

**“EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA DEL TEJIDO CONECTIVO DE RATONES A LA  
IMPLANTACIÓN DE TUBOS DE DENTINA OBTURADOS CON CEMENTO PÓRTLAND  
TIPO I MODIFICADO CON UN ACELERANTE DEL TIEMPO DE FRAGUADO DILUIDO  
EN AGUA DESMINERALIZADA EN PROPORCIÓN 1:2”**

TESIS PRESENTADA POR:

**OSCAR ROLANDO CAMEY FLORES**

Ante el Tribunal de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala que  
practicó el Examen General Público previo a optar al Título de:

**CIRUJANO DENTISTA**

Guatemala, octubre de 2005.

## **JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

Decano:	Dr. Eduardo Abril Gálvez
Vocal Primero:	Dr. Sergio Armando García Piloña
Vocal Segundo:	Dr. Alejandro Ruiz Ordoñez
Vocal Tercero:	Dr. César A. Mendizábal Girón
Vocal Cuarto:	Br. Pedro José Asturias Sueiras
Vocal Quinto:	Br. Carlos Iván Dávila Alvarez
Secretario:	Dra. Cándida Luz Franco Lemus

## **TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PÚBLICO**

Decano:	Dr. Eduardo Abril Gálvez
Vocal Primero:	Dr. Sergio Armando García Piloña
Vocal Segundo:	Dr. César A. Mendizábal Girón
Vocal Tercero:	Dr. Werner Edgardo Florián Jerez
Secretario:	Dra. Cándida Luz Franco Lemus

## ACTO QUE DEDICO

- A Dios** Fuente de sabiduría que me ha guiado hasta donde estoy. Por esta y todas las bendiciones recibidas te doy gracias Señor.
- A mis Padres** A quienes debo mi formación y que me han acompañado y guiado en todo lo que he emprendido. En especial a mi Mamá, con quien siempre puedo contar y que siempre me recibe con los brazos abiertos.
- A mis Abuelitos** José Ricardo (Q.E.P.D.) y María Ángela (Q.E.P.D.), quines han sido una luz que guía nuestras vidas.
- A mis Tíos** César y Silvia, que siempre se han preocupado por mí, los quiero como unos segundos padres.
- A mi hermana** Nunca claudiques, persevera hasta alcanzar tus metas.
- A mis primos** Alejandra y Miguel, a los que quiero como hermanos, sepan que siempre pueden contar conmigo.

## **TESIS QUE DEDICO**

**A Dios**

**A mi patria Guatemala**

**A la Universidad de San Carlos de Guatemala**

**A la Facultad de Odontología**

**A mi familia**           Que siempre me ha apoyado y con quienes comparto este logro.

**A mi asesor**            Por sus enseñanzas y orientación durante el desarrollo de esta tesis.

**A mis catedráticos**   Por sus enseñanzas y orientación durante mi etapa estudiantil.

A todas aquellas personas que me han brindado su apoyo y colaboración, y que de alguna manera participaron en mi formación, muchas gracias y que Dios los bendiga.

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

Tengo el honor de someter a su consideración mi trabajo de tesis intitulado “Evaluación de la respuesta del tejido conectivo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2”, conforme lo demandan los Estatutos de la Universidad de San Carlos de Guatemala, previo a optar al Título de:

## **CIRUJANO DENTISTA**

En tal virtud quiero expresar mi agradecimiento a todas las personas que de una u otra manera contribuyeron para la realización de este trabajo de investigación.

Y a ustedes distinguidos miembros del Honorable Tribunal Examinador, reciban mis más altas muestras de consideración y respeto.

## INDICE

Sumario	1
Introducción	2
Antecedentes	3
Planteamiento del Problema	6
Justificación	7
Revisión de Literatura	8
Objetivos	62
Hipótesis	63
Variables	64
Materiales y Métodos	65
Resultados	72
Discusión de Resultados	79
Conclusiones	81
Recomendaciones	82
Limitaciones	83
Referencias	84
Anexos	91

## SUMARIO

Este estudio se realizó para evaluar la reacción del tejido conectivo subcutáneo de ratón a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2 luego de 24 horas, 7 y 30 días.

Al final de cada período de experimentación los animales se sacrificaron, se removieron los implantes y el tejido circundante, se procesaron histológicamente, y las secciones obtenidas se tiñeron con Hematoxilina y Eosina.

Las láminas fueron observadas al microscopio a 200 aumentos, seleccionando el área con la respuesta más evidente en la que se determinó el tipo y grado de la respuesta inflamatoria.

A las 24 horas se presentó una respuesta inflamatoria aguda severa, la cual a los 7 días pasa a crónica con grados moderados y leves, lo cual persiste aún a los 30 días. Se concluye que la inflamación estaba cediendo, según el proceso reparador, por lo que se considera que en períodos de observación más prolongados podría llegarse a apreciar su resolución. Sin embargo, a pesar de los resultados obtenidos existe la oportunidad para continuar experimentando con esta mezcla.

## INTRODUCCIÓN

Durante la realización de un tratamiento endodóntico pueden suceder accidentes que resultan en la perforación del sistema de conductos, siendo ésta, según su localización, apical, lateral o de furca. Tales accidentes son situaciones, indeseadas e imprevistas, denominadas accidentes de procedimiento; también existen perforaciones, siempre indeseadas, pero previstas, en las que la comunicación entre el conducto radicular y la superficie de la raíz se debe a una reabsorción ideopática, interna o externa. Los procedimientos para la corrección de estas perforaciones incluyen reparación del sitio de la perforación, resección radicular, amputación radicular, hemisección y extracción, dejando su selección y aplicación al criterio del operador, según el pronóstico y evolución de cada caso.

Para preservar la salud e integridad de la pieza se han empleado diversos materiales, con distinto grado de éxito, de los cuales algunos, por su alto costo, son inaccesibles para ciertos pacientes, por lo que, se requiere de alternativas que minimicen costos y presenten resultados aceptables. Entre los materiales que se han empleado pueden mencionarse la Amalgama de Plata, IRM, Cavit, Hidróxido de Calcio, el Agregado de Trióxido Mineral y recientemente Cemento Pórtland. En la clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala se ha utilizado el Cemento Pórtland tipo I como alternativa al Agregado de Trióxido Mineral en el tratamiento de perforaciones radiculares ahí acontecidas, previo consentimiento del paciente; pero presenta el inconveniente de un prolongado tiempo de fraguado, aproximadamente 4 horas, el cual dificulta la obturación y restauración definitivas de la pieza en la misma cita.

Ya que el tiempo de fraguado puede acelerarse por medio de aditivos, se ha experimentado “*in vitro*” con una solución acuosa de alcalinos, cuyo principal componente es el ácido silícico, comprobando que una solución de acelerante y agua en proporción 1:2 brinda resultados satisfactorios. Por lo que en este estudio se colocó Cemento Pórtland tipo I, modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2, en tubos de dentina que se implantaron en el tejido conectivo subcutáneo de ratón habiéndose observado la respuesta del tejido. Se determinó si la mezcla cemento-acelerante mostraba biocompatibilidad, previo a efectuar pruebas que avalen su posible aplicación como un material endodóntico de fraguado rápido.

## ANTECEDENTES

En Endodoncia suelen suceder situaciones en las que las paredes radiculares se debilitan, ya sea por procesos patológicos, como reabsorción ideopática interna o externa, o por accidentes de procedimiento, los cuales además pueden conducir a la perforación de la estructura radicular. Esa comunicación entre el conducto radicular y la superficie de la raíz debe ser atendida, dando preferencia a procedimientos orientados a la reparación del sitio de la perforación evitando en lo posible recurrir a tratamientos más agresivos y radicales.

Para éste y otros fines se han empleado varios materiales, con distinto grado de éxito, destinados a preservar la salud e integridad de la pieza; algunos de ellos son Amalgama de Plata, IRM, Cavit, Hidróxido de Calcio, Agregado de Trióxido Mineral y recientemente Cemento Pórtland.

La búsqueda de materiales que presenten buenas características y aún mejores resultados, que sean fáciles de conseguir y de bajo costo, es una inquietud que impulsa la investigación en todos los campos de la Odontología, especialmente en Endodoncia, razón por la cual, investigadores de países como Estados Unidos y Brasil han experimentado con el Cemento Pórtland, el cual consideran como una alternativa al Agregado de Trióxido Mineral (MTA), obteniendo resultados prometedores <sup>(2-4, 6, 9, 11-14, 16-23, 28, 44, 47, 49-53, 55-57)</sup>.

Estrela et al. estudiaron las propiedades antimicrobianas y químicas del Hidróxido de Calcio, MTA y Cemento Pórtland entre otros; reportando que el Agregado de Trióxido Mineral y el Cemento Pórtland tienen propiedades antibacterianas y componentes químicos similares, diferenciándose por la presencia de polvo de óxido de bismuto en el MTA, el cual le proporciona contraste radiográfico. También presentaron un pH muy similar ( $\pm 12$ ) <sup>(12)</sup>.

Holland et al., por medio de un estudio comparativo entre Agregado de Trióxido Mineral, Cemento Pórtland e Hidróxido de Calcio en tubos de dentina implantados en el lomo de ratas, evaluaron la respuesta del tejido conectivo ante los mismos y concluyeron que los materiales presentaron la misma reacción tisular por medio de mecanismos de acción similares <sup>(18, 21, 22)</sup>.

Otros estudios comparativos entre Agregado de Trióxido Mineral y Cemento Pórtland realizados en perros por Holland et al. comprueban nuevamente que ambos materiales tienen un

mecanismo de acción similar por lo que en su uso se obtienen resultados similares, y por lo mismo, consideran que la presencia de bismuto en el MTA no influye en la respuesta del tejido <sup>(17, 19)</sup>.

A raíz de esos estudios, en la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala se han realizado los siguientes estudios de Tesis de pregrado:

Ovando evaluó la respuesta clínica y radiográfica de los cementos Pórtland, ProRoot MTA e Hidróxido de Calcio con propilenglicol como vehículo, luego de emplearlos en la obturación de perforaciones laterales provocadas, en premolares de perro previamente tratadas endodónticamente. Observó a los 120 días en el 100 % de los casos que los cementos evaluados ya no mostraban signos de inflamación; en lo que respecta a la evaluación radiológica, destaca el Cemento Pórtland por ausencia de área lucente en el 100 % comparado con el 60 % y el 80 % observados con los cementos ProRoot MTA e Hidróxido de Calcio con propilenglicol como vehículo respectivamente <sup>(34)</sup>.

Ávila comparó la respuesta inflamatoria sobre tejido conectivo subcutáneo de ratón de los cementos Pórtland, ProRoot MTA e Hidróxido de Calcio con propilenglicol. Observó que el 88.9 % de los ratones que recibieron Cemento Pórtland, el 44.5 % de los que recibieron ProRoot MTA y el 55.5 % de los que recibieron Hidróxido de Calcio con propilenglicol no presentaron respuesta inflamatoria alguna. Concluyó que aquellos ratones que recibieron Cemento Pórtland presentaron menor respuesta inflamatoria, mejor cicatrización y recuperación, tanto macroscópicamente como microscópicamente que aquellos que recibieron otros materiales <sup>(3)</sup>.

Kunze evaluó los hallazgos clínicos, radiológicos e histológicos asociados a 20 premolares de perro con perforaciones radiculares laterales, selladas con Hidróxido de Calcio con propilenglicol como vehículo, Cemento Pórtland y ProRoot MTA para determinar si estos materiales promovían el cierre biológico. La evaluación se realizó a los 9 meses del sellado, observó resultados positivos siempre que se respetaron los límites radiculares; los cementos Pórtland y ProRoot MTA presentaron formación de área lucente en el 40 % y el 20 % de los casos respectivamente; así mismo observó cierre biológico en el 60 % y el 20 % de los casos respectivamente <sup>(24)</sup>.

Lazo evaluó clínica, radiológica e histológicamente 20 raíces de premolares de perro, sobreinstrumentadas y selladas con Hidróxido de Calcio con propilenglicol como vehículo, Cemento Pórtland y ProRoot MTA para determinar si estos materiales promovían el cierre biológico y la

reparación de las sobreinstrumentaciones. Observó que los tres cementos mostraron resultados similares al inducirse el cierre biológico en el 60 % de los casos sellados con Hidróxido de Calcio con propilenglicol como vehículo y ProRoot MTA, y en el 40 % de los sellados con Cemento Pórtland, seguidas por la reparación de los tejidos circundantes <sup>(25)</sup>.

Morales comparó la respuesta inflamatoria sobre tejido óseo de los cementos Pórtland, ProRoot MTA e Hidróxido de Calcio con propilenglicol al implantar en el fémur de ratones albinos dichos materiales. Observó que el 88.9 % de los ratones implantados con Cemento Pórtland, el 77 % de los implantados con ProRoot MTA y el 66 % con Hidróxido de Calcio con propilenglicol no presentaron respuesta inflamatoria; y en aquellos en los que se usó Cemento Pórtland su cicatrización y recuperación fue más rápida que los que recibieron los otros materiales estudiados <sup>(31)</sup>.

Búcaro evaluó la respuesta clínica y radiográfica de los cementos Pórtland, ProRoot MTA e Hidróxido de Calcio con propilenglicol como vehículo, en la obturación de sobreinstrumentaciones apicales en dientes de perro. Luego de 120 días “*in situ*” el 100 % especímenes que recibieron los cementos no se presentó inflamación en tejidos blandos ni formación de áreas lucentes <sup>(8)</sup>.

Ramírez evaluó las propiedades físico-mecánicas a 37° C de una pasta de Cemento Pórtland modificada con un acelerante del tiempo de fraguado en diluciones 1:2, 1:4 y 1:8 (relación acelerante-agua) para permitir un tiempo de fraguado menor. El análisis estadístico de las tres concentraciones de acelerante reveló que son diferentes entre sí ( $H = 26.79$ ). Observó que la dilución 1:2 presentó las mejores propiedades, entre ellas, reducción del tiempo de fraguado a aproximadamente 21 minutos <sup>(40)</sup>.

En la clínica de Endodoncia de la Facultad de Odontología de la Universidad de San Carlos de Guatemala se ha utilizado el Cemento Pórtland tipo I, por su accesibilidad y bajo costo, como alternativa al Agregado de Trióxido Mineral en el tratamiento de perforaciones radiculares allí acontecidas, previo consentimiento del paciente.

El inconveniente que presenta el Cemento Pórtland es su tiempo de fraguado, de aproximadamente 4 horas, el cual dificulta la obturación y restauración definitivas de la pieza en la misma cita. Dado que el tiempo de fraguado puede acelerarse por medio de aditivos, y según los resultados obtenidos por Ramírez <sup>(40)</sup> con una solución acuosa de alcalinos en proporción 1:2, ha de iniciarse la experimentación “*in vivo*”.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Con base en los antecedentes surgieron las siguientes interrogantes:

1. ¿Cuál será la respuesta del tejido conectivo subcutáneo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I al modificarlo con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2?
2. ¿Será pertinente continuar con más pruebas de biocompatibilidad que avalen su posible aplicación en humanos como un material endodóntico de fraguado rápido?

## JUSTIFICACIÓN

Para tratar las perforaciones radiculares se prefieren, inicialmente, procedimientos orientados a la reparación del sitio de la perforación, los cuales consisten básicamente en sellar la misma con materiales biocompatibles. Uno de esos materiales es el Cemento Pórtland, debidamente tratado (6, 12, 17, 19, 25, 31, 34, 40).

