



UNIVERSIDAD DE MURCIA

Facultad de Medicina

Sección de Odontología

**Departamento de Dermatología, Estomatología, Radiología y
Medicina Física**

**“ESTUDIO MEDIANTE MICROSCOPIO
ELECTRÓNICO DE BARRIDO DE LOS
EFECTOS PRODUCIDOS POR COCA-COLA[®]
Y SCHWEPES[®] LIMÓN EN EL ESMALTE
INTACTO Y EN EL ESMALTE GRABADO Y
SELLADO CON UNA RESINA
ORTODÓNICA”**

Raúl Navarro Garre

Murcia, 1 de Diciembre de 2.006

A MIS PADRES Y HERMANOS

AGRADECIMIENTOS

A la Doctora Ascensión Vicente Hernández, de quién surgió la idea de este proyecto de investigación, por su incondicional ayuda y continuo apoyo. Sin ella no hubiera sido posible este trabajo.

Al Doctor Luis Alberto Bravo González, por la supervisión continua de este estudio.

Al personal del Servicio de Microscopía de los Laboratorios del S.A.C.E. de la Universidad de Murcia, por su ayuda y paciencia.

A mis Tíos del matadero y sala de despiece, por proporcionarme los dientes bovinos.

A los trabajadores de la Clínica Odontológica Universitaria del Hospital Morales Meseguer, por su interés y colaboración.

ÍNDICE

| | <u>Pág.</u> |
|--|-------------|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| REVISIÓN DE LA LITERATURA | 4 |
| 1.- ESMALTE HUMANO | 5 |
| 1.1.- GENERALIDADES | 5 |
| 1.2.- PROPIEDADES FÍSICAS | 7 |
| 1.2.1.-Dureza..... | 7 |
| 1.2.2.- Elasticidad..... | 7 |
| 1.2.3.- Color y transparencia..... | 7 |
| 1.2.4.- Permeabilidad..... | 7 |
| 1.2.5.- Radiopacidad..... | 7 |
| 1.3.-COMPOSICIÓN QUÍMICA..... | 8 |
| 1.3.1.-Matrizorgánica | 8 |
| 1.3.2.- Matriz inorgánica | 10 |
| 1.3.3.- Agua | 10 |
| 1.4.- ESTRUCTURA HISTOLÓGICA | 11 |
| 1.4.1.- UNIDADES ESTRUCTURALES BÁSICAS | 11 |
| 1.4.1.1.-Esmalte prismático | 11 |
| 1.4.1.2.-Esmalte aprismático | 14 |

| | |
|---|----|
| 1.4.2.- UNIDADES ESTRUCTURALES SECUNDARIAS | 15 |
| 1.4.2.1.- Estrías de Retzius | 15 |
| 1.4.2.2.- Penachos de Linderer | 16 |
| 1.4.2.3.- Bandas de Hunter-Schreger | 16 |
| 1.4.2.4.- Esmalte nudoso | 17 |
| 1.4.2.5.- Conexión amelodentinaria | 17 |
| 1.4.2.6.- Husos adamantinos..... | 18 |
| 1.4.2.7.- Periquimatías y líneas de imbricación de Pickeril | 18 |
| 1.4.2.8.- Fisuras o surcos del esmalte | 18 |
| 1.4.2.9.- Laminillas o microfisuras del esmalte..... | 19 |
| 1.5.- CUBIERTAS SUPERFICIALES | 19 |
| 1.5.1.- Cutícula del esmalte..... | 19 |
| 1.5.2.- Película secundaria, exógena o adquirida | 19 |
| 1.6.- ESTRUCTURAS DE SUPERFICIE..... | 20 |
| 1.6.1.- Casquetes del esmalte | 20 |
| 1.6.2.- Orificios focales | 20 |
| 1.7.- CAMBIOS DEL ESMALTE CON LA EDAD | 21 |
| 2.- ESMALTE BOVINO..... | 22 |
| 3.- ACCIÓN DE LOS ÁCIDOS SOBRE EL ESMALTE | 24 |
| 3.1.- ÁCIDOS UTILIZADOS EN ODONTOLOGÍA..... | 24 |
| 3.1.1.- Tipo de ácido..... | 24 |
| 3.1.2.- Concentración del ácido..... | 25 |
| 3.1.3.- Tiempo de aplicación del ácido..... | 25 |
| 3.1.4.- Resistencia del esmalte | 25 |
| 3.1.5.- Morfología del esmalte grabado..... | 26 |
| 3.2.- ACCIÓN DE LOS ÁCIDOS DE LA DIETA..... | 27 |

| | |
|---|----|
| 3.2.1.- Bebidas refrescantes | 28 |
| 3.2.2.- Bebidas refrescantes bajas en calorías | 30 |
| 3.2.3.- Consumo de bebidas refrescantes..... | 31 |
| OBJETIVOS | 32 |
| MATERIAL Y MÉTODO | 34 |
| 1.- DIENTES | 35 |
| 2.- MEDICIÓN DEL pH DE DIFERENTES BEBIDAS REFRESCANTES | 35 |
| 3.- PREPARACIÓN DE ESPECÍMENES Y PROTOCOLO | 35 |
| 4.- MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO | 38 |
| RESULTADOS | 39 |
| 1.- VALORES DEL pH OBTENIDOS PARA LAS DISTINTAS BEBIDAS | 40 |
| 2.- DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LAS IMÁGENES..... | 40 |
| 2.1.- Grupo control | 40 |
| 2.2.- Grupo Coca-Cola® | 45 |
| 2.3.- Grupo Schweppes® Limón..... | 50 |
| DISCUSIÓN | 54 |
| CONCLUSIONES | 66 |
| BIBLIOGRAFÍA | 68 |

INTRODUCCIÓN

Una secuela frecuente de los tratamientos de ortodoncia es la aparición de manchas blancas en el esmalte. Éstas son el resultado de los procesos de desmineralización que ocurren en las proximidades de los brackets debido a un descenso del pH. Entre los factores que pueden contribuir a este descenso del pH se encuentran una higiene incorrecta por parte del paciente, un aumento de las zonas de retención de placa bacteriana y la existencia de una dieta cariogénica.

Debido a la demanda de estética por parte de todos los sectores de la sociedad, cada vez se realizan más tratamientos de ortodoncia. Los brackets son aditamentos necesarios durante este tipo de tratamientos. Éstos se adhieren al esmalte del diente y junto con los arcos, las bandas y las ligaduras, suponen nuevas zonas de retención de placa bacteriana, a la vez que dificultan los procedimientos de higiene oral.

Entendemos por dieta cariogénica aquella que es capaz de inducir la caries dental, interviniendo factores como las propiedades acidogénicas de los alimentos, la composición glucídica de los mismos y los efectos sobre la colonización bacteriana. El proceso de caries siempre implica la desmineralización del tejido duro dental. En las últimas décadas se ha producido un aumento importante en el consumo de bebidas refrescantes entre la población general y en especial entre el público adolescente. En la gran mayoría de los casos, los hábitos dietéticos adquiridos en la infancia acompañan en la vida adulta. Estas bebidas no sólo son dañinas por la gran cantidad de azúcar que contienen, sino porque la mayoría poseen algún ácido de pH inferior al límite crítico del inicio de la desmineralización del esmalte, es decir, un pH por debajo de 5,5, lo que las convierte en agentes desmineralizantes para los tejidos duros dentales.

En la literatura científica existe escasez de estudios que analicen mediante Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) el efecto que ejercen las bebidas refrescantes sobre el esmalte y los materiales de adhesión de brackets. Además, tanto el tamaño de la muestra como los ciclos de inmersión en las bebidas que utilizan en los trabajos no son apropiados para extrapolar los resultados a una situación real. Por otro lado, casi todos los estudios centran su atención en los efectos de los refrescos de cola y bebidas como el zumo de naranja. La bebida Schweppes® Limón no ha sido evaluada previamente, a pesar de que los datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación sitúan los refrescos de limón en el tercer puesto en el ranking de consumo.

Por todo ello, surge la necesidad de realizar un estudio con un tamaño de muestra representativo, unos ciclos de inmersión en las bebidas acorde con el consumo real y en el que se evalúen los efectos de un refresco de limón como Schweppes® Limón en el esmalte intacto y el esmalte grabado y sellado con una resina ortodóncica.

REVISIÓN DE LA LITERATURA

1.- ESMALTE HUMANO

1.1.- GENERALIDADES

El esmalte es el tejido más duro del organismo debido a que estructuralmente está constituido por millones de prismas altamente mineralizados que lo recorren en todo su espesor, desde la conexión amelodentinaria a la superficie externa o libre en contacto con el medio bucal (Fig. 1). Recubre a manera de casquete a la dentina en su porción coronaria, ofreciendo protección al tejido conectivo subyacente integrado en el isosistema dentino-pulpar (Gómez y Campos, 2.002).

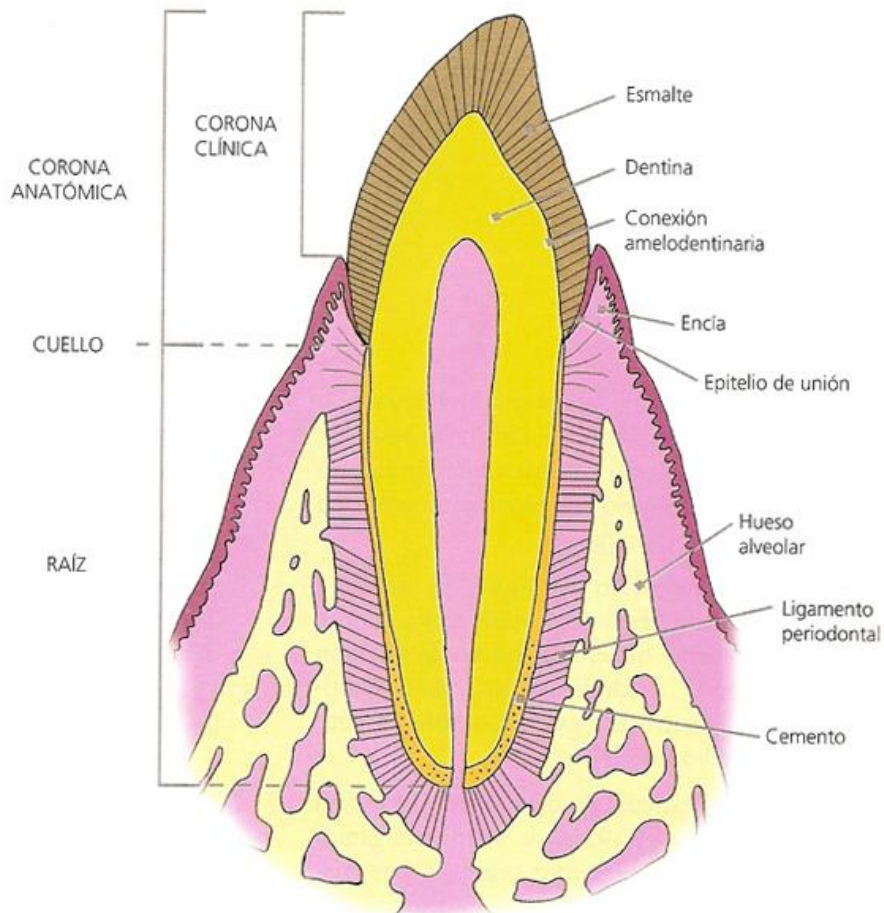


Figura 1. Relaciones del esmalte (Gómez y Campos, 2.002).

El esmalte varía considerablemente de espesor en las diferentes partes del diente y entre los distintos tipos de dientes. Es máximo en los bordes incisales y en las cúspides, desde donde va disminuyendo hacia el margen cervical. El mayor espesor en la dentición permanente se alcanza en las superficies oclusales de los molares (Fejerskov y Thylstrup, 1.989).

Existen una serie de características que hacen del esmalte un tejido único. Dichas características son las siguientes:

- 1.- Embriológicamente deriva del órgano del esmalte, de naturaleza ectodérmica, que se origina de una proliferación localizada del epitelio bucal.
- 2.- La matriz orgánica es de naturaleza proteica con agregado de polisacáridos, y en su composición no participa el colágeno.
- 3.- Los cristales de hidroxiapatita se hallan densamente empaquetados, y son de mayor tamaño que los de otros tejidos mineralizados. Los cristales son solubles a la acción de los ácidos, constituyendo esta característica el sustrato químico que da origen a la caries dental.
- 4.- Las células secretoras del tejido adamantino, los ameloblastos, tras completar la formación del esmalte, involucionan y desaparecen durante la erupción dentaria por un mecanismo de apoptosis. Esto implica que no hay crecimiento ni nueva aposición de esmalte después de la erupción.
- 5.- El esmalte maduro no contiene células ni prolongaciones celulares, por ello actualmente no se le considera un tejido, sino una sustancia extracelular altamente mineralizada. Las células que le dan origen, no quedan incorporadas a él y por ello el esmalte es un tejido acelular, avascular y sin inervación.
- 6.- Frente a una noxa reacciona con pérdida de sustancia siendo incapaz de repararse, es decir, no posee poder regenerativo como sucede en otros tejidos del organismo, aunque puede haber remineralización. (Gómez y Campos, 2.002).

1.2.- PROPIEDADES FÍSICAS

1.2.1.- Dureza: es la resistencia superficial de una sustancia a ser rayada o a sufrir deformaciones de cualquier índole, motivadas por presiones. El esmalte presenta una dureza que corresponde a un cinco en la escala de Mohs (es una escala del uno al diez que determina la dureza de ciertas sustancias) y equivale a la apatita. Estudios recientes establecen los valores promedios de dureza del esmalte en dientes permanentes entre 3,1 y 4,7 Giga pascales (GPa) (Gómez y Campos, 2.002).

1.2.2.- Elasticidad: el esmalte posee un módulo de elasticidad relativamente bajo, lo que indica su carácter quebradizo. Esto se compensa gracias a la alta fuerza de compresión de la dentina subyacente, de la que deriva la funcionalidad y durabilidad del esmalte (Gwinnett, 1.992).

1.2.3.- Color y transparencia: el color del esmalte varía considerablemente y depende de su espesor junto al grado de transparencia del tejido. Cuanto mayor sea la mineralización, tanto más transparente será el esmalte. Los dientes tienen aspecto amarillento en las zonas en las que se puede visualizar la dentina subyacente (Fejerskov y Thylstrup, 1.989). En áreas más gruesas, el esmalte es más opaco y aparece azulado o gris (Gwinnett, 1.992).

1.2.4.- Permeabilidad: existe un gradiente dinámico entre la pulpa y el medio oral, en el que participa el esmalte a través de sus poros. El esmalte es selectivamente permeable, permitiendo el paso de agua e iones, excluyendo grandes moléculas (Gwinnett, 1.992).

1.2.5.- Radiopacidad: es la oposición al paso de los rayos Roentgen. Es muy alta, ya que es la estructura más radiopaca del organismo humano por su alto grado de mineralización (Gómez y Campos, 2.002).

1.3.- COMPOSICIÓN QUÍMICA

El esmalte está constituido químicamente por una matriz orgánica (1-2 %), una matriz inorgánica (95%) y agua (3-5 %) (Gómez y Campos, 2.002).

1.3.1.- Matriz orgánica

A diferencia de la matriz orgánica de otros tejidos calcificados, la matriz orgánica del esmalte está compuesta por proteínas no colágenas llamadas en conjunto proteínas del esmalte, las cuales son sintetizadas y secretadas por los ameloblastos (Davis, 1.988).

Además de las proteínas específicas, en la matriz del esmalte existen: proteínas solubles e insolubles, péptidos (Fejerskov y Thylstrup, 1.989), así como glucosaminoglicanos, proteoglicanos y diversas clases de lípidos (Davis, 1.988), enzimas y pequeños porcentajes de condroitín 4-sulfato y condroitín 6-sulfato (Gómez y Campos, 2.002).

Las proteínas del esmalte juegan un papel importante en procesos tales como:

- 1.- La iniciación en el proceso de remineralización.
 - 2.- Son reservorio de iones minerales, que se unen para formar cristales.
 - 3.- Modulan la tasa de crecimiento de los cristales y determinan su tamaño y morfología.
 - 4.- Ayudan a la correcta localización de los cristales, actuando como soporte físico para el crecimiento de los mismos.
 - 5.- Proporcionan protección en la fase mineral de crecimiento de los cristales.
- (Robinson y cols., 1.998)

Durante la mineralización de la corona ocurre un cambio significativo en el volumen del material orgánico. Los ameloblastos producen gran cantidad de matriz durante las fases tempranas del desarrollo del esmalte, y en el proceso de maduración, el volumen de material orgánico decrece mientras que el volumen de material inorgánico se incrementa (Gwinnett, 1.992).

Entre las proteínas presentes en mayor o menor medida en la matriz orgánica del esmalte, en las distintas fases de su formación, destacan:

1.- Amelogeninas: moléculas hidrofóbicas, fosforiladas y glicosiladas. Son las más abundantes (90% al comienzo de la amelogénesis) y disminuyen progresivamente a medida que aumenta la madurez del esmalte. Se localizan entre los cristales de las sales minerales, sin estar ligadas a ellos (Gómez y Campos, 2.002). Su función es importante para establecer y mantener el espaciado entre los prismas en las etapas iniciales del desarrollo del esmalte (Ross, Kaye y Pawlina, 2.005).

2.- Enamelinas: moléculas hidrofílicas y glicosiladas. Representan el 2-3 % de la matriz orgánica (Gómez y Campos, 2.002). Las enamelinas se hallan estrechamente unidas a las superficies de los cristales de apatita y ocupan todo el espacio existente entre ellos (Eisenmann, 1.986). Tienen a su cargo la degradación de las amelogeninas en el esmalte en proceso de maduración (Ross, Kaye y Pawlina, 2.005).

3.- Ameloblastinas o amelinas: proteínas sintetizadas por los ameloblastos desde las etapas secretoras iniciales hasta las etapas madurativas finales. Su función no se conoce bien y se piensa que guían el proceso de mineralización del esmalte al controlar el alargamiento de los cristales de hidroxiapatita (Ross, Kaye y Pawlina, 2.005).

4.- Tuftelina: proteínas ácidas ubicadas cerca de la conexión amelodentinaria. Participan en la nucleación de los cristales de hidroxiapatita. Las tuftelinas se sitúan en los penachos adamantinos y son la causa de su hipomineralización (Ross, Kaye y Pawlina, 2.005).

