

**ANÁLISIS COMPARATIVO DE LA  
MICROESTRUCTURA DEL ESMALTE  
EXPUESTO A UN AGUA SABORIZADA  
IN VITRO.**

**COMPARATIVE ANALYSIS OF ENAMEL  
MICROSTRUCTURE EXPOSED TO A  
FLAVOURED WATER IN VITRO.**

*Histología y Embriología. Facultad de Odontología - UNLP  
Calle 50 e/ Av. 1 y 115 La Plata (1900). Bs. As. Argentina.  
dmerlo00@gmail.com  
Financiamiento: Universidad Nacional de La Plata*

• Merlo D, Lazo G, Abal A, Belloni F, Ingeniero MJ, Viskovic C, Barceló A, Barrasa E, Gómez Bravo F, Guzmán MP, Motta M, Ogas C, Papasodaro J, Pérez, D, Pérez P, Procopio Rodríguez M, Saldías A, De Landaburu R, Tanevitch A. •

**RESUMEN** El propósito de este trabajo fue comparar las variaciones morfológicas y químicas de la microestructura del esmalte por acción de un agua natural saborizada mediante dos regímenes de inmersión. Secciones longitudinales de coronas dentarias fueron incluidas en resina, desgastadas y pulidas en sentido longitudinal. Se utilizó un agua natural comercial sabor naranja. Un grupo de muestras se sumergieron en el agua durante 12 minutos y otro se ciclaron en saliva artificial 4 veces por día, 5 minutos cada inmersión en la bebida, durante 14 días. Se realizaron observaciones al ESEM (SeMFI-LIMF. FI- UNLP) y determinaciones de espectrometría de energía dispersiva de calcio y fósforo, antes y después de la exposición al agua en ambos grupos. Se analizó el esmalte radial y con bandas de Hunter Schreger. Se evidenciaron alteraciones en la morfología de los prismas en ambos grupos y variaciones en la composición elemental. En las muestras sumergidas durante 12 minutos la relación calcio/fósforo disminuyó, mientras que en las cicladas 14 días aumentó. Concluimos que el agua produce pérdida mineral y la saliva artificial podría favorecer el depósito de minerales. Se considera necesario continuar profundizando el estudio de estos aspectos.

**Palabras clave:** AGUA SABORIZADA - ESMALTE DENTAL - DESMINERALIZACIÓN - SALIVA ARTIFICIAL

**SUMMARY** The purpose of this work was to compare the morphological and chemical variations of the enamel microstructure by the action of a natural flavored water through two immersion regimes. Longitudinal sections of dental crowns were embedded in resin, worn and polished in the longitudinal direction. A commercial natural water orange flavored was used. One group of samples was immersed in water for 12 minutes and another was cycled in artificial saliva four times a day, five minutes each immersion in the drink, for 14 days. Observations were made at ESEM (SeMFI-LIMF. FI-UNLP) and determinations of calcium and phosphorus energy dispersive spectrometry, before and after exposure to water in both groups. Hunter Schreger band and radial enamel were analyzed. Alterations in the morphology of the prisms were evidenced in both groups and variations in the elemental composition. In the samples submerged for 12 minutes, the calcium/phosphorus ratio decreased, while in those cycled for 14 days it increased. We conclude that water produces mineral loss and artificial saliva could stimulate the deposit of minerals. It is considered necessary to continue deepening the study of these aspects.

