

**DIÁMETRO DE LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE UN
BLANQUEAMIENTO INTERNO EN PREMOLARES NO VITALES CON DOS
AGENTES DE BLANQUEAMIENTO. UN ESTUDIO *IN VITRO*.**

CASTRO HERNÁNDEZ ALEX MAURICIO
PRADA PEÑALOZA JONNY ALEXANDER

**INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA
UNICOC
ÁREA DE EDUCACIÓN AVANZADA Y CONTINUADA
POSTGRADO EN ENDODONCIA
BOGOTÁ, D.C.
2018**

**DIÁMETRO DE LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE UN
BLANQUEAMIENTO INTERNO EN PREMOLARES NO VITALES CON DOS
AGENTES DE BLANQUEAMIENTO. UN ESTUDIO *IN VITRO*.**

AUTORES

CASTRO HERNÁNDEZ ALEX MAURICIO

PRADA PEÑALOZA JONNY ALEXANDER

ASESOR CIENTÍFICO

Dra. Sandra Milena Briñez Rodríguez
Odontólogo Especialista en Endodoncia
Universidad Javeriana

ASESOR METODOLÓGICO

Dra. Ivonne Andrea Ordoñez Monak
DDS, MSc, EdS, PhD
Centro de Investigación Colegio Odontológico

ASESOR ESTADÍSTICO

Dr. Edgar Antonio Ibáñez Pinilla

INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA

UNICOC

ÁREA DE EDUCACIÓN AVANZADA Y CONTINUADA

POSTGRADO EN ENDODONCIA

BOGOTÁ, D.C.

2018

El trabajo de grado “**DIÁMETRO DE LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE UN BLANQUEAMIENTO INTERNO EN PREMOLARES NO VITALES CON DOS AGENTES DE BLANQUEAMIENTO. UN ESTUDIO *IN VITRO***”, fue elaborado por: **Castro Hernández, Alex Mauricio y Prada Peñaloza, Jonny Alexander**, como requisito para optar por el título de **Especialista en Endodoncia**.

La sustentación se llevó a cabo el 23 de mayo de 2018

Acta No. _____

Dr. Sandra Milena Briñez R.
Asesor Científico

Dra. Ivonne A. Ordoñez M.
Asesora Metodológica

Dra. Sandra Elizabeth Aguilera Rojas
**Directora Centro de Investigación
Colegio Odontológico – CICO**

TRANSFERENCIA DE DERECHOS DE PUBLICACIÓN

Título del artículo: **“DIÁMETRO DE LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE UN BLANQUEAMIENTO INTERNO EN PREMOLARES NO VITALES CON DOS AGENTES DE BLANQUEAMIENTO. UN ESTUDIO *IN VITRO*”**

Autores: **Castro Hernández, Alex Mauricio y Prada Peñaloza, Jonny Alexander.**

Los autores certifican que el artículo arriba mencionado es trabajo original y no ha sido previamente publicado, excepto en forma de resumen. Una vez aceptado para publicación en la revista que la Institución Universitaria Colegios de Colombia estipule, los derechos de autor serán transferidos a la universidad. Así mismo, declaran que no ha sido enviado en forma simultánea para su posible publicación en otra revista. Los autores acceden, dado el caso, a que este artículo sea incluido en los medios electrónicos que los editores de la Institución Universitaria Colegios de Colombia, consideren convenientes.

Castro Hernández, Alex Mauricio

CC. 80185718 de Bogotá

Prada Peñaloza, Jonny Alexander

CC. 88270824 de Cúcuta

CESIÓN DE DERECHOS

Nosotros, **Castro Hernández, Alex Mauricio y Prada Peñaloza, Jonny Alexander**, manifestamos en este documento nuestra voluntad de ceder a la Institución Universitaria Colegios de Colombia los derechos patrimoniales, consagrados en el artículo 72 de la ley 23 de 1982, de la tesis de grado titulada **“DIÁMETRO DE LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE UN BLANQUEAMIENTO INTERNO EN PREMOLARES NO VITALES CON DOS AGENTES DE BLANQUEAMIENTO. UN ESTUDIO *IN VITRO*”**.

Producto de nuestra actividad académica para optar por el título de **Especialista en Endodoncia** de la Institución Universitaria Colegios de Colombia. La institución tiene los derechos anteriores cedidos en su actividad ordinaria de investigación, docencia y publicación. Con todo, en nuestra condición de autores nos reservamos los derechos morales de la obra antes citada con arreglo al artículo 30 de la ley 23 de 1982. En concordancia, suscribimos este documento en el momento mismo de la ley 23 de entrega del trabajo final a la biblioteca de la Institución Universitaria Colegios de Colombia.

Castro Hernández, Alex Mauricio
CC. 80185718 de Bogotá

Prada Peñaloza, Jonny Alexander
CC. 88270824 de Cúcuta

Señores:

Sistema de Bibliotecas de UNICOC (SIBU)

Institución Universitaria Colegios de Colombia

Bogotá,

Autorizamos al Centro de Investigación del Colegio Odontológico de la Institución Universitaria Colegios de Colombia a consultar y reproducir con fines de investigación, parcial o totalmente el contenido del trabajo de grado titulado: **“DIÁMETRO DE LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE UN BLANQUEAMIENTO INTERNO EN PREMOLARES NO VITALES CON DOS AGENTES DE BLANQUEAMIENTO. UN ESTUDIO *IN VITRO*”**, presentado al Centro de Investigación como requisito del programa para optar a el título de **Especialista en Endodoncia** siempre que mediante la correspondiente cita bibliográfica se le de crédito al trabajo de investigación y a sus autores.

Castro Hernández, Alex Mauricio

CC. 80185718 de Bogotá

Prada Peñaloza, Jonny Alexander

CC. 88270824 de Cúcuta

FICHA TÉCNICA DE INVESTIGACIÓN DE TRABAJO DE GRADO

TÍTULO DEL TRABAJO: “DIÁMETRO DE LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE UN BLANQUEAMIENTO INTERNO EN PREMOLARES NO VITALES CON DOS AGENTES DE BLANQUEAMIENTO. UN ESTUDIO *IN VITRO*”

AUTORES: Castro Hernández, Alex Mauricio, Prada Peñaloza, Jonny Alexander.

ASESOR CIENTÍFICO: Dra. Sandra Milena Briñez Rodríguez

ASESOR METODOLÓGICO: Dra. Ivonne Andrea Ordóñez Monak

MATERIAL ANEXO: 2 CDs, 2 artículos científicos

FACULTAD: Odontología

TÍTULO OBTENIDO: Especialista en Endodoncia

CATEGORIA: Postgrado

PALABRAS CLAVES: Peróxido de hidrógeno, Endodoncia, Dentina, blanqueamiento interno, Historia, mecanismo de blanqueamiento de dientes. Perborato de sodio, túbulos dentinarios.

A Dios padre Todo poderoso, por permitirnos avanzar con nuestro proyecto de vida profesional, por guiarnos por un buen camino y darnos fuerzas para seguir adelante y no desfallecer en las adversidades que se presentaron, enseñándonos a enfrentarlas. Tu amor, bondad y misericordia no tienen fin Señor.

A nuestras familias por su apoyo incondicional, especialmente a nuestros padres por sus consejos, comprensión, amor y ayuda en nuestros momentos difíciles y a su vez ayudarnos con los recursos necesarios para poder salir adelante y poder alcanzar este sueño.

Finalmente, dedicamos a todas y cada una de las personas que han conformado parte de nuestra formación en estos dos años, como aspirantes a ser especialistas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo investigativo ha sido una gran bendición en todo sentido, por eso agradecemos a la Institución Universitaria Colegios de Colombia UNICOC, por permitir cumplir nuestro sueños.

A los docentes participantes en este proceso; Dra. Sandra Milena Briñez Rodríguez, por su paciencia y dedicación en este proceso y a la Dra. Sandra Elizabeth Aguilera Rojas, Dra. Ivonne Ordoñez Monak, por el aporte en el proceso investigativo.

De igual modo queremos agradecer a nuestros compañeros, a los que compartimos cada momento en nuestro aprendizaje en este hermoso camino, por su amistad y apoyo moral, ya que han aportado en un alto porcentaje a nuestras ganas de seguir adelante en nuestra carrera como especialistas.

Muchas Gracias...

TABLA DE CONTENIDO

Pág.

1.	ASPECTOS TEORICOS CIENTÍFICOS	12
1.1	Planteamiento de problema	12
1.2	Justificación	14
1.2.1.	Pregunta de investigación	15
1.3	Propósito.....	15
1.4	Antecedentes.....	16
1.5	Marco teórico	17
1.5.1	Antecedentes de los blanqueamientos dentales	17
1.5.2	Etiología y tipo de pigmentaciones	17
1.5.3	Agentes blanqueadores de uso interno	19
1.5.4	Mecanismo de acción de los blanqueamientos	20
1.5.5	Técnica de blanqueamiento de dientes no vitales	21
1.5.6	La dentina.....	22
1.5.7	Efectos de los agentes blanqueadores sobre la dentina	28
1.5.8	Reabsorción radicular externa.....	28
1.5.9	Efecto sobre las propiedades biomecánicas de la dentina	28
1.6	Objetivo general.....	30
1.6.1.	Objetivos específicos.....	30
2.	ASPECTOS METODOLÓGICOS.....	31
2.1.	Tipo de estudio	31
2.2.	Objeto de estudio.....	31
2.3.	Material objeto de estudio y unidad de observación	31
2.4.	Muestra.....	31
2.5.	Criterios de selección.....	31

2.5.1. Criterios de inclusión.	31
2.5.2. Criterios de exclusión	32
2.6. Procedimiento	32
2.6.1. Operacionalización de las variables	33
2.6.2. Instrumentos de recolección de datos	34
2.7. Aspectos Éticos	34
2.8. Análisis estadístico	35
3. RESULTADOS.....	36
4. DISCUSION	40
CONCLUSIONES	46
RECOMENDACIONES	47
BIBLIOGRAFÍA.....	48

1. ASPECTOS TEORICOS CIENTÍFICOS

1.1 Planteamiento de problema

Las pigmentaciones dentales han sido un gran problema a nivel estético, se clasifican en pigmentaciones externas e internas dependiendo de la estructura en donde se afecta el diente por el material cromogénico (1).