5.- Parvalbúmina: se localiza en el polo distal del proceso de Tomes del ameloblasto secretor. Su función está asociada al transporte de calcio del medio intracelular al extracelular (Gómez y Campos, 2.002).

1.3.2.- Matriz inorgánica

Al igual que en el hueso, en la dentina y en el cemento, el principal cristal del esmalte es el fosfato de calcio en forma de hidroxiapatita cristalina, $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$. Sin embargo, los cristales del esmalte (Fig. 2), a diferencia de los de otros tejidos calcificados, son extremadamente grandes (Davis, 1.988).

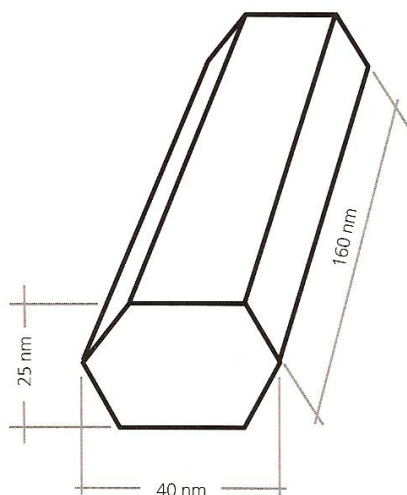


Figura 2. Diagrama del cristal de Hidroxiapatita (Gómez y Campos, 2.002).

Los grupos hidroxilos pueden ser reemplazados por iones flúor, formando fluorapatita. Esto es de gran importancia, dado que la fluorapatita es menos soluble a la acción de los ácidos que la hidroxiapatita (Geneser, 2.000).

En menor proporción podemos encontrar aluminio, bario, magnesio, estroncio, radio y vanadio (Gwinnett, 1.992). Además de cobre, molibdeno, azufre, estaño y titanio (Davis, 1988).

1.3.3.- Agua

El agua existente en el esmalte (superior al 4% del volumen) está presente en una cantidad significativamente mayor que el material orgánico (Gwinnett, 1.992). Se localiza en la periferia del cristal constituyendo la llamada capa de hidratación. El porcentaje de agua en el esmalte disminuye progresivamente con la edad (Gómez y Campos, 2.002).

1.4.- ESTRUCTURA HISTOLÓGICA

La estructura histológica del esmalte está constituida por la denominada unidad estructural básica “el prisma del esmalte” y por las denominadas unidades estructurales secundarias que se originan básicamente a partir de la anterior (Gómez y Campos, 2.002).

1.4.1.- UNIDADES ESTRUCTURALES BÁSICAS

La unidad estructural básica son los prismas del esmalte, estructuras compuestas por cristales de hidroxiapatita. El conjunto de prismas del esmalte forma el esmalte prismático, que constituye la mayor parte de esta matriz extracelular mineralizada. En la periferia de la corona y en la conexión amelodentinaria, existe el denominado esmalte aprismático, en el que la sustancia adamantina mineralizada no constituye ni configura prismas (Gómez y Campos, 2.002).

Los pequeños espacios angulares entre los prismas paralelos del esmalte constituyen el esmalte interprismático, cuya composición es similar, pero en el cual los cristales de hidroxiapatita están orientados de forma diferente a los de los prismas (Fawcett y Jensch, 1.999).

1.4.1.1.- Esmalte prismático

Cada ameloblasto es primariamente responsable de la formación de un prisma del esmalte. Además, una porción de la región interprismática, que rodea un prisma en particular, está formada por el mismo ameloblasto (Eisenmann, 1986).

Morfología de los prismas: los prismas son estructuras longitudinales de 4 μm de espesor promedio, que se dirigen desde la conexión amelodentinaria hasta la superficie del esmalte. El diámetro de los prismas varía entre 4-10 μm , es menor en su punto de origen y aumenta gradualmente a medida que se acerca a la superficie libre. El número de prismas varía en relación con el tamaño de la corona estimándose entre 5 y 12 millones (Gómez y Campos, 2.002).

Mediante el MEB, en cortes longitudinales se observan como bastones irregularmente paralelos (Fig. 3), mientras que en cortes transversales, adoptan una morfología en ojo de cerradura de llave antigua (Fig. 4). Lo que permite distinguir en los prismas dos regiones: la cabeza o cuerpo (en forma de cúpula esférica seguida de un cuello estrecho) y la cola con terminación irregular. La cabeza corresponde a la región más ancha y ofrece al corte un contorno irregularmente circular u ovoideo. La región de la cola es la más delgada encontrándose situada debajo de la cabeza (Gómez y Campos, 2.002). Las cabezas redondas de los prismas miden 5 μm de diámetro y la mayor dimensión de los prismas desde la parte superior de la cabeza al extremo de la cola mide alrededor de 9 μm (Meckel, Griebstein y Neal, 1.965).



Figura 3. Prismas dispuestos paralelamente en un corte longitudinal de esmalte, observados con el MEB a 800 aumentos (Gómez y Campos, 2.002).

Son estructuras que se encuentran estrechamente asociadas unas con otras y en este sentido hay que indicar que las cabezas de los prismas se encuentran ubicadas entre las colas de los prismas suprayacentes y las colas de cada prisma ubicadas entre las cabezas de los prismas adyacentes (Fig. 4). Este sistema de engranaje confiere mayor resistencia al esmalte, pues la cabeza soporta los choques de las fuerzas masticatorias y las colas las distribuyen y las disipan (Gómez y Campos, 2.002).

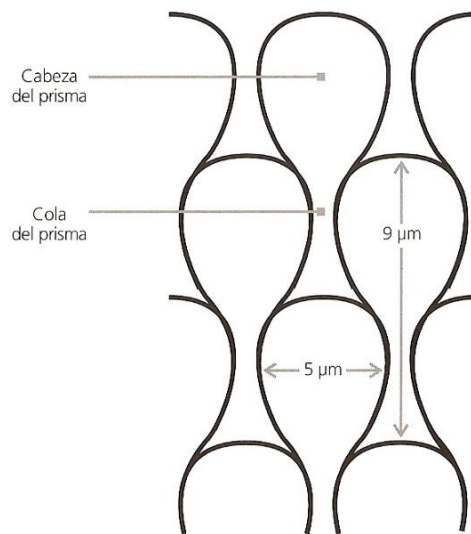


Figura 4. Diagrama transversal de los prismas al MEB (Gómez y Campos, 2.002).

Los límites del prisma equivalen a las vainas del prisma. Esta interfase contiene mayor cantidad de espacios intercristalinos (microporos), siendo su contenido de proteínas y agua relativamente más elevado que en el resto del esmalte, donde los cristales se hallan más estrechamente agrupados (Fejerskov y Thylstrup, 1.989).

Composición de los prismas: los prismas están constituidos por un conjunto de cristales de hidroxiapatita.

Los cristales dentro de un mismo prisma no se encuentran todos en la misma dirección. En un corte longitudinal, los cristales de la cabeza se encuentran localizados paralelos al eje mayor del prisma (Meckel, Griebstein y Neal, 1.965). En la zona de unión de la cabeza con la cola se van inclinando progresivamente respecto al eje longitudinal del prisma, hasta que adquieren una posición perpendicular en la región de la cola (Gómez y Campos, 2002).

Orientación de los prismas: la orientación de los prismas en el seno del esmalte es bastante compleja, pues no siguen una trayectoria rectilínea a través del esmalte, sino que en algunas zonas, por su recorrido sinuoso, experimentan entrecruzamientos o decusaciones (Gómez y Campos, 2.002).

Los prismas tienden a mantenerse en hileras dispuestas circunferencialmente alrededor del eje mayor del diente. Los prismas de cada hilera corren en una dirección generalmente perpendicular a la superficie del diente, con una ligera inclinación hacia la cúspide a medida que se dirigen hacia la superficie externa (Eisenmann, 1.986).

Cada prisma está ondulado en el plano transversal del diente, pero esta ondulación se encuentra ligeramente desfasada entre un prisma y el que está debajo o encima de él. Además de la ondulación en el plano transversal, existe otra ondulación de las columnas de prismas en el plano vertical. Como consecuencia de esta disposición, la dirección de las curvas de los prismas en un determinado nivel se cruza con la de los prismas de un nivel más profundo (Fawcett, 1.995).

En el esmalte cervical los prismas siguen un trayecto más o menos perpendicular al eje mayor del diente, en algunos casos con una ligera inclinación apical (Davis, 1988).

1.4.1.2.- Esmalte aprismático

El esmalte aprismático es material adamantino carente de prismas. Las zonas aprismáticas se relacionan con la ausencia de prolongaciones de Tomes durante la amelogénesis (Davis, 1.988).

Se encuentra presente en todos los dientes primarios (en la zona superficial de toda la corona) y en un 70% de los dientes permanentes (Gómez y Campos, 2.002). En estos últimos se encuentra ubicado en mayor medida en las regiones cervicales y en zonas de fisuras y microfisuras y, en menor medida, en las superficies cuspídeas (Gwinnett, 1.992).

En el esmalte aprismático los cristales de hidroxiapatita se disponen paralelos entre sí y perpendiculares a la superficie externa (Gómez y Campos, 2.002).

1.4.2.- UNIDADES ESTRUCTURALES SECUNDARIAS

Las unidades estructurales secundarias se definen como aquellas estructuras o variaciones estructurales que se originan a partir de las unidades estructurales primarias como resultado de varios mecanismos: el diferente grado de mineralización (las estrías de Retzius y los penachos de Linderer), el cambio en el recorrido de los prismas (las bandas de Hunter-Schreger y el esmalte nudoso) y la interrelación entre el esmalte y la dentina subyacente o la periferia medioambiental (la conexión amelodentinaria, los husos adamantinos, los periquimatías, las líneas de imbricación de Pickerill y las fisuras o surcos del esmalte) (Gómez y Campos, 2002).

1.4.2.1.- Estrías de Retzius

Estas estrías aparecen como una serie de líneas o bandas de color pardo (oscuras) de anchura variable en los cortes longitudinales. En los cortes transversales, las estrías aparecen como anillos de “crecimiento” concéntricos (Fig. 5). Estas líneas reflejan de manera adicional la naturaleza fásica de la amelogénesis. Los incrementos pueden variar de unas cuantas micras a varios cientos de ellas (Davis, 1.988).

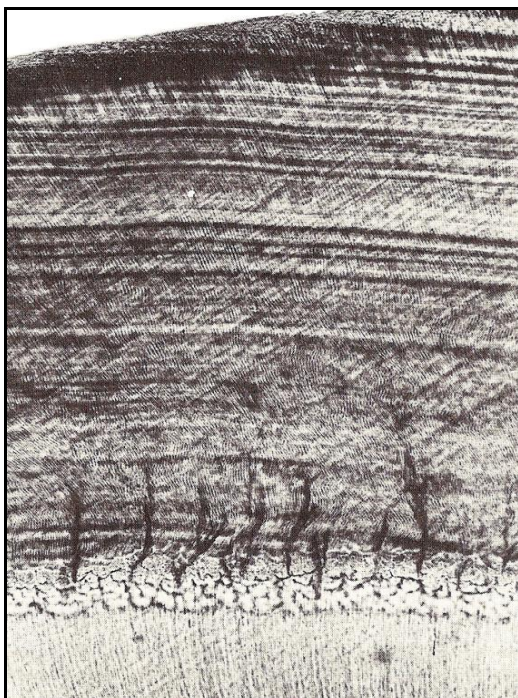


Figura 5. Corte transversal donde podemos ver las Estrías de Retzius como líneas oscuras (Eisenmann, 1.986).

La naturaleza exacta de esos cambios en el desarrollo que son reflejados como estrías de Retzius se desconoce, pero indudablemente responden a una influencia sistemática sobre la formación del esmalte. Por lo tanto, es de esperar el hallazgo del mismo patrón en todas las porciones del esmalte que se forman simultáneamente en cada uno de los distintos dientes, lo que implica que el patrón de las líneas de crecimiento es característico de cada persona (Fejerskov y Thylstrup, 1.989).

Son prominentes en la mayor parte de los dientes humanos permanentes, menos prominentes en el esmalte decidual postnatal y raras en el esmalte prenatal (Eisenmann, 1.986). En el esmalte de los dientes deciduos se observa una línea de hipomineralización más ancha. Esta línea, llamada línea neonatal, es producto de los cambios nutricionales que ocurren entre la vida prenatal y la vida postnatal (Ross, Kaye y Pawlina, 2.005).

1.4.2.2.- Penachos de Linderer

Los penachos de Linderer son estructuras ramificadas y representan grupos o acúmulos de prismas hipomineralizados. Se extienden de la unión dentina-esmalte al interior de este último en aproximadamente un tercio de su grosor. Son ricos en matriz orgánica y muy permeables (Davis, 1.988).

Se cree que los penachos de Linderer se forman durante el desarrollo debido a cambios bruscos en la dirección de grupos de prismas debido a la orientación de algunos ameloblastos en la amelogénesis (Gómez y Campos, 2.002).

1.4.2.3.- Bandas de Hunter-Schreger

Los complejos cruces de los prismas del esmalte en los dos tercios internos del mismo, producen un efecto óptico conocido como bandas de Hunter-Schreger. Aparecen como bandas alternamente claras y oscuras. Las bandas claras representan los prismas cortados longitudinalmente (parazonas) y las bandas oscuras los prismas cortados transversalmente (diazonas) (Gwinnett, 1.992).

1.4.2.4.- Esmalte nudoso

Sobre las cúspides de los dientes, los prismas se entrelazan en una disposición aparentemente compleja conocida como esmalte nudoso (Eisenmann, 1.986). El entrecruzamiento de los prismas es un factor que aumenta la resistencia del esmalte (Gómez y Campos, 2.002).

1.4.2.5.- Conexión amelodentinaria

La conexión amelodentinaria corresponde a la zona de relación entre el esmalte y la dentina (Fig. 6). Constituye un nivel estructural decisivo para asegurar la retención firme del esmalte sobre la dentina. Este límite no es en absoluto rectilíneo, sino que está constituido por concavidades o fosas pequeñas que dan una imagen festoneada en los cortes microscópicos (Gómez y Campos, 2.002).



Figura 6. Conexión amelodentinaria (Martín-Lacave y San Martín, 2.005).

1.4.2.6.- Husos adamantinos

Durante las primeras fases de aposición de la odontogénesis, las prolongaciones odontoblásticas penetran a través de la unión dentina esmalte para quedar en íntima relación con los recién diferenciados ameloblastos secretores. Al iniciarse la amelogénesis, estas estructuras quedan atrapadas dentro de la matriz calcificada del esmalte para formar los husos del esmalte. Estas estructuras son túbulos dentinales que han cruzado la cara de la unión dentina esmalte. En el diente maduro, es probable que los husos representen un vacío, y que por lo tanto no contengan estructura alguna además del líquido extracelular (Davis, 1.988).

1.4.2.7.- Periquimatías y líneas de imbricación de Pickerill

El examen cuidadoso del esmalte humano revela que existe un patrón superficial de tipo rugoso. En efecto, bandas u ondulaciones sobresalientes, de 30-100 μm de anchura, corren paralelamente alrededor del diente y reciben el nombre de líneas de imbricación (líneas de Pickerill). Estas crestas se hallan separadas entre sí por unos netos surcos o canales, denominados periquematías, que representan la abertura de las estrías de Retzius. Las periquematías se hacen menos visibles con la edad, debido al desgaste. Éstas no se hallan presentes en la mayoría de los dientes temporales, los motivos de ello son desconocidos (Fejerskov y Thylstrup, 1.989).

1.4.2.8.- Fisuras o surcos del esmalte

Las fisuras o surcos son invaginaciones de morfología y profundidad variable que se observan en la superficie del esmalte de premolares y molares. El origen se debe a una coalescencia incompleta de los lóbulos cuspídeos (centros de morfogénesis coronaria), donde la actividad ameloblástica se desarrolla de forma independiente para soldarse posteriormente (Gómez y Campos, 2.002).

1.4.2.9.- Laminillas o microfisuras del esmalte

Las laminillas o microfisuras del esmalte son formaciones comparables a fallas geológicas, finas y delgadas, que se extienden de forma rectilínea desde la superficie del esmalte hasta la dentina e incluso pueden penetrar en ella. Se observan, tanto en cortes longitudinales, como en los cortes transversales (Gómez y Campos, 2.002). Se cree que son finas hojas de material pertenecientes a la matriz no calcificada (Fawcett, 1.995). Son particularmente numerosas en la región cervical de los dientes (Fejerskov y Thylstrup, 1.989).

Se piensa que las laminillas se originan durante la odontogénesis a lo largo de los planos de tensión, que impiden la resorción completa de la matriz orgánica por los ameloblastos de maduración (Davis, 1.988).

1.5.- CUBIERTAS SUPERFICIALES

1.5.1.- Cutícula del esmalte

También denominada membrana de Nasmyth, cutícula primaria o película primitiva. Consiste en una delicada membrana que cubre toda la corona del diente recién erupcionado y que corresponde a la última secreción de los ameloblastos. Es una membrana fuertemente adherida a la superficie del esmalte, que posiblemente tiene la función de protegerlo durante el período de erupción, pero desaparece cuando el diente entra en oclusión (Gómez y Campos, 2.002).

1.5.2.- Película secundaria, exógena o adquirida

El esmalte erupcionado está cubierto por una película formada por un precipitado de proteínas salivales y elementos inorgánicos provenientes del medio bucal. Es una película clara, acelular y exenta de bacterias que vuelve a formarse a las pocas horas de haber limpiado mecánicamente la superficie adamantina. Sobre ella se forma la placa dental o bacteriana, que es la colonización bacteriana de la superficie de la película adquirida. A partir de esta placa pueden iniciarse los mecanismos que dan origen a la caries y a la enfermedad periodontal (Gómez y Campos, 2.002).

1.6.- ESTRUCTURAS DE SUPERFICIE

Además de las periquimatías y líneas de imbricación de Pickerill, ya descritas anteriormente, en el esmalte superficial encontramos los casquetes del esmalte y los orificios focales.

1.6.1.- Casquetes del esmalte

Estas estructuras varían en espesor y diámetro. El diámetro medio es de 15 μ . Algunos casquetes aparecen como superposiciones del esmalte extremadamente finas, cuyos bordes se fusionan con el esmalte interprismático circundante. En cambio, otros se hallan netamente elevados, en forma de protrusiones irregulares del esmalte, que pueden hallarse separadas del esmalte prismático e interprismático circundantes por hendiduras de anchura variable. Las superficies de los casquetes del esmalte varían, aunque lo más común es que sean extremadamente porosas, con frecuentes orificios y roturas a lo largo de los bordes y en el centro (Fejerskov y Thylstrup, 1.989).