Se hace necesaria la experimentación “*in vivo*” para conocer la respuesta de los tejidos ante la mezcla de Cemento Pórtland tipo I con una solución acuosa de alcalinos y agua desmineralizada en proporción 1:2, empleando para este fin el tejido subcutáneo de ratón. Este estudio se considera como un acercamiento inicial, el cual determinará si es factible o no la realización de futuros estudios de biocompatibilidad que conduzcan a su posible aplicación en humanos como material endodóntico de fraguado rápido.

## REVISIÓN DE LITERATURA

La Endodoncia, como otras ciencias, está asociada a circunstancias indeseadas y en algunos casos imprevistas, denominadas como accidentes de procedimiento, entre los que se encuentran las perforaciones radiculares <sup>(11, 13, 48)</sup>.

Las perforaciones radiculares pueden definirse como comunicaciones artificiales entre el conducto radicular y la superficie de la raíz, las que de acuerdo a su posición pueden clasificarse como apicales, medias o coroneales <sup>(46, 48)</sup>. También procesos patológicos, como reabsorciones ideopáticas internas y externas, pueden causar perforación o debilitamiento de las paredes del conducto radicular <sup>(46)</sup>.

Aun cuando en su mayoría los accidentes de procedimiento pueden ser evitados al aplicar los principios básicos de diagnóstico, plan de tratamiento, acceso, limpieza, preparación, obturación y preparación del espacio para el poste, cuando se presentan deben ser atendidos teniendo presentes las capacidades y limitaciones con que se cuenta <sup>(48)</sup>. Aun cuando no todas las perforaciones se pueden detectar en el momento en que suceden, se deben reconocer lo antes posible para evitar daño subsecuente a los tejidos periodontales con los instrumentos e irrigantes <sup>(46, 48)</sup>.

Las técnicas correctivas incluyen reparación del sitio de la perforación, resección radicular, amputación radicular, hemisección y extracción. Si es posible se prefieren las reparaciones no quirúrgicas, llevando por el conducto el material reparador hasta el sitio de la perforación. Algunos de los materiales reparadores que se emplean incluyen amalgama de plata, gutapercha, ionómero de vidrio, resina compuesta, óxido de cinc y eugenol, óxido de calcio, IRM, Cavit, MTA, hueso congelado e hidroxiapatita (como matriz) <sup>(4, 9, 11, 13, 14, 23, 28, 48)</sup>.

El material reparador ideal debe poseer ciertas propiedades, tanto biológicas como físico-químicas, que permitan su aceptación por parte de los tejidos, a la vez que faciliten su uso; hasta la fecha ningún material reúne todas las características que permitan considerarlo como “ideal” <sup>(14, 20, 25)</sup>.

Las propiedades biológicas comprenden <sup>(4, 13, 25, 28, 55)</sup>:

- Buena tolerancia tisular (biocompatibilidad).
- Reabsorbible en caso de extravasamiento.
- Acción antimicrobiana
- Que estimule o permita el depósito de tejido mineralizado.

Las propiedades físico-químicas comprenden <sup>(4, 13, 25)</sup>:

- Que sea posible su esterilización.
- Que sea radiopaco.
- Que posea un pH próximo al neutro.
- Que posea buen tiempo de trabajo.
- Que posea buena viscosidad y adherencia.
- Que se inserte fácilmente.
- Que sea plástico al insertarlo, tornándose sólido posteriormente.
- Que proporcione un buen sellado.
- Que no sufra contracciones.
- Que no se reabsorba dentro del conducto radicular.
- Que no decolore las estructuras dentinarias.
- Que pueda eliminarse fácilmente.

Recientemente varios estudios han atraído la atención hacia el Cemento Pórtland, el cual, aún cuando no reúne todas las características para considerarlo como un material reparador ideal, ha mostrado resultados prometedores, considerándosele como una alternativa viable al MTA <sup>(6, 12, 17, 19, 25, 31, 34, 40)</sup>.

A continuación se describen generalidades sobre los cementos MTA y Pórtland.

## MINERAL TRIOXIDE AGGREGATE

El Agregado de Trióxido Mineral ó MTA (Mineral Trioxide Aggregate) surgió a inicios de la década de los noventa, en la Universidad de Loma Linda, California, desarrollado por el profesor Mahmoud Torabinejad como un material experimental para sellar las comunicaciones entre el interior y el exterior del diente <sup>(6, 16, 21)</sup>.

Originariamente se indicaba su uso en: cirugías parodonticas, como material retrobturador, en casos de perforaciones intra-radicales y de furca. Posteriormente se amplió su aplicación a otras situaciones clínicas: perforaciones resultantes de reabsorciones internas y externas, en el tratamiento conservador de la pulpa (en casos de pulpotomías y de recubrimientos pulpares) y como material estimulador de la apicoformación. También ha sido utilizado como barrera intracoronaria previo a un blanqueamiento dental y como tapón apical. Entre las aplicaciones más usuales se incluye como cemento endodóntico en el tratamiento de dientes deciduos y permanentes. La capacidad de emplearlo en ambientes húmedos y su biocompatibilidad permite que tenga una amplia variedad de indicaciones y aplicaciones <sup>(6)</sup>.

El MTA se presenta como un polvo de finas partículas hidrofílicas que al ser hidratadas, forman un gel coloidal que se solidifica. Dicho polvo se compone principalmente de silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico y óxido de silicato, además de pequeñas cantidades de otros óxidos minerales, incluido el óxido de bismuto, el principal responsable de la radiopacidad del material <sup>(6, 16, 18, 44)</sup>.

Las principales moléculas en el MTA son iones de calcio y fósforo <sup>(52)</sup>. En la tabla 1 se pueden observar los principales componentes químicos presentes en el polvo del cemento ProRoot MTA <sup>(6, 18, 44, 56)</sup>.

En 1998 fue avalado y aprobado por la FDA (U.S. Food and Drugs Administration) y lanzado comercialmente en 1999, como ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Oklahoma-USA) <sup>(6)</sup>.

<b>Tabla 1.</b> Composición química del MTA	
Compuesto	Fórmula
Silicato tricálcico	( $3\text{CaO-SiO}_2$ )
Silicato dicálcico	( $2\text{CaO-SiO}_2$ )
Aluminato tricálcico	( $3\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$ )
Ferroaluminato tetracálcico	( $4\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-Fe}_2\text{O}_3$ )
Sulfato de calcio di-hidratado	( $\text{CaSO}_4\text{-}2\text{H}_2\text{O}$ )

En Brasil, actualmente, se produce comercialmente el MTA-Angelus (Angelus, Londrina-Pr), desarrollado a partir de estudios sobre las características del MTA y comparaciones entre los cementos MTA y Pórtland. Holland et al. (en un trabajo no publicado) observaron que la reacción del tejido conectivo subcutáneo de ratas a la implantación de tubos de dentina obturados con MTA-Angelus producía una respuesta tisular similar a la observada con ProRoot MTA <sup>(6)</sup>.

Actualmente, los fabricantes admiten que los cementos ProRoot MTA y MTA-Angelus poseen Cemento Pórtland en su composición, correspondiendo a un 75% y 80% respectivamente <sup>(6, 13, 44)</sup>. Los porcentajes restantes corresponden a óxido de bismuto y yeso (ProRoot MTA 20 y 5 % respectivamente) <sup>(13, 44)</sup>.

## CEMENTO PÓRTLAND

La palabra “cemento”, en su sentido más amplio, se emplea para designar todo aquel material con propiedades adhesivas y cohesivas, capaz de unir fragmentos entre sí a modo de formar un todo compacto. El nombre “Cemento Pórtland” se emplea mundialmente para nombrar a un material usualmente conocido en la construcción civil simplemente como “cemento”. Fue Joseph Aspdin, un constructor y químico británico, quién lo llamó “Cemento Pórtland” por la similitud que presentaba con las piedras que se encontraban en la isla Pórtland, Inglaterra, al patentar el primer proceso de fabricación de cemento el 21 de octubre de 1824. El primer cemento Pórtland moderno fue producido en Gran Bretaña en 1845 <sup>(6, 30, 43)</sup>.

El cemento Pórtland puede ser definido como un aglomerante obtenido de la pulverización del clínquer resultante de la calcinación de una mezcla convenientemente proporcionada de materiales calizos y arcillosos, sin la adición, después de la calcinación, de otras sustancias a no ser agua o yeso <sup>(6, 30, 43)</sup>. El yeso es empleado como retardador del proceso de fraguado <sup>(43)</sup>.

El proceso de fabricación del cemento Pórtland consiste esencialmente en moler la materia prima (piedras calizas y arcilla), mezclarla íntimamente en las proporciones adecuadas (harina) y quemar esa mezcla en un gran horno rotativo a una temperatura cercana a los 1450° C. A esa temperatura la materia prima se fusiona y forma bolas, conocidas como clínquer. El clínquer es enfriado y molido hasta obtener un polvo fino al que se le adiciona yeso, obteniendo como producto final Cemento Pórtland <sup>(6, 30, 43)</sup>.

El Cemento Pórtland Tipo I corresponde a la clase de resistencia 5000 psi (35 N/mm<sup>2</sup> ó 35 MPa), que es una medida expresada como fuerza por unidad de área en libras por pulgada cuadrada (psi) en Newtons por milímetro cuadrado o Mega Pascales. Cumple con los requisitos de las normas C150 de la Sociedad Americana para Ensayos y Materiales (ASTM) y NGO 41005 de la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) <sup>(10)</sup>.

El Cemento Pórtland Tipo I es un cemento común, sin otras adiciones a parte del yeso, el color ceniza es debido a la presencia de hierro y magnesio <sup>(6)</sup>. Se caracteriza por presentar fraguado y endurecimiento más rápidos y alta resistencia a edades tempranas <sup>(10)</sup>.

## FABRICACIÓN DEL CEMENTO PÓRTLAND

Las materias primas para la producción de Cemento Pórtland consisten principalmente en carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ), proveniente de piedra caliza, mármol y conchas de mar, y de aluminio ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), sílice ( $\text{SiO}_2$ ) y óxido férrico ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) encontrados en las arcillas. Es necesario que la mezcla de materias primas esté bien homogenizada antes del tratamiento térmico para facilitar la formación de los compuestos deseados en el clínquer de Cemento Pórtland (microscópicamente la mezcla es heterogénea) <sup>(6,30)</sup>.

Durante el proceso de fabricación del cemento la materia prima, inicialmente, elimina el agua y libera el dióxido de carbono (durante la quema de la harina las moléculas de carbonato de calcio y carbonato de magnesio se descomponen en el horno por la siguiente reacción:  $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO}$  combinándose para dar clínquer +  $\text{CO}_2$ ), ocurriendo un nuevo arreglo molecular; enseguida, el material seco sufre una serie de reacciones químicas antes que, finalmente, en la parte más caliente del horno, aproximadamente a  $1450^\circ\text{C}$ , del 20% al 30% de la materia prima se funde y la caliza, el sílice y el aluminio se recombinan. La masa se funde, conforme va saliendo, en bolas de entre 3 a 25 milímetros de diámetro, conocidas como clínquer (se forman los cristales de clínquer, que contienen  $\text{C}_3\text{A}$ ,  $\text{C}_3\text{S}$ ,  $\text{C}_2\text{S}$ ,  $\text{C}_4\text{AF}$ ). El clínquer cae en enfriadores que bajan su temperatura a  $60^\circ\text{C}$  aproximadamente. El clínquer enfriado es conducido hacia molinos de bola en los cuales a demás de pulverizarlo se le adiciona yeso, para luego ser conducido a los separadores de aire, donde un ciclón reconduce al molino los granos de gran tamaño y dirige los de menor tamaño, cemento propiamente dicho, a silos en los que se mantiene hasta que se empaca en sacos y se encamina para su almacenamiento y distribución <sup>(6, 27, 30)</sup>. El material obtenido tiene una textura tan fina que el 90% o más de sus partículas podría atravesar un tamiz con 6,200 agujeros por centímetro cuadrado. Se pueden obtener de 27 a 30 kg de cemento por cada 45 kg de materia prima <sup>(43)</sup>.

El Cemento Pórtland consiste, esencialmente, de varios compuestos de calcio, los principales, calculados a partir del análisis químico de los mayores constituyentes y por espectrometría fluorescente de rayos X pueden apreciarse en la tabla 2 <sup>(6, 18, 27, 30, 43)</sup>.

**Tabla 2.** Principales constituyentes del Cemento Pórtland

Compuesto	Fórmula	Porcentaje de peso
Silicato tricálcico	$(3\text{CaO-SiO}_2)$	50 %
Silicato dicálcico	$(2\text{CaO-SiO}_2)$	25 %
Aluminato tricálcico	$(3\text{CaO-Al}_2\text{O}_3)$	10 %
Ferroaluminato tetracálcico	$(4\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-Fe}_2\text{O}_3)$	10 %
Sulfato de calcio di-hidratado	$(\text{CaSO}_4\text{-}2\text{H}_2\text{O})$	5 %

Como se puede observar, los principales compuestos de los cementos Pórtland y MTA coinciden; dichos cementos aparecen casi idénticos al examinarlos macroscópicamente, microscópicamente y por difracción de rayos X <sup>(6, 18, 21)</sup>. También están presentes algunos constituyentes menores, tales como: álcalis ( $\text{Na}_2\text{O}$  y  $\text{K}_2\text{O}$ ), que se encuentran en forma de sulfatos, el óxido de magnesio ( $\text{MgO}$ ), y el óxido de calcio libre ( $\text{CaO}$ ), entre otros elementos traza <sup>(6, 27)</sup>.

Debido al uso de sustancias minadas de la corteza terrestre, puede llegar a detectarse constituyentes potencialmente dañinos; el Cemento Pórtland puede contener hasta 0.75% de residuo insoluble y menos del 0.05% de sales o compuestos de cromo u otros metales pesados <sup>(6, 27)</sup>. El Cemento Pórtland no es reconocido como carcinógeno por entidades como la NTP (U.S. National Toxicology Program), la OSHA (Occupational Safety and Health Administration) o la IARC (International Agency for Research on Cancer), sin embargo puede contener trazas de metales pesados reconocidos como carcinógenos por dichas organizaciones <sup>(27)</sup>.

Todo proceso de producción industrial está asociado con cierta variabilidad de las características en los productos acabados. En el caso del cemento se puede citar las principales causas de variabilidad: cambio en la composición de la materia prima, procedimiento de mezcla y homogenización, temperatura y tiempo de clínquerización, tiempo de molienda y variaciones en las características de los aditivos. Por tanto, es fundamental que se realicen validaciones constantes de las propiedades químicas, físicas y biológicas del cemento con la intención de establecer medidas comparativas de resultados <sup>(6)</sup>.

El Cemento Pórtland puede presentar una gran variación de componentes, algo que no sucede con el MTA, que posee una composición porcentual de elementos predeterminada. La composición química de los compuestos presentes en los cementos industriales no es exactamente la que se expresa por las fórmulas comúnmente utilizadas:  $C_3A$ ,  $C_3S$ ,  $C_2S$ ,  $C_4AF$ ; esto debido a que en las altas temperaturas que prevalecen durante la formación del clínquer, los elementos presentes en el sistema, inclusive impurezas como magnesio, sodio y potasio, poseen la capacidad de entrar en solución sólida con cada uno de los principales compuestos del clínquer. Otro elemento químico contaminante de los cementos es el arsénico ( $As_2O_3$ ), el cuál se encuentra muy por debajo del máximo permisible de 3.5 ppm en alimentos y 2 ppm en cosméticos. Pequeñas cantidades de impurezas en solución sólida pueden no alterar significativamente la naturaleza cristalográfica y la reactividad de un compuesto con el agua, pero en grandes cantidades sí <sup>(6)</sup>.

