

# ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE BIOPSIA PARA DETERMINACIÓN DE FLUORURO EN ESMALTE DENTAL<sup>1</sup>

## BIOPSY TECHNIQUE STANDARDIZATION TO DETERMINE FLUORIDE CONTENT IN DENTAL ENAMEL

<sup>2</sup> Lina María Marín.

<sup>3</sup> Jaime E. Castellanos.

<sup>4</sup> Livia Tenuta.

<sup>5</sup> Stefania Martignon.

<sup>6</sup> Jaime Cury.

### Resumen

**Introducción.** El fluoruro incorporado en el esmalte dental durante el período preeruptivo refleja su exposición sistémica durante la amelogénesis, proponiéndose el esmalte como marcador biológico de exposición a fluoruros. En Colombia, no existen estudios en que se emplee la técnica de biopsia de esmalte, la cual permite determinar el gradiente de concentración de fluoruro por medio de la estructura del esmalte dental.

**Objetivo.** Estandarizar la técnica de biopsia de esmalte y determinar la concentración de fluoruro en el esmalte de dientes sanos no erupcionados.

**Métodos.** Previa firma del consentimiento informado, se recolectaron cinco terceros molares no erupcionados sanos y de cada uno se obtuvieron dos bloques de esmalte a partir del tercio medio de la corona, en

### Abstract

**Introduction.** Pre-eruptive incorporation of fluoride into dental enamel reflects its systemic exposition during amelogenesis, leading to the use of dental enamel as a biomarker of fluoride exposure. There are not reported studies in Colombia using the enamel biopsy technique, which allows the determination of the fluoride distribution pattern throughout dental enamel.

**Aim.** To standardize the enamel biopsy technique and determine the fluoride content in the enamel of sound unerupted teeth.

**Methods.** With ethical approval and informed consent forms, there were collected 5 third unerupted molar-teeth and of each tooth it were obtained two enamel blocks from the middle third of the crown, in a cross-sectional way. All surfaces were covered with acid-resistant wax

Recibido el 25/08/2013

Aprobado el 06/11/2013

1. Artículo de investigación original.
2. M.Sc., Unidad de Investigación en Caries – UNICA, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia. [Imaring@unbosque.edu.co](mailto:Imaring@unbosque.edu.co)
3. Ph.D., Facultad de Ciencias, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia. [castellanosjaime@unbosque.edu.co](mailto:castellanosjaime@unbosque.edu.co)
4. Ph.D., Bioquímica Oral, Facultad de Odontología de Piracicaba, Universidad Estatal de Campinas, Brasil. [litenuta@fop.unicamp.br](mailto:litenuta@fop.unicamp.br)
5. Ph.D., Unidad de Investigación en Caries – UNICA, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, D.C., Colombia. [martignonstefania@unbosque.edu.co](mailto:martignonstefania@unbosque.edu.co)
6. Ph.D., Bioquímica Oral, Facultad de Odontología de Piracicaba, Universidad Estatal de Campinas, Brasil. [jcury@fop.unicamp.br](mailto:jcury@fop.unicamp.br)

sentido transversal. Todas las superficies de cada bloque fueron cubiertas con cera, excepto la superficie externa del esmalte. Cada bloque fue tratado con HCl 0,5 M por 15, 30, 60 y 120 segundos bajo agitación constante. Se determinó la concentración de fluoruro en cada extracto, usando un electrodo de ion específico para el fluoruro y, la masa de esmalte removido (gramos) se calculó tras el análisis espectrofotométrico de fósforo inorgánico en la muestra. Se determinó la concentración de fluoruro en cada capa de esmalte removido (mg F/g de esmalte) y en todo el esmalte removido ( $\mu\text{g F/cm}^3$ ).

**Resultados.** Se encontró un gradiente de concentración de fluoruro desde la superficie hacia el interior del esmalte, siendo mayor la concentración en la superficie ( $1.663,49 \pm 266,61 \mu\text{g F/g}$  de esmalte). La concentración total de fluoruro en el volumen de esmalte removido fue de  $1,02 \pm 0,25 \mu\text{g F/cm}^3$ .

**Conclusiones.** La técnica de biopsia de esmalte fue estandarizada. Similar a lo reportado en la literatura científica, existe un gradiente de concentración de fluoruro desde la superficie hacia el interior del esmalte sano.

