abc	9.32 (8.39) ab	2.46 (1.98) de
Agua	1.81 (6.00) b	2.31 (5.13) c	5.04 (6.32) b	2.74 (1.84) e
<i>p</i>	<0.001	<0.001	0.002	<0.001

Diferentes letras en superíndice indican una diferencia estadísticamente significativa entre grupos; ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$); la comparación solo es válida en cada columna.

En el gráfico 3, se observa que todos los grupos experimentales mostraron cambios significativos en la luminosidad a los 7 días (T1) del tratamiento, a excepción del grupo HP 35%. Mientras que, a los 14 días de tratamiento (T2) hay una diferencia significativa solo en los grupos HP35%+HA3% y HP35%+HA6%. Finalmente, en la semana posterior al blanqueamiento (T3) los valores se mantuvieron estables.

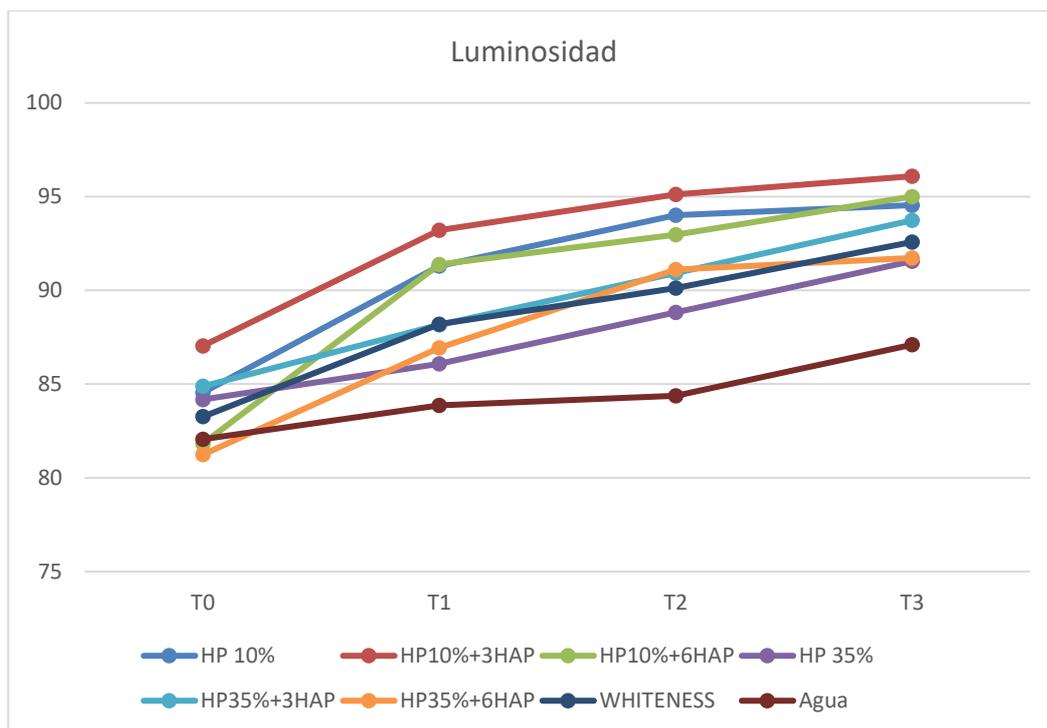


Gráfico 3: Comparación de los valores de L^* de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.

La Tabla 5 y gráfico 4 muestran los resultados de a^* (variación entre rojo y verde). Se encontró que en todos los grupos hubo una disminución en la saturación del pigmento rojo ($+a$) después de la exposición a los agentes blanqueadores, esto se mantiene en todos los tiempos, mostrando resultados más bajos en la semana posterior al blanqueamiento.

Tabla 5: Comparación de los valores de Δa entre los agentes aclaradores en diferentes tiempos.

GRUPOS	Δa			
	T1-T0	T2-T0	T3-T0	T3-T2
	7 días-Inicial	14 días-Inicial	21 días-Inicial	21 días-14días
HP 10%	-4.12 (1.40) ab	-5.22 (1.62) ab	-5.62 (1.53) abc	-0.39 (0.41)
HP10%+HA3%	-4.97 (0.92) ac	-5.17 (1.08) ab	-5.59 (1.10) abc	-0.41 (0.29)
HP10%+HA6%	-5.59 (1.41) c	-5.52 (1.95) a	-5.95 (1.65) a	-0.43 (0.62)
HP 35%	-3.52 (2.27) bd	-3.99 (2.01) b	-4.38 (2.08) bc	-0.39 (0.61)
HP35%+HA3%	-4.22 (2.14) ab	-4.91 (2.25) ab	-5.25 (2.42) abc	-0.34 (0.51)
HP35%+HA6%	-4.73 (1.46) acd	-5.39 (1.77) ab	-5.68 (1.79) ab	-0.29 (0.20)
WHITENESS	-4.59 (2.06) acd	-5.16 (2.20) ab	-5.43 (2.28) abc	-0.27 (0.63)
Agua	-3.82 (1.50) ad	-3.97 (1.69) b	-4.18 (1.33) c	-0.21 (0.58)
<i>p</i>	0.000	0.003	0.001	0.756

Diferentes letras en superíndice indican una diferencia significativa entre grupos; ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$); la comparación solo es válida en cada columna.