**Palabras clave:** FLAVORED WATER - TOOTH ENAMEL - DEMINERALIZATION - ARTIFICIAL SALIVA

## INTRODUCCIÓN

Las caries dentales constituyen la patología dental prevalente de la población desde hace varios años a pesar de los esfuerzos destinados a investigar y desarrollar nuevas terapéuticas preventivas. Los cambios en la alimentación a lo largo del proceso evolutivo de la humanidad contribuyen, junto con otros factores como los bacterianos, al daño de los tejidos dentarios. Sin embargo, existen lesiones de los tejidos duros dentarios causadas por la ingesta de alimentos de naturaleza ácida y sobre todo de bebidas comerciales<sup>1,2</sup>. Se han realizado numerosas investigaciones que abordan el efecto de distintos tipos de bebidas sobre el esmalte dental determinando la aparición de lesiones de erosión por la disolución de los cristales de hidroxiapatita. El potencial erosivo de agentes erosivos como bebidas ácidas o alimentos depende de factores químicos, como el pH, acidez titulable, contenido mineral, la permanencia sobre la superficie del diente y sus propiedades quelantes de calcio. En la línea de investigación que el equipo está desarrollando, relacionada con el efecto de las bebidas sin alcohol sobre la microestructura del esmalte, resulta de interés profundizar el conocimiento sobre sus aspectos morfológicos, mecánicos y químicos en virtud de su importancia en la práctica odontológica, explorando su comportamiento en relación a los procesos de desmineralización y remineralización. Un aspecto novedoso de la investigación es considerar la compleja organización microestructural del esmalte, debido a curso cambiante de los prismas. Cuando los prismas se disponen paralelos unos con otros, como sucede en la zona más externa del espesor del esmalte, se constituye el esmalte radial; en cambio, cuando los prismas se entrecruzan en haces en forma ordenada se denomina esmalte con bandas de Hunter Schreger. También el entrecruzamiento puede ser irregular y formarse el esmalte nudoso. El esmalte que carece de prismas se denomina esmalte aprismático. El esmalte radial, por su disposición externa, es el más expuesto a la acción de los agentes desmineralizantes, no obstante, la pérdida de sustancia en cúspides o bordes incisales por desgaste puede exponer a las bandas de Hunter Schreger al medio bucal y la respuesta ante la acción de los agentes erosivos puede ser diferente. El propósito de este trabajo fue comparar las variaciones morfológicas y químicas de la microestructura del esmalte por acción de un agua natural saborizada mediante dos regímenes de inmersión.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon muestras de esmalte mediante la inclusión en resina acrílica de secciones longitudinales de coronas dentarias humanas. Se consideraron dos regímenes de exposición de las muestras a un agua natural sabor naranja. Un grupo de muestras (n=8) fue destinado a la inmersión en el agua durante 12 minutos. Posteriormente, se realizó el metalizado con oro para la observación y el análisis químico mediante un ESEM FEI QUANTA 200 (SeMFi-LIMF. FI- UNLP). Las condiciones trabajo fueron alto vacío a 20 kV en un área de 100  $\mu$ m. Se consideró la zona externa (esmalte radial) y la interna (esmalte con Bandas). Se realizaron registros antes de la exposición del esmalte sano.

En otras muestras (n=8) se realizó un régimen de inmersión por ciclos entre la bebida y la saliva artificial, durante 5 minutos, 4 veces por día durante 14 días. Se utilizó una fórmula magistral de saliva artificial con la siguiente composición: Cloruro de potasio 0,06- Fosfato de potasio 0,17 g- Cloruro de sodio 0,2 g- Cloruro de calcio 0,148 g- Cloruro de magnesio 0,025 g- CMC 5 g- Sorbitol 15 g- Agua csp. 500 cc. Se obtuvieron imágenes del ESEM y se analizó la composi-

ción elemental con espectrometría de energía dispersiva antes y después de la acción de la bebida.

## RESULTADOS

Al ESEM, la superficie del esmalte sano, desgastado y pulido en un plano longitudinal aparece homogénea y compacta. No se distinguen visualmente los contornos de los prismas. Aparecen algunos poros muy pequeños y aislados (Fig. 1). Algunas rayas poco profundas, se evidencian como efecto del desgaste. Las micrografías electrónicas obtenidas después de la acción del agua saborizada durante 12 minutos mostraron alteraciones de los prismas observadas tanto cuando son seccionados en forma transversal como longitudinal. Los contornos de los prismas, en algunas muestras aparecieron elevados, mientras que en otras, deprimidos (Fig. 2). Las muestras sometidas al régimen cíclico durante 14 días presentaron alteraciones semejantes, aunque no fue uniforme (Fig. 3). En algunas muestras podían observarse prismas con pérdida mineral y en otras, la superficie apareció cubierta por una capa delgada, amorfa, levemente granular, enmascarando el relieve del esmalte (Fig. 4 A). Resultaron más evidentes las estrías de Retzius después de la acción de la bebida (Fig. 4 B).