1.6.2.- Orificios focales

Son agujeros netamente delimitados, con un diámetro de 10-15 μ y una profundidad que varía entre fracciones de 1 μ y 10 μ , y a veces más. En contraste con el esmalte interprismático circundante, más bien liso, los bordes y las paredes del orificio focal presentan un evidente patrón cristalino. Estos orificios, al igual que los agujeros y grietas existentes en los casquetes del esmalte y que las aberturas de las estrías de Retzius, se hallan ocupados *in vivo* por una proteína del esmalte originada en el curso del desarrollo. Además de los orificios focales, pueden observarse numerosos microporos, de hasta 1 μ de diámetro, en todas las porciones de la superficie del esmalte (Fejerskov y Thylstrup, 1.989).

1.7.- CAMBIOS DEL ESMALTE CON LA EDAD

El cambio más notable y evidente relacionado con la edad que tiene lugar en la estructura del esmalte es la pérdida de tejido debido al uso. Como el esmalte maduro humano es un tejido inerte, no puede ser sustituido por ningún proceso de aposición (Davis, 1.988).

El color de los dientes se hace más oscuro con el paso del tiempo, debido a una intensificación en el color de la dentina, que se ve a través del esmalte translúcido y adelgazado.

Además, el tejido adamantino se hace menos permeable con los años. El esmalte joven se comporta como una membrana semipermeable, permitiendo el lento pasaje de agua y sustancias de pequeño tamaño molecular a través de los poros que existen entre los cristales. Con la edad, los poros disminuyen, y los cristales adquieren más iones y aumentan de tamaño. Debido a que la mayor parte del agua se ubica en los poros, se deduce que el contenido acuoso del esmalte también disminuye con la edad (Eisenmann, 1.986).

2.- ESMALTE BOVINO

Los dientes bovinos tienen muy pocas diferencias tanto a nivel macro como microscópico con respecto a los dientes humanos (Baena y cols., 2.003).

Macroscópicamente, los dientes bovinos son de mayor tamaño que los humanos y, al igual que éstos, presentan una corona y raíz (Fig. 7), siendo los tejidos constituyentes el esmalte, la dentina, la pulpa y el cemento (Puentes y Rincón, 2.003).



Figura 7. Imagen macroscópica de incisivos bovinos. Apreciamos las mismas estructuras anatómicas que en los dientes humanos pero con diferentes proporciones.

Microscópicamente, la unidad básica del esmalte bovino, al igual que en el humano, es el prisma o varilla del esmalte, la cual se crea por las interrelaciones de las direcciones de los cristales. Estas interrelaciones complejas de los cristales dan lugar a características estructurales que se observan tanto en el esmalte bovino como humano, tales como las estrías de Retzius, las estrías transversales y las bandas de Hunter-Schreger, las cuales han sido descritas previamente. (Puentes y Rincón, 2.003).

En los dientes bovinos la unión amelodentinaria corresponde a la dentina que sostiene el esmalte. En ella, al igual que en los dientes humanos, se observa como una serie de festones con extensiones de túbulos dentinarios que algunas veces cruzan el límite y pasan al esmalte, tomando el nombre de husos adamantinos (Puentes y Rincón, 2.003).

En el análisis químico por espectrografía de emisión, los componentes inorgánicos del esmalte humano y bovino son los mismos pero con pequeñas diferencias en la concentración de elementos tales como el Magnesio (5% en esmalte humano y 7% en esmalte bovino), el Plomo (70 partes por millón (ppm) en humano y 50 ppm en bovino), la Plata (5 ppm en humano y 10 ppm en bovino) y el Estroncio (500 ppm en humano y 700 ppm en bovino) (Puentes y Rincón, 2.003).

3.- ACCIÓN DE LOS ÁCIDOS SOBRE EL ESMALTE

Una sustancia ácida es aquella que tiene un pH por debajo del pH neutro, es decir, por debajo de 7, y es tanto más ácida cuando más se acerca a 1.

3.1.- ÁCIDOS UTILIZADOS EN ODONTOLOGÍA

La aplicación de ácidos sobre la superficie dental es una práctica común en odontología. Para conseguir la adhesión de resinas compuestas al diente se utiliza la técnica del grabado ácido, en la que se aplica un ácido sobre el tejido dental de manera controlada. Esta técnica tiene su origen en Buonocore (1.955), quien tras observar el uso de ácidos en la industria para tratar las superficies metálicas y conseguir una mejor adhesión de las pinturas y barnices, propuso aplicar ácido fosfórico sobre el tejido dental para así obtener una superficie porosa y favorecer la retención mecánica de los materiales de restauración (Buonocore, 1.955).

El grabado ácido del esmalte provoca la remoción de la placa bacteriana y otros desechos, junto con la disolución de una fina capa de esmalte. La superficie expuesta del esmalte se hace más porosa debido a la disolución selectiva de los cristales. Esta porosidad aumentada se logra mediante un cambio histológico en el esmalte que provee una mejor superficie de adhesión para los materiales adhesivos y restauradores (Eisenmann, 1.986).

Los efectos conseguidos con el grabado ácido dependen de varios factores como el tipo de ácido, la concentración del mismo, el tiempo de aplicación y la resistencia del esmalte.

3.1.1.- Tipo de ácido

El ácido que se utilizó inicialmente como acondicionador en la técnica de grabado ácido fue el ácido fosfórico, aunque a lo largo del tiempo se ha investigado la aplicación de otros como el ácido nítrico (Gardner y Hobson, 2.001), el maleico (Olsen y cols., 1.997), el Etileno Diamino Tetracético (EDTA), etc.

Sin embargo, no se ha podido demostrar que ninguno de ellos mejore al ácido fosfórico, de forma que en la actualidad éste es el que se emplea en la mayor parte de los sistemas de adhesión a esmalte (García y Kessler, 2.000).

3.1.2.- Concentración del ácido

Asumiendo como agente grabador el ácido fosfórico, se han propuesto diversas concentraciones para éste. Wang y cols. (1.994) concluyeron que con una concentración de ácido fosfórico de entre el 10 y el 30% se consiguen fuerzas de adhesión adecuadas con una mínima destrucción del esmalte. Zidan y Hill (1.986) encontraron que el rango de mayor pérdida de tejido adamantino se consigue con concentraciones de ácido fosfórico de entre el 20 y el 50%, a la vez que indicaban que desde un punto de vista biológico es preferible usar la concentración más baja que asegure una buena adhesión clínica. Hoy día se considera que la concentración ideal de ácido fosfórico es del 35 al 37% (García y Kessler, 2.000).

3.1.3.- Tiempo de aplicación del ácido

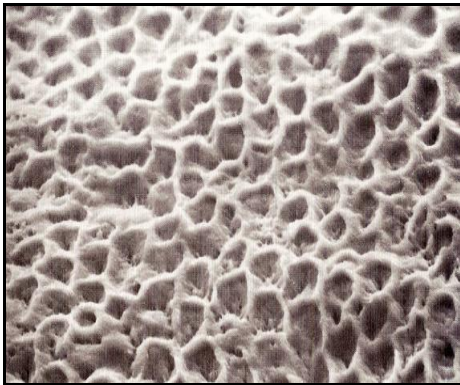
El tiempo de grabado ácido se ha ido disminuyendo con el paso del tiempo a la vista de la publicación de numerosos artículos donde se encontraron resultados favorables para tiempos de grabado muy bajos. En un estudio en el que se utilizó el MEB, no se encontraron diferencias significativas entre los patrones de grabado ácido producidos con la aplicación de ácido fosfórico al 37% durante 15 y 60 segundos (Barkmeier, Shaffer y Gwinnett, 1.986). Además, otros autores también publicaron fuerzas de adhesión adecuadas para tiempos de grabado de 15 segundos (Wang y cols., 1.994).

3.1.4.- Resistencia del esmalte

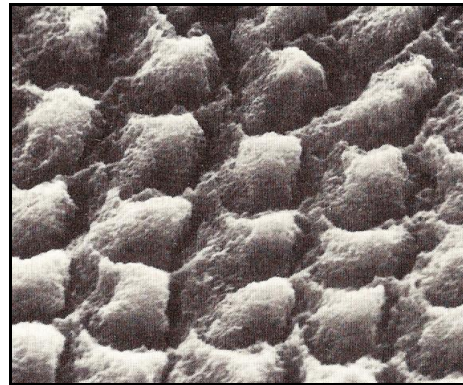
Una superficie de esmalte intacta suele ser más resistente al grabado que una superficie de esmalte tallado, ya que en la primera el esmalte es aprismático y además con frecuencia tiene un mayor contenido en flúor (García y Kessler, 2.000).

3.1.5.- Morfología del esmalte grabado

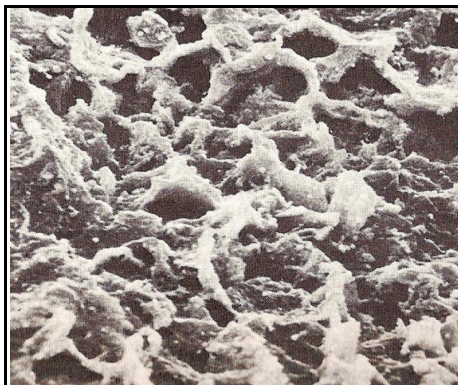
Silverstone y cols. (1.975) describieron tres patrones de grabado ácido observables mediante MEB. El tipo 1 se corresponde con una disolución de la parte central de los prismas, permaneciendo intacta la periferia. En el tipo 2 se produce la remoción de la periferia, quedando intactos los centros. Y en el tipo 3 hay una erosión generalizada, donde se pierde la morfología prismática (Fig. 8) (Silverstone y cols., 1.975).



Patrón I (Gómez y Campos, 2.002).



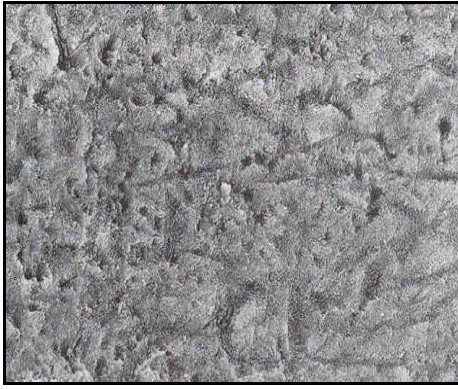
Patrón II (Eisenmann, 1.986).



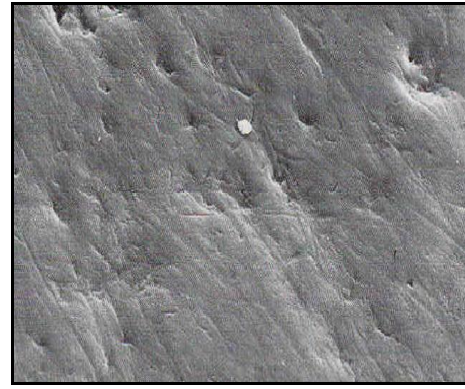
Patrón III (Eisenmann, 1.986).

Figura 8. Patrones de grabado ácido del esmalte I, II y III.

Posteriormente, Galil y Wright (1.979) describieron otros dos patrones morfológicos de grabado ácido. En el patrón 4 se aprecia sobre el esmalte una superficie con hoyos y el patrón 5 se caracteriza por una superficie plana y lisa tras el grabado ácido (Fig. 9).



Patrón IV.



Patrón V.

Figura 9. Patrones de grabado ácido del esmalte IV y V (Cehreli y Altay, 2000).

La producción de los diferentes patrones no está claramente explicada, aunque se relaciona con variaciones en la composición química de los prismas (Gómez y Campos, 2002). Otros autores lo relacionan con la diferente orientación de los cristales de los prismas, en incluso hay evidencias de que el tipo de patrón de grabado también depende de la naturaleza del agente acondicionador (Eisenmann, 1986).

3.2.- ACCIÓN DE LOS ÁCIDOS DE LA DIETA

La desmineralización se define como la pérdida de tejido calcificado. Ésta ocurre cuando los iones calcio y fosfato se desprenden del esmalte (Dinçer, Hazar y Sen, 2002). Según Steffen (1996) se acepta la interdependencia entre bacterias, azúcar, esmalte y tiempo en la etiología de la caries, pero existen otros factores que pueden predisponer a un incremento del riesgo de descalcificación del esmalte. Entre estos factores encontramos una pobre higiene oral, las restauraciones desbordantes y la composición ácida de la dieta.

Los primeros estudios sobre la erosión dental y su relación con la dieta y las bebidas fueron realizados por Darby en 1892 y Millar en 1907 (West y cols., 1998). Los ácidos juegan un papel crítico en los procesos de descalcificación. La mayoría de las bebidas refrescantes poseen algún tipo de ácido cuyo pH suele estar por debajo del límite crítico del inicio de los procesos de desmineralización del esmalte, es decir, pH inferior a 5,5. (Dinçer, Hazar y Sen, 2002).

3.2.1.- Bebidas Refrescantes

La campaña antialcohólica de finales del siglo XIX en el Reino Unido proporcionó el estímulo principal para el desarrollo de las industrias de bebidas refrescantes, las cuales crecieron hasta alcanzar un gran tamaño. Antes de la aparición de éstas, los refrescos existentes se formulaban a base de agua, leche, zumo de manzana y cerveza (Tahmassebi y cols., 2.006).

El término bebidas refrescantes está abierto a diversas interpretaciones. En su más amplia acepción engloba a todas las bebidas destinadas al consumo humano a excepción de las bebidas con alcohol, pero en su uso corriente se excluyen normalmente el agua, el zumo de frutas, el té, el café, y las bebidas que incorporan leche. Pueden ser bebidas carbonatadas o no carbonatadas (Varnam y Sutherland, 1.997). Los refrescos carbonatados son potencialmente más erosivos que los no carbonatados, porque contienen ácido carbónico (Oncag, Tuncer y Tosun, 2.005).

Respecto a los ingredientes de las bebidas refrescantes carbonatadas, cabe destacar el agua como componente mayoritario, suponiendo el 90% del total. Además, poseen dióxido de carbono y un jarabe en el que se incluyen los componentes que darán las características al refresco. El jarabe consta de aromatizantes, azúcares, acidulantes, colorantes, conservantes, antioxidantes, emulsionantes, estabilizantes, espesantes y espumantes. Entre éstos, tanto los acidulantes como los conservantes presentan un carácter ácido (Varnam y Sutherland, 1.997).

Los refrescos carbonatados se diferencian de los no carbonatados en que contienen ácido carbónico, responsable de una viveza adicional en el cuerpo, el sabor y el “picor” que distingue a estos refrescos. Incluso cuando este ácido se ha perdido y las bebidas se quedan sin “gas”, el pH permanece bajo, lo que indica que estas bebidas contienen una acidez inherente debida a otros ácidos que se añaden como estimulantes del sabor. Además, algunos aditivos, tales como la vitamina C (ácido ascórbico) también puede contribuir a la acidez de las bebidas refrescantes (Tahmassebi y cols., 2.006).

Los acidulantes tienen una importancia considerable para determinar la calidad sensorial de los refrescos. Los principales acidulantes usados en la formulación de los refrescos son: el ácido acético, ascórbico, cítrico, fumárico, láctico, málico, fosfórico y tartárico.

Entre éstos, los más frecuentemente utilizados son:

Ácido cítrico: Presenta un carácter frutal muy apreciado en los refrescos de frutas. Es el más usado en la actualidad.

Ácido fosfórico: Le caracteriza su sabor “plano y seco”, el cual es apropiado para bebidas sin frutas, particularmente en colas. Es un ácido muy corrosivo.

Ácido maleico: Presenta un sabor y aroma frutal más acusado que el ácido cítrico. Es muy usado en bebidas para deportistas (Varnam y Sutherland, 1.997).

Los refrescos que contienen ácido cítrico producen unas bajadas de los niveles de pH mayores, mientras que las lesiones erosivas más profundas son producidas por las bebidas que contienen ácido fosfórico. Por otro lado, el ácido maleico, contenido en la mayoría de bebidas para deportistas, ha demostrado ser menos erosivo que el cítrico (Meurman y Frank, 1.991, b).

Los acidulantes, además, poseen un efecto antimicrobiano. El grado de esta inhibición bacteriana depende de la naturaleza del acidulante y se produce por el bajo pH de estas sustancias.

Respecto a los conservantes, son necesarios para prevenir la aparición de alteraciones en los periodos prolongados de almacenamiento a temperatura ambiente.

Los principales conservantes usados en la formulación de refrescos son:

Ácido benzoico y benzoatos: Mas activos a valores de pH inferiores a 3. Eficaz frente a un amplio rango de microorganismos.

Parabenes: Más eficaces que el ácido benzoico a valores de pH superiores a 3.

Ácido sórbico y sorbatos: Eficaz a valores bajos de pH.

Dióxido de azufre: Efectivo a pH inferior a 4. (Varnam y Sutherland, 1.997)

No hay duda de que la composición química de una bebida refrescante es importante con respecto al grado de erosión dental que produce (Meurman y Frank, 1.991, b). Tradicionalmente se ha pensado que la acidez, la medida del pH, es un indicador preciso

del potencial desmineralizante de los alimentos o de las bebidas (Tahmassebi y cols., 2.006).

Muchos han sido los autores que a lo largo de la historia se han interesado por el efecto de las bebidas refrescantes sobre la estructura dental, ya que el consumo de éstas ha sido tradicionalmente considerado como uno de los riesgos más importante en la erosión dental (Jensdottir, Bardow y Holbrook, 2.005). Rytömaa y cols. (1.988) establecieron una de las primeras listas de bebidas refrescantes con su pH y el tipo de ácido que contenían (Tabla 1).

Tabla 1. Medida del pH y el tipo de ácido de algunas bebidas refrescantes (Rytömaa y cols., 1.988).

| Bebida | pH | Tipo de ácido |
|---------------------|-----------|----------------------|
| Coca-Cola® | 2,57 | Fosfórico |
| Coca-Cola® Light | 3,15 | Fosfórico |
| Fanta® Naranja | 2,96 | Cítrico |
| Zumo Naranja | 3,64 | Cítrico |
| Bebidas Deportistas | 3,12 | Maleico |
| Yogurt Fresa | 3,81 | Láctico |

Posteriormente, otros autores evaluaron el pH y el tipo de ácido de otras bebidas como Sprite®, que tiene un pH de 2,90 y contiene ácido cítrico (Oncag, Tuncer y Tosun, 2.005). Dinçer, Hazar y Sen (2.002) determinaron en el agua mineral con gas un pH de 2,85 y la presencia de ácido carbónico. Mientras que en Guaraná® Antártica, Grandó y cols. (1.996) midieron un pH de 3,30 y determinaron la existencia de ácido cítrico.