El blanqueamiento dental surge como una alternativa que logra mejorar la apariencia estética de los dientes. Cuando la pigmentación involucra la parte interna del diente se trata en la consulta de endodoncia con la técnica de blanqueamiento no vital o interno, con la aplicación de agentes blanqueadores (2). El blanqueamiento interno incorpora el agente blanqueador en la cámara pulpar en un contacto directo con la dentina, los agentes más utilizados en esta terapia son el peróxido de hidrógeno y el perborato de sodio en diferentes concentraciones (3). El ingrediente activo en la mayoría de los productos blanqueadores es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que se suministra directamente o por la descomposición del perborato de sodio en contacto con agua destilada o peróxido de hidrógeno al 30% (4) (5). Este último se ha utilizado durante muchos años en endodoncia, ya que la literatura lo reporta como uno de los agentes más eficaces en el blanqueamiento dental interno (6) (7).

Estos agentes blanqueadores son oxidantes fuertes, pueden clasificarse como orgánicos (cuando liberan radicales orgánicos) e inorgánicos (cuando sustituyen átomos de hidrógeno por metales). En altas concentraciones, el peróxido de hidrógeno es cáustico, es decir, quema los tejidos al contacto, debido a su bajo peso molecular, esta sustancia puede penetrar la dentina a través de los túbulos dentinarios, liberando oxígeno que rompen los enlaces dobles de los compuestos orgánicos e inorgánicos (8). Para poder realizar el blanqueamiento dental interno

es necesario que el agente blanqueador penetre las diferentes capas de dentina y así poder permitir el cambio de color visible (1) (8).

Dentro de la matriz extracelular de la dentina, se encuentran los túbulos dentinarios, que son espacios tubulares formados en su interior. Su estructura es variable dependiendo de la zona del diente, posee una mayor permeabilidad que el esmalte y permiten el paso a distintos elementos o solutos (colorantes, medicamentos, microorganismos etc.), que la atraviesan con facilidad, por tal motivo es importante el diámetro y la distribución de los túbulos dentinarios, que oscilan entre 2 a 4 μm con una longitud promedio de 1.5 a 2 mm de largo (9) (10).

Algunas investigaciones han demostrado que el uso de agentes blanqueadores como el peróxido de hidrógeno al 35%, pueden causar alteraciones en la estructura química de los tejidos duros de la dentina, al modificar su micro-dureza y rugosidad (11). Por otra parte, hay estudios que han demostrado que la exposición de los agentes blanqueadores durante 7 días, era suficiente para provocar una disminución de la resistencia a la tracción, la resistencia al cizallamiento y la micro-dureza de la dentina (12). Este cambio en la composición química de la dentina después del blanqueamiento puede deberse a una reducción del componente orgánico e inorgánico presente (13). Dado que la dentina intertubular tiene un contenido orgánico relativamente alto de aproximadamente un 20% en peso al compararlo con la dentina peritubular. En contraste a esto tenemos que la dentina peritubular, es hipermineralizada y es probable que sea más resistente al efecto oxidante del peróxido de hidrógeno (11).

Estas alteraciones pueden influir en la resistencia a la fractura de los dientes sometidos a blanqueamientos, siendo incluso más crítica en los dientes con terapia endodóntica (5). Dichas alteraciones también incluyen: un aumento de la permeabilidad dentinaria, resistencia a la fractura coronal y por último la

posibilidad de una reabsorción radicular externa a nivel cervical, la cual se puede presentar por difusión del agente blanqueador hacia el ligamento periodontal a través de los túbulos dentinarios (14) (15) (16). Helling en 1995, en un estudio sobre la penetración del *Streptococcus faecalis*. Sugirió que el aumento de la permeabilidad de la dentina podría ser a causa de la acidez de los agentes blanqueadores en altas concentraciones, abriendo los túbulos dentinarios, permitiendo la difusión de estos hacia el ligamento periodontal (17).

Teniendo en cuenta lo anterior es importante determinar, que tanto se podría ampliar el diámetro de los túbulos dentinarios, al verse afectada su estructura, a lo cual se podría asumir, que esto permitiría una mayor difusión de los agentes blanqueadores, y a su vez, podría aumentar la probabilidad de una reabsorción radicular externa, una patología con un mal pronóstico en odontología. Es así como se observó que actualmente, no se han establecido reportes sobre el efecto de los agentes blanqueadores en los cambios micro-estructurales en el diámetro de los túbulos dentinarios. Por esta razón el objetivo de estudio era determinar el cambio en el diámetro de los túbulos dentinarios, después de un blanqueamiento interno en premolares no vitales con peróxido de hidrógeno al 35% y perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30%.

1.2 Justificación

El cambio de color de los dientes o las pigmentaciones intrínsecas surgen a partir de complicaciones, como: hemorragias, trauma dento-alveolar, tejido pulpar, tejido necrótico, restos de materiales de endodoncia en la cámara pulpar y fármacos como la tetraciclina. Es por ello que el blanqueamiento dental interno es el procedimiento predilecto escogido en estas situaciones por los profesionales en odontología (18).

Algunos estudios han observado y reportado la reducción de la fuerza o alteraciones dentales después del uso de agentes para el blanqueamiento dental interno, y los cambios micro-estructurales que se producen en la superficie de la dentina como la disminución de la microdureza, la resistencia a la flexión, el módulo de flexión y la resistencia de la dentina a la fractura después del uso prolongado de agentes blanqueadores (19). Sin embargo, el efecto de los agentes blanqueadores, en los cambios del diámetro de los túbulos dentinarios no ha sido establecido.

Es por esta razón que se pretende con esta investigación, proveer información sobre los efectos de los agentes blanqueadores utilizados en el tratamiento de blanqueamiento dental interno, como el peróxido de hidrógeno al 35% y el perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30%, en el diámetro de los túbulos dentinarios. Lo cual conlleva a la siguiente pregunta:

1.2.1. Pregunta de investigación

¿En premolares extraídos por fines ortodónticos, al aplicar el blanqueamiento interno, ¿existe diferencia que identifique cambios en el diámetro de los túbulos dentinarios. ¿Pre y post aplicación de los agentes blanqueadores?

1.3 Propósito

Las técnicas de blanqueamiento de dientes no vitales o interno con agentes blanqueadores a base de peróxido de hidrogeno, han demostrado un alta eficacia en el aclaramiento del color de los dientes; sin embargo, los efectos de algunos de estos agentes, se convierten en un tema de preocupación en el campo odontológico, debido a que ocasionan según reportes, posibles cambios en la micro-estructura de la dentina a nivel intra-cameral en dientes no vitales (19).

No se han establecido reportes sobre el efecto de los agentes blanqueadores en los cambios especialmente en el diámetro de los túbulos dentinarios. Es por esa

razón que surge la investigación, ya que se han nombrado en otros estudios, temas como el aumento de la permeabilidad dentinaria, disminución de la resistencia a la fractura coronal y por último los posibles efectos como la reabsorción radicular externa, la cual se pueden llegar a presentar por la difusión del agente blanqueador hacia el ligamento periodontal a través de los túbulos dentinarios (14) (15) (16).

1.4 Antecedentes

Varios estudios han observado y reportado la reducción de la fuerza o alteraciones dentales después del blanqueamiento dental interno, pero no se ha establecido los cambios de estos agentes en el diámetro de los túbulos dentinarios.

Algunas investigaciones han demostrado que el uso de agentes blanqueadores como el peróxido de hidrógeno al 35%, pueden causar alteraciones en la estructura química de los tejidos duros de la dentina, al modificar su micro-dureza y rugosidad (11). Se han reportado estudios que han demostrado que la exposición de los agentes blanqueadores durante 7 días, era suficiente para provocar una disminución de la resistencia a la tracción, la resistencia al cizallamiento y la micro-dureza de la dentina (12). Debido posiblemente a la reducción del componente orgánico e inorgánico del tejido dentinario (13).

Estas alteraciones pueden influir en la resistencia a la fractura de los dientes sometidos a blanqueamientos, siendo incluso más crítica en los dientes con terapia endodóntica (5). Dichas alteraciones también incluyen: un aumento de la permeabilidad dentinaria, resistencia a la fractura coronal y por último la posibilidad de una reabsorción radicular externa, la cual se puede presentar por difusión del agente blanqueador hacia el ligamento periodontal a través de los túbulos dentinarios (14) (15) (16). Incluso autores como Heling en 1995, Sugirió que el aumento de la permeabilidad de la dentina podría ser a causa de la acidez

de los agentes blanqueadores en altas concentraciones, abriendo los túbulos dentinarios, permitiendo la difusión de estos hacia el ligamento periodontal (17).

1.5 Marco teórico

1.5.1 Antecedentes de los blanqueamientos dentales

El blanqueamiento interno o blanqueamiento de dientes no vitales, lo describe la literatura por primera vez a mediados del siglo XIX, utilizando diferentes agentes químicos. Inicialmente se recomendó la cal clorada, seguida de ácido oxálico y compuestos y soluciones de cloro como: el peróxido de sodio, el hipoclorito de sodio o usando mezclas con una concentración de 25% de peróxido de hidrógeno y éter al 75% conocido como pirozona. En 1884 Harlan realizó un reporte inicial del uso de peróxido de hidrógeno. Abbot en 1918 reportó el uso de peróxido de hidrógeno a una concentración del 30% conocida como Superoxol. En 1924 Prinz recomendó utilizar soluciones calentadas que consistían en la mezcla de perborato sódico y Superoxol (peróxido de hidrógeno 30%) para limpiar la cavidad pulpar. Algunos autores propusieron utilizar corrientes de luz, de calor o eléctricas para acelerar la reacción química activando el agente blanqueador. El perborato de sodio en forma de monohidrato, trihidrato o tetrahidrato se utilizó como un agente liberador de peróxido de hidrógeno. Se utilizó desde 1907 como oxidante y agente blanqueador, especialmente en jabones en polvo y detergentes (2).