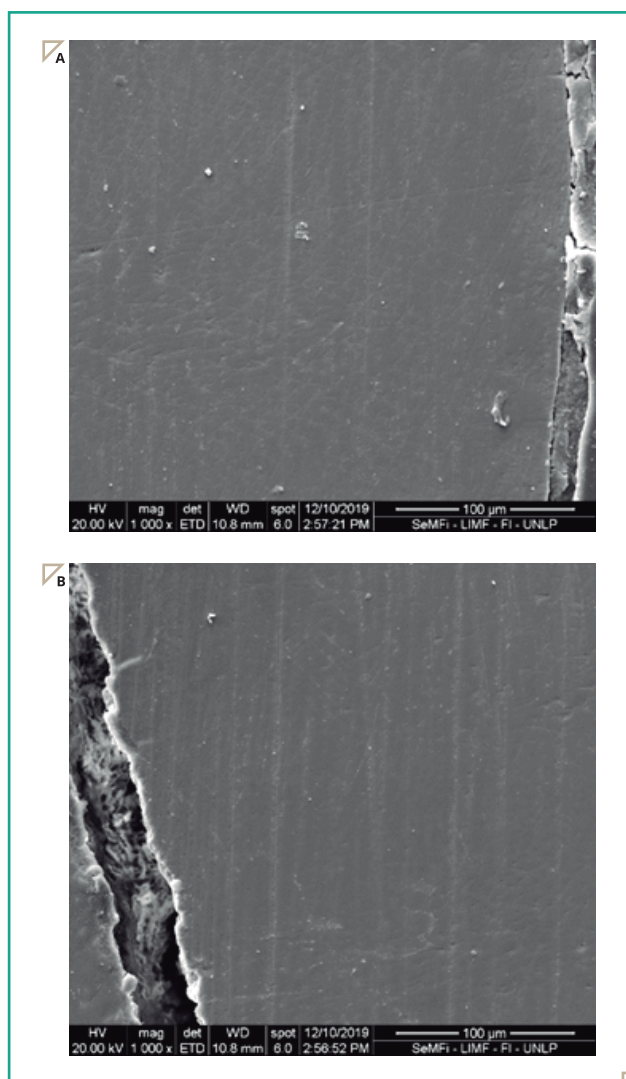


Figura 1. Micrografía del esmalte sano  
A: Esmalte radial externo.  
B: Esmalte con bandas de Hunter Schreger interno.