3.2.2.- Bebidas refrescantes bajas en calorías

Debido al interés por parte de la población en el peso y la necesidad de estar delgado, surgieron las bebidas bajas en calorías, que usan azúcares artificiales para reducir el contenido calórico.

Estas bebidas tienen un potencial erosivo similar al de las bebidas refrescantes convencionales, pero además, debido al bajo contenido calórico que poseen, son consumidas con una elevada frecuencia, por lo que pueden considerarse agentes lesivos muy importantes (Tahmassebi y cols., 2.006).

3.2.3.- Consumo de las Bebidas Refrescantes

Es indudable que en la actualidad existe un aumento creciente de la demanda y consumo de bebidas refrescantes por parte de la población (West, Hughes y Addy, 2.000).

Los refrescos se consumen mayoritariamente por gente joven, a esto hay que añadir que los niños de entre 2 y 9 años consumen el 42 % del total de los zumos de fruta. Lamentablemente, los refrescos y zumos destinados a los más pequeños han demostrado provocar una extrema destrucción dental cuando se abusa de ellos (Hunter y cols., 2.000). Además, diferentes estudios corroboran que el esmalte inmaduro es poroso y más fácil de disolver por el ataque ácido. El proceso de maduración se prolonga por muchos años, por lo que los dientes de los niños se erosionan con más facilidad que los dientes de personas adultas (Tahmassebi y cols., 2.006).

En la publicación “La Alimentación en España” que el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación emite anualmente, se indica que en 2.004 cada persona del país bebió 66 litros de bebidas refrescantes, con un aumento del 2,5% respecto al consumo en 2.003, consumiéndose un total de 2.787 millones de litros de estas bebidas. Estas cifras traducidas en gasto económico, indican que en 2.004 se gastó un total de 2.876 millones de euros en estas bebidas, un 7,8% más que en el año anterior. Dentro del grupo de bebidas refrescantes, la que más se consumió fue el refresco de cola, con un 52% respecto del total, seguido del sabor naranja (20%) y el de limón (13%) (MAPA, 2.004). Otra publicación afirmaba que en los países desarrollados, Coca-Cola® ocupa el mayor segmento de dentro de las bebidas carbonatadas (50%), seguido de limón (22%) y de naranja (7%) (Oncag, Tuncer y Tosun, 2.005).

OBJETIVOS

- 1.- Medir el pH de diferentes bebidas refrescantes.
- 2.- Evaluar mediante MEB los efectos de Coca-Cola[®] y Schweppes[®] Limón sobre el esmalte bovino intacto.
- 3.- Evaluar mediante MEB los efectos de Coca-Cola[®] y Schweppes[®] Limón sobre el esmalte bovino grabado y sellado con una resina.

MATERIAL Y MÉTODO

1.- DIENTES

Se utilizaron 108 incisivos inferiores temporales bovinos extraídos de vacas de entre 12 y 18 meses. Las vacas fueron sacrificadas 1 día antes de las extracciones por motivos ajenos a este estudio. Las exodoncias se realizaron con la precaución de no tocar la superficie vestibular de los dientes.

Tras realizar las exodoncias, los dientes fueron sumergidos en agua destilada. Seguidamente se procedió a la remoción de todos los restos orgánicos adheridos a la superficie radicular de los dientes y se sumergieron en timol al 0,1% durante 24 horas para evitar el crecimiento bacteriano. Pasadas las 24 horas, los dientes se almacenaron en agua destilada que se cambió 1 vez al día, con el fin de minimizar el deterioro hasta el momento de su uso.

2.- MEDICIÓN DEL pH DE DIFERENTES BEBIDAS REFRESCANTES

Las mediciones se realizaron con un pH-metro (Schott[®]. Mainz, Germany) en los laboratorios del Servicio de Apoyo a las Ciencias Experimentales (S.A.C.E., Universidad de Murcia), realizando 3 mediciones para cada bebida y obteniendo el valor medio.

3.- PREPARACIÓN DE ESPECÍMENES Y PROTOCOLO

Los especímenes se repartieron aleatoriamente en dos grupos: control y experimental (Fig. 10). La superficie vestibular de los dientes se pulió con cepillo y pasta de pulir sin flúor (Détartrine[®], Septodont. Saint-Maur, France).

► El grupo control constaba de 36 dientes, y se subdividía en:

- a) Esmalte intacto (n= 18).
- b) Esmalte grabado-Transbond XT (n= 18): Se grabó el esmalte con ácido ortofosfórico al 37% durante 30 segundos (Total Etch[®], Ivoclar, Vivadent. Schaan, Liechtenstein), se lavó con abundante agua y se secó con la pistola del

equipo dental. Posteriormente se aplicó el agente adhesivo del sistema ortodóncico de resina Transbond XT (Transbond XT[®], 3M Unitek Dental Products, Monrovia, Calif.) y se polimerizó 20 segundos (3M[®] ESPE, modelo Elipar[®] 2.500, Monrovia, Calif.).

Los dientes del grupo control se sumergieron 15 días en saliva artificial, cambiando la misma 1 vez al día.

La saliva artificial se formuló con la siguiente composición: 400 mg NaCl, 1.210 mg KCl, 780 mg NaH₂PO₄·2H₂O, 5 mg Na₂S·9H₂O, 1.000mg CO(NH₂)₂, y 1.000 ml de agua destilada. Posteriormente se le añadió 10N de hidróxido sódico a la mezcla hasta conseguir un pH de 6,75 +/- 0,15. (Oncag, Tuncer y Tosun, 2.005). Las medidas del pH se realizaron con un pH-metro electrónico (Schott[®], Mainz, Germany).

► El grupo experimental (n= 72) se dividió en 2 subgrupos, que a su vez se subdividieron de la siguiente manera:

1.- Coca-Cola[®] (n= 36):

a) Esmalte intacto (n= 18).

b) Esmalte grabado-Transbond XT (n= 18): Se siguió el mismo procedimiento adhesivo que en el grupo control.

2.- Schweppes[®] Limón (n= 36):

a) Esmalte intacto (n= 18).

b) Esmalte grabado-Transbond XT (n= 18): Se siguió el mismo procedimiento adhesivo que en el grupo control.

Los dientes del grupo experimental se sumergieron en Coca-Cola[®] (The Coca-Cola Company. Madrid) o Schweppes[®] Limón (Bebidas de España S. A. Madrid) siguiendo los siguientes ciclos de inmersión: Asumiendo que una persona puede consumir este tipo de bebidas 3 veces al día y que el periodo de consumición podría ser de 15 minutos, los dientes estuvieron sumergidos en las bebidas durante 15 minutos y luego en saliva artificial durante 2 horas. Este procedimiento se repitió 3 veces al día durante 15 días. Los dientes permanecieron en saliva artificial el resto del tiempo (Fig. 11).

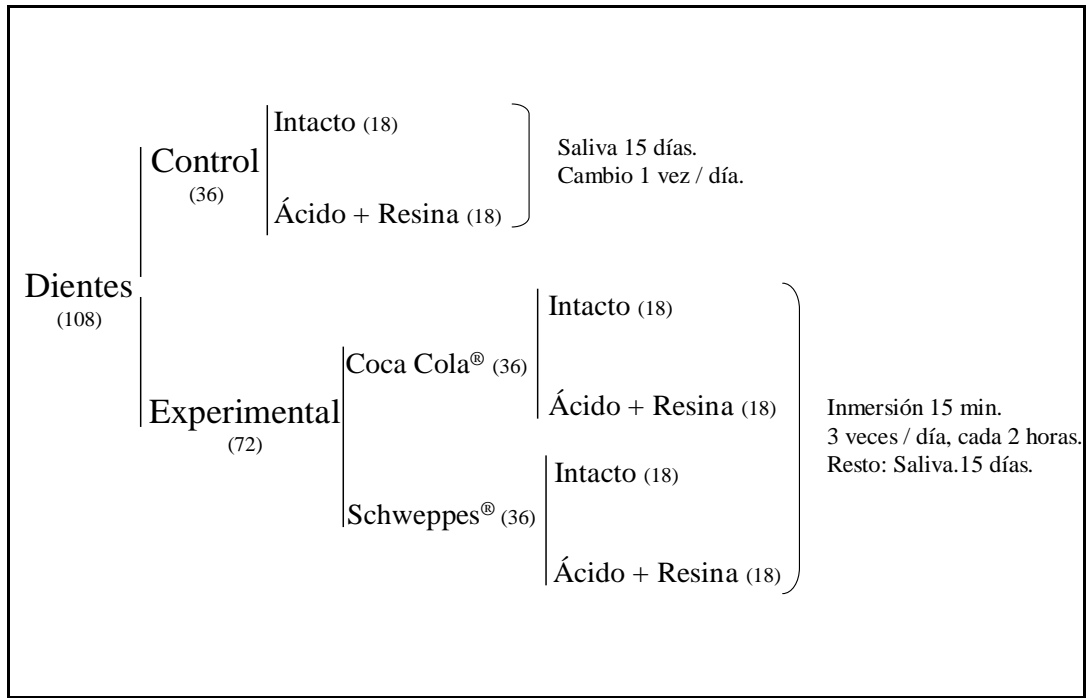


Figura 10. Distribución de los dientes en los grupos.

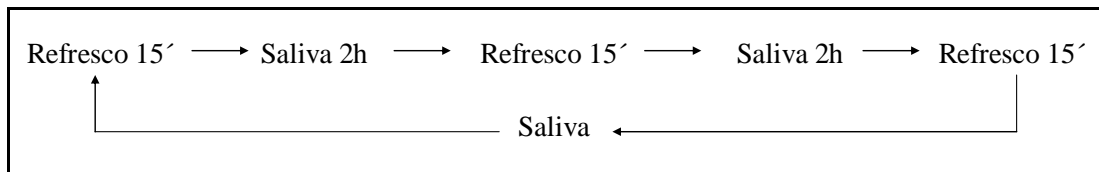


Figura 11. Ciclos de inmersión del grupo experimental.

Después de cada inmersión en la bebida refrescante, los dientes eran pulverizados con agua destilada para limpiarlos. La cara vestibular de los dientes siempre estuvo colocada hacia arriba.

Tanto Coca-Cola® como Schweppes® Limón procedían cada vez de una lata nueva, que se mantenía refrigerada a 5 °C. La saliva artificial permaneció a temperatura ambiente en todo momento.

4.- MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO

Transcurridos los 15 días del proceso, se lavaron los dientes con abundante agua destilada, se cortaron las raíces con un disco de diamante (Horico[®]. Berlin, Germany) y pieza de mano y se secaron con aire del equipo dental.

Posteriormente, se colocaron las coronas de los dientes sobre unas pletinas con la cara vestibular hacia arriba, se limpiaron con un pincel y aire a presión para eliminar los posibles residuos y fueron metalizadas con una fina capa de oro, mediante una metalizadora eléctrica (SEM Coating System. BIO-RAD. Polaron Division), para poder ser observadas al MEB (JEOL Scanning microscope. JSM-6.100. Tokyo, Japan.), a 20 KV. Se capturaron imágenes digitalmente con una magnificación de 50, 100, 500 y 1.000 aumentos para su posterior análisis.

RESULTADOS

1.- VALORES DEL pH OBTENIDOS PARA LAS DISTINTAS BEBIDAS

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos de las mediciones del pH de las diferentes bebidas evaluadas.

Tabla 2. pH de las bebidas evaluadas.

| Bebida | pH |
|------------------------------------|------|
| Coca-Cola [®] | 2,40 |
| Fanta [®] Naranja | 3,01 |
| Fanta [®] Limón | 2,57 |
| Sprite [®] | 2,65 |
| Schweppes [®] Limón | 2,55 |
| Red Bull [®] Energy drink | 3,22 |

2.- DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE LAS IMÁGENES

2.1.- Grupo control

Los dientes con esmalte intacto que fueron sumergidos en saliva artificial no sufrieron erosión. En las imágenes a 50, 100, 500 y 1.000 aumentos se observó una superficie de esmalte inafectada, con las características morfológicas típicas del esmalte superficial, como son las periquimatías, líneas de imbricación de Pickerill, ranuras, surcos, etc. (Fig. 12, 13, 14 y 15).

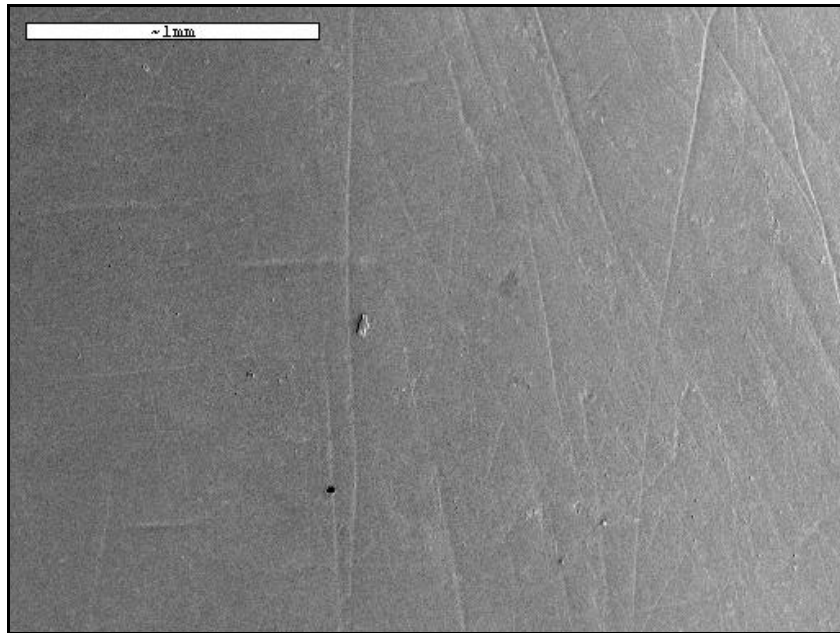


Figura 12. Imagen de MEB del grupo control con esmalte intacto x 50.



Figura 13. Imagen de MEB del grupo control con esmalte intacto x 100.

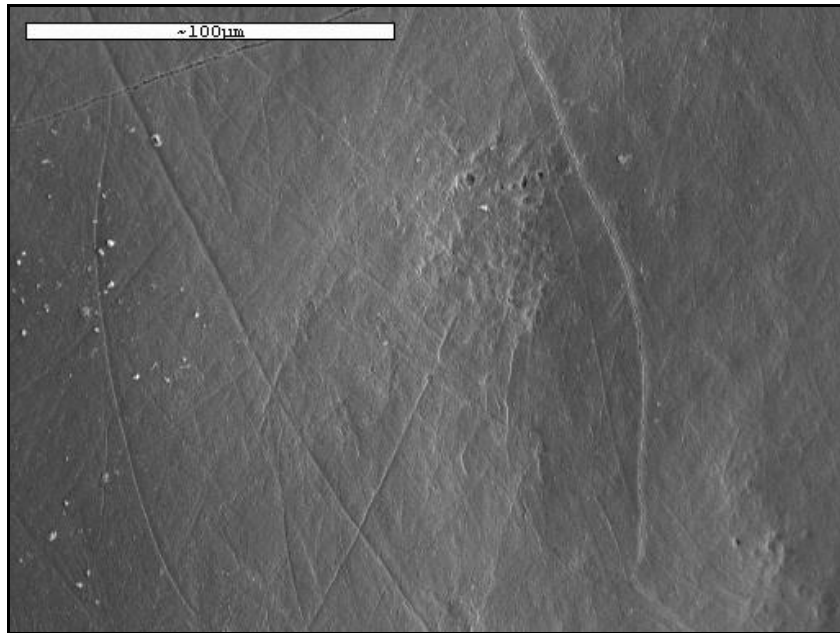


Figura 14. Imagen de MEB del grupo control con esmalte intacto x 500.

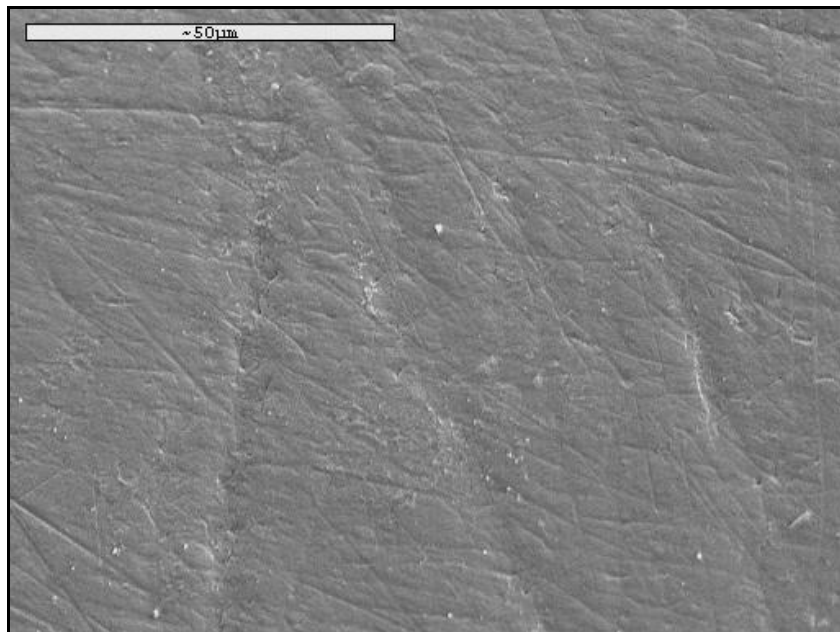


Figura 15. Imagen de MEB del grupo control con esmalte intacto x 1.000.

En los especímenes grabados y sellados con la resina no se observó en ninguno de ellos la pérdida de la misma. Todas las superficies vestibulares quedaron protegidas por el material adhesivo al finalizar los ciclos de inmersión en saliva artificial (Fig. 16, 17, 18 y 19).

