



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

**INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA  
DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA  
ESTUDIO IN VITRO**

**Autor (es):** Puente Gerardo CI 25519215  
Quintero Moisés CI 24244932

**Tutora de Contenido:** Prof. Roba Izzeddin

Bárbula, Noviembre 2022



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

**Estructura de investigación:** UNIMPA  
**Área:** Salud pública y bioética  
**Línea de Investigación:** Biología y Salud  
**Temática:** Patología General y Bucal  
**Subtemática:** Caries Dental y Tratamiento

**INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA  
DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA  
ESTUDIO IN VITRO**

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de odontólogo

**Autor (es):** Puente Gerardo CI 25519215  
Quintero Moisés CI 24244932

**Tutora de Contenido:** Prof. Roba Izzeddin

Bárbula, Noviembre 2022



## ACTA DE APROBACIÓN

Cód.: TGPr-2022-31

Período: 2022

Los suscritos, profesores de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, por medio de la presente hacemos constar que el Trabajo de Grado titulado:

INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA  
ESTUDIO IN VITRO

Elaborado y Presentado por:

Gerardo José Punte Colmenarez

C.I.: V-25.519.215

Moisés Salvador Quintero Peñarrubia

C.I.: V-24.244.932


Estudiante(s) de esta Facultad, reúne los requisitos exigidos para su ser considerado como:

Aprobado


Aprobado con Mención de Excelencia

**JURADO**

  
Prof.ª Roba Izzeddin  
C.I.: V-15.398.614  
Tutor de Contenido  
Coordinador

  
Prof.ª Nubia Brito  
C.I.: V-7.102.756  
Metodología de Investigación  
Asesor Metodológico



  
Prof.ª Tibisay Matheus Lobo  
C.I.: V-10.106.854  
Jurado Evaluador

En Valencia, a los 25 días del mes de noviembre del 2022.






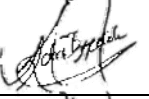
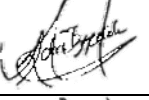


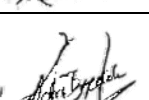
UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

**CONTROL DE ASESORÍA DEL TUTOR DE CONTENIDO**

**NOMBRE Y APELLIDO DEL ESTUDIANTE:** Gerardo Puentes

**NOMBRE Y APELLIDO DEL ESTUDIANTE:** Moisés Quintero

**NOMBRE Y APELLIDO DEL TUTOR:** Roba Izzeddin

Nº	FECHA	FIRMA DEL TUTOR	OBSERVACIONES
	02/3/20		Primera reunión y discusión de la temática.
	2/5/20		Diseño y elaboración del capítulo I y II
	3/3/21		Diseño y elaboración del capítulo III.
	28/5/22		Discusión de la factibilidad de la fase experimental.
	8/6/22		Planificación de la fase experimental.
	15/8/22		Elaboración de protocolos de la fase experimental.
	16/9/22		Inicio del experimento, y realización de las primeras mediciones.
	7/10/22		Diseño y elaboración del capítulo IV.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

**CARTA DE ACEPTACIÓN DEL TUTOR DE CONTENIDO**

Yo, Roba Izzeddin, Titular de la Cédula de Identidad N° 15.398.614, de Profesión Odontología.

Por la presente hago constar que acepto asesorar en calidad de Tutor el Trabajo Final de Investigación elaborado por el (la) Ciudadano(a):

- 1.) Puente Colmenarez Gerardo José C.I.: V-25.519.215
- 2.) Quintero Peñarrubia Moisés Salvador C.I.: 24.244.932

Cuyo Título es: Inhibición De Las Metaloproteinas Presentes En La Matriz De La Dentina A Través Del Extracto De Vitis Vinifera. Estudio In Vitro.

Dicha tutoría comprende desde la elaboración del Proyecto de Investigación hasta la presentación y entrega del Trabajo Final.

En Bárbula, a los 2 días del mes de Marzo del 2020

Firma:  \_\_\_\_\_

C.I.: 15.398.614



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

### ACTA DE APROBACIÓN

En carácter de Tutoras del Trabajo Final de Investigación Titulado: **“INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA. ESTUDIO IN VITRO”**. Estudio realizado por los Ciudadanos: Puente Gerardo C.I.: 25.519.215 y Quintero Moisés C.I.: 24.244.932, para optar al Grado de Odontólogo de la Universidad de Carabobo, consideramos que dicho trabajo de investigación reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del jurado examinador que se designe.

En Bárbula, a los 12 días del mes de Octubre de 2022.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Roba Izzeddin', is written over a horizontal line.

**Prof. Roba Izzeddin**

**Tutora de Contenido**

## **Dedicatoria**

Mis Padres Orlando y Pilar por haber sido mi apoyo incondicional en todo el trayecto de mi vida y como estudiante de pregrado, sin ellos nunca hubiesen conseguido culminar esta etapa de mi vida.

A mi compañera Laura Bustos por toda su ayuda incondicional en todo mi trayecto universitario, gracias por haberme ayudado cuando más lo necesitaba, y por haber estado en mis peores momentos, sin ti tampoco este sueño lo habría alcanzado.

A mis compañeros de clases desde el primer día Gerardo, Luisa, Marien, José y las demás personas que luego conocí a través de mi camino por pregrado a Alejandro, Saddy, Paola y Vanessa, gracias por todas las guías que me facilitaron, gracias por las veces que me quede sin material y me regalaron un poco del de ustedes, gracias por las veces que me dieron la cola en sus vehículos, por las veces que me ayudaron a levantarme y sirvieron como mi apoyo, por todas las risas; y los lindos y amargos momentos que vivimos juntos, gracias por haber hecho un poco más placentero el camino que decidimos recorrer.

**Moisés Quintero**

A mis padres Olinda y Gerardo, principalmente a mi madre por ser mi principal apoyo y pilar en este camino y a lo largo de mi vida, eres la mujer más fuerte que he conocido y que admiro en el mundo, gracias por inspirarme a ser mejor cada día, por tus principios y valores que formaron el hombre que soy hoy en día. A ambos, los amo muchísimo y dedico esta meta a su esfuerzo, confianza y dedicación brindada a mí.

A mis abuelos Giomar +, Altamira y Gerardo, quienes marcaron diferentes momentos de mi vida, y estoy seguro que disfrutarían la felicidad que alcanzo al cumplir mis metas, espero enorgullecerlos.

A mi familia, hermanos: Luis y Claudia; tíos: Mercedes, Fiorella, José, Altamira, Beatriz, Francisca, María, Guillermo y Tibisay; primos: Virginia, Nohelia, Ana, María, Ramsey, José y Gabriel; Padrastrros: Daniel y Geomaite.

A mis amigos Moisés, Luisa, Alejandro, Marien, Vanessa, Oriana, José, Zailyn, Josbehandry, Daniela, Laura, quienes me apoyaron, guiaron e inspiraron en luchar hasta alcanzar esta meta, sin ustedes no estaría donde estoy. Iniciamos como compañeros de clase, y terminaron marcando mi vida.

A Adrianyelit Virgüez, por brindarme todo el apoyo, motivación y fortaleza que necesitaba en los momentos más difíciles de este camino, por nunca perder la fe en mi incluso en los momentos de mayor desesperación. Espero siempre ser fuente de inspiración y felicidad para ti, así como lo has sido para mí.

**Gerardo José Puente Colmenarez**



## **Agradecimientos**

Agradecemos primeramente a Dios, la Virgen María y a San Juan María Vianney por acompañar y guiarnos en cada paso de nuestras vidas, y brindarnos la fortaleza, sabiduría y consejo para hacer realidad todas nuestras metas.

A Dios que me ha acompañado en cada etapa de mi vida, por ayudarme a encontrar ese propósito que define mi caminar, por llenarme de sabiduría durante toda la carrera y llenarme de fuerza para alcanzar la meta.

Especialmente a nuestras tutoras la profesora, Nubia Brito y Roba Izzeddin, por habernos prestado su ayuda incondicional en todo momento, agradecemos por haber tenido Fe de que éramos capaces de hacer cumplir nuestras metas y el de siempre motivarnos a la realización de nuestro proyecto final de grado.

Al increíble equipo multidisciplinario que nos ayudaron a la finalización y el éxito del proyecto, al profesor Aaron Muñoz porque toda su ayuda y consejos sobre el área de física pura, a la profesora Graciela Nicita por su gran apoyo antes y durante la realización del experimento, al Dr. Luis Emilio Díaz por haber creado los materiales químicos para la realización del proyecto, al personal del IIMBUC por su acompañamiento y confianza en nuestra investigación.

A la Universidad de Carabobo y Facultad de Odontología por ser nuestro segundo hogar en esta larga y maravillosa experiencia de formarnos como profesionales, siempre con la premisa de ser los mejores en cada paso.

A nuestros observadores, pacientes, amigos y familiares, por ser parte de este largo, difícil pero hermoso esfuerzo, y se nuestro motor en miles de ocasiones.

## INDICE GENERAL

<b>INDICE GENERAL .....</b>	<b>10</b>
<b>LISTA DE CUADROS .....</b>	<b>13</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>15</b>
<b>Introducción .....</b>	<b>16</b>
<b>Capítulo 1.....</b>	<b>17</b>
<b>El Problema .....</b>	<b>17</b>
Planteamiento Del Problema .....	17
Objetivo General.....	20
Justificación de la Investigación.....	21
<b>Capítulo II.....</b>	<b>23</b>
<b>Marco Teórico .....</b>	<b>23</b>
Antecedentes De La Investigación .....	23
Bases Teóricas .....	29
Estudios Espectroscópicos o Colorimétricos.....	45
Procedimiento y Análisis de Imágenes.....	49
Bases Legales: .....	52
Hipótesis .....	55

<b>Capítulo III.....</b>	<b>58</b>
<b>Marco Metodológico .....</b>	<b>58</b>
Tipo y diseño de investigación .....	58
Población y Muestra .....	59
Criterios de inclusión:.....	60
Criterios de exclusión:.....	60
Técnicas e Instrumentos de Recolección de Información .....	60
Validez y Confiabilidad.....	62
Procedimiento .....	62
Consideraciones Bioéticas:.....	64
<b>Capítulo IV .....</b>	<b>66</b>
<b>Resultados y Conclusiones .....</b>	<b>66</b>
Discusión .....	81
Conclusiones.....	86
Limitaciones .....	86
<b>Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>91</b>
<b>Anexo A.....</b>	<b>97</b>
Instrumento de Recolección de Datos .....	97
<b>Anexo B.....</b>	<b>99</b>
CONSTANCIA DE VALIDACIÓN.....	101

<b>Anexo C.....</b>	<b>102</b>
CONSTANCIA DE VALIDACIÓN .....	104
<b>Anexo D.....</b>	<b>105</b>
CONSTANCIA DE VALIDACIÓN .....	1074
<b>Anexo E.....</b>	<b>108</b>
Carta de permisología – PP Integral del Adulto II .....	108
<b>Anexo F .....</b>	<b>108</b>
Carta de permisología - IIMBUC .....	1118
<b>Anexo G.....</b>	<b>112109</b>
Carta de permisología - Dirección de Escuela.....	11209
<b>Anexo H.....</b>	<b>113</b>
Constancia de la Unidad de Investigación Morfopatológicas .....	1130
<b>Anexo I.....</b>	<b>115</b>
Constancia de la Comisión de Bioética .....	11211
<b>Anexo J.....</b>	<b>1153</b>
Consentimiento Informado .....	11213
<b>Anexo K.....</b>	<b>1154</b>
Almacenamiento De las muestras.....	115
Procesamiento de las Muestras.....	115

## LISTA DE CUADROS

<b>CUADRO</b>		<b>pp.</b>
<b>1</b>	Tabla de Ficha Técnica de Solución de Extracto de <i>Vitis vinifera</i> .....	44
<b>2</b>	Tabla de Ficha Técnica de Saliva Artificial.....	45
<b>3</b>	Tabla de Ficha Técnica del Software ImageJ.....	52
<b>4</b>	Tabla de Operacionalización de Variables.....	56
<b>5</b>	Resultados colorimétricos de las coordenadas L* en la muestra N°1 de cada grupo....	66
<b>6</b>	Resultados colorimétricos de las coordenadas L* en la muestra N°2 de cada grupo....	68
<b>7</b>	Resultados colorimétricos de las coordenadas L* en la muestra N°3 de cada grupo....	69
<b>8</b>	Resultados colorimétricos de las coordenadas L* en la muestra N°4 de cada grupo....	71
<b>9</b>	Resultados colorimétricos de las coordenadas L* en la muestra N°5 de cada grupo....	72
<b>10</b>	Resultados colorimétricos de las coordenadas L* en la muestra N°6 de cada grupo....	74
<b>11</b>	Resultados colorimétricos de las coordenadas L* de todas las muestras de cada grupo....	75
<b>12</b>	Resumen del procedimiento H de Kruskal-Wallis de dependencia de la variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L* 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en los dientes permanentes según el grado de concentración de la solución.....	78



UNIVERSIDAD DE CARABOBO

Facultad De Odontología  
Departamento De Formación Integral Del Hombre  
Metodología De Investigación

**INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA  
DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA.**

**ESTUDIO IN VITRO**

**Autor(es):** Puente C. Gerardo J.

Quintero. P. Moisés S.

**Tutor(a) de Contenido:** Roba Izzeddin

**Línea de Investigación:** Biotecnología

**Fecha:** Noviembre 2022

**RESUMEN**

El presente trabajo fue una investigación de tipo cuantitativa descriptiva con un diseño experimental, el cual tiene como objetivo general comprobar que la solución de extracto de Vitis vinifera inhiba la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs) en las concentraciones 25%, 50% y 75%. La muestra a seleccionar fue no probabilística intencional o por conveniencia basado en 6 unidades dentarias, 24 grupos de estudio, que cumplieron con los criterios de selección, como los requisito bioético de permisología y consentimiento informado. Como técnica de recolección de datos se empleó la observación y como instrumento una guía de observación. Resultados, las MMPs poseen una actividad proteolítica en la matriz de dentina, la cual es inhibida por la solución de extracto de Vitis vinifera al realizar el análisis colorimétrico y automatización mediante el uso del software ImageJ. De esta manera la conclusión que se destaca que la concentración de 25% posee mayor capacidad inhibitoria en comparación con los otros grupos tratados a nivel descriptivo. No obstante el análisis de varianza afirma que la inhibición presentada es independiente del porcentaje de concentración, por lo que la capacidad inhibitoria de la solución es independiente de su porcentaje de concentración. Certificado bioético N°: Tg-17-2022

**Palabras Clave:** Metaloproteinas, Vitis Vinifera, Dentina, Matiz dentinaria, Caries.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
Facultad De Odontología  
Departamento De Formación Integral Del Hombre  
Metodología De Investigación

**INHIBITION OF METALLOPROTEINS PRESENT IN DENTIN MATRIX BY VITIS  
VINIFERA EXTRACT.  
IN VITRO STUDY**

**Author(s):** Puente C. Gerardo J.  
Quintero. P. Moisés S.

**Content Tutor:** Roba Izzeddin

**Line of Research:** Biotechnology

**Date:** November 2022

**ABSTRACT**

The following work is a quantitative descriptive research with an experimental design whose general objective is to verify that the *Vitis vinifera* extract solution inhibits the degradation of the dentin matrix by metalloproteins (MMPs) at concentrations of 25%, 50%, and 75%. The sample was selected through a non-probabilistic purposive sampling method, based on 6 dental units and 24 study groups that met the selection criteria. The data collection technique was observation and an observation guide was used as an instrument. Results show that MMPs have a proteolytic activity in the dentin matrix, which is inhibited by the *Vitis vinifera* extract solution when performing the colorimetric analysis and automation using ImageJ software. The most outstanding conclusion reveals that the solution at a 25% concentration has a greater inhibitory capacity when compared to the other treated groups at a descriptive level. However, from the analysis of variance follows that the inhibition presented is independent of the concentration percentage, thus, the inhibitory capacity of the solution is independent of its concentration percentage.

**Key words:** Metalloproteins, *Vitis Vinifera*, Dentin, Dentinal matrix, Caries.

## Introducción

Múltiples estudios han demostrado una estadística significativa de restauraciones defectuosas que necesitaron ser reemplazadas producto de una caries secundaria, siendo mayor su porcentaje que en dientes con caries primaria, lo cual muestra la poca durabilidad de las restauraciones a través del tiempo, ya sea por lesiones cariosas o por el deterioro de las mismas, el cual crea en algunos pacientes un ciclo repetitivo de cambios de restauraciones por su fracaso, volviendo mucho más débil el tejido dentario remanente y restauraciones más extensas.

En tal sentido, investigaciones refieren que una enzima llamada metaloproteinasas (MMPs), juega un rol fundamental en dicho proceso. Debido a que posee una alta actividad proteolítica capaz de degradar las fibras de colágeno y desnaturalizar la matriz de dentina. Lo cual contribuye al desarrollo y avance de la caries en dentina, siendo un factor importante en el fracaso de las restauraciones.

Asimismo en los protocolos de los sistemas adhesivos actuales se ha comprobado que, compuestos ácidos como el ácido fosfórico al 37% activa la función catalítica de las metaloproteinasas (MMPs), iniciando un proceso de desnaturalización en la matriz de dentina afectando la capa híbrida creada por el sistema de adhesivos. Favoreciendo el deterioro de las restauraciones y disminuyendo su adhesión, resultando en un futuro fracaso en restauraciones con materiales resinoso, creando filtraciones en los márgenes y estimulando al desarrollo de la carie secundaria.

Por ende, en este presente estudio se plantea comprobar la capacidad inhibitoria de un extracto natural, compuesto de *Vitis vinífera* con respecto a las MMPs. Evaluando los cambios



físicos que se obtendrían con la aplicación de dicha solución mediante el estudio de colorimetría mediante el uso del microscopio y el software ImageJ.

## **Capítulo 1**

### **El Problema**

#### ***Planteamiento Del Problema***

De acuerdo al estudio de la Organización Mundial de la Salud (2016) ratifica que las enfermedades bucodentales afectan a la mitad de la población mundial (3580 millones de personas), en tal sentido, la caries dental en unidades permanentes cada día es la más prevalente. Aunado a esto, el avance de dicha patología sin ser tratada ocasiona alteraciones en las diferentes estructuras dentarias, entre ellas la pulpa dental y los tejidos mineralizados, las cuales son tratadas a través de tratamientos de operatoria para la eliminación de la misma y posteriormente proceder a restaurar la unidad dentaria.

Al respecto el Comité Internacional de Coordinación del Sistema de Evaluación y Detección de Caries (ICDAS), denomino que para el reconocimiento de toda lesión cariosa contigua a una restauración y/o sellantes, las siglas CARS (caries adyacente a restauraciones y sellantes). La caries secundaria es un detrimento que se forma adyacente a una restauración, a la vez que la caries primaria se desarrolla sobre una superficie dentaria no restaurada previamente, ambas lesiones se contemplan clínicamente y radiográficamente igual, la única distinción entre estas, es que la secundaria ocurre adyacente a una restauración (Figuroa-Gordon M., 2009).

Existen estudios que han demostrado que 46% de restauraciones realizada en boca, son por producto de caries primaria, mientras que 54% son por la sustitución de restauraciones defectuosas. La estrecha durabilidad de las restauraciones dentales, siendo por lesiones

secundarias o por el detrimento de las restauraciones, los pacientes terminan ingresando en ciclos constantes del tratamiento restaurador, creando dientes más lábiles y vulnerables, restauraciones más dilatadas y un aumento de la adaptación de medidas terapéuticas más actualizadas y difíciles (Carrillo C., 2012).

De esta manera, se ha demostrado que las Metaloproteinas (MMPs) pueden afectar el desarrollo del esmalte y el establecimiento de la caries dental. Relacionado con este proceso se encuentran las MMPs-2 y MMPs-20 que fragmentan la amelogenina, mayor proteína estructural que compone la matriz del esmalte, donde los odontoblastos son los responsables de secretar MMPs-2 en respuesta a la lesión cariosa (Pereira V. et al., 2016).

Con respecto a las metaloproteinas, otros estudios identificaron que están situadas en la matriz extracelular de la dentina, las cuales pueden desnaturalizar los componentes de la dentina y contribuir con la progresión de la caries en dentina. (Mazzoni A. et al., 2015).

En tal sentido, cuando se estudian materiales de restauración, específicamente respecto a la capa híbrida de los sistemas adhesivos actuales son inestables en medios acuosos por la degradación hidrolítica tanto del adhesivo resinoso como las fibras de colágeno, se ha demostrado que las proteasas endógenas de la matriz de la dentina pueden degradar las fibras colágenas expuestas con la capa híbrida si no se encuentra protegida por un adhesivo monomérico. Se considera a las MMPs como causantes de dicha degradación, cuando la dentina es parcialmente desmineralizada se activan las formas latentes de MMPs-2 MMPs-9. (Pereira V. et al., 2016)

De la misma manera Hidalgo R. (2006) señala que las MMPs poseen inhibidores endógenos del huésped (TIMPs), algunas provenientes del líquido crevicular. Los cuales

controlan el proceso carioso cuando existen concentraciones normales de MMPs, hasta que son mermados por el aumento de las MMPs provenientes de la saliva, restableciendo el proceso proteolítico y el avance de la caries en dentina.

Ante este hecho, dicho autor ha surgido la aplicación de inhibidores artificiales de MMPs en la superficie dentaria luego del proceso de grabado ácido o durante la aplicación del sistema adhesivo, promoviendo la integridad y estabilidad de la restauración durante un tiempo más largo. Entre estos se han sugerido la aplicación de clorhexidina 2% y al 0,2%. (Montagner A. F., et al., 2014)

Adicionalmente se han utilizado otro inhibidor artificial de MMPs que es el gluma (glutaraldehído al 5.0% y HEMA al 35% en agua) el cual dio excelentes resultados ayudando a preservar las interfaces adhesivas e inhibiendo las MMP endógenas. (Sabatini C. et al., 2014).

No obstante, en la actualidad es de preocupación global la gran resistencia que desarrollan los microorganismos ante fármacos antimicrobianos y como ellas ceden sus cargas genéticas evolucionadas a otras especies de microorganismos de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud [OMS] (2018).

Por ello diferentes investigaciones en amplios campos de la odontología se han enfocado en soluciones de extracto naturales como Soligo L. et al., (2018) quienes exploraron la semilla de la uva, científicamente llamada *Vitis vinifera* demostrando su capacidad bactericida, ante bacterias como el *Enterococcus fecalis* presente en diferentes patologías bucales.

Así mismo se estudió su efecto inhibitorio sobre ciertas MMPs, al aplicar una solución en extractos de *Vitis vinifera* como tratamiento previo en la dentina se demostró que limita el efecto de degradación de la dentina ocasionado por las diferentes MMPs (Khaddam M. et al., 2014).

En este orden de ideas una sustancia de compuesto natural será un nuevo obstáculo para los microorganismos, ya que no podrán crear resistencias a dichas soluciones aumentando las probabilidades del éxito post-tratamiento. Por consiguiente disminuyendo el gasto económico generado por los casos donde se presenta una reacción adversa por el uso de sustancias con bajo nivel de biocompatibilidad y el fracaso de tratamientos restauradores ineficientes ante las MMPs.

De todo lo anteriormente expuesto surge las interrogantes de: ¿Cuan eficaz es la Solución de *Vitis vinifera* como agente inhibidor la degradación de la matriz del esmalte por las MMPs? ¿Cuáles serían los beneficios de utilizar la solución de *Vitis vinifera* como un nuevo material restaurador?