**Palabras clave:** esmalte, fluoruro, biopsia de esmalte.

## INTRODUCCIÓN

El esmalte dental está compuesto por minerales (95-96 % peso/peso) y en menor proporción por material orgánico (1 %) y agua (3 %) (1). Existen variaciones en la apatita del esmalte por sustituciones del hidroxilo por iones de fluoruro y carbonato (2). La mayor proporción del fluoruro presente en la estructura dental proviene de su administración por vía sistémica, ya sea por fluoración del agua de consumo humano o de la sal de cocina, medidas de salud pública para la prevención de la caries dental (3,4).

El fluoruro incorporado en el esmalte dental durante el período preeruptivo refleja su exposición sistémica durante la amelogenesis (5), por lo que el esmalte ha sido propuesto como marcador biológico de exposición a fluoruro (6). Los estudios realizados en dientes no erupcionados muestran un patrón de distribución de fluoruro en el esmalte dental con una concentración mayor en la superficie externa y menor hacia el interior del esmalte (7-11).

Se han reportado diferentes técnicas para el análisis de la concentración y el patrón de distribución de fluoruro

leaving the external enamel surface exposed, which were treated with 0.5M HCl for 15, 30, 60, and 120 seconds under constant agitation. Fluoride concentration was determined in each acid extract by means of a fluoride ion-specific electrode and the mass of removed enamel was established (grams) after Pi analyses. The fluoride content in each layer of removed enamel was determined ( $\mu\text{g F/g}$  enamel) and in the total of removed enamel ( $\mu\text{g F/cm}^3$ ).

**Results:** There was a fluoride distribution pattern from the surface to the inner enamel, being higher the fluoride concentration in the outer enamel surface ( $1663.49 \pm 266.61 \mu\text{g F/g}$  enamel). Total fluoride concentration in the total of removed enamel was  $1.02 \pm 0.25 \mu\text{g F/cm}^3$ .

**Conclusions:** Enamel biopsy technique was standardized. There was found a fluoride distribution pattern from the surface to the inner enamel, similar to the data reported in the literature.

**Key words:** enamel, fluoride, enamel biopsy.

a lo largo del espesor del esmalte dental (12,13), siendo la biopsia de esmalte una técnica sencilla de amplio uso en la investigación odontológica (14). A pesar de esto, en Colombia no se ha utilizado esta técnica y se requiere su adecuación metodológica, para ahondar en estudios in vitro sobre los elementos inorgánicos del esmalte.

Este trabajo pretende estandarizar la técnica de biopsia de esmalte y determinar la concentración de fluoruro en dientes sanos no erupcionados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestra

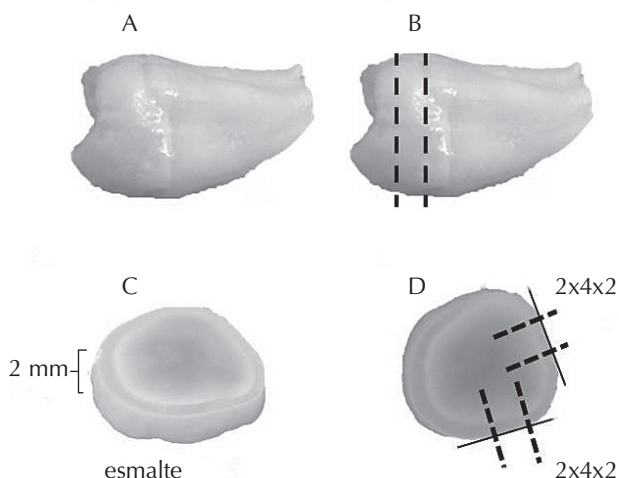
El estudio contó con el aval del Comité Institucional de Ética en Investigaciones de la Universidad El Bosque (UB.267.2010) y la firma del consentimiento informado. El tamaño de muestra correspondió a 10 bloques de esmalte ( $n=10$ ), obtenidos a partir de 5 molares no erupcionados.

En el primer semestre de 2012, se recolectaron dientes terceros molares no erupcionados, recién extraídos por razones ajenas a este estudio, provenientes de pacientes que asisten a las clínicas odontológicas de la Universidad El Bosque, hasta alcanzar el tamaño de la muestra.