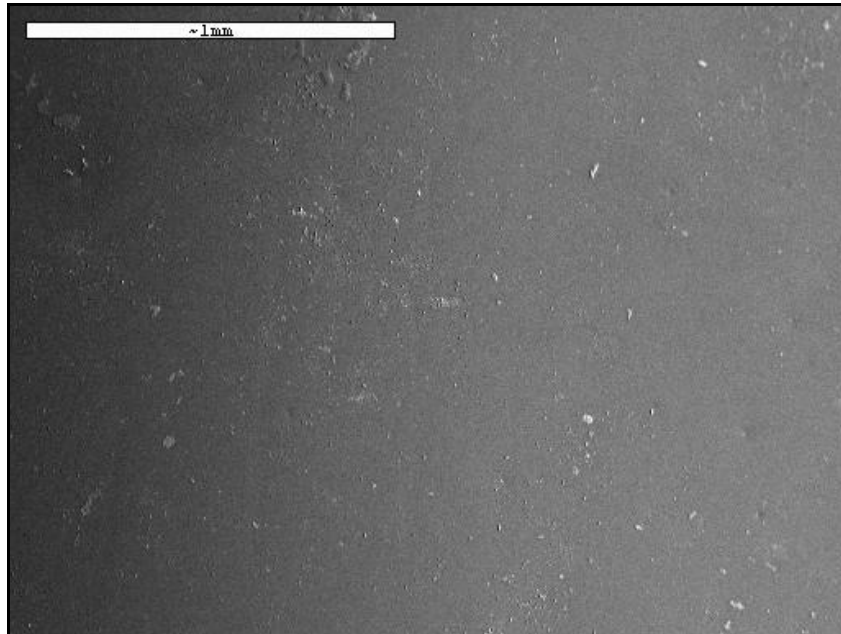


Figura 16. Imagen de MEB del grupo control con esmalte grabado y sellado x 50.

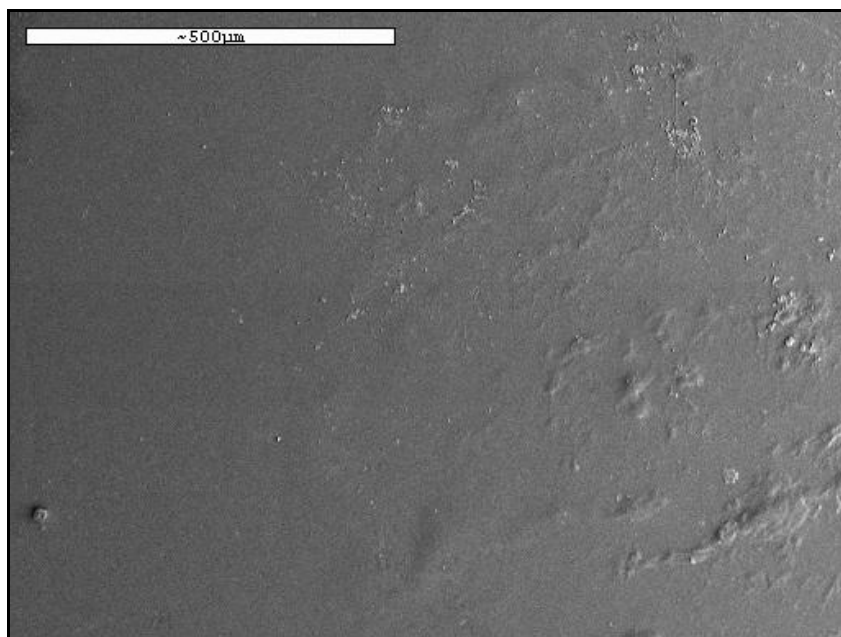


Figura 17. Imagen de MEB del grupo control con esmalte grabado y sellado x 100.

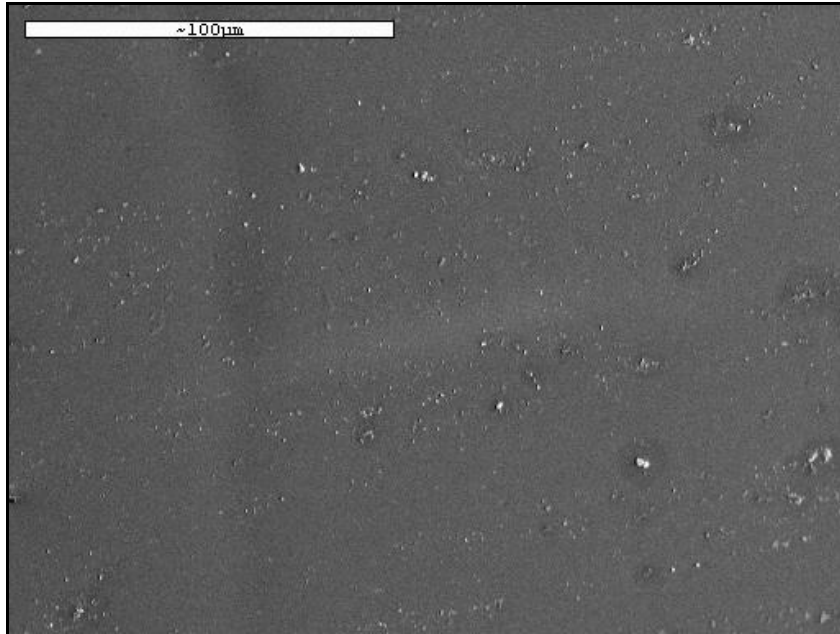


Figura 18. Imagen de MEB del grupo control con esmalte grabado y sellado x 500.

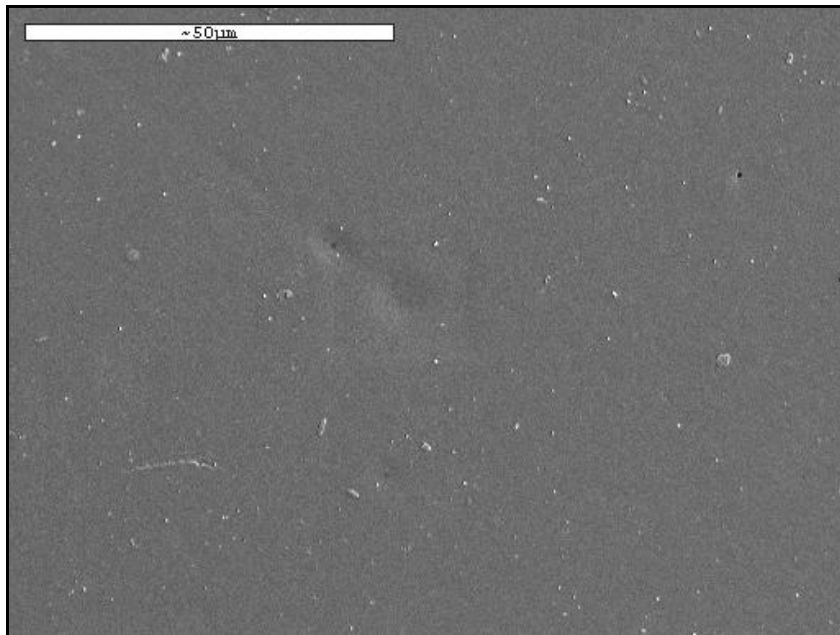


Figura 19. Imagen de MEB del grupo control con esmalte grabado y sellado x 1.000.

2.2.- Grupo Coca-Cola®

Cuando los especímenes con el esmalte vestibular intacto fueron sumergidos en Coca-Cola® y se examinaron mediante MEB, se observaron patrones de destrucción del esmalte muy severos extendidos por toda la superficie vestibular.

En imágenes a 50 aumentos ya se podía apreciar una erosión generalizada de prácticamente toda la superficie (Fig. 20). A 100 y 500 aumentos se observaba con mayor claridad el grado de desmineralización producido (Fig. 21 y 22) y con una magnificación de 1.000, se obtuvieron imágenes similares a un patrón de grabado ácido tipo I, caracterizado por la destrucción de las cabezas de los prismas, permaneciendo intacta la periferia (Fig. 23).

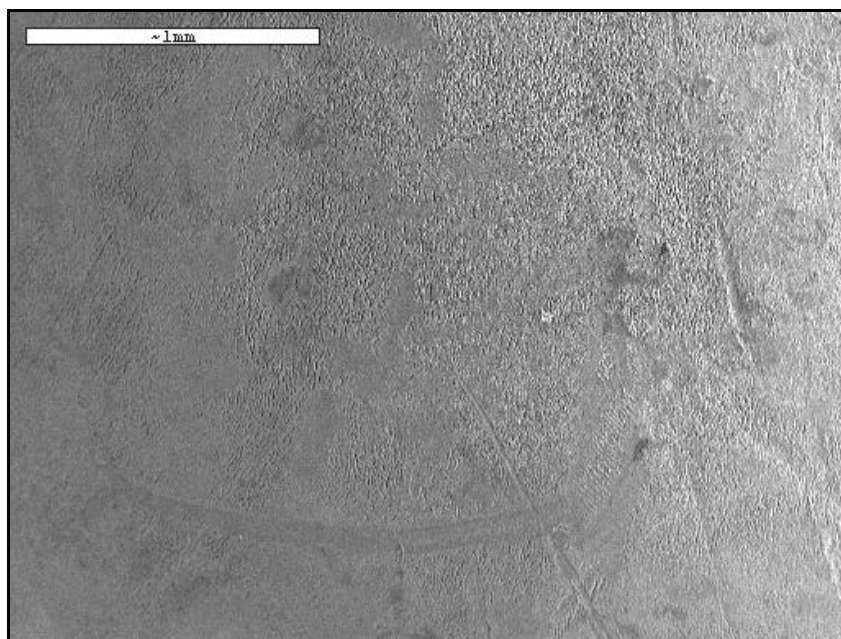


Figura 20. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola® con esmalte intacto x 50.



Figura 21. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola® con esmalte intacto x 100.

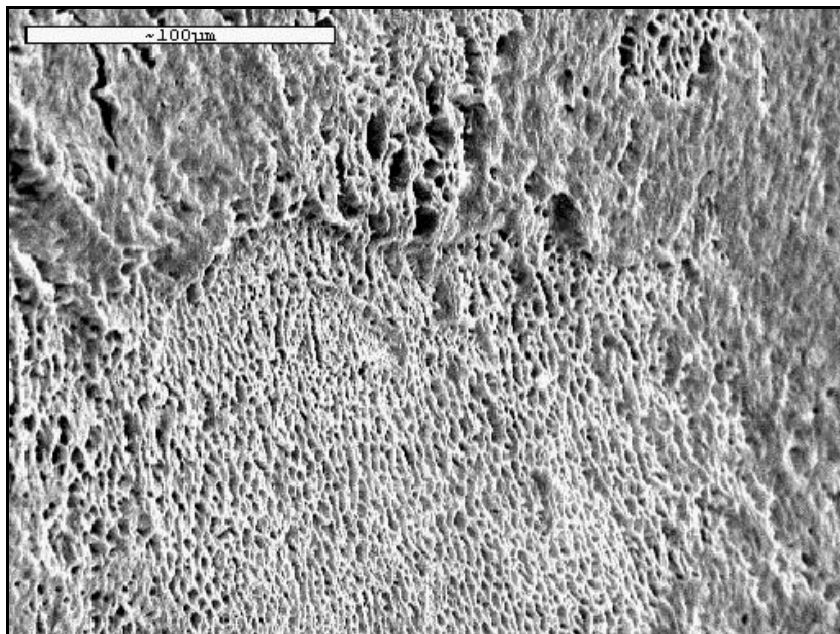


Figura 22. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola® con esmalte intacto x 500.

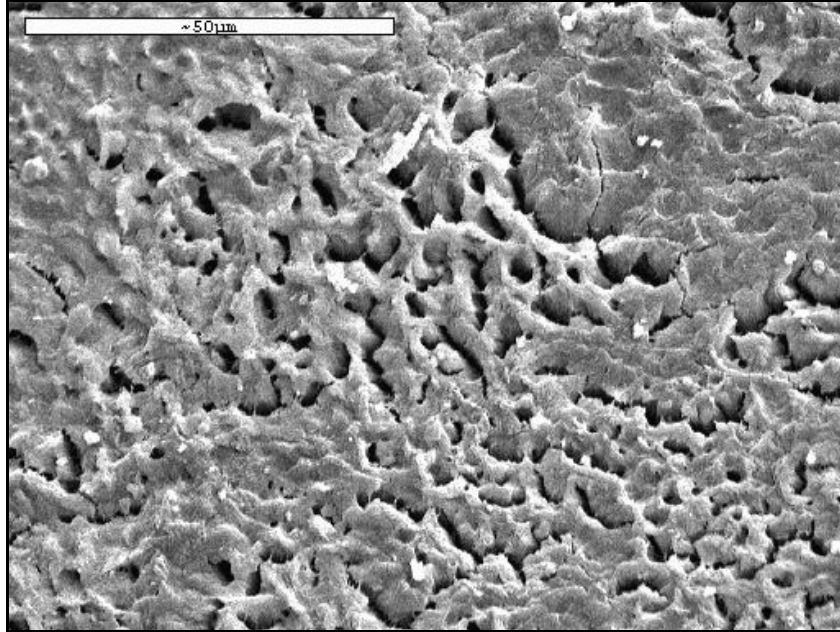


Figura 23. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola[®] con esmalte intacto x 1.000.

En los dientes que fueron grabados y sellados con una resina se observaron grandes áreas desprovistas de ésta con la exposición del esmalte grabado subyacente. En imágenes a 50 aumentos ya era evidente como la pérdida del material adhesivo se producía de forma homogénea por toda la superficie (Fig. 24). A 100 aumentos se observó con mayor claridad la disolución del material adhesivo (Fig. 25).

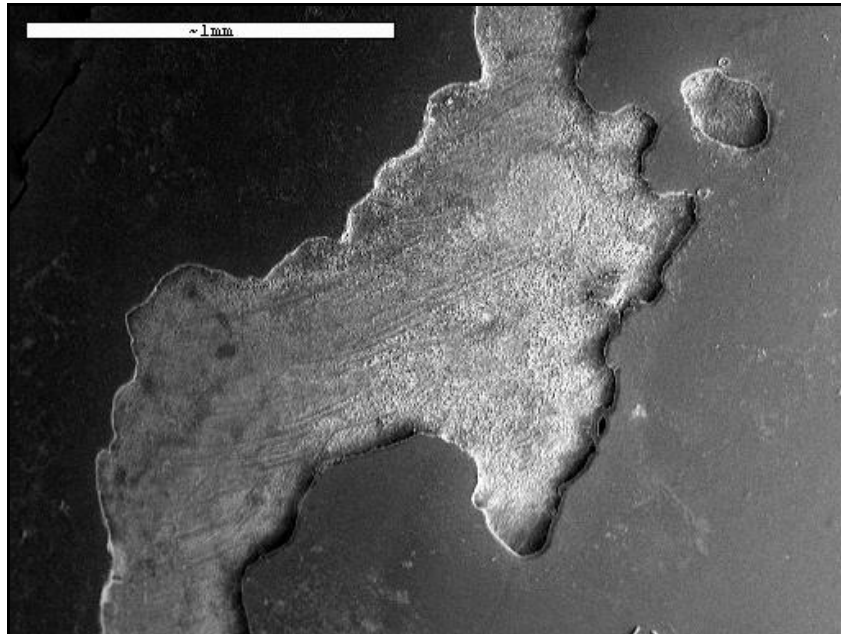


Figura 24. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola® con esmalte grabado y sellado x 50.

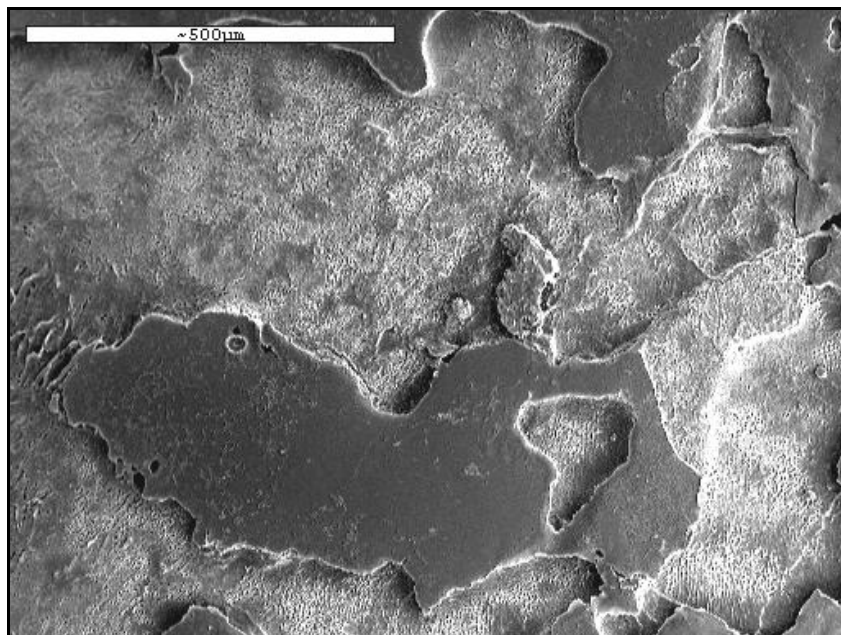


Figura 25. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola® con esmalte grabado y sellado x 100.

A 500 y 1.000 aumentos se apreciaba al detalle la interfase entre la resina y el esmalte grabado subyacente, quedando un “escalón” entre ambos. En las áreas de esmalte expuesto tras la pérdida de la resina no se apreciaban restos de material adhesivo, quedando el tejido en estas zonas expuesto en su totalidad (Fig. 26). Además, en imágenes a 1.000 aumentos se pudieron observar erosiones en la resina que no fue desprendida (Fig. 27).