### ***Objetivos de la Investigación***

#### ***Objetivo General***

Comprobar que la solución de extracto de *Vitis vinifera* inhiba la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs) en las concentraciones 25%, 50% y 75%.

#### ***Objetivos Específicos***

1. Establecer la actividad proteolítica de degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs).
2. Determinar la capacidad inhibitoria de la solución de extracto de *Vitis vinifera* en el proceso de degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs).
3. Comparar la inhibición de la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas In Vitro después de la aplicación de una solución de extractos de *Vitis vinifera* en las concentraciones 25%, 50% y 75%.

### ***Justificación de la Investigación***

Ante la presencia de prevalencia de caries recurrente post-tratamiento restaurado y estudios de la actividad de MMPs en el desarrollo de la caries dental, es necesario profundizar investigaciones en soluciones innovadoras que inhiban la degradación de la matriz por las MMPs con mejores propiedades biocompatibles y que puedan utilizarse en conjunto como coadyuvante de materiales restauradores.

Ciertamente en países con situaciones de crisis humanitaria compleja, tal como es el caso de Venezuela, se requiere una alternativa de material restaurador asequible en materia económica. De forma simultánea el profesional odontólogo dispondrá de una nueva herramienta en su clínica, maximizando su gama de opciones.

Entre estas alternativas se encuentra la solución del extracto de *Vitis vinifera*, donde se ha demostrado su eficacia bactericida contra la bacteria *Enterococcus fecalis* que es la especie etiológica principal en las afecciones endodónticas y periradiculares, así como también su actividad inhibitoria de la degradación de la matriz de la dentina por las MMPs. Sin embargo no se ha creado un material coadyuvante en el tratamiento restaurativo con la capacidad bactericida, biodisponible y que inhibida el desarrollo de la caries dental después del tratamiento restaurador.

Es por ello que surge la necesidad de realizar una investigación que contribuya en la línea de investigación biotecnología, que determine la eficacia de la solución de extracto de *Vitis vinifera* como agente artificial que inhiba la actividad de la MMPs en el desarrollo de la caries dental. De esta manera, así aportar un material coadyuvante en el tratamiento restaurador de carácter innovador con capacidades biocompatibles mayores y con una alta sensibilidad a los principales microorganismos presentes en las patologías bucales. Otro aspecto importante de

dicha investigación es aportar las bases para futuro proyecto en el campo odontológico con el fin de comprobar las diferentes propiedades de la solución de extracto de *Vitis vinifera* en campos como implantología, endodoncia y periodoncia.

De esta manera, la línea de investigación de Biotecnología perteneciente a la estructura de investigación UNIMPA contara con avances innovadores en su producción como unidad de investigación, siendo en consecuencia esta investigación de gran provecho para tan indispensable área de la Facultad de Odontología UC.

## Capítulo II

### Marco Teórico

#### *Antecedentes De La Investigación*

A continuación, se presentan diferentes investigaciones que se han realizado en múltiples niveles y años, vinculados directamente con el presente tema de investigación y servirán como guías en la línea de investigación.

En tal sentido, Pereira V. et al., (2016), en su investigación titulada “Metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPS) en odontología” estableció que las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) son una familia de 25 endopeptidasas zinc dependientes encargadas de escindir los componentes inmediatos de la matriz extracelular. Donde especialmente MMP-2 y MMP-9, se ven implicadas en el desarrollo del germen dental, así como con la proliferación e invasión de los tumores odontogénicos, siendo un factor a considerar sobre la posible agresividad tumoral y la base para el tratamiento de los mismos.

A su vez, ambas MMPs actúan en la progresión de las lesiones cariosas, así como en progresión de la periodontitis apical de pacientes con necrosis pulpar. Varios patógenos periodontales, promueven la secreción tanto de MMP-2 como MMP-9 favoreciendo la destrucción de los tejidos periodontales, íntimamente relacionadas con el avance de la enfermedad. En pacientes bajo tratamiento ortodóntico se encuentran altos niveles de estas MMPs, tanto en zonas de compresión como de tensión, relacionando los movimientos dentales con la renovación de los tejidos. Dicha revisión analiza su expresión y utilidad relacionándolas

con diferentes disciplinas en el área de las ciencias odontológicas, enfatizando su potencial como biomarcadores.

El trabajo de investigación realizado por Pereira V. et al., (2016) utilizó la metodología de una búsqueda electrónica de la literatura tanto en español como en inglés utilizando diferentes bases de datos, como lo fueron Science Direct, SciELO, Pubmed y Timbó (Portal de acceso a materiales ofrecido por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación de la República de Uruguay). Esta búsqueda se comprendió en el periodo entre los años 2005 y 2015, utilizando las siguientes palabras claves: “metaloproteinasas; matriz extracelular, odontología, matrix-metaloproteinasas, extracellular-matrix, dentistry”. Donde se seleccionaron un total de 29 artículos de los últimos 6 años para desarrollar el trabajo de investigación.

De igual manera, Hidalgo R., (2006), en su revisión titulada “Las metaloproteinasas y el progreso de la lesión cariosa en dentina” plantea que tradicionalmente se ha entendido a la caries como un proceso desmineralizante de los tejidos dentales, donde el progreso es dependiente de bacterias que degradan carbohidratos y alteran el equilibrio químico de las superficies dentales. De hace unas décadas a la actualidad, la investigación de tipo histomolecular ha revelado la notable injerencia del sistema inmune enzimático del huésped como un coadyuvante en el progreso de las lesiones cariosas, especialmente las metaloproteinasas. Por medio de esta investigación se direcciona a un nuevo entendimiento de la caries como enfermedad y abrirán nuevas posibilidades de prevención y tratamiento del proceso, y de las lesiones en un futuro cercano.

Por otro lado, Montagner AF. et al., (2014) por medio de su trabajo titulado “Inhibidores de MMPs sobre la estabilidad de la dentina” realizaron una revisión sistemática sobre estudios



que evaluaron el efecto de los inhibidores de las metaloproteinasas de matriz (MMP) durante el procedimiento adhesivo sobre la resistencia de la unión resina-dentina inmediata y a largo plazo. La búsqueda se realizó en 6 bases de datos sin año de publicación o límites de idioma, siguiendo la declaración de elementos de informes preferidos para revisiones sistemáticas y metaanálisis (PRISMA). De 1.336 estudios, 48 fueron seleccionados para el análisis de texto completo, y 30 fueron incluidos para su revisión, con 17 considerados en el metanálisis. Dos revisores seleccionaron de forma independiente los estudios, extrajeron los datos y evaluaron el riesgo de sesgo.

El inhibidor de MMP más utilizado fue la clorhexidina (CHX). Los resultados inmediatos de la resistencia de la unión no mostraron diferencias entre el 2% de CHX y el control; sin embargo, se encontró una diferencia entre el 0,2% de CHX y el control al inicio del estudio. Luego de la maduración, CHX presentó valores de fuerza de unión más altos en comparación con los grupos de control ( $p < .05$ ). No obstante, esto no se observó durante períodos más largos de maduración. Se encontró alta heterogeneidad en algunas comparaciones, especialmente para el subgrupo de maduración del almacenamiento de agua. Los análisis de subgrupos mostraron que los adhesivos de autograbado, y de grabado y enjuague se benefician con el uso de CHX. De los estudios incluidos, solo 1 presentó bajo riesgo de sesgo, mientras que los otros mostraron riesgo de sesgo medio o alto. El uso de inhibidores de MMP no afectó la fuerza de enlace inmediata en general, mientras que influyó en la fuerza de enlace madurada. Los procedimientos de maduración influyeron en los valores de resistencia de la unión de la estabilidad de adhesión de la dentina.

Así mismo Sabatini C. et al., (2014) por medio de su investigación “Inhibición de mmp de dentina humana endógena por gluma” planteo determinar si el desensibilizador de dentina

Gluma (glutaraldehído al 5.0% y HEMA al 35% en agua) puede inhibir las MMP endógenas de las matrices de dentina en 60 segundos, evaluar su efecto sobre la rigidez de la matriz de dentina y peso seco.

Se obtuvieron haces de dentina de  $2 \times 1 \times 6$  mm de la dentina coronal extraída de los terceros molares humanos, para medir la influencia del tiempo de tratamiento con Gluma en la actividad MMP total de la dentina, los haces se sumergieron en ácido fosfórico (PA) al 37% durante 15 segundos, y luego enjuagado en agua. Los haces grabados con ácido se sumergieron luego en Gluma durante 5, 15, 30 o 60 segundos, se enjuagaron en agua y se incubaron en sustrato genérico SensoLyte MMP (AnaSpec, Inc.) durante 60 minutos. Los controles se sumergieron en agua durante 60 segundos, vigas adicionales de  $1 \times 1 \times 6$  mm fueron completamente desmineralizadas en 37% PA durante 18 h, enjuagadas y utilizadas para evaluar los cambios en el peso seco y el módulo de elasticidad (E) después de 60 segundos del tratamiento con Gluma seguido de incubación en tampón de fluido corporal simulado durante cero, una o cuatro semanas y se midió por flexión de 3 puntos.

Los resultados afirman que el tratamiento con Gluma inhibió la actividad total de MMP de la dentina grabada con ácido en un 44, 50, 84, 86% después de 5, 15, 30 o 60 segundos de exposición, respectivamente. Todos los haces de dentina completamente desmineralizados perdieron rigidez después de 1 y 4 semanas, sin diferencias significativas entre el control y la dentina tratada con Gluma. Tratamiento con gluma durante 60 segundos demostró significativamente menos pérdida de masa seca que el control después de cuatro semanas. Concluyendo que el uso de Gluma puede contribuir a la preservación de las interfaces adhesivas por sus propiedades de reticulación e inhibitorias de las MMP de dentina endógena.

Adicionalmente otra investigación ha demostrado que las Metaloproteínas de matriz (MMP) contribuyen con la progresión de la caries en dentina, Khaddam M. et al., (2014) realizaron una investigación cuyo objetivo era evaluar la capacidad de un enjuague bucal GSE para prevenir la degradación de la matriz de dentina desmineralizada por MMP-3 (estromelisin-1). Mediante bloques estandarizados de dentina obtenidos de dientes permanentes sanos extraídos por razones de ortodoncia se desmineralizaron con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y se pre-trataron con (A) GSE (0.2% p / v), (B) fluoruro de amina (AmF) (20% p / v), (C) un enjuague bucal que contiene ambos, (D) placebo, (E) fluoruro de sodio ( $0.15 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), (F) PBS, (G) Digluconato de clorhexidina (CHX), o (H) cloruro de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ). Los bloques de dentina se incubaron luego con MMP-3 recombinante activado. Los sobrenadantes fueron analizados por Western Blot para varias proteínas de matriz de dentina conocidas por ser sustrato MMP-3. Paralelamente, se realizó microscopía electrónica de barrido (SEM) en una réplica de resina de los bloques de dentina.

Donde el análisis de Western blot de los sobrenadantes reveló que MMP-3 liberaba de la matriz de dentina pequeños proteoglicanos (decorina y biglycan) y sialoproteína de dentina (DSP) en los grupos pre-tratados con AmF, fluoruro de sodio, PBS y placebo, pero no en el GSE y grupos pre-tratados con enjuague bucal. El examen SEM de la réplica de resina mostró que el enjuague bucal y sus componentes activos no solo tenían una acción anti-MMP sino que también modificaban la accesibilidad de la superficie de la dentina. Concluyendo que GSE solo o combinado con AmF como en el enjuague bucal evaluado limita la degradación de la matriz de dentina. Esta asociación puede ser prometedora para prevenir la progresión de la caries dentro de la dentina. Sin embargo, el procedimiento debe adaptarse a duraciones clínicamente relevantes.

Asimismo, Dang La V., et al., (2009) investigaron el efecto del extracto de semilla de uva (GSE) en la secreción de MMP por macrófagos derivados de monocitos humanos estimulados con lipopolisacárido (LPS) de *Aggregatibacter actinomycetem comitans* y en la actividad de MMP - 1 y -9 recombinante humano. Donde los macrófagos se trataron con diversas concentraciones de GSE antes de ser estimulados con LPS de *A. actinomycetem comitans*, la secreción de MMP y la activación del factor nuclear kappa B (NF  $\kappa$ B) p65 y la proteína activadora - 1 (AP - 1) se evaluaron mediante un ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas (ELISA). El efecto de GSE sobre la actividad catalítica de MMP - 1 y -9 humano recombinante se probó mediante ensayos fluorogénicos.

Demostrando que el GSE inhibió la secreción de MMP-1, -3, -7, -8, -9 y -13 por los macrófagos estimulados por LPS de una manera dependiente de la concentración. La supresión de la secreción de MMP se asoció con la inhibición de la activación de NF -  $\kappa$ B p65 y AP - 1. Además, el GSE inhibió de forma dependiente de la dosis la actividad de MMP-1 y -9. Concluyendo de esta manera que el GSE puede ser potencialmente utilizado en el desarrollo de nuevas estrategias de modulación del huésped para el tratamiento de trastornos mediados por MMP como la periodontitis.

En otro aspecto se evidencia que el GSE se ha utilizado en otras áreas de la odontología como Soligo L. et ál., (2018) realizaron una investigación titulada: “Eficacia antibacteriana de soluciones de irrigación endodóntica novedosas sintéticas y naturales”. Dicho estudio comparativo, descriptivo in vitro cuyo objetivo fue comparar la eficacia de GSE, Ca (ClO) 2 y NaOCl en combinación con instrumentos rotativos o alternativos para la desinfección de los conductos radiculares inoculados con *E. faecalis*, dichos autores refieren que el hipoclorito de sodio (NaOCl) es el irrigante más utilizado ya que posee un amplio espectro antimicrobiano y su

acción solvente sobre el tejido orgánico. También presenta una propiedad durante la exposición del foramen apical y los tejidos periapicales a esta solución, a menudo puede causar efectos lesivos, tóxicos en los tejidos vitales y el debilitamiento de la estructura dentinaria. El hipoclorito de calcio  $[Ca(OCl)_2]$  se usa comúnmente para la esterilización industrial y la purificación de agua.

Cabe destacar que este agente tiene la capacidad de promover la disolución de tejidos blandos similar a NaOCl y muestra actividad antibacteriana contra *E. faecalis*, pero no existen estudios que evalúen la capacidad del Ca (OCl) para eliminar *E. faecalis* en los conductos radiculares utilizando técnicas de preparación con un número reducido de instrumentos como PTN y Reciproc. En conclusión, esta última investigación aporta una novedosa y sintética solución irrigadora eficaz contra el *E. Faecalis*, en el área de endodoncia.

### ***Bases Teóricas***

#### ***Estructura Dentaria***

**Esmalte.** El esmalte es el tejido más duro y calcificado del organismo, recubre a la dentina y está expuesto al medio bucal, formando la corona anatómica de los dientes. Formado casi íntegramente por hidroxiapatita, una sal de fosfato de calcio (apatita) con iones hidroxilo u oxidrilo (OH<sup>-</sup>), con muy poco contenido orgánico (Farias F., Falótico G., 2014). Asimismo, está constituido en peso por 95% de componentes inorgánicos, fundamentalmente cristales de apatita en forma hidroxilo, fluoruro, carbonatada, y 5% de agua y material orgánico (Ureña, 2004).

**Complejo Dentino-Pulpar.** El complejo Dentino-Pulpar se estudia como conjunto, comparten un mismo origen embriológico. Por lo cual son considerados una unidad funcional (Canalda, 2014).

**Dentina.** Se ubica inmediatamente debajo del esmalte, está compuesta por hidroxiapatita pero en menor cantidad que el esmalte, con mayores fibras colágenas y otros componentes orgánicos (proteínas). Se caracteriza por contener en su interior múltiples canalículos dentinarios, cada uno de ellos ocupados por prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos y recorren toda la dentina hasta el límite amelodentinario a nivel de la corona o hasta el límite cemento-dentinario a nivel de la raíz.

Farías y Falótico (2014) establecen que su función es la nutrición dentinaria o recambio iónico dentinario, así mismo mencionan que la pre-dentina es una dentina recién formada en vías de calcificación y se encuentra debajo de la dentina y adyacente a la periferia de la pulpa. Está constituida en peso por un 70% de material inorgánico, 20% de material orgánico, principalmente colágeno y un 10% de agua (Ureña, 2004).

Respecto a su estructura la dentina está conformada por túbulos dentinarios que la atraviesan y por una matriz o dentina intertubular.

- Túbulos dentinarios: Estructuras cilíndricas y huecas que se extienden desde la pulpa hasta el límite amelodentinario, delimitadas por la dentina peritubular, de espesor variable. Tienen un trayecto de “s” itálica que se conoce como curvaturas primarias o mayores, de convexidad coronaria en la corona, en la raíz la curvatura es menos pronunciada y de convexidad apical, mientras que en el ápice los túbulos suelen ser rectos.

Los túbulos muestran ramificaciones bifurcándose en sus extremos en la dentina superficial o en el manto. En su interior existen prolongaciones de los

dentinoblastos, así como fibras nerviosas amielínicas, fibras colágenas y algunos cristales de hidroxiapatita.

- Dentina intertubular: Menos mineralizada, está constituida por una trama tridimensional de fibras colágenas sobre las que se depositan los cristales de hidroxiapatita.

De acuerdo a Canalda (2014), según las características la dentina se distingue en los siguientes tipos:

- Dentina primaria: Se forma los primeros estadios del desarrollo embriológico hasta que el diente se pone en contacto con el antagonista, es decir, entra en oclusión. En ella se distingue la dentina del manto y la dentina circumpulpar.
- Dentina secundaria o regular: Se forma durante toda la vida del diente una vez este se pone en contacto con el antagonista. Condiciona progresivamente la disminución de la cámara pulpar y los conductos radiculares.
- Dentina terciaria o reparativa: Se forma tras agresiones externas, y su espesor depende de la duración e intensidad del estímulo. Se caracteriza por poseer túbulos dentinarios irregulares y tortuosos.

**Pulpa.** De acuerdo a Farías y Falótico, (2014); la pulpa es el único tejido conectivo laxo no calcificado de los dientes, y está formado por:

1. Odontoblastos: Múltiples células con largas prolongaciones que se alinean en su periferia y cuyas funciones son generar dentina para proteger la pulpa.
2. Células de origen mesenquimatoso: Poseen poder regenerativo que pueden transformarse en cualquier tipo de célula que se requiera.

3. Fibroblastos: Se especializan en formar fibras, de colágeno y elásticas.
4. Arteriolas, Vénulas y Vasos linfáticos que entran al espacio pulpar por el foramen apical.

Canalda (2014) establece la estructura de la pulpa esta diferenciado, donde se presentan 4 áreas:

- Zona de dentinoblastos: Es la más superficial de la pulpa, constituida por una capa de células (dentinoblastos) que se disponen formando una empalizada. Los mismos presentan el cuerpo de la pulpa, mientras que las prolongaciones se localizan en el interior de los túbulos dentinarios.
- Zona Subdentinoblástica (Acelular): Zona por debajo de la capa de dentinoblastos, que se observa en la pulpa de la cámara pulpar y no existe en los conductos radiculares.
- Zona Rica en Células: En esta zona se encuentran numerosas células ectomesenquimatosas y fibroblastos que producen las fibras de Von Korff.
- Zona Central de la pulpa: Está constituida por un tejido laxo constituido fundamentalmente por células ectomesenquimatosas, macrófagos de localización perivascular y fibroblastos, entre otras.

Así mismo al referirnos a las diferentes funciones del tejido pulpar, se comprenden las siguientes:

- Formativa: No se contempla solamente durante el desarrollo embrionario, sino durante toda la vida del diente con la formación de dentina secundaria fisiológica o en situaciones patológicas de dentina secundaria reparativa.



- Nutritiva: Corre a cargo de los vasos sanguíneos existentes en la pulpa y que penetran, fundamentalmente por el foramen apical.
- Sensitiva: Corresponde a los 3 posibles mecanismos de sensibilidad dentinaria que estimulan las fibras de la pulpa.
- Protección: La pulpa realiza la protección mediante la formación de dentina secundaria reparativa o por las células propias del tejido conectivo que responden ante el proceso infeccioso o no (Canalda, 2014).

### *Fisiopatología de las estructuras dentarias*

**Caries Dental.** Definida por Willoughby Dayton Miller (citado por Farías y Falótico, 2014) uno de los primeros en estudiar la Caries dental, determinando la naturaleza microbiana de la caries, con génesis en la producción de ácidos por parte de microorganismos acidógenos propios de la cavidad bucal. Sin embargo, en Paul Keyes estableció su triada o grafico donde presenta 3 factores que convergen en la génesis:

1. Microorganismos Acidógenos
2. Sustratos o azúcar fermentable en la dieta
3. Hospedador o Diente susceptible

Sin embargo, Farías y Falótico (2014), Ureña (2004), Duque J., et al., (2006) y Jiménez R. et al (2016) definen la caries dental como una enfermedad infecciosa, dinámica, crónica, compleja, transmisible, muy prevalente en el ser humano, caracterizada por destrucción localizada de los tejidos duros dentales, por acción de los ácidos producidos por los depósitos microbianos adheridos a los dientes. Se agrega además el el factor tiempo, ya que los ácidos requieren permanecer en contacto con el esmalte para que se produzca la descalcificación.

Adicionalmente se agrega un desequilibrio bioquímico entre la sustancia dental y el fluido de la placa circundante, lo que ocasiona una pérdida de mineral de la superficie dental, cuyo signo es la destrucción localizada de los tejidos duros.

***Proceso bioquímico de formación de la caries.*** El proceso inicia con la formación de biopelícula o placa dental, quien corresponde a una entidad bacteriana proliferante con actividad enzimática que se adhiere firmemente a las superficies dentarias, siendo propuestas con el agente etiológico principal de la caries dental. La composición de la biopelícula varía según el tiempo de maduración y la región de la pieza dentaria colonizada.

Numerosos estudios muestran que la biopelícula adquirida del esmalte se forma en no más de dos horas en una superficie dental limpia se le denomina cutícula temprana o película temprana, carece de microorganismos y sus productos están formados por proteínas y glucoproteínas. La capa formada por microorganismos y polímeros extracelulares, en la colonización inicial de las superficies dentarias, y en su desarrollo y multiplicación son varios los mecanismos que intervienen dentro de la biopelícula o placa dental: adherencia de la biopelícula adquirida, colonización primaria agregación interbacteriana y multiplicación.

Respecto a la adherencia a la biopelícula adquirida, una vez establecida la película, la falta de higiene oral adecuada se depositan las primeras colonias bacterianas específicas, especialmente *Streptococcus sanguis*. La existencia de cargas negativas sobre las bacterias y las glucoproteínas dificultan las uniones entre ambas, pero los iones de calcio presentes en la saliva pueden neutralizar las cargas y actuar como puentes entre la película y las bacterias.

Posteriormente se presenta la colonización secundaria, y maduración dependerá exclusivamente de la sacarosa y de la síntesis extracelular de polímeros de glucosa y fructosa. En

presencia de sacarosa *Streptococcus mutans* sintetizan polisacaridos extracelulares que actúan como adhesivos extracelulares para unirlos entre si y al diente. A medida que la biopelícula crece se observa un cambio en los tipos morfológicos de las bacterias presentes en ella.

