



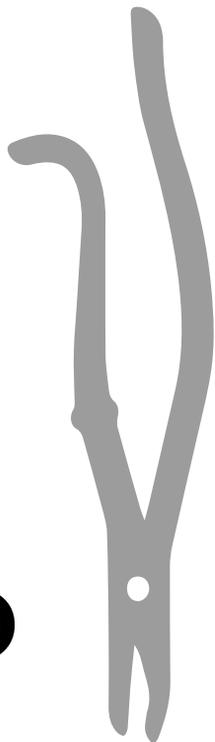
# Remoción atraumática de caries dental con gel de babaco



Ebingen Villavicencio-Caparó • Katherine Cuenca-León • Edisson Pacheco-Quito  
Jorge Raúl Colchado-Carhuavilca • Cesar Juela-Moscoso  
Rafaela Villamagua-Sarmiento • Cristina Sibri-Quizhpe • Doménica Benalcázar-Oleas  
Verónica Cuenca-Bastidas • Oscar Játiva-Bravo • Raúl Carrión-Arias  
Cristina Torres-Maldonado • Daniela Masache-Romero.



# Remoción atraumática de caries dental con gel de **babaco**



Ebingen Villavicencio-Caparó • Katherine Cuenca-León • Edison Pacheco-Quito  
Jorge Raúl Colchado-Carhuavilca • Cesar Juella-Moscoso  
Rafaela Villamagua-Sarmiento • Cristina Sibri-Quizhpe • Doménica Benalcázar-Oleas  
Verónica Cuenca-Bastidas • Oscar Játiva-Bravo • Raúl Carrión-Arias  
Cristina Torres-Maldonado • Daniela Masache-Romero.

## Remoción atraumática de caries dental con gel de babaco

### © Autores:

#### Docentes de la Universidad Católica de Cuenca

Ebingen Villavicencio-Caparó (Universidad Católica de Cuenca/ Universidad Peruana Cayetano Heredia, Perú)

Katherine Cuenca-León

Edisson Pacheco-Quito

Cesar Juela-Moscoso

#### Docentes de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Jorge Raúl Colchado-Carhuavilca

#### Graduados de la Universidad Católica de Cuenca

Rafaela Villamagua-Sarmiento (Especialización en rehabilitación oral y prótesis implanto asistida)

Cristina Sibri-Quizhpe

Doménica Benalcázar-Oleas

Verónica Cuenca-Bastidas

Oscar Játiva-Bravo

Raúl Carrión-Arias

Cristina Torres-Maldonado

Daniela Masache-Romero.

### © Universidad Católica de Cuenca

### © Editorial Universitaria Católica de Cuenca

**Primera edición:** diciembre de 2024

**ISBN:** 978-9942-27-307-9

**e-ISBN:** 978-9942-27-308-6

**DOI:** <https://doi.org/10.26871/EDUNICA.153>

**Editora:** Dra. Nube Rodas Ochoa

**Edición y corrección:** PhD (c) Paúl Miño Armijos

**Diseño y diagramación:** Dis. Daniel Fernando Collaguazo López

**Diseño de portada:** Dis. Daniel Fernando Collaguazo López

### Impreso por Editorial Universitaria Católica (EDUNICA)

**Dirección:** Tomás Ordóñez 6-41 y Presidente Córdova

**Teléfono:** 2830135

**E-mail:** edunica@ucacue.edu.ec

Esta obra cumplió con el proceso de revisión por pares académicos bajo la modalidad de doble par ciego.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de la obra sin permiso por escrito de la Universidad Católica de Cuenca, quien se reserva los derechos para la primera edición.

Cuenca-Ecuador

## Introducción

En el año 2017, la Universidad Católica de Cuenca (UCACUE) realizó la IV Convocatoria de Investigación con la finalidad de promover y financiar los proyectos de la comunidad universitaria que tengan concordancia con las líneas de investigación de la universidad y dentro de esa convocatoria, el presente trabajo fue presentado y ganó el financiamiento del Vicerrectorado de Investigación, con el nombre de “Formulación de un gel odontológico a base de papaína (*Carica pentagona*) para la remoción atraumática de caries” (PICIV-18-05).

El objetivo general del presente estudio fue desarrollar tecnológicamente un gel en base de papaína (*Carica pentagona*), como formulación odontológica para la remoción de caries. Al inicio del proyecto se identificó la especie vegetal propia del austro ecuatoriano, denominada “babaco” (*Carica pentágona*), luego, según la revisión de literatura, se encontró que en la 6<sup>a</sup> semana de maduración del fruto, era el momento con máxima concentración del complejo enzimático que contiene papaína, cuya función es la remoción química mecánica del tejido cariado, lo que se explica en el capítulo I del presente libro.

Para ejecutar este proyecto se identificaron los procesos de obtención del principio activo. En todos los casos se determinó hacer primero el desecado de la piel del fruto, luego la pulverización y luego el polvo resultante pasaba a los distintos procesos de extracción maceración, destilación, Soxhlet y percolación. Estas técnicas se desarrollan ampliamente en el capítulo II.

En el capítulo III se narra cómo, una vez obtenido el principio activo, se diseñó y se formuló el gel (principio activo, excipientes y colorantes) para tener una presentación farmacológica aplicable en

los procesos odontológicos, que implican llevar este fármaco a la cavidad dental y que tenga una densidad apropiada para que permanezca fijada en esta cavidad, así sea del maxilar superior o del maxilar inferior. De igual forma, se planteó la necesidad de que el gel tenga un color que haga contraste con el amarillo de la dentina, para poder identificar la zona que está bajo la influencia del fármaco.

En el capítulo IV se narra la estrategia utilizada para probar la efectividad de estos preparados. Se emplearon dientes recién extraídos por motivo de caries, a los cuales se les aplicó el gel en una mitad de la cavidad y luego se retiró la dentina cariada con cuchareta de dentina de filo romo. En el otro lado de la cavidad solamente se utilizó el instrumento mecánico, para poder hacer la comparación. Para evaluar la efectividad, se emplearon dos mecanismos, el primero fue la medición de la rugosidad final —realizada por un experto— y la segunda fue una evaluación histológica de los dientes tratados, realizada por una patóloga bucal de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Para el análisis de datos se empleó la prueba chi-cuadrado con nivel de significancia de  $p=0,05$ , la cual demostró que, en la fase de evaluación de la rugosidad final, el grupo de principio activo obtenido por maceración fue el único que demostró una diferencia estadísticamente significativa. En cuanto a la evaluación histológica de la efectividad de la remoción de caries, el grupo de destilación demostró el mejor desempeño, seguido por el de percolación. Esta discrepancia entre el hallazgo clínico y el histológico, nos hace pensar que la evaluación de la rugosidad final, que usualmente hacen los odontólogos al terminar de remover la caries dental, no es la mejor forma de determinar si se cumplió con el objetivo de la remoción total del tejido cariado y que debiera ser utilizado un detector químico de caries, tanto pre- y postremoción químico-mecánica de la caries dental.

En conclusión, fue factible desarrollar tecnológicamente un gel en base a papaína (*Carica pentagona*) como formulación odontológica para la remoción atraumática de caries y alcanzamos estos hallazgos a fin de que los lectores puedan replicar este tipo de gel, en base a una especie vegetal oriunda del Ecuador y que resulta ser de bajo costo, comparado con otros productos que se encuentran en el mercado. Esperamos que este libro sea una motivación para que los lectores introduzcan un nuevo producto odontológico, ya que no existe ninguna producción nacional hasta ahora.

*Los autores*



## — Contenido —

Introducción .....	5
--------------------	---

### Capítulo I

<b>Bioquímica del mecanismo de acción de la papaína .....</b>	<b>13</b>
1. Breve reseña histórica del uso de la papaína.....	14
2. Enzimas .....	15
2.1. Tipos de enzimas .....	15
3. Mecanismo de acción de las cisteína proteasas.....	20
4. La papaína .....	21
4.1. <i>Carica papaya L.</i> .....	21
4.2. La papaína .....	22
4.2.1. Hidrofobicidad de la papaína.....	23
4.2.2. Subsitios de la papaína .....	24
4.2.3. Actividad y especificidad de la papaína .....	24
4.2.4. Hidrólisis generada por la papaína.....	24
4.2.5. Alfa-1-Antitripsina .....	26
5. La papaína-cisteína proteasas y caries dental .....	27

### Capítulo II

<b>Método de extracción del complejo enzimático de la papaína .</b>	<b>45</b>
1. Introducción .....	46
2. Procedimiento de obtención de materia prima .....	47
3. Métodos químicos para la obtención de papaína .....	47
3.1. Destilación.....	47

3.1.1. Proceso de destilación .....	49
3.2. Soxhlet .....	49
3.2.1. Proceso de Soxhlet .....	50
3.3. Maceración .....	52
3.3.1. Proceso de maceración .....	52
3.3.2. Proceso de destilación a baño maría.....	53
3.4. Percolación.....	54
Referencias bibliográficas .....	57

### **Capítulo III**

#### **Formulación de un gel para remoción atraumática de caries... 61**

1. Introducción .....	62
2. Formulación de un gel a base de papaína .....	63
2.1. Componentes de la formulación .....	65
2.2. Preparación y evaluación del gel a base de papaína .....	66
2.3. Estudios <i>ex vivo</i> con el gel con papaína.....	69
Referencias bibliográficas .....	71

### **Capítulo IV**

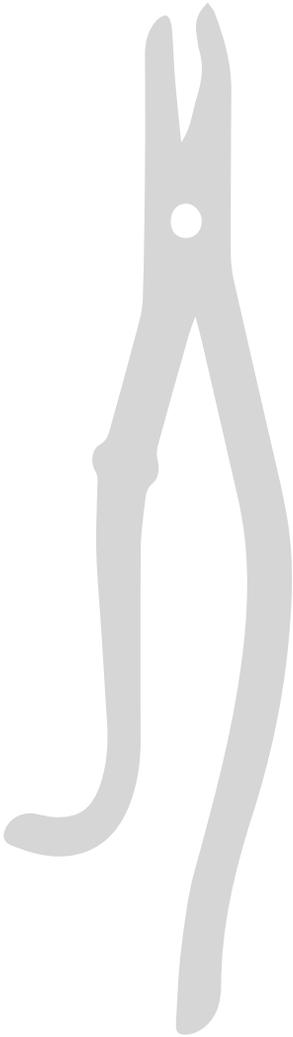
#### **Resultados de la remoción de caries..... 75**

1. Prueba piloto.....	76
1.1. Determinación cualitativa del potencial enzimático del látex de babaco .....	76
1.2. Determinación cuantitativa del potencial enzimático del látex de babaco .....	77
1.3. Determinación macroscópica de la efectividad en la eliminación de la caries mediante el uso del gel de babaco .....	79

1.4. Determinación microscópica de la efectividad en la eliminación de la caries mediante el uso del babaco .....	81
2. Resultados de la investigación.....	83
2.1. Evaluación manual de la rugosidad.....	84
2.1.a.. Rugosidad obtenida en las muestras que se aplicó el gel con principio activo obtenido mediante el método Soxhlet .....	85
2.1.b. Rugosidad obtenida en las muestras aplicadas con el gel con principio activo obtenido mediante el método de destilación.....	86
2.1.c. Rugosidad obtenida en las muestras que se aplicó el gel con principio activo obtenido mediante el método percolación ...	88
2.1.d. Rugosidad obtenida en las muestras que se les aplicó el gel con principio activo obtenido mediante el método maceración ...	90
2.2. Evaluación histológica de la efectividad de la remoción de caries.....	91
2.2.1. Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante Soxhlet .....	95
2.2.b. Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante destilación .....	113
2.2.c. Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante maceración .....	131
2.2.d. Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante percolación .....	147

## **Capítulo V**

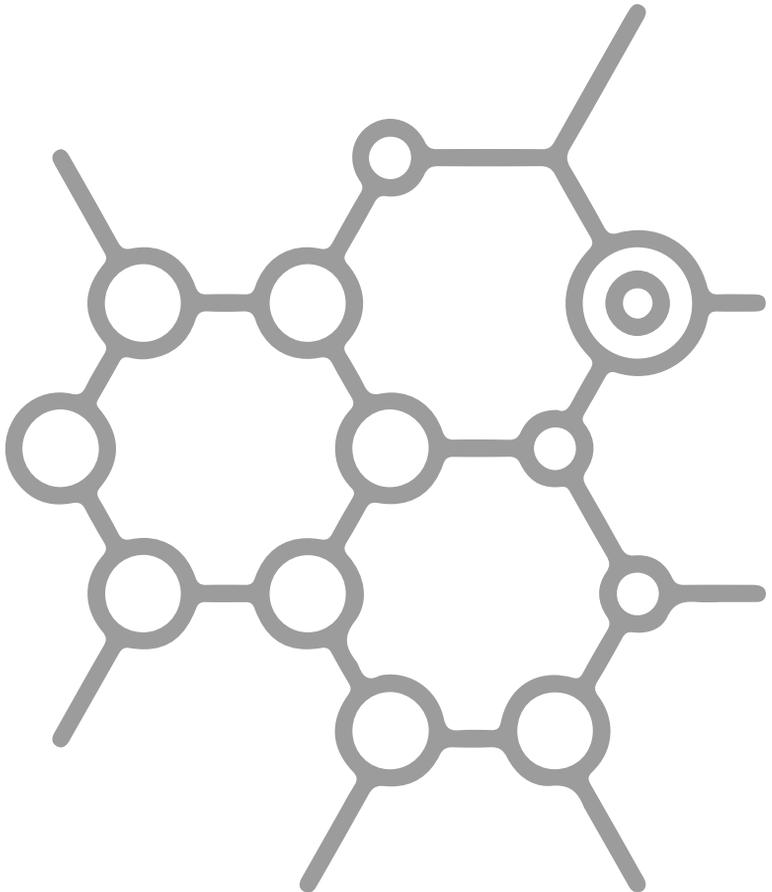
Integrando la evidencia.....	167
Referencias bibliográficas .....	176





# — Capítulo I —

Bioquímica del mecanismo  
de acción de la papaína



## 1. Breve reseña histórica del uso de la papaína

La papaína es una enzima proteolítica derivada del fruto de la *Carica papaya*, su principio activo se basa en romper principalmente los enlaces peptídicos presentes en los aminoácidos básicos, especialmente en la arginina, lisina y fenilalanina (1). Fue usada por pueblos indígenas precolombinos de América Central y América del Sur para ablandar la carne, además de sus propiedades medicinales como aliviar trastornos digestivos y curación de heridas (2). Es probablemente el miembro más ampliamente estudiado de la clase de enzimas cisteína proteasas, y fue la primera cisteína proteasa en tener su estructura tridimensional determinada (3).

En el siglo XIX fue aislada e identificada por primera vez por el químico francés H. G. G. Delarue, quien la llamó “papaína”, en honor a que fue extraída de la papaya, y en 1873 G. C. Roy investigó por primera vez la acción de la papaína en un artículo publicado en el *Calcutta Medical Journal* titulado “La acción disolvente del jugo de papaya sobre los alimentos nitrogenados”. A inicios de 1900 la papaína se utilizaba en la industria cárnica para ablandar la carne, lo que ayudaba a que los cortes más duros fueran más sabrosos (4). En 1920 comenzó a utilizarse en la industria farmacéutica como ingrediente en ayudas digestivas y suplementos enzimáticos (5). Entre 1950 y 1960 la papaína se incorporó a diversos productos médicos y cosméticos; se utilizó en tratamientos tópicos para quemaduras y afecciones de la piel debido a su capacidad para descomponer el tejido muerto y promover la curación (6).

En la actualidad, la papaína es utilizada en la industrias alimentaria, farmacéutica, textil y de curtidos; además es empleada en la fabricación de cosméticos como cremas faciales y dentales; para clarificar la cerveza; como ablandador de carne; en el desgomado de seda y ra-

yón; en el curtido de cuero y en el preencogimiento de lana (7). En el campo médico, la papaína se puede utilizar para tratar dispepsia y otras dolencias digestivas (8), tejidos necróticos, lesiones y úlceras cutáneas, enfermedades cutánea como eccemas, trastornos renales, infecciones por lombrices intestinales y tiña. Además, es utilizada para detectar cánceres de estómago e intestino y también para corregir la difteria (9). Asimismo, la papaína puede contribuir a la prevención y tratamiento de la obesidad y sus trastornos metabólicos asociados (10).

La versatilidad y eficacia de la papaína la han convertido en una enzima valiosa a lo largo de la historia y sigue siendo un componente importante médico-industrial en la actualidad.

## **2. Enzimas**

Las enzimas son proteínas consideradas como catalizadores biológicos que, a nivel celular, aceleran la velocidad de una reacción química específica, en aproximadamente  $10^{17}$  veces (11). Toda enzima cumple diversas funciones a nivel molecular, catalizando reacciones bioquímicas, acelerando la conversión de sustratos en productos específicos, sin alterar ni cambiar el equilibrio de una reacción dada, pero sí afecta la energía libre necesaria para iniciar la conversión, afectando la velocidad de la reacción (12).

### **2.1. Tipos de enzimas**

Existen siete categorías de enzimas, cada una con características específicas (13).

- Oxidorreductasas
- Liasas
- Transferasas
- Ligasas

- Translocasas
- Isomerasas
- Hidrolasas

Las oxidorreductasas son enzimas que catalizan reacciones re-  
dox, es decir, reacciones biológicas de oxido-reducción (14). Entre las  
enzimas oxidorreductasas tenemos la oxidasa, como la amino oxidasa  
y la bilirrubina oxidasa (15); las reductasas como la metahemoglo-  
bina reductasa (16); las dismutasas como el superóxido dismutasa  
(17); las deshidrogenasas como el lactato deshidrogenasa (18); las  
oxigenasas como la hemo-oxigenasa (19).

Las liasas, son enzimas que escinden los enlaces carbono-car-  
bono (C-C), carbono-oxígeno (C-O) y carbono-nitrógeno (C-N) y  
otros enlaces por medios diferentes a la hidrólisis u oxidación (20),  
como la metionina gamma liasa donde escinde el enlace carbo-  
no-azufre (C-S) (21)

Las transferasas son enzimas que catalizan la transferencia de  
grupos nitrogenados, como grupo amino, como el glutatión S-trans-  
ferasa y la gamma-glutamyl-transferasa en saliva (22) y la gluco-  
sil-transferasa (23).

Las ligasas son enzimas que tienen como función unir covalen-  
tamente dos sustratos, como las ligasas del ADN; son enzimas im-  
portantes en la replicación, recombinación y reparación del ADN,  
cerrando roturas monocatenarias (de una sola hebra) en la columna  
vertebral de la molécula de ADN (24).

Las translocasas, son enzimas encargadas de catalizar el movi-  
miento de iones o de moléculas a través de la membrana o su sepa-  
ración dentro de las membranas (25).

Las isomerasas, son enzimas encargadas de catalizar la conversión de un sustrato a una forma isomérica, dentro de una molécula (26). Entre las isomerasas tenemos racemasas, epimerasas, cis-trans isomerasas, oxidorreductasas intramoleculares, mutasas y liasas intramoleculares (27).

Las hidrolasas son enzimas que catalizan la ruptura de un enlace covalente mediante agua (28). Entre las enzimas hidrolasas tenemos a las esterases y las proteasas (29).

Las esterases, son enzimas capaces de hidrolizar ésteres, estas pueden ser nucleasas, fosfodiesterasas, lipasas y fosfatasas (30); las nucleasas son esterases que escinden los enlaces fosfodiéster del ADN y el ARN, son tanto exonucleasas y endonucleasas (31); las fosfodiesterasas son esterases que regulan los niveles intracelulares de adenosina monofosfato cíclico —AMPc y de guanosina monofosfato cíclico— GMPc (32); las lipasas son esterases que degradan los triglicéridos en glicerol y ácidos grasos libres, actuando sobre los enlaces éster carboxílicos (33), las lipasas se encuentran en diversos tejidos del organismo, en los adipocitos están las lipasas sensibles a hormonas (34), en el hígado las lipasas hepáticas (35), en el intestino delgado la lipasa pancreática (36), en las superficies del endotelio vascular la lipoproteína lipasa (37); mientras que las fosfatasas, son esterases que catalizan la hidrólisis de los enlaces fosfoéster en dos sustratos orgánicos que contienen fósforo, liberando fósforo inorgánico en forma de ortofosfato (38); las fosfatasas se clasifican por la especificidad del sustrato, dentro de las principales fosfatasas figuran, la fosfatasa ácida y la alcalina; la fosfatasa ácida cataliza la hidrólisis de mono ésteres de ortofosfato en condiciones ácidas; estas difieren en cuanto al origen tisular y cromosómico que tienen, así están la fosfatasa ácida prostática, la fosfatasa ácida lisosomal, la fosfatasa

ácida eritrocítica, la fosfatasa ácida macrófago y la fosfatasa ácida osteoclástica (39); la fosfatasa alcalina cataliza la hidrólisis de mono esterres de fosfato a valores de pH básicos, estas pueden ser la fosfatasa alcalina de células germinales, la fosfatasa alcalina placentaria, la fosfatasa alcalina intestinal y la fosfatasa alcalina no específica de tejido o de riñón/hígado/hueso (40).

Las proteasas son hidrolasas, llamadas también proteinasas, peptidasas, catepsinas o enzimas proteolíticas, son enzimas que rompen los enlaces peptídicos alfa entre los aminoácidos (41). Las enzimas proteolíticas pueden ser aspárticas, glutámicas y metaloproteasas, las cuales utilizan una molécula de agua activada como nucleófilo para atacar el enlace peptídico del sustrato (40,42), las proteasas aspárticas son enzimas ácidas y forman enlaces dipeptídicos que tienen residuos hidrofóbicos, realizan la proteólisis en un solo paso, entre ellas figuran las proteasas aspárticas del estómago como la gastrina, pepsina y quimosina, las del riñón como la renina, y las de lisosomas como la catepsina D y E (43); las proteasas glutámicas, son proteasas ácidas con una mayor efectividad a pH 2 e incluyen un residuo de ácido glutámico en su sitio activo que se encuentran principalmente en hongos patógenos que afectan a plantas y humanos (44); mientras que las metaloproteasas, conocidas como matrixinas, son enzimas responsables de la escisión de varios constituyentes de la matriz extra celular y de moléculas bioactivas, asimismo su incremento está relacionado con diversos tipos de cáncer (45).

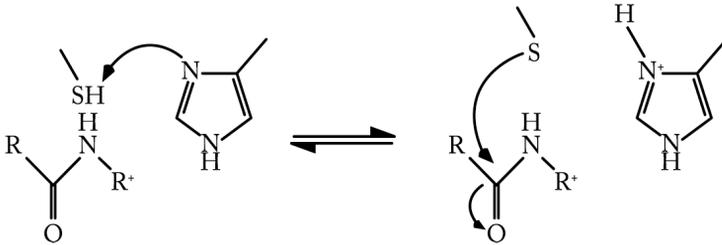
Por otro lado las enzimas proteolíticas pueden ser cisteína proteasas, serina y treonina, en donde el nucleófilo es un residuo de aminoácido (Cys, Ser o Thr, respectivamente) ubicado en el sitio activo de donde derivan los nombres de clase (46,47); así las serinas proteasas, pueden ser catepsinas A y G conformando un tercio de las pep-

tidasas y están caracterizadas por la presencia de un residuo de serina nucleófilo en el sitio activo (48), se encuentran compuestas por aminoácidos como el Aspartato-Histidina-Serina (Asp-His-Ser) conocidos como tríada catalítica y están implicadas en al menos cuatro contextos estructurales como la subtilisina, la quimiotripsina, la carboxipeptidasa y la proteasas Clp (49), cuya función es crítica para funciones fisiológicas celulares y tisulares, por tanto una regulación anormal de estas pueden conducir a patologías como el cáncer (50); mientras que las treonina proteasas son enzimas proteolíticas que contienen un residuo de treonina en su sitio activo, siendo sub-unidades catalíticas del proteasoma y participan en la eliminación de proteínas celulares (51). Las cisteína proteasas, pueden ser catepsinas de tipo B,C, F, H, K, L1, L2 o V, O, S, W y Z o X, al igual que las calpains se caracterizan porque degradan la proteína comparten un mecanismo catalítico común que implica un tiol de cisteína nucleofílico en una triada o diada catalítica, son además ubicuas en el citosol y en los lisosomas (52), en los procesos patológicos se sintetizan en células que participan en diversas vías de señalización, en el catabolismo de proteínas extracelulares y la activación de macrófagos; además participan en la degradación de la matriz intracelular y extracelular (53). De todas las catepsinas anteriormente mencionadas la que guarda relación con el proceso de la caries dental, es la catepsina B (54).

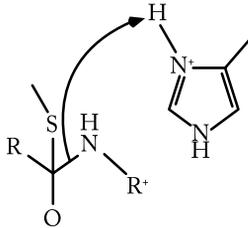
### 3. Mecanismo de acción de las cisteína proteasas

Toda cisteína proteasa cumple el siguiente mecanismo de acción:

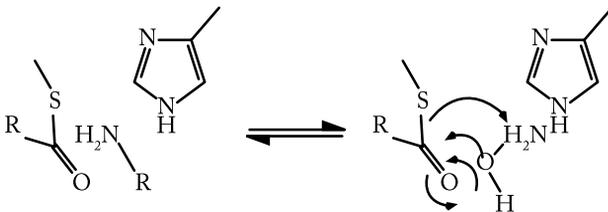
Primer paso, deprotonación de un tiol por un residuo de histidina (54).



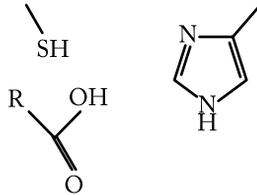
Segundo paso, ataque nucleofílico por el azufre aniónico de la cisteína desprotonada, liberando un extremo amino de un fragmento de sustrato (54).



Tercer paso, el residuo de histidina en la proteasa se restablece a su forma desprotonada, formando un tioéster intermedio (54).



Cuarto paso, el enlace tioéster se hidroliza para generar un resto de ácido carboxílico en el fragmento de sustrato restante, regenerando la enzima libre (54).



## 4. La papaína

Las cisteína proteasas se encuentran comúnmente en frutas como la papaya, el higo, la piña y el kiwi; siendo la proporción de esta enzima mayor cuando el fruto está inmaduro; la primera proteasa de cisteína fue obtenida y aislada de la *Carica papaya*, conocida como la papaína.

### 4.1. *Carica papaya* L.

Es una planta floreciente dicotiledónea, rica en antioxidantes, que pertenece a la orden violales, familia *Caricaceae*, género *Carica* L. y especie *papaya*, esta planta tiene un solo tallo hueco de color verde claro a marrón con presencia de cicatrices, además de grandes hojas, así como frutos grandes y ovalados (55). La *Carica papaya* L. se cultiva en países como Malasia, Brasil, Perú, Ecuador, Australia e Indonesia; es conocida también, según su distribución geográfica, como paw paw, kepayo o tapaya, siendo usada para el tratamiento tradicional de diversas patologías (56).

La papaína es la enzima proteolítica más explotada de la *Carica papaya* L. y ha sido utilizada para ayudar a la digestión y el ablandamiento de la carne (57).

## 4.2. La papaína

Es una cisteína proteasa, un polipéptido no glicosilado de cadena sencilla constituido por 212 aminoácido y con tres enlaces disulfuro, con un peso molecular de 23,429 Da y residuos catalíticamente importantes en las siguientes posiciones Gln19, Cys25, His158 e His159 y con un pH relativamente básico de 8,75 (58,59). La papaína es excepcionalmente resistente a altas concentraciones de agentes desnaturalizantes, como urea 8 M o solventes orgánicos como el etanol al 70 % (60).

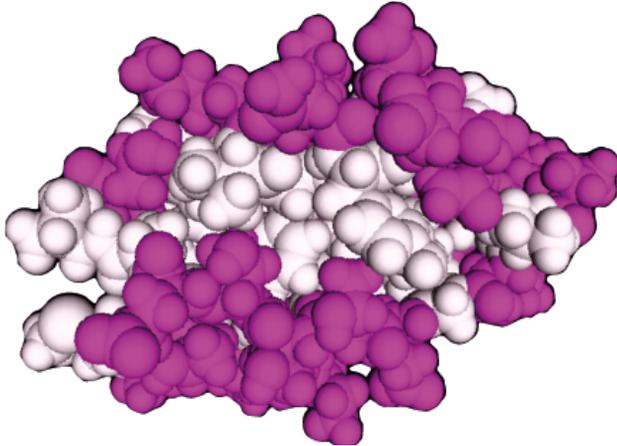


**Figura 1.** Representación gráfica de la composición de aminoácidos de la papaína (85).

La papaína es una cisteína proteasa constituida estructuralmente de dos dominios, un dominio todo- $\alpha$  y un dominio de hoja  $\beta$  anti-paralela, con una hendidura entre ellos; esta hendidura contiene el sitio activo, constituida por una díada catalítica, que se ha comparado con la tríada catalítica de la quimotripsina, la díada catalítica está formada por los aminoácidos-cisteína-25 (de donde obtiene su clasificación) e histidina-159 (61).

#### 4.2.1. Hidrofobicidad de la papaína

La papaína posee una interacción hidrofóbica-hidrofílica de aminoácidos en su cadena lateral, lo que la convierte en su principal fuerza termodinámica al plegamiento de proteínas (62). La papaína es una enzima que muestra mayor estabilidad en solventes hidrofóbicos y con un contenido de agua más bajo y es capaz de catalizar reacciones bajo diversas condiciones en solventes orgánicos, con cambios mínimos en su especificidad de sustrato en comparación con los medios acuosos (63). La papaína, como proteína nativa, posee un núcleo hidrofóbico y un grupo cargado y/o polar en la superficie, siendo el núcleo hidrofóbico el que ayuda a estabilizar la estructura terciaria de la proteína a través de interacciones hidrofóbicas, mientras que las superficies polares externas tienden a interactuar con el entorno acuoso externo (64).



**Figura 2.** Aminoácido hidrófobo de papaína (1CVZ); de color gris en un modelo de relleno de espacio están el oxígeno y el nitrógeno de la columna vertebral de los residuos con la cadena lateral hidrofóbica (85).

#### 4.2.2. Subsitios de la papaína

La papaína ejerce su actividad catalítica al hidrolizar proteínas, mostrando una amplia especificidad para los enlaces peptídicos. Se considera que el sitio activo de la papaína consta de subsitios (S0, S1, S2, S4, S10, S20, S30) que son altamente específicos, sin embargo, el subsitio S1 no es tan selectivo como el subsitio S2, pero existe cierta preferencia por la arginina (Arg) o lisina (Lys) en esta posición y no se acepta la valina (Val) (65); mientras que los subsitios S4, S20, S30 (66), S10 (67) y el S0 de la papaína, son altamente específicos (68).