El tamaño ideal de las partículas de clínquer molido es de aproximadamente 25 micrómetros de diámetro, pues esa medida permite una hidratación optimizada de las mismas, lo cual conduce a una mayor expansión, y por tanto mejor adaptación a las paredes dentinarias. Partículas con mas de 50 micrómetros no pueden ser hidratadas completamente, mientras que partículas menores 2 micrómetros no son hidráulicamente activas. El Cemento Pórtland puede presentar un polvo con las más variadas dimensiones <sup>(6)</sup>.

## CONSIDERACIONES FÍSICO-QUÍMICAS

Algunos trabajos de investigación han comprobado que los cementos MTA y Pórtland poseen la misma composición <sup>(6, 12)</sup>, y el mismo mecanismo de acción <sup>(6, 18)</sup>. Tomando en cuenta lo mencionado, se harán algunas consideraciones sobre el Cemento Pórtland basándose en los resultados de investigación del MTA <sup>(6, 12, 18)</sup>.

### **Radiopacidad**

Esta es una de las principales características que deben poseer los materiales obturadores. El MTA presenta mayor radiopacidad que los cementos Super EBA e IRM. Comparado con gutapercha y dentina también es mas radiopaco por lo que se identifica fácilmente en las radiografías. Tal radiopacidad le es conferida por la presencia de óxido de bismuto en su composición (25%) <sup>(6, 18, 52)</sup>.

El Cemento Pórtland presenta una radiopacidad semejante a la dentina, siendo poco visible, debido a la ausencia de óxido de bismuto en su composición <sup>(6)</sup>.

### **Análisis de pH**

El pH del MTA al ser hidratado con agua destilada es de 10.2, al cabo de tres horas el valor se ha elevado a 12.5, donde se estabiliza <sup>(6, 52)</sup>. El Cemento Pórtland al hidratarse adquiere, durante el primer minuto, un pH de 12.3, el cual continúa aumentando, durante tres horas, hasta un valor máximo de 12.9 <sup>(6, 18)</sup>.

### **Tiempo de endurecimiento**

Como resultado de la hidratación del polvo de MTA se forma un gel coloidal que se solidifica en menos de 3 horas, resultando una estructura dura y resistente. Las características del MTA dependen del tamaño de la partícula, la proporción polvo-líquido, la temperatura y presencia de agua <sup>(6)</sup>.

Otros materiales con aplicaciones endodónticas endurecen en menor tiempo, por ejemplo la amalgama de plata cristaliza en 4 minutos, mientras que los cementos Super-EBA e IRM fraguan en 9 y 6 minutos respectivamente <sup>(6, 52)</sup>. Al comparar el tiempo de fraguado de 3 cementos: un material experimental: MTA de fraguado rápido, ProRoot MTA y Pórtland, estos fraguaron transcurridos 17, 156 y 159 minutos respectivamente. Por lo que se puede apreciar que los tiempos de fraguado de los mismos se encuentran entre los más largos <sup>(6, 52)</sup>.

Es deseable que el material endurezca lo más rápido posible, evitando que sufra contracciones significantes <sup>(6)</sup>.

### **Resistencia a la Compresión**

El MTA a las 24 horas presenta una resistencia a la compresión de 40 MPa, la cual incrementa hasta 67 MPa luego de 21 días <sup>(6, 52)</sup>.

## Proporción polvo-líquido

La proporción polvo-líquido es el factor más crítico en la producción de cemento, demasiado líquido reduce su resistencia, mientras que muy poco no permite trabajar con la mezcla. Puesto que el cemento debe ser resistente y manipulable se debe mantener un delicado balance en la proporción polvo líquido <sup>(30)</sup>.

Según el fabricante de ProRoot MTA, la mezcla de polvo con líquido debe realizarse en una proporción 3:1 (una relación agua / cemento igual a 0.33), la cual le brinda una consistencia arenosa. Al cabo de unos minutos de la homogenización ocurre resecamiento del material, por lo que es una práctica común agregar más agua a la mezcla objetivando nuevamente su utilización <sup>(6)</sup>.

El agua causa el endurecimiento del cemento a través de un proceso llamado hidratación, que es una reacción química en la cual los principales compuestos en el cemento forman uniones químicas con las moléculas de agua, convirtiéndose en hidratos o productos de hidratación. El agua utilizada para la reacción de hidratación de los cementos MTA y Pórtland puede influenciar sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Algunas de las impurezas más comunes encontradas en el agua pueden afectar las propiedades físicas del cemento, dependiendo de su concentración. Para evitar esto se puede usar agua destilada para la hidratación <sup>(6, 30)</sup>.

La molécula de agua (H-O-H) posee una unión covalente. El agua a temperatura ambiente presenta aproximadamente el 50% de sus uniones rotas. Los materiales con ligaduras rotas tienen cargas superficiales desequilibradas, las cuales generan energía de superficie, la que a su vez, es responsable por la tendencia de un gran número de moléculas a adherirse entre sí. El agua destilada posee tensión superficial alta, haciendo que la hidratación de las partículas de polvo no sea homogénea, permaneciendo partículas sin hidratar, comprometiendo algunas de las propiedades del material. Por lo tanto, la utilización de un líquido o solución con una menor tensión superficial, además de proporcionar una mejor acción humectante también proporciona mejor plasticidad, mejorando así las condiciones de trabajo y posiblemente alterando también el tiempo de fraguado <sup>(6)</sup>.

Al mezclar cemento con agua se forman microporos, canales capilares y agua atrapada debidos a la incorporación de pequeñas burbujas de aire durante el proceso de mezcla. La porosidad es determinada por la proporción agua-polvo, conforme aumenta la proporción de agua, aumenta la

porosidad de la mezcla, por tanto el contenido de agua es la clave para las propiedades del material <sup>(16, 30)</sup>. Una proporción baja conducirá a una gran resistencia, pero su manejabilidad se verá reducida; mientras que, una proporción elevada disminuye su resistencia pero mejora su manejabilidad <sup>(30)</sup>.

Parte del agua en la mezcla se consumirá durante las reacciones químicas del proceso de fraguado; otra parte quedará atrapada en los poros y en los capilares, desde donde puede difundirse y evaporarse durante e incluso después de completado el fraguado <sup>(16, 30)</sup>.

## Hidratación

El cemento necesita de humedad (agua) para hidratarse y fraguar. El fraguado del cemento se basa en las reacciones de los compuestos anhídridos del cemento con el agua, en esa reacción los componentes individuales del cemento se descomponen formando compuestos hidratados <sup>(6, 30)</sup>. Cuando se añade agua al cemento, cada uno de los compuestos sufre hidratación y contribuye a la formación del producto final. Cuando el cemento seca deja de adquirir resistencia. Únicamente los silicatos de calcio contribuyen a su resistencia, el silicato tricálcico es responsable por la mayor parte de la resistencia inicial, mientras que el silicato dicálcico, que reacciona lentamente, contribuye a la resistencia en las etapas tardías; por tal razón se discutirá con mayor detalle el silicato tricálcico <sup>(30, 43)</sup>.

La ecuación para la hidratación de silicato tricálcico está dada por:

**Silicato tricálcico + Agua--->Silicato cálcico hidratado + Hidróxido de calcio + calor, ó**



Luego de la adición de agua, el silicato tricálcico reacciona rápidamente para liberar iones de calcio e hidroxilo y una gran cantidad de calor. El pH se eleva rápidamente, por arriba de 12, debido a la liberación de iones hidroxilo. Esta hidrólisis inicial pierde rápidamente su velocidad luego de que comienza, resultando en disminución de la generación de calor <sup>(30, 43)</sup>. La reacción continúa produciendo lentamente iones de calcio e hidroxilo hasta que el sistema se satura, entonces el hidróxido de calcio comienza a cristalizarse. Simultáneamente, se empieza a formar silicato cálcico hidratado. Los iones se precipitan fuera de la solución acelerando la reacción de silicato tricálcico a iones calcio e hidroxilo y la producción de calor se incrementa dramáticamente. La formación de hidróxido de calcio y cristales de silicato cálcico hidratado proveen las bases para que se pueda formar más silicato

cálcico hidratado. Los cristales de silicato cálcico hidratado se engrosan dificultando a las moléculas de agua alcanzar el silicato tricálcico no hidratado. La velocidad de la reacción es ahora controlada por la tasa en que las moléculas se difunden a través de la capa de silicato cálcico hidratado. Con el paso del tiempo la capa se engrosa, lo que causa que la producción de silicato cálcico hidratado se vuelva cada vez más lenta <sup>(30)</sup>.

El silicato dicálcico también afecta la resistencia del cemento por medio de su hidratación; el silicato dicálcico reacciona con agua de manera similar al silicato tricálcico, pero muy lentamente. El calor liberado por esta reacción es menor que el producido por la hidratación de silicato tricálcico, debido a que el silicato dicálcico es menos reactivo <sup>(30)</sup>.

La ecuación para la hidratación de silicato tricálcico está dada por:

**Silicato dicálcico + Agua--->Silicato cálcico hidratado + Hidróxido de calcio + calor, ó**



Los otros componentes principales del Cemento Pórtland, aluminato tricálcico y ferroaluminato tetracálcico también reaccionan con agua, pero la química de su hidratación es mas complicada pues involucra reacciones con el yeso. Debido a que estas reacciones no contribuyen significativamente a la resistencia no se considerarán <sup>(30, 43)</sup>. El agua que no se consume luego de la hidratación permanecerá como microporos en la estructura (porosidad) <sup>(30)</sup>.

Se han tratado las hidrataciones de los compuestos por separado, pero la tasa de hidratación de un compuesto puede verse afectada al variar la concentración de otro <sup>(30)</sup>. En general, las tasas de hidratación durante los primeros días, clasificadas desde la más rápida a la más lenta son: aluminato tricálcico > silicato tricálcico > ferroaluminato tetracálcico > silicato dicálcico <sup>(30)</sup>.

El calor que se genera durante la hidratación se debe al rompimiento y formación de enlaces. La tasa de desarrollo de calor se puede dividir en 5 etapas <sup>(30)</sup>:

- Etapa I. Se presenta hidrólisis rápida de los compuestos del cemento con un incremento de varios grados en la temperatura, tarda aproximadamente 15 minutos.
- Etapa II. Es conocida como período durmiente, la generación de calor disminuye dramáticamente, el cemento se encuentra en un estado plástico que permite su transporte y

colocación sin mayor dificultad, es al final de esta etapa que comienza el curado inicial; puede tardar entre 1 a 3 horas.

- Etapas III y IV. Son las más tardadas (12 y 20 horas respectivamente). El cemento empieza a endurecer y el desarrollo de calor incrementa principalmente por la hidratación del silicato tricálcico.
- Etapa V. Se alcanza luego de 36 horas, la formación de los productos de hidratación ocurre y se mantiene mientras haya agua y silicatos sin hidratar.

## **Densidad**

El cemento ProRoot MTA presenta una densidad de 4 a 4.5. El Cemento Pórtland seco presenta una densidad de 3 a 3.2; al hidratarlo completamente disminuye su densidad a 2.13. La diferencia entre ambos materiales probablemente se deba a la adición en el MTA de 20% de óxido de bismuto, el cual presenta una densidad de 8.76<sup>(6)</sup>.

## **Solubilidad**

De acuerdo al fabricante de ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Oklahoma, USA) la solubilidad del cemento en agua está comprendida entre 0.1 a 1.0%, considerándosele ligeramente soluble. Según el MSDS (Material Safety Data Sheet) de Lehigh Portland Cement Company, el Cemento Pórtland presenta una solubilidad comprendida entre 0.1 a 1.0%, evidenciándose la similitud entre ambos cementos<sup>(6, 27)</sup>.

Fridland y Rosado por medio del análisis químico de las sales disueltas por el MTA en agua, identificaron al calcio como el principal compuesto químico, también se encontró potasio, sodio, hierro y sulfato. Los autores consideran que dicho calcio, presente como hidróxido de calcio, puede relacionarse con la capacidad del MTA de inducir mineralización en los tejidos<sup>(16)</sup>.

## **Temperatura**

La temperatura ambiente ejerce influencia sobre casi todas las propiedades de los cementos MTA y Pórtland, desde alteraciones en la tensión superficial del agua destilada, pasando por alteraciones en la velocidad de hidratación, la reactividad y solubilidad entre otras<sup>(6)</sup>.

## Sellado marginal

El MTA presenta una gran habilidad selladora, probablemente debida a su naturaleza hidrofílica y a su suave expansión en ambientes húmedos. También puede explicarse analizando la estabilidad dimensional del Cemento Pórtland luego de su hidratación. Las reacciones químicas entre el Cemento Pórtland y el agua, inicialmente producen un enriquecimiento de la pasta seguido por su endurecimiento. Estas reacciones químicas provocan ligeros cambios en el volumen de la pasta, o sea, el volumen absoluto del cemento más el volumen del agua adicionada al inicio de la mezcla, no es rigurosamente el mismo que presentará la pasta después de cierto tiempo de hidratación. El volumen final puede ser hasta un 6% menor que el inicial, dependiendo de las condiciones en las que se realiza la hidratación. Esta reducción de volumen también es conocida como retracción. La retracción está directamente relacionada con la pérdida de agua capilar y con la reducción de volumen de los productos de hidratación. A mayor cantidad de agua en la pasta de Cemento Pórtland, este será más poroso y presentará mayor retracción. Además de la reducción de volumen descrita, puede existir simultáneamente un aumento considerable en el volumen de la pasta a lo largo del tiempo, debido a las reacciones químicas de algunos compuestos con el agua. Ese aumento no solo anula la contracción sino que puede dar un volumen final mayor que el inicial. Si esta expansión fuera exagerada, las tensiones internas podrían generar desde fisuras superficiales hasta una desagregación completa de la masa endurecida. Las sustancias que pueden provocar esas inestabilidades de volumen son principalmente: óxido de calcio libre, sulfato de calcio en dosis muy por encima de las necesarias para regular el tiempo de fraguado y óxido de magnesio, en su forma cristalizada <sup>(6)</sup>.

Torabinejad et al. por medio de microscopia de escaneo de electrones, compararon la adaptación marginal de amalgama de plata, IRM, Super-EBA y MTA al ser usados como materiales retro-obturadores, concluyendo que el material que presentaba mejor adaptación era el MTA <sup>(50)</sup>.

Torabinejad et al., utilizando *Staphylococcus epidermidis*, y Scheerer et al., utilizando *Prevotella nigrescens*, evaluaron el sellado apical de algunos materiales retro-obturadores, entre ellos ProRoot MTA, concluyendo que el MTA presenta significativamente menor filtración comparado con los otros materiales estudiados <sup>(44, 49)</sup>.

Fogel et al. compararon microscópicamente el sellado de los cementos MTA y Super-EBA, al emplearlos como materiales reparadores de furca, concluyendo que, dentro de los parámetros del

estudio, el cemento Super-EBA permitía significativamente, menor filtración que el MTA a las 24 horas, al cabo de una semana y un mes, no presentaban diferencias significativas<sup>(14)</sup>.