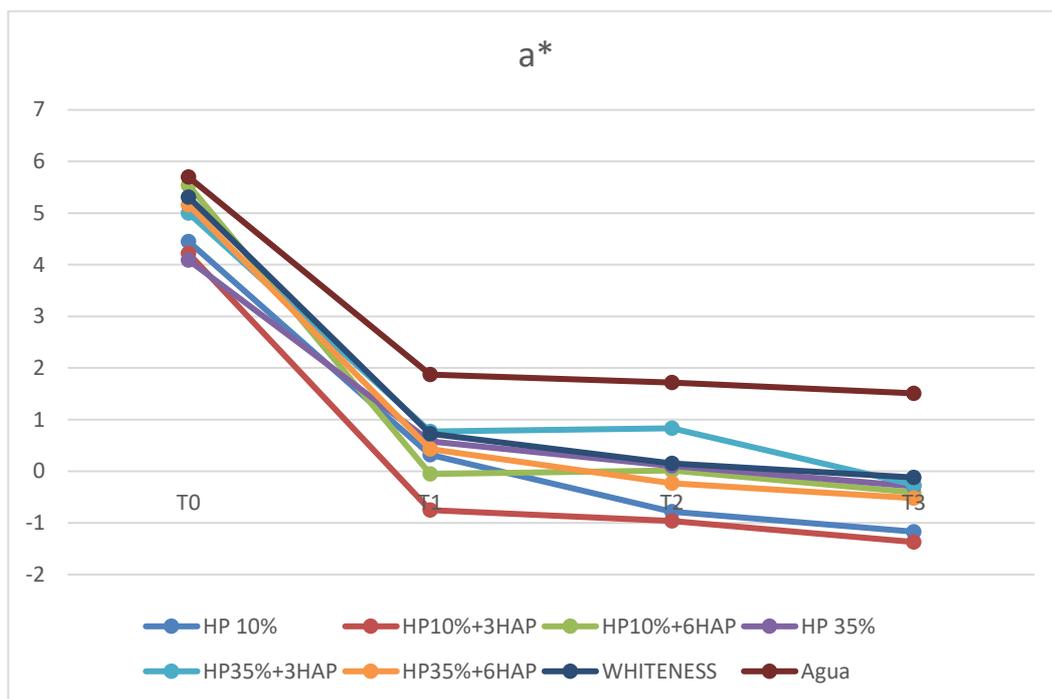


Gráfico 4: Comparación de los valores de a^* de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.

Respecto a los valores b^* (variación de amarillo a azul). En la Tabla 6 y gráfico 5 se observa que, todos los grupos experimentales han generado la disminución de la pigmentación amarilla; siendo que los grupos HP10%+HA3% y HP10%+HA6% generaron mayores cambios, presentando estos valores diferencias estadísticamente significativas en relación a los demás grupos, lo cual se mantiene en los demás tiempos. Sin embargo, se observaron los valores más bajos en la semana posterior al blanqueamiento.

Tabla 6: Comparación de los valores de Δb de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.

GRUPOS	Δb			
	T1-T0 7 días-Inicial	T2-T0 14 días-Inicial	T3-T0 21 días-Inicial	T3-T2 21 días-14días
HP 10%	-12.57 (3.31) ac	-17.00 (2.89) ac	-18.19 (3.62) ab	-1.20 (1.96) ac
HP10%+HA3%	-16.41 (2.18) b	-19.26 (3.30) a	-19.68 (3.54) a	-0.42 (1.04) abc
HP10%+HA6%	-15.41 (4.18) bd	-17.39 (3.77) ad	-16.67 (2.64) bc	0.72 (1.67) bd
HP 35%	-10.61 (3.40) ae	-13.29 (3.03) be	-13.58 (3.07) d	-0.29 (2.00) cd
HP35%+HA3%	-12.18 (2.67) af	-14.60 (2.90) bc	-14.82 (2.44) cd	-0.22 (1.21) cd
HP35%+HA6%	-13.27 (3.57) cdf	-16.93 (4.38) ac	-17.43 (4.68) ac	-0.50 (1.21) cd
WHITENESS	-12.63 (3.32) af	-15.03 (3.11) cde	-15.59 (3.65) bdc	-0.56 (1.61) cd
Agua	-9.29 (3.25) e	-9.48 (3.77) f	-8.76 (3.69) e	0.72 (2.05) bd
<i>p</i>	0.001	0.001	0.001	0.001

Diferentes letras en superíndice indican una diferencia significativa entre grupos; ANOVA y prueba de Tukey ($p < 0,05$); la comparación solo es válida en cada columna.