#### 4.2.3. Actividad y especificidad de la papaína

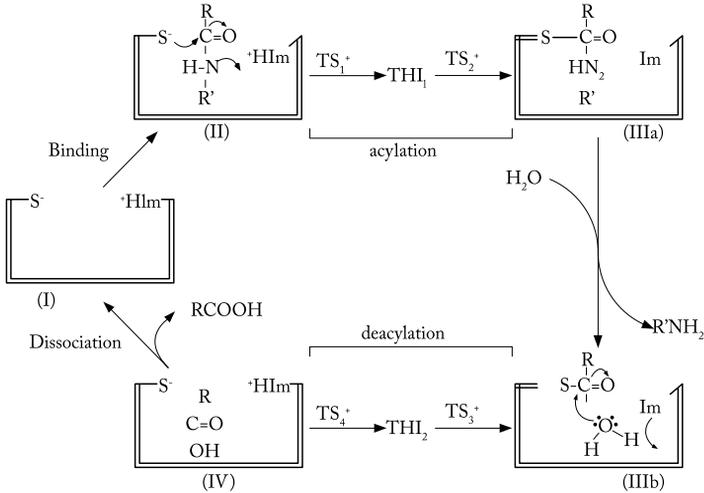
“La papaína exhibe actividades de endopeptidasa, amidasa y de esterasa” (69). La enzima papaína se liga a las fibras de colágeno descubiertas, por una unión enzima-sustrato, como se ve en la figura 4.

#### 4.2.4. Hidrólisis generada por la papaína

El mecanismo catalítico de la hidrólisis generada por la papaína incluye los siguientes pasos (ver figura 3):

- *Asociación.* Es la unión no covalente de la enzima libre (paso I) y el sustrato para formar el complejo de Michaelis (paso II), que tiene la forma de un aducto tetraédrico.
- *Acilación de la enzima.* (paso III a) Se forma un intermedio covalente, la acil-enzima, la cual resulta del ataque nucleofílico del grupo tiol del sitio activo sobre el carbono carbonilo del enlace amida escindible, con la liberación de un primer producto de la enzima, la amida R'NH<sub>2</sub> acompañado con la transferencia de un protón, es así que la basicidad del átomo de nitrógeno del enlace amida escindible es el factor principal que promueve la acilación. En el paso siguiente, la acil-enzima (paso III b) interactúa con

una molécula de agua, resultando en la formación del segundo producto (paso IV-desacilación). La liberación de este producto regenera la enzima libre (paso I).



**Figura 3.** Representación esquematizada de los diferentes pasos, supuestos intermedios y estados de transición implicados en la vía de reacción para la hidrólisis de un sustrato de amida por una cisteína peptidasa.

Se cree que existen muchos intermedios, así como estados de transición a lo largo de la vía de reacción en la hidrólisis de un sustrato de amida como la papaína. La papaína, al igual que otras enzimas proteolíticas, se sintetizan como proenzimas inactivas que contienen un prodominio autoinhibitorio para evitar la degradación de proteínas no deseadas (70). Este prodominio puede evitar el acceso del sustrato al sitio activo, de esta manera, la papaína desempeña un papel importante en el plegamiento de proteínas y orientación subcelular (71). La actividad de la papaína está condicionada por el pH y de la presencia de inhibidores o activadores endógenos para la regulación de la activación y catabolismo de la papaína (72).

#### 4.2.5. Alfa-1-Antitripsina

La alfa-1-antitripsina, es una glicoproteína plasmática miembro de la superfamilia de las serpinas que inhibe la tripsina; elastasa de neutrófilo; y otras enzimas proteolíticas (73). La alfa-1-antitripsina es un inhibidor tisular crucial y circulante de las serinas proteinasas involucradas en el control de la inflamación y la defensa del huésped. Además, puede tener actividades antiinflamatorias que no dependen de su función como inhibidor de proteasas (74).

La alfa-1-antitripsina en concentraciones, tanto fisiológicas como inflamatorias, tiene la capacidad de modular positivamente la proliferación y la motilidad de las células del estroma de los dientes deciduos exfoliados humanos *in vitro*. De este modo, Aldonyte et al. evidenciaron la importancia de esta proteína en el mantenimiento y la regulación de las células progenitoras de tejidos *in vivo* (75). En investigaciones actuales llevadas a cabo en modelos animales se ha evidenciado estrés y daños oxidativos en la patogenia de la deficiencia de alfa-1-antitripsina. Escribano et al. investigaron el estado de estrés oxidativo y la actividad de las enzimas antioxidantes en niños con deficiencia de alfa-1-antitripsina. Se descubrió que el incremento del estrés oxidativo, acompañado por una disminución en la defensa antioxidante, está implicado en la fisiopatología de las etapas iniciales de la deficiencia de alfa-1-antitripsina (76). La alfa-1-antitripsina también inhibe la activación de células B inducida por la proteína de unión a *Moraxella* (un género de bacterias Gram negativas) que no está relacionada con su actividad inhibidora de la proteasa y no depende de la unión de la proteína de unión a Ig D de *Moraxella* a la superficie celular (77).

## 5. La papaína-cisteína proteasas y caries dental

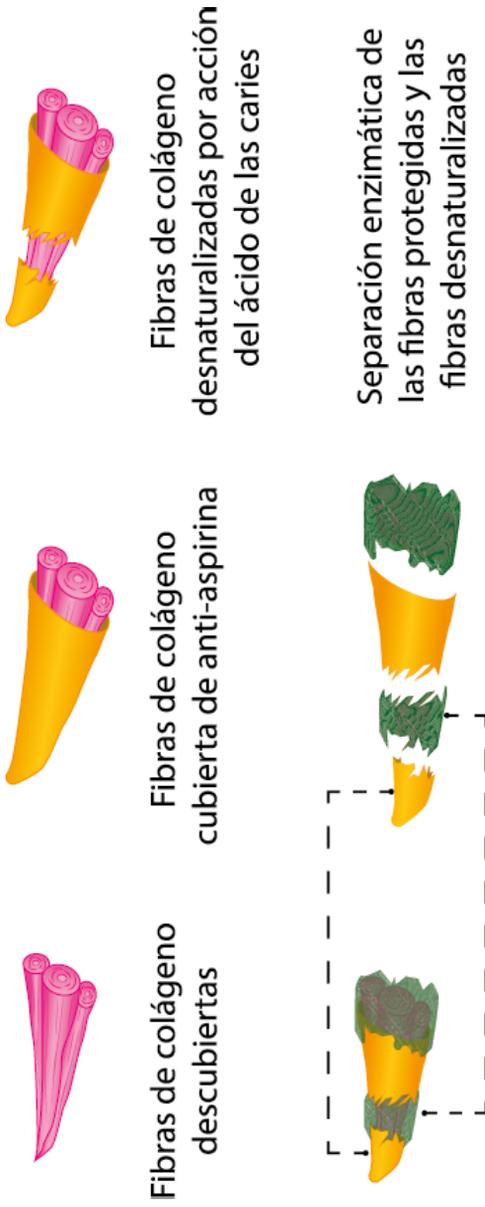
En el proceso carioso, la papaína, compuesta por cisteína proteasa, realiza una degradación hidrolítica lenta del colágeno tipo I, componente del 90 % de la matriz orgánica de la dentina, la cual se encuentra expuesta (78), paralelamente la dentina sufre modificaciones como consecuencia del envejecimiento fisiológico u otros procesos, generando diferentes formas de dentina, lo que provoca alteraciones en la biomecánica y estructura bioquímica de la dentina (79). A diferencia del tejido óseo, la dentina mineralizada no sufre una reestructuración importante, sin embargo, la predentina y la dentina no mineralizada dentro de los túbulos dentinarios parecen modificarse en respuesta a las demandas funcionales y/o requerimientos por la agresión de la caries; tal es el caso de las propiedades mecánicas de la dentina como la resistencia a la fatiga y la resistencia a la flexión, las cuales disminuyen con la edad (80), conllevando de esta manera a la presencia de cambios en la matriz de colágeno intertubular como una respuesta estructural.

Por lo tanto, las cisteína proteasas actúan en conjunto para modificar lentamente la estructura y las propiedades mecánicas de la dentina, estos cambios se relacionan directamente con la pérdida gradual de la periodicidad propia del colágeno (81) y esta periodicidad del colágeno se relaciona con la presencia de telopéptidos terminales junto a la unión comunicante, es decir, de aquellos lugares ocupados por minerales intrafibrilares. Por lo tanto, la pérdida de estos telopéptidos, considerado como la pérdida de periodicidad, puede significar que la remineralización intrafibrilar no puede ocurrir, a pesar que la pérdida total de minerales es relativamente baja (82).

En resumen, el accionar de las cisteína proteasas, componente de la papaína, desempeña el papel de una telopeptidasa, es decir, la

capacidad de escindir el extremo C-terminal de la molécula de colágeno. Por tal motivo son responsables de la liberación de fragmentos de telopéptidos carboxiterminales, denominados telopéptidos carboxiterminales liberados por catepsinas-CTX (83). La escisión de los extremos terminales no helicoidales de las moléculas de colágeno conocidos como telopéptidos, conduce a una pérdida gradual de las áreas de brecha intramolecular; como una manera de protección por parte de la estructura dentaria, el accionar de la proteasa de cisteína se ve limitada por la presencia de la alfa-1-antitripsina, la cual inhibe la actividad de la proteasa, actuando como un antiinflamatorio en las piezas dentales (84).

Los estudios realizados por Vidal et al. hallaron una alta expresión de catepsina de cisteína y matriz de metaloproteinasa en piezas dentales afectadas por caries, lo que indica que estas enzimas derivadas del huésped están intensamente involucradas en la progresión de la caries dental. De las dos proteasas en estudio se obtuvo un mayor porcentaje de catepsina cisteína en la co-localización con el colágeno, seguido de la metaloproteinasa, MMP-9 y MMP-2, lo que indica que ambas enzimas están intensamente involucradas en la progresión de la caries dental (84). La literatura científica indica que la actividad de la catepsina cisteína B incrementa su actividad a medida que aumenta la profundidad y la edad en las lesiones crónicas, mientras que su actividad disminuye en las lesiones agudas en comparación con el accionar de las metaloproteinasas, las cuales se reducen tanto con la edad como en lesiones crónicas y agudas(54).



**Figura 4.** Ilustración esquemática de cómo la papaína actúa sobre las fibras de colágeno desorganizadas debido al proceso de caries.

## Referencias bibliográficas

1. Storer AC, Ménard R. Papain. In: Handbook of Proteolytic Enzymes. Elsevier; 2013. p. 1858-61.
2. Coe SD. Las primeras cocinas de América. Fondo de Cultura Economica; 2004. 377 p.
3. Alomrani S, Kunert KJ, Foyer CH. Papain-like cysteine proteases are required for the regulation of photosynthetic gene expression and acclimation to high light stress. *J Exp Bot.* 2021 Apr 13;72(9):3441-54.
4. Mohd Azmi SI, Kumar P, Sharma N, Sazili AQ, Lee SJ, Ismail-Fitry MR. Application of Plant Proteases in Meat Tenderization: Recent Trends and Future Prospects. *Foods* [Internet]. 2023 Mar 21;12(6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/foods12061336>
5. El Moussaoui A, Nijs M, Paul C, Wintjens R, Vincentelli J, Azarkan M, et al. Revisiting the enzymes stored in the laticifers of *Carica papaya* in the context of their possible participation in the plant defence mechanism. *Cell Mol Life Sci.* 2001 Apr;58(4):556-70.
6. Mota V de S, Turrini RNT, Poveda V de B. [Antimicrobial activity of Eucalyptus globulus oil, xylitol and papain: a pilot study]. *Rev Esc Enferm USP.* 2015 Apr;49(2):216-20.
7. Moy JH. Papayas. In: Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition. Elsevier; 2003. p. 4345-51.
8. Ochsner A, Storck A. The prevention of peritoneal adhesions by papain: a clinical study. *Ann Surg.* 1936 Oct;104(4):736-47.

9. dos Anjos MM, da Silva AA, de Pascoli IC, Mikcha JMG, Machinski M Jr, Peralta RM, et al. Antibacterial activity of papain and bromelain on *Alicyclobacillus* spp. *Int J Food Microbiol*. 2016 Jan 4;216:121-6.
10. Santana LF, Inada AC, Espirito Santo BLS do, Filiú WFO, Pott A, Alves FM, et al. Nutraceutical Potential of in Metabolic Syndrome. *Nutrients* [Internet]. 2019 Jul 16;11(7). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/nu11071608>
11. Richard JP. Enzymatic Rate Enhancements: A Review and Perspective. *Biochemistry* [Internet]. 2013 Mar 3 [citado 2024 May 31];52(12). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3710718/>
12. Lorsch JR. Practical steady-state enzyme kinetics. *Methods Enzymol* [Internet]. 2014 [citado 2024 May 31];536. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24423262/>
13. Cuesta SM, Rahman SA, Furnham N, Thornton JM. The Classification and Evolution of Enzyme Function. *Biophys J* [Internet]. 2015 Sep 9 [citado 2024 May 31];109(6):1082. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4576142/>
14. Robinson PK. Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays Biochem* [Internet]. 2015 Nov 11 [citado 2024 May 31];59:1. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4692135/>
15. Espina G, Atalah J, Blamey JM. Extremophilic Oxidoreductases for the Industry: Five Successful Examples With Promising Projections. *Frontiers in bioengineering and biotechnology* [Internet]. 2021 Aug 12 [citado 2024 May 31];9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34458243/>

16. Shandilya M, Kumar G, Gomkale R, Singh S, Khan MA, Kateriya S, et al. Multiple putative methemoglobin reductases in *C. reinhardtii* may support enzymatic functions for its multiple hemoglobins. *Int J Biol Macromol* [Internet]. 2021 Feb 28 [citado 2024 May 31];171. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33428952/>
17. Younus H. Therapeutic potentials of superoxide dismutase. *Int J Health Sci* [Internet]. 2018 [citado 2024 May 31];12(3):88. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5969776/>
18. Klein R, Nagy O, Tóthová C, Chovanová F. Clinical and Diagnostic Significance of Lactate Dehydrogenase and Its Isoenzymes in Animals. *Vet Med Int* [Internet]. 2020 Jun 15;2020:5346483. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2020/5346483>
19. Chen S, Wang X, Nisar MF, Lin M, Zhong JL. Heme Oxygenases: Cellular Multifunctional and Protective Molecules against UV-Induced Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2019 Nov 21 [citado 2024 May 31];2019. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31885801/>
20. Guengerich FP, Yoshimoto FK. Formation and Cleavage of C-C Bonds by Enzymatic Oxidation-Reduction Reactions. *Chem Rev* [Internet]. 2018 Jul 25 [citado 2024 May 31];118(14). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29932643/>
21. Kandalam U, Ledra N, Laubach H, Venkatachalam KV. Inhibition of methionine gamma lyase deaminase and the growth of *Porphyromonas gingivalis*: A therapeutic target for halitosis/periodontitis. *Arch*

- Oral Biol [Internet]. 2018 Jun [citado 2024 May 31];90. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29525436/>
22. Schwartz M, Neiers F, Feron G, Canon F. The Relationship Between Salivary Redox, Diet, and Food Flavor Perception. *Frontiers in nutrition* [Internet]. 2021 Jan 28 [citado 2024 May 31];7. Disponible en: [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33585536/23.McArthur JB, Chen X. Glycosyltransferase engineering for carbohydrate synthesis. \*Biochem Soc Trans\* \[Internet\]. 2016 Feb \[citado 2024 May 31\];44\(1\). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26862198/>](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33585536/23.McArthur JB, Chen X. Glycosyltransferase engineering for carbohydrate synthesis. Biochem Soc Trans [Internet]. 2016 Feb [citado 2024 May 31];44(1). Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26862198/)
  24. Çağlayan M. Interplay between DNA Polymerases and DNA Ligases: Influence on Substrate Channeling and the Fidelity of DNA Ligation. *J Mol Biol* [Internet]. 2019 May 17 [citado 2024 May 31];431(11). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31034893/>
  25. Concu R, Cordeiro MND. Alignment-Free Method to Predict Enzyme Classes and Subclasses. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019 Nov [citado 2024 May 31];20(21). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6862210/>
  26. Cuesta SM, Furnham N, Rahman SA, Sillitoe I, Thornton JM. The evolution of enzyme function in the isomerases. *Curr Opin Struct Biol* [Internet]. 2014 Jun [citado 2024 May 31];26:121. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4139412/>
  27. Martínez CS, Rahman SA, Thornton JM. Exploring the chemistry and evolution of the isomerases. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2016 Feb 16 [citado 2024 May 31];113(7). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26842835/>
  28. Holmquist M. Alpha/Beta-hydrolase fold enzymes: structures, functions and mechanisms. *Curr Protein Pept Sci* [Internet]. 2000 Sep [citado 2024 May 31];1(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12369917/>

29. Patel S. Pathogenicity-associated protein domains: The fiercely-conserved evolutionary signatures. *Gene Reports* [Internet]. 2017 Jun [citado 2024 May 31];7:127. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7185390/>
30. Aldridge WN. The esterases: perspectives and problems. *Chem Biol Interact* [Internet]. 1993 Jun [citado 2024 May 31];87(1-3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8344005/>
31. Yang W. Nucleases: diversity of structure, function and mechanism. *Q Rev Biophys* [Internet]. 2011 Feb [citado 2024 May 31];44(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20854710/>
32. Levy I, Horvath A, Azevedo M, de Alexandre RB, Stratakis CA. Phosphodiesterase function and endocrine cells: links to human disease and roles in tumor development and treatment. *Curr Opin Pharmacol* [Internet]. 2011 Dec [citado 2024 May 31];11(6):689. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4727450/>
33. Brejchova K, Radner FPW, Balas L, Paluchova V, Cajka T, Chodounska H, et al. Distinct roles of adipose triglyceride lipase and hormone-sensitive lipase in the catabolism of triacylglycerol estolides. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2021 Jan 12 [citado 2024 May 31];118(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33372146/>
34. Shen WJ, Yu Z, Patel S, Jue D, Liu LF, Kraemer FB. Hormone-Sensitive Lipase Modulates Adipose Metabolism Through PPAR . *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2011 Jan [citado 2024 May 31];1811(1):9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2998198/>

35. Li T, Guo W, Zhou Z. Adipose Triglyceride Lipase in Hepatic Physiology and Pathophysiology. *Biomolecules* [Internet]. 2022 Jan [citado 2024 May 31];12(1). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8773762/>
36. Zhu G, Fang Q, Zhu F, Huang D, Yang C. Structure and Function of Pancreatic Lipase-Related Protein 2 and Its Relationship With Pathological States. *Front Genet* [Internet]. 2021 Jul 5 [citado 2024 May 31];12. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34290745/>
37. Pirahanchi Y, Anoruo M, Sharma S. Biochemistry, Lipoprotein Lipase. In: *StatPearls* [Internet] [Internet]. StatPearls Publishing; 2023 [citado 2024 May 31]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537040/>
38. Hengge AC. Chemistry and mechanism of phosphatases, diesterases and triesterases. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2013 Jan [citado 2024 May 31];1834(1):415. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4887191/>
39. Araujo CL, Vihko PT. Structure of Acid phosphatases. *Methods Mol Biol* [Internet]. 2013 [citado 2024 May 31];1053. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23860654/>
40. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline Phosphatase: An Overview. *Indian J Clin Biochem* [Internet]. 2014 Jul [citado 2024 May 31];29(3):269. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4062654/>
41. Mótyán JA, Tóth F, Tőzsér J. Research Applications of Proteolytic Enzymes in Molecular Biology. *Biomolecules* [Internet]. 2013 Dec [citado 2024 May 31];3(4):923. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4030975/>
42. Elsässer B, Goettig P. Mechanisms of Proteolytic Enzymes and

- Their Inhibition in QM/MM Studies. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Mar [citado 2024 May 31];22(6). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8004986/>
43. Bond JS. Proteases: History, discovery, and roles in health and disease. *J Biol Chem* [Internet]. 2019 Feb 2 [citado 2024 May 31];294(5):1643. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6364759/>
  44. Naeem M, Manzoor S, Abid MU, Tareen MBK, Asad M, Mushtaq S, et al. Fungal Proteases as Emerging Biocatalysts to Meet the Current Challenges and Recent Developments in Biomedical Therapies: An Updated Review. *Journal of fungi* (Basel, Switzerland) [Internet]. 2022 Jan 24 [citado 2024 May 31];8(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35205863/>
  45. Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, la Rosa CCD, Ramirez-Acuña JM, Perez-Romero BA, Guerrero-Rodriguez JF, et al. The Roles of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Diseases. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 Dec [citado 2024 May 31];21(24). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7767220/>
  46. López-Otín C, Bond JS. Proteases: Multifunctional Enzymes in Life and Disease. *J Biol Chem* [Internet]. 2008 Nov 11 [citado 2024 May 31];283(45):30433. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2576539/>
  47. Rawlings ND, Barrett AJ, Thomas PD, Huang X, Bateman A, Finn RD. The MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors in 2017 and a comparison with peptidases in the PANTHER database. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2018 Jan 4 [citado 2024 May 31];46(D1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29145643/>

48. Di Cera E. Serine proteases. *IUBMB Life* [Internet]. 2009 May [citado 2024 May 31];61(5). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19180666/>
49. Dodson G, Wlodawer A. Catalytic triads and their relatives. *Trends Biochem Sci* [Internet]. 1998 Sep [citado 2024 May 31];23(9). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9787641/>
50. DeClerck YA, Mercurio AM, Stack MS, Chapman HA, Zutter MM, Muschel RJ, et al. Proteases, extracellular matrix, and cancer: a workshop of the path B study section. *Am J Pathol* [Internet]. 2004 Apr [citado 2024 May 31];164(4). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15039201/>
51. Thibaudeau TA, Smith DM. A Practical Review of Proteasome Pharmacology. *Pharmacol Rev* [Internet]. 2019 Apr [citado 2024 May 31];71(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30867233/>
52. Verma S, Dixit R, Pandey KC. Cysteine Proteases: Modes of Activation and Future Prospects as Pharmacological Targets. *Front Pharmacol* [Internet]. 2016 Apr 25 [citado 2024 May 31];7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27199750/>
53. Vidak E, Javoršek U, Vizovišek M, Turk B. Cysteine Cathepsins and their Extracellular Roles: Shaping the Microenvironment. *Cells* [Internet]. 2019 Mar 20 [citado 2024 May 31];8(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30897858/>
54. Nascimento FD, Minciotti CL, Geraldini S, Carrilho MR, Paschley DH, Tay FR, et al. Cysteine Cathepsins in Human Carious Dentin. *J Dent Res* [Internet]. 2011 Apr [citado 2024

- May 31];90(4):506. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3144127/>
55. Khor BK, Chear NJ, Azizi J, Khaw KY. Chemical Composition, Antioxidant and Cytoprotective Potentials of *Carica papaya* Leaf Extracts: A Comparison of Supercritical Fluid and Conventional Extraction Methods. *Molecules* [Internet]. 2021 Mar 9 [citado 2024 May 31];26(5). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33803330/>
  56. Leitão M, Ribeiro T, García PA, Barreiros L, Correia P. Benefits of Fermented Papaya in Human Health. *Foods* (Basel, Switzerland) [Internet]. 2022 Feb 16 [citado 2024 May 31];11(4). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35206040/>
  57. Gerelt B, Ikeuchi Y, Suzuki A. Meat tenderization by proteolytic enzymes after osmotic dehydration. *Meat Sci* [Internet]. 2000 Nov [citado 2024 Jun 1];56(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22062083/>
  58. Mitchel RE, Chaiken IM, Smith EL. The complete amino acid sequence of papain. Additions and corrections. *J Biol Chem* [Internet]. 1970 Jul 25 [citado 2024 Jun 1];245(14). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5470818/>
  59. Alecio MR, Dann ML, Lowe G. The specificity of the S1' subsite of papain. *Biochem J* [Internet]. 1974 Aug [citado 2024 Jun 1];141(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4455218/>
  60. Ghosh S. Physicochemical and conformational studies of papain/sodium dodecyl sulfate system in aqueous medium. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp* [Internet]. 2005 Aug;264(1-3):6-16. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775705001615>

61. Ménard R, Khouri HE, Plouffe C, Dupras R, Ripoll D, Vernet T, et al. A protein engineering study of the role of aspartate 158 in the catalytic mechanism of papain. *Biochemistry* [Internet]. 1990 Jul 17 [citado 2024 Jun 1];29(28). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2397208/>
62. Chamani J, Heshmati M, Rajabi O, Parivar K. Thermodynamic study of intermediate state of papain induced by n-alkyl sulfates at two different pH values: A spectroscopic approach. *Open Surf Sci J* [Internet]. 2009 Jan 1;1(1):20-9. Disponible en: <http://benthamopen.com/ABSTRACT/TOSURSJ-1-20>
63. Stevenson DE, Storer AC. Papain in organic solvents: determination of conditions suitable for biocatalysis and the effect on substrate specificity and inhibition. *Biotechnol Bioeng* [Internet]. 1991 Mar 15 [citado 2024 Jun 1];37(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18600639/>
64. Wang L, Sun N, Terzyan S, Zhang X, Benson DR. A histidine/tryptophan pi-stacking interaction stabilizes the heme-independent folding core of microsomal apocytochrome b5 relative to that of mitochondrial apocytochrome b5. *Biochemistry* [Internet]. 2006 Nov 21 [citado 2024 Jun 1];45(46). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17105194/>
65. Kamphuis IG, Kalk KH, Swarte MB, Drenth J. Structure of papain refined at 1.65 Å resolution. *J Mol Biol* [Internet]. 1984 Oct 25 [citado 2024 Jun 1];179(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6502713/>
66. Portaro FC, Santos AB, Cezari MH, Juliano MA, Juliano L, Carmona E. Probing the specificity of cysteine proteinases at subsites remote from the active site: analysis of P4, P3, P2' and

- P3' variations in extended substrates. *Biochem J* [Internet]. 2000 Apr 4 [citado 2024 Jun 1];347(Pt 1):123. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1220939/>
67. Ménard R, Carmona E, Plouffe C, Brömme D, Konishi Y, Lefebvre J, et al. The specificity of the S1' subsite of cysteine proteases. *FEBS Lett* [Internet]. 1993 Aug 9 [citado 2024 Jun 1];328(1-2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8344413/>
  68. LaLonde JM, Zhao B, Smith WW, Janson CA, DesJarlais RL, Tomaszek TA, et al. Use of papain as a model for the structure-based design of cathepsin K inhibitors: crystal structures of two papain-inhibitor complexes demonstrate binding to S'-subsites. *J Med Chem* [Internet]. 1998 Nov 5 [citado 2024 Jun 1];41(23). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9804696/>
  69. Glazer AN, Smith EL. 14 Papain and Other Plant Sulfhydryl Proteolytic Enzymes. In: Boyer PD, editor. *The Enzymes* [Internet]. Academic Press; 1971. p. 501-46. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874604708604059>
  70. Coulombe R, Grochulski P, Sivaraman J, Ménard R, Mort JS, Cygler M. Structure of human procathepsin L reveals the molecular basis of inhibition by the prosegment. *EMBO J* [Internet]. 1996 Oct 15 [citado 2024 Jun 1];15(20). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8896443/>
  71. Taylor MA, Baker KC, Briggs GS, Connerton IF, Cummings NJ, Pratt KA, et al. Recombinant pro-regions from papain and papaya proteinase IV-are selective high affinity inhibitors of

- the mature papaya enzymes. *Protein Eng* [Internet]. 1995 Jan [citado 2024 Jun 1];8(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7770454/>
72. van der Hoorn RAL, Leeuwenburgh MA, Bogyo M, Joosten MHA, Peck SC. Activity Profiling of Papain-Like Cysteine Proteases in Plants. *Plant Physiol* [Internet]. 2004 Jul [citado 2024 Jun 1];135(3):1170. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC519038/>
  73. Janciauskiene S, Wrenger S, Immenschuh S, Olejnicka B, Greulich T, Welte T, et al. The Multifaceted Effects of Alpha1-Antitrypsin on Neutrophil Functions. *Front Pharmacol* [Internet]. 2018 [citado 2024 Jun 1];9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5914301/>
  74. O'Brien ME, Murray G, Gogoi D, Yusuf A, McCarthy C, Wormald MR, et al. A Review of Alpha-1 Antitrypsin Binding Partners for Immune Regulation and Potential Therapeutic Application. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2022 Feb 23 [citado 2024 Jun 1];23(5). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35269582/>
  75. Aldonyte R, Tunaitis V, Surovas A, Suriakaite K, Jarmalaviciute A, Magnusson KE, et al. Effects of major human antiprotease alpha-1-antitrypsin on the motility and proliferation of stromal cells from human exfoliated deciduous teeth. *Regen Med* [Internet]. 2010 Jul [citado 2024 Jun 1];5(4). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20632864/>
  76. Escribano A, Amor M, Pastor S, Castillo S, Sanz F, Codoñer-Franch P, et al. Decreased glutathione and low catalase activity contribute to oxidative stress in children with  $\alpha$ -1 an-

- titrypsin deficiency. *Thorax* [Internet]. 2015 Jan [citado 2024 Jun 1];70(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25028454/>
77. Hadzic R, Nita I, Tassidis H, Riesbeck K, Wingren AG, Jančiauskiene S. Alpha1-antitrypsin inhibits *Moraxella catarrhalis* MID protein-induced tonsillar B cell proliferation and IL-6 release. *Immunol Lett* [Internet]. 2006 Feb 15 [citado 2024 Jun 1];102(2). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16214222/>
78. Maselli A, da Silva TM, Gonçalves LL, Braga AS, Bresciani E, Magalhães AC, et al. Effect of fluoride, chlorhexidine or Nd:YAG on the progression of root dentin demineralization after removal of the demineralized organic matrix. *J Appl Oral Sci* [Internet]. 2022 [citado 2024 Jun 1];30. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8957282/>
79. Marshall GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *J Dent* [Internet]. 1997 Nov [citado 2024 Jun 1];25(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9604576/>
80. Bedran-Russo AK, Pauli GF, Chen SN, McAlpine J, Castellan CS, Phansalkar RS, et al. Dentin biomodification: strategies, renewable resources and clinical applications. *Dent Mater* [Internet]. 2014 Jan [citado 2024 Jun 1];30(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24309436/>
81. Deyhle H, Bunk O, Müller B. Nanostructure of healthy and caries-affected human teeth. *Nanomedicine* [Internet]. 2011 Dec [citado 2024 Jun 1];7(6). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21945898/>

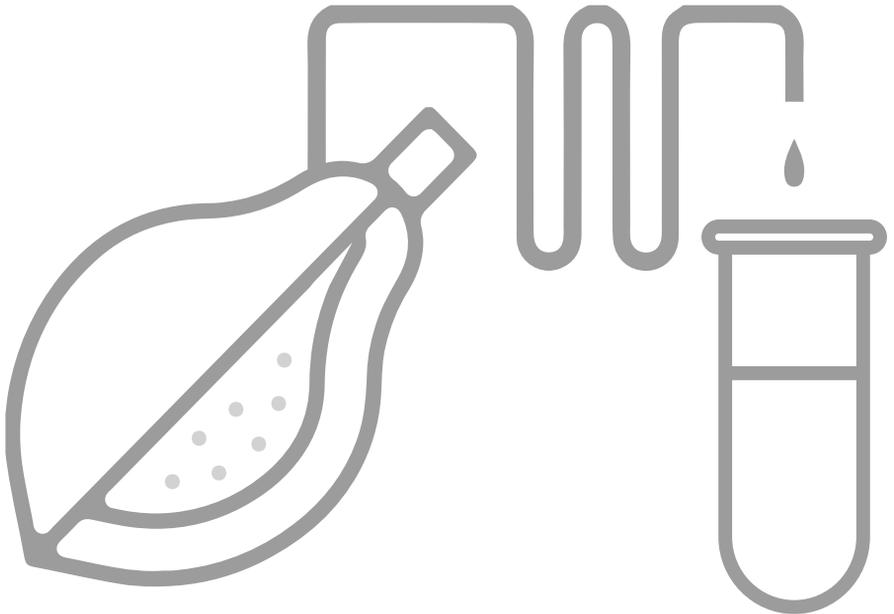
82. Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldini S, et al. Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater* [Internet]. 2013 Jan [citado 2024 Jun 1];29(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22901826/>
83. Tezvergil-Mutluay A, Mutluay M, Seseogullari-Dirihan R, Agee KA, Key WO, Scheffel DLS, et al. Effect of Phosphoric Acid on the Degradation of Human Dentin Matrix. *J Dent Res* [Internet]. 2013 Jan [citado 2024 Jun 1];92(1):87. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3521452/>
84. Vidal CM, Tjäderhane L, Scaffa PM, Tersariol IL, Pashley D, Nader HB, et al. Abundance of MMPs and cysteine cathepsins in caries-affected dentin. *J Dent Res* [Internet]. 2014 Mar [citado 2024 Jun 1];93(3). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24356440>
85. Bramdeo K. Hydrophobicity of Papain (1CVZ). *Molecular Modelling and Structural Analysis of Papain* [Internet]. Disponible en: <https://bit.ly/4dfwEGx>





## —Capítulo II—

Métodos de extracción del  
complejo enzimático de la papaína



## 1. Introducción

La remoción químico-mecánica de la caries dental implica una remoción selectiva de dentina suave, rugosa, sin quitar la dentina sana, es un procedimiento prometedor porque existe una disminución de la percepción del dolor y mayor confort del paciente durante la atención odontológica. Sin embargo, la desventaja que existe es el tiempo prolongado de trabajo en el consultorio dental (1,2).