Asimismo, en cuanto a la multiplicación de la colonización secundaria al principio de la biopelícula está formada por cocos Gram positivos, pero con posterioridad se desarrolla una compleja población de cocos, bacilos y filamentos gram positivos. Las condiciones acidógenas creadas por los colonizadores primarios facilitan el desarrollo de diferentes microorganismos como *Veillonella* y *Lactobacillus*, que prefieren un medio ácido para su desarrollo. Los hidratos de carbono son desdoblados por la vía glucilítica y se obtienen ATP, CO<sub>2</sub>, ácido láctico y en menor cantidad otros ácidos orgánicos como el acético y el butírico. Estos ácidos van a producir la desmineralización de los cristales de hidroxiapatita y así se iniciará el proceso carioso (Barrancos, J. Mooney P., 2015).

Cuando se habla de virulencia de un microorganismo, se está haciendo referencia a su capacidad de producir daño, en el caso del *Streptococcus mutans*, los más involucrados en la producción de caries son:

1. *Acidogenicidad*: Puede fermentar los azúcares de la dieta para producir principalmente ácido láctico como producto final del metabolismo. En consecuencia, baja el pH y se desmineralice el esmalte dental.
2. *Aciduricidad*: Es la capacidad de producir ácido en un medio con pH bajo.
3. *Acidofilicidad*: El *Streptococo mutans* puede resistir la acidez del medio bombeando protones (H<sup>+</sup>) fuera de la célula.

4. Síntesis de glucanos y fructanos: Por medio de enzimas como glucosil y fructosiltransferasas (GTF y FTF), se producen los polímeros glucano y fructano, a partir de la sacarosa.
5. Síntesis de polisacáridos intracelulares, como el glucógeno: Sirven como reserva alimenticia y mantienen la producción de ácido durante largos períodos.
6. Producción de dextranasa: Además de movilizar reservas de energía, esta enzima puede regular la actividad de las glucosiltransferasas removiendo productos finales de glucano. (Duque J., et al., 2006).

Adicionalmente en el proceso de formación de la caries, se ha evidenciado que las metaloproteínas (MMPs) afectan el desarrollo del esmalte y contribuyen a la formación de la caries dental. Donde los odontoblastos se encargan de secretar MMPs-2 ante la respuesta a una lesión cariosa (Pereira V. et ál., 2016).

Al igual que Mazzoni A et ál., (2015) determinaron que las MMPs ubicadas en la matriz extracelular de la dentina logran desnaturalizar los componentes presentes en la misma favoreciendo el desarrollo de la caries dental en la dentina.

### ***Enzimas***

Las enzimas se caracterizan por ser los catalizadores biológicos del cuerpo humano, encargadas de aumentar la velocidad de las reacciones presentes en el organismo al brindar una ruta de reacción alternativa que requiera menor gasto energético que la reacción sin catalizar. La mayoría de las enzimas son de naturaleza proteica y de elevado peso molecular.

**Clasificación de las Enzimas.** Mckee y Mckee (2003) afirman que las enzimas se clasifican de acuerdo a seis categorías principales:

1. Oxidorreductasas. Caracterizadas por catalizar reacciones de oxidación-reducción. Y se sub-clasifica en: deshidrogenasas, oxidasas, oxigenasas, reductasas, peroxidasas e hidrolasas.

2. Transferasas. Encargadas de catalizar reacciones en las que hay una transferencia de grupos de una molécula a otra, como pueden ser amino, carboxilo, carbonilo, metilo, fosforilo y acilo.

3. Hidrolasas. Catalizan reacciones en las que se produce el rompimiento de enlaces por la adición de agua. Se sub-clasifican en hidrolasas, esterases, fosfatasas y peptidasas.

4. Liasas. Se caracterizan porque catalizan reacciones en las que se eliminan grupos con la finalidad de formar un doble enlace o se añaden a un doble enlace. Se sub-clasifica en: liasas, descarboxilasas, hidratasas, deshidratasas, desaminasas y sintasas.

5. Isomerasas. Enzimas caracterizadas por tratarse de un grupo heterogéneo de enzimas, donde se encargan de catalizar diferentes tipos de reordenamientos intramoleculares. Se destacan las epimerasas y las mutasas.

6. Ligasas. Encargadas de catalizar la formación de un enlace entre dos moléculas de sustrato. La energía para estas reacciones la aporta siempre la hidrólisis del ATP.

**Inhibición Enzimática.** El estudio de las enzimas sin duda alguna engloba su inhibición, donde la inhibición enzimática puede ser reversible e irreversible. En el primer caso el inhibidor puede dissociarse de la enzima, mientras que en el segundo mayormente se unen de forma covalente a la enzima. La mayoría de los inhibidores son reversibles, y se estudian de acuerdo a su forma de relacionarse con la enzima en: competitiva, acompetitiva y no competitiva. (Mckee y Mckee, 2003).

**Enzimas en la Medicina y Odontología.** Se ha demostrado que con el avance de los conocimientos en las enzimas y con la tecnología se ha incrementado la resolución de problemas. Desde hace años, se han estudiado algunas enzimas, como por ejemplo la renina, enzima proteolítica de los estómagos de los terneros para la producción de queso. Por ello el área de la salud profundizó estudios en la misma, donde inicio en 1954 con el descubrimiento de la relación entre pacientes con infarto de miocardio y niveles elevados en suero sanguíneo de la enzima aspartato aminotransferasa (ASAT), donde posteriormente se presentaron estudios en numerosas enzimas. En la actualidad la investigación enzimática desempeña un papel indispensable en las prácticas de la salud, tanto desde un punto de vista diagnóstico como en el terapéutico.

En el aspecto diagnóstico las enzimas permiten proporcionar información relacionada con la presencia y severidad de la enfermedad, mientras que, en el aspecto terapéutico, permite contar con un medio de seguimiento de la respuesta del paciente al tratamiento aplicado. Esto se puede realizar en laboratorios clínicos mediante dos formas, una es a través de la actividad enzimática propia de la enzima que se puede medir, y la otra es mediante el uso de dichas enzimas como reactivos. (Mckee y Mckee, 2003)

### ***Metaloproteinasas (MMPs)***

Las Metaloproteinasas también llamadas Matrixins, son una subclase de Péptido Hidrolasas, enzimas de la familia Zinc-dependiente que están involucradas en la degradación de los componentes proteicos de las matrices extracelulares. (Brickerhoff CE., Matrisian LM., 2002).

Son producidas por los fibroblastos, osteoblastos, odontoblastos, así como otras células defensivas como los leucocitos (polimorfo nucleares y macrófagos); estas MMPs se expresan

generalmente en diversos procesos biológicos, como desarrollo y remodelado de tejidos normales (Visse R., Nagase H., 2003). Asimismo, estudios afirman que algunas MMPs son activadas por proteínas séricas (como plasmina, calicreina, furina), proteasas bacterianas, y otras MMP. (Chaussain-Miller C., et al., 2006)

**Metaloproteinasas en la Caries Dental.** A su vez se ha destacado que las metaloproteinasas de matriz (MMP) y las catepsinas de cisteína poseen la capacidad de degradar los componentes presentes en la matriz extracelular en su mayoría. Desempeñando un papel en la fisiopatología de la caries en dentina, especialmente en el proceso de las primeras fases de desmineralización.

Los cambios en la estructura del colágeno y de las proteínas no colagenosas pueden participar en las disminuciones observadas en las propiedades mecánicas de la dentina afectada por caries y reducir la capacidad de remineralización de la dentina afectada por caries. (Mazzoni, A., et al., 2015)

Sin embargo, el progreso carioso no ocurre únicamente a expensas del metabolismo patológico de las bacterias cariogénicas, ya que también coadyuvan las enzimas proteolíticas del huésped, pero por medio de una humectación externa de la superficie dentaria cariada, con la saliva y el fluido crevicular. Las MMPs de la saliva demuestran actividad colagenolítica (in vitro) en respuesta a las variaciones de pH típicas de proceso carioso. (Tjäderhane L., et al., 1998)

**Inhibición de las Metaloproteinasas.** Las MMPs tienen un efecto perjudicial en la caries de la dentina como anteriormente se mencionó, de tal manera que la inhibición de las MMPs puede representar una nueva vía para la prevención y/o tratamiento de la caries dental.

En este orden de ideas se han realizado diferentes estudios para la creación y aplicación de inhibidores de MMP sintéticos que incluso ya están en uso en la práctica dental, entre ellos:

- Tetraciclinas y Zoledronato Modificados: Son conocidos inhibidores químicos de MMP, y se ha demostrado clínicamente su uso en el retraso de la progresión de la caries en ratas. (Tjäderhane, L., et al., 1999)
- Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA): El EDTA inhibe significativamente la actividad endógena de MMP de la dentina humana en 1-2 minutos. (Thompson et al., 2012)
- GLUMA: Compuesta en 5.0% de glutaraldehído, 35% de hidroxietilmetacrilato (HEMA) y 60% de agua. Es un potente inhibidor de la actividad de MMP en matrices de dentina, donde el glutaraldehído puede inactivar las proteinasas de dentina unidas a la matriz en matrices de dentina desmineralizadas. (Sabatini C. et al., 2014).
- Digluconato de clorhexidina (CHX): La CHX al inhibir las MMP demuestra nuevas propiedades antiproteolíticas beneficiosas que, además de las propiedades antimicrobianas conocidas de esta sustancia, son útiles en el tratamiento de la periodontitis. (Gendron R., et al., 1999); (Carrilho M., et al., 2007)
- Cloruro de zinc (ZnCl): Su efecto inhibidor de MMP se basa en sus propiedades quelantes de zinc y calcio, donde sirve como un inhibidor efectivo de la degradación de colágeno mediada por MMP en dentina fuerte o ligeramente desmineralizada. (Toledano M., et al., 2012).

Asimismo, debido al crecimiento de la resistencia bacteria ha incentivado a diversos investigadores a enfocarse en soluciones de extracto naturales, capaces de producir un efecto



inhibitorio sobre ciertas MMPs, como lo es la solución en extractos de *Vitis vinifera*. Potenciando su uso como tratamiento en dentina, con la finalidad de limita el efecto de degradación producida por las MMPs. (Khaddam M. et ál., 2014)

### ***Extracto de Semilla de Uva (GSE)***

Las uvas y vinos contienen una gran variedad de compuestos fenólicos, de muy diversas estructuras químicas y pesos moleculares. Los compuestos fenólicos de la uva se localizan en las partes sólidas: cáscara, semilla y tejido vascular. En la pulpa, destaca la presencia de ácidos fenólicos y sus derivados. Los flavonoles y antocianos se encuentran localizados en las células de la cáscara de la uva, siendo estos últimos responsables del color rojo de los vinos tintos. Las procianidinas y flavanoles se localizan en las semillas de las uvas.

Su estructura química es propicia para secuestrar radicales libres, debido a la facilidad con la que el átomo de hidrógeno desde el grupo hidroxilo aromático puede ser donado a la especie radical, y a la estabilidad de la estructura quinona resultante, que soporta un electrón desapareado. La actividad antioxidante de los polifenoles depende del número y la localización de los grupos hidroxilo que contiene en su estructura. Además de su actividad antioxidante, se ha atribuido las siguientes propiedades biológicas a los compuestos fenólicos: inhiben la agregación plaquetaria, antiinflamatorios y anticancerígenos. (Sandoval M., et al., 2008).

Avanzando en esta línea de investigación sobre inhibidores de las MMP se ha demostrado que el extracto de semilla de uva (GSE) suprime la secreción de MMP-1 y MMP-9, inducida por lipopolisacáridos y macrófagos en cultivo, así como también inhiben su actividad, y por lo tanto se recomendaron para su uso en el desarrollo de nuevos tratamientos de trastornos mediados por MMP como como periodontitis (Dang La V. et al., 2009).

**Relación del extracto de semilla de uva (GSE) y el sistema adhesivo.** Las metaloproteínas de matriz (MMP), las catepsinas de cisteína en la dentina y el fluido dentinal contribuyen a la degradación enzimática de la capa híbrida adhesiva y, por lo tanto, a la reducción de la durabilidad del enlace con el tiempo. Los cambios de pH causados por el grabado ácido o los monómeros ácidos y los mismos monómeros de resina adhesiva pueden modular la activación y expresión de MMP y catepsinas de cisteína, lo que resulta en una mayor digestión de colágeno dentro de la capa híbrida (Tjäderhane L. et al., 2013, y Mazzoni A. et al. 2013)

Se ha demostrado que el tratamiento previo con enjuague bucal y el GSE inhiben el agrandamiento de los túbulos dentinarios por la acción enzimática de MMP-3, lo cual podría mejorar la esperanza de vida de los interfaces adhesivo-resina. (Khaddam M. et al., 2014).

Por consiguiente, el GSE se ha demostrado que interactúa con proteínas para inducir enlaces cruzados mediante cuatro mecanismos diferentes: interacciones covalentes, interacciones iónicas, uniones hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Vola, J., 2015).

Donde el GSE promueve cambios en las propiedades mecánicas y físicas de la matriz de la dentina, que generan un aumento de la resistencia de la unión del sistema adhesivo a dentina, así como también la resistencia propia de la dentina.

Adicionalmente Al-Ammar A, et al., (2009) establecieron que los enlaces cruzados intrínsecos de colágeno proporcionan las propiedades de tracción de las moléculas de colágeno. Donde el uso de agentes de reticulación de colágeno extrínseco puede inducir la formación adicional de reticulaciones inter e intramoleculares, aumentando de esta forma la resistencia máxima a la tracción y el módulo elástico de la dentina desmineralizada.

Dentro de los cuales existen diferentes agentes reticulantes, como lo es la proantocianidina (PA) componente natural presente en frutas, verduras, nueces, semillas y flores, y siendo el principal compuesto del extracto de semilla de uva (GSE). Donde se ha demostrado que puede mejorar las propiedades mecánicas de la dentina desmineralizada. (Al-Ammar A, et al., 2009).

**Acción bactericida del extracto de semilla de uva (GSE).** De acuerdo a los estudios de Soligo L. et al., (2018) determinaron la eficacia antimicrobiana del extracto de semilla de uva (GSE) sobre la base de una reducción en las unidades formadoras de colonias (UFC) contada con muestras bacterianas recogidas antes y después de la instrumentación en un tratamiento de conductos in vitro.

Por consiguiente, Wu CD., (2009) determinó que el extracto de semilla de uva (GSE) rico en proantocianidinas (PA) afecta positivamente los procesos de desmineralización y remineralización in vitro de lesiones de caries radiculares.

De igual forma Wu CD., (2009) demostró la existencia de actividad inhibitoria del crecimiento contra dos patógenos orales: El *S. Mutans* de carácter cariogénico y el *Porphyromonas gingivales* de carácter periodontopático. Así como la presencia de compuestos antimicrobiano.

Adicionalmente se detectaron compuestos fenólicos presentes en las semillas de la uva (GSE) que brindan diferentes efectos biológicos, como lo son: antioxidantes, captadores de radicales libres, antiinflamatorios, antihipertensivos, antimutagénicos, antineoplásicos, antivirales, antibacterianos, antiúlceras estomacal, antitumorales, cicatrizantes, antihiperglucémicos, cardioprotectores, antihepatotóxicos, anticataratas oculares y actúan

también como filtros solares. Comprobados in vitro como in vivo, en animales y seres humanos. (Paladino SC. y Zuritz CA., 2011)

***Ficha Técnica de la Solución de Extracto de Vitis vinifera***

A continuación se presenta la solución de extracto de Vitis vinifera en tres diferentes concentraciones, donde sus componentes se establecen en base a 100 ml.

**Cuadro 1. Ficha Técnica de la Solución de Extracto de Vitis vinifera**

Descripción	Concentración	Extracto de Semilla de Vitis Vinifera (g)	Saliva Artificial (g)	Tween 80 (g)	Metilparabeno (g)	Propilparabeno (g)
Solución de Extracto de Vitis vinifera 25%.	25	25	67	7	0,5	0,5
Solución de Extracto de Vitis vinifera 50%.	50	50	39	10	0,5	0,5
Solución de Extracto de Vitis vinifera 75%.	75	75	14	10	0,5	0,5

Nota. Datos de la fabricación de la solución de Extracto de semilla de *Vitis vinifera*.

***Ficha Técnica de la Saliva Artificial***

A continuación se presenta la saliva artificial, donde sus componentes se establecen en base a 1000 ml.

**Cuadro 2.** *Ficha técnica de la saliva artificial.*

Descripción	Cantidad
Carboximetilcelulosa CMC 9000 cps	10 g
Glicerina	30 g
Potasio Cloruro	1,2 g
Sodio Fosfato monobásico	0,342 g
Sodio cloruro	0,084 g
Calcio cloruro anhidro	0,146 g
Magnesio cloruro	0,052 g
Metilparabeno	0,5 g
Propilparabeno	0,5 g
Agua desmineralizada	1000 ml

Nota: Datos obtenidos de la fabricación de la saliva artificial.

### ***Estudios Espectroscópicos o Colorimétricos***

La colorimetría se basa en la ciencia encargada del estudio del color, utilizando diferentes métodos con la finalidad de cuantificar el color. En tal sentido, se basa en la obtención de valores numéricos exactos en base a la cantidad de luz reflejada sobre un objeto en cuestión. Esta ciencia permite en el ámbito científico convertir un fenómeno subjetivo como lo es la percepción sensorial a uno numérico, donde se pueda medir, comparar y reproducir valores referenciales. (Santos, 2009)

**Instrumentos.** En tal sentido existen diferentes dispositivos o equipos con la finalidad de obtener tales valores numéricos, los principales son los colorímetros y los espectrofotómetros de reflectancia, donde difieren en la forma en la cual miden el valor. (Santos, 2009)

El espectrofotómetro mide la respuesta de toda una gama espectral visible, de esta manera el segundo es más preciso, amplio y condensa mayor información (Santos, 2009). El espectrofotómetro compara la energía incidente con la reflejada sobre la muestra, obteniendo así una longitud de onda (Vásquez, 2015).

En otro sentido Konica-Minolta (2017) establecen el espectrofotómetro brinda una curva de cada muestra de color, la cual es tan particular y única como una huella o firma digital. Siendo una herramienta de gran utilidad para identificar, compara o igualar colores de referencia.

De acuerdo a Mathias-Rettig y Ah-Hen (2014) el colorímetro es un dispositivo triestimulante, de bajo costo y de que emula el ojo humano. Este se encarga de medir la respuesta para cada uno de los tres valores triestímulo, como lo son el azul, verde y rojo (Santos, 2009).

Dicha medición realizada por el colorímetro se codifica en una señal basada en un sistema de medición lumínico de espacio polar, mayormente conocido como la Escala de CIELAB (Ramírez Navas, 2010)

**Escala CIELAB.** Al momento de valorar la percepción del tono se presentan enormes dificultades al efectuar comparaciones cromáticas. Por ello existe una escala de color que soluciona esas dificultades, dentro de las cuales se encuentra la esfera de Munsell, encargada de clasificar y ordenar los diferentes colores en una secuencia lógica mediante un modelo tridimensional, donde existen tres dimensiones de color, el tinte, valor e intensidad. Considerado uno de los mejores de acuerdo a percepción (López L., 2015).

En la actualidad, la medición del color se establece mediante la escala CIELab. La Standard Comisión Internacionale de l'Eclairage (CIE), organismo destinado a estandarizar los colores (López L., 2015). La escala de CIELAB se basa en un sistema de coordenadas cartesiano

definido por tres coordenadas colorimétricas, como lo son las magnitudes de dimensiones  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  (Espinoza, 2017).

Basándose en ciertas coordenadas, la  $L^*$  como medida de valor o luminosidad que se valora entre 0-100, la  $a^*$  que mide la desviación del punto cromático con la claridad determinando la cantidad de rojo  $a^*>0$  y verde  $a^*<0$ , y la  $b^*$  mide la desviación de amarillo  $b^*>0$  y azul  $b^*<0$  (López L., 2015; Espinoza, 2017).

En tal sentido, los valores del color se encuentran representados en un espacio a una distancia proporcional a las diferencias visuales existentes entre ellos. (Carvajal, J., et al., 2011).

**Aplicación de Estudios Colorimétricos en la Salud.** La colorimetría en la odontología es ampliamente utilizada, desde el punto de vista macro hasta el micro del campo odontológico. Donde múltiples investigadores han utilizado dispositivos o instrumentos para la medición de la colorimetría en el área, desde colorímetros hasta espectrofotómetros.

Como se puede observar en las investigaciones realizadas por López L. (2015); Melgosa, M et al., (2020); Mayoral (2013) y Arocha (2015), donde se han estudiado características de tejidos, materiales dentales y ciertas características especiales, demostrando su gran aplicabilidad e innovación en el área odontológica.

Adicionalmente en la actualidad se puede ver su uso en múltiples áreas, como lo fue en el área diagnóstica por parte de Lalli, M. A., et al., (2021), en su investigación titulada “Detección rápida y sin extracción de SARS-CoV-2 de saliva mediante amplificación isotérmica mediada por bucle de transcripción inversa colorimétrica”, donde se desarrolló un protocolo de pretratamiento de saliva que permite la detección sensible de SARS-CoV-2 a partir de muestras no purificadas en un ensayo colorimétrico optimizado de RT-LAMP y RT-qPCR. Donde se

realizaron lecturas con colorimetría a simple vista, espectrofotometría y fluorescencia en tiempo real.

**Estudio Colorimétrico en tejidos de la Cavidad Bucal.** En la actualidad se ha demostrado el estudio la colorimetría en unidades dentarias, evaluando aspectos básicos como las propiedades ópticas de las mismas. Tanto desde el punto de vista fisiológico, así como su variación en aspectos característicos del paciente y la presencia de fisiopatologías (Rodríguez de M., et al., 2018).

De esta manera, al analizar las propiedades ópticas de las unidades o estructuras dentarias mediante estudios colorimétricos se utiliza frecuentemente el sistema LAB, logrando alcanzar resultados exitosos en múltiples investigaciones (Arocha, 2015). Por su parte Mayoral, (2013) utilizo de la misma manera la escala de la comisión internacional de iluminación (CIE), el cual expresa mediciones de los tres valores (L, a, b), siendo incluso la American Dental Association (AD) quien recomienda la implementación del sistema LAB.

Además, con el avance de la tecnología se ha potenciado los estudios colorimétricos, siendo utilizados en tratamientos como el blanqueamiento dental, para evidenciar las características del color de las estructuras dentarias en consecuencia, mediante el uso de diferentes instrumentos y múltiples métodos, como lo son la medición por colorímetros, espectrofotómetros de reflectancia, e inclusive cámaras digitales de evaluación objetiva (Pan, Q. y Westland, S., 2018).

En otra perspectiva, Polychronokis, N., et al., (2020), implementaron los estudios colorímetros mediante el uso de coordenadas CIELAB como referencia al evaluar materiales



odontológicos utilizados en la cavidad bucal, como lo fueron los dientes artificiales utilizados en la prótesis dental.

### ***Procedimiento y Análisis de Imágenes***

La interpretación de una imagen es la última etapa del procedimiento y análisis de una imagen, por ello es necesario profundizar en las etapas iniciales.

**Etapas en el análisis de una imagen.** Con el avance del conocimiento y la tecnología se han implementado diferentes análisis automatizados de una imagen, donde uno de los más estudiados es el planteado por González R. & Woods R. (1992 y 2002). El cual se detalla en base a las siguientes etapas:

1. Captación de la imagen.
2. Pre-Tratamiento o Pre-Procesamiento.
3. Segmentación.
4. Representación.
5. Extracción de rasgos y descripción.
6. Detección, reconocimiento e interpretación.

Donde todas estas etapas van a verse modificadas o manifestar múltiples niveles de profundidad en base a algunos factores, como pueden ser: Calidad de la imagen original, hardware empleado en la adquisición, métodos utilizados en el procesamiento y el objetivo de la aplicación. (Rodríguez R., & Sossa J., 2012)

**Proceso de captación y formación de una imagen.** En el proceso de formación de imagen, la misma es una representación óptica de uno o más objetos iluminados por una o más

fuentes de radiación, cuya fuente de radiación puede ser luz visible, rayos X, radiación ultrasónica, infrarroja, entre otras.