Daoudi y Saunders compararon la filtración de tinta de India en reparaciones furcales, realizadas con MTA y Vitrebond, concluyendo que las perforaciones reparadas con MTA sufrieron, significativamente, menor filtración que aquellas en las que se empleo Vitrebond<sup>(11)</sup>.

Ferris y Baumgartner compararon la habilidad de dos tipos de MTA, gris y blanco, para sellar perforaciones de furca en dientes humanos previamente extraídos, utilizando un modelo anaeróbico de filtración bacteriana para *Fusobacterium nucleatum*. No observaron diferencia significativa entre los dos tipos de MTA para impedir tal filtración<sup>(13)</sup>.

## CONSIDERACIONES BIOLÓGICAS

Entre las propiedades que debe poseer un material obturador, se encuentra el efecto bactericida o bacteriostático. Los cementos MTA y Pórtland presentan tal característica por su elevado pH alcalino y su alta concentración de iones hidroxilo. Estrela et al., por medio del test de difusión en agar, comprobaron que los cementos MTA y Pórtland presentan actividad bacteriostática similar, sin embargo, inferior a la presentada por el Hidróxido de Calcio<sup>(6, 18)</sup>.

Stowe et al., también haciendo uso de un test de difusión en agar, evaluaron el efecto bacteriostático del cemento ProRoot MTA blanco, al mezclarlo con agua estéril ó con gluconato de clorhexidina (0.12%); comprobando que todas las mezclas inhibían el crecimiento bacteriano, pero tal actividad se veía aumentada al reemplazar el agua estéril por gluconato de clorhexidina. Sin embargo, los autores hacen la salvedad de que añadir clorhexidina puede causar detrimento en las células del huésped<sup>(47)</sup>.

Varias investigaciones, tanto “*in vitro*”<sup>(23, 57)</sup> como “*in vivo*”<sup>(53)</sup>, han demostrado que los cementos MTA y Pórtland presentan un excelente comportamiento biológico. El MTA ha demostrado la capacidad de promover la formación de tejido duro al estimular la producción de citosinas en presencia de osteoblastos, que a su vez, permiten la adherencia de las células al material; también promueve la formación de osteocalcina, la cual estimula la producción de una matriz mineralizada para

los cementoblastos <sup>(6, 9, 20, 28)</sup>. Entre las investigaciones in vivo destacan las realizadas por Holland et al. en ratas <sup>(18, 21, 22)</sup> y en perros <sup>(17, 19, 20)</sup>; y la de Yaltirik et al. en ratas <sup>(56)</sup>.

Apaydin et al. compararon el efecto reparativo del MTA, en estado fresco y fraguado, sobre el tejido óseo del área periapical en mandíbula de perro. Concluyeron que el estado del cemento no produce diferencias cuantitativas significativas en la reparación del tejido óseo. Consideran que la biocompatibilidad y la estimulación osteogénica y cementogénica no se ven disminuidas al exponer cemento en estado fraguado al tejido periapical <sup>(2)</sup>.

Zhu et al., por medio de microscopía electrónica de barrido, estudiaron la adhesión de osteoblastos humanos al cemento MTA, entre otros materiales, observando que los osteoblastos se adhieren al MTA y forman una monocapa sobre su superficie <sup>(57)</sup>.

Balto, por medio del microscopio electrónico de barrido, observó la adhesión y comportamiento morfológico de fibroblastos periodontales humanos ante el MTA. Observó que conforme transcurría el período de incubación (24 horas), los fibroblastos aumentaban en número y se adherían fuertemente al sustrato <sup>(4)</sup>.

Según Zhu et al. y Balto la cantidad y la calidad de las células adheridas al material pueden usarse como un criterio para la evaluación de la toxicidad de los materiales <sup>(4, 57)</sup>.

Camp et al. en un estudio *in vitro*, evaluaron la adhesión de fibroblastos, gingivales y periodontales, a 4 materiales retro-obturadores: Geristore, ProRoot MTA, Super-EBA y amalgama de plata. Observaron que los fibroblastos se adherían, significativamente, más al material Geristore (ionómero vítreo); mientras que los otros materiales, entre ellos ProRoot MTA, no mostraron diferencias significativas en la adhesión de fibroblastos. Los autores especulan que la acción del MTA puede estar condicionada in vivo por la adhesión de proteínas de la matriz extracelular <sup>(9)</sup>.

Se han observado granulaciones de calcita, las cuales se forman al reaccionar el calcio del hidróxido de calcio con el gas carbónico de los tejidos. Las granulaciones de calcita presentan una alta birrefringencia (0.172), lo que permite identificarlas fácilmente por medio de luz polarizada; también pueden identificarse por el método histoquímico de Von Kossa <sup>(6, 18, 21, 22, 56)</sup>.

La fibronectina pertenece a un grupo de moléculas de adhesión de sustrato responsables por la migración, adhesión y diferenciación celular, siendo producida por fibroblastos, macrófagos y células endoteliales; tiene afinidad por las granulaciones de carbonato de calcio. Así, la fibronectina es la responsable de la migración y adhesión de las células que sintetizarán y depositarán colágeno Tipo I para formar una matriz orgánica extracelular. Luego, la fibronectina inducirá la diferenciación de las células en odontoblastos y cementoblastos, principales responsables de la deposición de minerales. Por lo que se puede afirmar que la presencia de las granulaciones de calcita y fibronectina es el punto de partida para la formación de una barrera de tejido duro <sup>(6, 18-22, 26)</sup>.

Holland et al. estudiaron la deposición de sales de calcio en el tejido conectivo subcutáneo de ratas tras la implantación de tubos de dentina obturados con selladores que contienen hidróxido de calcio en su composición, observando que, con la mayoría de los materiales estudiados, en la abertura de los tubos aparecían gránulos y un tejido irregular positivos a la tinción de Von Kossa <sup>(18)</sup>.

Holland et al. también encontraron similitud de resultados entre los cementos de Hidróxido de Calcio, MTA y Pórtland en tejido subcutáneo de roedor <sup>(21, 22)</sup>, así como en el tejido periapical <sup>(17)</sup> y pulpar <sup>(19)</sup> de perros. Los materiales presentaron la formación de un puente de tejido duro subyacente a partir de las granulaciones de calcita; por lo que se puede concluir que el mecanismo de acción sería el mismo en los cementos. Es sabido que el MTA no contiene hidróxido de calcio en su formulación, sin embargo, el óxido de calcio en él se convierte en hidróxido de calcio al mezclarse con agua, el cual en contacto con los fluidos hísticos se disocia en iones calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ). Los iones calcio reaccionan con el gas carbónico de los tejidos dando origen a las granulaciones de calcita. Junto a esas granulaciones habría acumulo de fibronectina, la que permitiría adhesión y diferenciación celular. En esa secuencia tendríamos formación de un puente de tejido duro <sup>(6, 17-19)</sup>.

El dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), producto del catabolismo de las células, se solubiliza difundiendo hacia los líquidos intersticiales y sangre, esta última lo conduce hasta los pulmones, donde readquiere su estado gaseoso y es exhalado. En los líquidos intersticiales y plasma sanguíneo se encuentra en solución acuosa, y actúa como un tapón biológico, sufriendo una serie de reacciones que tienen como finalidad regular el pH del medio donde se encuentra, pudiendo presentarse en varias formas: dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), ión bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), ión carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). El pH de los tejidos (pulpares y/o periapicales) será influenciado por los estados inflamatorios. En condiciones normales se encuentra neutro o levemente alcalino (7.2 a 7.4), mientras

que en inflamaciones agudas cae, tornándose ácido (6.5 ó menos), debido a la presencia de ácido láctico producido por la glicólisis anaeróbica de las células inflamatorias por el aumento de dióxido de carbono. En las inflamaciones crónicas el pH retorna a la neutralidad (7.0 a 7.2) debido al aumento en la vascularidad. De esta manera al emplear materiales de pH alcalino como MTA y Cemento Pórtland sobre los tejidos, el pH hístico se eleva debido a la solución saturada de iones hidroxilo. Para reequilibrar el pH del medio, el dióxido de carbono presente reaccionará con los iones hidroxilo (OH<sup>-</sup>) aumentando considerablemente la concentración de iones carbonato (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Los que a su vez reaccionarán con los iones de calcio en solución (Ca<sup>2+</sup>) para formar granulaciones de carbonato de calcio, que son una forma de calcita<sup>(6, 21)</sup>.

Torabinejad et al. y Keiser et al. compararon la citotoxicidad del MTA con Super-EBA, IRM y amalgama de plata, concluyendo que, el MTA es menos citotóxico que el Super-EBA, IRM y, en ciertas concentraciones y estados, que la amalgama de plata<sup>(23, 51)</sup>.

## **PRECAUCIONES Y CUIDADOS DURANTE LA MANIPULACIÓN DEL CEMENTO**

El Cemento Pórtland (sólido) es un polvo de color gris o blanco, inoloro, ligeramente soluble, con punto de ebullición elevado (> 1000fC) y gravedad específica de 3.15 (agua 1.0), que al entrar en contacto con humedad o agua se vuelve altamente cáustico (pH > 12) pudiendo causar quemaduras hasta de tercer grado. Los efectos potenciales sobre la salud pueden variar dependiendo del tiempo, grado y sitio de exposición<sup>(27)</sup>.

Ojos. La exposición de estos a partículas en el aire puede causar inflamación inmediata o tardía en la córnea. El contacto de los ojos con grandes cantidades de polvo seco o de cemento húmedo puede causar efectos que van desde irritación ocular moderada hasta quemaduras químicas y ceguera. Si llega a entrar en contacto con los ojos, estos deben lavarse copiosamente con agua durante por lo menos 15 minutos, hasta remover todas las partículas<sup>(27)</sup>.

Piel. La exposición a polvo seco puede causar resecaamiento de la piel con una leve irritación, o incluso efectos más significantes atribuidos a un agravamiento de condiciones preexistentes. El cemento seco en contacto con piel húmeda o el cemento hidratado en contacto con piel, puede causar efectos más severos en la misma, como engrosamiento y fisuramiento. La exposición prolongada

puede causar quemaduras químicas. Algunos individuos pueden exhibir una respuesta alérgica tras la exposición al cemento, la cual puede aparecer en una variedad de formas, desde una leve erupción hasta severas úlceras. El malestar o dolor no son confiables para alertar de una posible exposición peligrosa. Si hay contacto se debe lavar la piel con agua y jabón o detergente suave. En caso que persista la irritación o que se produzca una quemadura se debe buscar atención médica <sup>(27)</sup>.

Vías respiratorias. La inhalación de cemento puede causar irritación a las membranas mucosas nasales, de garganta y de vías respiratorias superiores, pudiendo agravar condiciones preexistentes. La inhalación de sílica (cristales libres) puede causar silicosis, cáncer pulmonar y/o causar o agravar otras condiciones. En caso de inhalación se debe llevar a la persona al aire fresco, si se dificulta la respiración se debe administrar oxígeno, si no respira hay que dar respiración artificial. Si la tos u otros síntomas no ceden se debe buscar atención médica <sup>(27)</sup>.

Ingestión. En caso de ingestión no hay que inducir el vómito, si se encuentra conciente debe forzarse suficiente agua y contactar inmediatamente al médico. La ingesta de grandes cantidades de cemento pueden causar malestar interno <sup>(27)</sup>.

Para minimizar los efectos potencialmente dañinos se debe usar protección personal adecuada y seguir las recomendaciones del fabricante, las cuales incluyen <sup>(27)</sup>:

- Al manipular cemento se deben usar lentes protectores con barreras laterales para evitar el contacto con los ojos, no deben usarse lentes de contacto al manipular cemento.
- Se deben usar guantes resistentes a la abrasión y a los ácidos, así como botas, camisas de manga larga, pantalones u otra ropa protectora que evite el contacto con la piel.
- Se debe minimizar la dispersión al aire, y emplear una adecuada ventilación y recolección de polvo para mantener los niveles al mínimo. Si la ventilación no es adecuada o si el polvo causa incomodidad deben emplearse respiradores aprobados por la MSHA (U.S. Mine Safety and Health Administration) y el NIOSH (U.S. National Institute for Occupational Safety and Health).
- El producto es estable, debiéndose mantener seco hasta su uso; el contacto con agua causa su hidratación produciéndose hidróxido de calcio (cáustico), como tal es incompatible con ácidos, sales amoniacales y aluminio.

## ADITIVOS

Las propiedades del cemento también se pueden ver afectadas por el uso de aditivos durante el proceso de mezcla. Su selección y uso se basan en las necesidades del usuario. Los aditivos son empleados para alterar la fluidez y plasticidad de la pasta; para acelerar o retardar el proceso de fraguado; incrementar su resistencia o para extender la vida de una estructura <sup>(30)</sup>.

Los aditivos se pueden clasificar por el efecto que tienen sobre la pasta de cemento en <sup>(30)</sup>:

- Super-plastificadores. Incrementan la resistencia a la vez que disminuyen la cantidad de agua requerida para hacer manipulable la mezcla, por ejemplo polímeros especiales.
- Retardadores. Demoran el tiempo de fraguado, proporcionando mayor resistencia tardía, por ejemplo azúcar.
- Aceleradores. Apresuran el tiempo de fraguado, proveyendo mayor resistencia temprana, por ejemplo cloruro de calcio.
- Minerales. Algunos minerales mejoran la manipulación, plasticidad y resistencia.
- Pigmentos. Añaden color, por ejemplo óxidos minerales.

Debido al prolongado tiempo de fraguado del Cemento Pórtland, el cual no siempre es una característica deseable, ha de mezclarse con acelerantes que disminuyan dicho tiempo. Existen varios acelerantes disponibles en el mercado, uno de ellos es el Sika®-2 (Sika, Guatemala), un acelerante líquido para pasta de cemento de fraguado ultra-rápido. Se considera ultra-rápido pues logra fraguar la pasta en 20 a 40 segundos, se distribuye listo para su empleo, y entre sus principales aplicaciones se encuentra el taponamiento de filtraciones o vías de agua. En la tabla 3 se aprecian los datos técnicos del acelerante <sup>(45)</sup>.

Para su uso se recomienda mezclar 1 parte de Sika®-2 en volumen con 2 partes aproximadamente, también en volumen, de Cemento Pórtland, removiendo bien durante unos pocos segundos para obtener una pasta fluida; también es recomendable preparar cantidades pequeñas que se puedan colocar de una sola vez <sup>(45)</sup>.

Para aplicar la pasta de cemento se debe moldear un tapón e introducirlo inmediatamente en el hueco por donde mana el agua; hay que mantenerlo sujeto con las manos durante unos segundos hasta su endurecimiento <sup>(45)</sup>.

**Tabla 3.** Datos técnicos del acelerante Sika®-2.

Tipo:	Acelerante a base de silicatos.
Aspecto:	Líquido de color rojo e inodoro.
Densidad:	1.25 kg/l.
Contenido de sólidos:	30% (aproximadamente).
pH:	12 (aproximadamente).
Almacenamiento:	A temperatura superior a 0° C.
Conservación:	2 años, desde su fecha de fabricación.
Presentación:	Garrafas de 5 kg.

Para su correcta utilización se deben seguir las siguientes recomendaciones <sup>(45)</sup>:

- Utilizar siempre Cemento Pórtland fresco.
- Emplear el acelerante sin diluir.
- Usar guantes de goma y gafas para proteger las manos y los ojos de posibles salpicaduras.
- Es aconsejable aplicar vaselina en las manos antes de comenzar a trabajar.
- Lavar bien las manos una vez finalizado el trabajo.
- En caso de salpicaduras a los ojos lavarlos bien con una solución de ácido bórico o abundante agua limpia.
- Mantenerlo siempre en recipientes debidamente etiquetados.