Una de las enzimas utilizadas para remoción de caries es la papaína, considerada una endoenzima proteolítica similar a la pepsina humana, con propiedades bactericidas, bacteriostáticas y antiinflamatorias con un agente de desbridamiento. Esta enzima se caracteriza por eliminar los desechos de los tejidos afectados, sin ocasionar un efecto perjudicial en aquellos que se encuentran libres de lesiones, debido a que en su estructura contienen una antiproteasa plasmática que impide su acción proteolítica (3-5).

La acción enzimática de la papaína se enfoca en actuar directamente sobre el tejido dañado y/o necrosado, como una enzima proteolítica que se adhiere a las fibras de colágeno degradadas, ya que carecen de la proteasa plasmática alfa 1-antitripsina, que solo se encuentra en los tejidos sanos e inhibe la digestión de las proteínas (4,5).

Esta acción permite que la papaína rompa las fibras de colágeno parcialmente degradadas, provocando su reblandecimiento y facilitando la remoción manual. Así se conserva el tejido sano, que no sufre alteración, ya que no están expuestas las fibras de colágeno ni existe desmineralización (6-8).

## 2. Procedimiento de obtención de materia prima

- La materia prima babaco (*C. pentagona*) se obtuvo directamente de la planta.
- Procesamiento de la muestra: la materia prima fue lavada, secada y desinfectada con alcohol antiséptico. Para obtención de la segunda capa de babaco (*C. pentagona*) (mesocarpio) se realizaron cortes laminares y se colocaron en bandejas de aluminio previamente desinfectadas.
- Los cortes de babaco (*C. pentagona*) se colocaron en la incubadora a una temperatura de 60° C durante 48h para su deshidratación.
- Transcurrido este tiempo, se trituró la materia prima en un mortero y se almacenó en tubos a temperatura ambiente libre de humedad.

## 3. Métodos químicos para la obtención de papaína

Las técnicas de extracción involucran tiempos prolongados y requieren solventes como alcoholes, hidrocarburos y cloro alcanos. Es importante destacar que la aplicación de la técnica de extracción, independientemente de cuál sea, debe utilizar el disolvente correcto, respetando tiempos y protocolos de manera efectiva, para evitar degradación y pérdida volátil del producto (9).

Los métodos de extracción que se describirán en este capítulo son: destilación, Soxhlet, maceración y percolación.

### 3.1. Destilación

La destilación fue inventada por los alquimistas egipcios, quienes utilizaron una variedad de aparatos e instrumentos para realizar la vaporización de sustancias volátiles, convirtiéndose a lo largo de los

años en el proceso más utilizado para la industria alimentaria, cosmética y química. Este permite la separación de mezclas líquidas, debido a la diferencia de puntos de ebullición, ya que si existe una gran diferencia, más eficaz será la separación de sus componentes y tendrán un mayor grado de pureza (10).

La destilación consiste en calentar la mezcla de sustancias para separar dos o más líquidos mediante la ebullición, que provoca evaporación más volátil para luego condensarse en el refrigerante, donde pasará a un estado líquido, por tanto, lo que queda en el balón de aforo será lo menos volátil. Hay un tipo de destilación a vacío que se realiza mediante rotavapores, que permite realizar el proceso a una temperatura menor a su punto de ebullición en el caso de disolución con soluto poco volátil y así se disminuye el riesgo de descomposición del producto que se queda en el balón de aforo. Por este motivo, el más volátil se evapora y condensa rápidamente mientras que el otro queda en el balón de aforo. Por otro parte, si los dos compuestos fueran volátiles no se podría realizar su completa separación con una destilación simple (10-11).

La destilación es un proceso en el cual se calienta un líquido hasta que sus componentes más volátiles se transforman a la fase de vapor, posteriormente, se condensa el vapor recuperándolo en forma líquida. El objetivo principal de la destilación es conseguir el componente más volátil en forma pura. Por ejemplo, la eliminación del agua del alcohol evaporando el alcohol. En este ejemplo el principio de la destilación se fundamenta en las diferencias del punto de ebullición tanto del agua ( $100^{\circ}\text{C}$ ) como del alcohol ( $78,3^{\circ}\text{C}$ ). Si se calienta un recipiente que contiene alcohol a una temperatura que supera los  $78,3^{\circ}\text{C}$ , pero que no alcanza los  $100^{\circ}\text{C}$ , el alcohol se evapora y se separa del líquido original, para luego juntarlo y recondensarlo en un líquido de mayor fuerza alcohólica (11,12).

### 3.1.1. Proceso de destilación

- Se colocan dos pinzas en el soporte universal, en donde la primera pinza sostiene la malla de asbesto donde se coloca la olla con agua hasta la mitad y la segunda sostiene el balón de aforo.
- En el segundo soporte universal se coloca la pinza que servirá de soporte del refrigerante, el cual se une al balón de aforo mediante tubos de vidrio y topes de caucho.
- Se conecta el mechero al cilindro de gas con la válvula y la manguera, después, se coloca el mechero debajo del recipiente, que contiene el balón de aforo.
- En el balón de aforo se colocan los reactivos: 200 ml de alcohol a 96° y 20 g de la segunda capa de babaco (*C. pentagona*) triturada. Posterior a esto se coloca un tapón de caucho con un termómetro para controlar la salida de líquido.
- Se prende el mechero y también se abre la corriente de agua para el refrigerante.
- Se coloca un vaso de precipitación al final del refrigerante para obtener el resultado de la destilación a baño maría, ya que al llegar a un punto de ebullición de 78,3° C se evapora 150 ml de alcohol y finaliza la destilación.
- Se filtra la solución del balón de aforo mediante un embudo y papel filtro colocado en su interior.
- El resultado del complejo enzimático es de 40 ml y se distribuye en jeringas estériles.

### 3.2. Soxhlet

La extracción Soxhlet ha sido —y en muchos casos continúa siendo— el método estándar de extracción de muestras sólidas más utilizado desde su diseño en el siglo XX. Actualmente, es el principal

método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción. Además de diferentes métodos de la EPA (Environmental Protection Agency) y de la FDA (Food and Drugs Administration) utilizan esta técnica clásica como método oficial para la extracción continua de sólidos (13).

En este procedimiento se coloca en un cartucho de material poroso la muestra sólida finamente pulverizada, el mismo que se sitúa en la cámara del extractor Soxhlet. Se calienta el disolvente extractante, situado en el matraz, se condensan sus vapores que caen, gota a gota, sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo los analitos solubles. “Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente” (13,14).

La extracción con Soxhlet presenta las siguientes ventajas: la muestra está en contacto repetidas veces con porciones frescas de disolvente y la extracción se realiza con el disolvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos.

Por otra parte, las desventajas más significativas de este método de extracción son el tiempo requerido para la extracción, la cantidad de disolvente orgánico, es necesaria una etapa final de evaporación del disolvente para la concentración de los analitos (14,15).

### **3.2.1. Proceso de Soxhlet**

- Se coloca la muestra de 20 g de *C. Pentagona* en un papel filtro dentro del cartucho y en el balón se coloca 200 ml de solvente (alcohol al 96 %).
- Se procede a armar el equipo Soxhlet sin olvidar la entrada y salida de agua a través de mangueras.

- Se enciende el calentador y empieza el proceso. Se espera a que cumpla su ciclo automático, pero siempre vigilando el procedimiento del mismo.
- Una vez que se cumplieron treinta vueltas y la muestra está agotada, se apaga el calentador y se deja reposar hasta su completo enfriamiento.
- Para lograr la obtención del complejo enzimático se debe eliminar el solvente y para eso se usa el método de destilación que consta de la colocación de dos pinzas en el soporte universal, en donde la primera sostiene la malla de asbesto donde se colocó el recipiente con agua hasta la mitad y en la segunda el balón de aforo.
- En el segundo soporte universal se coloca la pinza que servirá de soporte del refrigerante, el cual se une al balón de aforo mediante tubos de vidrio y topes de caucho.
- Se conecta el mechero al cilindro de gas por medio de la válvula y manguera posterior, a esto se añade el mechero debajo de la recipiente, la cual contiene el balón de aforo.
- En el balón de aforo se colocan los reactivos: 175 ml de alcohol más el complejo enzimático resultado del proceso. Posteriormente, se coloca un tapón de caucho con un termómetro para controlar la salida de líquido.
- Se enciende el mechero y también se abre la corriente de agua para el refrigerante.
- Se coloca un vaso de precipitación al final del refrigerante para obtener el resultado de la destilación a baño maría, ya que al llegar a un punto de ebullición de  $78,3^{\circ}$  C se evapora el alcohol y finaliza la destilación.

### **3.3. Maceración**

Los diferentes procesos de extracción involucran un cúmulo de tiempo y requieren grandes cantidades de solventes como alcoholes, hidrocarburos y cloroalcanos. Es importante reconocer que ningún compuesto se extrae utilizando agua como solvente, ya que varios compuestos que se han sometido a estos procesos generan degradación y pérdida volátil de sus propiedades (16,17).

La maceración es el tipo de extracción sólido-líquido más sencillo, ya que únicamente se requiere un soluto y un solvente, un frasco ámbar y un embudo. La cantidad de solvente que se debe colar en el frasco ámbar es el doble de la cantidad de soluto, siempre se debe observar que el solvente cubra en su totalidad al soluto, se deja reposar durante 7 días en un lugar oscuro a una temperatura no mayor a 37° C. Culminado el tiempo de reposo, es necesario separar el principio activo del solvente, lo cual se realiza filtrando esta mezcla con ayuda de un embudo y un papel filtro (18,19).

El producto obtenido mediante el método de maceración extrae de forma natural todas las propiedades del soluto sin alterar su composición al menos (18).

#### **3.3.1. Proceso de maceración**

- El babaco pulverizado se pesa en la balanza de laboratorio; dando un resultado de 34,25 g, este peso es importante para determinar la cantidad de soluble necesario en el proceso de maceración.
- La materia prima triturada se vierte en un frasco ámbar y en relación a este, se coloca una doble cantidad de soluble (alcohol 96°) el cual da un total de 68,5 ml.
- Seguidamente se cubre el frasco ámbar y se envuelve en papel aluminio para evitar el paso de la luz y se deja reposar en un lugar fresco, oscuro y seco durante 7 días.

- Pasados los días de reposo se procede a filtrar el producto mediante la ayuda de un embudo con papel filtro.
- Una vez filtrado el producto se obtienen 38 ml de solución constituida por alcohol y complejo enzimático rico en *Carica pentagona*.
- Posteriormente, se realiza el proceso de destilación a baño maría para separar el alcohol que está en la solución obtenida.

### **3.3.2. Proceso de destilación a baño maría**

- Para llevar a cabo este proceso, se colocan dos pinzas en un soporte universal en donde la primera pinza sostiene la malla de asbesto donde se coloca la olla con agua hasta la mitad y en la segunda el balón de aforo.
- En el segundo soporte universal se coloca la pinza que sostiene el refrigerante, el cual se une al balón de aforo mediante tubos de vidrio y topes de caucho.
- Se conecta el mechero al cilindro de gas por medio de la válvula y la manguera. Posterior a esto se coloca el mechero debajo del recipiente, la cual contiene el balón de aforo.
- En el balón de aforo se vierten los 38 ml de complejo enzimático obtenido tras la maceración, posterior a esto se coloca un tapón de caucho con un termómetro para controlar la salida de líquido.
- Se enciende el mechero y también se abre la corriente de agua para el refrigerante.
- Se coloca un vaso de precipitación al final del refrigerante para obtener el alcohol que ha sido separado del complejo enzimático, ya que al llegar a un punto de ebullición de 78,3° C finaliza la destilación.

- Una vez terminado el proceso de destilación se obtienen 15 ml de alcohol y 21 ml de complejo enzimático, el cual se coloca en jeringas estériles para conservarlo antes de verificar su eficacia.

### **3.4. Percolación**

La percolación implica que el fluido pasa lentamente por los poros del material. El proceso suele llevarse a cabo para conseguir la parte soluble de una sustancia sólida, para lo cual se debe recurrir al solvente apropiado. Es el método oficial de extracción, descrito en la Farmacopea Americana (19,20).

La percolación es el procedimiento más utilizado para la preparación de tinturas y extractos fluidos. El percolador es un recipiente cónico con una abertura superior en la cual se puede colocar una tapa circular horadada que permite el paso del líquido y somete a una ligera presión a los materiales colocados en él. Por la parte inferior posee un cierre regulable para permitir el paso del líquido a una velocidad conveniente. La percolación es el método extractivo menos adecuado en el caso de gran gelificación o si las drogas son muy voluminosas (21).

Para realizar el proceso de percolación se realizó los siguientes pasos:

- Se prepara el equipo del percolador y se pone una capa de algodón estéril y 2 filtros de papel.
- Luego se pesa en la balanza el porcentaje de principio activo.
- Se añade 25,05 g de principio activo y 14,8 ml de alcohol al 96 % hasta que cubra toda la materia prima.
- Se colocan 2 filtros de papel para cubrir el principio activo y se colocan canicas para aplicar fuerza.
- Se cubre con papel aluminio por completo.

- Se deja en reposo durante 3 días.
- Al 4º día se pone un vaso ámbar en la punta de caída de la botella y se aplica fuerza para provocar la caída del principio activo.
- Se obtiene el principio activo y se coloca en una jeringa completamente estéril.

**Proceso de destilación:**

- Se colocan dos pinzas en el soporte universal, en donde la primera pinza sostiene la malla de asbesto en que se coloca el recipiente con agua hasta la mitad y en la segunda el balón de aforo.
- En el segundo soporte universal se coloca la pinza que sirve de soporte del refrigerante, el cual se une al balón de aforo mediante tubos de vidrio y topes de caucho.
- Se conecta el mechero al cilindro de gas por medio de válvula y manguera, posterior a esto se coloca el mechero debajo de la olla, la cual contiene el balón de aforo.
- En el balón de aforo se pone el resultado obtenido de la percolación de 11 ml, posterior a esto se coloca un tapón de caucho con un termómetro para controlar la salida de líquido.
- Se prende el mechero y también se abre la corriente de agua para el refrigerante.
- Se coloca un vaso de precipitación al final del refrigerante, para obtener el resultado de la destilación a baño maría, ya que al llegar a un punto de ebullición de 78,3° C se evapora el alcohol y finaliza la destilación.
- Se filtra la solución del balón de aforo mediante un embudo y papel filtro colocado en su interior.
- Colocamos el complejo enzimático en una jeringa estéril.

La extracción química de diferentes componentes es muy importante para la purificación y obtención de estos, para utilizar en las múltiples industrias, en este caso en el campo odontológico hay muchos métodos, y presenta ventajas y desventajas sobre las propiedades biológicas y fisicoquímicas de los productos extraídos (22-25).

## Referencias bibliográficas

1. Valenzuela R, Avalos K, Mejía A, Milian Y, Tirado M, Varas L. Comparación de los métodos químico mecánico y mecánico para la remoción de la caries dental metaanálisis. *Rev. Salud & Vida Sipanense*. 2017. Disponible en: <https://bit.ly/4etUHTa>
2. Dhanvijay A, Kubde R, Shenoi P, Badole G, Shahu S. Assessment of Smear Layer Formation After Caries Removal Using Erbium Laser and Papain-Based Chemo-Mechanical Caries Removal Agent: An In Vitro Scanning Electron Microscopy Study. *Cureus*. 2023;15(10):e47999. doi:10.7759/cureus.47999
3. Bussadora SK, Kalil S, Cardoso C, Domingues M, Marcílio E, Santos K. Gel a base de papaína: una nueva alternativa para la remoción química y mecánica de la caries. *Actas Odontológicas*. 2006;3(2):35-39. <https://bit.ly/3MQzSFP>
4. Silva E, Ibarra M, Sánchez M, Angulo M, Soto J, Ayala A, et al. Evaluación microbiológica de la dentina cariada antes y después del uso de papacarie. *Revista Tamé*. 2015;4(2):25-27. Disponible en: <https://bit.ly/3ZERL1E>
5. Llerena C, Collins S, Briand L, Morcelle S. Investigation of the structure and proteolytic activity of papain in aqueous miscible organic media. *Process Biochemistry*. 2012;47(1):47-56. doi: 10.1016/j.procbio.2011.10.003
6. Raulino Da Silva Luciana, Hartley Murillo Julia, Marcílio Santos Elaine, Guedes-pinto Antonio Carlos, Kalil Bussadori Sandra. Utilización del gel de la papaya para la remoción de la caries - reporte de un caso con seguimiento clínico de un año. *Acta Odontol. Venez* [Internet]. 2005 May. [citado 1 de agosto de 2024];43(2):155-158. Disponible en: <https://bit.ly/3zt0NnQ>

7. Moya Z, Abril R, Villavicencio E, Torres F. Método de remoción de caries preferido por dentistas y pacientes niños. *Rev. Veritas*. 2013. Disponible en: <https://bit.ly/4ez7fbJ>
8. Jain K, Bardia A, Geetha S, Goel A. Papacarie: A Chemomechanical Caries Removal Agent. *Rev. IJSS Case Reports & Reviews*. 2015. Disponible en: <https://bit.ly/4djG2ZE>
9. Valiente A. Historia de la destilación. Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. 2008. Disponible en: <https://bit.ly/3XCrCyd>
10. Tesfaye M, Gonfa Y, Tadesse G, Temesgen T, Periyasamy S. Green synthesis of silver nanoparticles using Vernonia amygdalina plant extract and its antimicrobial activities. *Heliyon*. 2023;9(6):e17356. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e17356
11. Mulet-Hing, M. Automatización de la destilación de alcohol de la UEB destilería de la ronera Santiago de Cuba. *Tecnología Química [Internet]*. 2013;33(1):5. Disponible en: <https://bit.ly/3MSMwUv>
12. Frenna S, Mazzola A, Orecchio S, Tuzzolino N. Comparison of different methods for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from Sicilian (Italy) coastal area sediments. *Environ Monit Assess*. 2013;185(7):5551-5562. doi: 10.1007/s10661-012-2966-5
13. Viera O, Morales S. Comparación de los métodos de extracción para hidrocarburos aromáticos policíclicos en sedimentos marinos empleando soxhlet y baño ultrasónico. *Rev. Centro Azúcar*. 2020;47(3), jul-sep. Disponible en: <https://bit.ly/4ebS3lg>
14. Wirth T. Organic synthesis in flow for medicinal chemistry. *Bioorg Med Chem*. 2017;25(23):6179. doi: 10.1016/j.bmc.2017.11.013

15. Cvjetko M, Vidović S, Radojčić I, Jokić S. New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioproducts Processing*. 2018;109(1):52-73. doi: 10.1016/j.fbp.2018.03.001
16. Azmir J, Zaidull, Rahman M, Sharif K, Mohamed A, Saheena F, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 2013;117(4):426-436. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014
17. Maskovic P, Velickovic V, Durovic S, Zekovic Z, Radojkovic M, Cvetanovic A, et al. Biological activity and chemical profile of *Lavatera thuringiaca* L. Extracts obtained by different extraction approaches. *Phytomedicine*. 2018;38(1):118124. doi: 10.1016/j.phymed.2017.11.010
18. Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength, and limitation. *Med Aromat Plants*. 2015;4:196. Disponible en: <https://bit.ly/4eAmxgF>
19. Velickovic V, Durovic S, Radojkovic M, Cvetanovic A, Svarc J, Vujic J, et al. Application of conventional and non-conventional extraction approaches for extraction of *Erica carnea* L.: Chemical profile and biological activity of obtained extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2017;128(0):331-337. doi: 10.1016/j.supflu.2017.03.023
20. Atanasov AG, Zotchev SB, Dirsch VM; International Natural Product Sciences Taskforce, Supuran CT. Natural products in drug discovery: advances and opportunities. *Nat Rev Drug Discov*. 2021;20(3):200-216. doi: 10.1038/s41573-020-00114-z
21. Pandey A, Tripathi S. Concept of standardization, extraction, and pre-phytochemical screening strategies for herbal drug. *J Pharmacogn Phytochem*. 2014;2:115-9. Disponible en: <https://bit.ly/3Xy1jJs>

22. Aziz ZAA, Ahmad A, Setapar SHM, Karakucuk A, Azim MM, Lokhat D, Rafatullah M, Ganash M, Kamal MA, Ashraf GM. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical and Therapeutic Potential-A Review. *Curr Drug Metab.* 2018;19(13):1100-1110. doi: 10.2174/1389200219666180723144850
23. Xu YQ, Ji WB, Yu P, Chen JX, Wang F, Yin JF. Effect of extraction methods on the chemical components and taste quality of green tea extract. *Food Chem.* 2018;May,15;248:146-154. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.060
24. Abubakar AR, Haque M. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences.* 2020;12(1),1-10, Jan-Mar. doi: 10.4103/jpbs.JPBS\_175\_19



# —Capítulo III—

Formulación de un gel  
para remoción atraumática de caries dental



## 1. Introducción

La caries dental es una enfermedad multifactorial que causa la mayor morbilidad dentaria durante la vida de una persona, sin importar la edad, etnia o sexo, siendo más prevalente en poblaciones de bajos recursos económicos. Está estrechamente relacionada con un nivel bajo de educación, alto consumo de carbohidratos y escasos hábitos de higiene oral (1).

El tratamiento de las enfermedades dentales tiende a ser costoso en todos los países y en el caso de la caries de la primera infancia, su tratamiento requiere de múltiples citas y aun así el pronóstico no es muy prometedor (2). En la atención odontológica los pacientes pediátricos presentan dificultades en los procedimientos clínicos, ya que factores como el dolor o el sonido de la pieza de mano, hacen que el miedo y la ansiedad del paciente aumenten, dificultando su atención (3).

Existen distintos procedimientos de eliminación de la caries. La eliminación de caries química-mecánica es una técnica no invasiva que consiste en eliminar el tejido infectado, resguardando la estructura dental saludable y evitando que se produzca la irritación de la pulpa y el malestar para el paciente. El tratamiento restaurador atraumático (por sus siglas en inglés: ART) se basa en la eliminación del tejido afectado mediante el uso de instrumental manual como la cucharilla, para posteriormente realizar la obturación. En esta técnica se usan formulaciones basadas en enzimas proteolíticas capaces de remover químicamente solo el tejido cariado (1). Entre las principales ventajas del proceso químico-mecánico está la conservación de material biológico, no se revelan reacciones inflamatorias en tejidos adyacentes y no se provocan residuos volátiles, además de presentar una buena aceptación por parte del paciente (1,3).

En base a este contexto, en este capítulo se describe la formulación de un gel a base de papaína que permita la remoción atraumática de la caries dental.

## 2. Formulación de un gel a base de papaína

Entre las técnicas mínimamente invasivas que permiten la eliminación del tejido cariado mediante la aplicación de agentes naturales o sintéticos capaces de disolver y facilitar la eliminación del tejido infectado, encontramos al gel a base de papaína conocido comercialmente como Papacarie®. Este gel fue estudiado inicialmente en Brasil y sus componentes son papaína y cloramina, que se usan conjuntamente con herramientas manuales para la eliminación mínimamente invasiva del tejido carioso. Gracias a este método se puede exceptuar la necesidad de uso de la anestesia local disminuyendo la necesidad de utilizar una turbina, reduciendo el malestar y la incomodidad del paciente debido al ruido y la destrucción efectuada al tejido dental (4-6). Varios estudios han reportado la eficacia de este gel e informaron resultados satisfactorios con respecto al monitoreo clínico, la ansiedad, la comodidad, el dolor, y la aceptación de los pacientes y el costo (7-10).

En otros estudios se ha reportado la capacidad de la papaína y la tripsina para disminuir la placa bacteriana. La papaína redujo los biofilms de *Actinomyces* casi por completo al digerir las proteínas fimbriales FimP y FimA a una concentración de 10 mg/ml durante 10 min. de incubación y a 1 mg/ml con una incubación de 30 min. La tripsina también puede reducir el biofilm, pero no se observó una clara correlación en los pocillos que contienen tripsina en el ensayo (11).

En otros estudios emplearon la papaína como un agente desproteínizante, evaluándola en la superficie dental del esmalte de dien-

tes primarios, comparada con ácido fosfórico, hipoclorito de sodio y bromelina, encontrándose diferencias estadísticamente significativas (12). Otro estudio analizó la capacidad de desproteínización del gel Papacarie<sup>®</sup> durante 60 segundos y reportó que tiene buen desempeño antes del grabado ácido para el pegado de *brackets* (13). En el área de periodoncia se hizo un estudio tipo ensayo clínico controlado comparando una pasta dental que contenía papaína, bromelina, miswak y neem contra una pasta de control, donde el grupo experimental demostró tener mejores resultados en la reducción de placa e índice gingival (14).

Por otro lado, un ensayo clínico demostró que el gel de papaína produce mínimo dolor durante la remoción de la caries en dientes deciduos, comparado con la técnica restaurativa atraumática, a pesar de que toma más tiempo su utilización (15).

En 2010, se realizó una investigación *in vitro* que comparó la eficacia del Papacarie<sup>®</sup> con el método tradicional de instrumento rotatorio de baja velocidad, donde se demostró que hubo menor cantidad de destrucción de túbulos dentinarios con el uso del gel, en este estudio se considera que también hubo mayor tiempo de trabajo con el gel de papaína (16). Un artículo sobre proteólisis enzimática del colágeno dentinario, nos da base suficiente para entender el mecanismo de acción de la papaína en la caries dental. Si bien no hace mención de la alfa-L-antitripsina, desarrolla ampliamente la composición de la dentina sana y la dentina infectada y afectada (17).

Se encontró también un estudio de la efectividad de BRIX3000<sup>®</sup>. Es un estudio que aparece en la web, sin embargo, en el mismo se menciona que el 93 % de pacientes no refirieron dolor y es el único estudio que menciona menor tiempo operatorio comparado con la técnica rotatoria (18).

Un artículo que es el parangón para nuestra investigación se denomina “Antimicrobial efficacy of an indigenously prepared caries removing gel”, que consiste en la evaluación de un gel con eficacia antimicrobiana, los resultados demostraron una reducción significativa del 92,4 % en el recuento total de viables y del 94,1 % en el recuento de lactobacilos (19).

## 2.1. Componentes de la formulación

- Extracto hidroalcohólico de *Carica pentagona* al 10 %
- Natrusol: 0,075 %
- Metilparabeno: 0,05 %
- Menta
- Glicerina c.s.p.
- Agua destilada c.s.p.

Para la obtención del extracto hidroalcohólico de *Carica pentagona*, se realizó la recolección y desecación de la muestra, se reunió un kilogramo del fruto inmaduro de *Vasconcellea × heilbornii*, lavado con agua potable y secado al natural, luego cada fruto fue seleccionado para separar la pulpa de las pepas, que fue cortada en finas rodajas y secada a la sombra durante 7 días, obteniendo 43,8 gr de pulpa deshidratada.

La extracción del principio activo se desarrolló por maceración, se empleó 500 ml de alcohol etílico al 96 %, la pulpa deshidratada de *Carica pentagona*, y sellado herméticamente durante 7 días. Al término de los 7 días la preparación fue filtrada y en un baño María, a una temperatura no mayor de 60° C se procedió a concentrar la solución. Entre las consideraciones previas para la formulación del gel se desarrollaron ensayos para determinar la concentración ideal de la papaína contenida en el extracto hidroalcohólico de *Carica pen-*

*tagona*, y según los antecedentes bibliográficos, hacen referencia a estudios *in vitro* en donde emplean diferentes concentraciones de papaína al 2 %, 4 %, 6 %, 8 % y 10 % en cultivos de fibroblastos pulpares de animales, los resultados indican que no existen diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes concentraciones de papaína, con lo cual se comprobó la propiedad que tiene la papaína de conservar el tejido dental sano incluyendo al tejido pulpar; por esta razón se emplea la concentración del extracto hidroalcohólico de *Carica pentagona* al 10 %.