Una vez extraídos, los dientes se almacenaron en un recipiente con una solución de timol al 0,02 % en PBS a 4 °C. Cada diente fue cuidadosamente limpiado con agua y una hoja de bisturí No. 15 para remover los fragmentos de tejido blando y óseo remanentes. Se seleccionaron cinco dientes clasificados como sanos por dos examinadores expertos, según los siguientes criterios: ausencia de fluorosis u otros defectos del desarrollo del esmalte, de alteraciones de tamaño o forma, y de daño mecánico asociado a la extracción dental. Posteriormente, los dientes fueron almacenados hasta su uso, por máximo 90 días.

Posteriormente, para obtener de cada pieza dos bloques de esmalte de 2 x 4 x 2 mm (ancho, largo, alto), los dientes fueron cortados transversalmente con dos discos diamantados separados 2 mm entre sí (Isomet 1000, Buehler), en el tercio medio de la corona hacia la cara de oclusión, para así obtener una muestra laminar de la corona de 2 mm de alto. A continuación, se ubicaron las regiones externas del esmalte que correspondieran a las zonas más planas de esmalte y en cada uno de esos sitios, usando los mismos discos, se hizo un corte para obtener el bloque de esmalte (figura 1).

Figura 1. Corte dental para obtención de bloques de esmalte. A.



Diente tercer molar no erupcionado. B. Corte transversal (línea discontinua) en el tercio medio de la corona con dos discos diamantados separados 2 mm entre sí. C. Obtención de una muestra laminar de 2 mm de alto de la corona. D. Corte (línea discontinua) con los mismos discos para obtener los bloques de esmalte a partir de las zonas en las que se observe la superficie externa más plana (línea continua).

## Biopsia de esmalte

La técnica de biopsia de esmalte consiste en la remoción de capas seriadas de esmalte tras la exposición de la superficie del esmalte a un ácido fuerte (ácido clorhídrico, HCl) por diferentes tiempos. La profundidad de la biopsia depende del tiempo en el que se deje en contacto el esmalte con el ácido, cuya reacción es neutralizada por la adición de una base fuerte (hidróxido de sodio, NaOH). Así, se obtiene un extracto por cada tiempo de desmineralización. En cada extracto se determina el espesor de la capa de esmalte removido tras el análisis de la concentración de fósforo o de calcio en el extracto. Además, se determina la concentración de flúor para establecer la relación entre la cantidad de esmalte removido (profundidad) y la concentración de flúor en cada capa de esmalte.

Para determinar el área de la superficie que iba a ser expuesta, la superficie externa de los bloques de esmalte fue medida con un micrómetro digital. Todas las superficies de cada bloque fueron cubiertas con cera resistente a ácidos (cera para bases), excepto la superficie externa del esmalte, en un área aproximada de 4 mm<sup>2</sup>. Cada bloque se sumergió individualmente en 250 µL de HCl 0,5 M por 15, 30, 60 y 120 segundos, en agitación constante a 150 rpm, con el fin de remover de manera secuencial capas de esmalte desde la superficie externa hacia el interior del esmalte. Transcurrido cada uno de los tiempos de grabado con HCl, el extracto ácido resultante se neutralizó con 250 µL de una solución de TISAB II (tampón acetato 1 M pH 5,0, NaCl 1 M, ácido 1,2-cicloexano-diamino-tetracético 0,4 %) modificado con la adición de 20 g NaOH/L de TISAB II para neutralizar el HCl. Una vez neutralizado, se retiró cuidadosamente el bloque de esmalte de la solución, se lavó con agua desionizada y se secó con una toalla de papel, y el extracto se almacenó. En seguida, se preparó una nueva alícuota de 250 µL de HCl 0,5 M y se introdujo el mismo bloque, dejándolo en agitación por el siguiente tiempo correspondiente (30 segundos) y se repitió el procedimiento dos veces más (una vez por 60 y la última por 120 segundos). Los cuatro extractos de esmalte obtenidos a partir de cada bloque se almacenaron a 4 °C hasta su análisis.