El Sika®-2 es un líquido cáustico, compuesto por: sal sódica de ácido silícico,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{SiO}_2$  e hidróxido de sodio. Es una solución acuosa de alcalinos <sup>(40)</sup>:

Los silicatos son la clase más abundante de minerales, formada por varios elementos en combinación con silicio y oxígeno, son los componentes principales de las arcillas, el suelo y las rocas;

se encuentran en complejidades que van desde las simples, como el óxido de silicio, hasta las complejas, como los silicatos de aluminio hidratados <sup>(43)</sup>.

La sílice y los silicatos se utilizan en la fabricación de vidrio, barnices, esmaltes, cemento y porcelana, y tienen importantes aplicaciones individuales <sup>(43)</sup>.

El gel no elástico más conocido es el gel de sílice o de ácido silícico, el cual es una sustancia incolora, porosa y amorfa; se prepara eliminando parte del agua de un precipitado gelatinoso de ácido silícico,  $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , el cual se obtiene añadiendo ácido clorhídrico a una disolución de silicato de sodio. Los geles no elásticos no tienen imbibición o hinchamiento, por lo que el gel de sílice absorbe agua y otras sustancias sin cambiar de volumen; se usa como agente desecante y decolorante <sup>(43)</sup>.

El ácido silícico se encuentra presente en los órganos del cuerpo, especialmente en el tejido conectivo. El ácido silícico refuerza el sistema inmunitario activando los eritrocitos; su campo de aplicación incluye el tratamiento antiinflamatorio de piel y membranas mucosas, así como la activación del proceso de curación de heridas y cicatrización <sup>(32)</sup>.

## **ESTERILIZACIÓN POR ÓXIDO DE ETILENO**

Debido a que el cemento ha de mantenerse seco hasta su uso, pues el contacto con agua conduciría a su hidratación, debe esterilizarse por medio de óxido de etileno, por lo que a continuación se describen generalidades sobre dicho proceso.

El óxido de etileno es un producto químico con alto poder desinfectante, se presenta en forma líquida, y al volatilizarse forma un compuesto gaseoso que elimina los microorganismos por alquilación de la pared celular <sup>(41)</sup>.

Las características del óxido de etileno hacen que la esterilización de materiales sea posible a bajas temperaturas, siendo un método de demostrada efectividad para aquellos materiales termo sensibles, es decir, aquellos que pueden verse afectados al esterilizarse por calor húmedo (vapor) <sup>(41)</sup>.

El óxido de etileno puro es inflamable y explosivo, por esto para su uso se diluye con freón y el proceso de esterilización se lleva a cabo en cámaras especializadas, en las que el objeto a esterilizar es colocado al vacío y expuesto por 90 minutos a 54° C ó por 150 minutos a 40° C <sup>(41)</sup>.

Debido a que puede absorberse por materiales porosos se requiere de aireación para eliminar el gas residual antes de su uso clínico o de laboratorio. Los equipos deben garantizar su remoción, tanto del ambiente de trabajo como de los materiales, evitando así exposiciones que puedan tener consecuencias para la salud del personal o pacientes. El tiempo asignado al procedimiento de aireación es un factor crítico, pues de éste dependerá que el óxido de etileno retenido en el material haya sido reducido a niveles seguros; el ISP (Instituto de Salud Pública de Chile) recomienda de 14 a 16 horas de aireación <sup>(41)</sup>.

## **ASPECTOS TOXICOLÓGICOS**

Para que la acción del óxido de etileno sea efectiva debe haber un exceso de la sustancia en la etapa de esterilización; pero debido a que es un irritante y que ha presentado efectos cancerígenos en animales de laboratorio (aún cuando no han sido comprobados en seres humanos), ha causando paros

respiratorios e inducido algunas hepatitis tóxicas post-operatorias, el material debe ser muy bien aireado después de la etapa de esterilización a fin de eliminar al máximo restos de óxido de etileno y sus derivados (etilclorhidrina y etilenglicol) que puedan permanecer en el material <sup>(41)</sup>.

Existen dos formas posibles de contacto con óxido de etileno: 1) la exposición directa al gas, o bien, 2) la exposición indirecta, por medio de materiales esterilizados que no han sido debidamente aireados y presentan residuos del mismo <sup>(41)</sup>.

Los efectos adversos que pueden surgir por el uso de materiales biomédicos con residuos importantes de óxido de etileno son lesiones cutáneas, hemólisis y trastornos en la coagulación; como una forma de prevención, la FDA (U.S. Food and Drug Administration) ha fijado niveles máximos de óxido de etileno en materiales en contacto con el organismo, los cuales oscilan entre 5 y 250 ppm, de acuerdo a la utilización posterior del artículo <sup>(41)</sup>.

La FDA clasifica los materiales esterilizados por óxido de etileno, según su futura utilización y su contenido de dicho gas y sus subproductos, de la siguiente forma <sup>(41)</sup>:

- Clase I (Hasta 250 ppm): Material de uso tópico.  
Implantes pequeños (menos de 10 gramos).  
Material en contacto con mucosas.
- Clase II (Hasta 100 ppm): Implantes medios (10 a 100 gramos).
- Clase III (Hasta 25 ppm): Implantes grandes (más de 100 gramos).  
Dispositivos de colocación intraocular.  
Dispositivos en contacto con la sangre.  
Esponjas de absorción quirúrgica.
- Clase IV (Hasta 5 ppm): Dispositivos intrauterinos

## CONSIDERACIONES PARA EL USO DE ANIMALES EN INVESTIGACIÓN

La utilización de animales en investigación, enseñanza, y experimentación es aceptable únicamente si promete contribuir al entendimiento de principios biológicos fundamentales o al desarrollo de conocimientos que puedan beneficiar a humanos o animales <sup>(5, 36)</sup>. Esto es aplicable en investigación biomédica y biológica, donde se emplean modelos animales para el estudio de enfermedades humanas o de mecanismos fisiológicos específicos <sup>(7)</sup>.

Se deben buscar alternativas antes del uso de animales, y solo cuando no se encuentren o no sean viables, se recurrirá a ellos, utilizando el menor número posible <sup>(1, 5, 7, 36)</sup>.

### USOS DE LOS ANIMALES POR LA COMUNIDAD CIENTÍFICA

- En investigación: se usan vertebrados vivos para responder interrogantes específicas <sup>(7)</sup>.
- En enseñanza: se usan vertebrados vivos para ilustrar principios o técnicas a estudiantes, las cuales no pueden llevarse a cabo usando alternativas no animales <sup>(7)</sup>.
- En experimentación: se usan vertebrados vivos en ensayos de seguridad y eficacia de compuestos, en los que se evalúan sus efectos, previo a su uso en humanos <sup>(7)</sup>.
- En diagnóstico: se usan vertebrados vivos para el diagnóstico de enfermedades <sup>(7)</sup>.

El uso de animales debe regirse por los enunciados de Russell y Burch (1959), conocidos como las 3 R's: reducción, refinamiento y reemplazo <sup>(7)</sup>.

- **Reducción:** se refiere al tamaño apropiado de la muestra. Se enfoca en el uso del menor número de animales con los que se puedan obtener resultados estadísticos válidos <sup>(1, 5, 7, 36)</sup>.
- **Refinamiento:** se refiere al uso de los métodos y técnicas depuradas, con las que se espera minimizar la incomodidad que se ocasiona a los animales <sup>(5, 7, 36)</sup>.
- **Reemplazo:** se refiere al uso de especies bajas en la escala evolutiva, de modelos de computadora, cultivos de células, o cadáveres <sup>(5, 7, 36)</sup>. También, atado a refinamiento, se refiere

al reemplazo de procedimientos dolorosos, que pueden causar sufrimiento animal, por procedimientos no dolorosos <sup>(7)</sup>.

Razones por las que se utilizan animales en la investigación Biomédica:

1. Para comprender como funcionan nuestros cuerpos: Debido a las similitudes entre humanos y animales, los investigadores usan modelos animales para comprender como funciona nuestro cuerpo, buscando conocimientos biológicos fundamentales que puedan aplicarse para mejorar la salud de los seres humanos y animales <sup>(35)</sup>.
2. Como modelos para estudiar enfermedades: Los humanos y los animales comparten cientos de enfermedades, por lo mismo los animales pueden actuar como modelos para el estudio de las enfermedades humanas <sup>(35)</sup>.
3. Para evaluar potenciales maneras de tratamiento: Cuando los investigadores poseen conocimiento de una enfermedad en particular, desarrollan planes de tratamiento, los cuales se prueban en animales. Los datos de estudios en animales son esenciales, deben poseerse, antes que las nuevas técnicas terapéuticas y procedimientos quirúrgicos puedan ser evaluados en humanos <sup>(35)</sup>.
4. Para evaluar la eficacia y seguridad en nuevas drogas: Para identificar nuevas drogas se requiere de animales en los que los investigadores puedan cuantificar los efectos, tanto benéficos como dañinos, de los compuestos en los órganos y tejidos del organismo <sup>(35)</sup>.

## LEGISLACIÓN

El Congreso de los Estados Unidos, por medio de la Ley para el Bienestar Animal (AWA por sus siglas en inglés), considera que el uso de animales con propósitos de investigación y educación es instrumental para acrecentar el conocimiento sobre tratamientos y curas para combatir enfrentar enfermedades que afligen a ambos, humanos y animales <sup>(54)</sup>.

La AWA, en vigencia desde 1967, establece estándares para el tratamiento, cuidado y manejo (vivienda, alimentación, higiene, ventilación y cuidados veterinarios) de los animales <sup>(7, 15, 38, 54)</sup>. La AWA emplea el termino “animal” para designar, a cualquier perro, gato, mono, conejillo de Indias, hámster, conejo, o cualquier animal de sangre caliente, vivo o muerto, que se utilice o pretenda utilizar para investigación, experimentación, exhibición o como mascota, excluyendo a las aves, ratas del genero Rattus, y ratones del genero Mus, criados para investigación <sup>(54)</sup>.

En 1971, en Canadá, se formula la Ley de Animales para Investigación de Ontario, por medio de esta se protege a los animales empleados en investigación, enfocándose en el uso y cuidado humano de los mismos. Por medio de estándares mínimos de cuidado y bienestar protege a los animales de dolor innecesario <sup>(39)</sup>.

El Colegio Americano de Cirujanos (American College of Surgeons), por medio de su “Declaración sobre el uso de animales en investigación, educación y enseñanza”, apoya el uso responsable, el cuidado y trato humano de los animales de laboratorio empleados con fines de investigación, educación, enseñanza y pruebas de seguridad, en concordancia con las leyes locales vigentes. Considera que en la actualidad, y en el futuro cercano, no se puede reemplazar por completo el uso de animales de laboratorio, los cuales son indispensables para la investigación biomédica, la educación y la enseñanza <sup>(1)</sup>.

Una entidad que promueve el bienestar animal es el Consejo Canadiense sobre el Cuidado Animal (CCAC por sus siglas en inglés), el cual cuenta con regulaciones y recomendaciones similares y complementarias a las de la Ley de Ontario y AWA <sup>(36)</sup>.

Los animales en instituciones de investigación deben contar con cuidados, tratamientos, y prácticas adecuadas que aseguren que el animal no sufrirá dolor y que minimicen sus aflicciones, incluyendo el cuidado veterinario adecuado y el uso apropiado de anestésicos, analgésicos, tranquilizantes, o eutanasia <sup>(15, 54)</sup>.

Entre las ordenanzas de la AWA, la Ley de Ontario y el CCAC se encuentran:

- La opinión de un experto debe testificar el valor potencial del estudio con animales <sup>(36)</sup>.

- Se deben emplear los métodos más humanos en la cantidad más pequeña de animales que permita obtener información válida <sup>(1, 5, 7, 36)</sup>.
- Si surgen problemas inesperados, se debe consultar un veterinario, cualquier problema debe clarificarse y corregirse <sup>(5)</sup>.
- Los animales no deben someterse a dolores y aflicción innecesarios. Debe ofrecerles cualquier medida de seguridad <sup>(5, 36)</sup>.
- Se deben utilizar anestésicos o analgésicos en procedimientos potencialmente dolorosos y durante el cuidado post-operatorio, a no ser que la investigación no lo permita <sup>(5, 36)</sup>. La retención de tranquilizantes, analgesia, anestesia o eutanasia cuando sea científicamente necesaria debe continuar únicamente por el período necesario <sup>(15)</sup>.
- El principal investigador debe considerar alternativas a cualquier procedimiento que produzca dolor o aflicción en los animales experimentales <sup>(15, 54)</sup>. Si el dolor y la aflicción son concomitantes necesarios para el estudio, debe minimizarse su intensidad y duración <sup>(36)</sup>.
- Los animales que experimenten dolor severo, que no se alivia, o alguna aflicción deben sacrificarse humanamente, utilizando un método que provea inconciencia inicial rápida <sup>(36)</sup>.
- Los procedimientos experimentales que infligen dolor excesivo son inaceptables <sup>(36)</sup>:
  - a) Utilización de relajantes musculares o paráliticos, sin anestesia, durante procedimientos quirúrgicos; y
  - b) Procedimientos traumatizantes que involucren estrujamiento, quemaduras, golpes en animales no anestesiados.
- Estudios como pruebas toxicológicas o biológicas, investigación de cáncer y enfermedades infecciosas pudieron, en el pasado, haber requerido de la continuación del mismo hasta la muerte del animal. Sin embargo, ante signos de que tales procesos estén causando dolor irreversible o aflicción, se deben buscar finales alternativos que satisfagan los requisitos del estudio y las necesidades del animal <sup>(36)</sup>.

- La restricción física solo debe usarse luego de que otras alternativas han sido consideradas y consideradas inapropiadas <sup>(36)</sup>.
- Experimentos dolorosos o procedimientos invasivos múltiples en un animal, conducidos únicamente para la instrucción de los estudiantes en el salón de clases, o para la demostración de conocimientos científicos establecidos, no se justifican. Se deben emplear otras técnicas, como las audiovisuales, para transmitir tal información <sup>(36)</sup>.
- Ningún animal debe ser utilizado en más de un experimento operativo mayor del cual se le permita recuperarse, excepto en casos de necesidad científicas u otras circunstancias especiales <sup>(15)</sup>.

## **CUIDADO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO**

Cuando se emplean animales, se debe proveer para su comodidad física, así como por su bienestar psicológico <sup>(5, 36)</sup>. Las necesidades básicas incluyen un ambiente apropiado (temperatura, ventilación, humedad, ciclo de luz, comida, agua, enjaulado, niveles de ruido). La cantidad de espacio debe ser adecuada a la especie, pero más no es necesariamente mejor <sup>(5, 54)</sup>.

### **Vivienda:**

- Se prefieren jaulas con piso continuo a aquellas de enrejado metálico <sup>(5)</sup>.
- Los animales deben colocarse, cuando sea apropiado y posible, en situaciones sociales <sup>(5)</sup>.
- Deben proveer ambientes adecuados a la especie <sup>(5)</sup>.

### **Ambiente:**

- Los animales se acomodan de acuerdo a la especie <sup>(5, 54)</sup>.
- Se les proporciona comida apropiada y agua <sup>(5)</sup>.
- Los animales se inspeccionan diariamente, en busca de signos de enfermedad o estrés <sup>(5)</sup>.