## **2.2. Preparación y evaluación del gel a base de papaína**

La elaboración del gel a base de papaína se desarrolla en etapas: 1) se prepara el gel en blanco (sin los componentes activos). Se lleva a cabo la ebullición de 500 ml de agua destilada, seguido se agrega 7,50 gr de hidroxietilcelulosa (Natrosol®), 0,05 % de metilparabeno y se mantiene en agitación hasta obtener una mezcla homogénea, después se añade 25 ml de glicerina y 1 ml de colorante de color verde, hasta obtener un gel homogéneo. En esta preparación no es necesario un estabilizante artificial de pH, puesto que la hidroxietilcelulosa no tiene carga iónica. Una vez obtenida la mezcla homogénea, agregamos el extracto obtenido en la etapa anterior (descrito en el capítulo 2).

Se pensó emplear carboximetilcelulosa para la obtención del gel, sin embargo, al aplicar los indicadores de evaluación para su estabilización, la consistencia del gel colapsó y el pH del gel se acidificó razón por la cual recurrimos a la hidroxietilcelulosa (figuras 1-3).

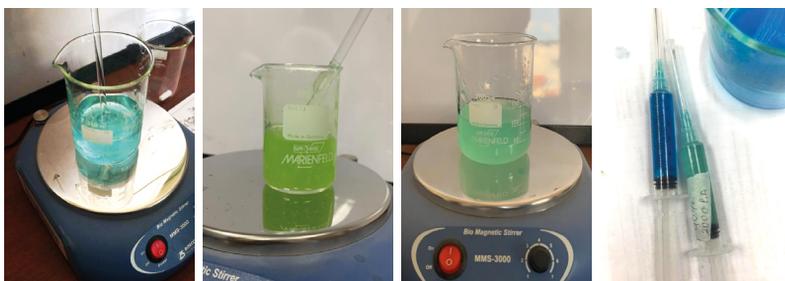
La evaluación de la formulación final implica diversas pruebas para asegurar que el producto final tiene las propiedades fisicoquímicas, reológicas y microbiológicas adecuadas para su uso previsto.

A continuación, se describen las principales pruebas utilizadas en la evaluación del gel (20):

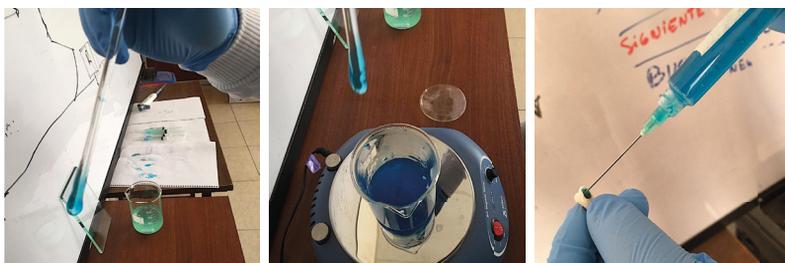
- *Evaluación organoléptica*: esta evaluación se enfoca en las propiedades sensoriales del gel, como apariencia, color, olor y textura. Se examina una muestra del gel bajo luz adecuada en un ambiente limpio y se utiliza un fondo blanco para contrastar y facilitar la observación de cualquier irregularidad y el color. En cuanto a la consistencia se evalúa observando y manipulando el gel, mediante una jeringa para observar cómo fluye el gel.
- *Determinación del pH*: la determinación del pH de la formulación final se lleva a cabo mediante un pH-metro, el mismo estuvo en torno a 7.
- *Pruebas microbiológicas*: para asegurar que el gel esté libre de contaminantes microbiológicos y que los conservantes sean eficaces a lo largo de la vida útil del producto, se lleva a cabo conteo de microorganismos y pruebas de esterilidad.
- *Prueba de adhesión al tejido dental*: la prueba de adhesión al tejido dental de un gel es un procedimiento crucial para evaluar la capacidad del gel de permanecer en contacto con el tejido dental durante un período de tiempo suficiente para ejercer su efecto terapéutico o preventivo. Las pruebas se llevaron a cabo en dientes humanos extraídos y se aplicó el gel y se evaluó el tiempo de adherencia.



**Figura 1.** Desarrollo del gel.



**Figura 2.** Proceso de obtención del gel.



**Figura 3.** Caracterización físico-química del gel a base de polímeros naturales.

### 2.3. Estudios *ex vivo* con el gel con papaína

Los estudios *ex vivo* se fundamentaron en un estudio donde describen la técnica de odontológica mínimamente invasiva con el gel Papacarie<sup>®</sup> (gel control). Ahí se menciona que el tiempo adecuado de residencia en tejido es de 30 segundos, aclarando que, si no se reblandece la lesión cariosa, se puede hacer una segunda aplicación de 30 segundos adicionales, lo que haría un total de 60 segundos. En los ensayos realizados se decidió que el tiempo ideal sea de 40 segundos, para evitar una segunda aplicación, y fue el tiempo estipulado para desarrollar los ensayos *ex vivo*. Así, el tiempo propuesto disminuye el tiempo de trabajo e incómoda menos al paciente pediátrico (21).

La formulación desarrollada en el proceso anterior fue aplicada en piezas dentales extraídas, dejando el tiempo indicando el gel y posteriormente removiendo el tejido reblandecido con ayuda de una cuchareta. Las muestras se analizarán posteriormente mediante microscopía.



**Figura 4.** Ensayos *ex vivo* del gel con babaco para la remoción atraumática de caries dental.



**Figura 5.** Aplicación del gel con babaco en piezas dentales.

El gel de papaína se desarrolló para disminuir los inconvenientes de la eliminación mecánica de las lesiones cariosas, para ablandar la dentina infectada y preservar el tejido del diente afectado. El gel tiene acción bactericida, bacteriostática y antiinflamatoria, y es recomendado para el tratamiento restaurador atraumático de caries dental en pacientes pediátricos, como una alternativa al método convencional (4,5,6,21).

El principio activo del babaco, usado en el gel, está presente en las hojas del árbol y en el “jugo blanco”, más conocido como látex. Además, está presente en el fruto en estado verde. La proteína que la compone tiene 212 aminoácidos y un peso molecular de 23 000 Dalton aproximadamente, puede hidrolizar proteínas, pequeños péptidos, aminas, esteroides, carbohidratos y grasas, siendo útil en la remoción química de tejido cariado (22-24).

## Referencias bibliográficas

1. Romero H, Velozo F, Ojeda M. Tratamiento restaurador atraumático con gel removedor de lesiones cariosas. *Rev. Facul. Odont.* [Internet] 2017;10(1):38-42. [citado 26 de junio de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3zsaqTQ>
2. Basso M. Conceptos actualizados en cariología. *Rev Asoc Odontol Argent.* [Internet] 2019;107:25-32. [citado 26 de junio de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3MQ2zTg>
3. Fronza L, Schmitz M, Porn J, García E, et al. Remoción química-mecánica del tejido cariado en dientes permanentes: reporte de caso clínico. *Rev Estomatol. Herediana* [Internet]. 2017;27(2):111-115. [citado 27 de junio de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/4e8IPGr>
4. Bottega F, Bussadori SK, Battisti IDE, Vieira EP, Pompeo TS, Winkelmann ER. Costs and benefits of Papacarie in pediatric dentistry: a randomized clinical trial. *Sci Rep.* 2018 Dec 17;8(1):17908. doi: 10.1038/s41598-018-36092-x
5. Júnior ZSS, et al. Effect of papain-based gel on type collagen-spectroscopy applied for microstructural analysis. *Sci. Rep.* 2015;5:11448. doi: 10.1038/srep11448
6. Motta LJ, et al. Efficacy of Papacarie in reduction of residual bacteria in deciduous teeth: a randomized, controlled clinical trial. *Clinics.* 2014;69:319-322. doi: 10.6061/clinics/2014(05)04
7. Ammari MM, et al. Efficacy of chemomechanical caries removal in reducing cariogenic microbiota: a randomized clinical trial. *Braz. Oral. Res.* 2014;28:1-6. doi: 10.1590/1807-3107BOR-2014.vol28.0031
8. Babu NSV, Mettukuri SK, Bhatt S. Comparative assessment of caries removal time and patient acceptance off Papacarie

gel in healthy and children with special health care needs: an in-vivo study. *Int. J. Sci. Stud.* 2015;2:89-95. doi: 10.17354/ijss/2015/112

9. Kotb RM, Abdella AA, El Kateb MA, Ahmed AM. Clinical evaluation of Papacarie in primary teeth. *J. Clin. Pediatr. Dent.* 2009;34:117-124. doi: 10.17796/jcpd.34.2.f312p36g18463716
10. Divya G, et al. Evaluation of the efficacy of caries removal using Polymer Bur, Stainless Steel Bur, Carisolv e Papacarie-an in vitro comparative study. *J. Clin. Diagn. Res.* 2015;9:ZC42-ZC46. doi: 10.7860/JCDR/2015/12705.6202
11. Mugita N, Nambu T, Takahashi K, Wang PL, Komasa Y. Proteases, actinidin, papain and trypsin reduce oral biofilm on the tongue in elderly subjects and in vitro. *Arch Oral Biol.* [Internet] .2017;13(82):233-240. [citado 27 de junio de 2022]. doi: 10.1016/j.archoralbio.2017.04.035
12. Hasija P, Sachdev V, Mathur S, Rath R. Deproteinizing Agents as an Effective Enamel Bond Enhancer-An in Vitro Study. *J Clin Pediatr Dent.* [Internet] 2017;41(4):280-283. [citado 27 de junio de 2022]. doi: 10.17796/1053-4628-41.4.280
13. Agarwal RM, Yeluri R, Singh C, Munshi AK. Enamel Deproteinization using Papacarie and 10 % Papain Gel on Shear Bond Strength of Orthodontic Brackets Before and After Acid Etching. *J Clin Pediatr Dent.* [Internet] 2015;39(4):348-57. [citado 30 de junio de 2022]. doi: 10.17796/1053-4628-39.4.348
14. Tadikonda A, Pentapati KC, Urala AS, Acharya S. Anti-plaque and anti-gingivitis effect of Papain, Bromelain, Miswak and Neem containing dentifrice: A randomized controlled trial. *J Clin Exp Dent.* [Internet]. 2017;9(5):649-653. [citado 30 de junio de 2022]. doi: 10.4317/jced.53593

15. Abdul Khalek A, Elkateb MA, Abdel Aziz WE, El Tantawi M. Effect of Papacarie and Alternative Restorative Treatment on Pain Reaction during Caries Removal among Children: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Clin Pediatr Dent*. [Internet] 2017;41(3):219-224. [citado 27 de junio de 2022]. doi: 10.17796/1053-4628-41.3.219
16. Jawa D, Singh S, Somani R, Jaidka S, Sirkar K, Jaidka R. Comparative evaluation of the efficacy of chemomechanical caries removal agent (Papacarie) and conventional method of caries removal: An in vitro study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* [Internet] 2010;28:73-77. [citado 14 de julio de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3TxtiYf>
17. López M, Schiaffino A. Proteólisis enzimática del colágeno dentinario. *Odonto* [Internet]. 2008;7(4):477-486. [citado 14 de julio de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/4eyw87s>
18. Bsereni L, Varea F. Estudio de la eficacia del gel de Papaína-Brix3000®. [Internet] [citado 19 de Julio de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/3BdORXM>
19. Subramaniam P, Gilhotra K. Antimicrobial efficacy of an indigenously prepared caries removing gel. *Contemp Clin Dent*. [Internet]. 2011;2(1):13-16. [citado 19 de julio de 2022]. doi: 10.4103/0976-237X.79294
20. El Fawal GF, Abu-Serie MM, Hassan MA, Elnouby MS. Hydroxyethyl cellulose hydrogel for wound dressing: Fabrication, characterization and in vitro evaluation. *Int J Biol Macromol*. 2018;111:649-659. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.01.040
21. Fronza Letícia Karine, Schmitz Mariane, Porn Jeferson Luis, Garcia Eugenio José, Bussadori Sandra Kalil, Hilgenberg Sérgio Paulo. Remoción química-mecánica del tejido cariado en

- dientes permanentes: reporte de caso clínico. *Rev. Estomatol. Herediana* [Internet]. 2017;27(2):111-115. [citado 2 de agosto de 2022]. Disponible en: <https://bit.ly/4e8IPGr>
22. Torresi F, et al. Estudio comparativo entre el uso de brix-3000 y la técnica convencional rotatoria contra la caries. *Horizonte Sanitario*. 2019;18,3. doi: 10.19136/hs.a18n3.2925
  23. Linares AN, Morales Flores RK. Estudio para instalar una planta de producción de pasta dental utilizando papaína como ingrediente activo. *Ingeniería Industrial* [Internet]. 2015;(33):159-179. Disponible en: <https://bit.ly/3XQCsBL>
  24. Díaz JA; Jans A, Zaror C. Efectividad de la remoción parcial de caries en molares primarios con lesiones de caries profunda: ensayo clínico aleatorizado. *Int.J. Odontostomat*. 2017;11(4):443-449. doi: 10.4067/S0718-381X2017000400443



# —Capítulo IV—

Resultados de la remoción de caries



## 1. Prueba piloto

### 1.1. Determinación cualitativa del potencial enzimático del látex de babaco

Al momento de iniciar el proceso de investigación, el primer paso fue saber si el látex de la cáscara de babaco tenía propiedades enzimáticas digestivas, para lo cual se hizo la extracción de este líquido directamente cortando la epidermis del fruto y se recolectó 0,25 ml (5 gotas) en 2 tubos de ensayo.

Luego se aplicaron:

- Tubo 1: 5 gotas de leche aplicadas al látex.
- Tubo 2: 5 gotas de leche aplicadas al látex más etanol al 95 %.
- Tubo 3: 5 gotas de leche aplicadas a 5 gotas de etanol al 95 % (control negativo).

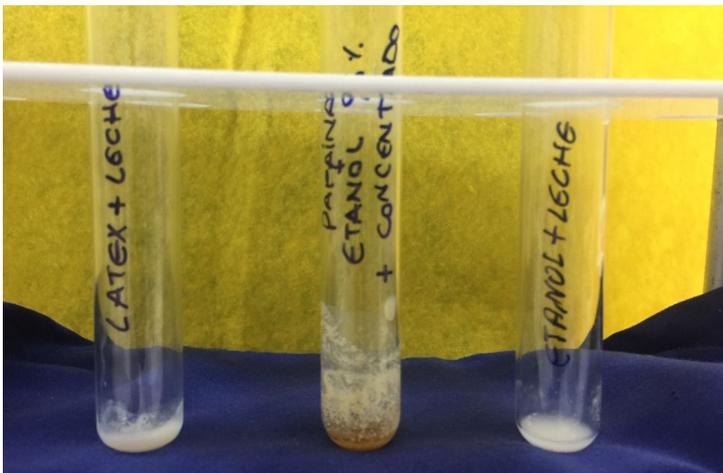
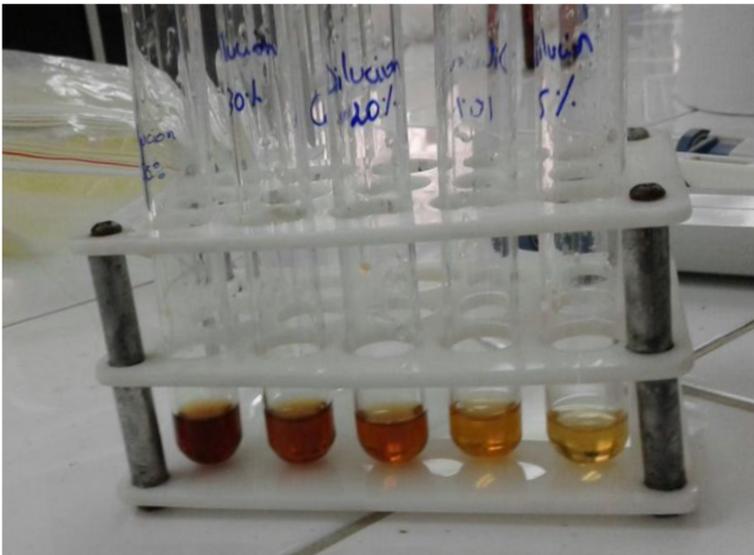


Figura 1. Comprobación de actividad enzimática.

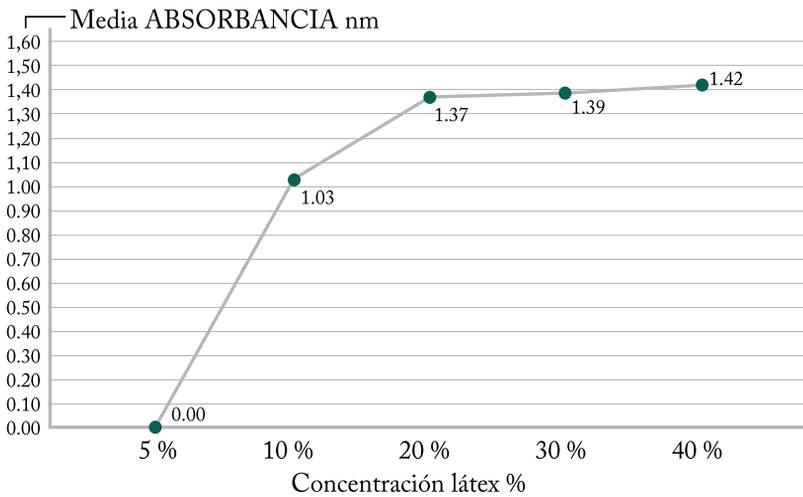
La mezcla de látex y leche (tubo 1) mostró que había coagulación de las proteínas, lo que indicaba actividad enzimática. La mezcla de látex más etanol al 95 % (tubo 2) mostró una mayor actividad enzimática. La mezcla de leche más etanol (tubo 3) no mostró actividad enzimática, lo que confirmaba que era el látex el que producía la actividad esperada y con mayor actividad al mezclarse con alcohol. Por tal motivo, luego se procedió a preparar diversos concentrados de látex más etanol, para determinar la concentración mínima con actividad enzimática, en concentraciones de 5 %; 10 %; 20 %; 30 %; 50 %.

## 1.2. Determinación cuantitativa del potencial enzimático del látex de babaco

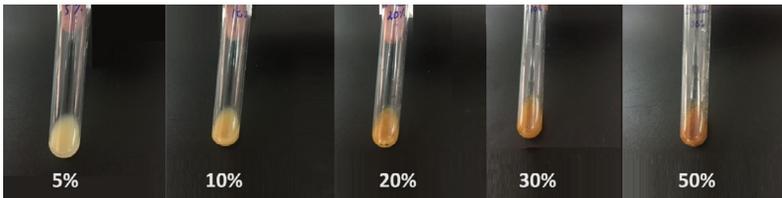


**Figura 2.** Diferentes concentraciones de Látex + Etanol.

Mediante un espectrofotómetro GENESYS™ 20, se logró determinar la absorbancia de la dilución final realizada en cada tubo de ensayo a diferente concentración del látex en etanol. El resultado mostró que la efectividad de las concentraciones de 20 % y 50 % no hubo una diferencia importante. Por lo que se consideró que el 20% es la concentración mínima en la que se presenta actividad enzimática.



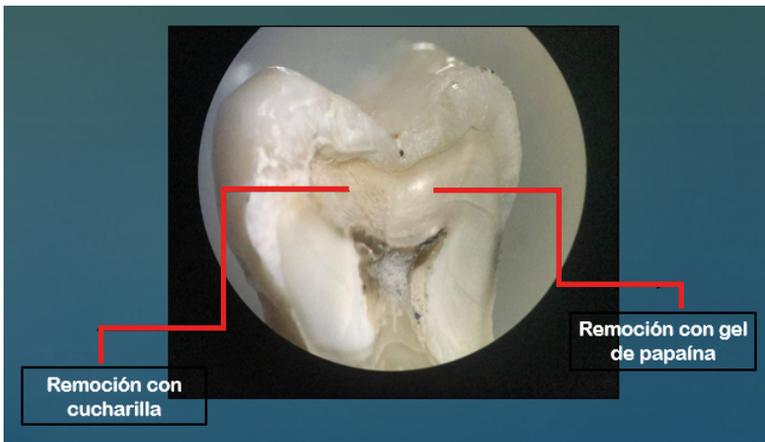
**Figura 3.** Absorbancia luego de aplicar el principio activo a la leche.



**Figura 4.** Tubos de ensayo con el preparado a distintas concentraciones aplicado a la leche.

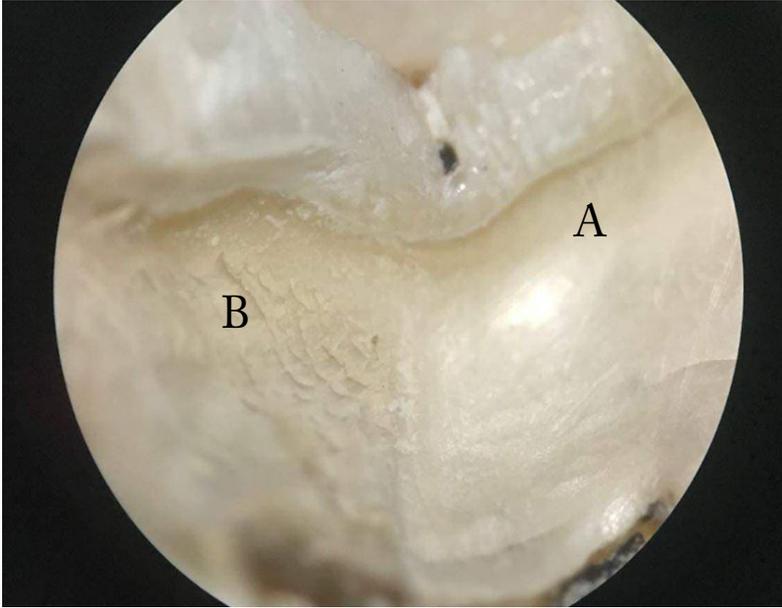
### 1.3. Determinación macroscópica de la efectividad en la eliminación de la caries mediante el uso del gel de babaco

Con la concentración mínima efectiva hallada se procedió a preparar el gel explicado en el cap. II de este libro. Ese gel fue aplicado a la mitad de la cavidad de un diente extraído y se aplicó la técnica de curetaje de dentina, la otra mitad fue limpiada también con curetaje, pero sin gel de babaco.



**Figura 5.** Pieza dentaria con la aplicación del gel de babaco.

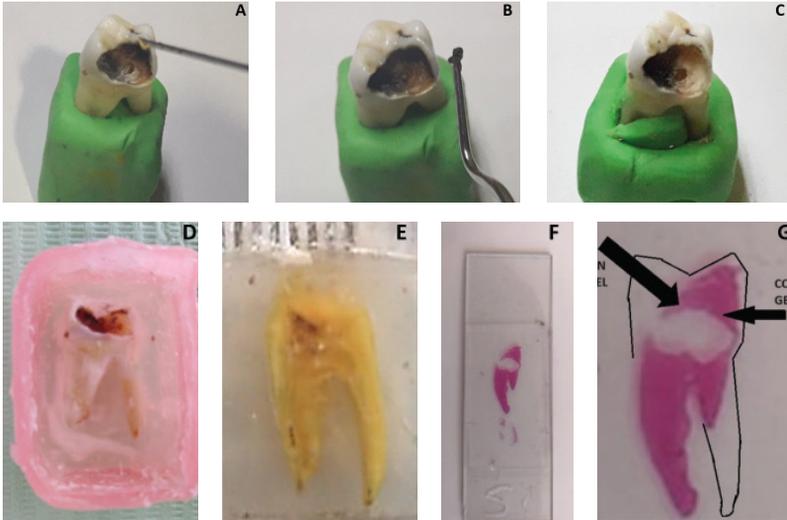
Luego se realizó la observación en el estereomicroscopio Olympus modelo SZ61 en un aumento de 10x, donde se evidenció que el lado trabajado con la preparación de gel de babaco, terminó sin rugosidad, mientras que en el lado trabajado solo con cureta se apreciaba una rugosidad notable. Por tal motivo se planificaron trabajos de investigación con estudiantes de pregrado para evaluar el resultado de la rugosidad en base a la escala de Sotelo E. (1), que se presenta en la siguiente sección de este capítulo.



**Figura 6.** Aumento 10x para ver rugosidad post aplicación del gel de Babaco. (A Remoción con gel de papaína, B Remoción con cucharilla )

Una vez evidenciada la efectividad a nivel macroscópico, se decidió ver otra pieza dental en el microscopio de luz indirecta y se procedió a preparar un corte histológico de la pieza tratada con gel en la mitad de la cavidad.

#### 1.4. Determinación microscópica de la efectividad en la eliminación de la caries mediante el uso del babaco



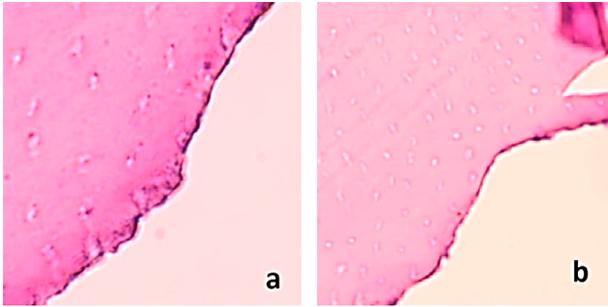
**Figura 7.** Proceso de preparación de la muestra histológica.

En primer lugar, se aplicó el gel en la mitad derecha de la cavidad (figura 7A) y luego se procedió a eliminar el tejido cariado mediante cuchara de dentina (figura 7B). Al terminar el proceso de curetaje en ambas mitades, se pudo apreciar que el lado que fue trabajado con gel, quedó del mismo color que la dentina sana, mientras que el lado en el que no se utilizó gel quedó con color de dentina de reparación (figura 7C).

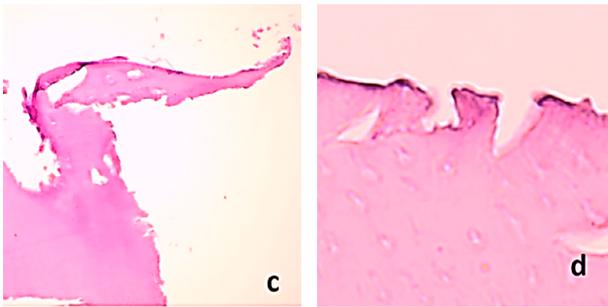
Luego, este espécimen se envió al laboratorio de histología a fin de que se le prepare en un molde de acrílico para someterlo, primero, a rehidratación por 10 días y, luego, a la descalcificación con ácido nítrico al 5 % por 96 horas (figura 7D). Después, el espécimen des-

calcificado se incluyó en un bloque de parafina, para someterlo al corte del micrótopo con un espesor entre 4 y 6  $\mu\text{m}$  (figura 7E). Así, la muestra anatomopatológica fue llevada y fijada a una placa portaobjetos para realizar la tinción de hematoxilina eosina, posterior a esto se le colocó una lámina cubre objeto (figura 7F). Finalmente, esta muestra fue llevada al microscopio de luz indirecta con la indicación de ampliar las zonas de uso de gel y la de solamente uso de cureta de dentina (figura 7G).

Con gel 100X (a-b)



Sin gel 100X (c-d)



**Figura 8.** Cortes histológicos de la prueba piloto.

Las zonas trabajadas con gel de babaco (figura 8a-b) mostraron eliminación de la caries de manera regular, mientras que las zonas trabajadas solamente con cureta de dentina (figura 8c-d), mostraron superficies irregulares que evidenciaban arrancamiento del tejido cariado o ligeras huellas de la aplicación de la hoja en la dentina como cuando se aplica una pala en la tierra húmeda para sacar tierra. Al ver estas imágenes se decidió hacer un estudio comparativo histológico con cuatro tipos de procedimientos, para la extracción del complejo enzimático del babaco, los cuales se explican en el cap. II de este libro y cuyos resultados se muestran ahora.

## **2. Resultados de la investigación**

Los cuatro tipos de extracción del complejo enzimático de la cáscara del babaco, han sido llevados a la formulación de un gel y luego se han probado en dos tipos de procesos, la primera fue la aplicación del gel por cuatro tesis de la Universidad Católica de Cuenca, en dientes extraídos dentro de sus prácticas pre profesionales en la clínica odontológica de la universidad. Luego fue analizada la eficacia de la remoción mediante la evaluación manual de la rugosidad, realizando una exploración táctil por un observador calibrado en diagnóstico de caries. El segundo proceso fue la aplicación del gel en dientes extraídos en una clínica dental particular de la ciudad de Arequipa, Perú y que luego de la remoción de caries se llevaron los dientes al corte histológico. Ahora se muestran los resultados de ambos procesos.

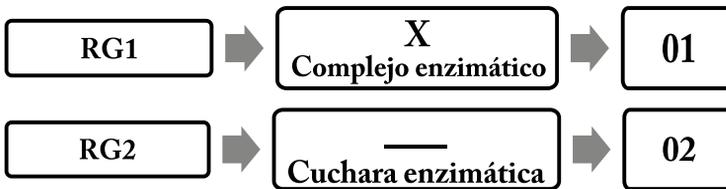
## 2.1. Evaluación manual de la rugosidad

Para la evaluación manual de la rugosidad se aplicaron los códigos de Sotelo E. (1).

**Tabla 1.** Código de rugosidades.

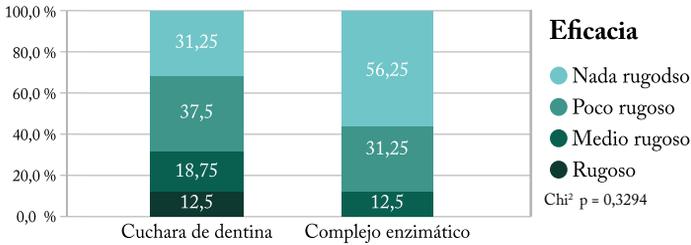
Código	Rugosidad
0	Nada rugoso (platina de vidrio)
1	Poco rugoso (resina sin pulir)
2	Medio rugoso (dentina de diente reseco)
3	Rugoso (dentina reblandecida)

Para comprobar el nivel de eficacia y remoción de tejido cariado, se usa el siguiente esquema:



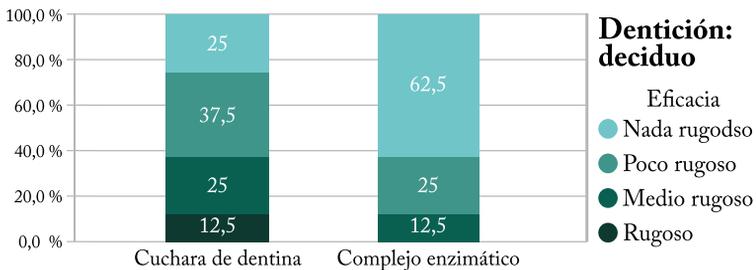
- RG1 = remoción con complejo enzimático.
- O1 = observación de RG1.
- RG2 = remoción con cuchara convencional.
- O2 = observación de RG2.