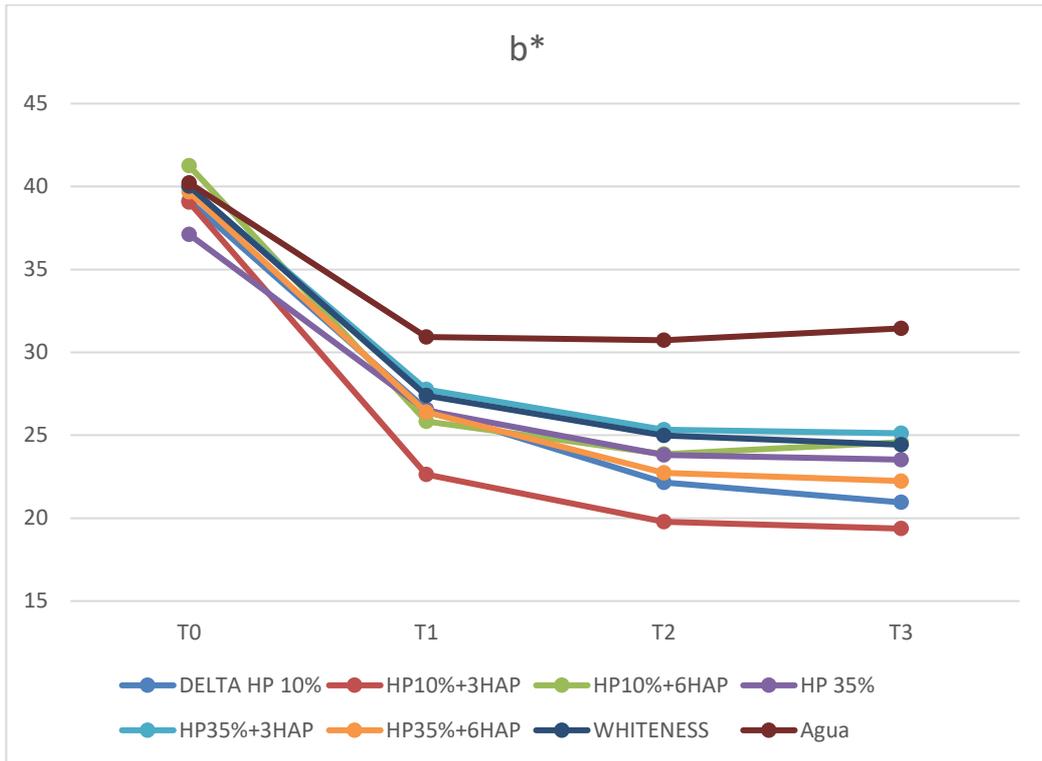


Gráfico 5: Comparación de los valores de b^* de los agentes aclaradores entre los diferentes tiempos.

V. DISCUSIÓN

En este estudio que tuvo como objetivo evaluar los efectos de la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) obtenida de la cáscara de huevo en geles de peróxido de hidrógeno para la remineralización del esmalte, resultó que después de 14 días de tratamiento todos los grupos experimentaron disminución respecto a los porcentajes de cantidad relativa de mineral, a excepción del HP 10%, sin mostrar diferencias con HP10%+HA6%, WHITENESS y el grupo control (agua). Esto podría deberse a que, se ha determinado que los efectos nocivos en la estructura dental originados por el blanqueamiento dependen de la concentración, el tiempo de aplicación, las características de la estructura dental y de las interacciones químicas.

Por tanto, muchos protocolos con concentraciones altas de HP evidencian alteraciones moderadas a leves en el aspecto físico-químico, con pérdida mineral resultante de alteraciones estructurales de los cristales de HA, reducción de la relación Ca/P y cambios en la configuración orgánica del esmalte y dentina.²⁴ Esta información podría explicar los resultados de esta investigación en los que, se reportó mayores pérdidas de mineral en los grupos con HP35%.

Asimismo, la revisión de Carey²⁵ reportó que algunos estudios han demostrado que el blanqueamiento con altas concentraciones de peróxido de hidrógeno provoca susceptibilidad del diente a la desmineralización. Además, se ha indicado que los cambios en el contenido mineral pueden deberse a la difusión del agente oxidante en la estructura del esmalte y su posterior descomposición en especies reactivas de oxígeno que reaccionan con los componentes inorgánicos presentes en los cristales de HA, promoviendo su disolución gradual.²⁶ Todos estos

resultados sugieren que los geles de baja concentración se pueden usar de manera más efectiva y segura que los agentes de alta concentración, también para los procedimientos de blanqueamiento de consultorio.²⁷

Existen varias formas de fosfato de calcio en la naturaleza, pero la más estable está representada por Hidroxiapatita,²⁸ por lo que la incorporación de nanohidroxiapatita (nano-HA) a los agentes aclaradores se ha introducido como un intento de abordar estos problemas;²⁷ puesto que, presentan una alta afinidad por la superficie dental desmineralizada con la capacidad de unirse a los poros generados por el tratamiento de blanqueamiento. Al adherirse a la superficie del diente, se multiplica y se organiza en microclusters para formar una capa uniforme de apatita que puede adherirse completamente al esmalte interprismático y prismático.^{29,30}

Resultados similares a este estudio se detectaron en la investigación de Orilisi²⁷ donde fueron evaluados geles con concentraciones de 6, 12 y 18% de peróxido de hidrógeno en combinación con nanohidroxiapatita en diferentes proporciones. Los resultados revelaron una composición similar en carbonatos y fosfatos para los grupos control, HP 6% mezclado con nanohidroxiapatita en una proporción de 1:3 y HP 12% con nanohidroxiapatita en una proporción de 1:1 sin mostrar diferencias significativas en sus perfiles espectrales; mientras que, HP 18% con nanohidroxiapatita mostró una eliminación parcial de la capa aprismática y las microporosidades.

Estos resultados, al igual que la presente investigación, podrían explicarse debido a que la superficie más externa del tejido dentario es el esmalte aprismático,³¹ que está altamente mineralizada y es más resistente a la desmineralización.³² En los

estudios *in vitro*, las muestras de esmalte generalmente se limpian y pulen para crear una superficie plana para la experimentación. Esto elimina el esmalte aprismático y expone el esmalte prismático más débil y menos mineralizado a las pruebas. Por lo tanto, los resultados podrían ser una sobreestimación de lo que sucedería en condiciones reales,³² lo que podría explicar la pérdida de mineral durante el blanqueamiento evidenciada en esta investigación.

Además, estos resultados²⁷ sugieren que la aplicación de los agentes blanqueadores comerciales probados, con una concentración de HP de hasta el 12 %, no altera la composición morfológica y química de la superficie del esmalte y mantiene su cristalinidad, datos contrastables con nuestro estudio, en donde se reportó que una concentración más baja HP10% combinada con HA 6% genera menor pérdida de mineral, que se recupera completamente pasada la semana del tratamiento.