Actualmente los agentes blanqueadores que se utilizan para el tratamiento de blanqueamientos en dientes no vitales con obturación endodóntica son el peróxido de hidrógeno, perborato de sodio y peróxido de carbamida en diferentes concentraciones (20).

1.5.2 Etiología y tipo de pigmentaciones

Las pigmentaciones se presentan según la zona y se clasifican en intrínseca o extrínsecas. Las pigmentaciones intrínsecas están relacionadas con los tejidos

propios del mismo diente, en relación con esmalte, dentina y propiamente la pulpa, por tanto la alteración de alguno de estos tejidos puede ocasionar cambios de apariencia de manera visible, transmitidos también por reflejos de luz a través del esmalte y las pigmentaciones extrínsecas están relacionadas con sustancias externas que afectan las estructuras del diente (21).

❖ **Pigmentaciones intrínsecas**

Etiológicamente las pigmentaciones intrínsecas están ocasionadas por diferentes factores como: Necrosis de la pulpa, hemorragia, restos de tejido después del tratamiento endodóntico e incluso materiales utilizados durante el tratamiento y también puede presentarse por factores sistémicos, metabólicos y genéticos (21).

El envejecimiento es una causa común de los cambios de color dental. Debido a la aposición con el pasar del tiempo de dentina secundaria, que es más oscura y más opaca que la dentina original y cuando el esmalte sobre esta se hace más delgado por el desgaste en la función masticatoria. El exceso de fluoruro en el agua potable, superior a 1-2 ppm, puede causar alteración metabólica en los ameloblastos, resultando en una matriz defectuosa y calcificación inadecuada de los dientes (20).

Los cambios de color por ingestión de drogas pueden ocurrir antes o después de que el diente esté completamente formado, como la tetraciclina que se incorpora en la dentina durante la calcificación del diente, causando decoloración (1). Además, las manchas intrínsecas también están asociadas con condiciones hereditarias como la amelogénesis imperfecta y dentinogénesis imperfecta. Dos defectos caracterizados por la incompleta mineralización del esmalte y la dentina (21).

El trauma dental es un factor que puede implicar un sangrado interno en el diente, penetrando en los túbulos dentinarios, provocando un cambio de color. Los metales liberados de los materiales restauradores dentales también pueden

causar manchas en el interior del diente (22). Las manchas intrínsecas no pueden eliminarse mediante procedimientos profilácticos regulares. Sin embargo, se pueden reducir blanqueándolas con agentes que penetran el esmalte y la dentina para oxidar las moléculas cromogénicas. Las manchas que responden rápidamente al efecto del blanqueamiento en la mayoría de los casos son las manchas de envejecimiento amarillento, seguidas de las pigmentaciones de los dientes con fluorescencia marrón y en menor medida las manchas azul gris producidas por tetraciclinas (23). Este tipo de pigmentaciones se manejan en la consulta de endodoncia con agentes blanqueadores de uso interno.

1.5.3 Agentes blanqueadores de uso interno

El blanqueamiento interno en dientes desvitalizados es un tratamiento frecuentemente utilizado como una técnica de estética dental. Algunos materiales utilizados por muchos años muestran en gran manera la efectividad de las sustancias químicas empleadas (24). Por lo tanto la búsqueda de la sustancia química ideal para blanqueamiento dental empezó a surgir en los años 1800. Se creó que en 1984, Harlan publicó el primer informe sobre el uso del peróxido de hidrógeno (25).

Sin embargo el presente estudio se enfoca en la utilización de dos agentes blanqueadores que serán utilizados con el propósito de determinar cuál de estos dos agentes ocasionan cambios dimensionales en los túbulos dentinarios. Se nombrarán algunas características específicas de los dos agentes blanqueadores.

❖ Peróxido de Hidrógeno

A nivel odontológico es utilizado en concentraciones que van desde el 5% al 35% (25). Sin embargo, las altas concentraciones al 30% se debe utilizar con mucha precaución con el propósito de evitar la reabsorción (26). Es incoloro, viscoso, y con bajo peso molecular, este líquido tiene la posibilidad de penetrar el tejido dentinario, donde libera oxígeno y rompe los dobles enlaces del compuesto

orgánico e inorgánico de los túbulos dentinarios (27). El peróxido de hidrógeno es producido, controlado, utilizado y destruido durante la función del cuerpo, a su vez el cuerpo puede protegerse contra su estrés oxidativo (24).

❖ **Perborato de sodio**

Es un polvo blanco, inoloro, soluble en agua (24). Es estable en medio seco, pero al ser mezclado con ácido, aire caliente o agua este se descompone y forma de metaborato sódico, peróxido de hidrógeno y oxígeno (2) (28). Se presentan en 3 formas como monohidrato, trihidrato y tetrahidrato esto difiere en el contenido de oxígeno y tienen una eficacia diferente (29). Estudios han demostrado que el perborato es más efectivo al mezclarlo con peróxido hidrógeno al 30% que con agua (30).

1.5.4 Mecanismo de acción de los blanqueamientos

El blanqueamiento interno es un proceso de decoloración que ocurre en la superficie dentinaria del diente afectado. Esta superficie presenta pigmentos que químicamente están formados por moléculas orgánicas, de cadenas largas conjugadas con enlaces simples o dobles alternados, llamadas cromóforos (31). Por lo tanto la acción química del blanqueamiento actúa en estos cromóforos, rompiendo sus cadenas largas a moléculas más pequeñas, siendo estas más ligeras produciendo el blanqueamiento en los tejidos internos del diente (20) (31). Durante el proceso las cadenas largas se transforman en carbono y agua, junto con la liberación del oxígeno propia de la acción del blanqueamiento (26).

El peróxido de hidrógeno actúa por medio de la oxidación de una amplia variedad de compuestos orgánicos e inorgánicos. Los mecanismos de estas reacciones son variados y dependen del sustrato, el entorno de reacción y de la velocidad de reacción química. El mecanismo de acción del peróxido no se conoce muy bien, pero puede llegar a formar variaciones de oxígeno activo, esto depende de la

temperatura, pH presente e incluso materiales de transición presentes en el tejido dentinario (31).

Algunos autores determinan que en otras condiciones, como en reacción fotoquímica usando luz e incluso laser sobre el peróxido de hidrógeno, pueden llegar a formar radicales libres hidroxilo aumentando su acción (32). Sin embargo la aplicación de calor en la cavidad pulpar debe considerarse un problema ya que el diente puede iniciar un proceso de reabsorción radicular externa (26).

1.5.5 Técnica de blanqueamiento de dientes no vitales

El blanqueamiento de dientes no vitales está estrictamente relacionado a dientes sometidos a tratamiento endodóntico, esto con el fin de evitar alguna filtración de microorganismos y también del agente blanqueador dentro del conducto radicular, lo que podría causar riesgos perjudiciales en el éxito del tratamiento (20).

Existen varias técnicas de blanqueamiento en dientes no vitales usadas hoy en día, las más comunes son la técnica de blanqueamiento ambulatorio introducida por primera vez por Spasser en 1961, su modificación posteriormente por Nutting y Poe en 1964 y la técnica de blanqueamiento termocatalítica. Es importante conocer la causa de la pigmentación que nos permita emplear una técnica adecuada de blanqueamiento (18).

La técnica de blanqueamiento ambulatorio consiste en sellar una mezcla de perborato sódico con agua en la cámara pulpar del diente afectado y adicionalmente se coloca una barrera protectora sobre el sistema de conductos radiculares usando un material que permita un adecuado selle y no permita la filtración del material blanqueador como el ionómero. Este procedimiento se repite a intervalos normalmente de dos semanas hasta que se consiga el resultado de blanqueo deseado (18).

Esta técnica se modifica con una combinación de perborato de sodio y peróxido de hidrógeno al 30% de igual manera sellándolos en la cámara pulpar durante una semana; esta técnica se conoce como blanqueamiento ambulatorio modificado (18).

La técnica termocatalítica utiliza peróxido de hidrógeno al 30 o 35% el cual es introducido en la cámara pulpar y se activa durante 5 minutos por luz o calor, la temperatura esta usualmente entre 50 y 60°C, se espera otros 5 minutos que se enfríe el diente, se retira el material, se seca el diente y se combina con la técnica de blanqueamiento ambulatorio entre las visitas y se realiza control cada 2 semanas considerando o no aplicar la técnica nuevamente (28).

Otra técnica muy comúnmente utilizada es la técnica de blanqueamiento interno y externo. Es una modificación de la técnica de blanqueamiento no vital ambulatoria y consiste en la aplicación de peróxido de carbamida al 15% tanto por vestibular como por palatino por medio de una guarda bucal y simultáneamente con el perborato de sodio el cual se aplica internamente (28). En este orden de ideas podemos determinar que estos agentes blanqueadores efectúan su acción directa en la estructura de la dentina.

1.5.6 La dentina

La dentina es el tejido principal del diente caracterizado por tejido mineralizado (33). Según A. Nazarí, D. Bajaj et al, afirman que la dentina ocupa la mayor parte del diente y está compuesta de un 45% de tejido inorgánico, un 30% orgánico y 25% de agua (34).

❖ Composición de la dentina

Microscópicamente el tejido inorgánico es un nano-compuesto hidratado por cristales de hidroxiapatita de un espesor de 5 nm equivalente al 45% en volumen, en cuanto al tejido orgánico la dentina presenta una distribución de fibrillas de

colágeno tipo I de un diámetro entre 50-100 nm equivalente al 30% en volumen, lo restante son equivalencias de proteínas líquidas y no colágenas que suman un 25% (35) (36). Desde un punto de vista en general el mineral inorgánico en la dentina es el que proporciona fuerza, rigidez y el colágeno orgánico la dureza (37).