### 2.1.a. Rugosidad obtenida en las muestras que se aplicó el gel con principio activo obtenido mediante el método Soxhlet



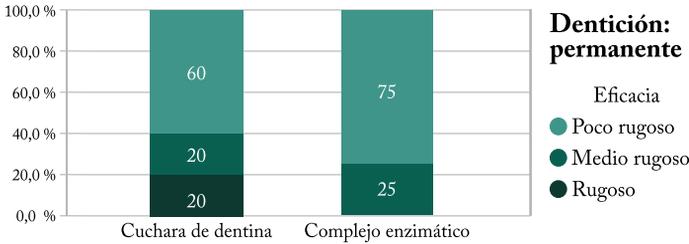
**Figura 9.** Eficacia del complejo enzimático para remoción de tejido cariado a comparación de la cuchara de dentina.

En la figura 9 podemos observar que hubo un mayor porcentaje de eficacia del complejo enzimático con un 56,25 %, dejando una superficie sin rugosidades y que además hubo superioridad en la limpieza por parte del complejo enzimático en todas las superficies, lo cual podemos asociar a que facilita la remoción de la caries, ya que se adhiere a la dentina infectada y la disuelve. En lo que respecta al Chi<sup>2</sup> no hay diferencias significativas al comparar la eficacia.



**Figura 10.** Eficacia del complejo enzimático vs. cuchara de dentina en piezas deciduas.

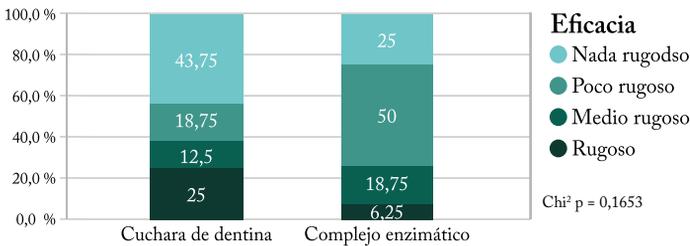
Se observó una mayor eficacia del complejo enzimático dejando una superficie lisa, con un 62,5 % de eficacia, mientras que la cuchara de dentina mostró deficiencias al tratar de remover dentina infectada en dientes, dejando superficies rugosas con residuos cariosos.



**Figura 11.** Eficacia del complejo enzimático vs. cuchara de dentina en piezas permanentes.

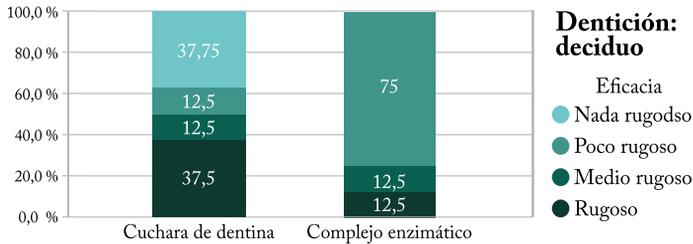
En los dientes permanentes se encontró una mayor eficacia, con un 75 % dejando superficies lisas; mientras que la cuchara de dentina aún dejaba rugosidades con restos cariosos.

### 2.1.b. Rugosidad obtenida en las muestras aplicadas con el gel con principio activo obtenido mediante el método de destilación



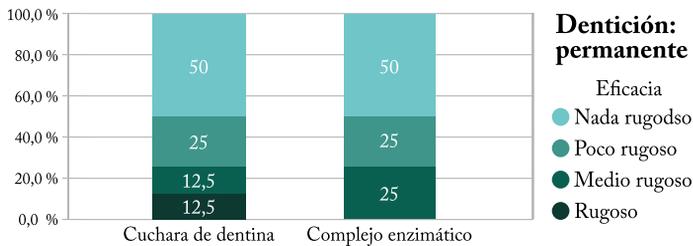
**Figura 12.** Eficacia de remoción con cuchara de dentina vs. complejo enzimático extraído por destilación.

Se demostró que la remoción con cuchara de dentina obtuvo una eficacia del 43,75 %, correspondiente a nada rugoso, con una diferencia de 18,75 % con el segundo método, siendo no significativo mediante el análisis de Chi<sup>2</sup>. Sin embargo, en los resultados de poco rugoso se tuvo una eficacia del 50 % con el complejo enzimático.



**Figura 13.** Comparación de la remoción con cuchara de dentina *vs.* complejo enzimático en dientes deciduos.

Se puede observar que hay eficacia de 37,5 % en la remoción con cuchara de dentina, en comparación al complejo enzimático, pero vale recalcar que existe una eficacia del 75 % en poco rugoso.

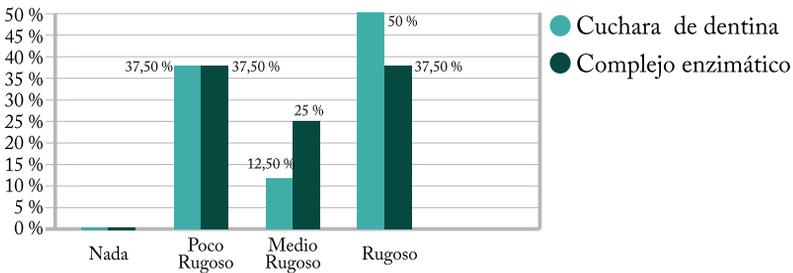


**Figura 14.** Comparación de la remoción con cuchara de dentina *vs.* complejo enzimático en dientes permanentes.

Se evidencia que existe una eficacia similar en la remoción con cuchara de dentina y el complejo enzimático en los valores de nada

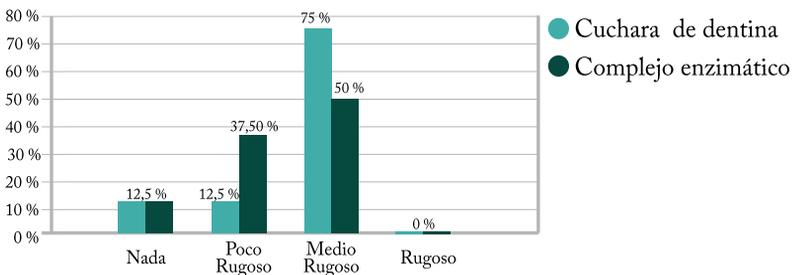
rugoso y poco rugoso. Pero en el complejo enzimático hubo cero por ciento en el valor de rugoso.

### 2.1.c. Rugosidad obtenida en las muestras que se aplicó el gel con principio activo obtenido mediante el método percolación



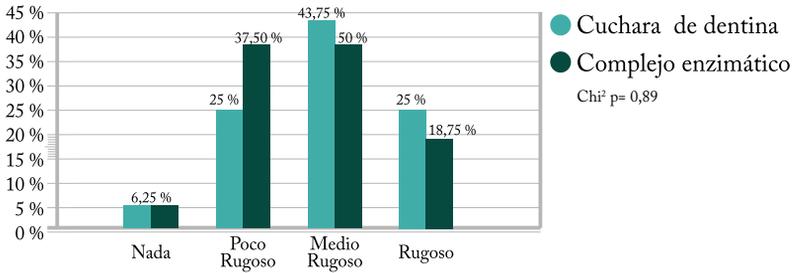
**Figura 15.** Eficacia del complejo enzimático extraído por percolación *vs.* cuchara de dentina en dientes deciduos.

En base al análisis de la figura 15 se determina que el uso del complejo enzimático fue igual de ineficaz (100 %) que al de la cuchara de dentina, ya que no se encontró ningún diente que cumpliera con la valoración de 0 que equivale a nada rugoso.



**Figura 16.** Eficacia del complejo enzimático extraído por percolación *vs.* cuchara de dentina en dientes permanentes.

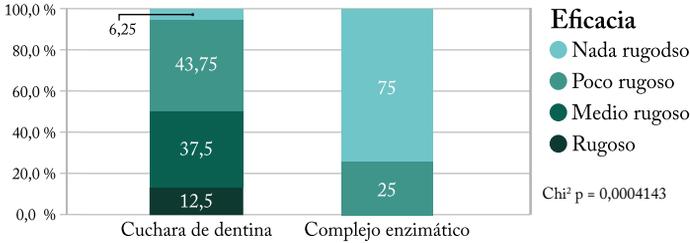
En la figura 16 se evidencia que, tanto el complejo enzimático como la cuchara de dentina, obtuvieron un porcentaje de 12,5 % de eficacia (nada rugoso) en dientes permanentes. Esto, si bien constituye un porcentaje mayor de eficacia en comparación con su aplicación en dientes deciduos, continúa siendo un valor poco significativo.



**Figura 17.** Eficacia total del complejo enzimático extraído por percolación vs. cuchara de dentina.

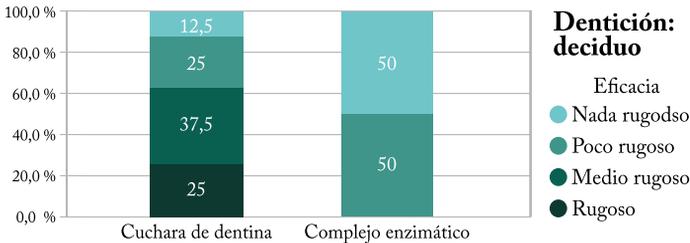
El análisis de la figura 17 nos permite observar como resultado final que hay un porcentaje similar de eficacia (6,25 %) en el uso de ambas técnicas en dientes permanentes y deciduos, lo que determina que existe un valor de  $p = 0,89$  equivalente a un valor no significativo estadísticamente en cuanto a la eficacia del complejo enzimático por encima de la cuchara de dentina.

### 2.1.d. Rugosidad obtenida en las muestras que se les aplicó el gel con principio activo obtenido mediante el método maceración



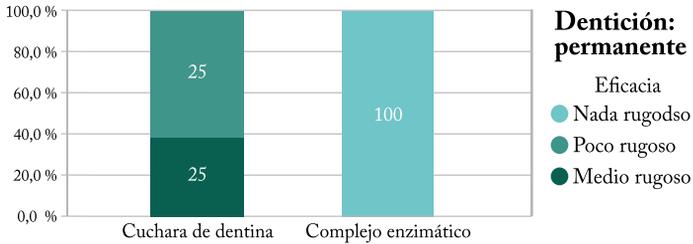
**Figura 18.** Distribución de la eficacia del complejo enzimático vs. la cuchara de dentina.

Se constata que la aplicación del complejo enzimático demuestra una diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,0004143$ ) comparada con el uso de una cuchara de dentina.



**Figura 19.** Análisis de la eficacia del complejo enzimático vs. cuchara de dentina en dientes deciduos.

En la dentición decidua se demuestra que la cuchara de dentina solo deja una superficie medio rugosa al tacto con un 37,5 %. A diferencia de aplicar el complejo enzimático que permite una mayor remoción de caries, dejando en su superficie entre nada y poca rugosidad en iguales proporciones.



**Figura 20.** Determinación de la eficacia del complejo enzimático *vs.* cuchara de dentina en dientes permanentes.

En la dentición permanente, el uso único de una cuchara de dentina deja una superficie poco rugosa con un 62,5 %, a diferencia de aplicar el complejo enzimático, que deja una estructura nada rugosa.

## 2.2. Evaluación histológica de la efectividad de la remoción de caries

El corte histológico es el *gold standar* para la evaluación de la caries dental, por lo que en el presente estudio se utiliza para la examinación de la efectividad en la remoción de la dentina cariada, mediante el uso del gel de complejo enzimático con sus cuatro formas de extracción de principio activo. Para esto se utilizan dientes recién extraídos de un consultorio dental de la ciudad de Arequipa, Perú, a los cuales se aplicó el gel en la mitad de la cavidad de caries y se realizó la eliminación de dentina cariada con cuchareta de dentina, siguiendo los lineamientos de la técnica restaurativa atraumática (2).

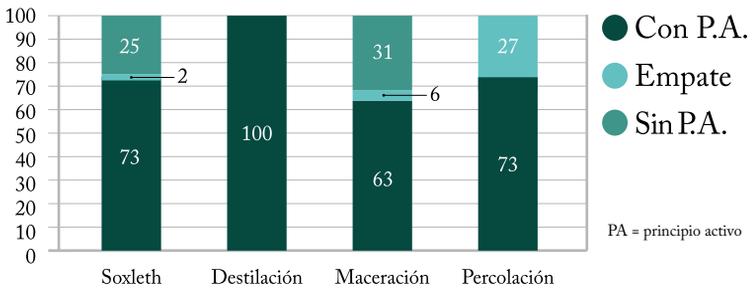
En el otro lado de la cavidad se excavó manualmente, siguiendo los mismos lineamientos, pero no se utilizó principio activo.

Posteriormente se enviaron al laboratorio de patología bucal de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, con los especímenes codificados de la siguiente manera:

- El grupo en el que se realizó la extracción del principio activo mediante Soxhlet fue llamado caja transparente y las unidades de estudio se codificaron con los números desde el 001 al 0016.
- El grupo en el que se realizó la extracción del principio activo mediante destilación, se le denominó caja rosada y cada muestra se codificó con las letras: A, B, C, D, etc.
- El grupo en el que se realizó la extracción del principio activo mediante maceración, se le denominó caja azul y cada uno de los dientes se codificó con nombres de países: Afganistán, Brasil, etc.
- El grupo en el que se realizó la extracción del principio activo mediante percolación, se le denominó caja naranja y se codificó con los nombres de colores: amarillo, azul, blanco, etc.

En el grupo del método Soxhlet se encontró un 73 % de casos, en los que el lado con principio activo superó en efectividad al grupo sin principio activo; en el 25 % de casos hubo un mejor desempeño del lado sin principio activo y además se reportó un 2 % de casos en los que ambos lados tuvieron igual efectividad. En el caso del grupo de extracción por destilación en el total de casos el lado con principio activo superó al lado que no contenía principio activo.

En el grupo de percolación el lado de principio activo superó en efectividad con un 73 % y en 27% de los casos hubo igual efectividad de ambos lados. Finalmente, en el grupo de maceración, el lado de principio activo superó en efectividad al otro lado en un 63 % de casos y en 31 % de los casos el grupo sin principio activo demostró mejor desempeño, sin embargo, hubo igual efectividad de ambos lados en un 6 % de casos.



**Figura 21.** Comparación de la efectividad de la remoción de caries, de los distintos medios de extracción de principio activo, medida por corte histológico.

En todos los casos de las muestras, el lado derecho es en el que se aplicó el principio activo. Luego de enviar al servicio de patología bucal, se obtuvo un informe de cada diente (figura 22).

**UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA**  
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA  
Servicio de Patología Oral

**INFORME ANATOMOPATOLÓGICO**

00-A

Nombre		Edad	Sexo
<b>PROYECTO 203316 UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENA ECUADOR</b>			
Procedencia	Servicio	N.H.C.M	
<p><b>Espécimen:</b> Pieza dental.</p> <p><b>EXAMEN MACROSCÓPICO:</b> Se recibe pieza dental, la cual es sometida a procesos de rehidratación por 10 días. Se envía a descalcificación en ácido nítrico al 5% por 96 horas aproximadamente. Luego se incluye todo en un corte.</p> <p style="text-align: right;">R1. Toledo.</p> <p><b>EXAMEN MICROSCÓPICO:</b> Las secciones estudiadas muestran. <b>H-E, 40 X:</b> pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa. <b>H-E, 100X (der):</b> En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. <b>H-E, 100X (izq):</b> Se aprecia hacia la parte interna dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios presencia de una sustancia eosinofila amorfa.</p>			

**Figura 22.** Modelo de informe anatomopatológico de las muestras.

## **2.2.a.**

**Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante Soxhlet**



EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado muy alto, de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

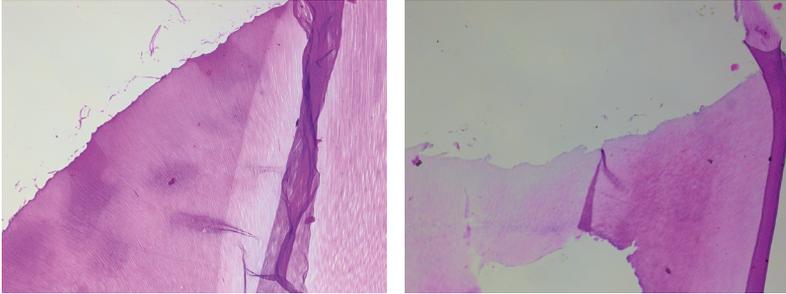
H-E, 100X (izq): En el otro lado más corto, de la lesión cariosa, se aprecia una pared de dentina secundaria de superficie definida pero irregular, con una capa de túbulos dentinarios desordenados, desprendido en varias zonas de la superficie.

**Figura 23.** Muestra Soxhlet 001.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado más corto de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Pero, en la parte superior superficial se aprecia superficie irregular con dentina con túbulos dentinarios permeables.

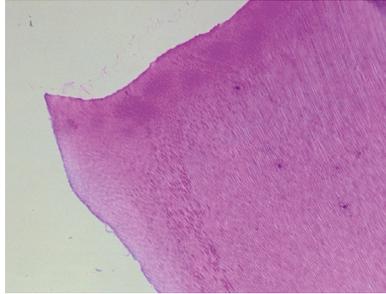
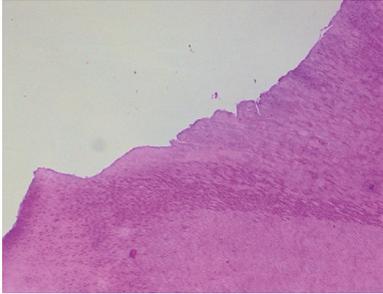
H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, más larga, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con capa gruesa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. Pegado a esta superficie se observa tejido calcificado basofílico pequeños redondeados.

**Figura 24.** Muestra Soxhlet 002.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

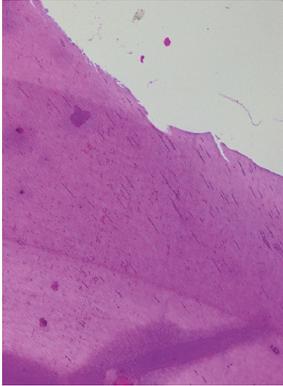
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una superficie muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con capa de espesor variable con túbulos dentinarios permeables, parcialmente desprendido.

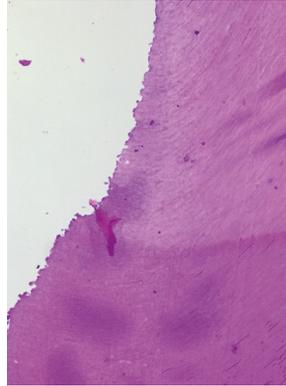
**Figura 25.** Muestra Soxhlet 003.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

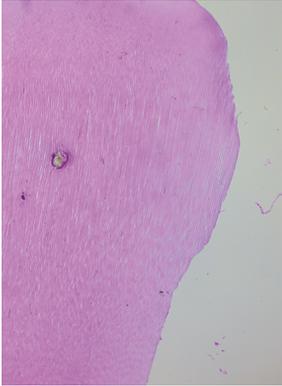
H-E, 100X (der): En este lado, más largo de la lesión cavitaria en la pared interna irregular se aprecia una superficie lisa de dentina reparativa con túbulos dentinarios permeables de apariencia normal.

H-E, 100X (izq): En el otro lado; más corta, de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie lisa, con una gruesa capa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios.

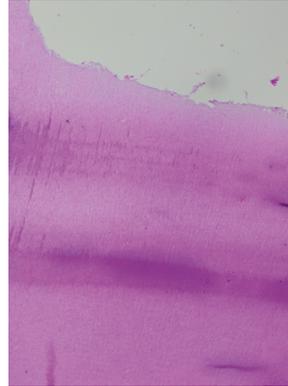
**Figura 26.** Muestra Soxhlet 004.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): Este lado de la lesión cavitaria (parte superior), en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el lado inferior de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido

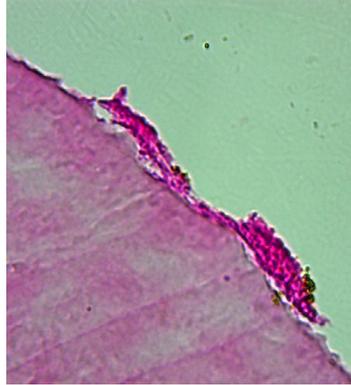
**Figura 27.** Muestra Soxhlet 005.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

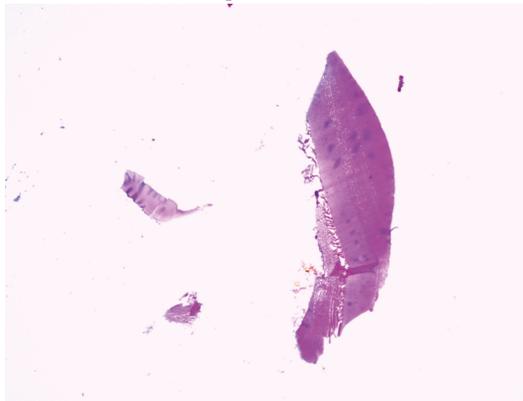
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria, la pared pequeña, se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

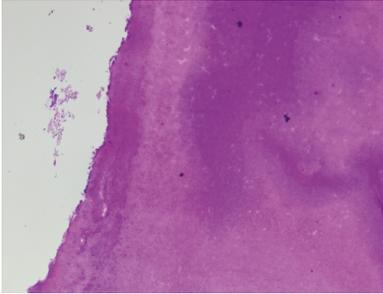
H-E, 100X (izq): El otro lado de la pared de la lesión cariosa, más larga, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de lesión cariosa.

**Figura 28.** Muestra Soxhlet 006.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

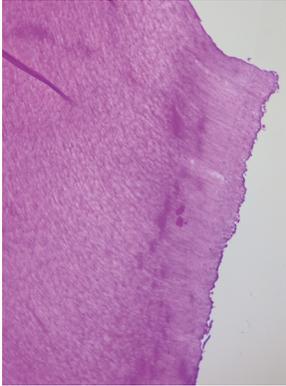
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie bastante irregular, con capa de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, desprendido.

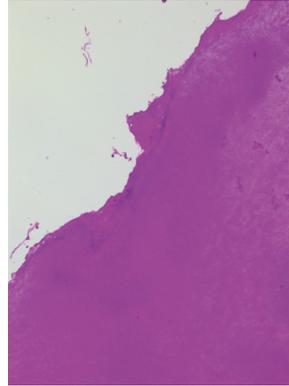
**Figura 29.** Muestra Soxhlet 007

EXAMEN MICROSCÓPICO:

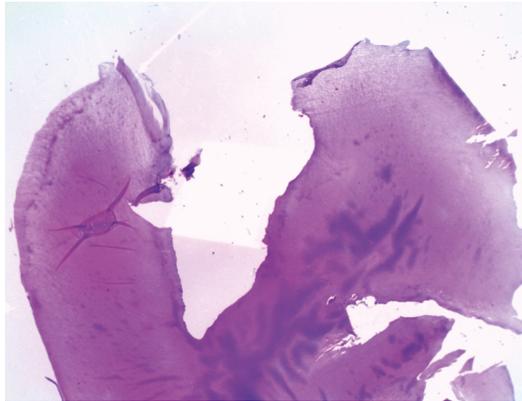
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado de la pared (más alta) de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la parte más superior de la cavidad se aprecia lesión cariosa.

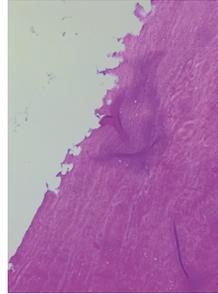
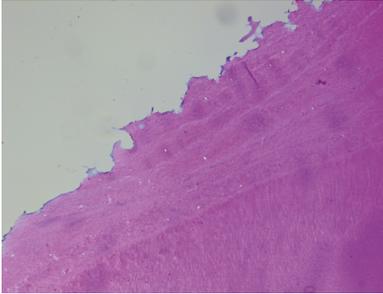
H-E, 100X (izq): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia borde irregular de superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Pero, en la parte superior superficial se aprecia algo de lesión cariosa.

**Figura 30.** Muestra Soxhlet 008.

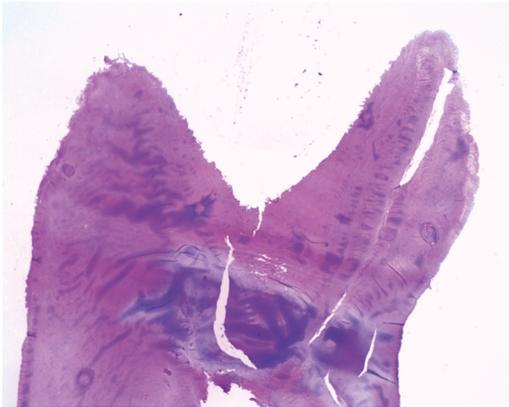
EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

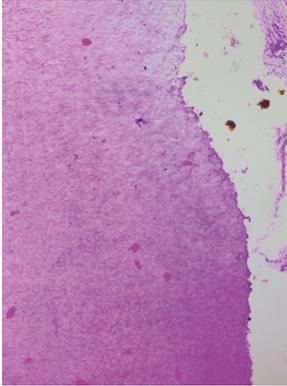
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la parte superior de la superficie se observa dentina irregular.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la lesión cariosa, se aprecia fragmento de pared de dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido. También se aprecia lesión cariosa y dentina desorganizada.

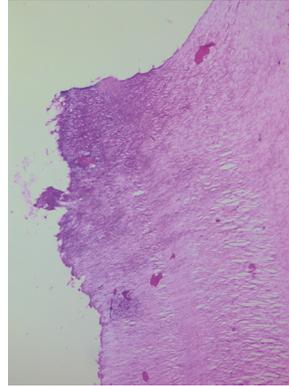
**Figura 31.** Muestra Soxhlet 009.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

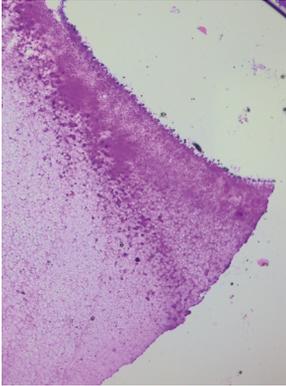
H-E, 100X (der): En este lado más corto, de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado más largo, de la lesión cariosa, se aprecia una pared de dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido en toda la superficie.

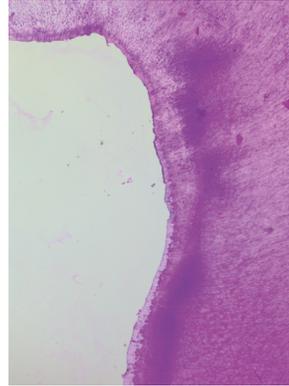
**Figura 32.** Muestra Soxhlet 010.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

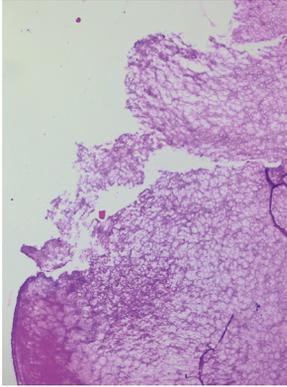
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie irregular definida con una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la lesión cariosa, se aprecia pared de bordes irregulares de dentina amorfa desordenada de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido. Adyacente en la parte superior se aprecia tejidos dentarios amorfos correspondientes a lesión cariosa.

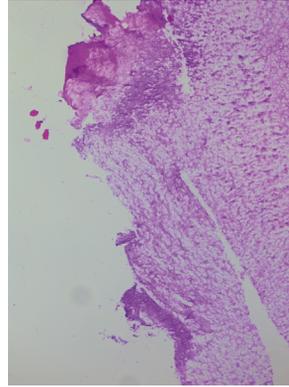
**Figura 33.** Muestra Soxhlet 011

EXAMEN MICROSCÓPICO:

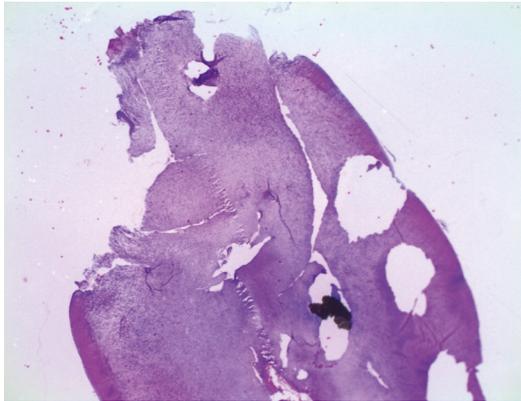
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Se recibe pieza dental, la cual es sometida a procesos de rehidratación por 10 días. Se envía a descalcificación en ácido nítrico al 5% por 96 horas aproximadamente. Luego se incluye todo en un corte.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

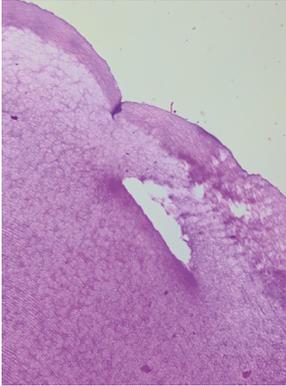
Las secciones estudiadas muestran lesión cariosa.

NO EVALUABLE.

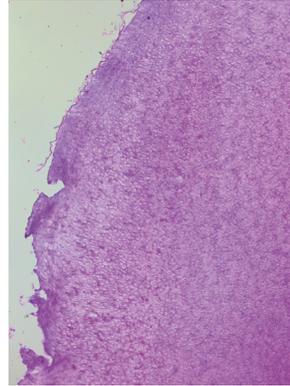
**Figura 34.** Muestra Soxhlet 012.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

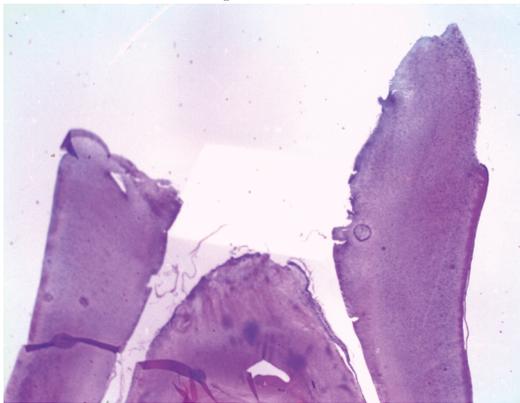
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

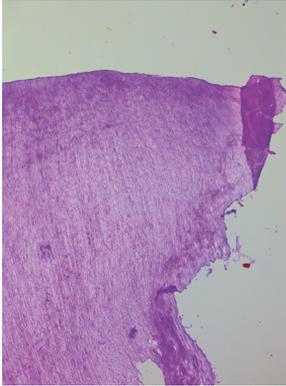
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie irregular definida con una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la lesión cariosa, se aprecia pared de bordes irregulares de dentina amorfa desordenada de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido. Adyacente en la parte superior se aprecia tejidos dentarios amorfos correspondientes a lesión cariosa.