Otro factor que podría estar relacionado en el proceso de mineralización es el pH, pues se ha demostrado que el esmalte expuesto a productos blanqueadores con diferentes niveles de pH mostró un mayor riesgo de desmineralización tras exposiciones prolongadas a productos altamente ácidos con valores de pH por debajo de 5,2 o productos altamente básicos >7.³³ Algunos geles de peróxido de hidrógeno con pH más ácidos pueden promover una desmineralización progresiva del esmalte, mientras que, los geles de peróxido de carbamida, debido al pH más básico no generan la disolución de HA pero favorece la oxidación de los compuestos orgánicos del esmalte.^{24,34}

Si bien los efectos erosivos que los ácidos generan en el esmalte han sido ampliamente estudiados, exponer el esmalte a agentes alcalinos ha demostrado ser igualmente destructivo, esto debido a que, los productos alcalinos descomponen la materia orgánica (proteína), que es el componente principal de la película protectora que rodea las superficies del esmalte. Estos productos también se dirigen a las proteínas presentes en la microestructura del esmalte, principalmente la amelogenina, que encapsula los prismas del esmalte, conecta los prismas entre sí y vincula los cristales minerales dentro de cada prisma. Por lo que, la pérdida de materia orgánica en el esmalte por productos alcalinos lo hace vulnerable a ataques ácidos que estaban destinados a cruzar numerosas barreras orgánicas antes de atacar los cristales de apatita.³⁵

Por tanto, la búsqueda de un producto blanqueador con un pH óptimo ha llevado a los científicos a formular un agente agregando hidróxido de calcio o hidroxiapatita, que demostró ser significativamente menos destructivo para el esmalte en comparación con el HP ácido. Esto se atribuyó a que la sal alcalina se adhiere de manera uniforme a la superficie del esmalte, disminuyendo el contacto directo entre HP y el esmalte, formando así una capa protectora.³⁶ Además, un estudio²⁷ mostró que la nanohidroxiapatita contenido en el gel blanqueador al 18% de HP no parece combinarse con la HA de la superficie del esmalte, probablemente debido a su menor valor de pH. Por lo tanto, se puede sugerir que los valores de pH pueden ser relevantes.

Por otro lado, la iniciativa de la incorporación de la HA se refuerza con algunos antecedentes que demuestran, por ejemplo, que una pasta de profilaxis con

hidroxiapatita en gránulos pequeños ($\sim 1,60 \mu$) generó la oclusión de los túbulos dentarios;³⁷ así como, otras investigaciones en las que se usaron pastas desensibilizantes formuladas con nanohidroxiapatita lograron promover la menor pérdida de iones Ca y P,^{5,38} la deposición de estructuras cristalinas⁹ y la reducción de la sensibilidad dentinaria.³⁹⁻⁴¹ Sin embargo, no se han reportado estudios en los que este componente se haya incluido en los geles blanqueadores.

Respecto a la microdureza, los resultados de esta investigación mostraron que todos los grupos experimentan disminución en los valores de microdureza, incluso el grupo control, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas con este último, a excepción del grupo HP35%+HA6%. Esto puede estar relacionado con el medio de almacenamiento, pues para evitar la interferencia con otros factores de remineralización,⁴² la saliva artificial no estaba presente en la solución en la que se depositaron las muestras, ya que la reducción de la microdureza está relacionada con los efectos combinados de la desmineralización y la destrucción de la materia orgánica.⁴³

A diferencia de algunos estudios^{5,9} donde, para imitar las condiciones orales, se usó la saliva artificial en el tratamiento, los resultados mostraron el aumento de rugosidad con el tiempo de exposición y deposición de estructuras cristalinas en los grupos en donde se usó la hidroxiapatita, atribuyendo un efecto adicional a la concentración mineral de la saliva artificial. Esto podría indicar que el uso de saliva como agente remineralizante podría ser determinante, al jugar un papel importante en la protección del sustrato de la pérdida mineral excesiva, permitiendo la remineralización del esmalte.²⁷

Sin embargo, los resultados también muestran que en la semana posterior al blanqueamiento se recuperaron los valores de microdureza en todos los grupos, datos similares se encontraron en la investigación de Scribante et al.,⁴⁴ en donde se identificó una disminución significativa de la microdureza después de la aplicación de los agentes blanqueadores y, el tratamiento con pasta profiláctica con hidroxiapatita aumentó significativamente los valores de microdureza del esmalte sometido a blanqueamiento, pese a que utilizaron la saliva como medio de almacenamiento. Esto se corrobora con el estudio de Monterubbianesi et al.,⁴³ donde se reportó que los valores de microdureza permanecieron estables después de los tratamientos con los agentes blanqueadores probados.

En relación al blanqueamiento dental, al evaluar ΔE todos los grupos experimentales generaron cambios de color en todos los tiempos. A los 7 días de tratamiento, el grupo HP10%+HA6% mostró un cambio de color mayor y con diferencias estadísticamente significativas respecto a los demás grupos; mientras que, a los 14 días de tratamiento este grupo se mantiene con los valores más altos, sin mostrar diferencias con los demás grupos excepto con HP 35% y HP35%+HA3%. Esto podría estar relacionado a las propiedades blanqueadoras de la hidroxiapatita, cuyo modo de acción se base en la adhesión de partículas a la superficie del esmalte dentario, sin alterar ni afectar químicamente el tejido dental más profundo,⁴⁵ siendo que esta adhesión puede aumentar con concentraciones más altas de HA, mejorando el efecto blanqueador,⁴⁶⁻⁴⁸ lo que explicaría que el grupo con mayor porcentaje de hidroxiapatita, obtuvo mejores resultados.

Además, un estudio reportó que el gel HA no abrasivo mostró los valores más altos en el blanqueamiento dental en comparación con un enjuague bucal con agentes blanqueadores; concluyendo que las partículas HA pueden ser adecuadas para el blanqueamiento dental cosmético con un enfoque menos nocivo, rápido y biomimético.⁴⁹

Asimismo, algunos antecedentes observaron un aumento en el brillo de los dientes después de la aplicación de una pasta de dientes que contenía HA, postulando que los procesos de remineralización generaron superficies más lisas y favorecerían la reflexión de la luz especular lo que resultó en un aumento del brillo. Además, la capa superficial puede causar un aumento de la reflexión difusa de la luz, lo que resulta en un aumento medible de la luminosidad.^{50,51} Por otro lado, se indica que debería investigarse, con mayor detalle, cómo el tamaño de las partículas de HA influye en su interacción con la luz, pues se observó que las partículas pequeñas eran más efectivas, ya que cubrían toda la superficie.⁴² Esto podría explicar los resultados de este estudio, en el que se usó partículas pequeñas: nanohidroxiapatita.