Su matriz orgánica estructuralmente hablando los conforman los túbulos dentinarios, Ruschel HC, Ligocki GD et al, afirman que la principal característica estructural de la dentina es su patrón tubular (38). Estos túbulos dentinarios son espacios tubulares formados dentro de la matriz extracelular de dentina (33). Los componentes de la matriz extracelular está formada por proteínas estructurales y moléculas que están implicadas en la formación y mineralización dentinaria, los componentes de la matriz extracelular también pueden estar implicados en la señalización celular (39).

❖ Propiedades de la dentina

Las propiedades de la dentina son atribuidas a su composición. Una de sus propiedades es la dureza, que está determinada por el grado de mineralización siendo mucho menor en el esmalte y mayor en el cemento. Algunos estudios demostraron que la resistencia a la fractura oscila entre 1 y 2 MPa, siendo esta resistencia más baja en sentido perpendicular a los túbulos de la dentina (40) (41).

En cuanto a su color la dentina presenta una tonalidad blanco amarillento y puede variar en el individuo e incluso de un diente a otro (10). En este nivel aún no se han realizado estudios de color comparativo de la dentina tanto en el sector anterior como posterior (42). En el caso de la translucidez como propiedad esta depende del grado de mineralización de la dentina, siendo la dentina la que aporta el color al diente. El color depende también de la vitalidad pulpar, la edad y de las pigmentaciones que pueden ser de tipo endógeno o exógeno (2).

La translucidez en la dentina está en menor cantidad que en el esmalte debido a su menor grado de mineralización, por lo tanto, es fundamental esta propiedad ya que alguna alteración en la dentina se puede llegar a presentar cambios de apariencia de manera visible e incluso transmitida también por reflejos de luz (43). La radiopacidad también forma parte de sus propiedades y esta depende del contenido mineral siendo menor que la del esmalte y algo superior a la del tejido óseo y el cemento.

La elasticidad atribuida en la dentina tiene gran importancia funcional, esta permite soportar los impactos recibidos sobre el esmalte, por lo tanto desde un punto de vista mecánico, el tejido dentinario permite la disipación de fuerzas de tensión (44) (45).

La permeabilidad de la dentina está atribuida a los túbulos dentinarios, estos permiten el paso de solutos que atraviesan con facilidad la pared dentinaria, se han realizado estudios acerca de la orientación propia de estos túbulos en seres humanos, e histológicamente esta orientación varía en diferentes zonas del diente e incluso entre maxilares (41).

La superficie de la dentina aparece como un sustrato altamente heterogéneo, cuyas propiedades físicas dependen principalmente de la relación mineral y orgánica y también de la densidad del túbulo dentinario. Estos dos parámetros varían según la edad del diente, el tipo y el área topográfica de la dentina. Básicamente, la dentina superficial cerca de la unión del esmalte y la dentina profunda cerca de la cámara de la pulpa exhiben características diferentes (46).

Entender la micro-estructura del tejido dentinario puede proporcionar una comprensión amplia como base para entender la correlación entre estructura y propiedad de este tejido (47). Este amplio conocimiento puede e incluso llegar a contribuir a mejorar el tratamiento de aquellos dientes afectados conocidos

comúnmente como el síndrome del diente agrietado y caries dental. Los estudios microscópicos de la dentina iniciaron por microscopía óptica y posteriormente con microscopía electrónica, este último ha contribuido al estudio de sus propiedades micro-estructurales y mecánicas (45).

❖ Clasificación histotopográfica de la dentina

Formada por tres zonas que están organizadas y estructuras por tejido dentinario. Una primera zona es llamada Dentina de manto caracterizada por ser la primera dentina sintetizada por los odontoblastos recién diferenciados, es atubular, comprendida por una capa de 30 micras (48). Por lo tanto la matriz orgánica de este tipo de dentina está formada por fibras de colágeno muy gruesas que se disponen en forma ordenada y regular (49).

Otra zona a destacar es la Dentina circumpulpar, se extiende desde la dentina de manto hasta la predentina, su nombre proviene del hecho de que esta alrededor a la pulpa y esta forma la mayor parte de la capa de dentina, esta zona está formada por dentina intertubular con un 90 % de colágeno (48).

En cuanto a la tercera zona se denomina Predentina, es una capa de dentina sin mineralizar de 20 a 30 μm de ancho, situada entre odontoblastos y dentina circumpulpar, constituida por prolongaciones citoplasmáticas, acompañadas por fibras nerviosas amielínicas y matriz orgánica dentinaria. Estudios iniciales determinaron que esta zona de la dentina puede presentar colonización bacteriana (50).

❖ Estructura histológica de la dentina

• Túbulos dentinarios

Los túbulos dentinarios son espacios tubulares que contienen proyecciones citoplasmáticas de los odontoblastos con fluido (fluido dentinario), que se

extienden a través de toda la capa dentinaria y van desde la unión amelodentinaria hasta la pulpa, su diámetro es variable dependiendo de la zona y oscilan entre 900 nm cerca de la unión amelodentinaria hasta 2.5 μm cerca a la pulpa (33) (45).

Estos túbulos varían en su tamaño, están entre 2 y 4 μm y el número de túbulos dentinarios de 18.000 y 21.000 túbulos por mm^2 (10). Se considera que la cantidad de túbulos dentinarios cerca de la unión amelodentinaria es de unos 10.000 túbulos por mm^2 y esta cantidad aumenta hasta unas cinco veces más cuando están cercanos a la pulpa, a unos 50.000 túbulos por mm^2 (51).

El fluido dentinario de los túbulos y las fibras nerviosas sensoriales desempeñan un papel importante en el abordaje de la primera línea de defensa junto con los odontoblastos subyacentes a la dentina tubular. En túbulos expuestos, el fluido dentinario reacciona hacia el exterior evitando la difusión hacia el interior de sustancias extrañas como toxinas y microorganismos. Las terminaciones nerviosas sensoriales en los túbulos dentinarios proporcionan detección temprana de cambios de temperatura, estímulos mecánicos y nociocepción para proteger la pulpa de lesiones (52).

Los odontoblastos son los que participan en el proceso de mineralización de la dentina y son los responsables de la formación y mantenimiento de la misma. Por lo tanto la dentina experimenta un aumento en el contenido mineral con envejecimiento. Después de la tercera década de vida hay una reducción gradual en las dimensiones del lumen del tubo debido a una deposición continua de mineral (34).

- **Dentina intratubular**

Ubicada a nivel de la pared del tubo dentinario, la cual es muy mineralizada. En cortes transversales bajo microscopía óptica, se pueden observar bandas claras más mineralizadas que la dentina intertubular. Conformada por tres zonas: zona

hipomineralizada externa que corresponde la interfase entre dentina intratubular-intertubular. La zona hipermineralizada media que es la capa de mayor espesor y es de mayor mineralización de la dentina intratubular y la zona hipomineralizada interna, es la última en formarse y es la que puede llegar a obliterar el túbulo dentinario (48).

- **Dentina peritubular**

Ubicada en el lumen de los túbulos dentinarios, contiene muy pocas fibras colágenas, alrededor de un 10%. Es una matriz dentinaria altamente calcificada y posee una pequeña cantidad de mucopolisacaridos (45). Esta dentina recubre y conforma la pared del túbulo dentinaria, constituido por un anillo hipermineralizado, su formación es continua. Cuando los túbulos se llenan de depósitos minerales, la dentina se transforma en dentina esclerótica disminuyendo así la permeabilidad dentinaria protegiendo la pulpa (45) (51). La presencia de dentina peritubular a nivel coronal mejora la rigidez en esta zona a comparación de la zona amelodentinaria (29).

- **Dentina intertubular**

Constituye el mayor componente de la dentina, y representa el principal producto secretor de los odontoblastos (51). Contiene aproximadamente 30% en volumen de fibrillas mineralizadas de colágeno tipo I, que miden entre 50 y 200 nm de diámetro y sobre estas fibras se depositan los cristales de apatita, envueltas alrededor perpendicularmente al eje largo del túbulo dentinario (45) (51). Se puede determinar que la dentina intertubular es más abundante a nivel coronal que a nivel radicular, caracterizada por una rica malla colágena dentro de ella, a comparación de la dentina peritubular (10). Estudios han determinado que la dentina intertubular se preserva más que la dentina peritubular en el momento que presenta descalcificación en su estructura (33). Estudios han reportado que el uso de los agentes blanqueadores presenta efectos en los cambios micro-estructurales de la dentina (11) (12).

1.5.7 Efectos de los agentes blanqueadores sobre la dentina

Aunque se ha demostrado la eficacia de estos agentes en la aclaración del color del diente, su uso se ha asociado también con complicaciones indeseables sobre los tejidos duros. Las posibles complicaciones incluyen, reabsorción radicular externa, aumento de la permeabilidad de la dentina, y la alteración en la estructura química de la dentina. Se cree además que el blanqueamiento también podría causar una mayor fragilidad de la estructura coronal del diente como resultado de la desecación de la dentina y el esmalte (12).

1.5.8 Reabsorción radicular externa

La reabsorción radicular externa ha sido asociada, pero no se ha podido evidenciar con certeza al uso de agentes blanqueadores, en combinación con calor como activador y con alguna historia de traumatismo dental. Harrington y Natkin en 1979 informaron de 7 casos con reabsorción radicular de forma severa después del tratamiento de blanqueamiento interno activado con calor, en dientes tratados endodónticamente y secundario a trauma (53).

Lado y Stanley en 1983 y Cvek y Lindvall en 1985 han reportado una reabsorción similar, aunque no siempre se mencionó un historial de traumatismo ni se conocían los detalles de las técnicas de blanqueamiento utilizadas. Estos estudios proporcionan una amplia evidencia de que los procedimientos de blanqueamiento interno pueden producir reabsorción radicular externa; Sin embargo, lo que no se conoce es el factor o los factores que constituyen la etiología de esta reabsorción. Parece evidente que algún aspecto del procedimiento, posiblemente en combinación con el trauma previo, daña el cemento y / o el ligamento periodontal (53).