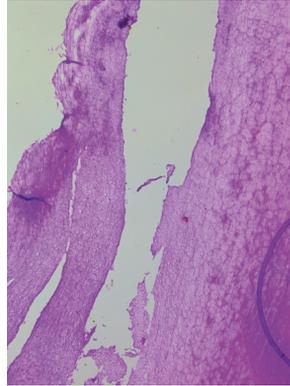
**Figura 35.** Muestra Soxhlet 013.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

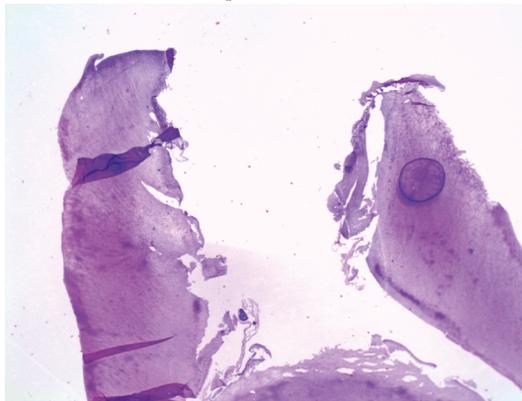
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

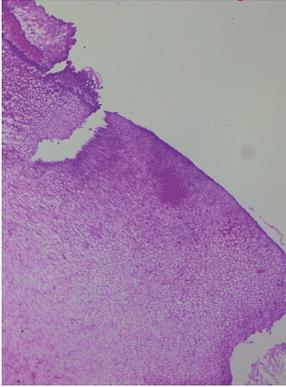
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa, aunque algo desprendida por el corte, pero con una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la lesión cariosa, se aprecia una pared de dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido en toda la superficie, principalmente hacia la parte superior.

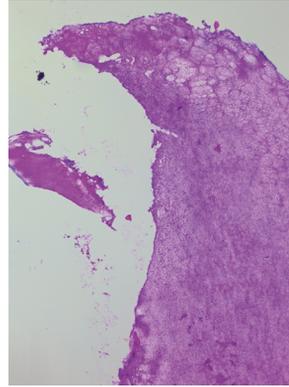
**Figura 36.** Muestra Soxhlet 014.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

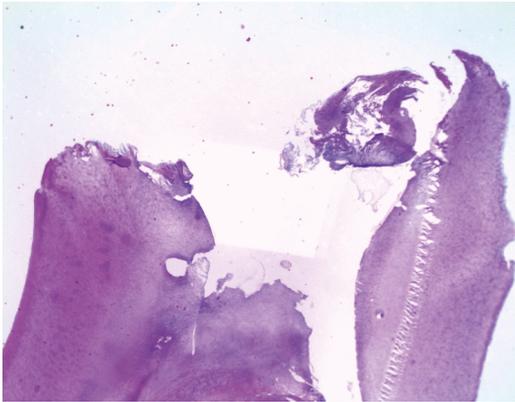
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

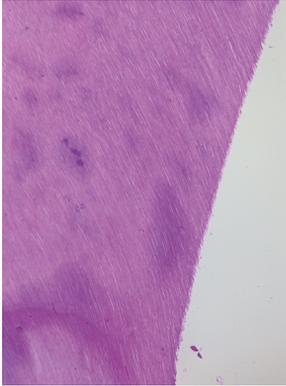
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie irregular con una capa de espesor variable de dentina reparativa con túbulos dentinarios desordenados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la lesión cariosa, se aprecia una pared de dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido en toda la superficie.

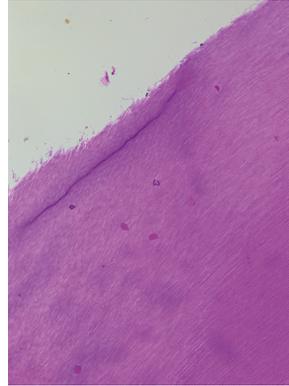
**Figura 37.** Muestra Soxhlet 015.

EXAMEN MICROSCÓPICO:

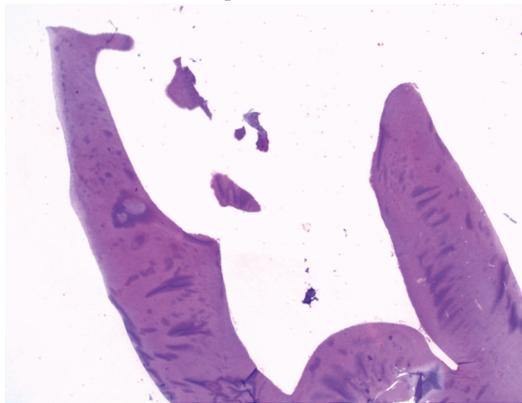
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado muy alto, de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado más corto, de la lesión cariosa, se aprecia una pared de dentina secundaria de superficie definida pero irregular, con una capa de túbulos dentinarios desordenados, desprendido en varias zonas de la superficie.

**Figura 38.** Muestra Soxhlet 016.



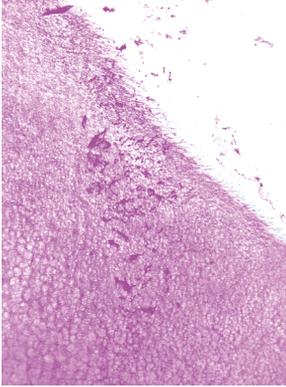
## **2.2.b.**

**Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante destilación**

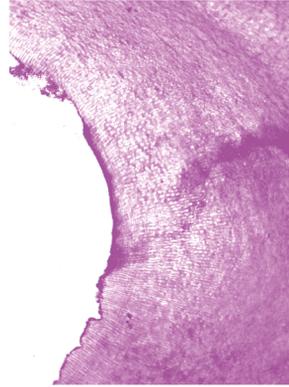


EXAMEN MICROSCÓPICO:

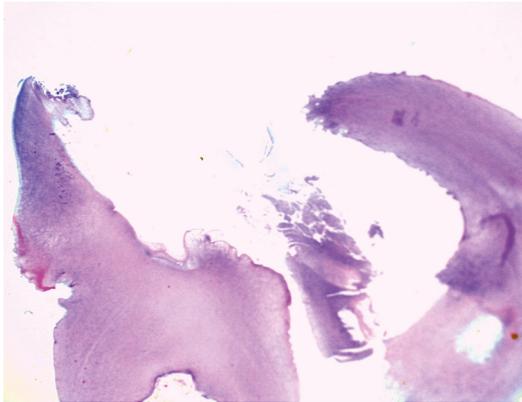
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

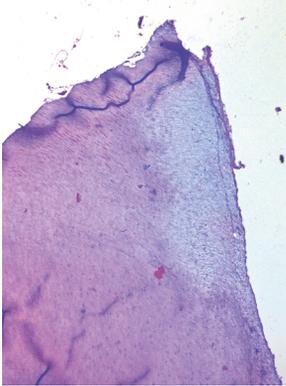
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): Se aprecia hacia la parte interna dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios presencia de una sustancia eosinofila amorfa.

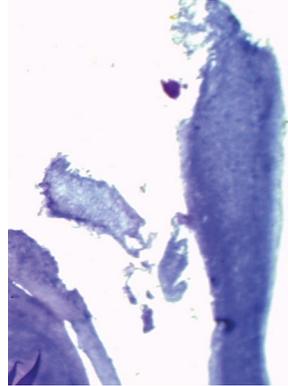
**Figura 39.** Muestra destilación (A).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

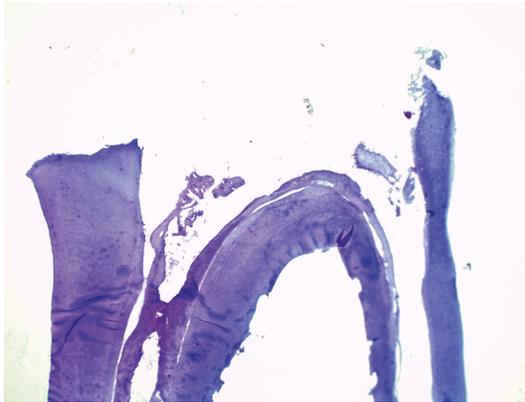
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

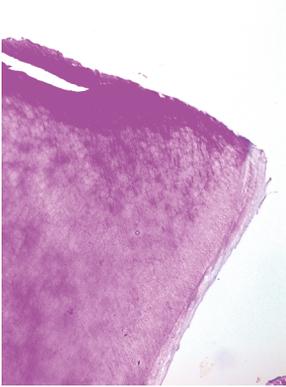
H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la zona cavitaria se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia escasos restos de tejidos dentinarios.

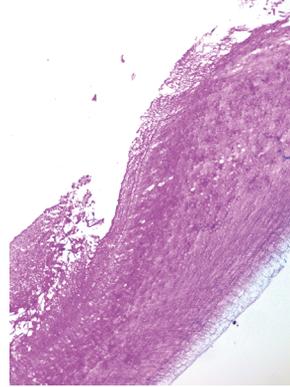
**Figura 40.** Muestra destilación (B).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

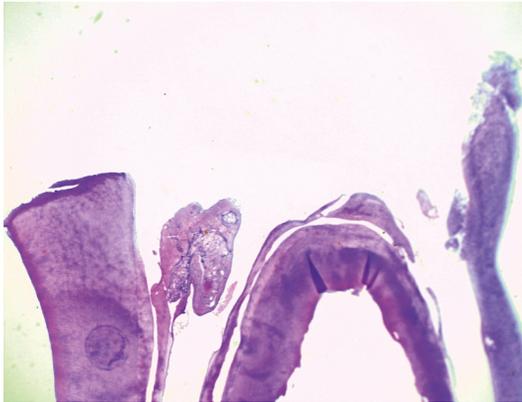
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

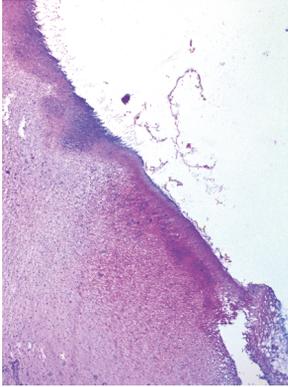
H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la zona cavitaria se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia escasos restos de tejidos dentinarios.

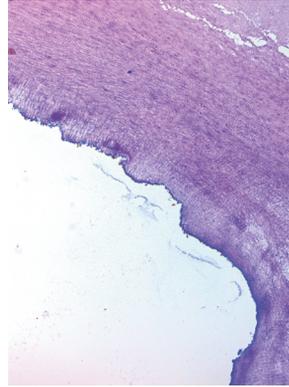
Figura 41. Muestra destilación (C).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

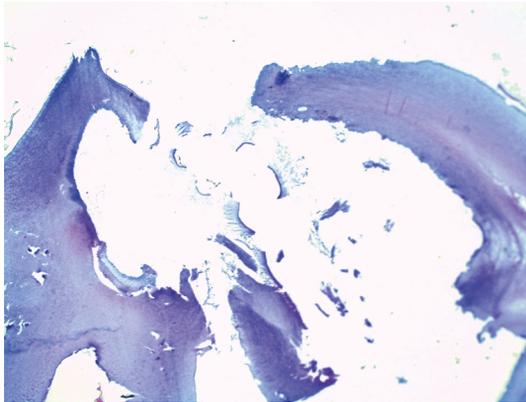
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

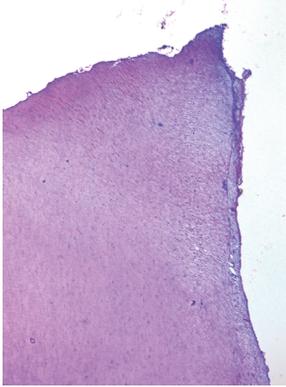
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): Se aprecia hacia la parte interna dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios presencia de una sustancia eosinofila amorfa.

**Figura 42.** Muestra destilación (D).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

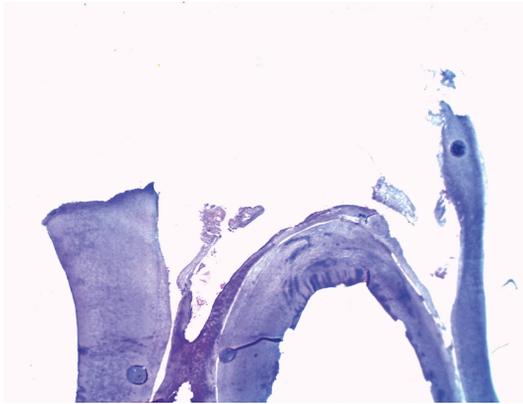
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

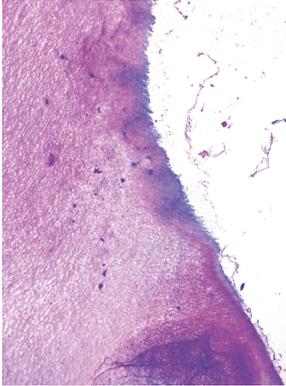
H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la zona cavitaria se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia escasos restos de tejidos dentinarios.

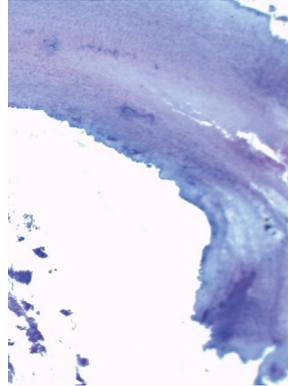
**Figura 43.** Muestra destilación (E).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

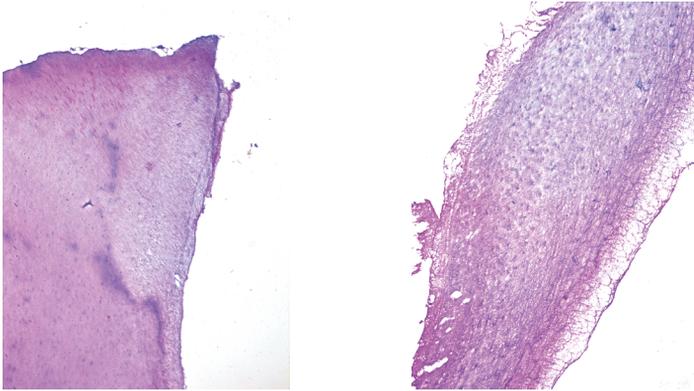
H-E, 100X (izq): Se aprecia hacia la parte interna dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios presencia de una sustancia eosinofila amorfa.

**Figura 44.** Muestra destilación (F).

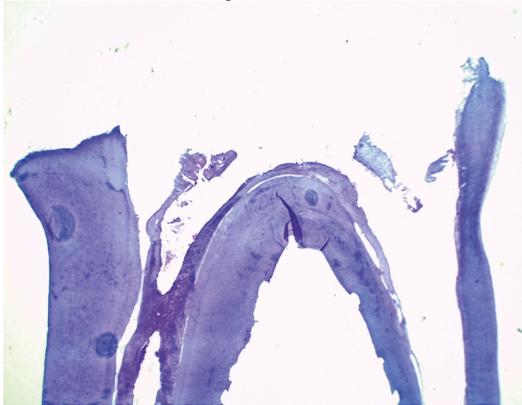
EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

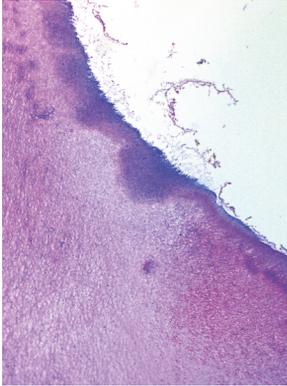
H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la zona cavitaria se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia escasos restos de tejidos dentinarios.

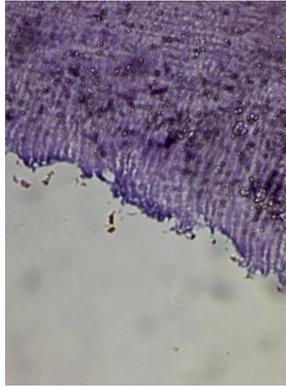
**Figura 45.** Muestra destilación (G).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

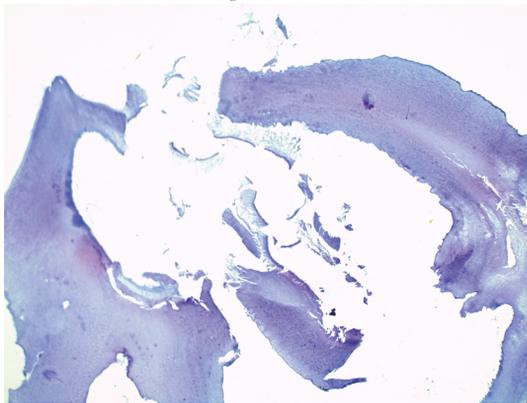
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran.

H-E, 40 X: pieza dentaria decidua con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

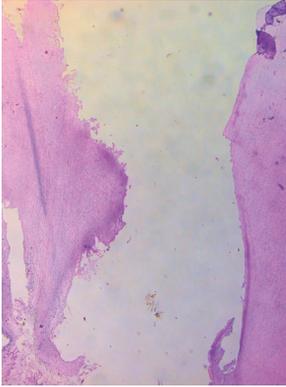
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): Se aprecia hacia la parte interna dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios presencia de una sustancia eosinofila amorfa.

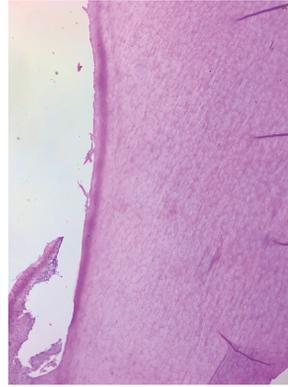
**Figura 46.** Muestra destilación (H).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

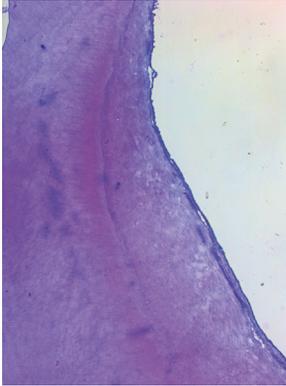
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna fragmentada se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado, se aprecia pared, hacia la parte superior dentina secundaria de superficie irregular de una capa de espesor también irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecian restos de tejidos dentinarios amorfos.

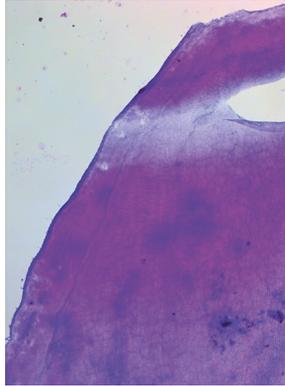
**Figura 47.** Muestra destilación (I).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

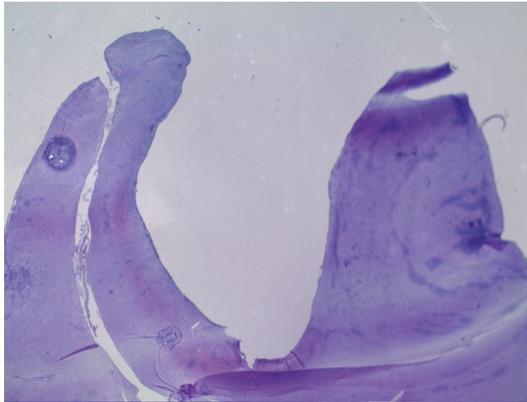
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

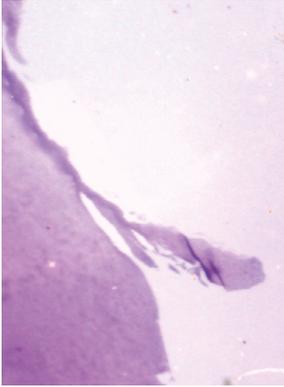
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

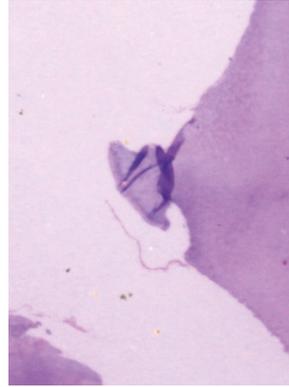
**Figura 48.** Muestra destilación (J).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

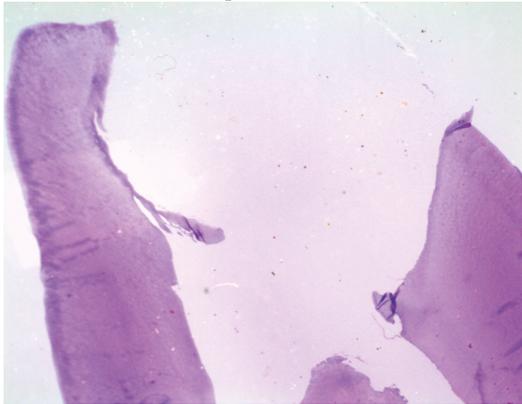
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cavitaria se aprecia una superficie lisa de una capa delicada de dentina reparativa con presencia de túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz se aprecia solo pequeñas áreas de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): Se aprecia en la pared interna de la lesión cariosa dentina secundaria de superficie irregular con presencia de túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

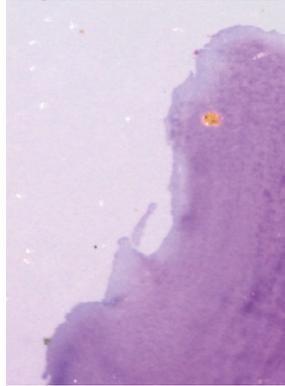
**Figura 49.** Muestra destilación (K).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. En una zona se aprecia algo irregular pero de características similares.

H-E, 100X (izq): Se aprecia hacia la parte interna dentina secundaria de superficie irregular con una capa de túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia escasos restos de tejidos dentinarios.

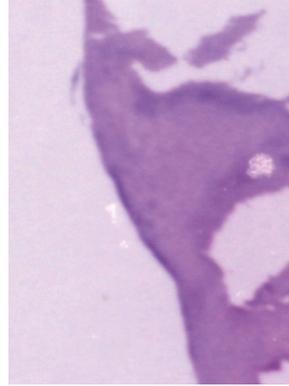
**Figura 50.** Muestra destilación (L).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

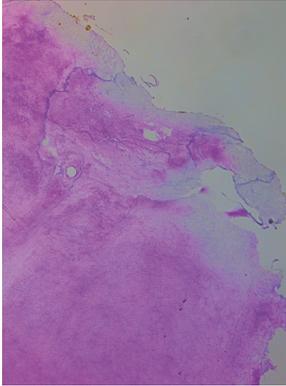
H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa delgada con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cavitaria se aprecia, hacia la parte superior una gruesa capa de dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

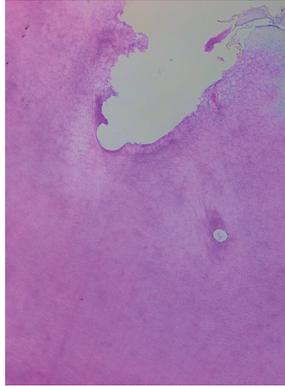
**Figura 51.** Muestra destilación (M).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

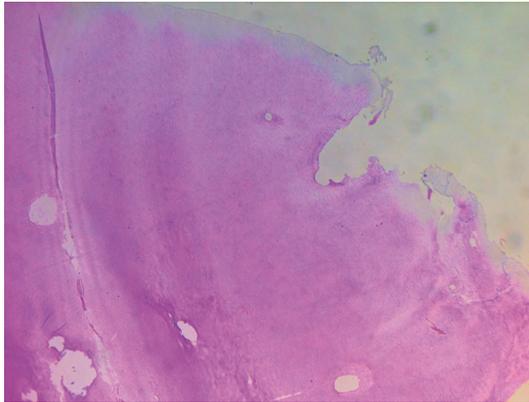
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

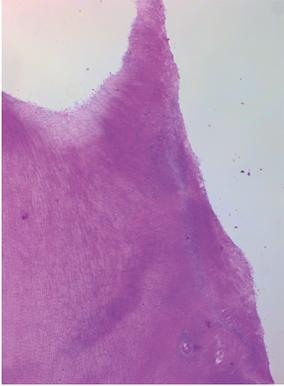
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz se aprecia solo pequeñas áreas de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): Se aprecia hacia la parte interna dentina secundaria de superficie lisa y en algunas zonas irregular con túbulos dentinarios desordenados. En la luz de la cavidad se observa dentina parcialmente desprendido y abundantes restos de tejidos dentinarios.

**Figura 52.** Muestra destilación (N).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

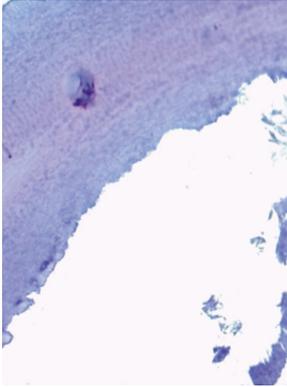
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

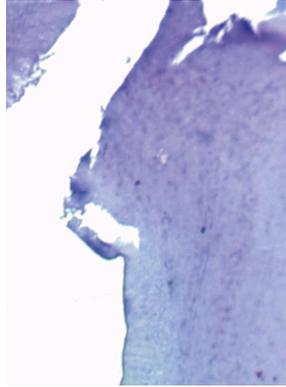
**Figura 53.** Muestra destilación (O).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

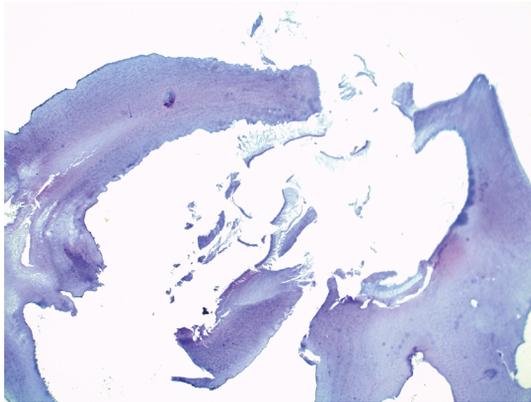
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



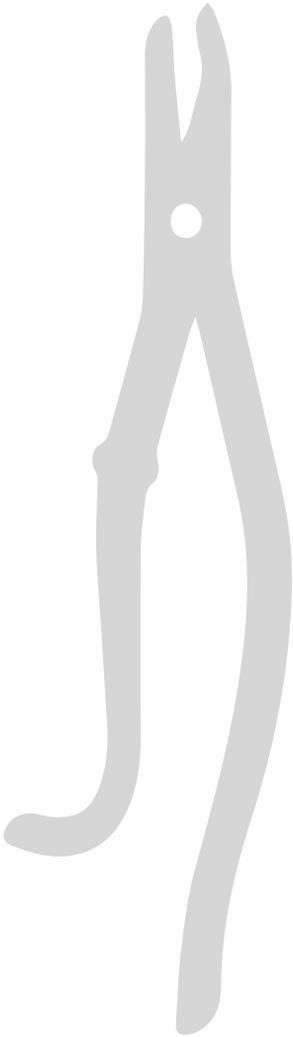
Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En el lado mayor de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, más corta, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, capa gruesa de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios.

**Figura 54.** Muestra destilación (P).



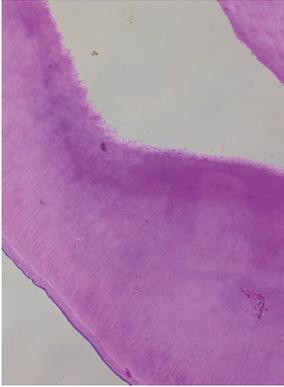
## **2.2.c.**

**Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante maceración**

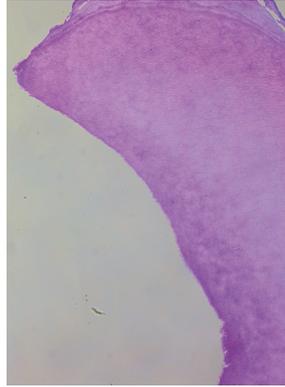


EXAMEN MICROSCÓPICO:

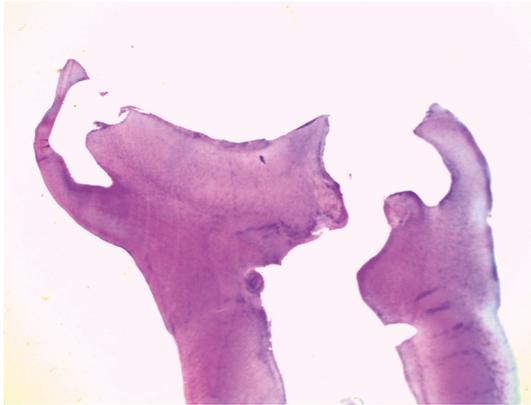
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con capa de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados.

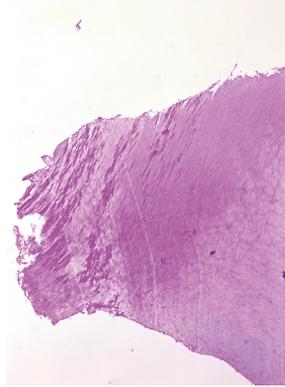
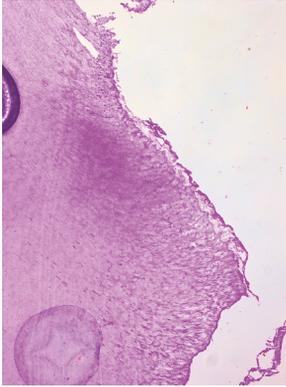
H-E, 100X (izq): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Pero, en la parte media e inferior se aprecia dentina amorfa.

**Figura 55.** Muestra maceración (Afganistán).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna curvada se aprecia una superficie completamente lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado, se aprecia pared, constituida por dentina secundaria de superficie levemente irregular de una capa de espesor grueso con túbulos dentinarios desordenados. En la luz de la cavidad se aprecian algunos restos de tejidos dentinarios amorfos.

**Figura 56.** Muestra maceración (Argentina).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

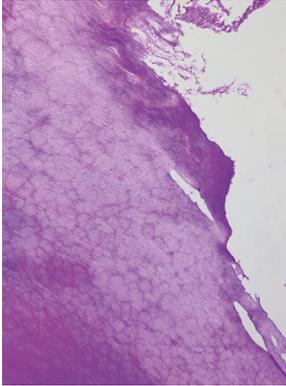
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie algo irregular pero lisa con una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, más delgada, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa que ocupa todo el espesor de la pared con túbulos dentinarios desordenados.