**Modelo de imagen digital.** La imagen digital es una imagen que se encuentra internamente formada o caracterizada por números. Donde una imagen digital cualquiera se relaciona con una matriz de números asociada a ella, donde la misma dependerá de la cuantificación que se realice.

Múltiples modelos de imágenes han sido planteados, sin embargo, el Modelo de imagen de Sistema Aleatorio Estacionario es uno de los más utilizados, tanto en el pasado como en la actualidad. (Rodríguez R., y Sossa J., 2012).

**Segmentación de imágenes.** La segmentación es una de las etapas fundamentales presente en la sistematización del análisis de imagen, debido a las dificultades que acarrea su realización como la importancia de la misma en la obtención de resultados.

Rodríguez R., y Sossa J., (2012) definen la segmentación como “Conjunto de regiones R no solapadas, homogéneas respecto a algún criterio cuya unión cubra la imagen completa”. Donde su finalidad principal es el proceso del análisis de imágenes, al separar los objetos de interés del resto no relevantes para el análisis.

Por esta razón la segmentación de imágenes se puede apreciar como un proceso de reconocimiento de imágenes debido a la clasificación de objetos que realiza. Cabe enfatizar que la segmentación es una etapa muy importante, donde permite al clasificar y subdividir resolver problemas que se presenten con la imagen de entrada. Es por ello que se han descrito diferentes técnicas de segmentación, como lo son:

1. Métodos basados en el umbralado a partir del histograma de la imagen: Mediante un histograma se obtiene un umbral de comparación para el agrupamiento de los píxeles. Sin embargo no se obtiene en buena calidad (González R. y Woods R, 2002, Sahoo P., et al., 1988 y Otsu N., 1979).
2. Métodos basados en la detección de discontinuidades: La imagen es subdividida mediante cambios bruscos de los niveles de grises.
3. Métodos basados en la propiedad de similitud de los valores de los niveles de grises: Se basa en criterios de homogeneidad para la agrupación de los píxeles.
4. Métodos heurísticos de segmentación: Se basa en el conocimiento previo de la imagen, donde utiliza la experiencia del observador y métodos supervisados de segmentación. (Rodríguez R., y Sossa J., 2012)
5. Técnicas actuales de segmentación: Con el avance de la ciencia y la búsqueda del perfeccionamiento se han creado nuevas e innovadoras técnicas de segmentación, :
  - Modelos deformables: Los modelos deformables o contornos activos son algoritmos sofisticados en la segmentación de imágenes. Que se caracterizan por presentar una capacidad de adaptarse a la variabilidad que presentan los objetos y a su vez poseen mecanismos de interacción intuitiva (Xu Ch., et al., 2000; McInecnet T. & Terzopoulos, 1996).
  - Medidas desplazadas: También conocidas como “Mean Shift”, fue propuesto por Fukunaga K. y Hostetler D., (1975), sin embargo, Cheng Y en 1995 lo volvió útil al plantear otros intereses del mismo, brindando excelentes cualidades, siendo una excelente herramienta versátil para el análisis del espacio de características y que

brinda muchas tareas al momento de analizar una imagen (Comaniciu D., & P. Meer 2000, y Comaniciu D. y P. Meer, 2002).

- Estimación por núcleos: es una adecuada practica de elección cuando el conjunto de datos es de tamaño medio y pequeño, es decir, debajo de los 10,000 puntos, donde es relativamente simple su uso (Rodríguez R., y Sossa J., 2012).

### ***Ficha Técnica del Software ImageJ***

**Cuadro 3.** *Ficha Técnica del Software ImageJ*

Año de lanzamiento	1997
Fabricante	Wayne Rasband
Última Actualización	23-04-2018
Compatibilidad	Java 5 o superior, Microsoft Windows, Mac OS, Mac OS X, Linux, y Sharp Zaurus PDA.
Peso	9,92MB

Nota: Fuente obtenida de Wayne Rasband, 2018

### ***Bases Legales:***

Como basamento en el área legal en la presente investigación se abordó el Manual de bioseguridad en el laboratorio, en su tercera edición de la Organización Mundial de la Salud [OMS] (2005):

Laboratorios básicos – niveles de bioseguridad 1 y 2

En el código de prácticas se establece que todo personal del laboratorio usara de manera estricta y en todo momento monos, batas o uniformes especiales, gafas de seguridad, guantes los cuales una vez terminado el procedimiento se retiraran de manera aséptica y seguidamente el personal del laboratorio se lavará las manos luego de manipular materiales infecciosos y antes de retirarse del laboratorio.

Asimismo, tienen prohibido usar accesorios de protección fuera de las instalaciones del laboratorio, como también calzado sin puntera, no se permite ingerir ni almacenar alimentos dentro del mismo.

En la sección de Normas para la vigilancia de los trabajadores que manipulan microorganismos en el nivel de bioseguridad 1, se establece que estos microorganismos tienen pocas posibilidades de crear enfermedades humanas o enfermedades animales de gran importancia, aunque lo ideal es imponer a todo el personal del laboratorio a un examen médico previo a la contratación y establecer los antecedentes médicos de cada individuo. Todo personal deberá reconocer enfermedades o accidentes de laboratorio y tener consciencia de la importancia sobre las técnicas apropiadas de manipulaciones microbiológicas.

De igual manera se resalta la importancia de la capacitación del personal de laboratorio en medidas de seguridad, establecer códigos de prácticas, manuales de seguridad o de operaciones en manipulación de muestras con el fin de prevenir infecciones adquiridas y accidentes de laboratorio.

Adicionalmente en los laboratorios la descontaminación y eliminación de desechos son maniobras muy relacionadas en el trabajo cotidiano, es necesario la descontaminación por medio del autoclave, en donde, todo material debe ser descontaminado y desechado introduciéndose en recipientes resistentes al autoclave, deben identificarse dichos materiales si son desechos no contaminados que pueden reciclarse o eliminarse como si fuesen basura, los objetos cortantes y punzantes contaminados se almacenan en recipientes a prueba de perforación y provistos de tapaderas, materiales contaminados designados al autoclave que después puedan reciclarse y materiales contaminados que serán sometidos al autoclave y luego serán eliminados.

Ley De Medicamentos Gaceta Oficial N° 37.006 de Venezuela, fecha 3 de agosto de 2000

Del Comercio Exterior De Los Medicamentos Capítulo I De la Importación de los Medicamentos Artículo 66. Todo nuevo medicamento que ingrese al país deberá ser evaluado clínicamente en pacientes antes de ser distribuidos, a través de estudios clínicos realizados en el país por profesionales del área vinculados a instituciones que realicen investigaciones tales como universidades y Hospitales exceptuando este artículo cuando no exista la tecnología apropiada para efectuar el estudio clínico a efectuarse de conformidad con los establecidos en los artículos 71 y 71 de esta Ley.

### ***Sistema de Variables***

#### ***Identificación de Variables.***

- Actividad proteolítica de degradación de la Matriz de dentina por las MMPs.
- Solución de extracto de *Vitis vinifera* en concentraciones de 25%, 50% y 75%.

#### ***Definición conceptual:***

**Actividad Proteolítica de degradación de la Matriz de dentina por las MMPs:** Se ha demostrado que las MMPs de origen odontoblástico actuando como coadyuvante en el proceso proteolítico de la matriz orgánica de la dentina a nivel de la capa profunda de una lesión cariosa. De esta forma los procesos de degradación de la matriz orgánica y la desmineralización de la dentina ocurren de manera simultánea, por las oscilaciones en el pH crítico de la dentina.

**Solución de extracto de *Vitis vinifera* en concentraciones de 25%, 50% y 75%:**  
Solución basada en extracto de *Vitis vinifera* presentado en diferentes concentraciones, 25%,

50%, 75%, *con capacidad* inhibitoria sobre la actividad proteolítica de degradación de la matriz de dentina de las metaloproteinas (MMPs).

**Definición operacional:** La variable se estudiara de acuerdo a la actividad inhibitoria la solución de *Vitis vinifera* sobre de la degradación de la matriz orgánica de las Metaloproteinas (MMPs) utilizando un análisis colorimétrico, evaluando la efectividad de cada concentración, 25%, 50%, 75%..

### ***Hipótesis***

**Hipótesis general:** La solución de extracto de *Vitis vinifera* contara con un efecto inhibitorio sobre la actividad proteolítica de degradación de la matriz de dentina de las MMPs In Vitro.

**Hipótesis específica:** La solución de extracto de *Vitis vinifera* de mayor concentración (75%) presentara mayor grado de inhibición de la actividad proteolítica de degradación de la matriz de dentina de las MMPs In Vitro.

**Cuadro 4.** Tabla de Operacionalización de Variables.

Objetivos de la Investigación	Variables	Dimensiones	Indicadores
Comprobar que la solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> inhiba la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs) en las concentraciones	<p><b>Variable dependiente:</b></p> <p>Actividad Proteolítica de degradación de la Matriz de dentina de las MMPs</p>	<p>Estudio In Vitro de la Actividad de las MMPS</p> <hr/> <p>Estudio In Vitro de la Inhibición de la Actividad de las MMPs</p>	<p>Variación de luminosidad de acuerdo a la coordenada L* presentada en el análisis de colorimetría</p>
25%, 50% y 75%.	<p><b>Variable independiente:</b></p> <p>Solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i>.</p>	<p>Concentraciones de la solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i></p>	<p>Concentraciones al 25%, 50% y 75% en los intervalos de tiempos: 24 horas, 48 horas, 72 horas y 168 horas.</p>



### *Definición de Términos.*

- **Caries dental:** Es una enfermedad infecto-contagiosa de origen multifactorial, localizada, caracterizado por el reblandecimiento del tejido duro del diente y que evoluciona hasta la formación de una cavidad hasta el complejo Dentino-Pulpar.
- **Metaloproteinasas:** Son enzimas de la familia de las proteasas cuya función es la degradación de proteínas, en tal sentido posee actividad proteolítica. Y se encuentran involucradas en la degradación de la matriz de dentina.
- **Inhibidores de las Metaloproteinasas:** Son toda sustancia o material natural o artificial que realice un efecto inhibitorio de las diferentes acciones de las metaloproteinasas en el cuerpo humano.
- **Extracto de Semilla de Uva:** Es una solución en base a la semilla de uva, con diferentes propiedades y aplicaciones en el área odontológica.
- **PPM:** Consiste en una unidad de medida empleada en concentraciones, con la finalidad de determinar la cantidad de unidades de una sustancia que hay por cada millón de unidades del conjunto.
- **Colorimetría:** Ciencia encargada del estudio del color mediante métodos para cuantificar el color mediante valores numéricos exactos.

### Capítulo III

#### Marco Metodológico

Anteriormente se expusieron los diferentes recursos teóricos que fundamentan la estructura de la presente investigación, por ello detallaron los diferentes elementos, recursos y estrategias metodológicas utilizadas satisfactoriamente la investigación. Como lo fueron el tipo y diseño de investigación, la descripción de la población y muestra, así como también las técnicas de recolección de información y su respectiva validación y confiabilidad.

Para de esta forma alcanzar una adecuada investigación, como lo define Arias, F como “Un proceso metódico y sistemático dirigido a la solución de problemas o preguntas científicas, mediante la producción de nuevos conocimientos, los cuales constituyen la solución o respuesta a tales preguntas” (2016).

#### *Tipo y Diseño de Investigación*

El tipo de investigación que se utilizó es la cuantitativa, de tipo descriptiva. Esto debido a que se busca comprobar que la solución de extracto de *Vitis vinifera* inhiba la degradación de la matriz de dentina de las metaloproteinas (MMPs) in vitro. Donde Arias, F. (2016) estableció que este tipo de investigación consiste en la caracterización de un hecho, fenómeno, individuo o grupo, con el fin de establecer su estructura o comportamiento.

El diseño de investigación de acuerdo a Arias, F. “Es la estrategia general que adopta el investigador para responder al problema planteado. En atención al diseño, la investigación se clasifica en: documental, de campo y experimental” (2016).

Donde el diseño empleado en la realización de la presente investigación fue el diseño experimental. Debido a que la investigación experimental es un proceso que consiste en someter

un objeto o grupo de individuos a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos (variable independiente), para observar los efectos o reacciones que se producen (variable dependiente) (Arias, F., 2016).

Asimismo el diseño de la investigación se caracterizó por ser de campo. Como lo define Hurtado, J. (2016) “El donde del diseño alude a las fuentes, si son vivas, y la información se recoge en un ambiente natural”.

Además, dentro de la investigación experimental, la investigación se situó como un diseño de investigación experimental verdadero o puro. El cual, de acuerdo a Arias, F (2016) debe controlar todos los factores que pudieran alterar el proceso. Este modelo cumple con dos requisitos fundamentales: empleo de grupos de comparación y equivalencia de los grupos mediante la asignación aleatoria o al azar.

De esta forma los investigadores observaron in vitro como la solución de *Vitis vinifera* actúa inhibiendo la actividad proteolítica de las Metaloproteinas (MMPs) al degradar la matriz de dentina.

### ***Población y Muestra***

De acuerdo a Sampieri R. (2014) “una población es el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones”. De esta forma la población fue conformada por seis (6) unidades dentales permanentes, que cumplieron con los criterios de inclusión establecidos por los investigadores, y señalados más adelante.

Respecto a la toma de muestra de la presente investigación se decidió por realizar un muestreo no probabilístico intencional o por conveniencia. Donde Arias refiere (2016) “un

muestreo intencional los elementos son escogidos con base en criterios o juicios preestablecidos por el investigador”, para lo cual se tomará ciertos criterios de inclusión.

***Criterios De Inclusión:***

- Unidades dentarias permanentes con presencia de su porción coronal.

***Criterios De Exclusión:***

- Unidades dentarias temporarias.
- Unidades dentarias con tratamientos endodónticos.
- Unidades dentarias sin su porción coronal.

Los criterios de inclusión y exclusión fueron establecidos en base a las afirmaciones planteadas por Hurtado J. (2012) donde en un muestreo intencional se debe identificar las unidades de estudio más convenientes que puedan brindar información abundante para la investigación, siendo de esta manera un total de seis (6) unidades dentarias.

***Técnicas e Instrumentos de Recolección de Información***

Una vez establecido el tipo de investigación que se realizó, su respectivo diseño, la población del estudio, así como la muestra a estudiar, el paso siguiente fue delimitar o fijar el método o conjunto de técnicas e instrumentos que se utilizaron para recoger la información y datos requeridos durante el desarrollo de toda la investigación.

En este aspecto Arias, F (2016) estableció a las técnicas de recolección de información como el procedimiento o forma particular de obtener datos o información. Donde estas pueden ser particulares y específicas de una disciplina, por lo que sirven de complemento al método científico, el cual posee una aplicabilidad general.

De esta manera la técnica de recolección de información empleada en la investigación fue la observación. Que de acuerdo a Arias, F. (2016) La observación es una técnica que consiste en visualizar o captar mediante la vista, en forma sistemática, cualquier hecho, fenómeno o situación que se produzca en la naturaleza o en la sociedad, en función de unos objetivos de investigación preestablecidos.

Igualmente, el instrumento de recolección de datos es cualquier recurso, dispositivo o formato (en papel o digital), que se utiliza para obtener, registrar o almacenar información (Arias, F., 2016). Donde el instrumento de recolección de información implementado en la investigación fue la guía de observación, donde se registraron los valores exactos obtenidos del análisis colorimétrico.

### ***Técnica de Análisis de Información***

El presunto estudio tiene como fin describir, analizar, clasificar y registrar toda la información obtenida por las distintas técnicas empleadas para la obtención de datos, la cual se utilizó las estadística descriptiva, con el fin de clasificar los dato obtenidos por las muestras en este estudio, requiriendo de la estadística no paramétrica con el fin de estimar parámetros y justificar la hipótesis (Arias, F., 2016).

En tal sentido, se decide utilizar una prueba de Kruskal-Wallis en base a un paquete estadístico SPSS, con la finalidad de determinar si la diferencia es significativa o no, al momento de analizar la variación de los resultados obtenidos en la fase experimental.

Asimismo se debe aclarar que el criterio de evaluación establecido para la variación de las coordenadas  $L^*$ , es fijado para aquel que presente menor variación en comparación con la medición inicial.

### ***Validez y Confiabilidad***

De esta manera de acuerdo a Sampieri R. (2014), un instrumento de recolección de datos es válido cuando refleja un dominio específico del contenido de lo que se mide. En este marco, la validez de contenido de la investigación es brindada por un repertorio o juicio de expertos en el área. De esta manera se logró elaborar un instrumento idóneo para la recolección de datos que se caracterizara por ser válido por

Una experta especialista en el área de farmacología y terapéutica y docente UC, Tibisay Matheus; un experto especialista en el área de estética y rehabilitación protésica y docente UC, Douglas Rodríguez, y una especialista en microbiología oral y Docente UC, Mariela Pérez.

El autor antes mencionado establece que “La confiabilidad de un instrumento de medición se refiere al grado en que su aplicación repetida al mismo individuo u objeto produce resultados iguales”. Sin embargo, por las características propias de la investigación la confiabilidad del instrumento no es requerida en este caso, debido a la técnica que se empleara y la sustentación en la existencia de expertos.

### ***Procedimiento***

**I Fase.** Procesamiento de la solución de extracto de *Vitis Vinífera* en distintas concentraciones: se extrajo el concentrado en distintas concentraciones, siendo 25%, 50% y 75%.

**II fase.** Obtención de las muestras: en relación a las unidades dentarias se utilizaron seis (6) unidades dentarias con suficiente remanente dentario coronal, de los cuales se obtuvieron mediante un consentimiento informado de cada uno de los pacientes (Anexo C). Las unidades dentarias fueron limpiadas eliminando desechos biológicos con agua potable, se realizaron cuatro (4) cavidades hasta exponer la dentina mediante una fresa cilíndrica diamantada mediante

irrigación continua, posteriormente fue almacenada en envases con saliva artificial para ser transportados al laboratorio como un medio de preservación dentaria. Cada envase fue identificado en base a la muestra, siendo un total de seis (6) unidades dentarias y un total de veinticuatro (24) grupos.

**III Fase.** Procesamiento de las muestras: cada unidad dentaria se trató con ácido fosfórico al 37% durante 15 segundos para inducir la activación de las metaloproteínas en la matriz de dentina.

Las cavidades en la unidad dentaria fueron dividida en cuatro grupos, donde el 1er grupo corresponde al grupo control que no fue tratado con la solución de extracto de *Vitis vinifera*, el resto de los grupos fueron tratados con la solución del extracto de Vitis Vinifera en diferentes concentraciones, de tal manera que el 2do grupo al 25%, el 3er grupo al 50%, y el 3er grupo al 75%. El tratamiento fue durante 60 segundos exactamente.

**IV Fase.** Preservación de las muestras: las muestras fueron almacenadas en una estufa BLUE M a 37° de temperatura sumergidas en saliva artificial, con la finalidad de mantener una temperatura y pH fisiológico.

**V Fase.** Obtención de valores referenciales: De esta manera cada unidad dentaria fue evaluada mediante un estudio con colorimetría, mediante el uso del software ImageJ con la finalidad de obtener de forma automatizada la cuantificación de los valores LAB, donde las imágenes digitales fueron obtenidas mediante un microscopio.

Las técnicas de procesamiento digital de imágenes a través de colorimetría con el objeto de resaltar elementos de importancia que contempla en tejido dental estudiado. En el caso de las

imágenes de microscopio de las muestras dentales, basadas en la técnica colorimétrica permitieron resaltar la luminiscencia característica del tejido dentinario.

**VI Fase.** Luego cada unidad dentaria fue evaluada mediante la técnica colorimetría mencionada anteriormente, en diferentes intervalos de tiempo como lo son: 24 horas, 48 horas, 72 horas y 1 semana (168 horas), y posteriormente registrados los resultados en el instrumento de recolección de información, para así llegar a las conclusiones del estudio.

### ***Consideraciones Bioéticas:***

El Código de Ética para la Vida (2011), establece que es una de las ramas de la ética y se rige por principios guiando la conducta humana hacia el respeto de la vida humana y el resto de los seres vivos, así promover conductas para no causar daños en el ambiente.

De acuerdo a los principios bioéticos que son justicia, responsabilidad y no maleficencia protegiendo la integridad, vulnerabilidad, intimidad y dignidad de los sujetos que van a permitir mediante un Consentimiento Previa Información (CPI) muestras biológicas, con el fin de enriquecer el estudio. El cual se puede observar en el Anexo C.

Los investigadores asumen el compromiso de salvaguardar la información que se recaude sin vulnerar el bienestar de los sujetos donde se obtendrán las muestras biológicas, por ende, se utiliza el (CPI) como lo explica el código de ética para la vida “es un acuerdo, resultado de un consenso de los actores que voluntariamente deciden participar en el logro de las metas científicas”.

El manejo de los desechos biológicos se regula mediante la ley Sobre Sustancias, Materiales Y Desechos Peligrosos Gaceta Oficial De La República Bolivariana De Venezuela N° 5554 Ext. Del 13-11-2001. Donde el artículo N° 9 se establece que:



**Almacenamiento de desechos peligrosos:** Depósito temporal de desechos peligrosos bajo condiciones controladas y ambientalmente seguras, sin que se contemple ninguna forma de tratamiento ni transformación inducida de los desechos almacenados

**Desecho:** Material, sustancia, solución, mezcla u objeto para los cuales no se prevé un destino inmediato y deba ser eliminado o dispuesto en forma permanente.

**Desecho patológico:** Desecho biológico o derivado biológico que posea la potencialidad de causar enfermedades en todo ser vivo.

**Eliminación de desechos peligrosos:** Proceso de transformación de los desechos peligrosos, previo a la disposición final, cuyo objetivo no sea el aprovechamiento de alguno de sus componentes, ni de su contenido energético, ni conduzca a la recuperación de los compuestos resultantes.

El Título III De Los Desechos Provenientes De Los Establecimientos De Salud de la ley anteriormente mencionada, en su artículo N° 48 se establece que, los desechos peligrosos constituidos por restos humanos, desechos infecciosos, patológicos, orgánicos, biológicos, químicos, radiactivos, restos de animales y cualquier otra materia putrescible, procedentes de los establecimientos a los que se refiere el Artículo N° 47 de esta Ley, deberán ser manejados de conformidad con lo establecido en la reglamentación técnica que rige la materia.

## Capítulo IV

### Resultados y Conclusiones

La metodología diseñada e implementada en este estudio para la cuantificación de las coordenadas L\*, luminiscencia, obtenidas del procesamiento de una imagen digital de microscopia ha proporcionado una solución inicial que servirá de base y sustento para futuras investigaciones clínicas restauradoras, permitiendo comprobar que la solución de extracto de *Vitis vinifera* inhiba la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteínas (MMPs) en las concentraciones 25%, 50% y 75%.