1.5.9 Efecto sobre las propiedades biomecánicas de la dentina

El blanqueamiento en dientes no vitales ha sido asociado con cambios en las propiedades biomecánicas de la dentina. Estudios han demostrado que la

exposición al peróxido de hidrógeno al 30% durante 15 min o menos era suficiente para provocar una disminución de la microdureza del esmalte y la dentina (12).

El conocimiento de las propiedades biomecánicas de los tejidos dentales duros es importante para la comprensión de cómo se distribuyen y se absorben las fuerzas masticatorias a través del diente. Dado que la dureza puede estar relacionada con otras propiedades mecánicas tales como el módulo de Young que indica la rigidez de un objeto en este caso de la dentina y el límite de elasticidad que nos dice la fuerza necesaria aplicada antes de que se deforme la dentina sin recuperar su estado inicial (12).

Se ha comprobado que la exposición directa al peróxido de carbamida al 10% causa una disminución significativa en la resistencia a la flexión y el módulo de flexión de la dentina en incisivos de bovino (54). Además de encontrar que la resistencia a la fractura de la dentina en estudios *in vitro* se reduce después del uso prolongado de productos blanqueadores aplicados directamente como el peróxido de carbamida al 10%, el gel de peróxido de hidrógeno al 10% y el peróxido de hidrógeno al 30% durante 8 semanas (14).

❖ Efecto sobre la estructura química de la dentina

Los agentes blanqueadores pueden promover alteraciones químicas en la composición del diente, reduciendo la cantidad de calcio, fosforo, potasio y azufre de la dentina. Estos elementos están presentes en el componente inorgánico de los cristales de hidroxiapatita y la reducción en su porcentaje en peso podría interpretarse como una desmineralización. Agentes blanqueadores como el peróxido de hidrógeno puede cambiar la estructura de hidroxiapatita, reduciendo la relación Ca y fosforo de la dentina (19).

❖ **Efectos sobre los túbulos dentinarios**

Los agentes blanqueadores son considerados oxidantes fuertes, pueden producir cambios en la composición química de la dentina, esto puede deberse a una reducción del componente orgánico presente en la dentina (11).

La dentina intertubular tiene un contenido orgánico relativamente alto de aproximadamente 20% en peso en comparación con la dentina peritubular que es considerada más mineralizada y carece de colágeno como componente orgánico de su matriz, es probable que la disminución de la dureza de la dentina se deba principalmente a la oxidación del componente orgánico en la dentina intertubular y la consecuente pérdida de contenido mineral. Es probable que la dentina peritubular sea más resistente al efecto oxidante de los agentes blanqueadores y más del peróxido de hidrógeno (11).

1.6 Objetivo general

Determinar el cambio en el diámetro de los túbulos dentinarios, después de un blanqueamiento interno en premolares no vitales con peróxido de hidrógeno al 35% y perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30%.

1.6.1. Objetivos específicos.

- Determinar si la aplicación de peróxido de hidrógeno al 35%, producen cambios en el diámetro de los túbulos dentinarios.
- Determinar si la aplicación de perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30%, producen cambios en el diámetro de los túbulos dentinarios.
- Comparar los posibles cambios del diámetro de los túbulos dentinarios entre los dos agentes blanqueadores, peróxido de hidrógeno a 35 % y perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30%.

2. ASPECTOS METODOLÓGICOS

2.1. Tipo de estudio

Experimental *in vitro*

2.2. Objeto de estudio

Túbulos dentinarios de dientes premolares superiores e inferiores

2.3. Material objeto de estudio y unidad de observación

Dientes premolares superiores e inferiores, extraídos con fines ortodónticos de manera atraumática. Se observarán los campos obtenidos por el microscopio electrónico de barrido (SEM) en cada diente y con respecto a la cantidad de túbulos obtenido en los campos se medirá en micrómetros el diámetro de estos túbulos dentinarios.

2.4. Muestra

Muestreo no probabilístico por conveniencia, con el cual se definió una muestra de 15 dientes premolares entre superiores e inferiores, extraídos con fines ortodónticos de manera atraumática.

2.5. Criterios de selección

2.5.1. Criterios de inclusión.

- ✓ Premolares permanentes superiores e inferiores
- ✓ Premolares cuya exodoncia haya sido con fines ortodónticos
- ✓ Premolares cuya exodoncia haya sido atraumática.

2.5.2. Criterios de exclusión

- ✓ Premolares con anomalías del desarrollo
- ✓ Premolares con caries
- ✓ Premolares con restauraciones extensas
- ✓ Premolares fracturados
- ✓ Premolares con degeneración pulpar calcificante
- ✓ Pérdida de estructura dental durante extracción del diente

2.6. Procedimiento

Se realizó un muestreo no probabilístico por conveniencia, con el cual se definió una muestra de 15 premolares, siguiendo los criterios de inclusión y exclusión establecidos. Posterior a las extracciones, los premolares se conservaron en solución buffer con un pH de 7.0, estos se enumeraron de 1 a 15 y se seccionaron en sentido vestíbulo - palatino y vestíbulo – lingual, premolares superiores o inferiores respectivamente, siguiendo su eje longitudinal y se dividieron en dos segmentos (A y B) obteniendo 30 segmentos.

Se realizó el retiro del tejido pulpar de manera mecánica con una cucharilla de black y luego fueron sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 5,25% durante 45 minutos, para disolver el tejido pulpar remanente que podía quedar en los túbulos dentinarios (55). Luego las muestras se enjuagaron durante 5 minutos con solución salina para retirar el hipoclorito de sodio. Cada segmento fue secado a temperatura ambiente por 3 días. Los segmentos de cada diente se marcaron como (A y B) con la numeración respectiva a cada diente de la siguiente manera, al diente 1 del segmento A se marcó como A1 y al diente 1 del segmento B se marcó como B1 y así consecutivamente hasta los 15 dientes, luego se empacaron en bolsas selle fácil, enumeradas de igual forma del 1 a 15.

Se tomó la imagen inicial de los túbulos dentinarios de los segmentos (A y B) bajo microscopía electrónica de barrido (SEM) a 2000x de magnificación, a nivel de la cámara pulpar, delimitando un área a 2 mm². Estas primeras imágenes correspondieron al grupo control, como control A (CA) y control B (CB). Se obtuvieron por cada campo 3 tomas bajo SEM para cubrir la totalidad del campo de la cámara pulpar. Posterior a esto, se procesó el área de los túbulos dentinarios de cada imagen con el software visualizador **ImageJ**. El cual es un programa de procesamiento de imágenes digitales programado en Java y desarrollado en el National Institutes of Health que permite mostrar, editar, analizar, procesar, guardar, e imprimir imágenes (56). Esto con el fin de determinar el diámetro inicial de los túbulos dentinarios en los dos grupos control.

Una vez obtenidos los resultados del grupo control se le aplicó el agente blanqueador a base de peróxido de hidrógeno al 35% a cada segmento correspondiente al grupo A y el perborato de sodio en combinación con peróxido de hidrógeno al 30 % a cada segmento correspondiente al grupo B, a nivel de la cámara pulpar. Después de la aplicación de los agentes blanqueadores se almacenaron las muestras en una cámara de estandarización de temperaturas entre 37°C a 37.5°C por 7 días, luego se lavaron con agua destilada durante 5 minutos y se secaron a temperatura ambiente por 3 días. Se realizaron nuevamente 3 tomas para cubrir la totalidad del campo y se designaron como grupo experimental A (EA) y experimental B (EB) se procesaron nuevamente el área de los túbulos dentinarios con el software visualizador **ImageJ** para obtener el área promedio de los túbulos dentinarios; sin embargo se observaron irregularidades tomadas por el programa como un área única, obteniendo áreas muy grandes o muy pequeñas, las cuales fueron excluidas si no correspondían al diámetro de 2 a 4 µm (56).

2.6.1. Operacionalización de las variables

- ✓ Independiente: Dientes premolares superiores e inferiores.

- ✓ Interviniente: Peróxido de hidrógeno al 35%, perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30%, cámara de estandarización de temperaturas para conservación de la muestra.
- ✓ Dependiente: Diámetro de los túbulos dentinarios

2.6.2. Instrumentos de recolección de datos

- ✓ Microscopía electrónica de barrido (SEM) a 2000x de magnificación, 3 campos obtenidos por muestra.
- ✓ Medición del diámetro de los túbulos dentinarios de los campos con el programa visualizador **ImageJ**.

2.7. Aspectos Éticos

Norma técnica. Se toma como elementos de investigación los métodos de ensayo para materiales odontológicos NORMA 5195 de 2003 que corresponde a la norma ISO 7405 de 1997. La norma 1810 2004 que corresponde a la norma ISO 4049 de 2000. La norma 272 de 1968 que tiene por objeto establecer los procedimientos que deben seguirse para la extracción y preparación de las muestras de materiales dentales, sobre las cuales se han de efectuar los ensayos para establecer su calidad.

Ley 8430 de 1993, la cual establece las normas técnicas, científicas y administrativas para la investigación en salud, en el artículo 11, clasifica el presente estudio, como una investigación sin riesgo, que se caracteriza por emplear el registro de datos de procedimientos comunes entre el cual se encuentra los dientes extraídos por indicación terapéutica, en nuestro caso se utilizaran premolares superiores e inferiores los cuales fueron extraídos por tratamiento de ortodoncia.

Se realizará un consentimiento informado de donación de órganos en el cual se le explicará a la persona donante la utilización y procedimiento a realizar con el órgano dental donado describiéndole el enfoque investigativo y metodología de estudio.

2.8. Análisis estadístico

Una vez obtenidas las mediciones de las áreas de los túbulos dentinarios, se promediaron y se sometieron al análisis de varianza ANOVA que determina estadísticamente si los resultados de mayor a dos grupos presentan alguna diferencia significativa o no. Para determinar la diferencia entre cada grupo control y experimental se aplicó la prueba Tukey de Post Hoc, que determina que medidas difieren entre sí, identificando los subconjuntos homogéneos con medidas que no se diferencian, siguiendo el valor p. Esta prueba se utiliza junto con ANOVA en estudios *in vitro*, que implica un número elevado de comparaciones con un nivel de significancia al 5%.