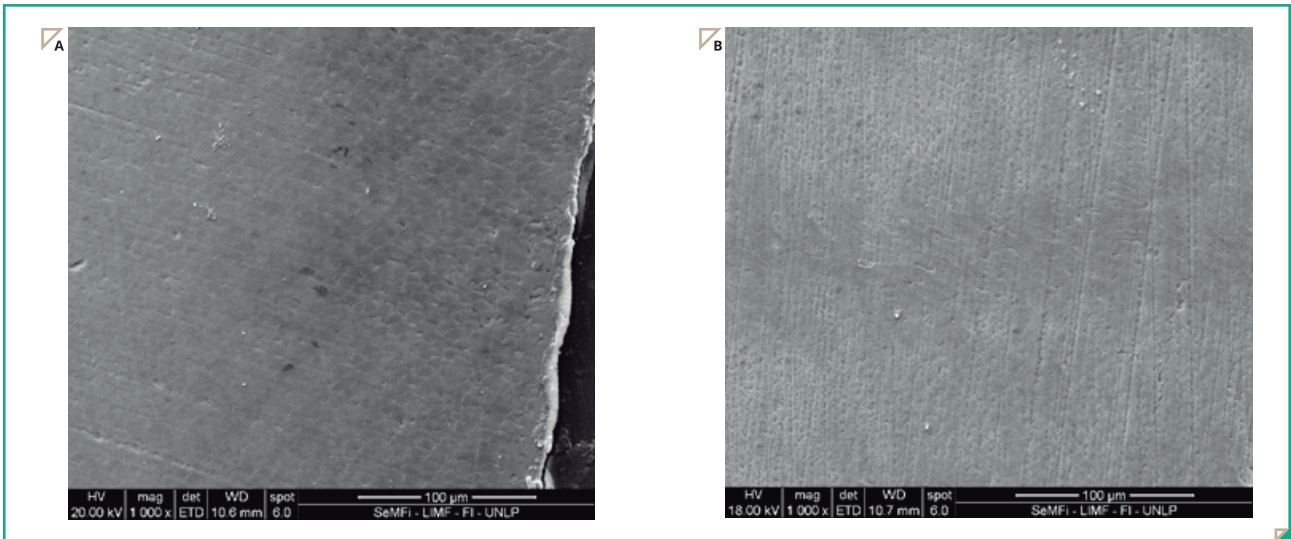


Figura 2. Micrografía del esmalte expuesto a la bebida durante 12 minutos. A: Esmalte radial externo. B: Esmalte con bandas de Hunter Schreger interno. Los prismas seccionados transversalmente evidencian alteraciones en el contorno (A) o en el centro (B)

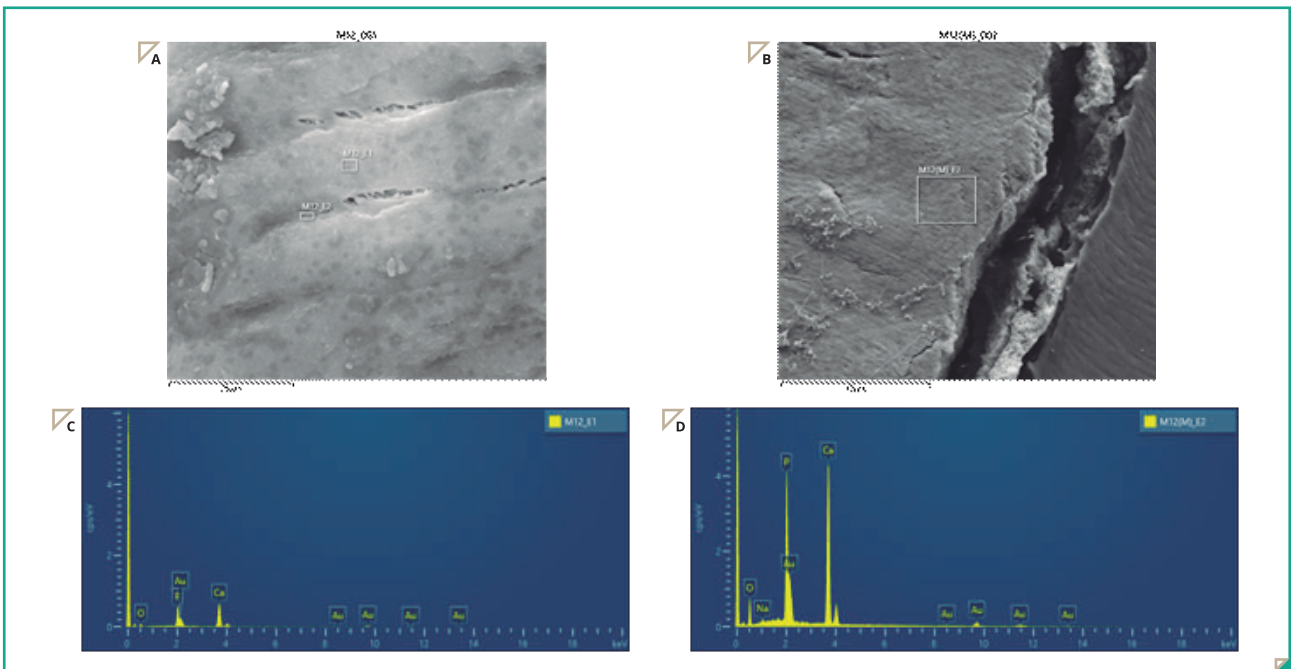


Figura 3. Micrografía del esmalte radial (A) y del esmalte con bandas (B) tratado durante 14 días. Espectrometría de energía dispersiva (C y D).