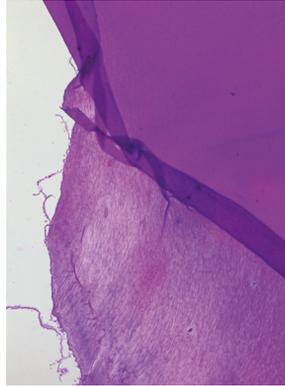
**Figura 57.** Muestra maceración (Brasil).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

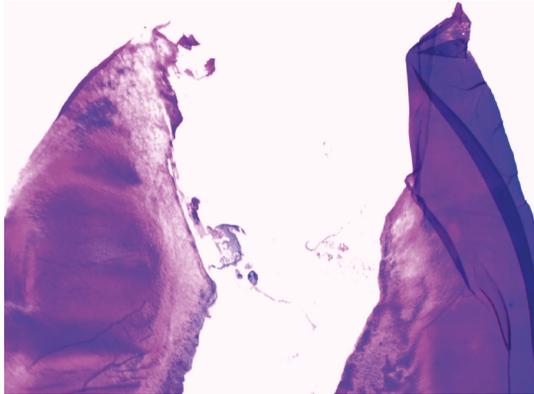
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado de la pared de la lesión cariosa, curvada, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

H-E, 100X (izq): En el lado mayor de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. En la luz adyacente a la pared se observa escaso tejido dentinario.

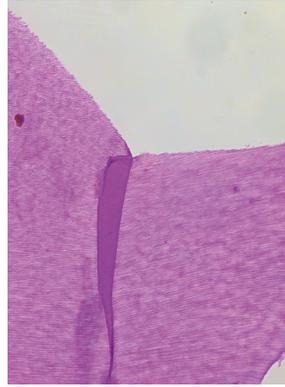
**Figura 58.** Muestra maceración (Chile).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

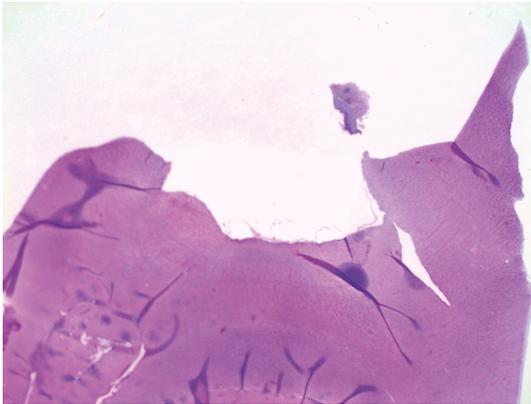
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

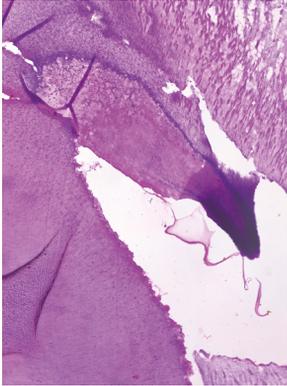
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la lesión cariosa, se aprecia fragmento de pared de dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido.

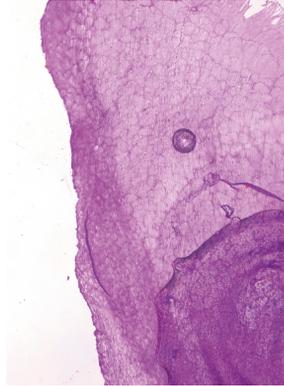
**Figura 59.** Muestra maceración (Dubai).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

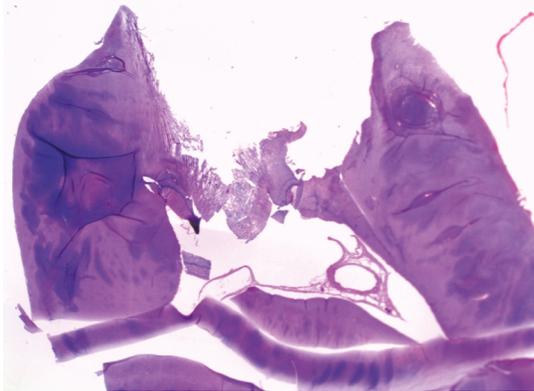
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

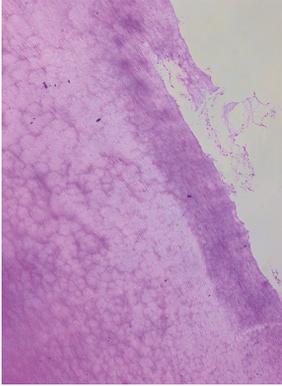
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Pero, en la parte superior superficial se aprecia lesión cariosa evidente con dentina amorfa desprendida.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con capa de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios.

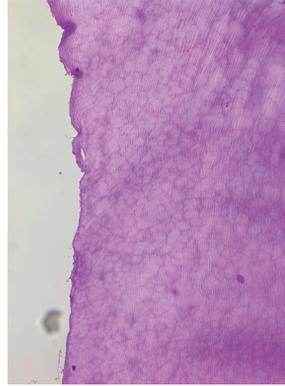
**Figura 60.** Muestra maceración (Ecuador).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

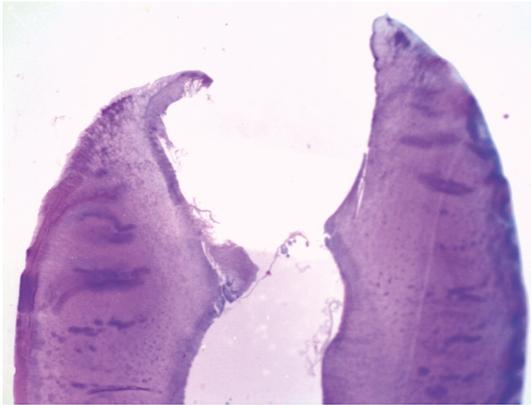
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

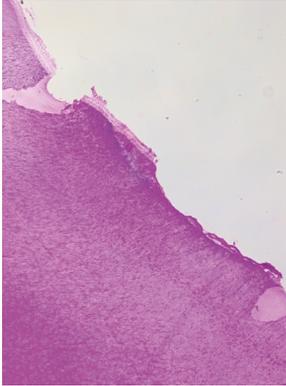
H-E, 100X (der): En este lado de la pared de la lesión cariosa, curvada, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

H-E, 100X (izq): En el lado mayor de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. En la luz adyacente a la pared se observa escaso tejido dentinario.

**Figura 61.** Muestra maceración (España).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

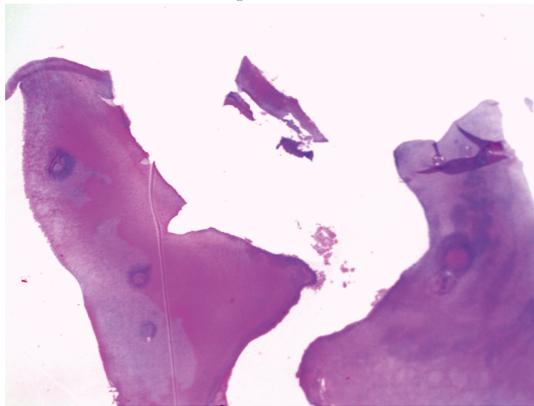
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

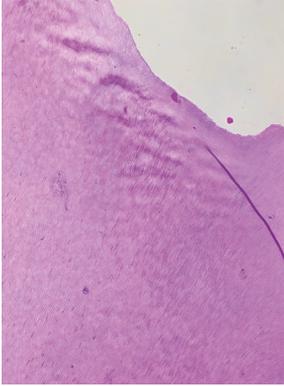
H-E, 100X (der): En este lado de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con capa de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados.

H-E, 100X (izq): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Pero, en la parte media e inferior se aprecia dentina amorfa.

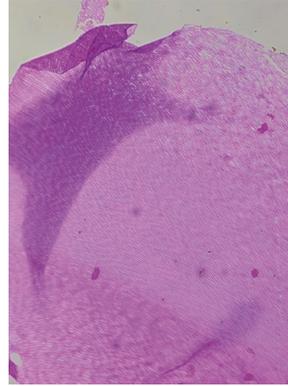
**Figura 62.** Muestra maceración (Francia).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

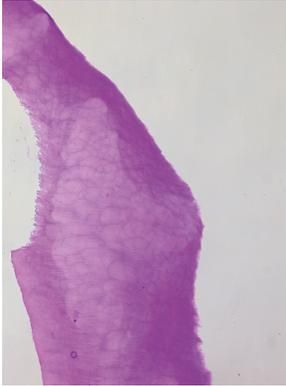
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria, más larga, en la pared interna se aprecia una superficie algo irregular pero lisa con presencia de dentina secundaria con túbulos dentinarios de apariencia normales.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, más corta, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa que ocupa todo el espesor de la pared con túbulos dentinarios desordenados.

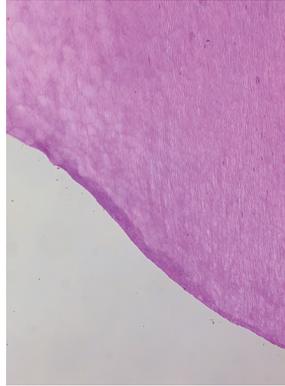
**Figura 63.** Muestra maceración (Corea).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie algo irregular pero lisa con una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, más delgada, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa que ocupa todo el espesor de la pared con túbulos dentinarios desordenados.

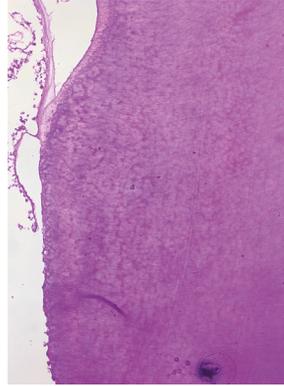
**Figura 64.** Muestra maceración (México).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

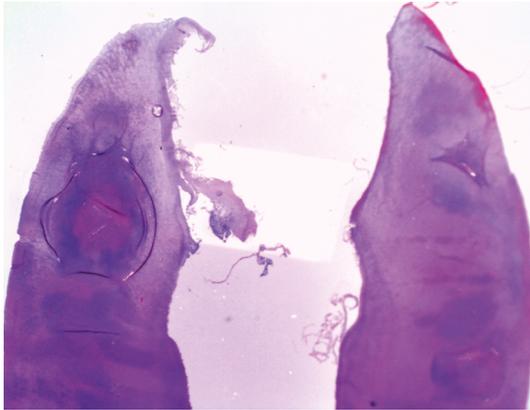
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

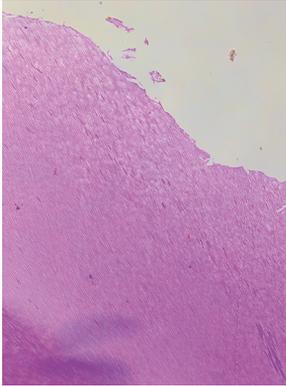
H-E, 100X (der): En este lado de la pared de la lesión cariosa, curvada, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa de espesor con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

H-E, 100X (izq): En el lado mayor de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. En la luz adyacente a la pared se observa escaso tejido dentinario.

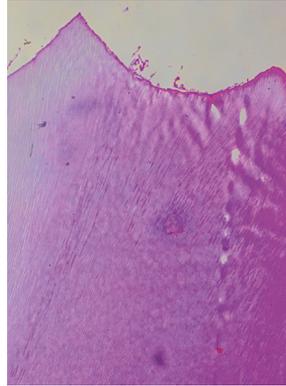
**Figura 65.** Muestra maceración (Perú).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

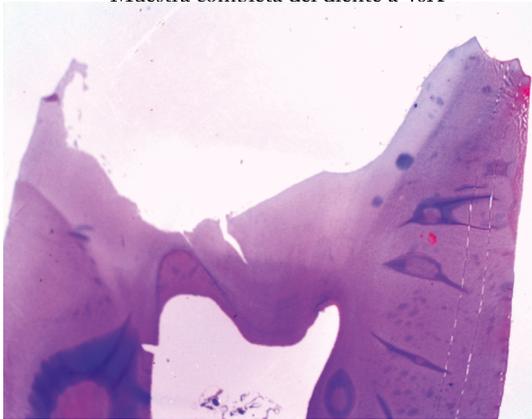
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

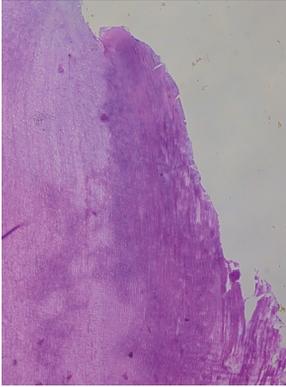
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria, más larga, en la pared interna se aprecia una superficie algo irregular pero lisa con presencia de dentina secundaria con túbulos dentinarios de apariencia normales.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, más corta, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con una capa que ocupa todo el espesor de la pared con túbulos dentinarios desordenados.

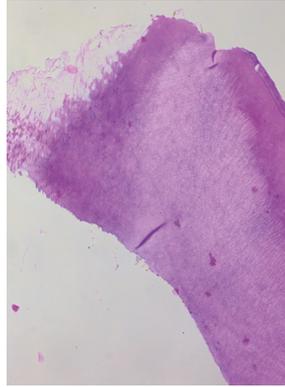
**Figura 66.** Muestra maceración (Rusia).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

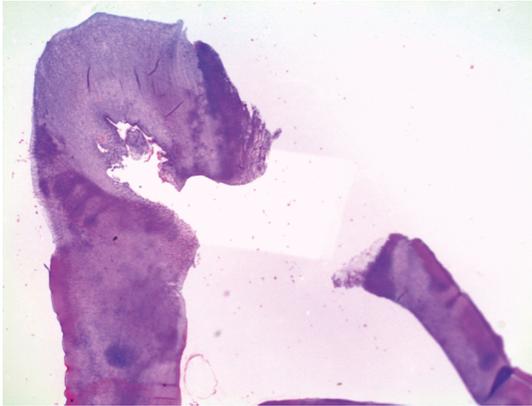
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

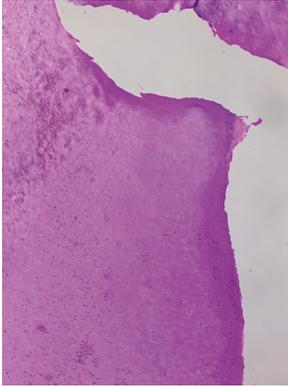
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna curvada se aprecia una superficie completamente lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado, se aprecia pared, constituida por dentina secundaria de superficie levemente irregular de una capa de espesor grueso con túbulos dentinarios desordenados. En la luz de la cavidad se aprecian algunos restos de tejidos dentinarios amorfos.

**Figura 67.** Muestra maceración (Suecia).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

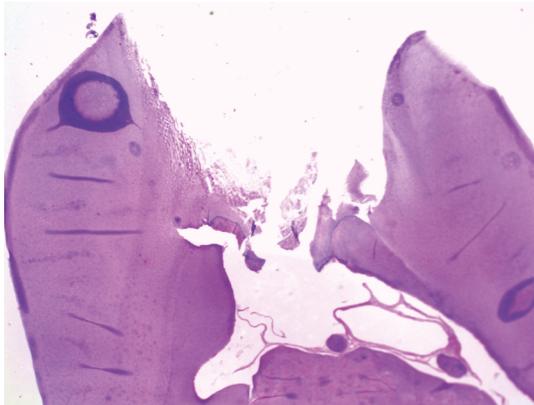
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Pero, en la parte superior superficial se aprecia lesión cariosa evidente con dentina amorfa desprendida.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la pared de la lesión cariosa, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular, con capa de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia restos de tejidos dentinarios.

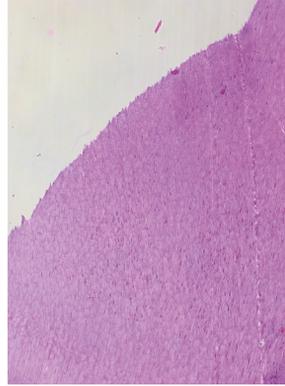
**Figura 68.** Muestra maceración (USA).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

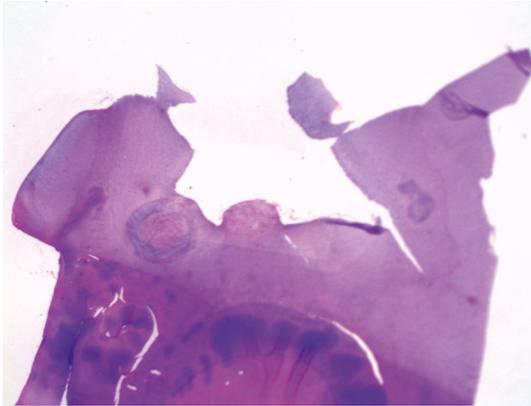
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado de la lesión cariosa, se aprecia fragmento de pared de dentina secundaria de superficie irregular, con una capa gruesa con túbulos dentinarios desordenados, desprendido.

**Figura 69.** Muestra maceración (Venezuela).

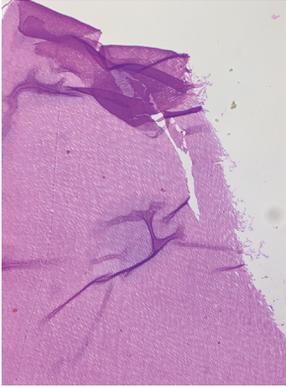
## 2.2.d.

**Resultados histológicos del grupo sometido al gel elaborado con extracción del principio activo mediante percolación**

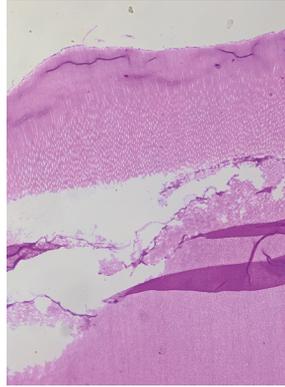


EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

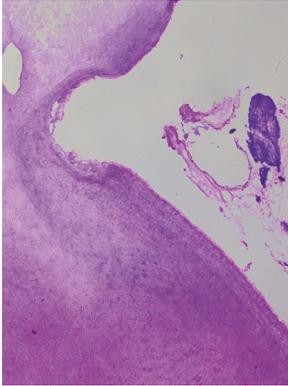
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa, más alta, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

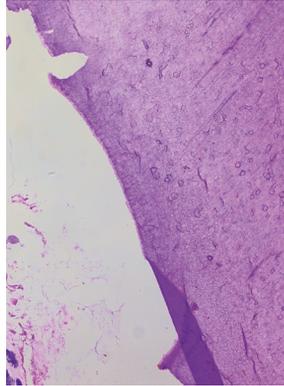
**Figura 70.** Muestra percolación (Amarillo).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

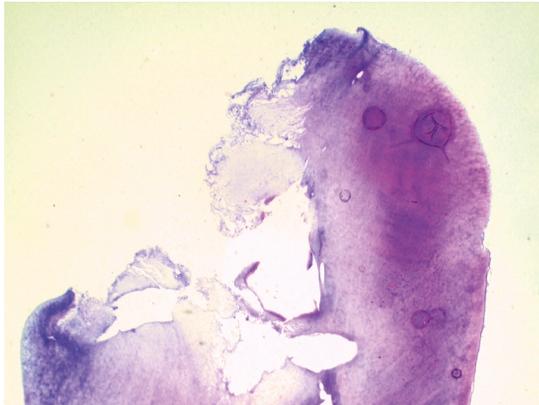
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa (inferior), se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

H-E, 100X (izq): En la lesión cavitaria en la pared interna alta, se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

**Figura 71.** Muestra percolación (Azul).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

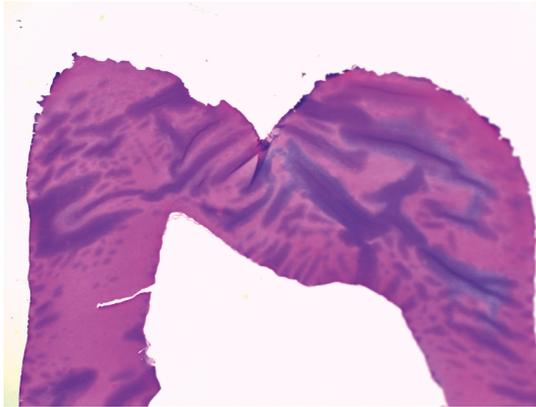
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

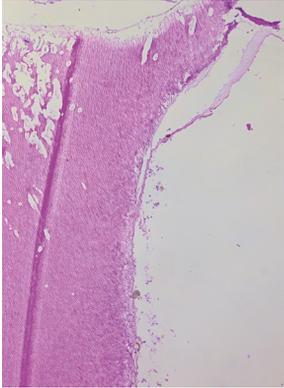
H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie regular con túbulos dentinarios conservados.

H-E, 100X (izq): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

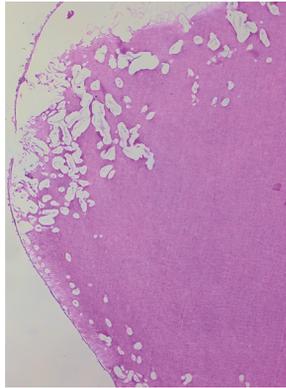
**Figura 72.** Muestra (Beige).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa y presencia de estructuras blanquecinas redondeadas pequeñas en la superficie.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa con presencia de numerosos espacios vacuolados de formas predominantemente redondeados u ovoideas en la superficie dentinaria, compatible con material foráneo.

H-E, 100X (izq): características histopatológicas similares en toda la superficie dentinaria.

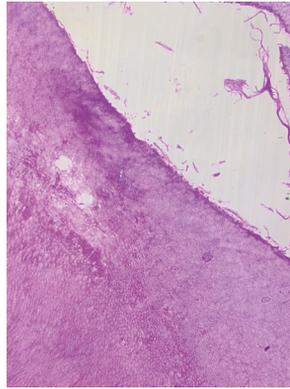
**Figura 73.** Muestra percolación (Blanco).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

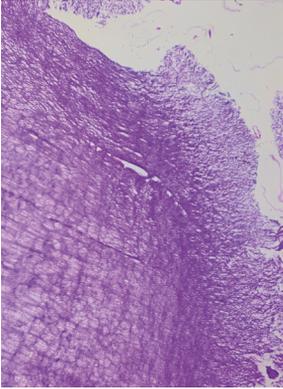
H-E, 100X (der): En la pequeña lesión cavitaria al corte, en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

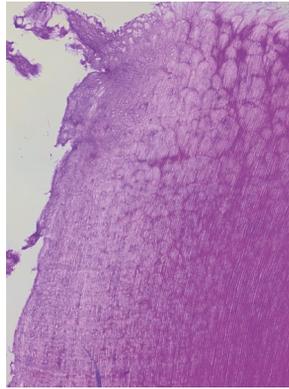
**Figura 74.** Muestra percolación (Café).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

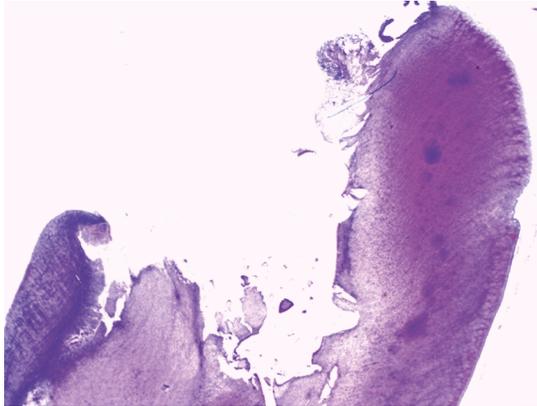
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

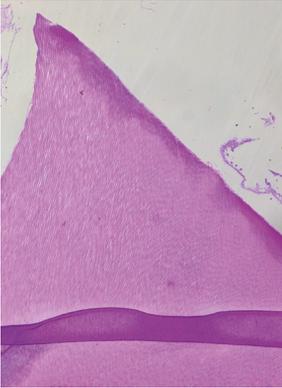
H-E, 100X (der): En la pared interna de la lesión cariosa (inferior), se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

H-E, 100X (izq): En la lesión cavitaria en la pared interna alta, se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

**Figura 75.** Muestra percolación (Celeste).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

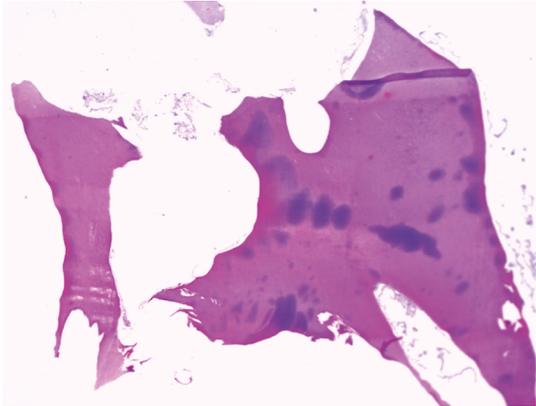
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

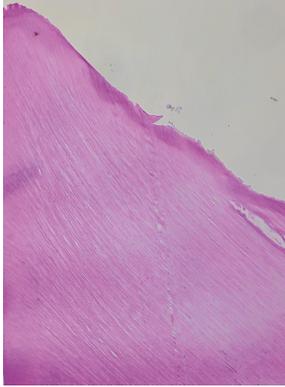
H-E, 100X (der): En este lado de la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa muy delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En el otro lado, de la lesión cariosa, se aprecia una pared de dentina secundaria de superficie definida, con una fina capa de túbulos dentinarios desordenados, desprendido.

**Figura 76.** Muestra percolación (Coral).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

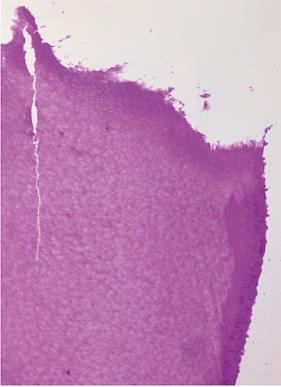
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor moderado con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

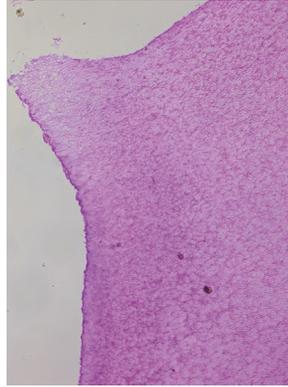
**Figura 77.** Muestra percolación (Fucsia).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

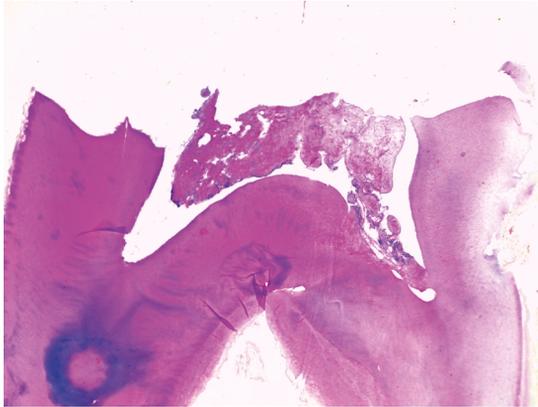
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa con presencia de numerosos espacios vacuolados de formas predominantemente redondeados u ovoideas en la superficie dentinaria, compatible con material foráneo.

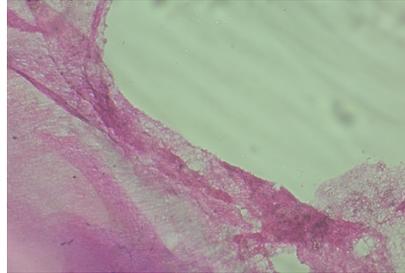
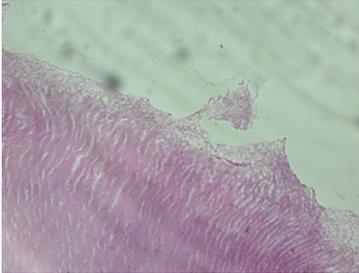
H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

**Figura 78.** Muestra percolación (Gris).

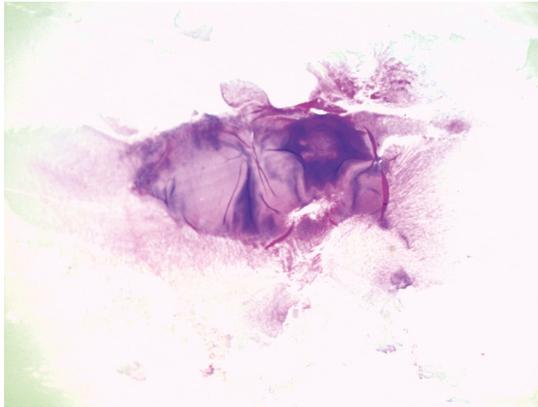
EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: parte coronaria de pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la zona central en una pequeña cavidad, se observa la pared interna con una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

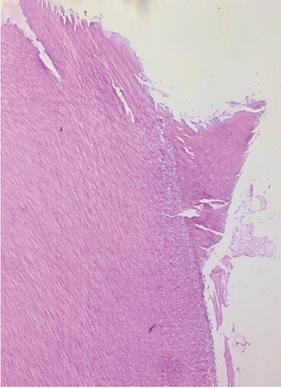
H-E, 100X (izq): En esta zona de la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, desprendido.

**Figura 79.** Muestra percolación (Lila).

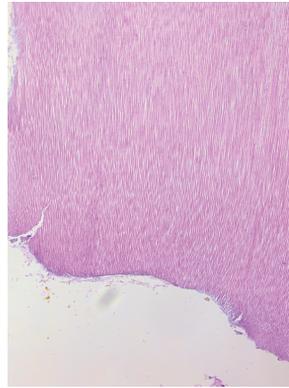
## Muestra no viable

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

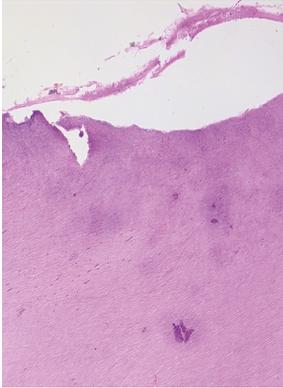
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria, parte plana, en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

**Figura 80.** Muestra percolación (Morado).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

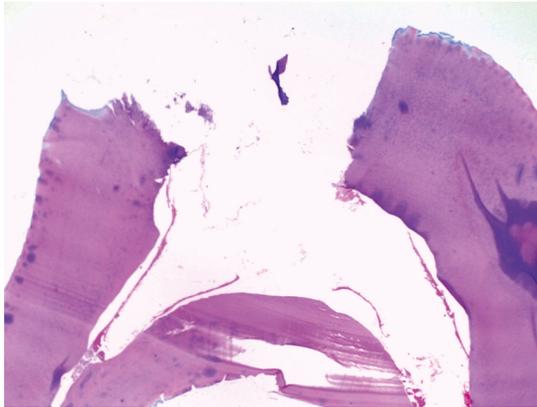
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria, parte plana, en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

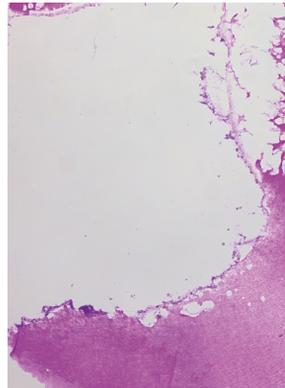
**Figura 81.** Muestra percolación (Naranja).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

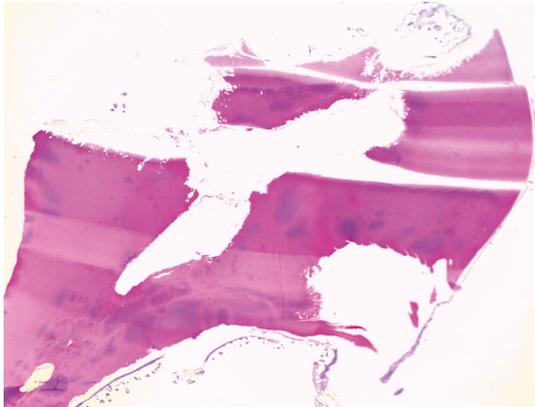
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa y presencia de estructuras blanquecinas redondeadas pequeñas en la superficie.