## Determinación de la masa de esmalte removido y de la profundidad de la biopsia

En cada extracto se determinó la masa de esmalte removido (en gramos) utilizando el análisis espectrofotométrico de fósforo en la muestra, según el método colorimétrico descrito por Fiske y Subarrow (15). Se trazó una curva de calibración a partir de soluciones

estándar de concentraciones conocidas de fosfatos (1,5, 3,0, 6,0, 12,0, 24,0 mg fósforo), preparadas a partir de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  en agua purificada. De los extractos obtenidos a los 15, 30, 60 y 120 s de biopsia, se tomaron 300  $\mu\text{L}$ , 150  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$  y 50  $\mu\text{L}$ , respectivamente, los cuales se llevaron a un volumen final de 2,3 mL con agua purificada. Posteriormente, se adicionaron 500  $\mu\text{L}$  de ácido molíbdico, tanto a las muestras como a las soluciones estándar, se agitó por 10 segundos y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se adicionaron 200  $\mu\text{L}$  de reactivo reductor a cada tubo y se agitó por 10 segundos. El reactivo reductor fue preparado a partir de: ácido 1-amino-2-naftol-4-sulfónico, bisulfito de sodio y sulfito de sodio (0,025 g/mL de agua purificada). Después de 20 minutos, las muestras y las soluciones estándar se analizaron en un espectrofotómetro (DU 800, Beckman Coulter) a 660 nm. La masa de esmalte removido se calculó teniendo en cuenta la concentración de fosfatos por peso seco reportado para el esmalte sano (17,4 %) (16). Además, para determinar la profundidad de esmalte removido a cada tiempo y la profundidad total de esmalte removido en cada bloque, expresada en mm, se consideró la densidad del esmalte ( $d=2,92 \text{ g/cm}^3$ ) (17) y el área de la superficie.

### Determinación de la concentración de flúor

Para el análisis de la concentración de flúor, cada extracto se analizó individualmente con un analizador de iones (Orion EA 940, Thermo Scientific) y un electrodo específico para F (Orion, Thermo Scientific), previa calibración con soluciones estándar de concentraciones conocidas (0,250, 0,50, 1,0, 2,0, 4,0, 8,0 ppm de flúor) que contenían la misma concentración de TISAB II y HCl usados en la biopsia. La concentración de flúor en cada capa (mg F/g de esmalte) y en todo el esmalte removido ( $\mu\text{g F/cm}^3$ ), se determinaron teniendo en cuenta la masa de esmalte removido (gramos) y el área de la superficie expuesta. Se obtuvieron el promedio y la desviación estándar de los datos obtenidos para cada bloque de esmalte analizado.

### RESULTADOS

En la tabla 1 se muestra el espesor de esmalte removido (mm), la concentración de flúor en cada capa ( $\mu\text{g F/g}$  de esmalte) y la concentración total de flúor por volumen de esmalte removido en cada bloque ( $\mu\text{g F/cm}^3$ ).

Biopsia (segundos)	Diente 1		Diente 2		Diente 3		Diente 4		Diente 5		Promedio
	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 1	Bloque 2	
15	1.6	4.7	4.9	4.8	6.4	3.4	3.2	3.8	8.5	6.0	4.73 (1.94)
30	5.6	13.6	16.7	17.3	16.4	11.6	15.0	12.0	26.8	19.6	15.46 (5.57)
60	12.5	37.8	37.6	44.7	54.2	28.8	38.1	28.7	68.4	51.2	40.22 (15.57)
120	27.9	92.5	84.8	103.1	126.1	62.1	86.6	56.9	153.7	107.6	90.11 (35.94)
<b><math>\mu\text{g F/g}</math> de esmalte</b>											
15	2016.7	1278.5	1474.5	1278.9	1829.0	1832.6	1824.2	1471.0	1718.6	1910.9	1663.49 (266.61)
30	930.5	611.9	595.4	544.6	1085.6	723.8	902.0	559.6	761.9	952.0	766.74 (191.05)
60	410.4	249.8	276.8	246.6	571.0	276.1	252.1	225.6	294.0	435.2	323.76 (111.86)
120	231.9	81.5	149.8	114.8	194.4	123.4	90.7	118.2	124.9	191.6	142.12 (48.97)
<b><math>\mu\text{g F/g cm}^3</math></b>											
	1.398	0.693	0.934	0.749	1.346	0.989	0.899	0.887	0.978	1.329	1.02 (0.25)

Tabla 1. Espesor de tejido removido ( $\mu\text{m}$ ), concentración de fluoruro en cada capa ( $\mu\text{g F/g}$  de esmalte) y en el volumen total de esmalte removido ( $\mu\text{g F/cm}^3$ ), según los tiempos (segundos) de cada biopsia de esmalte

Con la técnica de biopsia de esmalte se removieron, en los primeros 15 segundos,  $4,73 \pm 1,94 \mu\text{m}$  de esmalte desde la superficie externa de cada bloque. Al someter los bloques a una biopsia por 30 segundos adicionales, se removieron  $15,46 \pm 5,57 \mu\text{m}$  desde la superficie expuesta en la biopsia inmediatamente anterior. En las biopsias con duración de 60 y 120 segundos, se removieron  $40,22 \pm 15,57 \mu\text{m}$  y  $90,11 \pm 35,94 \mu\text{m}$ , respectivamente. En total, se removieron aproximadamente  $150,51 \pm 59,02 \mu\text{m}$  de esmalte desde la superficie externa.