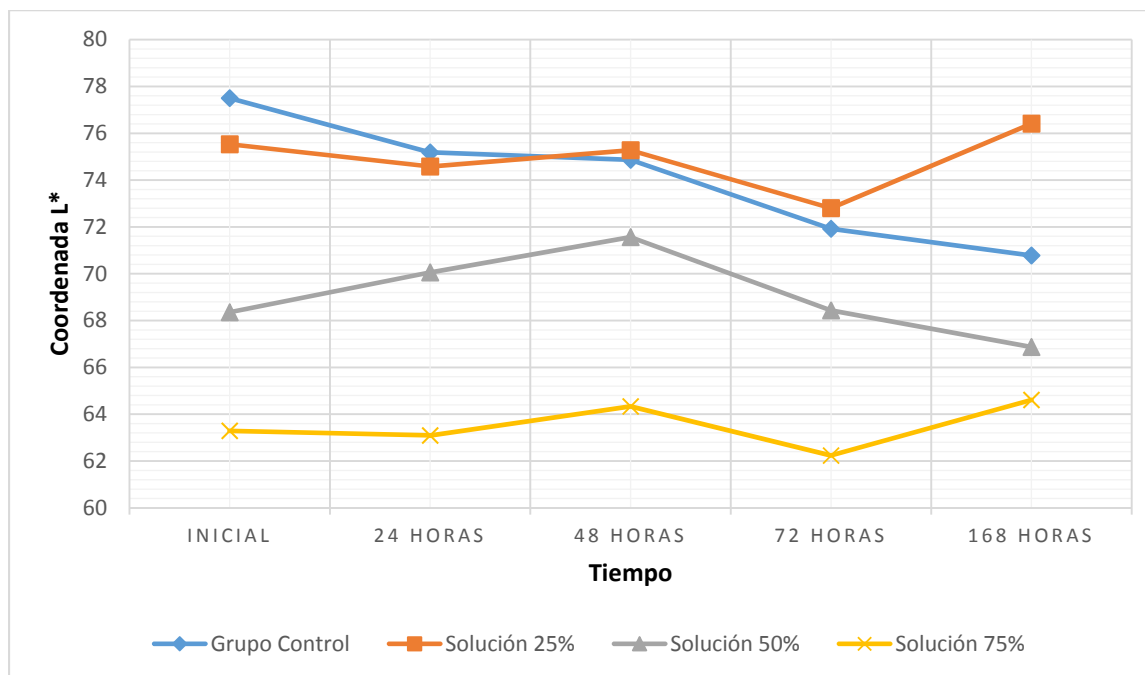
En tal sentido se realizó un análisis digital y automatizado a seis (6) unidades dentales inmediatamente post extracción, siendo subdivididas en un total de veinticuatro (24) grupos de estudio. Donde los resultados obtenidos se presentan a continuación:

**Cuadro N°5.** *Resultados colorimétricos de las coordenadas L\* en la Muestra N°1 de cada grupo.*

Grupo/Tiempo	Medición Inicial	Medición 24 Horas	Medición 48 Horas	Medición 72 Horas	Medición 168 Horas.
Grupo Control	77,5014	75,1841	74,8682	71,9207	70,7792
Grupo tratado con solución al 25%	75,5312	74,5806	75,2785	72,8045	76,4128
Grupo tratado con solución al 50%	68,3544	70,057	71,5664	68,4314	66,8689
Grupo tratado con solución al 75%	63,288	63,0919	64,3309	62,2331	64,6067

Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Gráfico N°1.** Resultados colorimétricos Muestra N°1 de cada grupo: Coordenadas L\*/Tiempo.



Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Análisis e Interpretación:** El cuadro N°5 se observan los resultados de la muestra N°1 arrojados por el procesamiento automatizado posterior al tratamiento de los grupos de estudio mediante la solución de extracto de *Vitis vinifera*, demostrando que los valores obtenidos por las propiedades ópticas reflejadas en las coordenadas del sistema CIELAB.

En tal sentido, en el gráfico N°1 se aprecia la luminosidad establecida en la coordenada L\*, lo que se interpreta como una inhibición de la actividad proteolítica de las MMPs en los tres (3) grupos tratados, logrando un mantenimiento de las propiedades reflejadas en la difusión de la luz característica de las fibras colágenas. Donde el grupo control (no tratado) presentó una variación mayor de -6,7222, mientras que los grupos tratados variaron 25% en 0,8816, 50% en -1,4855, 75% en 1,3187. De esta manera, el grupo de estudio que presentó menor variación de la

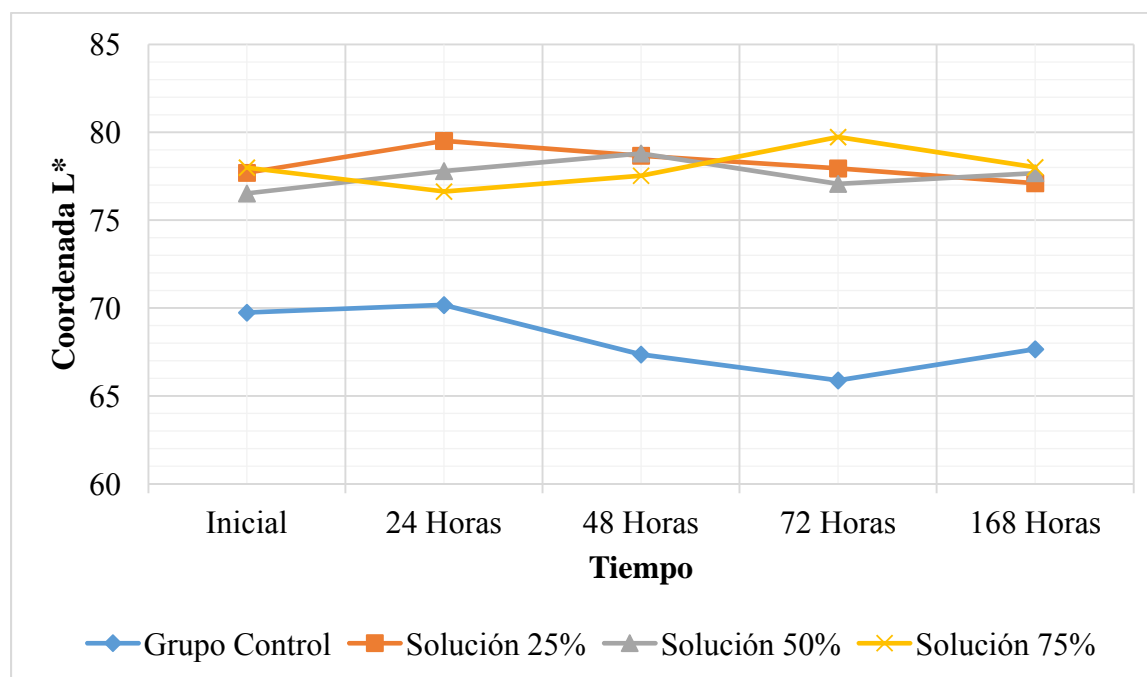
coordenada L\* fue el 25% en base al criterio de evaluación establecido, siendo la solución de *Vitis vinifera* en 25% la que posee mayor capacidad inhibitoria.

**Cuadro N°6.** Resultados colorimétricos de las coordenadas L\* Muestra N°2 de cada grupo.

Grupo/Tiempo	Medición Inicial	Medición 24 Horas	Medición 48 Horas	Medición 72 Horas	Medición 168 Horas.
Grupo Control	69,7381	70,1736	67,3549	65,8803	67,665
Grupo tratado con solución al 25%	77,6956	79,5147	78,6736	77,9465	77,1044
Grupo tratado con solución al 50%	76,5247	77,7966	78,8002	77,07	77,6783
Grupo tratado con solución al 75%	77,9925	76,632	77,5232	79,7333	78,0142

Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Gráfico N°2.** Resultados colorimétricos Muestra N°2 de cada grupo: Coordenadas L\*/Tiempo.



Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Análisis e Interpretación:** El cuadro N°6 se observan los resultados de la muestra N°2 arrojados por el procesamiento automatizado posterior al tratamiento de los grupos de estudio mediante la solución de extracto de *Vitis vinifera*, demostrando que los valores obtenidos por las propiedades ópticas reflejadas en las coordenadas del sistema CIELAB.

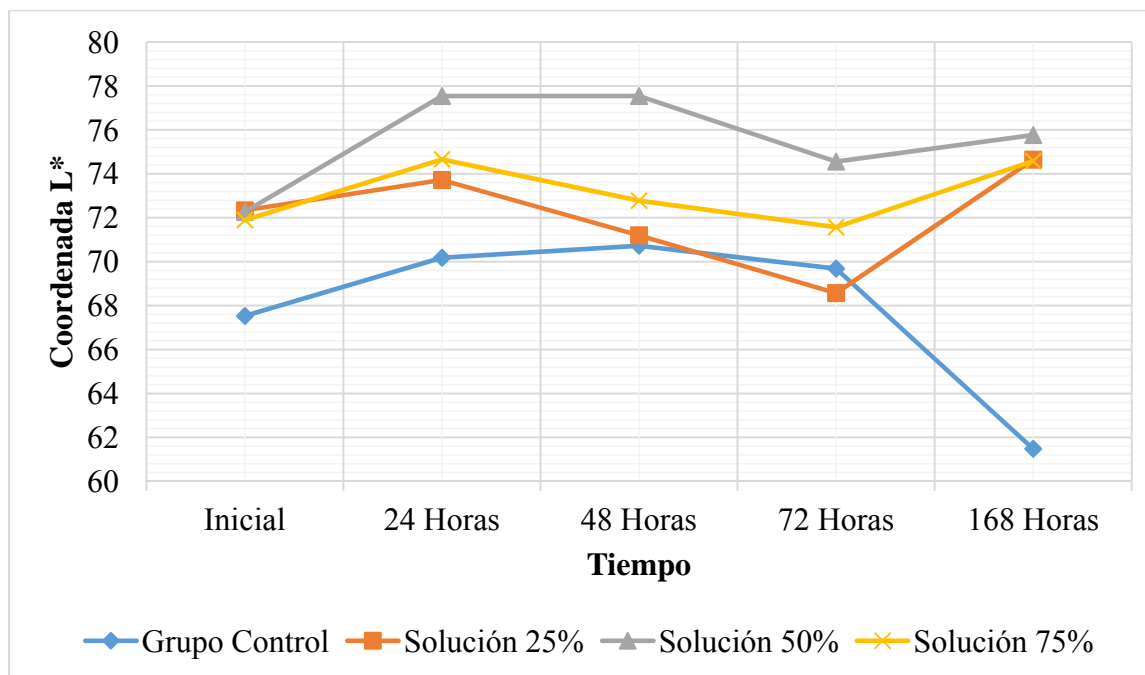
Seguidamente el gráfico N°2 se aprecia la luminosidad establecida en la coordenada L\*, lo que se interpreta como una inhibición de la actividad proteolítica de las MMPs en los tres (3) grupos tratados, logrando un mantenimiento de las propiedades reflejadas en la difusión de la luz característica de las fibras colágenas. Donde el grupo control (no tratado) presento una variación mayor de -2,0731, mientras que los grupos tratados variaron 25% en -0,5912, 50% en 1,1536, 75% en 0,0217. En consecuencia, el grupo de estudio que presento menor variación de la coordenada L\* fue el 75% en base al criterio de evaluación establecido, siendo la solución de *Vitis vinifera* en 75% la que posee mayor capacidad inhibitoria.

**Cuadro N°7.** Resultados colorimétricos de las coordenadas L\* Muestra N°3 de cada grupo.

Grupo/Tiempo	Medición Inicial	Medición 24 Horas	Medición 48 Horas	Medición 72 Horas	Medición 168 Horas.
Grupo Control	67,527	70,1814	70,7253	69,6813	61,4801
Grupo tratado con solución al 25%	72,337	73,7198	71,2004	68,5691	74,6438
Grupo tratado con solución al 50%	72,2638	77,5422	77,5422	74,5556	75,7646
Grupo tratado con solución al 75%	71,8964	74,6574	72,7769	71,5694	74,5812

Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Gráfico N°3.** Resultados colorimétricos Muestra N°3 de cada grupo: Coordenadas L\*/Tiempo.



Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Análisis e Interpretación:** El cuadro N°7 se observan los resultados de la muestra N°3 arrojados por el procesamiento automatizado posterior al tratamiento de los grupos de estudio mediante la solución de extracto de *Vitis vinifera*, demostrando que los valores obtenidos por las propiedades ópticas reflejadas en las coordenadas del sistema CIELAB.

Asimismo en el gráfico N°3 se aprecia la luminosidad establecida en la coordenada L\*, lo que se interpreta como una inhibición de la actividad proteolítica de las MMPs en los tres (3) grupos tratados, logrando un mantenimiento de las propiedades reflejadas en la difusión de la luz característica de las fibras colágenas. Donde el grupo control (no tratado) presentó una variación de -6,0469, mientras que los grupos tratados variaron 25% en 2,3068, 50% en 3,5008, 75% en 2,6848. En síntesis, el grupo de estudio que presentó menor variación de la coordenada L\* fue el

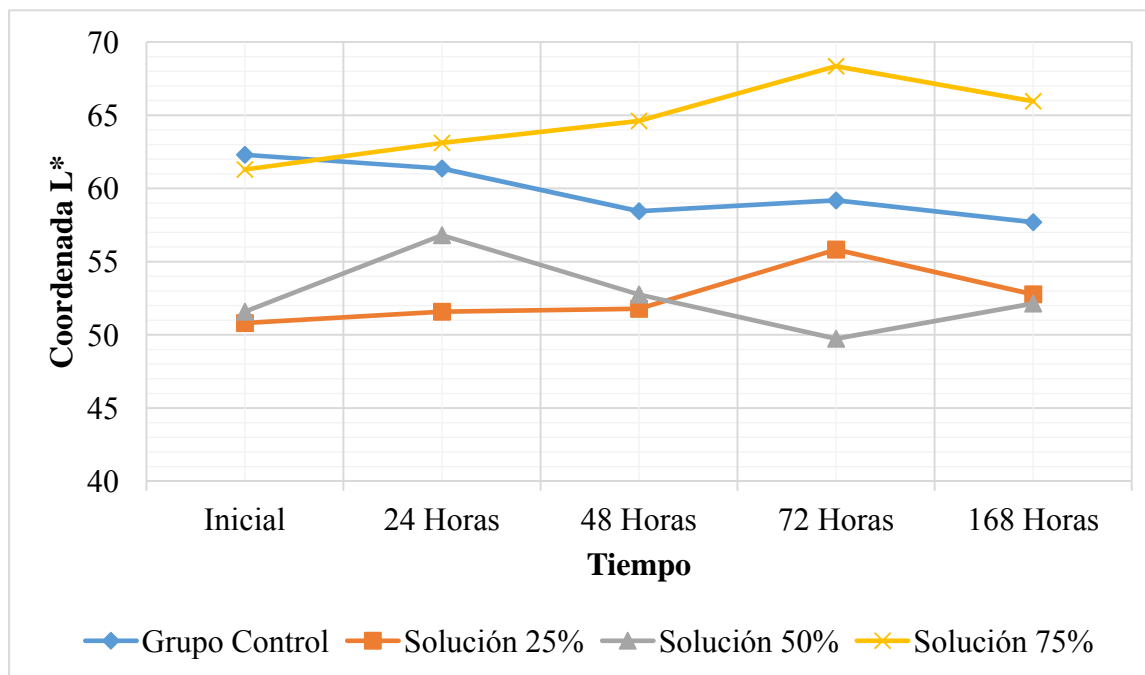
25% en base al criterio de evaluación establecido, siendo la solución de *Vitis vinifera* en 25% la que posee mayor capacidad inhibitoria.

**Cuadro N°8.** Resultados colorimétricos de las coordenadas L\* Muestra N°4 de cada grupo.

Grupo/Tiempo	Medición Inicial	Medición 24 Horas	Medición 48 Horas	Medición 72 Horas	Medición 168 Horas.
Grupo Control	62,3007	61,3644	58,4448	59,1852	57,6944
Grupo tratado con solución al 25%	50,8025	51,5803	51,7994	55,8243	52,7699
Grupo tratado con solución al 50%	51,5801	56,8063	52,7568	49,7366	52,1367
Grupo tratado con solución al 75%	61,2951	63,1101	64,6095	68,3495	65,9586

Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Gráfico N°4.** Resultados colorimétricos Muestra N°4 de cada grupo: Coordenadas L\*/Tiempo.



Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Análisis e Interpretación:** El cuadro N°8 se observan los resultados de la muestra N°4 arrojados por el procesamiento automatizado posterior al tratamiento de los grupos de estudio mediante la solución de extracto de *Vitis vinifera*, demostrando que los valores obtenidos por las propiedades ópticas reflejadas en las coordenadas del sistema CIELAB.

De la misma manera en el gráfico N°4 se aprecia la luminosidad establecida en la coordenada L\*, lo que se interpreta como una inhibición de la actividad proteolítica de las MMPs en los tres (3) grupos tratados, logrando un mantenimiento de las propiedades reflejadas en la difusión de la luz característica de las fibras colágenas. Donde el grupo control (no tratado) presento una variación de -4,6063, mientras que los grupos tratados variaron 25% en 1,9674, 50% en 0,5566, 75% en 4,6635. De tal modo el grupo de estudio que presento menor variación



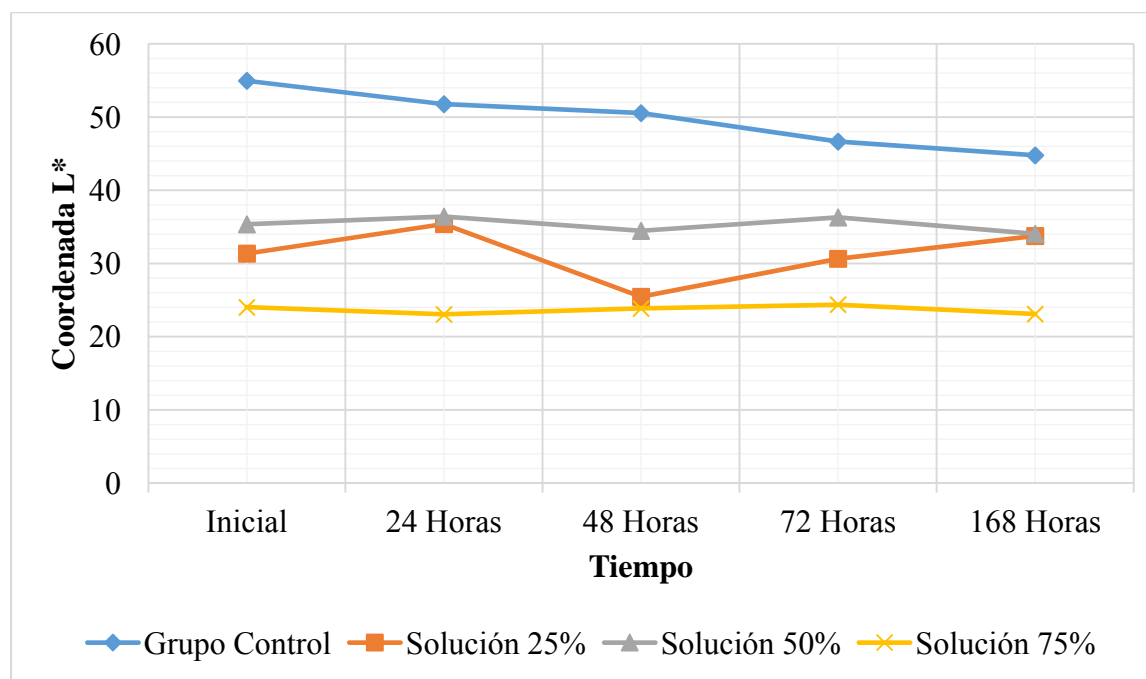
de la coordenada L\* fue el 50% en base al criterio de evaluación establecido, siendo la solución de *Vitis vinifera* en 50% la que posee mayor capacidad inhibitoria.

**Cuadro N°9.** Resultados colorimétricos de las coordenadas L\* Muestra N°5 de cada grupo.

Grupo/Tiempo	Medición Inicial	Medición 24 Horas	Medición 48 Horas	Medición 72 Horas	Medición 168 Horas.
Grupo Control	54,9668	51,7736	50,5523	46,6645	44,776
Grupo tratado con solución al 25%	31,3559	35,3902	25,4254	30,6436	33,7627
Grupo tratado con solución al 50%	35,3601	36,4114	34,4585	36,3015	34,0597
Grupo tratado con solución al 75%	24,0236	23,0535	23,8686	24,3787	23,1023

Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Gráfico N°5.** Resultados colorimétricos Muestra N°5 de cada grupo: Coordenadas L\*/Tiempo.



Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Análisis e Interpretación:** El cuadro N°9 se observan los resultados de la muestra N°5 arrojados por el procesamiento automatizado posterior al tratamiento de los grupos de estudio mediante la solución de extracto de *Vitis vinifera*, demostrando que los valores obtenidos por las propiedades ópticas reflejadas en las coordenadas del sistema CIELAB.

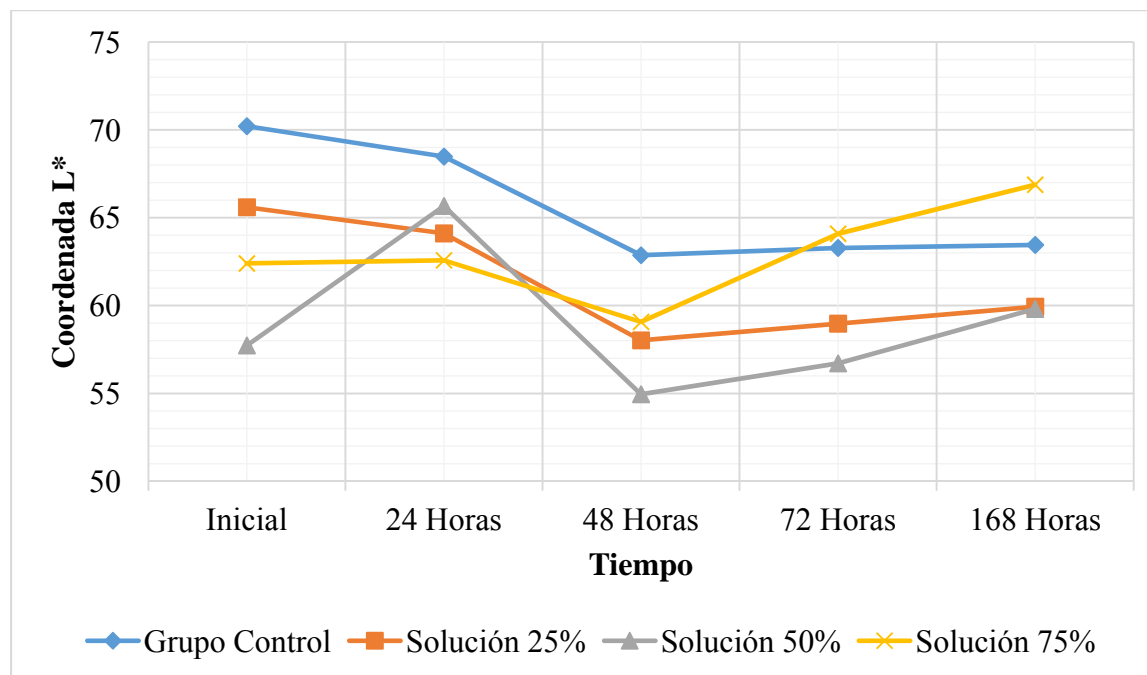
Además en el gráfico N°5 se aprecia la luminosidad establecida en la coordenada L\*, lo que se interpreta como una inhibición de la actividad proteolítica de las MMPs en los tres (3) grupos tratados, logrando un mantenimiento de las propiedades reflejadas en la difusión de la luz característica de las fibras colágenas. Donde el grupo control (no tratado) presento una variación de -10,1908, mientras que los grupos tratados variaron 25% en 2,4068, 50% en -1,3004, 75% en -0,9213. En conclusión, el grupo de estudio que presento menor variación de la coordenada L\* fue el 75% en base al criterio de evaluación establecido, siendo la solución de *Vitis vinifera* en 75% la que posee mayor capacidad inhibitoria.