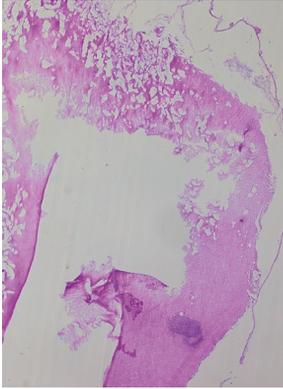
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa con presencia de pequeños espacios vacuolados de formas predominantemente redondeados u ovoideas en la superficie dentinaria, compatible con material foráneo.

H-E, 100X (izq): características histopatológicas similares en toda la superficie dentinaria.

**Figura 82.** Muestra percolación (Negro).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

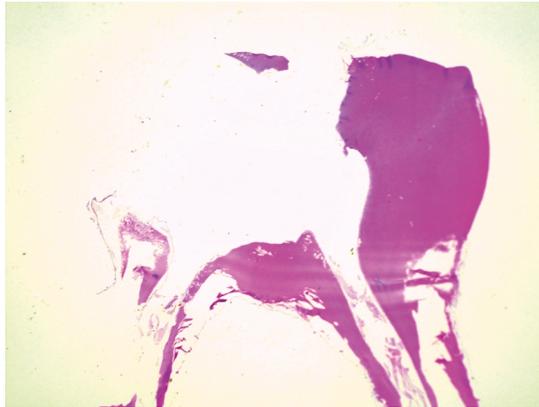
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

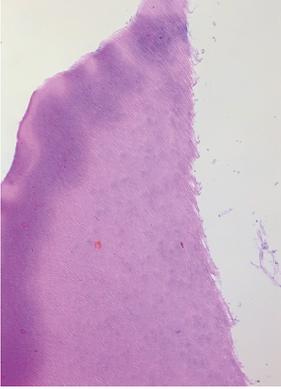
H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa con presencia de numerosos espacios vacuolados de formas predominantemente redondeados u ovoideas en la superficie dentinaria, compatible con material foráneo.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa se aprecia dentina secundaria de superficie irregular con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido.

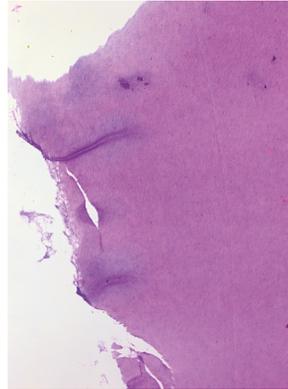
**Figura 83.** Muestra percolación (Rojo).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

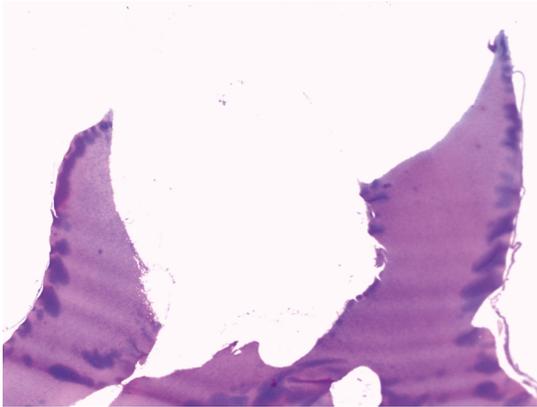
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. Hacia la luz no se aprecian restos de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa, más alta, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor variable con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

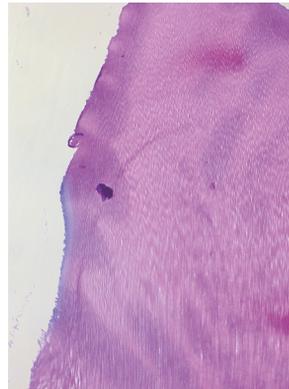
**Figura 84.** Muestra percolación (Rosado).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa y presencia de estructuras blanquecinas redondeadas pequeñas en la superficie.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa con presencia de numerosos espacios vacuolados de formas predominantemente redondeados u ovoideas en la superficie dentinaria, compatible con material foráneo.

H-E, 100X (izq): características histopatológicas similares en toda la superficie dentinaria.

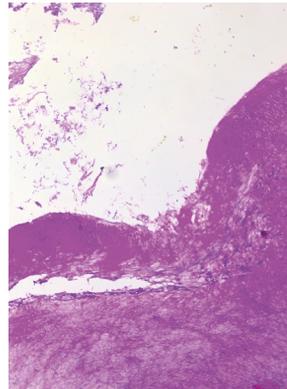
**Figura 85.** Muestra percolación (Turquesa).

EXAMEN MICROSCÓPICO:

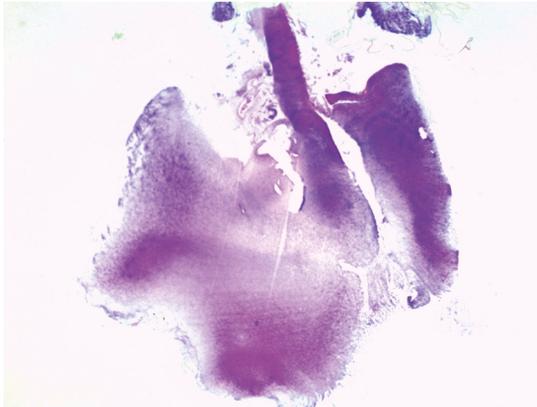
Sin principio activo a 100 X



Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa y presencia de estructuras blanquecinas redondeadas pequeñas en la superficie.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna se aprecia una superficie lisa con presencia de numerosos espacios vacuolados de formas predominantemente redondeados u ovoideas en la superficie dentinaria, compatible con material foráneo.

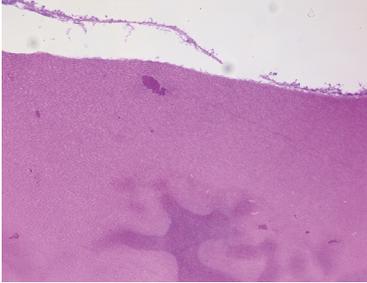
H-E, 100X (izq): características histopatológicas similares en toda la superficie dentinaria.

**Figura 86.** Muestra percolación (Verde).

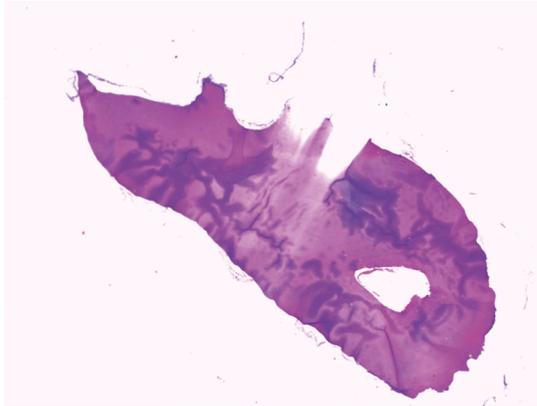
EXAMEN MICROSCÓPICO:

Sin principio activo a 100 X

Con principio activo a 100 X



Muestra completa del diente a 40X



Las secciones estudiadas muestran:

H-E, 40 X: pieza dentaria permanente con lesión cariosa coronaria, constituida por dentina tubular, irregular en su superficie externa.

H-E, 100X (der): En la lesión cavitaria en la pared interna, parte baja, se aprecia una superficie lisa de una capa delgada de dentina reparativa con túbulos dentinarios esclerosados. No se aprecian restos de tejido dentinario.

H-E, 100X (izq): En la pared interna de la lesión cariosa, parte más alta, se aprecia dentina secundaria de superficie irregular de espesor moderado con túbulos dentinarios desordenados, parcialmente desprendido. En la luz de la cavidad se aprecia algunos restos de tejidos dentinarios.

**Figura 87.** Muestra percolación (Verde oscuro).

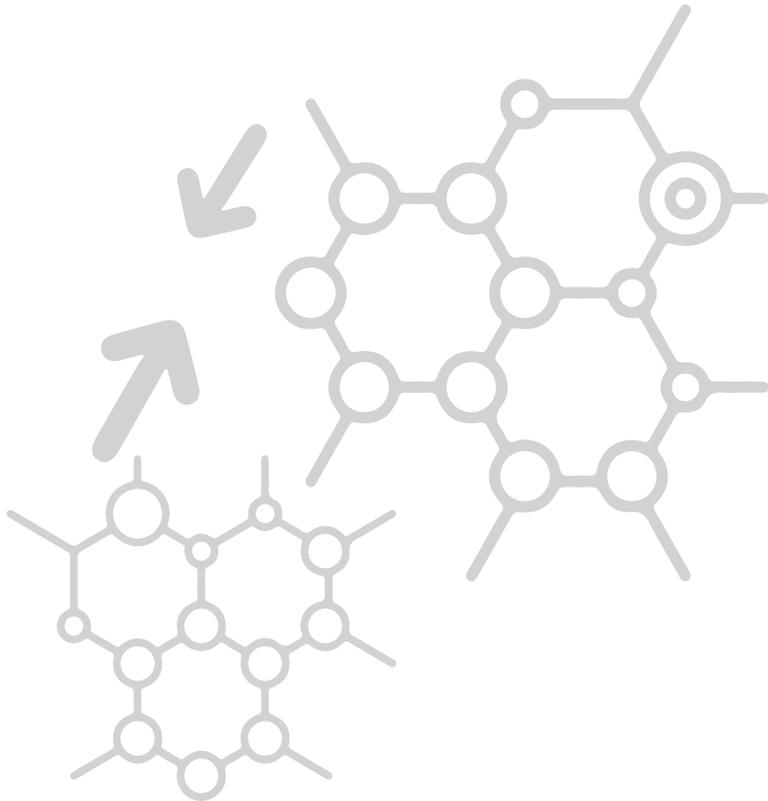
## Referencias bibliográficas

1. Sotelo E, et al. Evaluación clínica de un método de remoción de caries en odontopediatría. ADM. 2009;65,(4). Disponible en: <https://bit.ly/3XQWzQg>
2. Aldana CO, de Priego GP. Técnica restaurativa atraumática. Conceptos actuales. Revista Estomatológica Herediana. 2005;15(1):77-81. Disponible en: <https://bit.ly/4evYZtf>



# — Capítulo V —

Integrando la evidencia



La eliminación químico-mecánica de la caries dental se empieza a reportar en el año 1991 mediante el sistema Caridex® compuesto por N-monocloro-dl-2-aminobutirato (NMAB) (1), luego se ha reportado Carisolv™, una solución de NaOCl con aminoácidos glutámico, leucina y lisina; Papacárie®, un agente químico-mecánico derivado de la enzima papaína. Así también, un gel de hipoclorito de sodio al 2,25 % y últimamente un producto denominado Brix 3000®, otro agente químico-mecánico derivado de la papaína bioencapsulada (2).

En el presente trabajo se elaboró un gel para la remoción de la caries dental, a partir de la extracción del principio activo de la corteza del fruto del babaco (*Carica pentagona*). El mecanismo de acción explicado a profundidad en el primer capítulo de esta obra nos permitió avanzar a paso firme en la prueba *ex vivo*; con la seguridad de que la plausibilidad biológica del mecanismo de acción aseguraba la eficacia de nuestra propuesta.

En el capítulo segundo, se explicó el método de la extracción del complejo enzimático, debemos mencionar que al inicio no sabíamos qué método era el mejor, por lo que se optó por probar con los cuatro métodos mencionados. Durante la elaboración de esta metodología encontramos también literatura que reporta otras iniciativas de agentes de remoción químico-mecánica, como la propuesta de Al-Badri de utilizar la bromelina, una enzima con acción proteolítica que se obtiene de la piña, como alternativa a la papaína (3).

En el cap. III mostramos los resultados de dos procedimientos de evaluación. El primero fue la verificación del resultado macroscópico de la superficie dentinaria, tratada con el gen de babaco, y el segundo fue la evaluación histológica del resultado obtenido.

En 2022, un artículo de revisión de literatura realizada por Souza et al. reportó que existían  $n = 397$  estudios sobre este tema en particular, mostrando que en Estados Unidos de Norte América se realizaron  $n = 36$ , en Brasil  $n = 45$  e India  $n = 44$ . El estudio llega a varias conclusiones importantes, entre las cuales se destacan (2):

- Con el paso de los años, los estudios sobre productos de remoción químico-mecánica de la caries se han incrementado, sobre todo ente en ensayos *in vitro* y clínicos (2). Lo que indica que el presente estudio está en la megatendencia de investigaciones a nivel mundial.
- Se recomienda que los posteriores estudios clínicos se enfoquen en productos basados en enzimas, puesto que los resultados actualmente evidenciados han demostrado hasta ahora un mejor rendimiento en comparación con los productos a base de hipoclorito (2). Motivo por el cual el presente libro cobra relevancia científica al estar en concordancia con lo que refiere la revisión sistemática desarrollada por Souza.
- Existe una escasez de estudios que evalúen la supervivencia de las restauraciones, el tiempo empleado y la percepción del dolor en dientes primarios al comparar productos basados en enzimas (principalmente Carisolv™) con las restauraciones convencionales (2). Lo que permite una brillante oportunidad de continuar con investigaciones del gel basado en el complejo enzimático de babaco y llevar este producto a un siguiente nivel que corresponde a ensayos clínicos.
- A pesar de que la aplicación clínica de productos de remoción químico-mecánica de la caries aumenta el tiempo necesario para la remoción del tejido cariado, puede tener el potencial de hacer que la remoción de la caries sea más cómoda, reduciendo la an-

siedad, el dolor y la necesidad de anestesia local (2). Lo que concuerda con los hallazgos realizados en el presente estudio que, a pesar de no haber medido el tiempo de acción, se ha podido verificar ello en la prueba piloto.

Un estudio prospectivo de Bussadori (4) con seguimiento de 14 meses después de utilizar el removedor Papacarie® mostró éxito en 13 de 14 casos, este estudio fue llevado a cabo en dientes permanentes jóvenes, el seguimiento fue clínico y radiográfico. Lo que nos muestra que esta técnica mínimamente invasiva es de interés actual y que tiene posibilidades de desarrollo, dando un escenario favorable para el campo de acción de un futuro desarrollo industrial del gel de babaco en favor de Ecuador.

Bratu et al. en 2022 publicaron un análisis bibliométrico que abarcó 10 años de publicaciones (5), encontraron 58 estudios que utilizaron Carisolv™ y BRIX 3000®; en este estudio se destaca la eficacia de métodos como BRIX3000® y Carisolv™ en la remoción de dentina infectada en dientes deciduos y permanentes, demostrando ser métodos bien tolerados por los pacientes. Al tratarse de dos marcas comerciales y de preparados diferentes, podemos deducir que cualquier otro preparado que tenga el mismo mecanismo de acción tendrá resultados similares en cuanto a la tolerancia de los pacientes. En la revisión de Batu et al. evaluaron también la eficacia de diferentes técnicas de remoción de caries en términos de dolor y ansiedad generados durante el tratamiento, concluyendo que BRIX3000® y Carisolv™ se desempeñaron como métodos bien tolerados.

Bratu et al. también encontraron que se realizaron estudios para validar la eficacia de la remoción de caries en molares primarios mediante excavación manual y técnicas químico-mecánicas, demostrando resultados satisfactorios. Lo que coincide con los hallazgos

del presente estudio que demostraron eficacia en detención decidua tanto en la evaluación de la rugosidad (figura 2, cap. IV).

Otro aspecto que reportan Bratu et al. es la producción de proteínas de matriz extracelular por fibroblastos pulpares humanos en contacto con Papacárie® y Carisolv™ (5), lo que sugiere un impacto positivo en la eficacia de estos métodos, debido a que se refiere al proceso en el cual estas células especializadas en el tejido pulpar sintetizan y secretan proteínas que forman parte de la matriz extracelular circundante, generando una red tridimensional de proteínas y carbohidratos que proporciona soporte estructural y regula diversas funciones celulares, lo que puede indicar la capacidad de estos preparados para interactuar con las células del tejido pulpar de manera favorable. Esto puede tener implicaciones en la respuesta biológica del tejido pulpar a estos agentes y en la capacidad de los mismos para promover la regeneración y reparación del tejido dental, lo que es un aliciente para seguir en la investigación de la remoción químico-mecánica de la caries.

En cuanto a las investigaciones clínicas que han encontrado Bratu et al. (5) se estudió la adhesión de resina compuesta a dentina afectada por caries después del tratamiento con Carisolv™, lo que proporcionó información sobre la eficacia de este método en la preparación para restauraciones, estos hallazgos respaldan la eficacia y la viabilidad de los métodos químico-mecánicos de remoción de caries utilizando BRIX3000® y Carisolv™ en diferentes contextos clínicos y de investigación. Este hallazgo es de principal importancia, debido a que ya se sabe que la remoción químico-mecánica de caries mediante enzimas, no altera la adhesión a dentina por parte de los adhesivos que se utilizan para realizar las restauraciones de los dientes.

Por otro lado, un estudio realizado por Neves et al., en 2015, tuvo como objetivo evaluar la efectividad y especificidad de un agente químico mecánico a base de papaína en la remoción de caries, con el fin de proporcionar un mínimo de caries residual después de la preparación de la cavidad (6). En el estudio se empleó diez muestras de piezas dentales molares humanas extraídas que presentaron lesiones cariosas en la superficie oclusal. Utilizó la técnica de micro-CT en asociación con análisis de imágenes digitales para estudiar las técnicas de remoción de caries. Este método permitió una evaluación tridimensional no destructiva y la obtención de resultados volumétricos de todo el espécimen. El estudio encontró que el agente químico-mecánico a base de papaína proporcionó una remoción de caries efectiva y específica, dejando un mínimo de caries residual después de la preparación de la cavidad. Este mismo resultado se halló en la presente investigación, dado que los cortes histológicos que se presentan (cap. IV) muestran en el lado que empleó el preparado de un gel en base al complejo enzimático de babaco, el corte del tejido cariado se realiza de manera específica debido a que, como se explicó en el primer capítulo, la unión de la enzimas proteolíticas con las porciones libres del colágeno desorganizado crean una unión enzima-sustrato, que según la literatura y el paradigma actual, es una unión de altísima especificidad (7).

Una preocupación del clínico al momento de utilizar un sistema de mínima intervención es el tiempo que se emplea para dejar actuar el complejo enzimático, al respecto un estudio de 2021 de Katiyar et al., comparó la eficacia clínica, el tiempo de tratamiento y la percepción del dolor entre dos métodos diferentes de eliminación de caries en pacientes dentales pediátricos: el método químico-mecánico (Carisolv) y el método rotatorio convencional (Airotor) (8). En el estudio se utilizaron un total de 60 pacientes en el grupo de edad

de 6 a 14 años para comparar la eficacia clínica en la eliminación de caries entre el sistema Carisolv y el método convencional Airotor. La variable del tiempo de tratamiento para la eliminación de caries con Carisolv y Airotor se midió en minutos y se comparó entre los dos grupos de pacientes. Además, la percepción del dolor de los pacientes durante los procedimientos de eliminación de caries se evaluó utilizando una escala verbal y una escala visual analógica (VAS) para registrar y comparar la intensidad del dolor entre los dos métodos. Los resultados del estudio mostraron que el tiempo promedio tomado para la eliminación de caries fue significativamente mayor en el grupo que utilizó el método Carisolv en comparación con el grupo que utilizó el método rotatorio Airotor. Además, se observó que la percepción del dolor fue significativamente menor en el grupo que recibió el tratamiento con Carisolv en comparación con el grupo tratado con el método rotatorio, según las puntuaciones de dolor verbal y la escala VAS (8). Lo que plantea que la remoción químico mecánica de caries, si bien toma más tiempo operatorio, pero tiene la gran ventaja de que disminuye el dolor y por ende la ansiedad o miedo al tratamiento odontológico.

Otra preocupación de los clínicos es el detritus que queda luego de la remoción de la caries, en el caso de la técnica convencional de instrumento rotatorio se ha denominado *smear layer* (barrillo dentinario), al respecto esta misma preocupación aparece en la técnica de remoción químico mecánica de caries, para saber si la eliminación y desproteínización de la superficie dentinaria tiene algún efecto en las propiedades de la pared de la cavidad dentaria, al respecto Dhanvijay et al. realizaron un estudio que publicaron en 2023; que tuvo el objetivo de comparar la formación de la capa de esmalte residual después de la remoción de caries utilizando un láser de Erbio y un agente quemo-mecánico a base de papaína (9). El estudio buscaba

evaluar la eficacia de ambos métodos en la remoción de caries y su impacto en la formación de la capa de esmalte residual, con el fin de proporcionar información relevante para mejorar las técnicas de restauración adhesiva en odontología conservadora. En el estudio, la evaluación de la capa de esmalte residual se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) a aumentos de 1500x y 3000x después de la remoción de la caries. Se utilizó un sistema de puntuación para clasificar la capa de esmalte residual en cuatro grados: 0 (sin capa de esmalte residual con túbulos dentinarios abiertos), 1 (capa de esmalte residual mínima con >50 % de túbulos dentinarios visibles), 2 (capa de esmalte residual moderada con <50 % de túbulos dentinarios visibles) y 3 (capa de esmalte residual densa y túbulos dentinarios obliterados). Los resultados del estudio mostraron que el grupo tratado con láser de Erbio (grupo 1) presentó una remoción significativamente mayor de la capa de esmalte residual en comparación con el grupo tratado con el agente químico-mecánico a base de papaína (grupo 2). En el grupo 1, los túbulos dentinarios mostraron una mayor permeabilidad en comparación con la permeabilidad parcial observada en el grupo 2. Estas diferencias fueron altamente significativas a magnificaciones de 1500x y 3000x ( $p < 0,001$ ). Además, se observó que el láser de Erbio fue más efectivo en la eliminación de dentina infectada y la capa de esmalte residual de los dientes cariados en comparación con el agente químico-mecánico a base de papaína, con una significancia estadística de  $p < 0,001$ . Estos hallazgos respaldan la eficacia del láser de Erbio como una opción más eficiente para la remoción de caries en comparación con los agentes químico-mecánicos convencionales. Sin embargo, hay una corriente dentro de la odontología que aboga por dejar el barrillo dentinario como una especie de matriz orgánica útil para mejorar la performance de los materiales adhesivos, como es el caso de Saikaew et al.

que en una revisión de literatura publicada en 2021 muestran que el *smear layer* puede influir positivamente en la adhesión al actuar como un sustrato para la unión de los adhesivos dentales. En el enfoque de adhesivos autoacondicionantes, el primer ácido débil parcialmente desmineraliza la estructura del diente y penetra en la dentina subyacente, lo que permite que la capa de esmalte residual se incorpore en la capa híbrida. Esta estructura, conocida como capa híbrida de esmalte, puede contribuir a una mayor retención de la restauración al proporcionar una interfaz de unión entre el adhesivo y la dentina, por lo tanto, el *smear layer* puede mejorar la adhesión al permitir la formación de una capa híbrida que mejora la unión entre el diente y el material restaurador (10).

Un trabajo investigativo que sirvió como antecedente para la presente investigación es el presentado por Moya y cols. en Perú, que aislaron la papaína, del fruto de la *Carica papaya pubescens*, originaria de Arequipa Perú. Los resultados que presentaron mostraron que tanto profesionales como pacientes preferían la atención utilizando el producto removedor de caries (11). En el caso del presente estudio, se debería realizar una investigación aplicando el gel removedor de caries en pacientes y medir la experiencia percibida al momento de eliminar las lesiones de caries in vivo.

En conclusión, la remoción químico-mecánica de la caries es una tecnología que ha llegado para quedarse y da una gran oportunidad para mejorar la atención dental, por otro lado, es menester continuar desarrollando más investigaciones científicas sobre todo en condiciones clínicas. Desde el punto de vista de los autores de esta obra, el desarrollo de un gel removedor de caries en base a la planta babaco (*Carica pentagona*) es un desarrollo tecnológico que tiene impacto en la comunidad científica y que abre oportunidades a nuevos desa-

rollos tanto científicos como tecnológicos que permitan mejorar las condiciones de salud oral.

## Referencias bibliográficas

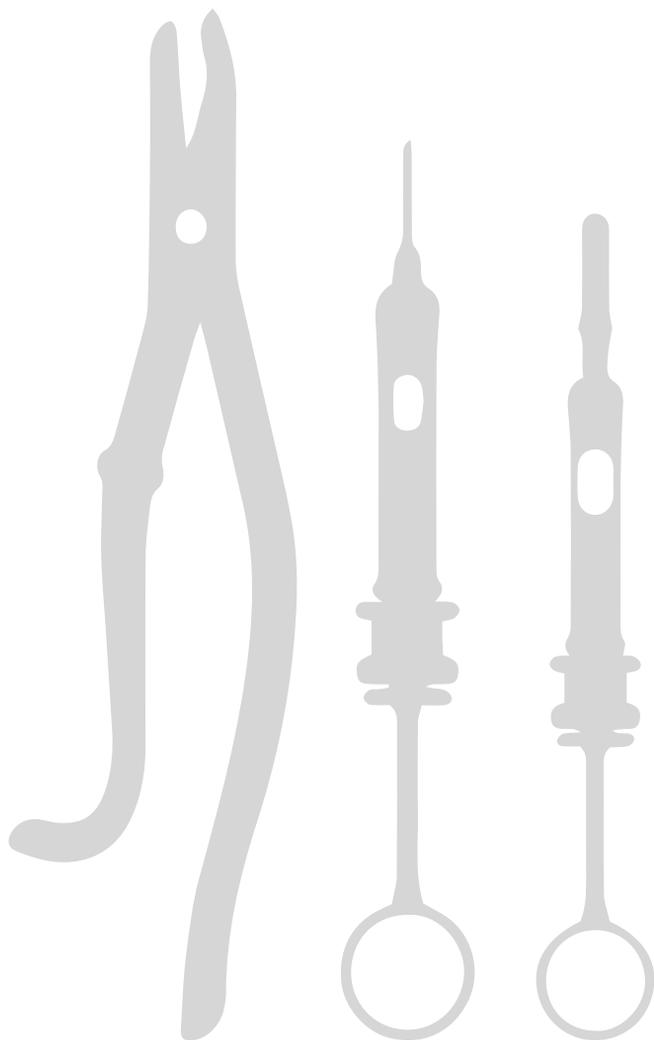
1. Seppä L, Pajukoski H. [Chemical-mechanical removal of decay (Caridex)]. Suom Hammaslaakarilehti [Internet]. 1991 Feb 15 [citado 2024 Apr 30];38(4). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1816618/>
2. Souza TF, Martins ML, Magno MB, Vicente-Gomila JM, Fonseca-Gonçalves A, Maia LC. Worldwide research trends on the use of chemical-mechanical caries removal products over the years: a critical review. Eur Arch Paediatr Dent [Internet]. 2022 Jul 13 [citado 2024 Apr 30];23(6):869-83. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40368-022-00726-6>
3. Al-Badri H, Al-Shammaree SA, Banerjee A, Al-Tae LA. The in-vitro development of novel enzyme-based chemo-mechanical caries removal agents. J Dent [Internet]. 2023 Nov;138:104714. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2023.104714>
4. Bussadori SK, Guedes CC, Bachiega JC, Santis TO, Motta LJ. Clinical and radiographic study of chemical-mechanical removal of caries using Papacárie: 24-month follow up. J Clin Pediatr Dent [Internet]. 2011 Spring;35(3):251-4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17796/jcpd.35.3.75803m02524625h5>
5. Bratu DC, Nikolajevic-Stoican N, Popa G, Pop SI, Dragoş B, Luca MM. A Bibliometric Analysis (2010-2020) of the Dental Scientific Literature on Chemo-Mechanical Methods of Caries Removal Using Carisolv and BRIX3000. Medicina [Internet]. 2022 Jun 11;58(6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/medicina58060788>

6. Neves AA, Lourenço RA, Alves HD, Lopes RT, Primo LG. Caries-removal effectiveness of a papain-based chemo-mechanical agent: A quantitative micro-CT study. Scanning [Internet]. 2015 Mar 23;37(4):258-64. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/sca.21206>
7. Cardona Serrate F. Los enzimas. Introducción a la enzimología. 2020; Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/146362>
8. Katiyar A, Gupta S, Gupta K, Sharma K, Tripathi B, Sharma N. Comparative Evaluation of Chemo-mechanical and Rotary-mechanical Methods in Removal of Caries with Respect to Time Consumption and Pain Perception in Pediatric Dental Patients. Int J Clin Pediatr Dent [Internet]. 2021 Jan-Feb;14(1):115-9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1896>
9. Dhanvijay A, Kubde R, Shenoi P, Badole G, Shahu S. Assessment of Smear Layer Formation After Caries Removal Using Erbium Laser and Papain-Based Chemo-Mechanical Caries Removal Agent: An In Vitro Scanning Electron Microscopy Study. Cureus [Internet]. 2023 Oct;15(10):e47999. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7759/cureus.47999>
10. Saikaew P, Sattabanasuk V, Harnirattisai C, Chowdhury AFMA, Carvalho R, Sano H. Role of the smear layer in adhesive dentistry and the clinical applications to improve bonding performance. Jpn Dent Sci Rev [Internet]. 2022 Nov;58:59-66. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdsr.2021.12.001>
11. Moya de Calderón Z, Abril R, Villavicencio-Caparo E, Torres F. Método de remoción de caries preferido por dentistas y pacientes niños. Veritas, [Internet], v. 14, n. 1, p. 93-99, jun. 2019. ISSN 1684-7822. Disponible en: <<https://revistas.ucsm.edu.pe/ojs/index.php/veritas/article/view/215>>.



## Equipo de Trabajo

Agradecimiento especial a la Dra. Paola Orellana Bravo; Dr. Carlos Andrade Tacuri; Dra. Samantha Narvaez Castro y al Laboratorio de Biología Molecular y Genética, Basílica-CIITT de la Universidad Católica de Cuenca.





**Remoción atraumática de caries dental con gel de babaco**

Se imprimió en la ciudad de Cuenca, Ecuador, en el mes  
de diciembre de 2024, en la Editorial Universitaria  
Católica (EDUNICA), con un tiraje de 100 ejemplares.