Los resultados de esta investigación son respaldados con el estudio de Sarembe et al.,⁴⁹ en donde se formuló un gel con hidroxiapatita biométrica al 15%, demostrando un efecto blanqueador eficaz después de una aplicación de corta duración, del mismo modo se reportó que, la mezcla de pasta de HA y gel HP al 15%, mostraron cambios de color similares a los productos comerciales.⁹ Igualmente, un estudio piloto con una duración de 4 semanas en el que se demostraron los efectos blanqueadores de un gel a base de hidroxiapatita cuidado

dental diario. Por lo tanto, estas investigaciones han demostrado que la hidroxiapatita es un agente blanqueador prometedor para formulaciones como alternativa de producto blanqueador.^{5,51}

Así mismo, algunos estudios *in vivo*, han reportado que, los tratamientos a base de 6 % de HP con un 2 % de nanohidroxiapatita demostraron mejoras en el color de los dientes; no obstante, se evidenció una recaída en el tono al ser comparado en el resultado inmediatamente después del blanqueamiento.³⁰ Sin embargo, en la presente investigación no hubo aumento significativo en el color 7 días después del tratamiento, pero tampoco una disminución brusca; esto puede deberse a que en el estudio de Vano, se realizó un seguimiento de 9 meses, por lo que, el tiempo puede ser determinante en la variación del color. Además, se ha demostrado que su incorporación a otros productos no influyó en la efectividad del tratamiento blanqueador;³⁸ resultados que pueden ser contrastados con esta investigación.

Por otro lado, se ha reportado que la hidroxiapatita biomimética además de lograr un efecto blanqueador, también podría ser duradero, por lo que los resultados actuales son prometedores.⁵² Esto en la medida que, este elemento se basa en la estructura y composición de los cristallitos del esmalte natural⁴⁶ e incluso ha mostrado diversas aplicaciones en el cuidado preventivo de la cavidad bucal,⁵³⁻⁵⁸ así como propiedades en la biopelícula.⁵⁹

Ahora bien, dentro de la evaluación del color también se midieron los pigmentos a* y b*, en donde se observa que todos los grupos experimentales han generado la disminución de la saturación del pigmento rojo y amarillo; siendo que los grupos HP10%+HA3% y HP10%+HA6% generaron mayores cambios con

valores diferencias estadísticamente significativas en relación a los demás grupos, lo cual se mantiene en los demás tiempos. Sin embargo, se observaron los valores más bajos en la semana posterior al blanqueamiento. Estos resultados son contrastables con ΔE y luminosidad. Respecto a estos pigmentos, se ha descrito anteriormente que el cambio de color de amarillo a azul muestra evidencia significativa en el blanqueamiento, además la disminución del parámetro b^* es un elemento crucial para determinar el cambio de color en el paciente, siendo que, un cambio hacia azul genera una apariencia que visualmente parece más blanca.^{60,61} Todo ello indica una mejora general en la percepción del aclaramiento de los dientes.⁶² Por tanto, los parámetros analizados en este estudio afirman que existen cambios de color perceptibles en los grupos experimentales.

Respecto a la metodología utilizada para la evaluación de la mineralización, se usó la espectroscopia FT-Raman que tiene la capacidad de detectar la concentración de iones en el esmalte sano y post-blanqueamiento a través de los picos vibracionales de PO_4^{3-} y CO_3^{2-} , ofreciendo varias ventajas en estudios relacionados con la aplicación odontológica, debido a que es una técnica no destructiva y permite mediciones de control, es decir un análisis de la misma muestra antes y después del blanqueamiento. Por tanto, es posible evaluar los cambios en la matriz de hidroxiapatita.^{26,63} En cuanto a la prueba de microdureza, puede ser considerada una evaluación confiable para valorar las propiedades físico-mecánicas de algunos agentes blanqueadores.²⁷ Finalmente, el uso del espectrofotómetros para medir el color, ha demostrado resultados más precisos en las investigaciones.¹