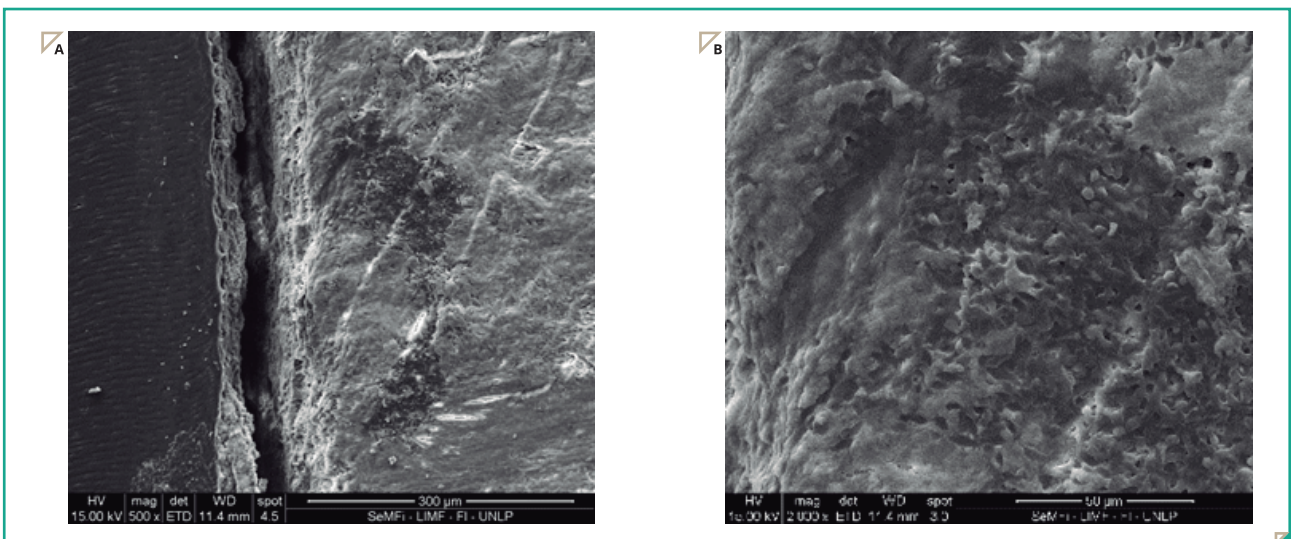


Figura 4. Micrografía del esmalte expuesto durante 14 días. Se observan estrias de Retzius (A). La capa superficial amorfa (B).



Con relación al análisis químico elemental de calcio y fósforo, en el experimento de 12 minutos se encontró un aumento del porcentaje de fósforo y una disminución de la relación calcio/fósforo (Ca/P) (Tabla I). En el esmalte ciclado durante 14 días, el porcentaje de fósforo fue menor (Grupo 2) en relación al sano (Grupo 2s). La relación Ca/P aumentó después de la exposición al agua saborizada (Tabla II).

peso%	Ca		P		Ca/P	
	RADIAL	BHS	RADIAL	BHS	RADIAL	BHS
GRUPO 1 (12 min.)	40,70 ±8,69	39,39 ±8,16	20,35 ±4,51	19,56 ±4,22	2	2,01
GRUPO 1s (sano)	38,36 ±1,15	38,14 ±1,17	18,14 ±0,51	18,05 ±0,50	2,11	2,11

Ca: calcio - P: fósforo - RADIAL: esmalte radial.  
BHS: esmalte con bandas de Hunter Schreger

Tabla I. Composición elemental del esmalte expuesto al agua saborizada 12 minutos

peso%	Ca		P		Ca/P	
	RADIAL	BHS	RADIAL	BHS	RADIAL	BHS
GRUPO 2 (14 días)	23,94 ±3,36	21,52 ±6,73	12,62 ±1,77	11,14 ±3,65	1,91	1,94
GRUPO 2s (sano)	33,48 ±3,80	31,97 ±4,01	18,21 ±2,21	17,45 ±2,19	1,83	1,83