**Cuadro N°10.** Resultados colorimétricos de las coordenadas L\* Muestra N°6 de cada grupo.

Grupo/Tiempo	Medición Inicial	Medición 24 Horas	Medición 48 Horas	Medición 72 Horas	Medición 168 Horas.
Grupo Control	70,2100	68,4819	62,8645	63,278	63,4538
Grupo tratado con solución al 25%	65,5980	64,1075	58,0217	58,9719	59,9374
Grupo tratado con solución al 50%	57,7271	65,6697	54,951	56,7094	59,8046
Grupo tratado con solución al 75%	62,3955	62,5732	59,0707	64,0887	66,8794

Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Gráfico N°6.** Resultados colorimétricos Muestra N°6 de cada grupo: Coordenadas L\*/Tiempo.



Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Análisis e Interpretación:** El cuadro N°10 se observan los resultados de la muestra N°6 arrojados por el procesamiento automatizado posterior al tratamiento de los grupos de estudio mediante la solución de extracto de *Vitis vinifera*, demostrando que los valores obtenidos por las propiedades ópticas reflejadas en las coordenadas del sistema CIELAB.

Adicionalmente en el gráfico N°6 se aprecia la luminosidad establecida en la coordenada L\*, lo que se interpreta como una inhibición de la actividad proteolítica de las MMPs en los tres (3) grupos tratados, logrando un mantenimiento de las propiedades reflejadas en la difusión de la luz característica de las fibras colágenas. Donde el grupo control (no tratado) presentó una variación de -6,7562, mientras que los grupos tratados variaron 25% en -5,6606, 50% en 2,0775, 75% en 4,4849. De esta manera, el grupo de estudio que presentó menor variación de la

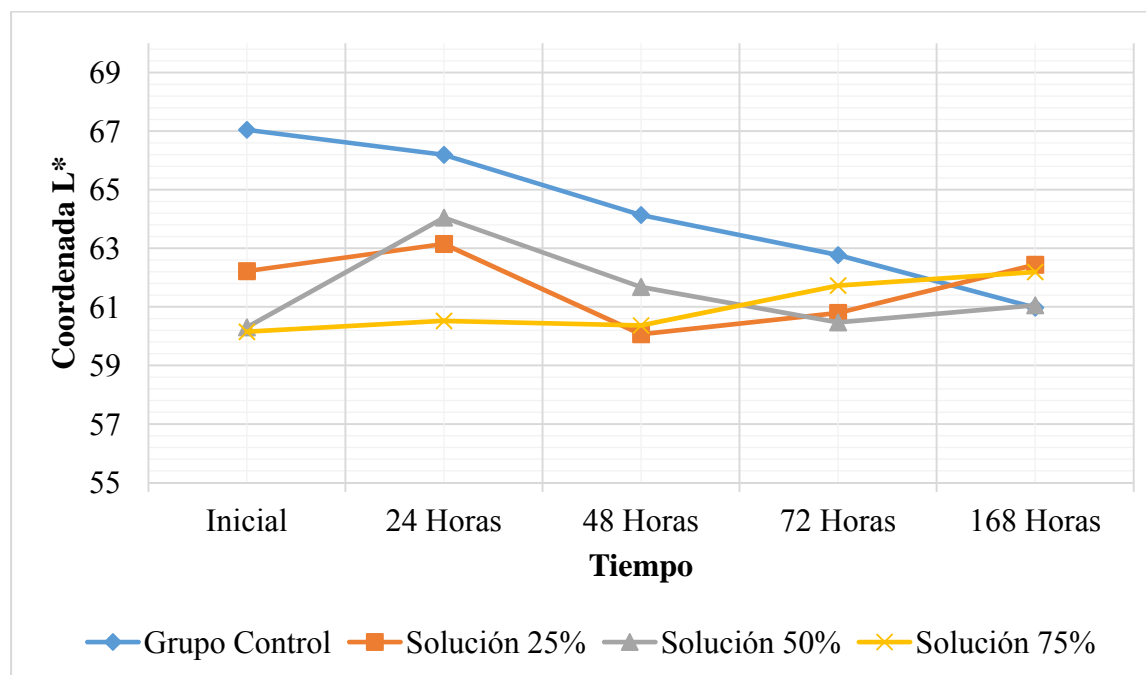
coordinada L\* fue el 50% en base al criterio de evaluación establecido, siendo la solución de *Vitis vinifera* en 50% la que posee mayor capacidad inhibitoria.

**Cuadro N°11.** Resultados colorimétricos de las coordenadas L\* de todas las muestras de cada grupo.

Grupo/Tiempo	Medición Inicial	Medición 24 Horas	Medición 48 Horas	Medición 72 Horas	Medición 168 Horas.
Grupo Control	67,0406	66,1931	64,135	62,7683	60,9747
Grupo tratado con solución al 25%	62,22	63,1488	60,0665	60,7933	62,4385
Grupo tratado con solución al 50%	60,3017	64,0472	61,6791	60,4674	61,0521
Grupo tratado con solución al 75%	60,1485	60,5196	60,3633	61,7254	62,1904

Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Gráfico N°7.** Promedio de resultados colorimétricos de todas las muestras de cada grupo: Coordenadas L\*/Tiempo.



Nota: Instrumento de observación Puente-Quintero.

**Análisis e Interpretación:** El cuadro N°11 se observa el promedio de los resultados de las seis (6) muestras estudiadas, arrojados por el procesamiento automatizado posterior al tratamiento de los grupos de estudio mediante la solución de extracto de *Vitis vinifera*, demostrando que los valores obtenidos por las propiedades ópticas reflejadas en las coordenadas del sistema CIELAB.

De tal manera en el gráfico N°7 se aprecia la luminosidad establecida en la coordenada L\*, lo que se interpreta como una inhibición de la actividad proteolítica de las MMPs en los tres (3) grupos tratados, logrando un mantenimiento de las propiedades reflejadas en la difusión de la luz característica de las fibras colágenas. Donde el grupo control (no tratado) presentó una variación de -6,0659, mientras que los grupos tratados variaron 25% en 0,2184, 50% en 0,7504, 75% en 2,0418. En conclusión el grupo de estudio que presentó menor variación fue el grupo tratado con la solución de extracto de *Vitis vinifera* en 25%, seguido por 50%, 75% y el grupo control. Por ende el grupo de estudio que presentó mayor inhibición fue el grupo de estudio de 25%.

#### ***Análisis de la varianza de los resultados.***

El análisis de los resultados relativos a la variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L presentada en el análisis de colorimetría, en unidades dentales permanentes obtenido 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* en las concentraciones 25%, 50% y 75%, requirió un contraste no paramétrico en razón de que el tamaño de la muestra es pequeña. Así, se seleccionó un contraste de hipótesis por prueba de dependencia para más de dos muestras independientes, para lo cual se aplicó la prueba ANOVA H de Kruskal – Wallis evaluado en el siguiente tratamiento estadístico:

Basado en las hipótesis específica planteada, las hipótesis estadísticas correspondientes enunciadas fueron:

- Hipótesis de Nulidad 01 ( $H_{01}$ ): La variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada  $L^*$  en las unidades dentarias a las 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* es la misma independientemente del porcentaje de concentración de la solución utilizada.
- Hipótesis de Investigación 11 ( $H_{11}$ ): La variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada  $L^*$  en las unidades dentarias a las 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* difiere en función del porcentaje de concentración de la solución utilizada.

En tal sentido, simbólicamente:

$$H_{01}: VL_{25} = VL_{50} = VL_{75} \quad H_{11}: VL_{25} \neq VL_{50} \neq VL_{75}$$

Donde:

- $VL_{25}$  = Variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* al 25% de concentración.
- $VL_{50}$  = Variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* al 50% de concentración.
- $VL_{75}$  = Variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* al 75% de concentración.

Estas hipótesis se contrastaron con un índice de significación  $\alpha = 0,05$ .

Los resultados del procedimiento obtenido con el programa SPSS 20 fueron:

**Cuadro N°12.** Resumen del procedimiento H de Kruskal – Wallis de dependencia de la Variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L\* 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* en los dientes permanentes según el grado de concentración de la solución.

<b>Rangos</b>			
	Concentración de la solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i>	N	Rango promedio
Variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L	25%	6	8,67
	50%	6	8,17
	75%	6	11,67
	Total	18	

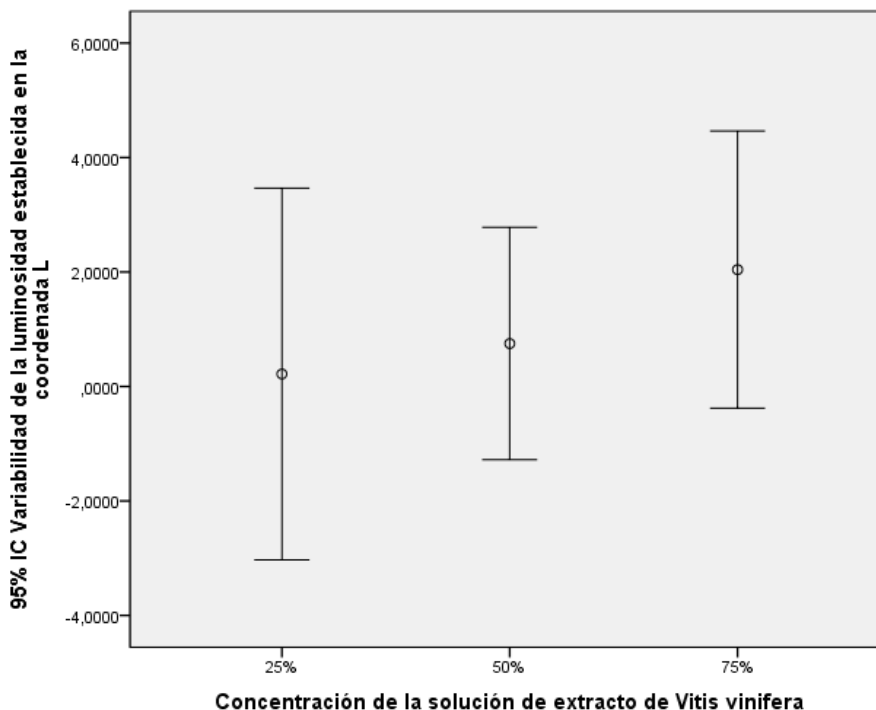
**Estadísticos de contraste<sup>a,b</sup>**

	Variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L
Chi-cuadrado	1,509
gl	2
Sig. asintót.	,470

a. Prueba de Kruskal-Wallis

b. Variable de agrupación:  
Concentración de la solución de extracto de *Vitis vinifera*

**Gráfico N°7.** Barras de error simple de la Variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* en los dientes permanentes según el grado de concentración de la solución.



**Análisis e interpretación:** El cuadro número 12 presenta el p-valor asociado (Sig. asintót.) igual a 0,470 mayor que  $\alpha = 0,05$ ; luego al 95% de nivel de confianza no se rechaza la hipótesis nula ( $H_{014}$ ). Dado que las diferencias encontradas entre las tres medias de rangos no son estadísticamente significativas, se puede afirmar que la variabilidad de la luminosidad establecida en la coordenada L en las unidades dentarias a las 168 horas después de ser tratadas con la solución de extracto de *Vitis vinifera* es la misma independientemente del porcentaje de concentración de la solución utilizada. En particular puede observarse que las medias de los rangos correspondientes a las concentraciones 25%, 50% y 75% de la solución de extracto de *Vitis vinifera* son similares entre sí.



## *Discusión*

Una vez realizada la fase experimental, analizada e interpretado todos los datos y resultados obtenidos, se procedió a realizar una discusión exhaustiva entre los antecedentes establecidos al inicio de la investigación actual presentada por los autores. Donde se busca no solo compara y constatar los antecedentes con la investigación, sino resaltar y enfatizar los resultados obtenidos. Obteniendo la siguiente discusión:

Pereira V. et al., (2016), en su investigación demostraron que las Metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs), especialmente MMP-2 y MMP-9, se ven relacionadas con el desarrollo del germen dental y la proliferación e invasión de tumores odontogénicos, así como actúan en la progresión de las lesiones cariosas y progresión de la periodontitis apical en pacientes con necrosis pulpar. Destacando que las MMPs poseen una gran utilidad en diferentes áreas de las ciencias odontológicas, jugando un rol como posibles biomarcadores.

De la misma manera en otro estudio realizado por, Hidalgo R., (2006), profundizó en la relación de las Metaloproteinasas (MMPs) con la progresión de las lesiones cariosas, específicamente ubicadas en dentina. Enfatizando el rol del sistema inmune enzimático del huésped como un coadyuvante en la progresión de las lesiones cariosas, especialmente por las MMPs, brindando un nuevo entendimiento de la caries dental como enfermedad y otorgando numerosas posibilidades de prevención y tratamientos innovadores enfocados en esa área.

Dichos estudios concuerda con las investigaciones realizadas por los autores en las bases teóricas, donde se muestra el rol de las Metaloproteinasas (MMPs) en la progresión de la caries dental en esmalte y dentina, y la incidencia del sistema inmune enzimático del huésped. Así

como la importancia de su estudio en la creación de nuevos métodos de prevención y tratamiento ante tal patología.

Donde la parte experimental se demostró en la mayoría los grupos estudiados, en mayor grado en los seis (6) grupos controles no tratados, presentaron una degradación de la matriz de dentina posterior a la activación de la actividad proteolítica, específicamente en sus fibras colágenos. Dicho cambio estructural de la dentina se evidencio mediante una modificación de sus propiedades ópticas, específicamente de la coordenada  $L^*$  del sistema CIELAB correspondiente con la luminosidad, el cual fue analizado mediante una técnica colorimétrica y un proceso de automatización a través el software ImageJ.

Por otro lado, Montagner AF. et al., (2014) realizo una revisión sistemática sobre el estudio de inhibidores de las metaloproteinasas de matriz (MMPs) durante el proceso adhesivo de la unión resina-dentina inmediata y a largo plazo. Donde el inhibidor más utilizado fue la clorhexidina, y demostrando que el uso de inhibidores de las MMPs no afectan la fuerza de enlace inmediata en general.

Así mismo Sabatini C. et al., (2014), determino la inhibición de las MMPs por parte del desensibilizador de dentina Gluma (Glutaraldehído al 5.0% y HEMA al 35% en agua). Mediante una parte experimental donde se expuso la dentina en haces, los cuales fueron tratados con ácido fosfórico (PA) al 37% durante 15 segundos con la finalidad de activar la actividad proteolitica de las MMPs. Posteriormente fueron tratados en Gluma durante 5, 15, 30 o 60 segundos, lavados e incubados. Donde los resultados afirman que los tratados con Gluma inhibio la actividad total de MMP de la dentina grabada con acido, estableciendo que el Gluma contribuye a la preservación de las interfaces adhesivas por sus propiedades.

De esta manera se evidencia en ambas investigaciones la profundización en alternativas de inhibidores de las MMPs con la finalidad de preservar la matriz de dentina, y su participación en el interfaz adhesiva y sus propiedades. De igual forma a la investigación presentada, donde se emplea el uso de una solución de extracto de *Vitis vinifera* como alternativa de inhibidor de las MMPs que permita favorecer en el área odontológica restauradora. La cual se caracteriza y distingue de las presentadas en las dos investigaciones anteriores por ser de origen natural y no sintético o artificial, en tal sentido evita el desarrollo de una resistencia bacteriana y cuenta con una biodisponibilidad ideal para un material odontológico que interactúa con diferentes tejidos.

Adicionalmente, una investigación realizada por Khaddam M. et al., (2014) con la finalidad de evaluar la capacidad de un enjuague bucal GSE para prevenir la degradación de la matriz de dentina desmineralizada por MMP-3. Realizando bloques estandarizados de dentina, desmineralizados con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y pre-trataron con diferentes sustancias, como: GSE (0.2% p / v), fluoruro de amina (AmF) (20% p / v), enjuague bucal que contiene ambos, placebo, fluoruro de sodio ( $0.15 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), PBS, Digluconato de clorhexidina (CHX), cloruro de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ).

En tal sentido, la investigación por Khaddam M. et al., (2014) concuerda con los resultados obtenidos en la presente investigación, demostrando que la solución de GSE implementada en el 2014 y la solución de extracto de *Vitis vinifera* aplicada en el 2022 por los autores poseen una capacidad inhibitoria de las MMPs, logrando reducir considerablemente la degradación de la matriz de dentina. Brindando en consecuencia resultados alentadores en su uso como inhibidor de las MMPs en el campo de la odontología restauradora moderna.

Debido a que al profundizar en el estudio y uso de la solución de extracto de *Vitis vinifera* utilizada por los autores, y al efectuar la parte experimental se demostró un contraste entre la modificación de las propiedades ópticas de la dentina a consecuencia de las MMPs entre los grupos de estudio. Donde el grupo control no tratado presentó una mayor modificación de la coordenada L\* del sistema CIELAB, correspondiente con la luminosidad, en comparación con los otros tres (3) grupos tratados con la solución de extracto de *Vitis vinifera*. Donde la variación en el grupo control fue de -6,0659, mientras que los grupos tratados variaron 25% en 0,2184, 50% en 0,7504, 75% en 2,0418, presentado en el Cuadro N°11.

En consecuencia, se determina la capacidad inhibitoria de la solución de extracto de *Vitis vinifera* en el proceso de degradación de la matriz de dentina por las metaloproteínas (MMPs), debido a que los grupos de estudio tratados con la solución no percibieron una modificación considerable de sus propiedades ópticas en comparación con el grupo control no tratado.

Asimismo, Dang La V., et al., (2009) profundizó en su estudio el efecto del extracto de semilla de uva (GSE) en la secreción de MMPs por macrófagos derivados de monocitos humanos estimulados por lipopolisacárido (LPS) de *Aggregatibacter actinomycetem comitans* y en la actividad de MMP - 1 y -9 recombinante humano. Donde los macrófagos fueron tratados en diferentes concentraciones de GSE antes de ser estimulados, siendo evaluado por un ensayo inmuno absorbente ligado a enzimas (ELISA) y el efecto GSE se probó mediante ensayos fluorogénicos, demostrando que el GSE inhibió la secreción de diferentes MMPs, concluyendo que el GSE puede ser utilizado en el desarrollo de trastornos mediados por MMPs en el área odontológica.

Al igual que la investigación experimental realizada por Dang La V., et al., (2009), los autores utilizaron una solución de extracto de *Vitis vinifera* en diferentes concentraciones, específicamente en 25%, 50% y 75%, con la finalidad de comparar la efectividad de dicha solución.

En tal sentido los resultados de la parte experimental permiten comparar la capacidad inhibitoria de la degradación de la matriz de dentina por las MMPs en un medio In Vitro de las diferentes concentraciones, donde se evidencia los resultados diferentes de acuerdo a la concentración. De acuerdo al Cuadro N°11 y Gráfico N°7, se aprecia que el grupo de estudio tratado con menor variación fue 25% en 0,2184, seguido por 50% en 0,7504, y 75% en 2,0418.

En síntesis se aprecia de forma descriptiva que con una concentración de 25% de la solución de extracto de *Vitis vinifera* se logra un mayor grado de inhibición, siendo la concentración con mayor grado de efectividad en comparación con las demás. Asimismo el grupo de estudio tratado en concentración de 50% obtuvo resultados igualmente alentadores, logrando un grado de inhibición cercano al de 25%. No obstante, el grupo de estudio tratado con la solución concentrada de 75% presentó una variación de +2,0418, siendo mayor en comparación con los otros dos grupos de estudio tratados, la posible causa de esta variación posiblemente se encuentra en las propiedades de la solución, el cual al tener una concentración tan elevada se muestra como una solución heterogénea.

Asimismo, se realizó un análisis de varianza mediante la prueba ANOVA H de Kruskal – Wallis presentado anteriormente, donde se evidencia que la variación presentada entre las tres medidas de rango no es estadísticamente significativa. En consecuencia, se afirma que la variabilidad de luminosidad fijada por las coordenadas L\* presentadas en las muestras a las 168

horas después de ser tratadas con la solución de *Vitis vinifera* es independientemente del porcentaje de concentración de dicha solución, estableciendo que las medidas de rangos de las concentraciones 25%, 50% y 75% estadísticamente son similares entre sí. Lo que significa que la efectividad de la capacidad inhibitoria de las MMPs respecto a la solución es independiente del porcentaje de la misma.

Otro estudio del GSE utilizado en el área de odontología fue realizado por Soligo L. et al., (2018), en esta oportunidad dicho estudio in vitro busco comprobar la eficacia de GSE, Ca (ClO) 2 y NaOCl con instrumentos rotativos o alternativos para la desinfección de los conductos radiculares inoculados con *E. faecalis*, donde los estudios llegan a la conclusión, que se aporta una novedosa y sintética solución irrigadora eficaz contra el *E. Faecalis* del GSE.

De forma similar a la investigación mencionada anteriormente, los autores abren una novedosa forma de uso la solución de extracto de *Vitis vinifera* en el área odontológica, brindando innumerables posibilidades a nuevas investigaciones más específicas, logrando de esta forma utilizar la solución no solamente en el área de la odontología restauradora sino en múltiples disciplinas de la profesión.

### **Conclusiones**

La presente investigación por los autores desarrolló una fase experimental que arrojó como resultado el diseño y la implantación a nivel de laboratorio del uso de solución de extracto de *Vitis vinifera* in vitro, permitiendo comprobar que la solución de extracto de *Vitis vinifera* inhiba la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs) en las concentraciones 25%, 50% y 75%. Adicionalmente se lograron realizar las siguientes conclusiones:

- Se estableció la presencia de una actividad proteolítica correspondiente a la degradación de matriz de dentina gracias a la presencia de las MMPs, debido a la variación de las coordenadas L\*, correspondiente a luminosidad de las seis (6) unidades dentarias y veinticuatro (24) grupos de estudio, reflejados en los cuadros N°5, N°6, N7, N°8, N°9 y N°10. Demostrando el rol importante el sistema inmune enzimático del huésped en la etapa inicial del desarrollo de la caries dental en dentina, específicamente las MMPs.
- Se determinó que la solución de extracto de *Vitis vinifera* posee una capacidad inhibitoria de la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs). Debido al grado de repetitividad de los resultados de los grupo de estudio tratados con la solución de extracto de *Vitis vinifera*, presentando niveles relativamente homogéneos de la coordenada L\* del sistema CIELAB, manifestando menores grados de variación en comparación con los grupo de estudio no tratados, reflejados en los gráficos N°1, N°2, N°3, N°4, N°5, N°6.
- Se comparó la capacidad inhibitoria de la solución en diferentes concentraciones, donde a nivel descriptivo el grupo de estudio tratado con la solución a una concentración de 25% presento menor modificación de sus propiedades ópticas, específicamente de sus coordenadas L\*. Lo que podría indicar que la solución de extracto de *Vitis vinifera* al 25% posee el mayor grado de efectividad inhibitoria.  
  
La concentración de 75% de solución presento mayor grado de variación en comparación, dicha variación posiblemente se deba a las propiedades de la misma y la característica heterogenia de la solución por la alta concentración de extracto de *Vitis vinifera*.

El análisis estadístico reflejó, que no existe una diferencia significativa a nivel estadístico en cuanto a la variación de la luminosidad registrada en las coordenadas L\* de las tres diferentes concentraciones, 25%, 50%, 75%. En tal sentido la variación presentada en la fase experimental de luminosidad de los grupos de estudio tratados con la solución de extracto de *Vitis vinifera* es independientemente del porcentaje de concentración de la solución, lo que se traduce en que se alcanza una efectividad de la capacidad inhibitoria de las MMPs por parte de la solución indistintamente del porcentaje de concentración.