VI. CONCLUSIONES

1. La incorporación de nanohidroxiapatita obtenida de la cáscara de huevo puede generar menos pérdida relativa de mineral, no modifica la microdureza del esmalte y promueve mayor cambio de color durante el blanqueamiento.
2. Agentes blanqueadores con bajas concentraciones de peróxido de hidrógeno y concentración del 6% de nanohidroxiapatita generan menos pérdida relativa de mineral durante el blanqueamiento.
3. Aumentar hidroxiapatita a los agentes blanqueadores no modifica la microdureza del esmalte durante el blanqueamiento.
4. Aumentar hidroxiapatita en los agentes blanqueadores promueve mayor cambio de color.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar nuevos ensayos con distintas concentraciones de peróxido de hidrógeno, carbamida y con variación en las concentraciones de nanohidroxiapatita.
2. Promover nuevas investigaciones incluyendo otros tiempos de evaluación y con nuevos protocolos.
3. Verificar el comportamiento del pH en la formulación de los geles que plantean incorporar la nanohidroxiapatita en los peróxidos.
4. Plantear investigaciones in vivo para verificar la interacción de los geles en la cavidad oral.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Joiner A, Luo W. Tooth colour and whiteness: A review. *J Dent.* diciembre de 2017;67S:S3-10.
2. Demarco FF, Meireles SS, Masotti AS. Over-the-counter whitening agents: a concise review. *Braz Oral Res.* 2009;23 Suppl 1:64-70.
3. Eachempati P, Kumbargere Nagraj S, Kiran Kumar Krishanappa S, Gupta P, Yaylali IE. Home-based chemically-induced whitening (bleaching) of teeth in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018;12(12):CD006202.
4. Gasparri F, Schemehorn BR, Zanardi A. Efficacy of Teeth Whitening with a Mouthwash: In Vitro and In Vivo Approaches. *J Clin Dent.* marzo de 2018;29(1):13-7.
5. Kutuk ZB, Ergin E, Cakir FY, Gurgan S. Effects of in-office bleaching agent combined with different desensitizing agents on enamel. *J Appl Oral Sci.* 8 de noviembre de 2018;27:e20180233.
6. Azrak B, Callaway A, Kurth P, Willershausen B. Influence of bleaching agents on surface roughness of sound or eroded dental enamel specimens. *J Esthet Restor Dent.* diciembre de 2010;22(6):391-9.
7. Li Y, Shi X, Li W. Zinc-Containing Hydroxyapatite Enhances Cold-Light-Activated Tooth Bleaching Treatment In Vitro. *Biomed Res Int.* 2017;2017:6261248.
8. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent.* junio de 2011;39(6):430-7.
9. Sasaki RT, Catelan A, Bertoldo E dos S, Venâncio PC, Groppo FC, Ambrosano GMB, et al. Effect of 7.5% hydrogen peroxide containing remineralizing agents on hardness, color change, roughness and micromorphology of human enamel. *Am J Dent.* octubre de 2015;28(5):261-7.

10. Cartagena AF, Parreiras SO, Loguercio AD, Reis A, Campanha NH. In-office bleaching effects on the pulp flow and tooth sensitivity - case series. *Braz Oral Res.* 2015;29:S1806-83242015000100223.
11. Enax J, Epple M. Synthetic Hydroxyapatite as a Biomimetic Oral Care Agent. *Oral Health Prev Dent.* 2018;16(1):7-19.
12. Kunam D, Manimaran S, Sampath V, Sekar M. Evaluation of dentinal tubule occlusion and depth of penetration of nano-hydroxyapatite derived from chicken eggshell powder with and without addition of sodium fluoride: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2016;19(3):239-44.
13. Sanosh KP, Chu MC, Balakrishnan A, Kim TN, Cho SJ. Utilization of biowaste eggshells to synthesize nanocrystalline hydroxyapatite powders. *Materials Letters.* 15 de octubre de 2009;63(24):2100-2.
14. Hui P, Meena S, Singh G, Agarawal R, Prakash S. Synthesis of Hydroxyapatite Bio-Ceramic Powder by Hydrothermal Method. *JMMCE.* 2010;9(8):683-92.
15. Asadipour K, Nezafati N, Nourbakhsh MS, Hafezi-Ardakani M, Bohlooli S. Characterization and biological properties of a novel synthesized silicon-substituted hydroxyapatite derived from eggshell. *Int J Artif Organs.* febrero de 2019;42(2):95-108.
16. Ingole VH, Hany Hussein K, Kashale AA, Ghule K, Vuherer T, Kokol V, et al. Ultrasound-assisted green economic synthesis of hydroxyapatite nanoparticles using eggshell biowaste and study of mechanical and biological properties for orthopedic applications. *J Biomed Mater Res A.* noviembre de 2017;105(11):2935-47.
17. Kattimani VS, Chakravarthi PS, Kanumuru NR, Subbarao VV, Sidharthan A, Kumar TSS, et al. Eggshell Derived Hydroxyapatite as Bone Graft Substitute in the Healing of Maxillary Cystic Bone Defects: A Preliminary Report. *J Int Oral Health.* junio de 2014;6(3):15-9.
18. Rama S, Siddharthan A, Seshadri S, Sampath T. A novel route for synthesis of

- nanocrystalline hydroxyapatite from eggshell waste. *J Mater Sci Mater Med*. 2007;18(9).
19. Sasikumar S, Vijayaraghavan R. Low Temperature Synthesis of Nanocrystalline Hydroxyapatite from Egg Shells by Combustion Method. *Trends in biomaterials & artificial organs*. 2006;1(19).
 20. Hoyos A. Color e ilusión. *CES Odontología*. 2001;14(2):53-62.
 21. Cruz P, Cruz A, Santillán V. Microdureza superficial de molares artificiales de resina acrílica utilizados en odontología rehabilitadora, tres marcas comerciales. Estudio in-vitro. *Revista KIRU [Internet]*. 30 de junio de 2018 [citado 6 de octubre de 2024];15(2). Disponible en: <https://portalrevistas.aulavirtualusmp.pe/index.php/Rev-Kiru0/article/view/1320>
 22. Gispert E, Cantillo E, Rivero A, Cruz M. Remineralización in vivo del esmalte desmineralizado artificialmente. *Rev Cubana Estomatol*. abril de 2001;38(1):5-9.
 23. Ansari M, Naghib SM, Moztafzadeh F, Salati A. Synthesis and characterization of hydroxyapatitecalcium hydroxide for dental composites. *Ceram Silik*. 1 de junio de 2011;55:123-6.
 24. Aragão WAB, Chemelo VS, Alencar C de M, Silva CM, Pessanha S, Reis A, et al. Biological action of bleaching agents on tooth structure: A review. *Histol Histopathol*. octubre de 2024;39(10):1229-43.
 25. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. *J Evid Based Dent Pract*. junio de 2014;14 Suppl:70-6.
 26. Cavalli V, Rosa DA da, Silva DP da, Kury M, Liporoni PCS, Soares LES, et al. Effects of experimental bleaching agents on the mineral content of sound and demineralized enamels. *J Appl Oral Sci*. 4 de octubre de 2018;26(0).
 27. Orilisi G, Tosco V, Monterubbianesi R, Notarstefano V, Özcan M, Putignano A, et al. ATR-FTIR, EDS and SEM evaluations of enamel structure after treatment with hydrogen peroxide bleaching agents loaded with nano-hydroxyapatite particles.