El análisis de la concentración de flúor a cada distancia desde la superficie, calculada a partir de la masa de esmalte removido y el área de la superficie expuesta, mostró un gradiente de concentración de flúor desde la superficie hacia el interior del esmalte, encontrándose la mayor la concentración en los 5  $\mu\text{m}$  externos de la superficie ( $1.663,49 \pm 266,61 \mu\text{g F/g}$  de esmalte), con una notable disminución hacia el interior del esmalte (figura 2). La concentración total de fluoruro en el volumen de esmalte removido fue de  $1,02 \pm 0,25 \text{ mg F/cm}^3$ .

## DISCUSIÓN

La técnica de biopsia de esmalte permite determinar la concentración de elementos inorgánicos como el fluoruro en capas de esmalte dental removido (10). A pesar de su amplio uso a nivel mundial, en Colombia no se encuentran estudios que utilicen esta técnica. La estandarización de la metodología en nuestro laboratorio facilitará el análisis de elementos inorgánicos de interés en las estructuras dentales, como calcio y fósforo, entre otros. Además, permitirá establecer la asociación entre la concentración de estos elementos, y la presencia y gravedad de alteraciones como los defectos del desarrollo del esmalte, de los cuales, la fluorosis dental el más prevalente y relevante en nuestro país (18-23).

Los resultados de este trabajo son similares a los de estudios previos en los que se describe la concentración de fluoruro a través del esmalte dental de dientes sanos no erupcionados (7-11), corroborando la excelente confiabilidad de la técnica. La mayor concentración de fluoruro encontrada en la superficie externa del esmalte dental, refleja el fluoruro incorporado por precipitación de cristales de fluorapatita o por adsorción a la superficie, producto de la sobresaturación de fluoruro en el fluido tisular que rodea al esmalte no erupcionado (5). Se ha encontrado una relación entre la concentración de fluoruro en el esmalte dental y la dosis de fluoruro ingerido durante la formación dental y el período preeruptivo (8). Sin embargo, influyen otros factores como la duración y el momento del desarrollo

dental en el que se da la exposición al fluoruro (24), lo cual explica en parte la variabilidad existente entre los dientes evaluados.

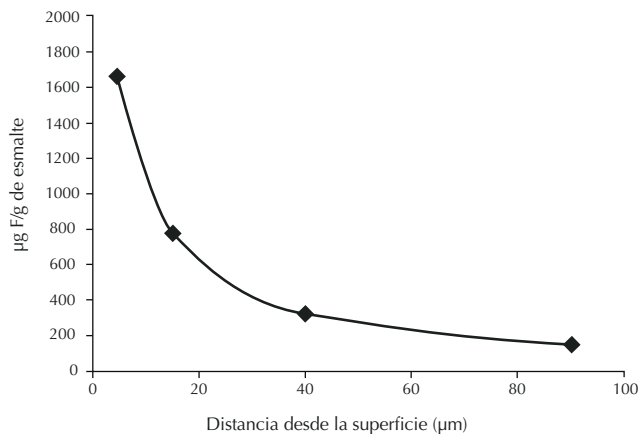


Figura 2. Patrón de distribución de la concentración de fluoruro desde la superficie externa hacia el interior del esmalte

En este estudio, la selección de los bloques se basó en las características de la superficie externa del esmalte, independientemente de la región anatómica de la corona dental. Debido a que el fluoruro en la superficie del esmalte no erupcionado refleja su incorporación durante la amelogénesis y el período preeruptivo, se espera que su concentración sea homogénea en toda la superficie del esmalte, lo que reduce la posibilidad de error por la selección de los bloques incluidos en el estudio. Además, al seleccionar la superficie más plana de esmalte, se disminuye el error en la estimación de la profundidad de la biopsia (mm), pues esta tiene en cuenta el área de la superficie externa del esmalte expuesta al ácido.