### ***Limitaciones***

Al finalizar la presente investigación y demostrado mediante una fase documental, y una fase experimental que la solución de extracto de *Vitis vinifera* inhiba la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs). Se pueden establecer las limitaciones presentadas que fueron obstáculos o dificultades durante el desarrollo del trabajo.

- Durante el desarrollo de la investigación se presentó una pandemia que afectó a todo el mundo, y en especial a Venezuela. Presentándose una cuarentena que obligó a la suspensión de actividades en todos los centros y recintos educativos, del cual no se escapó la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, paralizando de esta manera el avance de la investigación por casi dos (2) años.
- Realidad en el territorio nacional respecto a la inestabilidad del servicio de la electricidad. Ante esta situación se vio afectada la fase experimental, donde se tuvo que idear métodos alternativos para solucionar la posibilidad de una falla del servicio eléctrico que afectara la preservación y mantenimiento de las muestras de unidades dentarias durante el desarrollo de la fase experimental.



- Elevado costo de equipos y reactivos requeridos para el estudio de enzimas presentes en la matriz de dentina, limitó las alternativas disponibles de estudio y análisis en la fase experimental.
- Falla del equipo espectrofotómetro antes de la realización de la fase experimental, el cual no fue posible adquirir otro equipo similar en el periodo de la fase experimental.
- Falta de investigaciones al respecto del uso del extracto de *Vitis vinifera* en el área odontológica, especialmente su relación con las Metaloproteinasas (MMPs). Así como también investigaciones respecto a inhibidores de las MMPs.
- Dificultad del manejo de la solución de extracto de *Vitis vinifera* en altas concentraciones, debido a sus propiedades, siendo una solución muy heterogénea.
- La solución de extracto de *Vitis vinifera* en sus componentes de fabricación se caracteriza por tener elementos oleosos, por consiguiente la misma en altas concentraciones puede llegar a afectar el sistema adhesivo en ciertas circunstancias.

### ***Recomendaciones***

Al concluir la presente investigación, y una vez comprobada la inhibición de la degradación de la matriz de dentina por las metaloproteinas (MMPs) mediante el uso de una solución de extracto de *Vitis vinifera* se puede establecer las siguientes recomendaciones:

- Realización de estudios complementarios que refuercen el uso de la solución de extracto de *Vitis vinifera* mediante análisis diferentes a las propiedades físicas, con la finalidad de brindar mayores respaldos para su aplicación In Vivo.
- De realizar estudios colorimétricos en el uso y función de la solución de extracto de *Vitis vinifera* implementar instrumentos de mayor exactitud, como lo es el espectrofotómetro.

- Realizar secciones de dentina, ya sea en haces o bloques, con la finalidad de evaluar las muestras de manera aisladas y minimizar el riesgo de contaminación entre las mismas.
- Diseñar estudios que presenten un mayor intervalo de tiempo de seguimiento, con la finalidad de analizar y obtener resultados en un margen de tiempo mucho mayor.
- Establecer un adecuado protocolo de toma, preservación y manejo de muestras. Con la finalidad de minimizar posibles errores.
- Implementar el uso de solución de extracto de *Vitis vinifera* en la interfaz del sistema adhesivo con la dentina, para brindar estudios complementarios que sustenten el uso y beneficio de dicha solución en el proceso restaurador.
- Investigar el funcionamiento de la solución de extracto de *Vitis vinifera* en unidades dentarias con procesos cariosos, en especial caries secundarias o recurrentes en restauraciones fallidas.
- Generar contenidos y estrategias dentro del plan de académico de las unidades curriculares de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo sobre la existencia, importancia y rol de las metaloproteinasas (MMPs) en la fisiopatología de la caries dental y otras patologías bucales.

## Referencias Bibliográficas

- Al-Ammar A, Drummond JL, Bedran-Russo AK. (2009). The use of collage cross-linking agents to enhance dentin bond strength. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*; 91 (1): 419-424. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19507140/>
- Arias F. G. (2016). *El proyecto de investigación – Introducción a la metodología científica (7ma edición)*. Venezuela: Editorial Episteme.
- Arocha, M. (2015). Propiedades ópticas del complejo dentina-esmalte y de los materiales restauradores directos e indirectos. *UIC Barcelona*. <https://www.tdx.cat/handle/10803/319459?locale-attribute=es#page=9>
- Barrancos, J. Mooney P. (2015). *Operatoria Dental: avances clínicos, restauraciones y estética (5ta edición)*. Argentina: Panamericana.
- Brickerhoff CE., Matrisian LM. (2002). Metaloproteinasas de matriz: una cola de rana que se convirtió en príncipe. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3(3): 207-14. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11994741>
- Canalda C. & Brau E (2014). *Endoncia: Técnicas Clínicas y Bases Científicas (3ra Edición)*. España: Editorial Masson.
- Carrilho M., Carvalho R., Goes M. (2007). Chlorhexidine Preserves Dentin Bond in vitro. *J Dent Res*. 86(1):90-4. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17189470/>
- Carrillo C. (2012). La caries secundaria y su adecuado. *ADM*, 69(6), 258-265. <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2012/od126c.pdf>
- Carvajal, J. J., Aristizábal, I. D., Oliveros, C. E., & Mejía, J. W. (2011). Colorimetría del Fruto de Café (*Coffea arabica* L.) Durante su Desarrollo y Maduración. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 64(2), 6229 -6240 <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/29414/29627>
- Chaussain-Miller C., Fioretti F., Goldberg M., Menashi S. (2006) El papel de las metaloproteinasas de la matriz (MMP) en la caries humana. *J Dent Res* 85(1): 22-32 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16373676>
- Cheng Y., (1995). “Mean shift, Mode Seeking, and Clustering”, *IEEE Trans., Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol 17(8): 790-799.
- Comanicu D. I., (2000). Nonparametric Robust Method for Computer Visión, *Ph.D. thesis, New Brunswick, Rutgers, The State University of New Jersey, January, 2000*.
- Comanicu D. I. & Meer P., (2002). “Mean Shift: A Robust Approach Toward Feature Space Analysis”, *IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intellingence*, Vol 24(5).
- Dang La V., Bergeron C., Gafner S., Grenier D. (2009). Grape Seed Extract Suppresses Lipopolysaccharide-Induced Matrix Metalloproteinase (MMP) Secretion by Macrophages and Inhibits Human MMP-1 and -9. *Activities* 80:1875-1882. <https://aap.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.2009.090251>

- Duque J., Pérez J., I Hidalgo-Gato. (2006). Caries dental y ecología bucal, aspectos importantes a considerar. *Revista Cubana de Estomatología* 43(1) [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75072006000100007&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100007&lng=es&tlng=es).
- Espinoza, J. E. (2017). Efecto del tratamiento térmico sobre el color y el contenido de Carotenoides totales en salsas de Ajíes (*Capsicum Spp*) nativos. (Tesis para optar el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias). *Universidad Nacional Agraria, Lima, Perú*. <https://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/1370424>
- Farias F., Falótico G., (2014). *Compendio de Microbiología Bucal* (2da edición). Venezuela: IPAPEDI.
- Figueroa-Gordon M. (2009). Caries Secundaria. *Acta Odontologica Venezolana*, 47(2), 1-12. <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/2/art-24/#>
- Fukunaga K. & Hostetler L. D., (1975). “The Estimation of the Gradient of a Density Function”, *IEEE Trans., Information Theory*, Vol 21: 32-40.
- Gaceta Oficial N° 5554, Ext. Del 2001. Ley Sobre Sustancias, Materiales y Desechos Peligrosos.
- Gendron R., Grenier D., Sorsa T., Mayrand D. (1999). Inhibition of the Activities of Matrix Metalloproteinases 2, 8, and 9 by Chlorhexidine. *ClinDiagnLabImmunol*. 6(3): 437-9. <https://cvi.asm.org/content/6/3/437.long>
- Gonzalez R. C. & Woods R. R. (1992). Digital image processing. *Addison-Wesley Publishing Company*.
- Gonzalez R. C. & Woods R. R. (2002). Digital image processing. *Prentice Hall, Inc., New Jersey*.
- Hidalgo R. (2006). Las metaloproteinasas y el progreso de la lesion cariosa en dentina. *Estomatol Herediana*, 16(1):64-72. <https://revistas.upch.edu.pe/index.php/REH/article/view/1934>
- Hurtado de Barrera Jacqueline (2012). *El proyecto de investigación: Comprensión holística de la metodología y la investigación (Septima Edición)*. Venezuela: Ediciones Quirón.
- Khaddam M, Salmon B, Le Denmat D, Tjaderhane L, Menashi S, Chaussain C, Rochefort GY y Boukpepsi T. (2014). Los extractos de semilla de uva inhiben la degradación de la matriz de la dentina por MMP-3. *Frente. Fisiol*. 5:425. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4215787/#\\_ffn\\_sectitle](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4215787/#_ffn_sectitle)
- Konica-Minolta. (2017). Control de Color en la Industria Alimenticia: El Color de la Calidad. *Obtenido de Konica Minolta Sensing Americas, Inc.:* <http://sensing.konicaminolta.com.mx>
- Lalli, M. A., Langmade, J. S., Chen, X., Fronick, C. C., Sawyer, C. S., Burcea, L. C., Wilkinson, M. N., Fulton, R. S., Heinz, M., Buchser, W. J., Head, R. D., Mitra, R. D., & Milbrandt, J. (2021). Rapid and Extraction-Free Detection of SARS-CoV-2 from Saliva by Colorimetric Reverse-Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification. *Clinical chemistry*, 67(2), 415–424. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7665435/>

- López P. Lorena (2015). Análisis comparativo de la influencia en el color marginal tras la colocación de pilares de zirconio y titanio sobre implantes en el sector anterior. *Universidad Complutense De Madrid, Facultad De Odontología*. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/37275/1/An%C3%A1lisis%20comparativo%20tras%20la%20colocacion%20de%20pilares%20de%20zirconia%20o%20titanio%20sobre%20implantes%20en%20el%20sector%20a.pdf>
- Mayoral, J. R., Arocha, M. A., Domínguez, S., Roig, M., & Ardu, S. (2013). In vivo spectrophotometric evaluation of pure enamel and enamel-dentine complex in relationship with different age groups. *Journal of dentistry*, 41(12), 1245–1250. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.09.005>
- Mazzoni A., Scaffa P., Carrilho M., Tjäderhane L., Di Lenarda R., Polimeni A., Tezvergil-Mutluay A., Tay F.R., Pashley DH., Breschi L. (2013). Effects of Etch-and-Rinse and Self-etch Adhesives on Dentin MMP-2 and MMP-9. *Journal of Dental Research* 92(1):82–86. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3521453/#!po=68.1818>
- Mazzoni A., Tjäderhane L., Checchi V., Di Lenarda R., Salo T., Tay F., Pashley D., Breschi L. (2015). Role of Dentin MMPs in Caries Progression and Bond Stability. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine* 94(2), 241–251. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4300303/>
- McInecnet T. & Terzopoulos (1996). “Deformable Models in Medical Image Analysis: A Survey”. *Medical Image Analysis*, 1(2)
- Mckee Trudy & Mckee JamesR. (2003) *Bioquímica: Las bases de la Vida* (3da Edición). España: S.A. McGraw-Hil
- Melgosa, M., Ruiz-López, J., Li, C., García, P. A., Della Bona, A., & Pérez, M. M. (2020). Color inconstancy of natural teeth measured under white light-emitting diode illuminants. *Dental Materials*, 36(12), 1680-1690. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0109564120302682?via%3Dihub>
- Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias (2011). Código de Ética para la Vida. [http://www.locti.co.ve/inicio/repositorio/doc\\_details/50-codigo-de-etica-para-la-vida-republica-bolivariana-de-venezuela-.html](http://www.locti.co.ve/inicio/repositorio/doc_details/50-codigo-de-etica-para-la-vida-republica-bolivariana-de-venezuela-.html)
- Montagner AF, Sarkis-Onofre R, Pereira-Cenci T, Cenci MS. (2014). Inhibidores de MMP sobre la estabilidad de la dentina: una revisión sistemática y metaanálisis. *J Dent Res.*; 93(8):733-43 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24935066>
- Organización Mundial de la Salud-OMS 1 (2005). *Manual de bioseguridad en el laboratorio* (3ra edición). Ginebra: OMS. [https://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](https://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf)
- Organización Mundial de la Salud-OMS 2. (Febrero, 2018). *El Sistema Global de Vigilancia de Resistencia Antimicrobiana (VIDRIO). Resistencia Antimicrobiana, Hechos Claves*. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

- Organización Mundial de la Salud-OMS 3. (Septiembre, 2018). *Salud Bucodental, Datos y Cifras. Salud Oral Mundial*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/oral-health>
- Otsu N. (1979). "A threshold selection method form gray-level histograms". *IEEE Transaction on System, Man, and Cybernetic, Vol. SMC-9(1), January 1979*.
- Pan, Q. y Westland, S. (2018). Color de dientes y blanqueamiento: tecnologías digitales. *Revista de odontología*, 74, S42-S46. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300571218301040?via%3Dihub>
- Paladino SC, Zuritz CA., (Abril, 2011). Extracto de semillas de vid (*Vitis vinífera* L.) con actividad antioxidante: eficiencia de diferentes solventes en el proceso de extracción. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.*; 43(1): 187-199. <https://www.redalyc.org/pdf/3828/382837648013.pdf>
- Pereira V., Asquino N., Apellaniz D., Bueno R, Tapia G., Bologna M.; (2016) Metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) en Odontología. *Odontoestomatología*, 18(28) <http://www.scielo.edu.uy/pdf/ode/v18n28/v18n28a04.pdf>
- Polychronakis, N., Lagouvardos, P., Polyzois, G., & Ngo, H. C. (2020). Intra-and inter-brand color differences of denture teeth under different illuminations. *Journal of Applied Oral Science*, 28. <https://www.scielo.br/j/jaos/a/QjLBFZFHRHhSneggJfCWROB/?lang=en>
- Ramírez-Navas, J. S. (2010). Espectrocolorimetría en caracterización de leche y quesos. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, 61, 52 - 58. [https://www.academia.edu/28352670/Espectrocolorimetr%C3%ADa\\_de\\_leche\\_y\\_quesos](https://www.academia.edu/28352670/Espectrocolorimetr%C3%ADa_de_leche_y_quesos)
- Ramírez T. (2010). *Como hacer un proyecto de investigación. (1ra edición)*. Venezuela: Editorial Panapo.
- Ramón Jiménez R., Casteñada M., Corona M., Estrada G., Quinzán A. (2016). Factores de riesgo de caries dental en escolares de 5 a 11 años. *Medisan* 20(6): 648. <http://www.medisan.sld.cu/index.php/san/article/view/457/pdf>
- Rodríguez de M., Lucena N., Navaja C., Pulgar R., (2018). Particularidades ópticas y morfológicas de los dientes que les confieren individualidad. (I) *Revista Europea de Odontoestomatología. Nov, 2018*.
- Rodríguez, Roberto y Sossa, Juan. (2012). *Procedimiento y análisis digital de imágenes (1ra Edición)*. México: Alfaomega Grupo Editor.
- Sabatini C., Scheffel D., Agee Kelli, Rouch K, Tkahashi M., Breschi L., MazzoniA., Tjäderhane L., Tay Franklin., Pashley D. (2014). Inhibition of endogenous human dentin MMPs by Gluma. *Dental Materials*, 30 (7): 752-758. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4159091/>
- Sahoo P. K., Soltani S. & Wong A. K. C. (1988). "A survey of Thresholding Techniques". *Computer Vision, Graphics, and Image Processing* 41, 233-260, 1988.
- Sandoval M., Lazarte K., Arnao I. (2008). Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vifera* L. (Uva). *An Fac Med* 69(4): 250-9. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832008000400006&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832008000400006&script=sci_arttext&tlng=en)

- Santos, P. (2009). Medición del color. *Revista técnica de Centro de Zaragoza*, 42, 16-20. [http://www.centro-zaragoza.com:8080/web/sala\\_prensa/revista\\_tecnica/hemeroteca/articulos/R42\\_A3.pdf](http://www.centro-zaragoza.com:8080/web/sala_prensa/revista_tecnica/hemeroteca/articulos/R42_A3.pdf)
- Sampieri R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014) *Metodología de la investigación* (sexta edición). McGraw-Hill.
- Soligo L., Lodi E., Farina A., Souza M, Pimenta C., Cecchin D. (Octubre, 2018). Eficacia antibacteriana de soluciones de irrigantes endodónticos novedosos sintéticos y derivados naturales. *Braz. Abolladura. J.* 29(5) [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-64402018000500459&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-64402018000500459&lng=en&tlng=en)
- Thompson J., Agee K., Sidor S., McNally K., Borke J., Elsalanty M., Tay F., Pashley D. (2012). Inhibition of endogenous dentin matrix metalloproteinases by ethylenediaminetetraacetic acid. *J Endod* 38(1):62–65. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22152622/>
- Tjäderhane L., Larjava H., Sorsa T., Uitto VJ., Larmas M., Salo T. (1998) The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentinmatrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 77(8):1622-9. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9719036/>
- Tjäderhane L., Sulkala M., Sorsa T., Teronen O., Larmas M., Salo T. (1999). The Effect of MMP Inhibitor Metastat on Fissure Caries Progression in Rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 878:686-688. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10415808/>
- Tjäderhane L., Nascimento F., Breschi L., Mazzoni A., Tersariol I., Geraldini S., Tezvergill-Mutluay A., Carrilho M., Carvalho R., Tay F., Pashley D. (2013). Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dent Mater* 29(1):116-135. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3684081/>
- Toledano M., Yamauti M., Osorio E., Osorio R. (2012). La degradación de colágeno mediada por MMP inhibida por zinc después de diferentes procedimientos de desmineralización de la dentina. *Caries Res.* 46(3):201-7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22516944/>
- Ureña J. Prieto J. & Pastor G (2004) *Microbiología Oral* (2da Edición). España: S.A. McGraw-Hil
- Vásquez, A. M. (2015). Estimación de las coordenadas CIEL\*a\*b\* en concentrados de tomate utilizando imágenes digitales. (Tesis para optar al título de Magister en Ingeniería Agroindustrial). *Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia.* <https://docplayer.es/25488429-Estimacion-de-las-coordenadas-ciel-a-b-en-concentrados-de-tomate-utilizando-imagenes-digitales-andrea-melisa-vasquez-riascos.html>
- Visse R., Nagase H. (2003). Metaloproteinasas de matriz e inhibidores tisulares de metaloproteinasas. *Circulation research* 92(8). <https://www.ahajournals.org/doi/full/10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D>
- Vola, J. (2015.). Influencia de los inhibidores de las metaloproteinasas, agentes reticuladores y remineralización biomimética en la longevidad de la unión adhesiva. Parte III. Agentes Reticuladores. *EN: Actas Odontológicas, Vol. XII, no.2, pp. 12-21.* <https://revistas.ucu.edu.uy/index.php/actasodontologicas/article/view/915>

- Wu CD (2009). Productos de uva y salud bucal. *The Journal of Nutrition*, 139 (9), 1818S – 23S.  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2728698/?tool=pmcentrez&report=abstract>
- Xu Ch., et al., (2000). Image segmentation Using Deformable Models, *SPIE Handbook on Medical Imaging, Medical Image Analysis*, Edited by J. M. Fitzpatrick and M. Sanka. Vol. III (3): 129-174 (2000)





## Anexo A

### Instrumento de Recolección de Datos

UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La presente guía de observación se utilizará como instrumento de recolección de datos en la investigación titula “Inhibición De Las Metaloproteinas Presentes En La Matriz De La Dentina A Través Del Extracto De *Vitis vinifera*. Estudio In Vitro” con la finalidad de desarrollar el procedimiento experimental donde se busca comprobar que la solución de extracto de *Vitis vinifera* inhiba la degradación de la matriz de dentina de las metaloproteinas (MMPs) en las concentraciones de 25%, 50% y 75% in vitro.

#### Instrucciones del instrumento

Se observan diferentes preguntas con la finalidad de manifestar los cambios presentados en la matriz de dentina tratados con metaloproteinas (MMPs) y la solución de extracto de *Vitis vinifera* en diferentes concentraciones.

### Análisis de Colorimetría

Corresponde al análisis de colorimetría, deberá responder en la única casilla con el valor correspondiente de acuerdo a la Escala CIELAB obtenido correspondiente de acuerdo al enunciado manifestado.

N°	Indicadores: Análisis de Colorimetría	Valor				
		Inicial	24 Horas	48 Horas	72 Horas	168 Horas
1	Coordenadas L*					
A	Grupo Control					
B	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 25%					
C	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 50%					
D	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 75%					
2	Coordenadas a*					
A	Grupo Control					
B	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 25%					
C	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 50%					
D	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 75%					
3	Coordenadas b*					
A	Grupo Control					
B	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 25%					
C	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 50%					
D	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 75%					
5	Ubicación exacta en la Escala CIELAB					
A	Grupo Control					
B	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 25%					
C	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 50%					
D	Grupo tratado con solución de extracto de <i>Vitis vinifera</i> en su concentración de 75%					



Anexo B

UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

FORMATO PARA VALIDAR INSTRUMENTOS A TRAVÉS DEL JUICIO DE EXPERTOS

A continuación, se presentan una serie de categorías para validar los ítems que conforman este instrumento, en cuanto a cinco (5) aspectos específicos y otros aspectos generales. Para ello, se presentan dos (2) alternativas (Sí-No) para que usted seleccione la que considere correcta.

Instrumento: Validación de instrumento de la investigación *“INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA ESTUDIO IN VITRO”*.

Experto: Dra. Mariela Pérez Domínguez

ÍTEMS	ASPECTOS ESPECÍFICOS									
	Claridad en la redacción		Coherencia interna		Inducción a la respuesta		Mide lo que pretende		Lenguaje adecuado con el nivel que se trabaja	
	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No
1	x		x		X		x		x	
2	x		x		X		x		x	
3	x		x		X		x		x	
4	x		x		X		x		x	
5	x		x		X		x		x	
6	x		x		X		x		x	

ASPECTOS GENERALES	SÍ	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones para las respuestas	x		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación	x		
Los ítems están presentes en forma lógica-secuencial	x		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa su respuesta, sugiera los ítems que hagan falta	x		

## OBSERVACIONES:

---

---

---

---

---

---

---

VALIDEZ			
APLICABLE	<input checked="" type="checkbox"/>	NO APLICABLE	<input type="checkbox"/>
APLICABLE ATENDIENDO A LAS OBSERVACIONES			<input type="checkbox"/>

**Validado por:** Mariela Pérez Domínguez

**Cédula de Identidad:** 7.144.139

**Fecha:** 13/7/2022

**E-mail:** mdperez1@uc.edu.ve

**Teléfonos(s):** 04244956321

**Firma:**



13/7/2022



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**Facultad de Odontología**  
**Dpto. Formación Integral del Hombre**  
**Metodología de Investigación**

Valencia, 2022

*CONSTANCIA DE VALIDACIÓN*

Yo, MARIELA PEREZ DOMINGUEZ, en mi carácter de Odontólogo y experto hago constar que he leído y revisado el instrumento para la recolección de datos de la investigación que desarrollan los ciudadanos Moisés Quintero CI: 24244932 y Gerardo Puente C.I: 25519215 que lleva por título **INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA. ESTUDIO IN VITRO**, y por consiguiente certifico la validación del instrumento al determinar la adecuada presentación, pertenencia de la variable y congruencia con la misma, lo cual permitirá la recolección necesaria para la investigación.