3. RESULTADOS

Al realizar la comparación entre todos los grupos (CA, EA, CB, EB), se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000$; ANOVA).

Al comparar entre el grupo CA y el grupo EA, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0,013$; Tukey), siendo mayor el promedio del diámetro de los túbulos dentinarios en el grupo EA con respecto al grupo CA.

Tabla. 1

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
CA	2394	3,04659	0,56039	2,000	3,999
EA	1113	3,10866	0,57225	2,000	3,999

Tabla. 1 Resultados del promedio del diámetro de los túbulos dentinarios entre el grupo CA y EA.

IMAGEN CA

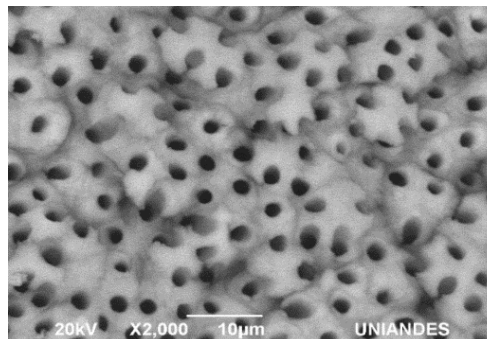
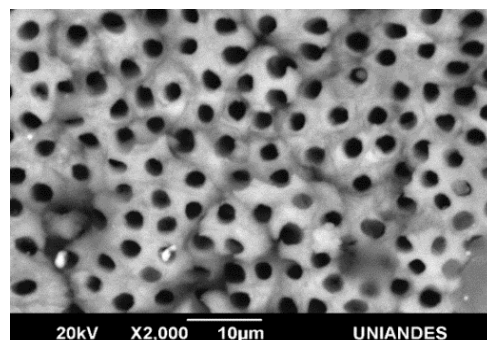


IMAGEN EA



Al comparar entre el grupo CB y el grupo EB, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p= 0,000$; Tukey), siendo mayor el promedio del diámetro de los túbulos dentinarios en el grupo CB con respecto al grupo EB.

Tabla. 2

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
CB	2664	2,99814	0,56629	2,000	3,999
EB	1498	3,11014	0,54898	2,000	3,996

Tabla. 2 Resultados promedio del diámetro de los túbulos dentinarios entre el grupo CB y EB.

IMAGEN CB

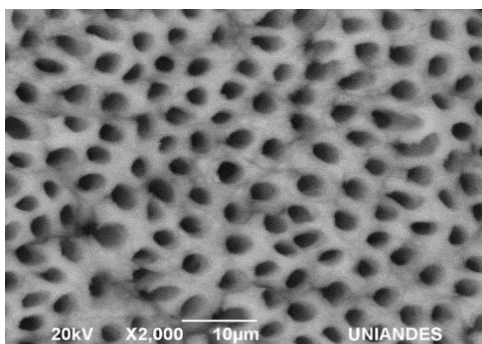
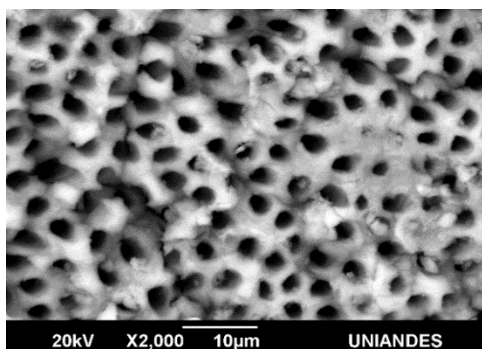


IMAGEN EB



Al comparar entre grupos experimentales EA y EB no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p=1$; Tukey).

Tabla. 3

	N	Media	Desviación estándar	Mínimo	Máximo
EA	1113	3,10866	0,57225	2,000	3,999
EB	1498	3,11014	0,54898	2,000	3,999

Tabla 3 Comparaciones entre grupos experimentales EA y EB.

IMAGEN EA

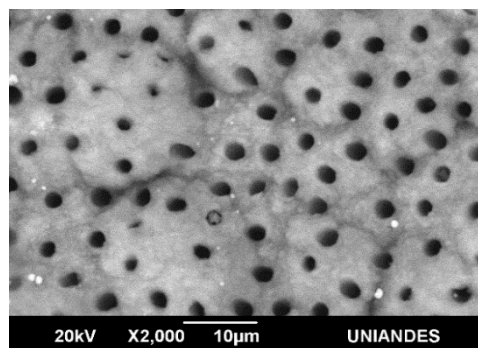
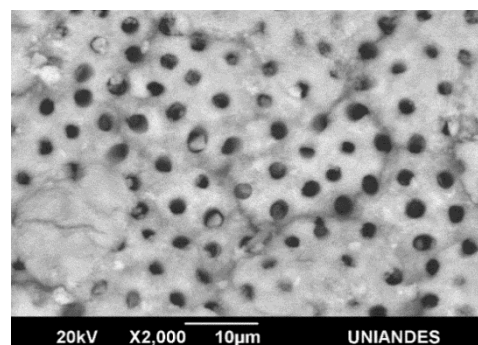
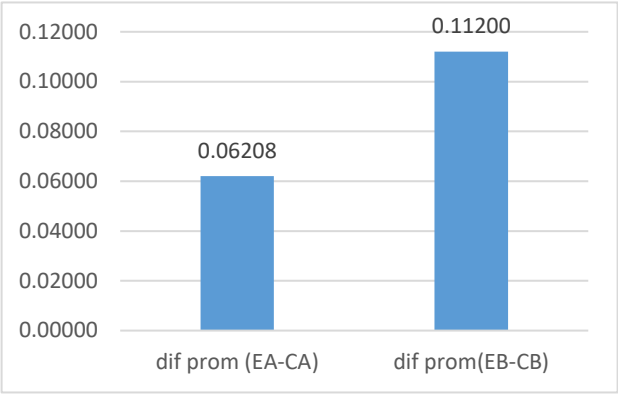


IMAGEN EB



Sin embargo, el comportamiento del peróxido de hidrógeno al 35% en el grupo A fue mejor, ya que, entre el CA y EA, el área que se amplió de los túbulos

dentenarios fue menor, con respecto al CB y EB del perborato de sodio más peróxido de hidrógeno al 30%. **Gráfica**



4. DISCUSION

Las pigmentaciones dentales han sido un gran problema a nivel estético, son complicaciones que ocurren por diversos factores los cuales causan cambios de color en el diente de forma extrínseca o intrínseca, dependiendo la estructura afectada por el material cromogénico (1).

Ante este problema el blanqueamiento dental surge como una alternativa de tratamiento, el cual logra mejorar la apariencia de los dientes. (2). En endodoncia se utiliza la técnica de blanqueamiento dental interno, donde se incorpora el agente blanqueador en el interior de la cámara pulpar en un contacto directo con la dentina; este tipo de técnicas se utiliza en dientes sometidos a previos tratamientos endodónticos (2).

Para este estudio se utilizó el peróxido de hidrógeno al 35% y el perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30%, ya que han sido los dos agentes blanqueadores más reportados debido a su gran efectividad en el aclaramiento dental, como lo describe Bersezio C y Cols en el 2018 en su estudio, donde informó, la efectividad del peróxido de hidrógeno al 35% en la técnica de blanqueamiento dental no vital a un periodo de 6 meses y Rostein I y Cols en 1991 que estudió la efectividad del perborato de sodio en una mezcla con peróxido de hidrógeno al 30% o agua, para evitar el riesgo de reabsorción radicular externa (6) (7).

Aunque se sabe que con el uso de estos agentes blanqueadores se obtienen buenos resultados en los tratamientos de blanqueamiento dental no vital, también se ha informado sobre los efectos que producen en los tejidos, ya que estos agentes son oxidantes fuertes que rompen las cadenas largas moleculares conjugadas de los pigmentos a cadenas más cortas, como lo reporta Alqahtani MQ y Cols en el 2014 (20). Se presentan en varias concentraciones, Tredwin CJ

2006 evaluó que los agentes blanqueadores en concentraciones altas, es decir del 35%, son cáusticos, produciendo quemaduras en los tejidos al contacto y debido a su bajo peso molecular, estas sustancias pueden penetrar la dentina a través de los túbulos dentinarios, liberando oxígeno que rompen los enlaces dobles de los compuestos orgánicos e inorgánicos de la dentina (8).

Estos hallazgos pueden ser comparables con otros estudios que reportan el efecto de los agentes blanqueadores en la estructura química de la dentina, al modificar su micro-dureza y rugosidad, como lo reportó Chng en el 2005, donde evaluó que el efecto del peróxido de hidrógeno al 30% es más agresivo en la dentina intertubular por su mayor contenido orgánico a diferencia de la peritubular que es más hipermineralizada (11). Rostein I en 1992, informó en un estudio sobre los efectos del perborato de sodio mezclado con hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones, afirmando que la reducción del contenido inorgánico de la dentina podría atribuirse a los cambios que generan estos agentes, en la relación inicial biológica de los componentes orgánicos e inorgánicos presentes (13).

Esto es semejante a lo evaluado por Zalkind y Cols en 1996 donde describió los cambios en la superficie del esmalte, la dentina y el cemento generados por los agentes blanqueadores como el peróxido de hidrógeno que pueden cambiar la estructura de la hidroxiapatita, reduciendo la relación Ca y fosforo de la dentina lo que genera un proceso de desmineralización adicional (19).

Kawamoto y Cols en el 2004 reportaron que la liberación de iones hidroxilo (OH) por parte del peróxido de hidrógeno al 30% influye en el componente orgánico de la dentina, como resultado de la ruptura de la cadena polipeptídica, causada por la destrucción de aminoácidos que son parte de la composición de la sustancia orgánica, además sugiere que los OH son los responsables del blanqueamiento dental (57). Otro de los efectos adversos más reportados por el uso de agente para blanqueamiento de dientes no vitales, es la reabsorción radicular externa.