En diferentes estudios se ha sugerido que la determinación química de la profundidad de la biopsia es una técnica inexacta, pues el ácido podría penetrar a una profundidad mayor de la calculada (25), conllevando errores en la determinación de la concentración de fluoruro a diferentes profundidades de la superficie. Otras aproximaciones metodológicas se han usado para determinar la concentración de fluoruro en el esmalte dental, entre ellas la microabrasión (12) y la sonda de protones (13). Tanto la sonda de protones como la microperforación se describen como las técnicas más apropiadas para determinar con exactitud la profundidad de la capa de esmalte removido en cada tiempo de la biopsia y, por consiguiente, la concentración de fluoruro. Sin embargo, en un estudio de Richards, et ál. (25), no se encontraron diferencias entre la concentración de fluoruro a través del esmalte



dental, determinada por la técnica de biopsia de esmalte y por la sonda de protones.

En comparación con las demás técnicas mencionadas, la biopsia de esmalte es una técnica sencilla y económica para la determinación de la concentración de fluoruro en las estructuras dentales. Esta técnica es de gran utilidad para determinar la exposición sistémica de los individuos al fluoruro (5), por lo que podría usarse en nuestro país para determinar dicha exposición en zonas endémicas de fluorosis dental.

## AGRADECIMIENTOS

Al grupo de Bioquímica Oral de la Facultad de Odontología de Piracicaba, Universidad Estatal de Campinas (Piracicaba, São Paulo, Brasil), por facilitar los materiales y equipos para la realización de los experimentos. Al Programa de movilidad internacional de investigadores e innovadores año 2012 de Colciencias, por la financiación de los tiquetes aéreos y, a la Universidad El Bosque, por el apoyo económico para la realización de una pasantía de investigación en Brasil.

## CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores no registran conflictos de interés en este artículo.

## REFERENCIAS

1. Boyde A. Enamel. En: Handbook of microscopic anatomy. Oksche A, Vollrath L, editors. Berlin: Springer Verlag, 1989. p. 309-473.
2. Eanes ED. Enamel apatite: Chemistry, structure and properties. *J Dent Res.* 1979;59:829-36.
3. Whitford GM. Intake and metabolism of fluoride. *Adv Dent Res.* 1994;8:5-14.
4. Marthaler TM, Petersen PE. Salt fluoridation – an alternative in automatic prevention of dental caries. *Int Dent L.* 2005;55:351-8.
5. Weatherell JA, Deutsch D, Robinson C, Hallsworth AS. Assimilation of fluoride by enamel throughout the life of the tooth. *Caries Res.* 1977;11(Suppl.1):85-115.
6. Schamschula RG, Sugárt E, Agus HM, Un PS, Tóth K. The fluoride content of human tooth enamel in relation to environmental exposure to fluoride. *Aust Dent J.* 1982;27:243-7.
7. Brudevold F, Gardner DE, Smith FA. The distribution of fluoride in human enamel. *J Dent Res.* 1956;35:420-429.
8. Gedalia I, Kfir Y, Azaz B. Fluoride in the surface enamel of unerupted teeth. *J Dent Res.* 1967;46:1465-8.
9. Grobler SR, Kotze TJ. Fluoride distribution in the enamel of the mesio-lingual cusps of pairs of erupted and unerupted third molars of man with a low fluoride background. *J BiolBuccale.* 1988;16:89-94.
10. Grobler SR, Joubert JJ. The relative distribution of fluoride in erupted and unerupted enamel of human third molars from a low fluoride area. *Arch Oral Biol.* 1988;33:627-30.
11. Mestriner W Jr, Polizello AC, Spadaro AC. Enamel fluoride concentrations in unerupted third molars and the influence of fluoridated water on caries scores. *Caries Res.* 1996;30:83-7.
12. Weatherell JA, Robinson C, Strong M, Nakagaki H. Microsampling by abrasion. *Caries Res.* 1985;19:97-102.
13. Nelson DGA, Coote GE, Vickridge IC, Suckling G. Proton microprobe determination of fluorine profiles in the enamel and dentine of erupting incisors from sheep given low and high daily doses of fluoride. *Arch Oral Biol.* 1989;34:419-29.
14. Dijkman AG, Arends J. Thickness of enamel layers removed by HClO<sub>4</sub> etching. *Caries Res.* 1982;16:129-37.
15. Fiske CH, Subarrow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J BiolChem.* 1925;66:375-400.
16. Patel PR, Brown WE. Thermodynamic solubility product of human tooth enamel: Powdered sample. *J Dent Res.* 1975;54:728-36.
17. Lazzari EP. *Dental Biochemistry.* London: Henry Kimpton Publishers; 1976.
18. Sánchez H. Memorias del seminario taller de fluorosis dental y control de fluorización de la sal para consumo humano. Manizales, 1989.
19. Valbuena LF, Martignon S. Prevalencia de DDE en incisivos y primeros molares permanentes en niños de 5 a 9 años de planteles educativos públicos y privados del área de influencia de la E.C.M., Bogotá. *Rev Cient (Bogotá).* 1996;2:26-31.