### **Criterios para eutanasia temprana:**

- Los criterios para una eutanasia temprana se deben definir claramente antes de iniciar cualquier trabajo que involucre animales <sup>(5)</sup>.
- La muerte no es un fin aceptable. Las muertes sin anestesia no deben de ocurrir en laboratorios de investigación <sup>(5)</sup>.
- Entre los criterios para realizar una eutanasia temprana se incluyen pérdida de peso del 15 % o más, deshidratación, pilo erección en roedores, depresión y letargo <sup>(5)</sup>.

### **Anestésicos y analgésicos**

Se deben utilizar analgésicos y anestésicos apropiados para prevenir que los animales sufran dolor innecesario <sup>(1, 5)</sup>. En la mayoría de los casos los analgésicos no interfieren con los resultados de la investigación. De hecho, previniendo el dolor se acelera la recuperación del animal y se reduce la pérdida de peso <sup>(5)</sup>.

### **Reconocimiento de dolor o aflicción.**

Hay que buscar alteraciones en el nivel de actividad del animal, andadura, temperamento, apetito, consumo de agua y apariencia. Hay que buscar por ojos opacos, pelambre erecto (pilo erección), pérdida de interés en lo que lo rodea, e incremento en la respiración o el pulso <sup>(5)</sup>.

Es probable que si un procedimiento similar causa dolor en los humanos también causa dolor en los animales <sup>(5)</sup>.

El promover altos estándares de cuidado y de bienestar animal conduce a resultados científicos de alta calidad y maximiza el uso de los fondos de investigación <sup>(7)</sup>.

## USO DE TUBOS DE DENTINA

Debido a que la forma y el tamaño del material a implantar afectan la reacción del tejido, en algunos estudios se implantan los materiales directamente en el tejido, y en otros se implantan dentro de tubos <sup>(56)</sup>.

El uso de tubos simula condiciones clínicas, asemejando un sistema de conductos radiculares; provee estabilización del material en el sitio de implantación, estandarizando la interfase material-tejido <sup>(56)</sup>.

Para ese propósito se emplean tubos de polietileno, teflón o dentina <sup>(18, 21, 22, 56)</sup>.

Los tubos de dentina se utilizan cuando se quiere observar la acción de los materiales en las paredes de dentina <sup>(18)</sup>.

Los tubos se implantan en los tejidos de animales de laboratorio, como conejo, rata y ratón.

## EL RATÓN

El ratón (*Mus muscus*) es usado extensamente como animal de laboratorio, ha jugado un papel clave en la investigación médica, por medio de él se han logrado numerosos avances <sup>(33, 37)</sup>. Características como pequeño tamaño, temprana pubertad, fertilidad, corto período de gestación y una posición relativamente alta en la escala evolutiva lo hacen el animal de elección para muchas investigaciones <sup>(33)</sup>.

El ratón es un mamífero que comparte algunas características anatómicas y fisiológicas con otros mamíferos, incluido el hombre, como: sangre caliente, presencia de pelo, y corazón dividido en 4 compartimientos. Las similitudes compartidas por ratones y hombre son esenciales par fines comparativos <sup>(33)</sup>.

Debido a que envejece 30 veces más rápido que los humanos, lo que permite ver los resultados de ciertos estudios a lo largo de varias generaciones en períodos cortos <sup>(37)</sup>.

Pertenece al orden de los roedores, el más abundante dentro de la Clase mamíferos. El ratón debe disponer de agua y comida en toda oportunidad <sup>(33)</sup>.

**Tabla 4.** Constantes fisiológicas del ratón.

Constante	Promedio
Temperatura rectal	37.4°
Movimientos respiratorios por minuto	84- 230
Frecuencia cardiaca	330-780
Peso corporal	0.025 kg (adulto)
Pubertad	35 - 40 días de vida

Frecuentemente se emplea en investigaciones el tejido conectivo subcutáneo de estos animales, por su semejanza con el del humano.

## **TEJIDO CONECTIVO**

El tejido conectivo sirve de sostén y de comunicación para otros tejidos y órganos; deriva del mesodermo embrionario, por lo que es un tejido mesenquimatoso <sup>(26)</sup>.

Los tejidos conectivos se diferencian de los otros tipos de tejido por su abundante material intercelular, el cual se encuentra formado por sustancia fundamental amorfa y fibras. Se deben considerar tres elementos: la sustancia fundamental amorfa, las fibras y las células, los cuales se encuentran bañados por el líquido tisular <sup>(26)</sup>.

### **LÍQUIDO TISULAR**

El líquido tisular es acuoso conteniendo cristaloideos, oxígeno disuelto y sustancias alimenticias. Permite el transporte de oxígeno, sustancias nutritivas, dióxido de carbono y productos de desecho en solución entre los capilares sanguíneos y las células para permitir el metabolismo y excreción de éstas. En los espacios intercelulares el líquido tisular está íntimamente relacionado con las sustancias intercelulares <sup>(26)</sup>.

Se forma por simple difusión en el extremo arterial de un capilar y drena por ósmosis a través del delgado revestimiento endotelial de los capilares, pero el volumen del líquido que vuelve es mucho menor que el que sale; de manera indirecta, también regresa por los capilares linfáticos, dentro de los cuales recibe el nombre de linfa. Juntos estos dos métodos de absorción equilibran la velocidad de formación de líquido tisular <sup>(26)</sup>.

En las preparaciones histológicas permanentes el líquido tisular es eliminado, y por tanto no se puede ver como tal al microscopio, sino como pequeños espacios y hendiduras <sup>(26)</sup>.

Un estado patológico, el edema, se caracteriza histológicamente por espacios aumentados de tamaño debidos al aumento de volumen del líquido <sup>(26)</sup>.

## **SUSTANCIAS INTERCELULARES**

Las sustancias intercelulares forman la matriz en que viven las células, son inertes, proporcionan resistencia y sostén a los tejidos, actúan como medio para la difusión de líquido tisular y tienen un papel importante en la diferenciación tisular. Existen dos tipos principales: amorfa y fibrosa <sup>(26)</sup>.

### **Sustancias Intercelulares Amorfas**

También llamadas fundamentales, son transparentes, incoloras y homogéneas. Ocupan los espacios entre las células y las fibras del tejido conectivo, donde funcionan principalmente como medio de difusión para el líquido tisular <sup>(26)</sup>.

Las sustancias amorfas del tejido conectivo están formadas principalmente por glucosaminoglucanos y glucoproteínas. Los principales glucosaminoglucanos de la matriz son el ácido hialurónico, el condroitinsulfato, el dermatansulfato, el queratansulfato y el heparansulfato. Con excepción del ácido hialurónico, todos son sulfatados y están unidos a las proteínas por enlaces covalentes como proteoglucanos. Los glucosaminoglucanos pueden teñirse con colorantes básicos como la hematoxilina. Las glucoproteínas difieren de los proteoglucanos en su mayor proporción de proteína y en el carácter ramificado de su fracción de carbohidrato, entre ellas se encuentran la fibronectina, la condronectina y la laminina <sup>(26)</sup>.

### **Sustancias Intercelulares Fibrosas**

Tienen la función de proporcionar resistencia a la tensión y sostén a los tejidos. Las fibras formes son proteínas complejas formadas por cadenas largas de aminoácidos con enlaces peptídicos, existen tres tipos: colágenas, reticulares y elásticas <sup>(26)</sup>.

Fibras colágenas. También llamadas fibras blancas, debido a su aspecto colectivo. Se encuentran en todos los tipos de tejido conectivo y están formadas por colágena. Son resistentes y según su localización y las necesidades funcionales se pueden agrupar en haces laxos o densos. Las fibras colágenas son acidófilas y se tiñen de rosado con la eosina. Son birrefringentes. La fibrilla,

con un grosor aproximado de 0.3 a 0.5  $\mu\text{m}$ , es el filamento más fino de colágena visible al microscopio óptico <sup>(26)</sup>.

La colágena es una familia de proteínas muy relacionadas, producidas por muchos tipos de células. Los tipos más importantes de colágena son <sup>(26)</sup>:

- El tipo I es la forma más abundante, constituyendo cerca del 90% del total de colágena; se encuentra en la dermis, tendones, hueso, dientes y prácticamente en todos los tejidos conectivos. Algunas de las células que la sintetizan son fibroblastos, osteoblastos y odontoblastos.
- El tipo II, principal componente de la matriz cartilaginosa, es sintetizado por los condroblastos .
- El tipo III se encuentra en las primeras etapas del desarrollo, siendo más tarde sustituido por colágena tipo I, pudiendo persistir algunas regiones.
- El tipo IV se encuentra en las láminas basales, se relaciona principalmente con células epiteliales y endoteliales.
- El tipo V se encuentra por debajo de las membranas fetales y en los vasos sanguíneos como delgadas membranas.

Fibras reticulares. Son fibras colágenas muy delgadas, compuestas principalmente por colágena tipo III. Se presentan como redes finas alrededor de fibras musculares, fibras nerviosas, células grasas y vasos sanguíneos pequeños, dispuestas a manera de formar una armazón reticular de sostén; se encuentran de manera particular en los límites entre el tejido conectivo y los demás tipos de tejido <sup>(26)</sup>.

Fibras elásticas. Son fibras laxas que se encuentran en el tejido conectivo fibroso laxo y se ven como filamentos largos y delgados que se ramifican para formar redes. Están compuestas de albuminoide elastina, y se pueden estirar y desestirar, volviendo a su longitud original cuando se elimina la tensión. Son más delgadas que las fibras colágenas y en conjunto presentan un color amarillento. Se tiñen irregularmente con eosina <sup>(26)</sup>.

## **LÁMINAS BASALES**

Son láminas con grosor variable de material extracelular y constituidas por la lámina basal, fibras reticulares y sustancia fundamental. Se localizan bajo la superficie basal de las células epiteliales, alrededor de músculos, nervios, capilares y células grasas, situándose entre estos elementos y el tejido conectivo subyacente, constituyendo una conexión entre los epitelios y los tejidos conectivos <sup>(26)</sup>. No se observan bien por medio de las preparaciones de hematoxilina y eosina <sup>(26)</sup>.

También actúan como barreras para la filtración de sustancias que se mueven entre las células parenquimatosas y el espacio de tejido conectivo, reteniendo moléculas con base en su tamaño, forma y carga electrostática; adicionalmente constituyen una plataforma para la migración de células durante la embriogénesis y la regeneración <sup>(26)</sup>.

## **CÉLULAS DEL TEJIDO CONECTIVO**

Su descripción se basa en el aspecto que presentan en el tejido conectivo areolar laxo, considerado como prototipo de los tejidos conectivos. Hay un equilibrio dinámico entre el tejido conectivo y la sangre y linfa (tejido conectivos especializados) <sup>(26)</sup>.

### **Fibroblastos**

Los fibroblastos son células grandes, planas y ramificadas que presentan un contorno fusiforme. Su núcleo es oval y tiene una delgada membrana nuclear, uno o dos nucleolos y una pequeña cantidad de cromatina en gránulos finos. El núcleo se tiñe intensamente con los colorantes básicos <sup>(26)</sup>.

Son uno de los grupos más abundantes de células y los encargados de la producción de fibras colágenas, reticulares y elásticas, y de la síntesis de glucosaminoglucanos y glucoproteínas de la sustancia intercelular amorfa <sup>(26)</sup>.

En los fibroblastos jóvenes el citoplasma aparece relativamente homogéneo y es basófilo; las mitocondrias aparecen como bastoncillos delgados, y el aparato de Golgi está bien desarrollado y se localiza cerca del núcleo <sup>(26)</sup>.

En los fibroblastos viejos y relativamente inactivos, el citoplasma es escaso, presenta ligera basofilia, pudiendo ser acidófilo. A estos fibroblastos maduros e inactivos se les llama fibrositos; los cuales, si son estimulados, pueden regresar al estado de fibroblastos <sup>(26)</sup>. Los fibroblastos son considerados como células fijas, pero en toda su vida adulta conservan cierta capacidad de crecimiento y regeneración <sup>(26)</sup>.

### **Células Mesenquimatosas Indiferenciadas**

Son células embrionarias que persisten en el adulto, son más pequeñas que los fibroblastos, de forma estrellada y poseen núcleos alargados con cromatina densa. Se localizan a menudo a lo largo de las paredes de los vasos sanguíneos, en particular de los capilares, donde se denominan células perivasculares, de la adventicia, o pericitos. Representan una reserva de células indiferenciadas que constituyen una fuente de nuevas células del tejido conectivo, sobre todo fibroblastos y células musculares lisas. Es difícil diferenciarlas con el microscopio óptico <sup>(26)</sup>.

### **Células Grasas**

Las células grasas son un componente normal del tejido areolar. Son células grandes que aparecen como gotitas brillantes de aceite rodeadas por un anillo delgado de citoplasma. Se pueden presentar solas o en cúmulos a lo largo de vasos sanguíneos pequeños. Si se acumulan en gran número, el tejido se transforma en adiposo. Si aparecen solas son esféricas, pero cuando están agrupadas y juntas son poliédricas <sup>(26)</sup>. Cada célula madura contiene una sola gota grande de aceite rodeada por el anillo de citoplasma, en el que se encuentra el núcleo aplanado y los organelos. Las células grasas son células completamente diferenciadas <sup>(26)</sup>.

En la mayoría de las preparaciones histológicas se extrae el lípido, dejando únicamente la delgada envoltura protoplásmica <sup>(26)</sup>.

### **Macrófagos**

Los macrófagos presentan, por lo general, forma irregular con prolongaciones cortas y romas, aunque pueden ser largas, delgadas y ramificadas. Poseen núcleo ovoide o con muescas, el cual es más pequeño y heterocromático que el de los fibroblastos. Su citoplasma es ligeramente basófilo <sup>(26)</sup>.

En el tejido conectivo laxo son casi tan numerosos como los fibroblastos, y en las zonas muy vascularizadas son más abundantes que estos. Pueden estar unidos a las fibras colágenas de la matriz o libres en la sustancia fundamental amorfa; cuando son estimulados se desprenden de las fibras colágenas y migran a los lugares de lesión tisular <sup>(26)</sup>.

Cuando son activadas se pueden distinguir con facilidad de los fibroblastos por su capacidad de ingerir material en partículas, por medio de una invaginación de la membrana celular. Cuando son estimulados pueden realizar movimientos ameboides <sup>(26)</sup>.

Debido a su movilidad y actividad fagocitaria son importantes agentes de defensa, limpiando los tejidos, englobando células sanguíneas extravasadas, células muertas, bacterias y cuerpos extraños. También contribuyen a las reacciones inmunológicas, procesando y almacenando antígenos y luego pasando la información a las células inmunocompetentes <sup>(26)</sup>. Tienen capacidad secretora, por lo que secretan enzimas como lisozima, elastasa y colagenasa <sup>(26)</sup>.

### **Macrófagos y el Sistema Fagocitario Mononuclear**

Es un sistema muy diseminado de células con gran capacidad fagocitaria; todas las células del sistema se derivan de células precursoras en la médula ósea. Por sus propiedades fagocitarias y ameboides, son elementos activos en la defensa del cuerpo. Participan de forma activa en la respuesta antígeno-anticuerpo, y tienen receptores para inmunoglobulinas y complemento en su membrana celular <sup>(26)</sup>.