Ca: calcio - P: fósforo - RADIAL: esmalte radial.  
BHS: esmalte con bandas de Hunter Schreger

Tabla II. Composición elemental del esmalte expuesto al agua saborizada 14 días ciclado en saliva artificial

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

En este trabajo se comparó el efecto de un agua natural sabor naranja sobre secciones pulidas longitudinales de esmalte dental utilizando dos regímenes de exposición. En las muestras sometidas a la acción de la bebida se encontró pérdida de minerales que afectó tanto la vaina como el centro de los prismas. Wang et al<sup>5</sup> estudiando bebidas comerciales sin alcohol de Taiwán, demostraron una desmineralización inicial en el cuerpo de la varilla de esmalte debido a su alta concentración de cristales en comparación con el área periférica. A medida que avanzaba la erosión, se podía encontrar destrucción en la vaina de los prismas. Al completar los experimentos de desafío de erosión, pudieron observar tres superficies erosionadas en una misma muestra<sup>5</sup>. En el presente trabajo, la morfología alterada del prisma no tuvo relación con el tiempo de inmersión. Estas diferencias aún son motivo de estudio. La relación porcentual calcio/fósforo en el esmalte sumergido 12 minutos disminuyó indicando, una disminución en el contenido mineral, tanto en el esmalte radial como en las bandas de Hunter - Schreger. En cambio, en las muestras cicladas durante 14 días, se encontró un aumento en la relación calcio fósforo en relación al esmalte sano, pero igualmente pudieron observarse zonas con pérdida mineral y alteración en la morfología de los prismas. La saliva artificial contiene minerales capaces de depositarse sobre la superficie adamantina, aunque

no se evidenció una restitución de la estructura cristalina. Algunos autores demostraron la remineralización parcial del esmalte utilizando distintas formulaciones de saliva artificial<sup>6</sup>. La capa de saliva depositada sobre el esmalte no permitió distinguir a los prismas subyacentes. El agua mineral utilizada en este experimento contiene ácido cítrico y etilendiaminotetraacético (EDTA) y un pH menor a 5, por debajo del pH crítico de la hidroxiapatita<sup>7</sup>. El ácido cítrico es particularmente dañino para los dientes, ya que el anión citrato es capaz de quelar el calcio además del efecto erosivo de los protones liberados<sup>5</sup>.

Concluimos que el agua mineral saborizada produce desmineralización de la microestructura del esmalte. Los resultados de esta investigación no son concluyentes debido a la suspensión de las actividades por motivos de público conocimiento.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Lussi A, Jaeggi T, Zero D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res.* 2004; 38 Suppl 1:34-44. doi:10.1159/000074360
- Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res.* 2011; 45 Suppl 1:2-12. doi:10.1159/000325915
- Carvalho TS, Schmid TM, Baumann T, Lussi A. Erosive effect of different dietary substances on deciduous and permanent teeth. *Clin Oral Investig.* 2017; 21(5):1519-1526. doi:10.1007/s00784-016-1915-z
- Lussi A, Jaeggi T. Erosion--diagnosis and risk factors. *Clin Oral Investig.* 2008; 12 Suppl 1(Suppl 1):S5-S13. doi:10.1007/s00784-007-0179-z
- Wang YL, Chang CC, Chi CW, et al. Erosive potential of soft drinks on human enamel: an in vitro study. *J Formos Med Assoc.* 2014; 113(11):850-856. doi:10.1016/j.jfma.2014.06.002
- Ionta FQ, Mendonça FL, de Oliveira GC, et al. In vitro assessment of artificial saliva formulations on initial enamel erosion remineralization. *J Dent.* 2014;42(2):175-179. doi:10.1016/j.jdent.2013.11.009
- Tanevitch, Durso, Abal, Pérez, Lemos Barboza. Composición y acidez de bebidas comerciales sin alcohol. *Publicación Informativa y Científica. Facultad de Odontología,* 2017; 65-68