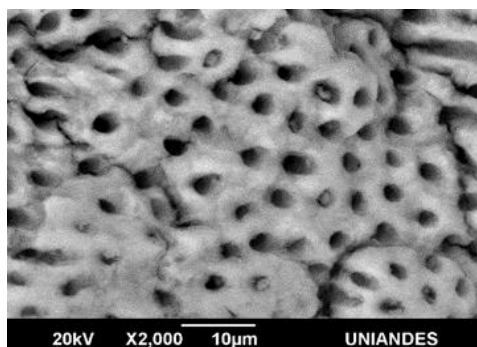
Harrington en 1979, planteó la hipótesis de que reabsorción radicular externa, puede ser debido a un aumento de la permeabilidad dentinaria, que permitiría la difusión del agente blanqueador a través de los túbulos dentinarios hacia el ligamento periodontal iniciando un proceso inflamatorio de reabsorción (15). Healing I y Cols en 1995 sugirió algo parecido, en un estudio sobre la permeabilidad que generan los agentes blanqueadores, para la penetración del *Streptococcus faecalis*, Los hallazgos de ese estudio, informaron que el efecto oxidante de los agentes blanqueadores en especial del peróxido de hidrógeno, produce un incremento de la permeabilidad dentinaria, permitiendo la penetración bacteriana hacia el ligamento periodontal, mejorando el fenómeno de reabsorción radicular externa (17). Howell RA en 1980, sugiere que el aumento de la permeabilidad dentinaria, podría deberse al grabado ácido de la dentina internamente producido por el peróxido de hidrógeno que "abriría" los túbulos dentinarios para permitir una mejor penetración del agente blanqueador (58).

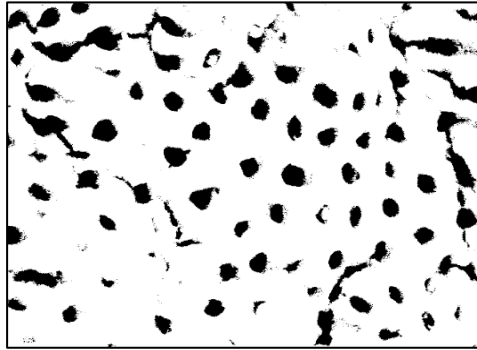
El objetivo de este estudio era corroborar esa hipótesis mediante la aplicación de dos de los agentes blanqueadores más utilizados en el tratamiento del blanqueamiento dental interno como son el peróxido de hidrógeno al 35% y el perborato de sodio en una mezcla con peróxido de hidrógeno al 30%. Los resultados obtenidos en cuanto a los cambios micro-estructurales en el diámetro de los túbulos dentinarios del grupo control, sometidos a los agentes blanqueadores como el peróxido de hidrógeno al 30% y el perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30% en el grupo experimental, expusieron una diferencia estadísticamente significativa, con un mayor aumento del diámetro de los túbulos dentinarios en el grupo experimental con respecto al grupo control, reflejado a nivel del área individual de los túbulos dentinarios expuestos a los agentes blanqueadores a diferencia del área individual de los túbulos dentinarios iniciales.

Esto se puede deber al efecto que tienen los agentes blanqueadores sobre estructura de la dentina, como lo planteó Chng Hk en el 2005 al evaluar el efecto

del peróxido de hidrógeno al 30% durante 24 horas en la dentina intertubular, concluyendo que se produjeron cambios superficiales significativos en la dentina intertubular y una reducción en el espesor de la dentina peritubular, debido a la diferencia del colágeno en el componente orgánico presente, ya que la dentina intertubular contiene un mayor contenido de colágeno a diferencia de la dentina peritubular que es más mineralizada y carece de colágeno como componente orgánico de su matriz (11).

En las imágenes obtenidas bajo SEM, en el grupo experimental se observaron cambios superficiales de la dentina, como rugosidades, porosidades y microgrietas que atravesaban algunos segmentos de los túbulos dentinarios, tanto a nivel de la dentina intertubular como la peritubular, debido a la acción de los agentes blanqueadores sobre la superficie de la dentina y la obliteración de los túbulos dentinarios por los cristales del perborato, lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Zalkin y Cols en 1996 donde se describe los cambios morfológicos ya nombrados de la superficie de la dentina, al ser expuesta a varios agentes blanqueadores (19). Estas irregularidades de la superficie de la dentina, al ser procesadas por el programa **ImageJ** fueron medidas como un área única, obteniendo áreas de los túbulos dentinarios muy grandes, que no concordaban con el diámetro promedio entre 2 μm a 4 μm descrito por Schilke R y Cols en el año 2000, por lo cual fueron excluidas (10).





Al comparar el grupo experimental manejado con peróxido de hidrógeno al 35% con el grupo control, se observó una diferencia estadísticamente significativa, con un mayor diámetro de los túbulos dentinarios la cual puede ser atribuida al efecto de grabado ácido del peróxido de hidrógeno en concentraciones del 30% sobre la dentina lo que abriría los túbulos dentinarios para permitir una mejor penetración del agente blanqueador como lo sugirió Howell RA en 1980 (58).

Cuando se compara el grupo experimental con la aplicación del perborato de sodio más peróxido de hidrógeno al 30%, con el grupo control, se observa una mayor diferencia del diámetro de los túbulos dentinarios con respecto al grupo control. Lo que podría deberse a la descomposición del perborato en metaborato sódico, peróxido de hidrógeno y oxígeno, aumentando el efecto oxidante sobre la estructura dentinaria como lo describió Sulieman MA en el 2008 (28). Además, por el mayor efecto oxidante que genera la mezcla con el peróxido de hidrógeno al 30%, a diferencia de una mezcla con agua como lo reportó Rotstein I en 1991 (6). Es importante aclarar que, aunque el diámetro de los túbulos dentinarios con este agente blanqueador fue mayor en la lectura con el SEM, se observaron que muchos de estos túbulos se encontraban obstruidos por los cristales del perborato de sodio, lo cual se reflejó en la medición total del área de los túbulos dentinarios de esta muestra.

Al comparar los dos agentes blanqueadores no hubo una diferencia estadísticamente significativa, pero el peróxido de hidrógeno al 35%, presentó un mejor comportamiento en la conservación estructural de los túbulos dentinarios, frente al perborato de sodio más peróxido de hidrógeno al 30%, posiblemente por una mayor actividad oxidativa del perborato de sodio en la estructura dentinaria al combinarse con peróxido de hidrógeno en concentraciones del 30% para alcanzar un sinergismo y mejorar el tiempo del efecto blanqueador como lo describe Rotstein I, en 1991 (6).

CONCLUSIONES

El uso de agentes blanqueadores utilizados en el tratamiento de blanqueamiento dental interno, como son el peróxido de hidrógeno al 35% y el perborato de sodio con peróxido de hidrógeno al 30% a los 7 días de la aplicación mostraron una diferencia significativa en el aumento del diámetro de los túbulos dentinarios.

Al comparar los dos agentes blanqueadores no existe una diferencia estadísticamente significativa en el aumento del diámetro de los túbulos dentinarios. Aunque según los resultados el peróxido hidrógeno en una concentración al 35%, es el que presenta un mejor comportamiento en cuanto a conservar el diámetro de los túbulos dentinarios a diferencia del perborato con peróxido de hidrógeno al 30%.

Las irregularidades en la superficie de la dentina producida por los dos agentes blanqueadores y la obliteración de los túbulos dentinarios por parte de los cristales del perborato de sodio produjeron áreas de diferentes tamaños en el grupo experimental que fueron excluidas del área total, lo cual disminuyó la cantidad de túbulos dentinarios analizados en el grupo experimental lo que se reflejó en la medición del área total experimental de esta muestra.

Se puede concluir que al usar los agentes blanqueadores en contacto directo con la dentina generan un aumento del diámetro del tubo dentinario lo que probablemente permitiría una mayor difusión del agente blanqueador hacia el ligamento periodontal, con una subsecuente respuesta de reabsorción radicular externa. La medida de los túbulos dentinarios no es estandarizada porque es difícil obtener el mismo campo en el segmento del diente con la SEM, por lo cual fue necesario tres tomas para intentar cubrir la totalidad del campo.

RECOMENDACIONES

- Se sugiere una muestra de mayor relevancia para que los resultados sean más confiables.
- Se sugieren más estudios que midan el diámetro de los túbulos dentinarios que permitan tener un punto de comparación y poder extrapolar los resultados a la parte biológica.
- Se sugiere un tratamiento diferente para la lectura de las muestras bajo SEM, como el metalizado de las muestras ya que mejoraría la resolución y permitirá definir mejor los túbulos dentinarios; sin embargo, para realizar esto, se debe tener en cuenta que la muestra se destruye y no permite realizar la aplicación de los agentes blanqueadores en la parte experimental.
- Se sugiere cambiar el programa de medición por otro distinto al **ImageJ**, ya que ocasionó muchos problemas a la hora de procesar las imágenes. Por un programa que además se puedan obtener valores porcentuales.