### **Células Cebadas**

Las células cebadas muestran características citológicas y funcionales similares a las de los leucocitos basófilos, identificándose con facilidad por su contenido de gránulos citoplasmáticos, los cuales son refringentes, hidrosolubles y se tiñen con facilidad con colorantes básicos <sup>(26)</sup>.

Las células cebadas tienen un contorno irregularmente oval y a veces presentan pseudópodos cortos. El núcleo es pequeño y a menudo queda oculto por los gránulos que llenan las células. Son muy comunes en el tejido conectivo de roedores <sup>(26)</sup>.

Los gránulos poseen varias sustancias activas, como heparina, serotonina e histamina; también liberan otros mediadores farmacológicamente activos, como el factor quimiotáctico eosinofílico de la anafilaxia y la sustancia de reacción lenta de la anafilaxia. La liberación de los mediadores químicos de las células cebadas favorece las reacciones de hipersensibilidad inmediata <sup>(26)</sup>.

### **Leucocitos Sanguíneos**

Aunque son transportados por el torrente sanguíneo, realizan sus principales funciones al emigrar de los vasos. Los dos tipos de leucocitos más comunes en el tejido conectivo son los linfocitos y los eosinófilos <sup>(26)</sup>.

**Linfocitos.** Son las células libres más pequeñas del tejido conectivo. Poseen núcleo esférico de coloración oscura, que ocupa casi toda la célula, rodeado por un anillo de citoplasma homogéneo basófilo. Por lo regular, no se observan en grandes cantidades en el tejido conectivo, pero abundan en la lamina propia que sostiene el revestimiento epitelial de las vías respiratorias y digestivas <sup>(26)</sup>.

Los linfocitos del tejido conectivo se pueden clasificar funcionalmente en 2 tipos: los linfocitos T, encargados de iniciar la respuesta inmunitaria mediada por células, poseen vida larga; y los linfocitos B, que se dividen y diferencian en células plasmáticas para sintetizar anticuerpos, poseen vida corta <sup>(26)</sup>.

**Eosinófilos.** También emigran del torrente sanguíneo al tejido conectivo, en el cual, por lo general, no abundan. El núcleo es bilobulado y el citoplasma contiene gránulos esféricos muy refringentes que se tiñen con colorantes ácidos. Se acumulan en sangre y en los tejidos en estados alérgicos e inflamatorios subagudos provocados por enfermedades parasitarias <sup>(26)</sup>.

### **Células Plasmáticas**

Las células plasmáticas se asemejan a los linfocitos, pero suelen ser mayores, poseen citoplasma basófilo y un núcleo, generalmente en posición excéntrica. La cromatina nuclear se observa como grumos periféricos gruesos. La característica estructural fina más notable del citoplasma es un extenso retículo endoplásmico con ribosomas relacionados con él <sup>(26)</sup>.

En general son raras en el tejido conectivo, son abundantes en los lugares de inflamación crónica. Representan una diferenciación del linfocito, y su principal función es la producción de anticuerpos<sup>(26)</sup>.

### **Células Pigmento**

Las células que contiene pigmento son raras en el tejido conectivo laxo, pero son comunes en el tejido conectivo denso de la piel, en la piamadre y en la coroides del ojo. En la dermis de la piel se encuentran los melanocitos y los melanóforos, macrófagos que han fagocitado melanosomas<sup>(26)</sup>.

El tejido conectivo varía en las diferentes partes del cuerpo, su aspecto depende de las proporciones y la disposición de los componentes celular, fibroso y amorfo. Puede clasificarse por la concentración de fibras; así, los tejidos conectivos con abundancia de fibras dispuestas en forma compacta se denominan tejidos conectivos densos, y aquellos con menor cantidad de fibras y más células se denominan tejidos conectivos laxos. Los tejidos conectivos laxos pueden dividirse a su vez, en los que únicamente se encuentran en el embrión y los que se encuentran en el adulto; estos últimos incluyen el tejido conectivo areolar laxo, el tejido adiposo y el tejido reticular<sup>(26)</sup>.

Debido a que el tejido conectivo sufre cambios durante y a consecuencia de los procesos inflamatorios y reparativos, dichos procesos se describen a continuación.

## **INFLAMACIÓN**

La inflamación es la reacción de los tejidos vivos a todas las formas de lesión, es básicamente una reacción de defensa en el huésped. Comprende respuestas vasculares, neurológicas, humorales y celulares en el sitio de la lesión. El proceso inflamatorio destruye, diluye o contiene al agente dañino y prepara el camino para la reparación del daño. La inflamación y la reparación están estrechamente entrelazadas, dominando en los fenómenos iniciales la inflamación y adquiriendo mayor importancia después la reparación. Así las respuestas inflamatoria y reparadora son fundamentales para la supervivencia del organismo <sup>(42)</sup>.

### **INFLAMACIÓN AGUDA**

La inflamación aguda comprende la reacción inmediata y temprana a un agente lesivo. Su duración es relativamente corta, de horas o días <sup>(42)</sup>.

La inflamación aguda tiene tres componentes principales: 1) alteraciones en el calibre vascular que incrementan el flujo sanguíneo, 2) cambios estructurales en la microvasculatura que permiten que las proteínas plasmáticas y los leucocitos salgan de la circulación, y 3) agregación de los leucocitos en el foco de la lesión <sup>(42)</sup>.

Los elementos en el proceso inflamatorio agudo son mediados por la producción y liberación de diversos mediadores químicos, los que a pesar de la diversidad de influencias lesivas y de los tejidos que participan en la inflamación son semejantes; por lo que la reacción inflamatoria es virtualmente estereotipada. La intensidad y extensión de la inflamación dependen de la gravedad de la lesión y de la capacidad reactiva del huésped <sup>(42)</sup>.

### **CAMBIOS VASCULARES**

La respuesta vascular en el sitio de lesión es fundamental para la reacción inflamatoria aguda. Los cambios vasculares pueden dividirse en alteraciones del flujo sanguíneo y de la permeabilidad <sup>(42)</sup>.

## **Alteraciones del Flujo Sanguíneo**

Después de una lesión, en el sitio de la misma, hay dilatación arteriolar, quizá precedida por un intervalo de vasoconstricción. Los esfínteres precapilares se abren, aumentando el flujo tanto en capilares previamente funcionales como en capilares inactivos; a la vez, las vénulas poscapilares se dilatan y se llenan con la sangre que fluye con rapidez. Así, la microvasculatura en el sitio de la lesión se dilata y se llena de sangre (congestión). Salvo en el caso de lesiones muy leves, el aumento inicial del flujo sanguíneo (hiperemia) va seguido de lentificación del torrente sanguíneo, cambios en la presión intravascular y alteraciones en la orientación de los elementos formes respecto a las paredes de los vasos. El estancamiento del flujo es consecuencia de varios fenómenos; conforme se desarrolla la hiperemia, las vénulas y los capilares se hacen anormalmente permeables, ocasionando la salida de agua plasmática, aumentando así la viscosidad de la sangre, lo que provoca aglomeración de eritrocitos y resistencia incrementada al flujo, debido a esto, se impide la salida de la sangre desde el sitio local, lo que contribuye a la estasis y estancamiento. La disminución de la salida de sangre, junto con el aumento de la entrada a partir de las arteriolas, eleva la presión hidrostática en los capilares y vénulas. En la sangre que se mueve con lentitud, los acúmulos de eritrocitos adoptan una posición central y los leucocitos una periférica. La dilatación arteriolar se hace evidente en pocos minutos después de la lesión. Pueden observarse lentitud y estancamiento en 10 a 30 minutos <sup>(42)</sup>.

## **Alteraciones de la Permeabilidad Vascular**

La permeabilidad aumentada con la salida de proteínas plasmáticas y leucocitos se denomina exudación y es una característica importante de todas las reacciones inflamatorias agudas <sup>(42)</sup>.

Los líquidos normalmente salen y entran a la microvasculatura. En las arteriolas la presión hidrostática elevada empuja los líquidos, por ultrafiltración, hacia afuera hacia el espacio de tejido intersticial. Esto causa un incremento en la concentración intravascular de proteínas plasmáticas, lo que conduce a un aumento de la presión coloidosmótica, la cual introduce los líquidos en las vénulas. Los capilares permiten el movimiento libre de agua, sales y solutos hasta de un peso molecular de 10,000 daltons <sup>(42)</sup>.

El exudado es un líquido extravascular inflamatorio que tiene una gravedad específica mayor de 1.020 que suele contener 2 a 4 g por 100 de proteínas así como leucocitos que han emigrado. Se

acumula como resultado del aumento en la permeabilidad vascular, elevación en la presión hidrostática intravascular desencadenada por el incremento en el flujo sanguíneo local y una serie de fenómenos leucocitarios que conducen a su emigración <sup>(42)</sup>.

El trasudado es un líquido con una gravedad específica menor de 1.012 con bajo contenido de proteínas, que sale hacia los espacios hísticos como resultado de la presión hidrostática intravascular <sup>(42)</sup>.

El orden cronológico y la rapidez del desarrollo de exudado y edema en el sitio de la inflamación aguda varían con la gravedad de la lesión, así se reconocen tres patrones de permeabilidad vascular incrementada: 1) reacción inmediata transitoria, empieza 1 o 2 minutos después del estímulo y desaparece en 15 a 30 minutos; 2) reacción tardía prolongada, se retrasa la permeabilidad por pocos minutos hasta 10 horas, y alcanza su máximo entre 4 a 24 horas después del estímulo; y 3) reacción inmediata prolongada, aumenta tempranamente la permeabilidad hasta un máximo, en el cual se mantiene por un período no menor que el observado en la reacción tardía <sup>(42)</sup>.

## **FENÓMENOS LEUCOCITARIOS**

La aglomeración de leucocitos, principalmente neutrófilos y monocitos, en el sitio de la lesión puede constituir el aspecto más importante de la reacción inflamatoria. La secuencia por la cual los leucocitos se agregan y actúan en los sitios inflamatorios puede dividirse en: marginación, emigración, quimiotaxis y fagocitosis <sup>(42)</sup>.

El inicio del estancamiento en la microcirculación induce la acumulación de eritrocitos, para formar agregados más grandes, que adoptan una localización central dentro del flujo, este fenómeno desplaza a los leucocitos hacia la periferia, lo que se conoce como marginación, poniéndolos en contacto con las superficies endoteliales, en donde al principio ruedan, luego se adhieren hasta llegar a pavimentan las superficies endoteliales <sup>(42)</sup>.

Migración es el proceso por el cual los leucocitos móviles migran fuera de los vasos sanguíneos. Todos los leucocitos tienen movilidad, los más activos son los neutrófilos y los monocitos, y los más lentos son los linfocitos. Los sitios principales de migración son las uniones

interendoteliales. Durante su migración a través de la pared celular, se detienen temporalmente bajo la membrana basal, pero después de un corto período la atraviesan para entrar al espacio intersticial. Los neutrófilos son las primeras células que aparecen en los espacios perivasculares debido a su mayor movilidad, mayor número en la circulación y a la activación de factores que actúan sobre ellos; los neutrófilos extravasados no sobreviven más de 24 a 48 horas. Generalmente hacia las 48 horas los monocitos, que fuera de los vasos sanguíneos se conocen como macrófagos o histiocitos, empiezan a reemplazar a los neutrófilos, en parte debido a que los factores que actúan sobre ellos son sostenidos y a un lapso de vida de semanas a meses. Las inflamaciones agudas se caracterizan por grandes números de neutrófilos, pero hay excepciones en las que las reacciones son predominantemente mononucleares desde su inicio (infecciones por ciertas bacterias, virosis y reacciones inmunitarias) <sup>(42)</sup>.

Quimiotaxis es la migración direccional de los leucocitos hacia el sitio de la lesión mediada por quimioatrayentes difusibles. Los factores quimiotácticos afectan en grado variable a casi todas las clases de leucocitos, siendo los neutrófilos y monocitos los más reactivos al estímulo quimiotáctico, en tanto que los linfocitos reaccionan poco. Algunos factores quimiotácticos afectan tanto a neutrófilos como a monocitos, mientras que otros tienen acción selectiva sobre varios leucocitos. Los factores quimiotácticos pueden ser endógenos, derivados de proteínas plasmáticas o exógenos <sup>(42)</sup>.

Al llegar los leucocitos al sitio de la lesión se inicia el proceso de la fagocitosis:

Primero, hay unión de la partícula a la superficie del fagocito. Las células fagocíticas pueden unirse a partículas inertes y bacterias sin necesidad de reconocimiento específico pero la fagocitosis de microorganismos se facilita si se encuentran cubiertos con opsoninas séricas. La unión mediada por receptores de bacterias opsonizadas se ha denominado etapa de reconocimiento de la fagocitosis <sup>(42)</sup>.

Segundo, al fijarse la bacteria opsonizada a la superficie de la célula fagocítica se da lugar al englobamiento: la célula fagocítica empieza a fluir parcialmente alrededor de la bacteria creando una invaginación, la cual se cierra, atrapándola en una vesícula citoplasmática rodeada por membrana conocida como fagosoma. Por medio del proceso de desgranulación se vierten poderosas enzimas en el interior del fagosoma que servirán para degradar la bacteria <sup>(26, 42)</sup>.

Tercero, se produce la muerte y degradación de la partícula ingerida por medio de mecanismos dependientes o independientes del oxígeno. Pero aún con el armamentario del que disponen los

fagocitos, hay ciertos casos en los que las partículas no son destruidas y sobreviven, incluso pudiendo llegar hasta los linfáticos, donde se corre el riesgo de que se disemine la infección a otras partes del organismo <sup>(26, 42)</sup>.

## **MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN AGUDA**

En las fases tempranas de la reacción a la lesión actúan mecanismos neurógenos: la vasoconstricción inicial es de origen neurógeno, pero en breve el reflejo antidrómico inhibe los impulsos vasoactivos y contribuye a la vasodilatación. Aún sin los mecanismos neurógenos se presentarán los principales aspectos de la repuesta inflamatoria aguda debido a que los principales mediadores son químicos <sup>(42)</sup>.

Las sustancias derivadas del plasma o de los tejidos actúan como mediadores químicos, los cuales desencadenan la respuesta inflamatoria luego de una lesión. Varios mediadores químicos pueden interactuar entre sí, ampliando sus efectos mediadores. Por medio de mecanismos reguladores se pueden inactivar de manera rápida y local los mediadores de la respuesta inflamatoria, ya sea mediante sistemas enzimáticos o antagonistas, controlando así la inflamación <sup>(42)</sup>.

Los mediadores pueden clasificarse en los siguientes grupos <sup>(42)</sup>:

- Aminas vasoactivas: histamina y serotonina.
- Proteasas plasmáticas: sistemas de cininas, del complemento y de la coagulación-fibrinolítico.
- Metabolitos del ácido araquidónico: prostaglandinas y leucotrienos.
- Productos de los leucocitos: enzimas lisosómicas y lisosimas.
- Radicales libres derivados del oxígeno.
- Factor activador de las plaquetas.

Si el proceso agudo no logra resolverse la inflamación se vuelve crónica <sup>(42)</sup>.

## **INFLAMACIÓN CRÓNICA**

La inflamación crónica se origina por estímulos lesivos y persistentes que originan infiltración de células mononucleares y proliferación de fibroblastos. La proliferación de fibroblastos es una manifestación del proceso reparador, que acontece de manera concomitante a la inflamación crónica<sup>(42)</sup>.