PeerJ. 2021;9:e10606.

28. Bordea IR, Candrea S, Alexescu GT, Bran S, Băciuț M, Băciuț G, et al. Nano-hydroxyapatite use in dentistry: a systematic review. *Drug Metab Rev.* mayo de 2020;52(2):319-32.
29. Swarup SJ, Rao A, Boaz K, Srikant N, Shenoy R. Pulpal response to nano hydroxyapatite, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide when used as a direct pulp capping agent: an in vivo study. *J Clin Pediatr Dent.* Spring de 2014;38(3):201-6.
30. Vano M, Derchi G, Barone A, Genovesi A, Covani U. Tooth bleaching with hydrogen peroxide and nano-hydroxyapatite: a 9-month follow-up randomized clinical trial. *Int J Dent Hyg.* noviembre de 2015;13(4):301-7.
31. Públio JDC, D'Arce MBF, Catelan A, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lovadino JR, et al. Influence of enamel thickness on bleaching efficacy: An in-depth color analysis. *Open Dent J.* 2016;10:438-45.
32. Karadas M, Seven N, Tahan E, Demirbuga S. Influence of tea and cola on tooth color after two in-office bleaching applications. *J restor dent.* 1 de enero de 2014;2:83.
33. Price RBT, Sedarousy M, Hiltz GS. The pH of tooth-whitening products. *J Can Dent Assoc.* 2000;66(8):421-6.
34. Babot-Marquillas C, Sánchez-Martín MJ, Amigo JM, Yousef I, H Valido I, Boada R, et al. Tooth whitening effects on dental enamel, oxidation or reduction? Comparison of physicochemical alterations in bovine enamel using Synchrotron-based Micro-FTIR. *Dent Mater.* abril de 2022;38(4):670-9.
35. Taube F, Ylmén R, Shchukarev A, Nietzsche S, Norén JG. Morphological and chemical characterization of tooth enamel exposed to alkaline agents. *J Dent.* enero de 2010;38(1):72-81.
36. Sun L, Liang S, Sa Y, Wang Z, Ma X, Jiang T, et al. Surface alteration of human

- tooth enamel subjected to acidic and neutral 30% hydrogen peroxide. *J Dent.* octubre de 2011;39(10):686-92.
37. Genovesi AM, Marconcini S. In Vitro Comparison of Three Desensitizing Prophylaxis Pastes: A Morphological Analysis. *J Oral Hyg Health.* 2015;03(05).
 38. Gomes YS de L, Alexandrino LD, Alencar C de M, Alves EB, Faial KC, Silva CM. In situ Effect of Nanohydroxyapatite Paste in Enamel Teeth Bleaching. *J Contemp Dent Pract.* 1 de noviembre de 2017;18(11):996-1003.
 39. Steinert S, Zwanzig K, Doenges H, Kuchenbecker J, Meyer F, Enax J. Daily Application of a Toothpaste with Biomimetic Hydroxyapatite and Its Subjective Impact on Dentin Hypersensitivity, Tooth Smoothness, Tooth Whitening, Gum Bleeding, and Feeling of Freshness. *Biomimetics (Basel).* 28 de abril de 2020;5(2):17.
 40. Browning WD, Cho SD, Deschepper EJ. Effect of a nano-hydroxyapatite paste on bleaching-related tooth sensitivity. *J Esthet Restor Dent.* agosto de 2012;24(4):268-76.
 41. Orsini G, Procaccini M, Manzoli L, Giuliadori F, Lorenzini A, Putignano A. A double-blind randomized-controlled trial comparing the desensitizing efficacy of a new dentifrice containing carbonate/hydroxyapatite nanocrystals and a sodium fluoride/potassium nitrate dentifrice: A new dentifrice desensitizing efficacy. *J Clin Periodontol.* junio de 2010;37(6):510-7.
 42. Jin J, Xu X, Lai G, Kunzelmann KH. Efficacy of tooth whitening with different calcium phosphate-based formulations. *Eur J Oral Sci.* agosto de 2013;121(4):382-8.
 43. Monterubbianesi R, Tosco V, Bellezze T, Giuliani G, Özcan M, Putignano A, et al. A Comparative Evaluation of Nanohydroxyapatite-Enriched Hydrogen Peroxide Home Bleaching System on Color, Hardness and Microstructure of Dental Enamel. *Materials (Basel).* 4 de junio de 2021;14(11):3072.
 44. Scribante A, Poggio C, Gallo S, Riva P, Cuocci A, Carbone M, et al. In vitro re-

hardening of bleached enamel using mineralizing pastes: Toward preventing bacterial colonization. *Mater* [Internet]. 2020;13(4). Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85082036450&doi=10.3390%2fma13040818&partnerID=40&md5=8ec62d497e7c857601ce425377ee807c>