20. Ministerio de Salud - República de Colombia, Centro Nacional de Consultoría – CNC. Estudio Nacional de Salud Bucal. En: Ministerio de Salud - República de Colombia, Centro Nacional de Consultoría – CNC: III Estudio Nacional de Salud Bucal - ENSAB III; Tomo VII. Bogotá: Lito Servicios ALER; 1999.
21. Martignon S, Granados OL. Prevalencia de fluorosis dental y análisis de asociación a factores de riesgo en escolares de Bogotá. *Rev Cient (Bogotá)*. 2002;8:19-27.
22. Sánchez H. Memorias del seminario taller de fluorosis dental y control de fluorización de la sal para consumo humano. Manizales, 1989.
23. Ramírez BS, Franco AM, Ochoa EM, Fluorosis dental en escolares de instituciones educativas públicas de Medellín, Colombia 2006. *Rev Salud Pública*. 2009;11:631-40.
24. Angmar-Månsson B, Ericsson Y, Ekberg O. Plasma fluoride and enamel fluorosis. *Calcif Tissue Res*. 1976;22:77-84.
25. Richards A, Coote GE, Pearce EIF. Proton probe and acid etching for determining fluoride profiles in porous porcine enamel. *J Dent Res*. 1994;73:644-51



UNIVERSIDAD  
**EL BOSQUE**

Por una cultura de la vida, su calidad y su sentido

## ***DIVISIÓN DE POSGRADOS Y FORMACIÓN AVANZADA***

### ***DOCTORADO***

- Doctorado en Bioética

### ***MAESTRÍAS***

- Bioética
- Ciencias Básicas Biomédicas
- Docencia de la Educación Superior
- Epidemiología
- Psicología
- Psiquiatría Forense
- Salud Pública
- Salud Sexual y Reproductiva
- Ciencias Odontológicas

### ***ESPECIALIZACIONES EN EDUCACIÓN***

- Docencia Universitaria

### ***ESPECIALIZACIONES EN ODONTOLOGÍA***

- Cirugía Oral y Maxilofacial
- Endodoncia
- Ortodoncia
- Odontología Pediátrica
- Operatoria Dental Estética y Materiales Dentales
- Patología Oral y Medios Diagnósticos
- Periodoncia y Medicina Oral
- Prosthodontia Énfasis en Odontología Estética

### ***ESPECIALIZACIONES EN PSICOLOGÍA***

- Psicología Clínica y Autoeficacia Personal
- Psicología Clínica y Desarrollo Infantil
- Psicología del Deporte
- Psicología Ocupacional y Organizacional
- Psicología Social, Cooperación y Gestión Comunitaria
- Psicología Médica y de la Salud
- Psicología Criminológica Única en Colombia

### ***ESPECIALIZACIONES INTERDISCIPLINARIAS***

- Bioética
- Epidemiología General
- Epidemiología Clínica
- Filosofía de la Ciencia
- Gerencia de la Calidad en Salud
- Gerencia de Proyectos
- Higiene Industrial
- Salud Familiar y Comunitaria
- Salud Ocupacional
- Salud y Ambiente

### ***ESPECIALIZACIONES EN INGENIERÍA***

- Diseño de Redes Telemáticas
- Gerencia de Producción
- Gerencia de Proyectos
- Salud y Ambiente
- Seguridad de Redes Telemáticas



**[www.uelbosque.edu.co](http://www.uelbosque.edu.co)**

Teléfonos (1)648 90 00 - 01 8000 11 30 33 - [postgrados@unbosque.edu.co](mailto:postgrados@unbosque.edu.co)

Carrera 7b Bis 132 - II Centro de Servicios Integrales, Edificio Fundadores - Bogotá D.C.