Carta de Validación que se expide en Valencia, a los 13 días del mes julio del 2022.

**Atentamente**

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Mariela Perez Dominguez', with the date '13/7/2022' written below it.

**Firma del Validador**

**C.I: 7.144.139**



Anexo C

UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

FORMATO PARA VALIDAR INSTRUMENTOS A TRAVÉS DEL JUICIO DE  
EXPERTOS

A continuación, se presentan una serie de categorías para validar los ítems que conforman este instrumento, en cuanto a cinco (5) aspectos específicos y otros aspectos generales. Para ello, se presentan dos (2) alternativas (Sí-No) para que usted seleccione la que considere correcta.

Instrumento: Validación de instrumento de la investigación *“INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA ESTUDIO IN VITRO”*.

Experto: Tibusay Matheus

ÍTEMS	ASPECTOS ESPECÍFICOS									
	Claridad en la redacción		Coherencia interna		Inducción a la respuesta		Mide lo que pretende		Lenguaje adecuado con el nivel que se trabaja	
	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No
1	x		x		x		x		x	
2	x		x		x		x		x	
3	x		x		x		x		x	
4	x		x		x		x		x	
5	x		x		x		x		x	
6	x		x		x		x		x	

ASPECTOS GENERALES	SÍ	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones para las respuestas	x		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación	x		
Los ítems están presentes en forma lógica-secuencial	x		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa su respuesta, sugiera los ítems que hagan falta	x		

## OBSERVACIONES:

---

---

---

---

---

---

---

VALIDEZ			
APLICABLE	<input checked="" type="checkbox"/>	NO APLICABLE	<input type="checkbox"/>
APLICABLE ATENDIENDO A LAS OBSERVACIONES			<input type="checkbox"/>

**Validado por:** MgSc Tibisay Matheus Lobo

**Cédula de Identidad:** 10.106.854

**Fecha:** 15/07/2022

**E-mail:** Tibisay\_matheus@hotmail.com

**Teléfonos(s):** 0414-4156615

**Firma:** *Tibisay Matheus*



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**Facultad de Odontología**  
**Dpto. Formación Integral del Hombre**  
**Metodología de Investigación**

Valencia, 2022

*CONSTANCIA DE VALIDACIÓN*

Yo, TIBISAY MATHEUS LOBO, en mi carácter de Farmacéutica y experto hago constar que he leído y revisado el instrumento para la recolección de datos de la investigación que desarrollan los ciudadanos Moisés Quintero CI: 24244932 y Gerardo Puente C.I: 25519215 que lleva por título **INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA- ESTUDIO IN VITRO**, y por consiguiente certifico la validación del instrumento al determinar la adecuada presentación, pertenencia de la variable y congruencia con la misma, lo cual permitirá la recolección necesaria para la investigación.

Carta de Validación que se expide en Valencia, a los 15 días del mes Julio del 2022.

**Atentamente**

*Tibisay Matheus*

**Firma del Validador**

**C.I: 10.106.854**





Anexo D

UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FORMACIÓN INTEGRAL DEL HOMBRE  
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

FORMATO PARA VALIDAR INSTRUMENTOS A TRAVÉS DEL JUICIO DE  
EXPERTOS

A continuación, se presentan una serie de categorías para validar los ítems que conforman este instrumento, en cuanto a cinco (5) aspectos específicos y otros aspectos generales. Para ello, se presentan dos (2) alternativas (Sí-No) para que usted seleccione la que considere correcta.

Instrumento: Validación de instrumento de la investigación *“INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA ESTUDIO IN VITRO”*.

Experto: Douglas Rodríguez

ÍTEMS	ASPECTOS ESPECÍFICOS									
	Claridad en la redacción		Coherencia interna		Inducción a la respuesta		Mide lo que pretende		Lenguaje adecuado con el nivel que se trabaja	
	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No	Sí	No
1	x		x		x		x		x	
2	x		x		x		x		x	
3	x		x		x		x		x	
4	x		x		x		x		x	
5	x		x		x		x		x	
6	x		x		x		x		x	

ASPECTOS GENERALES	SÍ	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones para las respuestas	x		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación	x		
Los ítems están presentes en forma lógica-secuencial	x		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa su respuesta, sugiera los ítems que hagan falta	x		

## OBSERVACIONES:

---

---

---

---

---

---

---

---

VALIDEZ			
APLICABLE	<input checked="" type="checkbox"/>	NO APLICABLE	<input type="checkbox"/>
APLICABLE ATENDIENDO A LAS OBSERVACIONES			<input type="checkbox"/>

**Validado por:** Dr. Douglas Rodríguez

**Cédula de Identidad:** 4.857.307

**Fecha:** 27/07/2022

**E-mail:** drgrodriguez@hotmail.com

**Teléfonos(s):** 0414-4269098

**Firma:**



---



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO**  
**Facultad de Odontología**  
**Dpto. Formación Integral del Hombre**  
**Metodología de Investigación**

Valencia, 2022

*CONSTANCIA DE VALIDACIÓN*

Yo, DOUGLAS RODRIGUÉZ, en mi carácter de odontólogo y experto hago constar que he leído y revisado el instrumento para la recolección de datos de la investigación que desarrollan los ciudadanos Moisés Quintero CI: 24244932 y Gerardo Puente C.I: 25519215 que lleva por título **INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA- ESTUDIO IN VITRO**, y por consiguiente certifico la validación del instrumento al determinar la adecuada presentación, pertenencia de la variable y congruencia con la misma, lo cual permitirá la recolección necesaria para la investigación.

Carta de Validación que se expide en Valencia, a los 29 días del mes Julio del 2022.

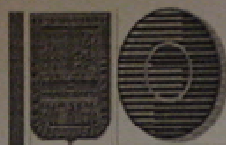
**Atentamente**

**Firma del Validador**

**C.I: 4.857.307**

## Anexo E

## Carta de permisología – Práctica Profesionales Integral del Adulto II



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
Facultad de Odontología  
Dpto. Formación Integral del Hombre  
Metodología de Investigación

Valencia, 12 de julio de 2022

Dirigido a:

Od. Esp. Patricia Mazzei

Coordinadora de Prácticas Profesionales Integral del Adulto II

**CARTA DE PERMISOLOGIA**

Respetuosamente nos dirigimos a usted para solicitar autorización para acceder a las instalaciones del área de Cirugía Maxilofacial de 5to año del periodo académico 2022, con el propósito de obtener muestras biológicas para la investigación realizada por los bachilleres: **Puente Gerardo V-25.519.215** y **Quintero Moisés V-24.244.932** el cual lleva por título: **INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA -ESTUDIO IN VITRO.**

Bajo la tutoría de la Od. Esp. **Roba Izzeddin** como tutor de contenido y la **Lieda. Nubia Brito M.**, como tutora de metodología de la investigación. Este trabajo forma parte de la línea de investigación **Biotecnología (UNIMPA)**, es de tipo descriptiva, cuantitativa y el diseño es de campo, experimental.

La información suministrada es enteramente confidencial y se empleara con fines netamente académico investigativo el cual, los investigadores se comprometen en informar a la Dirección de Escuela de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo cualquier avance o nuevo hallazgo. Como beneficio la investigación y sus resultados permitirán generar datos de interés en el área de investigación, además de engrosar la producción científica de la citada línea.

Finalmente, este procedimiento cumple con el respectivo a la Legislación Nacional según el código de Ética Para La Vida (2011). En espera de una pronta respuesta.

Atentamente,

Moisés Quintero

C.I:24.244.932

Moisés Quintero

Gerardo Puente

CI: 25.519.215

Gerardo Puente

Firma de aceptación:

Nombre y Apellido:

Anexo E

Patricia Mazzei  
12/07/2022  
Dra. Patricia Mazzei Puente  
Odontóloga  
Permisología UNIMPA  
R.D. 15.277.000-105.841  
C.O.V. 20.865 - C.O.C. 117



## A QUIEN PUEDA INTERESAR

Yo, **Prof. Graciela.Nicita.Russo**, portadora de la C.I. N° 7.122.071, Directora General del Instituto de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (IIMBUC) hace saber por medio de la presente, que los **Br(s).Gerardo Puente**, titular de la Cedula de Identidad N° V- 25.519.215, y **Moisés Quintero**, titular de la Cedula de Identidad N° V- 24.244.932 realizaron trabajo de Investigación titulado "INHIBICION DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVES DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA. ESTUDIO IN VITRO" en el Laboratorio de nuestro Instituto.

En Valencia a los 15 días del mes de Noviembre del año dos mil Ventidos.

Atentamente

  
Prof. Graciela.Nicita.Russo

Directora General



Universidad de Carabobo, frente a la Facultad de Ingeniería, Av. Universidad  
Bárbula - Edo. Carabobo. Telefax: 58-241-8666243.  
e-mail: cimbuuc.edu.ve@hotmail.com

*Carta de permisología – IIMBUC*

## Anexo G

## Carta de permisología – Dirección de Escuela



Naguanagua, 11 de julio de 2022

Dirección de Escuela de Odontología

Universidad de Carabobo

Presente. -

Estimada directora de escuela nos dirigimos con el fin de solicitar permiso pertinente para el desarrollo experimental del trabajo de investigación que llevara por título "INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEINAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA. ESTUDIO IN VITRO". por lo cual se requiere la aprobación para el acceso a las instalaciones del instituto de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo.

Es pertinente mencionar que las tutoras de contenido es la Doctora Roba Izzeddin CI 15.398.614, docente de la Facultad de Odontología y la profesora de la unidad curricular Metodología de Investigación es la profesora Nubia Brito.

Asi mismo, es de alto interés para los autores de esta investigación se pueda desarrollar en las instalaciones del Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo, además, es importante señalar que esta actividad no conlleva ningún gasto para la institución, además la presente investigación traerá beneficios científicos y académicos a tal unidad de investigación, también se tomaran todas las medidas de Bioseguridad pertinentes en el caso.

Los estudiantes que llevaran a cabo esta actividad son: Gerardo Puente y Moisés Quintero.

Le agradecemos por su tiempo, sin otro particular a que hacer referencia, en espera de pronta y positiva respuesta.

Atentamente

Gerardo Puente

CI: 24.244.932

Moisés Quintero

CI: 24.244.932

Teléfonos de contacto

0412-4890258

0426-9323168

UNIVERSIDAD DE CARABOBO FACULTAD DE ODONTOLOGIA DIRECCIÓN DE ESCUELAS	
Fecha:	10/11/22 Hora: 10:54am
Recibido por:	
Firma:	

## Anexo H

## Constancia de la Unidad de Investigación Morfopatológicas



Universidad de Carabobo  
Facultad de Odontología  
Unidad de Investigaciones Morfopatológicas  
UNIMPA



CAU-20-2022

## CONSTANCIA

Quien suscribe, Coordinadora de la Unidad de Investigaciones Morfopatológicas (UNIMPA), Prof. Mariela Pérez Domínguez, hago constar que el proyecto de investigación, PIP-BS-14-22: *"INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEÍNAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS vinifera ESTUDIO IN VITRO"*, enmarcado dentro de la Línea de Investigación, Biología y Salud, Temática, Patología General y Bucal, Subtemática, Caries Dental. Diagnóstico y Tratamiento, presentado por, Br. Moisés Quintero., portador de la Cédula de Identidad V- 24.244.932 y Br. Puente Gerardo., portador de la Cédula de Identidad V- 25.519.215, se encuentra adscrito en la UNIMPA.

Constancia que se emite, a solicitud de la parte interesada a los nueve días del mes de agosto del dos mil veintidós.

Atentamente,



Prof. Mariela Pérez Domínguez  
Coordinadora de la Unidad de Investigaciones Morfopatológicas  
(UNIMPA)

## Anexo I

## Constancia de la Comisión de Bioética



UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
COMISIÓN OPERATIVA DE BIOÉTICA Y BIOSEGURIDAD

## CERTIFICADO BIOÉTICO

FECHA: 11/11/2022

N° de control COBB: Tg-17-2022

TIPO DE TRABAJO: Ascenso ( ) Informe de investigación ( ) Trabajo de grado (x)

Responsables de la Investigación:

1.- Gerardo José Puente Colmenarez	C.I. Nro V-25.519.215
2.- Moisés Salvador Quintero Peñarrubia	C.I. Nro V-24.244.932
3.- Roba Izzeddin	C.I. Nro V-15.398.614

Título:

"Inhibición de las metaloproteínas presentes en la matriz de la dentina a través del extracto de *Vitis vinifera*. Estudio in vitro"

Las condiciones de aprobación, han sido previamente establecidas para la aplicación de esta investigación.

**La aprobación incluye:**

SE CERTIFICA QUE LA INFORMACIÓN CONTENIDA ES VERDADERA, COMO CONSTA EN LOS REGISTROS DE LA COMISIÓN OPERATIVA DE BIOÉTICA Y BIOSEGURIDAD DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA (COBB/FOUC).

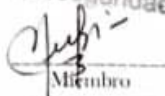
SE CERTIFICA QUE LA INVESTIGACIÓN ESTÁ EN TOTAL ACUERDO CON LAS PAUTAS, PROPUESTAS Y REGULACIONES NACIONALES E INTERNACIONALES ESTABLECIDAS A TAL EFECTO.

EL CUMPLIMIENTO DE LA NORMATIVA DE APROBACIÓN INICIAL, LA ETAPA DE SEGUIMIENTO, COMO EL RESGUARDO DE LOS CONSENTIMIENTOS INFORMADOS APLICADOS, SON RESPONSABILIDAD DEL INVESTIGADOR (E5).

**CERTIFICADO BIOÉTICO** EMITIDO POR LA COMISIÓN OPERATIVA DE BIOÉTICA Y BIOSEGURIDAD DE LA FOUC, REQUISITO PREVIO A LA PRESENTACIÓN PÚBLICA DE LA INVESTIGACION.

  
Coordinador (a)

Universidad de Carabobo  
Facultad de Odontología  
Comisión de Bioética y  
Bioseguridad

  
Miembro

  
Secretario (a)





*Anexo J*

UNIVERSIDAD DE CARABOBO  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN  
*Consentimiento Informado*

El presente trabajo tiene como objetivo realizar un estudio experimental en las muestras obtenidas de los pacientes que firmen dicho consentimiento informado. Con la finalidad de probar de forma experimental una nueva solución a base del extracto de VITIS VINIFERA (semilla de uva) que ayude a inhibir las metaloproteínas en dentina, las cuales generan un deterioro de las restauraciones permitiendo la creación y avance de la caries en dentina. En tal sentido se buscan nuevas alternativas para aumentar la durabilidad de las restauraciones y suprimir el surgimiento de caries secundarias

Al firmar este documento declaro y manifiesto en pleno uso de mis facultades mentales, libre y espontáneamente mi consentimiento a los investigadores **GERARDO JOSÉ PUENTE COLMENAREZ CI: 25.519.215** y **MOISÉS SALVADOR QUINTERO PEÑARRUBIA CI: 24.244.932**, quienes se encuentran bajo el acompañamiento y tutela de las docentes **ROBA IZZEDDIN CI 15.398.614**, para que me tomen como parte de la muestra requerida para su investigación, la cual se encuentra adscrita a la Línea de Investigación de Biotecnología en el Área de Salud Pública y Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo; la cual se titula **“INHIBICIÓN DE LAS METALOPROTEÍNAS PRESENTES EN LA MATRIZ DE LA DENTINA A TRAVÉS DEL EXTRACTO DE VITIS VINIFERA. ESTUDIO IN VITRO”**. Para tales fines autorizo y doy fe de lo siguiente:

1. He sido informado por parte de los investigadores del estudio a realizar, indicando que dicha investigación presenta como objetivo principal: Comprobar que la Solución de extracto de Vitis vinifera inhiba la degradación de la matriz de dentina de las metaloproteínas (MMPs) en las concentraciones de 25%, 50% y 75%, in vitro, para ello, se tomará una muestra representada por unidades dentarias, los cuales deben cumplir con los criterios de inclusión y exclusión planteados en la investigación.
2. Para el presente estudio aportaré mis unidades dentarias, con fines netamente científicos, alusivos a la investigación que se está efectuando.
3. Al ser elegido para este estudio por contar con los requisitos establecidos por los investigadores, mi participación ha sido notificada y voluntaria, además cuento con la opción, aún iniciada la investigación, de retirarme en el momento que yo decida, sin que me vea afectado.
4. Entiendo que no se me generará ningún gasto, molestia o perjuicio, como tampoco recibiré ningún aporte o pago por la participación en la investigación.
5. La investigación se llevara a cabo en un tiempo de un año aproximado.
6. Comprendo que los resultados de la investigación me serán proporcionados, así como cualquier nuevo avance en el área me será notificado, también los resultados del estudio podrán ser presentados en evento o publicación científica.
7. Puente Colmenares Gerardo José y Quintero Peñarrubia Moisés Salvador, de cedula de identidad V-25.519.215 y V-24.244.932 respectivamente, y número de teléfono móvil 0426-9323168/ 0412-48902258/0414-4192306 respectivamente, serán quienes deba contactar en caso de que tenga alguna pregunta sobre la investigación o sobre mis derechos como participante.

*Finalmente, este procedimiento se inscribe en el buen trato a los participantes en investigaciones científicas, garantizando el cumplimiento de los principios bioéticos, según Código de Ética Para la Vida (2011).*

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre y Apellido del Participante: \_\_\_\_\_

Cédula de Identidad: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_ Municipio de procedencia: \_\_\_\_\_

Nombre legible del investigador 1: \_\_\_\_\_

Cédula de Identidad: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Nombre legible del investigador 2: \_\_\_\_\_

Cédula de Identidad: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Nombre legible del testigo1: \_\_\_\_\_

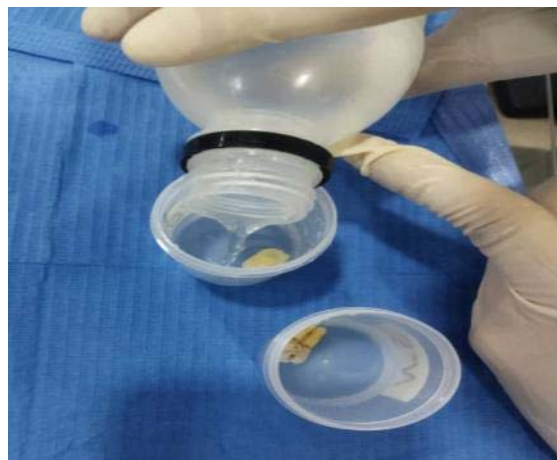
Cédula de Identidad: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Nombre legible del testigo 2: \_\_\_\_\_

Cédula de Identidad: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

*Anexo K***Procedimientos de la Fase Experimental***Almacenamiento de las muestras*

Saliva artificial y solución de *Vitis vinifera* en diferentes concentraciones



Almacenamiento de las muestras en saliva artificial.



Almacenamiento de las muestras en la estufa a 37 G°.

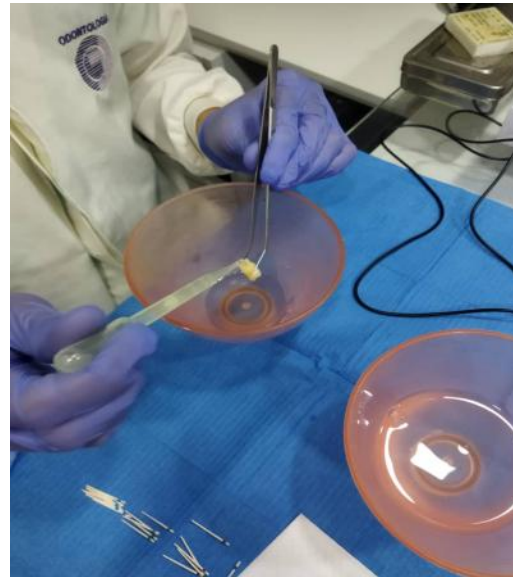


Estufa Blue M

## Procesamiento de las Muestras



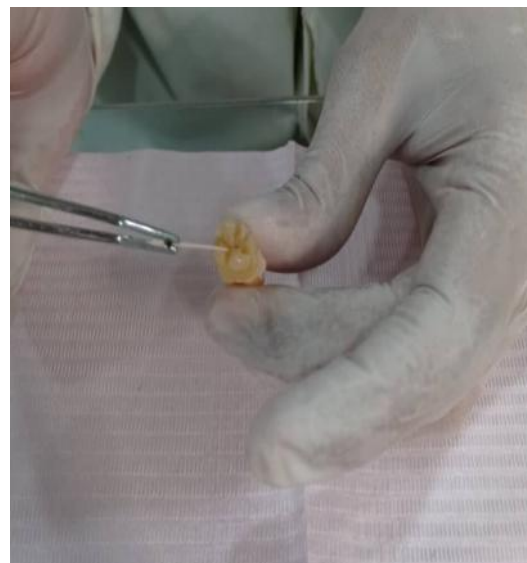
Preparación de las cavidades



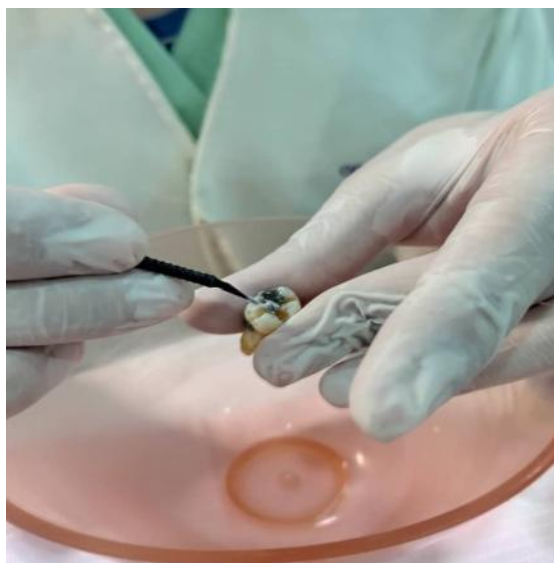
Lavado de las muestras



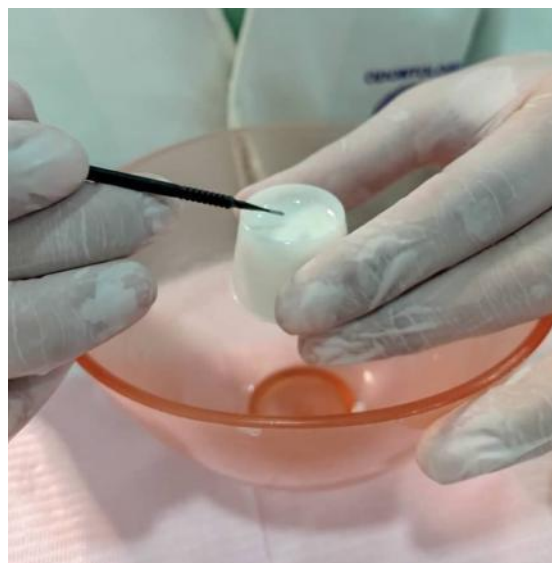
Activación de la actividad proteolítica mediante grabado ácido por 15 segundos.



Secado de la muestra con puntas de papel



Aplicación de la solución de extracto de *Vitis vinifera* en la cavidad.



Aplicación de la solución de extracto de *Vitis vinifera* mediante microbrush.



Obtención de las mediciones mediante microscopio.



Fotografía obtenida mediante el microscopio para su estudio colorimétrico.