45. Dabanoglu A, Wood C, García-Godoy F, Kunzelmann KH. Whitening effect and morphological evaluation of hydroxyapatite materials. *Am J Dent*. 2009;22(1):7.
46. Fabritius-Vilpoux K, Enax J, Herbig M, Raabe D, Fabritius HO. Quantitative affinity parameters of synthetic hydroxyapatite and enamel surfaces in vitro. *Bioinspir Biomim Nan*. 1 de junio de 2019;8(2):141-53.
47. Kensche A, Holder C, Basche S, Tahan N, Hannig C, Hannig M. Efficacy of a mouthrinse based on hydroxyapatite to reduce initial bacterial colonisation in situ. *Arch Oral Biol*. agosto de 2017;80:18-26.
48. Lelli M, Putignano A, Marchetti M, Foltran I, Mangani F, Procaccini M, et al. Remineralization and repair of enamel surface by biomimetic Zn-carbonate hydroxyapatite containing toothpaste: a comparative in vivo study. *Front Physiol*. 2014;5:333.
49. Sarembe S, Enax J, Morawietz M, Kiesow A, Meyer F. In Vitro Whitening Effect of a Hydroxyapatite-Based Oral Care Gel. *Eur J Dent*. julio de 2020;14(3):335-41.
50. Niwa M, Sato T, Li W, Aoki H, Aoki H, Daisaku T. Polishing and whitening properties of toothpaste containing hydroxyapatite. *J Mater Sci Mater Med*. marzo de 2001;12(3):277-81.
51. Roveri N, Battistella E, Bianchi CL, Foltran I, Foresti E, Iafisco M, et al. Surface Enamel Remineralization: Biomimetic Apatite Nanocrystals and Fluoride Ions Different Effects. *Journal of Nanomaterials*. 2009;2009(1):746383.
52. Steinert S, Kuchenbecker J, Meyer F, Simader B, Zwanzig K, Enax J. Whitening Effects of a Novel Oral Care Gel with Biomimetic Hydroxyapatite: A 4-Week

- Observational Pilot Study. *Biomimetics* (Basel). 24 de noviembre de 2020;5(4):E65.
53. Hu ML, Zheng G, Zhang YD, Yan X, Li XC, Lin H. Effect of desensitizing toothpastes on dentine hypersensitivity: A systematic review and meta-analysis. *J Dent*. agosto de 2018;75:12-21.
 54. Hiller KA, Buchalla W, Grillmeier I, Neubauer C, Schmalz G. In vitro effects of hydroxyapatite containing toothpastes on dentin permeability after multiple applications and ageing. *Sci Rep*. 20 de marzo de 2018;8(1):4888.
 55. Hagenfeld D, Prior K, Harks I, Jockel-Schneider Y, May TW, Harmsen D, et al. No differences in microbiome changes between anti-adhesive and antibacterial ingredients in toothpastes during periodontal therapy. *J Periodontal Res*. agosto de 2019;54(4):435-43.
 56. Cieplik F, Rupp CM, Hirsch S, Muehler D, Enax J, Meyer F, et al. Ca²⁺ release and buffering effects of synthetic hydroxyapatite following bacterial acid challenge. *BMC Oral Health*. 21 de marzo de 2020;20(1):85.
 57. Schlagenhauf U, Kunzelmann KH, Hannig C, May TW, Hösl H, Gratza M, et al. Impact of a non-fluoridated microcrystalline hydroxyapatite dentifrice on enamel caries progression in highly caries-susceptible orthodontic patients: A randomized, controlled 6-month trial. *J Investig Clin Dent*. mayo de 2019;10(2):e12399.
 58. Enax J, Fabritius HO, Fabritius-Vilpoux K, Amaechi BT, Meyer F. Modes of Action and Clinical Efficacy of Particulate Hydroxyapatite in Preventive Oral Health Care – State of the Art. *TODENTJ*. 31 de julio de 2019;13(1):274-87.
 59. Meyer F, Enax J, Amaechi BT, Limeback H, Fabritius HO, Ganss B, et al. Hydroxyapatite as Remineralization Agent for Children's Dental Care. *Front Dent Med* [Internet]. 2022;3. Disponible en: <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85130708097&doi=10.3389%2ffdm.2022.859560&partnerID=40&md5=326c17b5c94c125bade545a12944f32b>

60. Bergesch V, Baggio Aguiar FH, Turssi CP, Gomes França FM, Basting RT, Botelho Amaral FL. Shade changing effectiveness of plasdone and blue covarine-based whitening toothpaste on teeth stained with chlorhexidine and black tea. *Eur J Dent.* 2017;11(4):432-7.
61. Jiang N, Zhang C, Agingu C, Attin T, Cheng H, Yu H. Comparison of Whitening Dentifrices on the Effectiveness of In-office Tooth Bleaching: A Double-blind Randomized Controlled Clinical Trial. *Oper Dent.* 2019;44(2):138-45.
62. Shamel M, Al-Ankily MM, Bakr MM. Influence of different types of whitening tooth pastes on the tooth color, enamel surface roughness and enamel morphology of human teeth. *F1000Res.* 2019;8:1764.
63. Silveira J, Godinho J, Mata A, Carvalho ML, Pessanha S. Assessment of teeth elemental content using μ -EDXRF: effects by in-office and at-home bleaching products. *X-Ray Spectrometry.* 2015;44(1):3-6.

IX. ANEXOS

Anexo 1: Constancia de aprobación del Comité de Ética en Investigación.



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Dirección Universitaria de
**INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y
TECNOLOGÍA (DUICT)**

CAREG-ORVEI-177-21

Lima, 13 de agosto del 2021

Señor(a)
Roncal Espinoza, Rosa Josefina
Presente. -

Estimado(a) investigador(a):

Es grato dirigirme a usted para saludarlo(a) y a la vez informarle que hemos recibido el proyecto de investigación titulado: **“Incorporación de nanohidroxiapatita obtenida de la cáscara de huevo en geles de peróxido de hidrógeno y carbamida para la remineralización de dientes durante el blanqueamiento”**. **SIDISI 204931**, el cual ha sido revisado y registrado en la Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. De acuerdo al Manual de Procedimientos de nuestra universidad y por sus características, este proyecto no requiere evaluación por el Comité Institucional de Ética en Humanos o en Animales, pudiendo iniciar su ejecución.

Agradecemos tenga a bien presentar su informe de cierre al concluir la ejecución de su proyecto.

Atentamente,

Firmado digitalmente por:
CARLOS EDUARDO ZAMUDIO FUERTES
Director
Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología