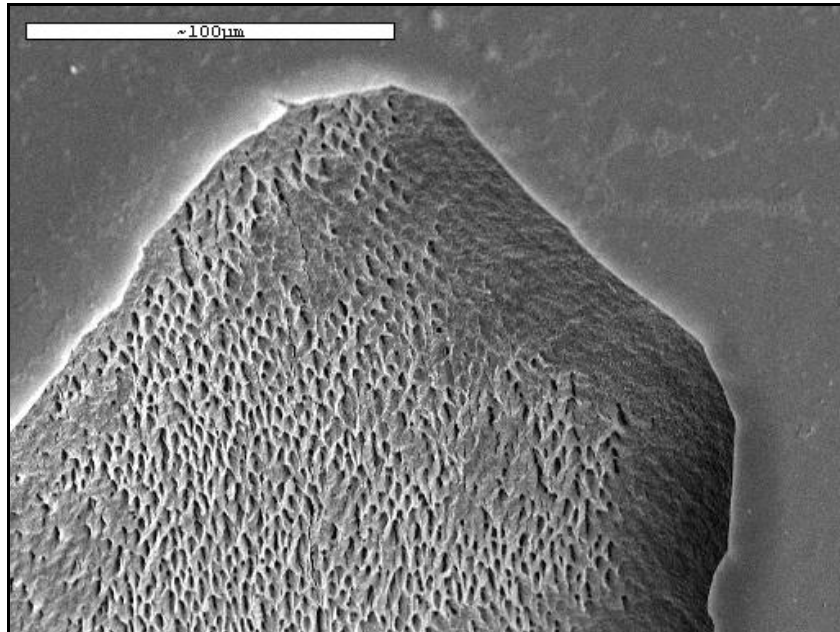


Figura 26. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola® con esmalte grabado y sellado x 500.

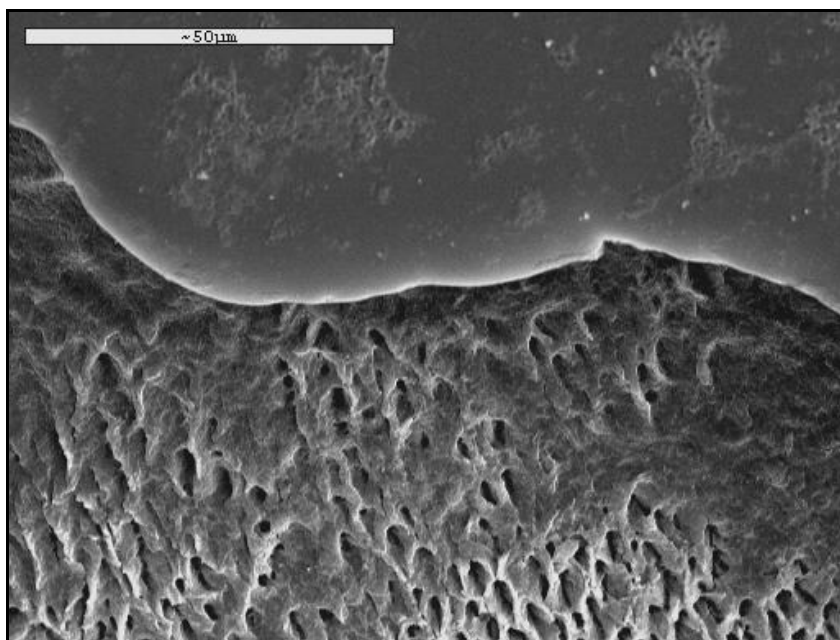


Figura 27. Imagen de MEB del grupo Coca-Cola® con esmalte grabado y sellado x 1.000.

2.3.- Grupo Schweppes® Limón

Tras las inmersiones de los dientes con el esmalte vestibular intacto en Schweppes® Limón se observó una superficie vestibular erosionada, que se hacía evidente a 50 aumentos, pero con un patrón de pérdida de tejido no tan severo como el producido para los dientes del grupo Coca-Cola® (Fig. 28). A 100 aumentos, la descalcificación producida se presentaba en el esmalte como grietas longitudinales (Fig. 29).

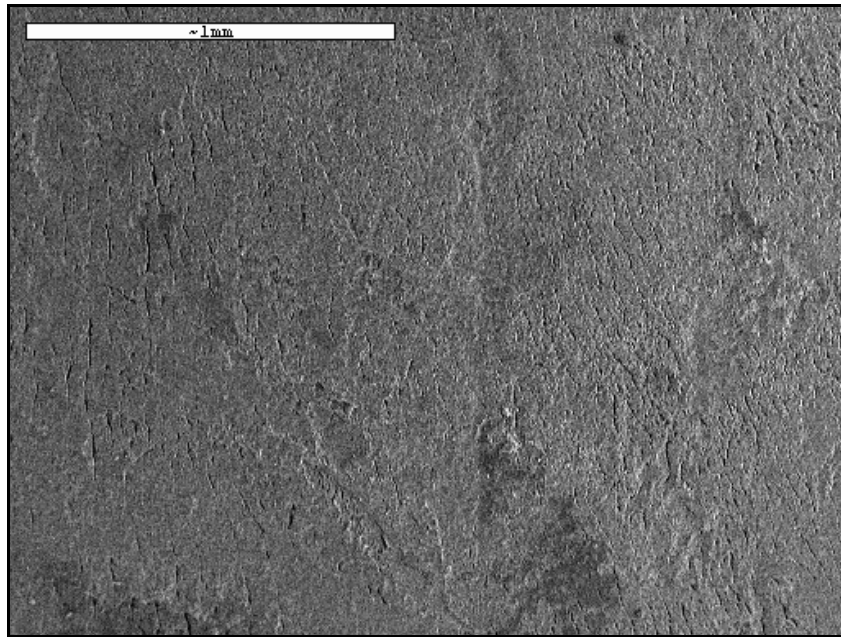


Figura 28. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte intacto x 50.

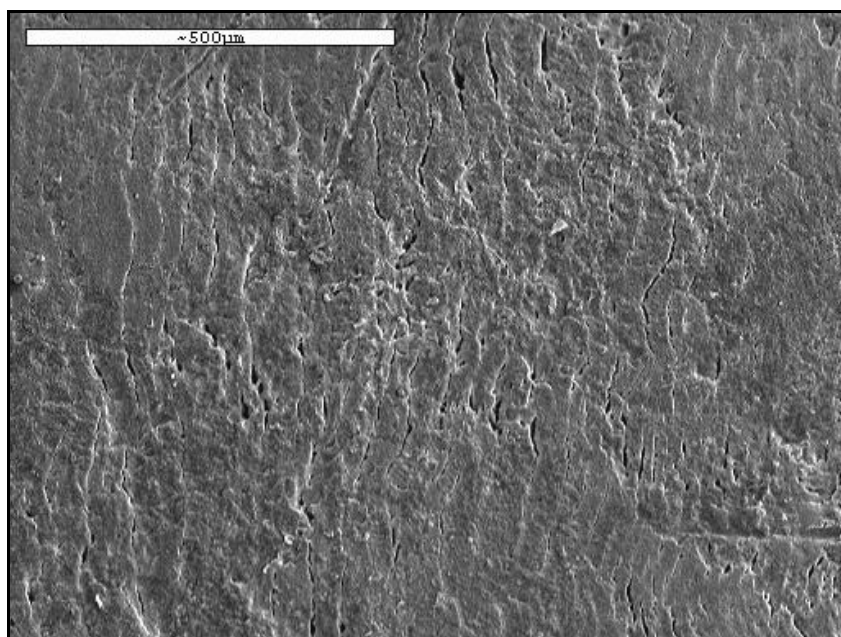


Figura 29. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte intacto x 100.

A 500 y 1.000 aumentos en ocasiones se observaba una mayor erosión, volviendo a recordar al esmalte grabado patrón tipo I, aunque las imágenes obtenidas no fueron tan devastadoras ni se repetían con tanta frecuencia como las del grupo Coca-Cola® (Fig. 30 y 31).

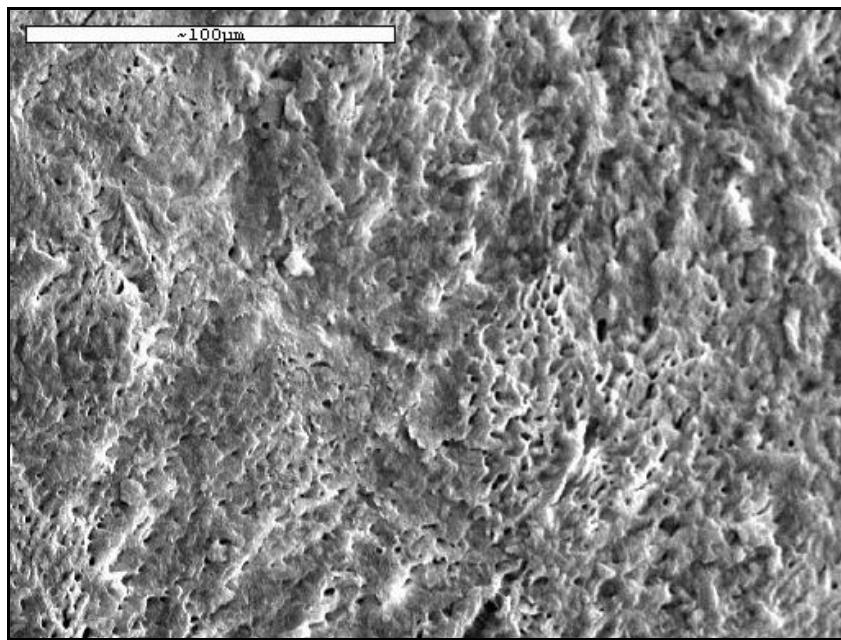


Figura 30. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte intacto x 500.

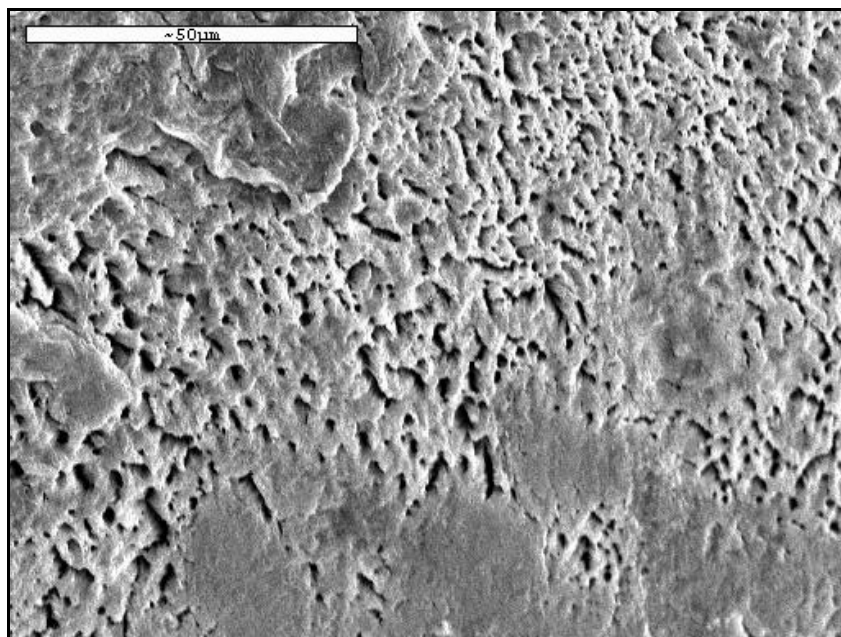


Figura 31. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte intacto a x 1.000.

En los especímenes grabados y sellados con la resina se observaban pérdidas aisladas del material adhesivo, aunque predominaban las áreas no afectadas y cubiertas por resina. A 50 y 100 aumentos, se visualizaba gran parte de la superficie vestibular, y se apreciaban pérdidas de resina mínimas (Fig. 32 y 33).

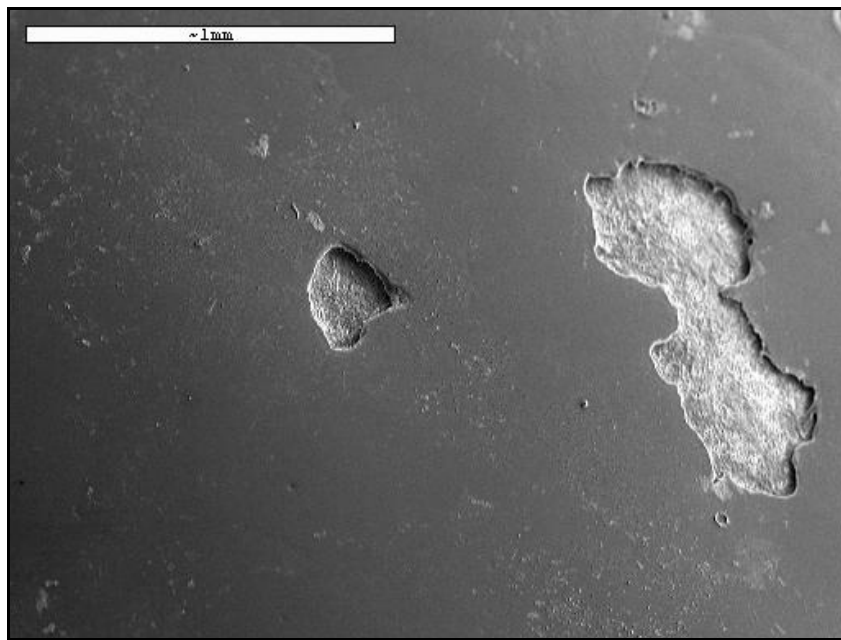


Figura 32. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte grabado y sellado x 50.

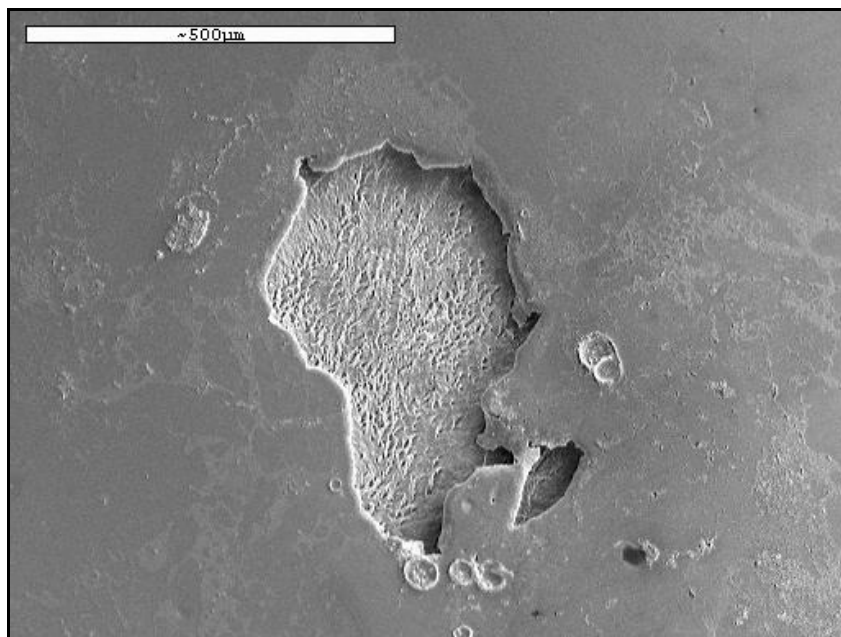


Figura 33. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte grabado y sellado x 100.

En las regiones donde se desprendió la resina vimos como la remoción de la misma no fue completa, es decir, a pesar de haber sido eliminada la mayor parte de ésta, en muchas ocasiones se veía como aún quedaban restos del material adhesivo fijados a la superficie más próxima del esmalte, por lo que éste no siempre quedaba expuesto, como se aprecia en la imagen a 500 aumentos (Fig. 34). En imágenes a 1.000 aumentos de las zonas donde no se había desprendido el material adhesivo, pudimos observar pequeñas erosiones generalizadas de la capa de resina (Fig. 35).

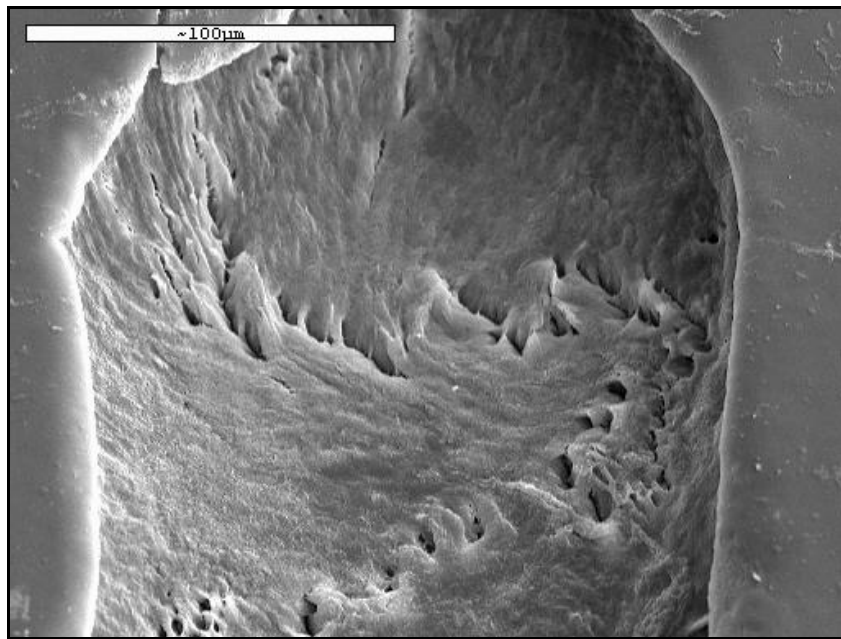


Figura 34. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte grabado y sellado x 500.

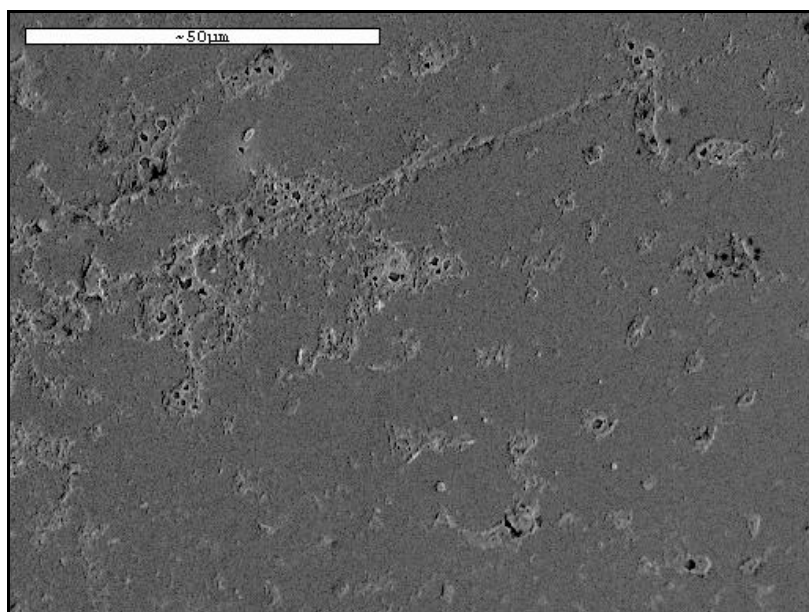


Figura 35. Imagen de MEB del grupo Schweppes® Limón con esmalte grabado y sellado x 1.000.

DISCUSIÓN

En las últimas décadas se ha producido un sorprendente aumento en el consumo de bebidas refrescantes. El Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación determinó que en el año 2.004 cada persona del país bebió 66 litros de bebidas refrescantes, con un aumento del 2,5% respecto a la ingesta en 2.003 (MAPA, 2.004).

Si analizamos los datos de países como el Reino Unido, las cifras son aún más desalentadoras. Shaw y Smith (1.994) determinaron que el consumo de refrescos se había incrementado dramáticamente desde 1.950. En ese año se vendieron en el Reino Unido 1.000 millones de litros de refrescos. En 1.990, esta cifra se había incrementado 7 veces y la tendencia no indicaba un descenso. West, Hughes y Addy (2.001) indicaron que en el año 1.996 en Reino Unido se consumieron 10.000 millones de litros, que es equivalente a decir que cada persona bebió medio litro de estas bebidas al día, aunque realmente se estima que cada joven menor de 20 años consumió un litro al día. Esta cantidad de bebida representa la cuarta parte del total del agua que se consume en Reino Unido, incluyendo el agua del grifo.

El constante incremento en el consumo de bebidas refrescantes sobre todo en la población adolescente, cuyo esmalte es inmaduro y por lo tanto más susceptible al ataque ácido, nos ha llevado a realizar este estudio en el que pretendemos evaluar el poder desmineralizante y la capacidad de disolución de los materiales adhesivos ortodóncicos por parte de las bebidas refrescantes.

Para la realización de este trabajo se utilizaron incisivos temporales mandibulares bovinos. Como consecuencia del auge de la Odontología preventiva y conservadora es cada vez más difícil encontrar dientes humanos extraídos para los estudios odontológicos. Así pues, surge la necesidad de utilizar dientes que sean equiparables a los dientes humanos para los estudios *in vitro*.

Investigaciones previas han demostrado que el esmalte humano y el bovino son similares en sus propiedades (Nakamichi, Iwaku y Fusayama, 1.983; Fowler y cols., 1.992; Baena y cols., 2.003; Puentes y Rincón, 2.003).

Son muchos los trabajos de investigación donde se valoran parámetros referentes al esmalte tales como fuerzas adhesivas, valoración de superficie, desmineralización, etc., utilizando dientes bovinos como alternativa a los humanos (Haydar, Sarikaya y Cehreli, 1.999; Grandhi, Combe y Speidel, 2.001; Kim y cols., 2.001; Demito y cols., 2.004; Cehreli, Kecik y Kocadereli, 2.005). En una investigación que evaluaba el efecto de una bebida de cola en el esmalte humano y bovino, obtuvieron que la superficie erosionada del esmalte humano no difería de la superficie erosionada del esmalte bovino (Meurman y Frank, 1.991, b). Distintos autores (Nakamichi, Iwaku y Fusayama 1.983; Fowler y cols., 1.992; Baena y cols., 2.003) han demostrado que no existen diferencias significativas en la fuerza adhesiva de diferentes materiales de restauración a esmalte humano y bovino. En cambio, Baena y cols. (2.003) obtuvieron valores de adhesión mayores para la dentina en dientes bovinos que en humanos, debido probablemente a que los dientes bovinos tienen más túbulos dentinarios y a su vez son de mayor tamaño. Por tanto, se pueden introducir en dichos túbulos mayores cantidades de resina.

En nuestro estudio se evaluaron dos bebidas refrescantes, Coca-Cola® y Schweppes® Limón. Se utilizaron éstas por su alta frecuencia de consumo en España, ya que, según datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el refresco de cola fue el que más se consumió y el de Limón quedó en tercer lugar (MAPA, 2.004). También consideramos en su elección el tipo de ácido que contienen, siendo ácido fosfórico en Coca-Cola® y ácido cítrico en Schweppes® Limón. Ambos ácidos se han usado a lo largo de la historia en odontología para la técnica de grabado ácido, siendo el ácido fosfórico el más difundido en la actualidad (García y Kessler, 2.000). Otro factor que consideramos a la hora de su elección fue el bajo pH de estas bebidas. Tras realizar mediciones de pH en un grupo de 6 bebidas, estas dos presentaron los valores más bajos. Además, hasta donde nosotros conocemos no existen estudios que evalúen la capacidad desmineralizante de Schweppes Limón.

Al igual que Jendottir, Bardow y Holbrook (2.005), para calcular el pH de las bebidas se realizaron tres mediciones de cada una de ellas con un pH-metro y de estas mediciones se obtuvo el valor medio. Otros autores, sin embargo, realizan una única medición de pH con la posibilidad de error que ello conlleva (Rytömaa y cols., 1.988; Grandó y cols., 1.996; Dinçer, Hazar y Sen, 2.002; etc.).

El pH obtenido para Coca-Cola® fue de 2,40 y el de Schweppes® Limón fue de 2,55. En la literatura consultada no hay autores que hayan usado esta última en sus estudios, en cambio Coca-Cola® aparece en la mayoría de ellos (Rytömaa y cols., 1.988; Meurman y Frank, 1.991 (a, b); Steffen, 1.996; Dinçer, Hazar y Sen, 2.002; etc.), posiblemente porque es la bebida refrescante más consumida en el mundo y se comercializa en más de 200 países. Coca-Cola® Ibérica, compuesta por España y Portugal, es una de las más importantes del sistema internacional y ocupa el tercer lugar en volumen de ventas en Europa y el noveno del mundo (Conoce Coca-Cola®, 2.006).

Los valores de pH de Coca-Cola® que mencionan en otros estudios difieren del nuestro, así pues Rytömaa y cols. (1.988) obtuvieron para esta bebida un pH de 2,57 y Grandó y cols. (1.996) de 2,60. En cambio, el valor obtenido por Moazzez, Smith y Bartlett (2.000), 2,45, se aproximó más al que hallamos nosotros. Es normal un pequeño margen en la medición del pH y puede deberse a variaciones en la composición del refresco en las diferentes áreas geográficas donde se comercializa, a la fecha de envasado del mismo, a errores en el calibrado del pH-metro, etc.

Coca-Cola® ha dado muestras de ser una de las bebidas refrescantes con mayor capacidad de producir alteraciones en el tejido dental y en los materiales de obturación. Así pues, en un estudio donde se midieron los cambios en la microdureza de superficie del esmalte y la dentina, y se cuantificó la degradación de varios materiales de obturación tras el contacto con diferentes bebidas refrescantes, se concluyó que durante un corto periodo de contacto, Coca-Cola® redujo significativamente la dureza superficial tanto del esmalte como de la dentina, y además produjo la pérdida de la capa superficial de materiales como composites y compómeros (Wongkhantee y cols., 2.006). Kim y cols. (2.001) hallaron que con tan solo 5 minutos de exposición del tejido adamantino a Coca-Cola® se reducía la microdureza de éste. Además, Eygen, Vannet y Wehrbein (2.005) encontraron que la frecuencia de inmersión en la bebida no era decisiva en la reducción de la microdureza adamantina.

En nuestro estudio, tras las inmersiones de los dientes en las bebidas los introdujimos en saliva artificial para reproducir el entorno bucal y promover el efecto protector y remineralizante que ejerce la saliva. Oncag, Tuncer y Tosun (2.005) afirmaron que la saliva constituye un importante mecanismo de defensa contra la desmineralización ya

que, en su estudio, las muestras expuestas a una solución erosiva que fueron mantenidas en saliva tras las exposiciones a dicha solución, mostraron menor erosión que las que no fueron mantenidas en saliva.

Al igual que nosotros, distintos autores han sumergido los dientes en saliva tras las exposiciones a las bebidas. Rytömaa y cols. (1.988) utilizaron 2.600 ml de saliva humana recolectada de diferentes personas en un periodo de 6 días, que posteriormente fue centrifugada para su uso. Meurman y Frank (1.991, a) utilizaron saliva recolectada de una sola persona, que también fue centrifugada para su uso. Nosotros optamos por utilizar saliva artificial, la cual elaboramos siguiendo la fórmula de Oncag, Tuncer y Tosun (2.005). Nos decidimos por esta opción para hacer reproducible nuestro estudio, ya que las características de la saliva (sales minerales, viscosidad, etc.) van a depender del donante. Además, no resulta fácil la recolección de cantidades tan grandes de saliva de un mismo donante y posiblemente las características de una recolección diste de la primera.

Existe gran variedad entre los distintos estudios consultados en lo referente a la temperatura de la saliva y las bebidas. Algunos autores utilizaron en sus trabajos saliva a una temperatura de 37 °C y la del refresco a temperatura ambiente (Rytömaa y cols., 1.988; Grando y cols., 1.996; Meurman y Frank, 1.991 (a, b); Dinçer, Hazar y Sen, 2.002; Oncag, Tuncer y Tosun, 2.005). Otros utilizaron tanto la saliva como los refrescos a temperatura ambiente (Wongkhantee y cols., 2.006), e incluso existe un estudio en el que no se hace mención a las temperaturas (Steffen, 1.996).

Barbour y cols. (2.006) afirmaron que existe una clara relación entre el inicio de la desmineralización, la erosión y la temperatura de las bebidas refrescantes que se consumen. De este modo afirman que un incremento de la temperatura de 25 °C produce una reducción de la dureza del esmalte de 0,9 Giga Pascales y una pérdida aproximada de 5 µm de tejido duro calcificado. West, Hughes y Addy (2.000), en un estudio en el que cuantificaron la pérdida de tejido mineralizado en esmalte y dentina cuando se exponen a ácidos con diferentes temperaturas, concluyeron que con el mismo tiempo de exposición en ácido cítrico, a 60 °C se pierde una media de 3 µm más de tejido calcificado que a 5 °C.

En nuestro estudio, durante todo el proceso experimental, la saliva artificial se mantuvo a temperatura ambiente. La constante de autoionización del agua, que le confiere la capacidad de actuar como un ácido o una base, varía mínimamente ante variaciones de la temperatura de entre 15 y 37 °C, por lo que el comportamiento de la saliva no va a sufrir variación en ese rango de temperatura (Harris, 2.001). En cambio, las bebidas refrescantes se utilizaron a 5 °C, porque normalmente se ingieren refrigeradas y además es lo que indica el fabricante.

Respecto a los ciclos de inmersión de los especímenes en las bebidas refrescantes, diseñamos un ciclo que reprodujera lo más fielmente posible lo que sucede *in vivo*. Asumiendo que una persona puede consumir este tipo de bebidas 3 veces al día y que el periodo de consumición podría ser de 15 minutos, los dientes del grupo experimental, tanto con esmalte intacto como grabado y sellado, estuvieron sumergidos en el refresco durante 15 minutos y luego en saliva artificial durante 2 horas. Este procedimiento se repitió 3 veces al día durante 15 días. El resto del tiempo los dientes permanecieron en saliva artificial.

En muchos estudios los especímenes se sumergían en la bebida refrescante durante largos intervalos y de manera continua sin inmersión en saliva (Rytömaa y cols., 1.988; Meurman y Frank, 1.991 (a, b); Steffen, 1.996). Así, Steffen (1.996) mantuvo los dientes sumergidos en las bebidas durante 72 horas seguidas. Jensdottir, Bardow y Holbrook (2.005) sumergieron uno de los grupos experimentales durante 24 horas y otro grupo 72 horas seguidas. Meurman y Frank (1.991, b) utilizaron tiempos de inmersión de 15, 30, 60, 120 y 180 minutos. Estos mismos autores, en otro estudio, donde analizaron el efecto remineralizante salival (1.991, a), los mantuvieron durante 120 minutos. Rytömaa y cols. (1.988) analizaron los especímenes tras 4 horas seguidas en las bebidas refrescantes. Evidentemente, con periodos de inmersión tan largos en las bebidas de manera continuada los autores obtuvieron grandes desmineralizaciones. Además, al no utilizar saliva privan a los especímenes del efecto protector que ésta ejerce.

En nuestro estudio, los efectos producidos por las bebidas refrescantes sobre la superficie del esmalte se observaron mediante MEB, ya que la calidad de la imagen obtenida es óptima y a grandes aumentos consigue mejor resolución que otras técnicas diagnósticas.

En cada uno de los grupos de este trabajo existían especímenes con el esmalte vestibular intacto, con el fin de reproducir lo que sucedería en un esmalte no tratado y expuesto a la acción de las bebidas y otros con el esmalte vestibular grabado y sellado con el imprimador del sistema adhesivo ortodóncico de resina Transbond XT[®]. La incorporación de este grupo viene justificado por el hecho de que en la técnica de adhesión de brackets al esmalte, tras realizar el grabado ácido de prácticamente toda la superficie vestibular, se aplica el adhesivo para proteger el esmalte grabado. Aunque el grabado ácido es una técnica útil y necesaria en las diversas áreas odontológicas, no hay que olvidar la iatrogenia que produce, pues un grabado ácido que abarque un área mayor de la necesaria provoca una pérdida de esmalte que no se volverá a restituir. Únicamente, cuando la descalcificación es de poca intensidad el efector remineralizante de la saliva es eficaz (Meurman y Frank, 1.991, a).

Respecto a los resultados que obtuvimos en nuestro estudio, en las imágenes de los dientes del grupo control con el esmalte vestibular intacto se apreciaron una serie de irregularidades en la superficie del esmalte, típicas de la anatomía adamantina, como son las líneas de imbricación de Pickerill y las periquimatías. Además, fue frecuente encontrar orificios focales y casquetes del esmalte, que aparecen como superposiciones del esmalte extremadamente finas.

En los especímenes con el esmalte intacto inmersos en Coca-Cola[®] pudimos observar grandes áreas de descalcificación del esmalte, mostrando imágenes que en ocasiones recordaban a los patrones de grabado ácido. Las imágenes que obtuvieron Grando y cols. (1.996) para su grupo Coca-Cola[®] mostraban una descalcificación más severa que la obtenida en nuestro trabajo, probablemente debido a que expusieron los dientes a la acción de las bebidas durante 12 horas seguidas. Del mismo modo, las áreas de descalcificación obtenidas por Rytömaa y cols. (1.988) fueron más evidentes que las nuestras. Estos autores, antes de iniciar la fase experimental eliminaron una fina capa superficial de esmalte con discos de pulir para conseguir una superficie lisa, lo que pudo dar lugar a una superficie más susceptible a la erosión, ya que el esmalte externo es más resistente a la acción de los ácidos por ser aprismático y tener mayor contenido en flúor. Además, sumergieron los especímenes en los alimentos y las bebidas durante 4 horas seguidas, sin ningún intermedio de inmersión en saliva. Ambos factores pudieron predisponer a una mayor erosión que la que nosotros obtuvimos. Meurman y Frank

(1.991, a, b) también analizaron el efecto de Coca-Cola[®] sobre el esmalte intacto. Sus resultados también presentaban grandes áreas de desmineralización y sus imágenes mostraban un patrón de grabado de esmalte tipo III. Nuestras imágenes fueron similares a las obtenidas por estos autores, aunque no tan acusadas, posiblemente porque la exposición que utilizaron fue continua, sin opción a la remineralización salival y la prolongaron hasta 180 minutos ininterrumpidos.

Al igual que Dinçer, Hazar y Sen (2.002), en los especímenes del grupo control grabados y sellados con la resina, no observamos pérdida del material adhesivo en ninguno de los dientes.

Para el grupo de los dientes grabados y sellados con el material adhesivo e inmersos en Coca-Cola[®] pudimos observar grandes áreas desprovistas de resina, con la exposición del esmalte subyacente. Steffen (1.996), que analizó 9 bebidas de cola, entre ellas Coca-Cola[®] observó que la gran mayoría de la resina fue eliminada de todos los especímenes, aunque sus resultados no son equiparables a los nuestros ni extrapolables a una situación real, ya que sumergió los dientes en las bebidas refrescantes durante 72 horas seguidas y además, antes del proceso los mantuvo 3 días en lejía sin diluir. En cambio, Diçer, Hazar y Sen (2.002) realizaron ciclos de inmersión parecidos a los nuestros y obtuvieron imágenes muy similares a las que obtuvimos nosotros con Coca-Cola[®].

Las imágenes de los dientes sumergidos en Schweppes[®] Limón no las podemos comparar con otros trabajos, ya que no existe ningún estudio previo que analice este refresco. Si bien, podemos decir que se asemejan a los resultados que Dinçer, Hazar y Sen (2.002) obtuvieron cuando analizaron el refresco de limón Fruko[®]. Éstos autores, al igual que nosotros, obtuvieron que el refresco de limón producía una afectación menor sobre el esmalte intacto y que ocasionaba áreas menores desprovistas de material adhesivo que las producidas por Coca-Cola[®].

En el procedimiento de adhesión de brackets al esmalte, normalmente se graba con ácido prácticamente toda la superficie vestibular del diente y se aplica el adhesivo con dos fines, por un lado favorecer la adhesión y por otro proteger las áreas de esmalte grabado que quedan fuera de la base del bracket. Si esta resina es eliminada quedará al descubierto una superficie porosa, previamente grabada, que será susceptible de

asentamiento de patología cariosa. La descalcificación alrededor de los brackets y debajo de las bandas de ortodoncia ha constituido uno de los principales temas de discusión entre ortodoncistas (Steffen, 1.996). Desafortunadamente estas lesiones son una secuela común de los tratamientos de ortodoncia con aparatología fija (Frazier, Southard y Doster, 1.996). La aparición de manchas blancas por desmineralización se produce por la bajada del pH, motivada por la falta de una higiene correcta y acrecentada por el consumo de alimentos y bebidas de carácter ácido, como son las bebidas refrescantes. Considerando las dificultades mecánicas para la remoción de la placa en las áreas donde se colocan los brackets, es fundamental una adecuada higiene por parte del paciente (Demito y cols., 2.004). Además, el exceso de material adhesivo alrededor de los brackets puede provocar un mayor acúmulo de placa, incrementando el riesgo de descalcificaciones (Oncag, Tuncer y Tosun, 2.005).

Estudios previos han determinado la aparición de descalcificaciones en el 50% de los dientes con brackets y afirman que afectan al 50% de los pacientes portadores de ortodoncia fija. También se han descrito casos en los que es necesario descementar prematuramente los brackets para prevenir una exacerbación de las manifestaciones de descalcificación (Zimmer y Rottwinkel, 2.004). O'Reilly y Featherstone (1.987), Ogaard, Rolla y Arends (1.988) y Ogaard y cols., (1.988) mostraron que las manchas blancas por desmineralización se podían desarrollar en las 4 primeras semanas de la adhesión de los brackets. Melrose, Appleton y Lovius (1.996) encontraron lesiones cariosas tempranas del esmalte asociadas con bandas ortodóncicas en periodos de 4 semanas.

Investigaciones recientes se han centrado en la observación del pH de la placa que se acumula alrededor de los brackets en los incisivos centrales superiores y han observado que éste es más bajo que el de otras partes de la boca. Esto puede ser debido a una menor aclaración salival en este área, lo cual podría explicar el por que las lesiones blancas por desmineralización se desarrollan frecuentemente en los incisivos superiores (Ogaard y cols., 2.006). Estas manchas son desalentadoras y más aún en una especialidad donde el principal objetivo es la estética (Ogaard, Rolla y Arends, 1.988; Frazier, Southard y Doster, 1.996).

En la actualidad no existen métodos para regenerar el esmalte perdido ni para obtener una completa remineralización de las lesiones desarrolladas en los dientes durante el tratamiento ortodóncico con aparatología fija. Por lo tanto, la prevención del desarrollo de las lesiones durante el tratamiento es crucial y es responsabilidad del equipo del ortodoncista (Ogaard y cols., 2.006).

Para prevenir descalcificaciones en pacientes con un riesgo bajo es adecuado un programa profiláctico inicial, donde se incluyan consejos nutricionales, sesiones regulares de motivación y flouraciones periódicas. En pacientes con alto riesgo se hacen necesarias medidas como tartrectomías periódicas, uso de clorhexidina, la reducción de los intervalos entre las sesiones de motivación, etc. (Zimmer y Rottwinkel, 2.004). Sin embargo, la efectividad de productos como dentríficos y colutorios se relaciona directamente con el hábito del paciente, por lo que la prevención está en sus manos (Frazier, Southard y Doster, 1.996).

La aplicación tópica de flúor ha jugado un papel principal en la prevención de la desmineralización durante el tratamiento ortodóncico. Un estudio reciente afirmaba que el uso combinado de una pasta dental y un colutorio de Fluoruro de Aminas y Fluoruro de Estaño tiene un mayor efecto inhibitor del desarrollo de manchas blancas por desmineralización, placa y gingivitis que los formulados sólo con Fluoruro sódico (Ogaard y cols., 2.006). Boyd (1.993) argumentaba en su trabajo los beneficios del uso de dentríficos, colutorios y geles de flúor en la prevención de descalcificaciones durante los tratamientos de ortodoncia con aparatología fija.

Otras medidas profilácticas estudiadas han sido la aplicación de selladores de fosas y fisuras foto-polimerizables (Frazier, Southard y Doster, 1.996) y barniz de flúor (Demito y cols., 2.004) sobre la cara vestibular de los dientes tras la colocación de los brackets. Estos estudios encontraron que con estas técnicas se previenen en gran medida las descalcificaciones sin la necesidad de la colaboración del paciente, por lo que son muy útiles en individuos con pobre higiene oral.

Parece que la forma más acertada de prevenir las manchas blancas por desmineralización es mantener una buena higiene oral, usar medidas auxiliares de manera profiláctica y evitar bajadas del pH que favorezcan la pérdida mineral. Por

tanto, tras la observación de nuestros resultados, parece necesario que el ortodoncista debiera aconsejar de manera rutinaria la disminución de la ingesta de bebidas refrescantes.

Recientemente están siendo formuladas bebidas refrescantes con un bajo poder erosivo. Así pues, en un estudio *in vivo* que evaluaba si la adición de calcio a una bebida refrescante producía menor erosión sobre la superficie dental comparándola con la misma bebida sin calcio y con otra bebida de zumo de naranja, obtuvieron que la bebida carbonatada experimental causaba significativamente menor pérdida de esmalte que la convencional y que el zumo de naranja, por lo que concluyeron que mediante la adición de calcio en las bebidas refrescantes sería posible minimizar la erosión dental (Hughes y cols., 1.999; West y cols., 2.003).

En la misma línea, Jensdottir, Bardow y Holbrook, (2.005) desarrollaron experimentalmente bebidas refrescantes que contenían calcio y fosfato. Obtuvieron que la adición de calcio y fosfato en las bebidas tenía un efecto neutralizante del pH. Además, encontraron que esta adición redujo el grado de erosión en la superficie adamantina. Sin embargo, documentaron que la bebida con mayor contenido en calcio y fosfato tenía un desagradable sabor metálico. En otro estudio, Huysmans y cols. (2.006) comprobaron como una nueva bebida refrescante formulada con calcio y fosfato producía menor profundidad erosiva sobre el esmalte comparado con otras bebidas como cola, zumo de naranja y zumo de manzana.

A la vista de nuestros resultados, es necesario que se sigan investigando nuevas formulaciones para las bebidas refrescantes con el fin de minimizar al máximo los efectos negativos de éstas sin alterar sus características gustativas. Sería muy interesante la consecución de refrescos con una baja o nula capacidad erosiva, ya que solucionaría un problema que se arrastra desde la aparición de éstos.

Sin embargo, por ahora es imprescindible seguir instruyendo en técnicas de higiene y dar consejos nutricionales a nuestros pacientes portadores de aparatología fija.

Tahmassebi y cols. (2.006) dieron una serie de recomendaciones para reducir el efecto perjudicial de las bebidas refrescantes sobre los dientes:

- 1.- Consumirlas sólo durante las comidas.
- 2.- Beber durante cortos periodos de tiempo.
- 3.- Usar pajita siempre que sea posible, para reducir el contacto con los dientes.
- 4.- No realizar enjuagues con estas bebidas ni mantenerlas en la boca.
- 5.- Cepillarse tras su ingesta.
- 6.- Finalizar las comidas con alimentos que neutralicen los ácidos: queso, leche, etc.
- 7.- Diluirlas en agua.
- 8.- Consumir bebidas con suplementos de calcio, fosfato y/o flúor.

Somos conscientes de las limitaciones que tienen los estudios *in vitro*. En el medio oral existen gran cantidad de parámetros que no son reproducibles en el laboratorio. Sin embargo, los estudios *in vitro* son útiles y necesarios, aunque se requieren estudios *in vivo* que corroboren estos resultados.

CONCLUSIONES

- 1.- Todas las bebidas refrescantes a las que se les midió el pH presentaron valores por debajo del límite crítico del inicio de la desmineralización.
- 2.- En el esmalte bovino intacto, Coca-Cola[®] y Schweppes[®] Limón poseen un potencial erosivo elevado.
- 3.- Estas bebidas disuelven el material adhesivo, exponiendo al medio la superficie del esmalte grabado subyacente, lo que podría favorecer el desarrollo de manchas blancas por desmineralización y caries. Por tanto, los clínicos, en su práctica diaria, deberían evitar grabar áreas mayores de las necesarias.
- 4.- Es conveniente informar a los padres y a los pacientes del riesgo que implica para la salud dental el consumo frecuente de bebidas refrescantes, así como promocionar un menor consumo de éstas.
- 5.- Son necesarios estudios *in vivo* que corroboren nuestros resultados.

BIBLIOGRAFÍA

Baena M, Coelho MA, Correr L, Consani S (2.003): “Comparative study of the dental substrate used in shear bond strength tests”. *Pesqui Odontol Bras*, 17: 171-175.

Barkmeier WW, Shaffer SE, Gwinnett AJ (1.986): “Effects of 15 vs. 60 second enamel acid conditioning on adhesion and morphology”. *Oper Dent*, 11: 111-116.

Barbour ME, Finke M, Parker DM, Hughes JA, Allen GC, Addy M (2.006): “The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures”. *J Dent*, 34: 207-13.

Boyd RL (1.993): “Comparison of three self-applied topical fluoride preparations for control of decalcification”. *Angle Orthod*, 63: 25-30.

Buonocore MG (1.955): “A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces”. *J Dent Res*, 34: 849-853.

Cehreli ZC, Altay I (2.000): “Effects of a nonrise conditioner and 17% ethylenediaminetetraacetic acid on the etch pattern of intact human permanent enamel”. *Angle Orthod*, 71: 22-7.

Cehreli ZC, Kecik D, Kocadereli I (2.005): “Effect of self-etching primer and adhesive formulations on the shear bond strength of orthodontic brackets”. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*, 127:573-579.

Conoce Coca-Cola®. [En línea]. Fecha de acceso 17 de agosto de 2006. URL disponible en: <http://www.conocecocacola.com>.

Davis WL (1.988) “Esmalte”. En *Histología y Embriología Bucal*. Ed. Interamericana-McGraw-Hill. México. Capítulo 7, pág 96-116. I.S.B.N.: 968-25-1357-X.

Demito CF, Vivaldi-Rodrigues G, Ramos AL, Bowman SJ. (2.004): “The efficacy of a fluoride varnish in reducing enamel demineralization adjacent to orthodontic brackets: an in vitro study”. *Orthod Craniofacial Res*, 7: 205-10.

Dinçer B, Hazar S, Sen BH (2.002): “Scanning electron microscope study of the effects of soft drinks on etched and sealed enamel”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 122: 135-41.

Eisenmann DR (1.986): “Estructura del esmalte”. En Histología oral. Desarrollo, estructura y función. Ten Cate A R. 2ª Ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. Capítulo 12, pág 252-73. I.S.B.N.: 84-7903-063-1.

Eygen IV, Vannet BV, Wehrbein H (2.005): “Influence of a soft drink with low pH on enamel surfaces: An in Vitro study”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 128: 372-7.

Fawcett, DW (1.995): “Los dientes”. En Tratado de histología. 12ª Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España. Capítulo 24, pág 633-648. I.S.B.N.: 84-486-0107-6.

Fawcett DW, Jensch RP (1.999): “Cavidad bucal”. En Compendio de histología. Editorial McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España. Cap 15, pág 189-199. I.S.B.N.: 84-486-0264-1.

Fejerskov O, Thylstrup A (1.989): “Esmalte dentario”. En Embriología e histología oral humana. Mjör IA, Fejerskov O. 1ª Ed. Editorial Salvat. Barcelona, España. Cap 3, pág 43-82. I.S.B.N.: 84-345-2758-8.

Fowler CS, Swartz ML, Moore BK, Rhodes BF (1.992): “Influence of selected variables on adhesion testing”. Dent Mater, 8: 265-269.

Frazier MC, Southard TE, Doster PM. (1.996): “Prevention of enamel demineralization during orthodontic treatment: An in vitro study using pit and fissure sealants”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 110: 459-65.

Galil KA, Wright GZ (1.979): “Acid etching patterns on bucal surfaces of permanent teeth”. Ped Dent, 4: 230-234.

García J, Kessler F (2.000): “Adhesión”. En Patología y Terapéutica Dental. García J. Editorial Síntesis. Madrid. España. Cap 32, pág 467-482. I.S.B.N.: 84-7738-545-9.

Gardner A, Hobson R (2.001): “Variation in acid-etch patterns with different acids and etch times”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 120: 64-67.

Geneser F (2.000): “Aparato Digestivo”. En Histología sobre bases biomoleculares. 3ª Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Capítulo18, pág 465-533. I.S.B.N.: 84-7903-474-2.

Gómez ME, Campos A (2.002): “Esmalte”. En Histología y Embriología Bucodental. 2ª Ed. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España. Capítulo10, pág 271-315. I.S.B.N.: 84-7903-716-4.

Grandhi RK, Combe EC, Speidel TM (2.001): “Shear bond strength of stainless steel orthodontic brackets with a moisture-insensitive primer”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 119: 251-5.

Grando LJ, Tames DR, Cardoso AC, Gabilan NH (1.996): “In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy”. Caries Res, 30: 373-78.

Gwinnett J (1.992): “Structure and composition of enamel”. Oper Dent, Suppl 5: 10-17.

Harris DC (2.001): “Equilibrio químico”. En Análisis químico cuantitativo. 2ª Edición. Ed. Reverté S.A. Barcelona, España. Cap 6, pág. 113-146. I.S.B.N.: 84-291-7222-X.

Haydar B, Sarikaya S, Cehreli ZC (1.999): “Comparison of shear bond strength of three bonding agents with metal and ceramic brackets”. Angle Orthod, 69: 457-462.

Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG, Addy M (1.999): “Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ 1. Comparison with orange juice”. J Dent, 27: 285-89.

Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M (2.000): "Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue in the oral environment". J Dent, 28: 257-67.

Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P (2.005): "Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in Vitro". J Dent, 33: 569-75.

Kim JW, Jang KT, Lee SH, Kim CC, Hahn SH, García-Godoy F (2.001): "In Vivo rehardening of enamel eroded by a cola drink". J Dent Child, 68: 122-124.

Martín-Lacave I, San Martín M^aV (2.005): "Lámina 10. Diente: Molar". En Atlas práctico de Histología. 2^a Edición. Ed. Díaz de Santos, Madrid. I.S.B.N.: 84-7978-670-1. CD -ROM I.S.B.N.: 84-7978-656-6.

Meckel AH, Griebstein WJ, Neal RJ (1.965): "Structure of mature dental enamel as observed by electron microscopy". Arch Oral Biol, 10: 775-84.

Melrose CA, Appleton J, Lovius BB (1.996): "A scanning electron microscopic study of early enamel caries formed in Vivo beneath orthodontic bands". Br J Orthod, 23: 43-7.

Meurman JH, Frank RM (1.991,a): "Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion". Caries Res, 25: 1-6.

Meurman JH, Frank RM (1.991,b): "Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel". Caries Res, 25: 81-7.

Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA) (2.004): "La alimentación en España, 2.003". Ed. MAPA. Madrid. I.S.B.N.: 84-491-0648-6.

Moazzez R, Smith BGN, Bartlett DW (2.000): "Oral pH and drinking habit during ingestion of a carbonated drink in a group of adolescents with dental erosion". J Dent, 28: 395-97.

Nakamichi I, Iwaku M, Fusayama T (1.983): “Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test”. J Dent Res, 63: 1.076-1.081.

Ogaard B, Alm AA, Larsson E, Adolfsson U (2.006): “A prospective, randomized clinical study on the effects of an amine fluoride/stannous fluoride toothpaste/mouthrinse on plaque, gingivitis and initial caries lesion development in orthodontic patients”. Eur J Orthod, 28: 8-12.

Ogaard B, Rolla G, Arends J (1.988): “Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 1. Lesion development”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 94: 68-73.

Ogaard B, Rolla G, Arends J, Ten Cate JM (1.988): “Orthodontic appliances and enamel demineralization. Part 2. Prevention and treatment of lesions”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 94: 123-8.

Olsen ME, Bishara SE, Damon P, Jakobsen JR (1.997): “Evaluation of Scotchbond multipurpose and maleic acid as alternative methods of bonding orthodontic brackets”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 111: 498-501.

Oncag G, Tuncer AV, Tosun YS (2.005): “Acidic soft drinks effects on the shear bond strength of orthodontic brackets and a scanning electron microscopy evaluation of the enamel”. Angle Orthod, 75: 243-49.

O’Reilly MM, Featherstone JDB (1.987): “Demineralization and remineralization around orthodontic appliances: an in Vivo study”. Am J Orthod Dentofacial Orthop, 92: 33-40.

Puentes HG, Rincón LP (2.003): “Caracterización química y mecánica parcial de dientes incisivos de bovino como posible modelo de estudio de materiales dentales”. 2º Premio de los Trabajos de Grado del Área de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Colombia. [<http://www.encolombia.com/odontologia/foc/FocXX-Characterizacion.htm>].

Robinson C, Brookes SJ, Shore RC, Kirkham J (1.998): "The developing enamel matrix: nature and function". *Eur J Oral Sci*, 106 (suppl 1): 282-91.

Ross MH, Kaye GI, Pawlina W (2.005) "Aparato digestivo I: cavidad oral y estructuras asociadas". En *Histología. Texto y atlas Color con Biología Celular y Molecular*. 4ª Ed. Ed Médica Panamericana. Madrid, España. Cap 15, pág 436-475. I.S.B.N.: 84-7903-806-3.

Rytömaa I, Meurman JH, Koskinen J, Laakso T, Gharazi L, Turunen R (1.988): "In vitro erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and other foodstuffs". *Scand J Dent Res*, 96: 324-33.

Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov O (1.975): "Variation in the pattern of acid etching of human dental enamel examined by scanning electron microscopy". *Caries Res*, 9: 373-387.

Steffen JM (1.996): "The effects of soft drinks on etched and sealed enamel". *Angle Orthod*, 66 (6): 449-56.

Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon MEJ (2.006): "Soft drinks and dental health: A review of the current literature". *J Dent*, 34: 2-11.

Varnam AH, Sutherland JP (1.997) "Bebidas Refrescantes". En *Bebidas. Tecnología, química y microbiología*. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España. Cap 3, pág 77-130. I.S.B.N.: 84-200-0826-5.

Wang WN, Yeh CL, Fang BD, Sun KT, Arvystas MG (1.994): "Effect of H₃PO₄ concentration on bond strength". *Angle Orthod*, 64: 377-382.

West NX, Hughes JA, Addy M (2.000): "Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effects of temperature, acid character, concentration and exposure time". *J Oral Rehabil*, 27: 875-80.

West NX, Hughes JA, Addy M (2.001): "The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro". J Oral Rehabil, 28: 860-4

West NX, Hughes JA, Parker DM, Moohan M, Addy M (2.003): "Development of low erosive carbonated fruit drinks 2. Evaluation of an experimental carbonated blackcurrant drink compared to a conventional carbonated drink". J Dent, 31:361-5

West NX, Maxwell A, Hughes JA, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. (1.998): "A method to measure clinical erosion: the effect of orange juice consumption on erosion of enamel". J Dent, 26: 329-335.

Wongkhantee S, Patanapiradej V, Maneenut C, Tantbirojn D (2.006): "Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials". J Dent, 34: 214-220.

Zidan O, Hill G (1.986): "Phosphoric acid concentration: Enamel surface loss and bonding strength". J Prosthet Dent, 55: 388-391.

Zimmer BW, Rottwinkel Y. (2.004): "Assessing patient-specific decalcification risk in fixer orthodontic treatment and its impact on prophylactic procedures". Am J Orthod Dentofacial Orthop; 126: 318-24.