BIBLIOGRAFÍA

1. Nathoo SA. The chemistry and mechanisms of extrinsic and intrinsic discoloration. J Am Dent Assoc. 1997 Apr; 128 Suppl: 6S-10S. Review.
2. Plotino G, Buono L, Grande NM, Pameijer CH, Somma F. Nonvital tooth bleaching: a review of the literature and clinical procedures. J Endod. 2008.
3. Dahl JE, Pallesen U. Tooth bleaching--a critical review of the biological aspects. Crit Rev Oral Biol Med. 2003; 14(4):292-304.
4. Carey CM. Tooth whitening: what we now know. J Evid Based Dent Pract. 2014 Jun; 14 Suppl: 70-6.
5. Kuga MC, dos Santos Nunes Reis JM, Fabrício S, Bonetti-Filho I, de Campos EA, Faria G. Fracture strength of incisor crowns after intracoronal bleaching with sodium percarbonate. Dent Traumatol. 2012 Jun; 28(3):238-42.
6. Rotstein I, Zalkind M, Mor C et al. In vitro efficacy of sodium perborate preparations used for intracoronal bleaching of discoloured non-vital teeth. Endod Dent Traumatol 1991; 7: 177-180.
7. Bersezio C, Ledezma P, Mayer C, Rivera O, Junior OBO, Fernández E. Effectiveness and effect of non-vital bleaching on the quality of life of patients up to 6 months post-treatment: a randomized clinical trial. Clin Oral Investig. 2018 Feb 17.
8. Tredwin CJ, Naik S, Lewis NJ, Scully C. Hydrogen peroxide tooth whitening (bleaching) products: review of adverse effects and safety issues. Br Dent J. 2006 Apr 8; 200(7):371-6.
9. M.E.Gomez de ferraris.A, Campos Muños. Histologia Embriologia E Ingenieria Tisular Bucodental.Ed 3.2009. Pag 256.
10. Schilke R, Lisson JA, Bauss O, Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. Arch Oral Biol. 2000 May; 45(5):355-61.
11. Chng HK, Ramli HN, Yap AU, Lim CT. Effect of hydrogen peroxide on intertubular dentine. J Dent. 2005 May; 33(5):363-9.

12. Chng HK, Palamara JE, Messer HH. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on biomechanical properties of human dentin. J Endod. 2002 Feb; 28(2):62-7.
13. Rotstein I, Lehr Z, Gedalia I. Effect of bleaching agents on inorganic components of human dentin and cementum. J Endod. 1992 Jun; 18(6):290-3.
14. Tam LE, Kuo VY, Noroozi A. Effect of prolonged direct and indirect peroxide bleaching on fracture toughness of human dentin. J Esthet Restor Dent. 2007; 19(2):100-9; discussion 110.
15. Harrington GW, Natkin E. External resorption associated with bleaching of pulpless teeth. J Endod. 1979 Nov; 5(11):344-8.
16. Rotstein I. In vitro determination and quantification of 30% hydrogen peroxide penetration through dentin and cementum during bleaching. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1991 Nov; 72(5):602-6.
17. Heling I, Parson A, Rotstein I. Effect of bleaching agents on dentin permeability to *Streptococcus faecalis*. J Endod. 1995 Nov; 21(11):540-2.
18. Attin T, Paqué F, Ajam F, Lennon AM. Review of the current status of tooth whitening with the walking bleach technique. Int Endod J. 2003 May; 36(5):313-29.
19. Zalkind M, Arwaz JR, Goldman A, Rotstein I. Surface morphology changes in human enamel, dentin and cementum following bleaching: a scanning electron microscopy study. Endod Dent Traumatol. 1996 Apr; 12(2):82-8.
20. Alqahtani MQ. Tooth-bleaching procedures and their controversial effects: A literature review. Saudi Dent J. 2014 Apr; 26(2):33-46.
21. Andreasen FM. Transient apical breakdown and its relation to color and sensibility changes after luxation injuries to teeth. Endod Dent Traumatol. 1986 Feb; 2(1):9-19.
22. Goldstein RE, Garber DA. Complete dental bleaching. Berlin: Quintessence, 1995.
23. Haywood VB. History, safety, and effectiveness of current bleaching techniques and applications of the nightguard vital bleaching technique. Quintessence Int. 1992 Jul; 23(7):471-88.

24. Ari H, Ungör M. In vitro comparison of different types of sodium perborate used for intracoronar bleaching of discoloured teeth. *Int Endod J*. 2002 May; 35(5):433-6.
25. Kwon SR, Wertz PW. Review of the Mechanism of Tooth Whitening. *J Esthet Restor Dent*. 2015 Sep-Oct; 27(5):240-57.
26. Brigitte Z, Franziska J, Adrian L. Bleaching of Nonvital Teeth, *Research and Science*. 2010; 120(4):306-20.
27. Seghi RR, Denry I. Effects of external bleaching on indentation and abrasion characteristics of human enamel in vitro. *J Dent Res*. 1992 Jun; 71(6):1340-4.
28. Sulieman MA. An overview of tooth-bleaching techniques: chemistry, safety and efficacy. *Periodontol 2000*. 2008; 48:148-69.
29. Weiner S, Veis A, Beniash E, Arad T, Dillon JW, Sabsay B, Siddiqui F. Peritubular dentin formation: crystal organization and the macromolecular constituents in human teeth. *J Struct Biol*. 1999 Jun 1; 126(1):27-41.
30. Warren MA, Wong M, Ingram TA 3rd. In vitro comparison of bleaching agents on the crowns and roots of discolored teeth. *J Endod*. 1990 Oct; 16(10):463-7.
31. Joiner A. The bleaching of teeth: a review of the literature. *J Dent*. 2006 Aug; 34(7):412-9.
32. Kashima-Tanaka M, Tsujimoto Y, Kawamoto K, Senda N, Ito K, Yamazaki M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. *J Endod*. 2003 Feb; 29(2):141-3.
33. M. Kagayama M, Sasano Y, Sato H, Kamakura S, Motegi K, Mizoguchi I. Confocal microscopy of dentinal tubules in human tooth stained with alizarin red. *Anat Embryol (Berl)*. 1999 Mar; 199(3):233-8.
34. Nazari A, Bajaj D, Zhang D, Romberg E, Arola D. Aging and the reduction in fracture toughness of human dentin. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2009 Oct; 2(5):550-9.
35. Kruzic JJ, Nalla RK, Kinney JH, Ritchie RO. Mechanistic aspects of in vitro fatigue-crack growth in dentin. *Biomaterials*. 2005 Apr; 26(10):1195-204.
36. Lopes MB, Sinhoreti MA, Gonini Júnior A, Consani S, McCabe JF. Comparative study of tubular diameter and quantity for human and bovine dentin at different depths. *Braz Dent J*. 2009; 20(4):279-83.

37. Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. The mechanical properties of human dentin: a critical review and re-evaluation of the dental literature. *Crit Rev Oral Biol Med*. 2003; 14(1):13-29.
38. Ruschel HC, Ligocki GD, Flaminghi DL, Fossati AC. Microstructure of mineralized tissues in human primary teeth. *J Clin Pediatr Dent*. 2011 Spring; 35(3):295-300.
39. Jadowiec JA, Zhang X, Li J, Campbell PG, Sfeir C. Extracellular matrix-mediated signaling by dentin phosphophoryn involves activation of the Smad pathway independent of bone morphogenetic protein. *J Biol Chem*. 2006 Mar 3; 281(9):5341-7.
40. Iwamoto N, Ruse ND. Fracture toughness of human dentin. *J Biomed Mater Res A*. 2003 Sep 1; 66(3):507-12.
41. Zaslansky P, Zabler S, Fratzl P. 3D variations in human crown dentin tubule orientation: a phase-contrast microtomography study. *Dent Mater*. 2010 Jan; 26(1):e1-10.
42. Pop-Ciutrla IS, Ghinea R, Colosi HA, Dudea D. Dentin translucency and color evaluation in human incisors, canines, and molars. *J Prosthet Dent*. 2016 Apr; 115(4):475-81.
43. Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *J Dent*. 2004; 32 Suppl 1:3-12.
44. Wang RZ, Weiner S. Strain-structure relations in human teeth using Moiré fringes. *J Biomech*. 1998 Feb; 31(2):135-41.
45. Elbaum R, Tal E, Perets AI, Oron D, Ziskind D, Silberberg Y, Wagner HD. Dentin micro-architecture using harmonic generation microscopy. *J Dent*. 2007 Feb; 35(2):150-5.
46. Ramos SM, Alderete L, Farge P. Dentinal tubules driven wetting of dentin: Cassie-Baxter modelling. *Eur Phys J E Soft Matter*. 2009 Oct; 30(2):187-95.
47. Chia-Y.C, Tien-Chun K., Shu-Fang C. Et al. Comparison of the microstructure of crown and root dentin by a scanning electron microscopic study. *J Dent Sci* 2010; 5(1):14-20.
48. Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. *Front Biosci (Elite Ed)*. 2011 Jan 1; 3:711-35. Review.

49. Tronstad L. Ultrastructural observations on human coronal dentin. *Scand J Dent Res.* 1973; 81(2):101-11.
50. Evans GE, Speight PM, Gulabivala K. The influence of preparation technique and sodium hypochlorite on removal of pulp and predentine from root canals of posterior teeth. *Int Endod J.* 2001 Jun; 34(4):322-30.
51. Smith AJ, Cassidy N, Perry H, Bégue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Reactionary dentinogenesis. *Int J Dev Biol.* 1995, 39: 273-80.
52. Kim SG. Biological Molecules for the Regeneration of the Pulp-Dentin Complex. *Dent Clin North Am.* 2017 Jan; 61(1):127-141.
53. Madison S, Walton R. Cervical root resorption following bleaching of endodontically treated teeth. *J Endod.* 1990 Dec; 16(12):570-4.
54. Tam LE, Lim M, Khanna S. Effect of direct peroxide bleach application to bovine dentin on flexural strength and modulus in vitro. *J Dent.* 2005 Jul; 33(6):451-8.
55. Andersen M, Lund A, Andreasen JO, Andreasen FM. In vitro solubility of human pulp tissue in calcium hydroxide and sodium hypochlorite. *Endod Dent Traumatol.* 1992 Jun; 8(3):104-8.
56. Collins TJ. ImageJ for microscopy. *Biotechniques.* 2007 Jul; 43(1 Suppl):25 30. Review.
57. Kawamoto K, Tsujimoto Y. Effects of the hydroxyl radical and hydrogen peroxide on tooth bleaching. *J Endod.* 2004 Jan; 30(1):45-50.
58. Howell RA. Bleaching discoloured root-filled teeth. *Br Dent J.* 1980 Mar 18; 148(6):159-62.