Los leucocitos acumulados son principalmente macrófagos y linfocitos, en ocasiones células plasmáticas. Se presenta un exudado leucocítico denominado mononuclear para diferenciarlo del polimorfonuclear presente en la inflamación aguda<sup>(42)</sup>.

La inflamación crónica puede seguir a la aguda, o puede presentarse como el proceso primario casi desde el inicio. La transición de aguda a crónica ocurre cuando la respuesta inflamatoria aguda no puede resolverse<sup>(42)</sup>.

Se identifican 3 grupos principales de agentes lesivos de baja toxicidad que desencadenan desde el inicio una respuesta crónica: 1) infecciones persistentes por ciertos microorganismos intracelulares; 2) exposición prolongada a material inerte no degradable, y 3) enfermedades autoinmunitarias<sup>(42)</sup>.

### **CÉLULAS INFLAMATORIAS CRÓNICAS**

Como ya se mencionó las células inflamatorias crónicas se denominan mononucleares y comprenden: macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. Pueden observarse fibroblastos y colágena entremezclados con las células mononucleares, pero pertenecen al proceso reparador<sup>(42)</sup>.

Los macrófagos hísticos, que se encuentran dispersos en los tejidos o agrupados en ciertos órganos, y células estrechamente relacionadas con origen en la médula ósea constituyen el sistema de fagocitos mononucleares (MPS). Los fagocitos mononucleares tienen la capacidad de ser activados, proceso por el cual aumentan tamaño, cifras de enzimas lisosómicas y capacidad fagocítica. Después de la activación, los macrófagos secretan una amplia variedad de productos biológicamente activos, muchos de los cuales intervienen en la inflamación y reparación<sup>(26, 42)</sup>.

La liberación mantenida de factores derivados de los linfocitos estimula la acumulación de los macrófagos en el sitio de inflamación crónica. Los macrófagos pueden sobrevivir períodos prolongados pero tienen capacidad limitada para dividirse. La fusión de macrófagos puede conducir a la formación de células gigantes con múltiples núcleos <sup>(26)</sup>. También se observan linfocitos, los cuales participan en las reacciones inmunitarias celular y humoral, y células plasmáticas secretoras de anticuerpos, pues muchos de los estímulos que provocan inflamación crónica también son antigénicos. También pueden observarse, en inflamaciones crónicas inducidas por parásitos, eosinófilos <sup>(42)</sup>.

## **PATRONES MORFOLÓGICOS DE LAS INFECCIONES AGUDA Y CRÓNICA**

Dado que la exudación y el edema o inflamación consecuentes son característicos de las reacciones inflamatorias agudas, pudiendo persistir en etapas crónicas, de acuerdo al tipo de exudado se pueden reconocer los siguientes tipos <sup>(42)</sup>:

- **Inflamación serosa.** Generalmente provocada por lesiones leves, se caracteriza por un exudado con bajo contenido de proteínas que se resorbe con lentitud.
- **Inflamación fibrosa.** Es provocada por lesiones más extensas y con mayor permeabilidad vascular, lo que permite el escape de moléculas de fibrinógeno y conduce a la formación de un exudado fibrinoso.
- **Inflamación purulenta.** También llamada supurativa, se caracteriza por necrosis colicuvativa y migración de grandes cantidades de neutrófilos. El exudado, originado por bacterias piógenas y denominado pus, es rico en proteínas y contiene leucocitos viables incorporados con restos celulares derivados de leucocitos y emigrantes necróticos.
- **Inflamación membranosa (seudomembranosa):** Se presenta en las superficies mucosas y se caracteriza por la formación de una capa superficial de exudado.
- **Reacciones inflamatorias histiocíticas.** Presenta afección difusa del sistema mononuclear fagocítico, los macrófagos están hipertrofiados y forman agregaciones focales características.

- Reacciones inflamatorias intersticiales y perivasculares. Presenta acumulaciones perivasculares e infiltraciones intersticiales de leucocitos mononucleares causadas por ciertas infecciones virales <sup>(42)</sup>.
- Inflamación granulomatosa. Es un patrón morfológico distintivo, consistente en agregación microscópica de histiocitos que se han transformado en células de aspecto epitelial (células epitelioides), que se encuentran rodeadas por un collar de leucocitos mononucleares, principalmente linfocitos y en ocasiones células plasmáticas <sup>(42)</sup>.

## **MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA INFLAMACIÓN**

Las manifestaciones locales del proceso inflamatorio se conocen como los signos cardinales de la inflamación, y son los siguientes <sup>(42)</sup>:

- Rubor o enrojecimiento. Originado por el aumento del flujo sanguíneo en el sitio de la lesión.
- Calor. También originado por el aumento del flujo sanguíneo en el sitio de la lesión.
- Tumor o edema. Es consecuencia de la exudación que origina aumento del líquido intersticial.
- Dolor. Se atribuye a la presión, originada por el exudado, sobre las terminaciones nerviosas, pero se cree que también intervienen mediadores químicos.
- Pérdida de la función. Solamente se han pronunciado hipótesis, pero no explican todos los acontecimientos, por lo que no se comprende.

La inflamación y la reparación son dos procesos distintos, pero estrechamente entrelazados en la respuesta de los tejidos a la lesión, por lo que a continuación se discute el proceso de reparación.

## REPARACIÓN

La reparación es la sustitución de células muertas por viables; inicia poco después de la lesión y es un proceso concomitante a la reacción inflamatoria, pero no puede completarse sino hasta que el agente lesivo ha sido neutralizado. Las células nuevas pueden derivarse del parénquima o del estroma de tejido conectivo del tejido lesionado <sup>(42)</sup>.

La capacidad regenerativa del ser humano (mamíferos) es limitada, sólo algunas de sus células pueden regenerarse en circunstancias específicas, por lo que la reparación de células destruidas suele incluir algo de proliferación de tejido conectivo con la subsecuente formación de una cicatriz fibrosa <sup>(42)</sup>.

La capacidad regenerativa de los fibroblastos y el hecho de que respondan fácilmente a la lesión por medio de proliferación y fibrogénesis, los convierte en los principales protagonistas de la reparación. Participan en la curación de las lesiones, no solo del propio tejido conjuntivo, sino también de tejidos que tienen poca o ninguna capacidad regenerativa <sup>(42)</sup>.

## REGENERACIÓN DEL PARÉNQUIMA

Las células parenquimatosas destruidas pueden repararse mediante proliferación de células de reserva sólo en tejidos donde las mismas conservan la capacidad para reproducirse <sup>(42)</sup>. Según su capacidad regenerativa, las células del organismo pueden dividirse en tres grupos: a) lábiles, que siguen multiplicándose toda la vida para sustituir a las que se descaman o destruyen por los procesos fisiológicos normales; b) estables, conservan la capacidad latente para regenerarse, pero bajo circunstancias normales no se reproducen en forma activa; y c) permanentes, cuyo daño representa una pérdida permanente <sup>(42)</sup>.

La perfección de la reparación parenquimatosa de una lesión depende en mayor grado de la habilidad de las células para regenerarse, y en menor grado, pero no en menor importancia, de la preservación de la arquitectura o esqueleto básico del tejido, pues sin este último se puede restituir masa pero no la función completa <sup>(42)</sup>.

## REPARACIÓN MEDIANTE TEJIDO CONECTIVO

Casi todo daño hístico resulta en la proliferación de fibroblastos y yemas capilares, así como el subsecuente depósito de colágena para producir una cicatriz <sup>(42)</sup>.

La reparación con tejido conectivo requiere pérdida de la función especializada del parénquima; se considera como una unión primaria cuando hay poca pérdida de sustancia, el exudado y los restos necróticos son mínimos, y la reparación es muy rápida; ó como una unión secundaria cuando hay pérdida importante de tejidos, una cantidad considerable de exudados o restos necróticos a eliminar y, por tanto, la reparación es más lenta <sup>(42)</sup>.

El defecto hístico, grande o pequeño, se llena al principio con tejido conectivo altamente vascularizado, llamado tejido de granulación, llamado así porque macroscópicamente se observa de color rosado, blando granular. Microscópicamente consiste en vasos sanguíneos pequeños de neoformación embebidos en sustancia fundamental laxa (edematosa) que contiene fibroblastos y células inflamatorias. La formación de tejido de granulación principia en las etapas iniciales del proceso de cicatrización, como ya se mencionó, los macrófagos empiezan a acumularse en los sitios de inflamación alrededor de las 48 horas y comienzan a fagocitar el tejido muerto, incluso neutrófilos muertos o moribundos. Los macrófagos forman el principal componente leucocitario del tejido de granulación, acompañados de una combinación variable de células inflamatorias como, linfocitos, eosinófilos, células cebadas y algunos neutrófilos existentes. Los capilares entran a la zona mediante formación de yemas a partir de los vasos sanguíneos no dañados en los bordes de la herida; los vasos sanguíneos recién formados dejan escapar su contenido, permitiendo la filtración de proteínas y leucocitos hacia el espacio extravascular, por tanto, el tejido de granulación joven es edematoso y blando. Quizá la permeabilidad de los capilares permite el escape de nutrientes para los fibroblastos, que originan sustancia fundamental y colágena. Conforme madura el tejido de granulación, disminuye el número de células inflamatorias, los fibroblastos depositan colágena y los capilares se hacen mucho menos prominentes, dando lugar al surgimiento de una cicatriz avascular, relativamente acelular, con fibroblastos fusiformes inactivos apretados entre fibras colágenas <sup>(42)</sup>.

Para estudiar los tejidos, ya sea en estado normal o alterado, éstos deben prepararse para su estudio microscópico, tal preparación se discute a continuación.

## PREPARACIÓN DE TEJIDOS

Los tejidos deben estar preparados adecuadamente para su observación. Los métodos de preparación se dividen, según el estado en que se encuentren los tejidos, en dos grupos <sup>(26)</sup>:

- 1) métodos para observar células vivas, y
- 2) métodos para observar células fijadas.

En los tejidos vivos se pueden estudiar al mismo tiempo estructura y función; pero son difíciles de manejar y se dispone de ellos por cortos períodos, por lo que, generalmente, se emplean preparaciones fijadas y teñidas, en las que solo se estudia la estructura <sup>(26)</sup>.

Los tejidos generalmente se estudian por medio de cortes, los cuales son preparaciones más o menos permanentes. Las técnicas histológicas son las diversas maneras en que se pueden preparar los cortes. De manera general, un corte se prepara cortando una porción delgada de un fragmento pequeño de tejido fijado, que después se tiñe, se monta en un medio con índice de refracción adecuado sobre un portaobjetos, y finalmente se cubre con un cubreobjetos <sup>(26)</sup>.

El método de producción de un corte de tejido teñido con lleva la obtención de la muestra, la fijación de la misma, su inclusión, corte, tinción y montaje <sup>(26)</sup>.

Obtención de la muestra. Se debe obtener material fresco, proveniente de un animal anestesiado o inmediatamente después de su muerte, para evitar la degradación del tejido <sup>(26)</sup>.

Fijación. Pretende conservar el protoplasma con la menor alteración posible con respecto al tejido vivo, por lo que debe efectuarse con brevedad para evitar su autólisis. La mayoría de los fijadores coagulan el protoplasma, haciéndolo insoluble, y endurecen el tejido para facilitar su corte; algunos pueden conservar los carbohidratos y los lípidos. Muchos fijadores aumentan la afinidad del protoplasma por ciertos colorantes <sup>(26, 29)</sup>. Los bloques de tejido deben de ser delgados para permitir que el fijador penetre en ellos en un tiempo razonablemente corto; para este fin se recomienda que posean un grosor no mayor a 0.5 cm y que se encuentren inmersos, en al menos, 20 veces su volumen

de fijador. Los reactivos que se emplean con más frecuencia como agentes fijadores son formalina, alcohol, bicloruro de mercurio y algunos ácidos. La elección del fijador se relaciona con el tejido a estudiar y el método de tinción que se usará. Debido a su compatibilidad con la mayoría de las tinciones, formalina al 10 % es el agente fijador más utilizado. La duración de la fijación depende, como ya se mencionó, del tamaño de la muestra del tejido <sup>(26, 29)</sup>.

**Descalcificación.** El tejido calcificado debe colocarse en solución descalcificadora para poder cortarlo con el micrótopo de tejido blando; el revolver o agitar la solución descalcificadora acelera el proceso. Las soluciones más empleadas son ácido nítrico, ácido fórmico y citrato de sodio, ácido sulfo-salicílico <sup>(29)</sup>.

**Inclusión.** Tiene como finalidad proporcionar un soporte rígido al bloque de tejido para que se puedan hacer cortes delgados. Antes de la inclusión debe lavarse con agua, entre 3 a 24 horas, para eliminar el exceso de fijador y luego se deshidrata pasándolo por soluciones de concentración creciente de alcohol etílico. Luego el tejido se aclara, lo cual consiste en eliminar el agente deshidratante y sustituirlo por un líquido que pueda mezclarse con él y con el medio de inclusión. Los agentes aclarantes incluyen xilol, cloroformo, benceno y aceite de cedro. Después de aclarado, el tejido se infiltra con el medio de inclusión para obtener una masa homogénea firme que contiene el tejido incluido. Para este propósito se emplean parafina celoidina, nitrocelulosa y carbowax. La inclusión en parafina es rápida y útil para cortes delgados <sup>(26, 29)</sup>.

**Corte.** El bloque de tejido incluido se recorta, por lo general en forma de cubo, y se monta en el micrótopo, con cuya hoja se obtienen cortes de espesor de 3 a 10 micras. Cada corte se pasa a un portaobjetos limpio, previamente marcado, sobre el que se ha extendido un poco de albúmina de huevo. Se hace correr agua por debajo del corte y se coloca el portaobjetos en una platina caliente. El agua se evapora y el corte queda colocado sobre la superficie de vidrio, a la cual queda adherido <sup>(26, 29)</sup>.

**Tinción.** Su propósito es destacar el contraste natural y hacer más evidentes los diversos componentes. La mayor parte de los colorantes se emplean en solución acuosa y por ello, para teñir un corte de parafina, es necesario eliminar ésta por medio de un solvente de parafina o agente aclarador, generalmente xilol o toluol. Luego el corte se pasa por concentraciones decrecientes de alcohol antes de teñirlo <sup>(26, 29)</sup>.

Los colorantes utilizados son sustancias químicas complejas que se pueden clasificar como generales o específicos, con respecto a las estructuras que colorean <sup>(26)</sup>.

Los colorantes de uso general pueden ser ácidos o bases, pero de hecho pueden ser sales neutras que tienen radicales tanto ácidos como básicos. Cuando la propiedad colorante del tinte está en el radical básico de la sal neutra se dice que es un colorante básico, y las estructuras que se tiñen con el se llaman basófilas. Cuando la propiedad colorante está en el radical ácido de la sal neutra se habla de un colorante ácido, y las estructuras que se tiñen con el se llaman acidófilas. Los colorantes básicos tienen carga positiva y los ácidos tienen carga negativa <sup>(26)</sup>.

La hematoxilina, usada por primera vez en 1863, es el colorante básico más usado, su propiedad colorante depende de la presencia en solución de su producto de oxidación, la hemateína. Cuando se tiñen con este colorante los núcleos celulares aparecen azules <sup>(26, 29)</sup>.

La eosina, el ácido pícrico, el cromotropo, el azul de trípano y el rojo de trípano son colorantes ácidos, los cuales habitualmente se emplean para teñir el citoplasma <sup>(26)</sup>.

La mayoría de los cortes histológicos se tiñen con una combinación de colorante, uno básico y uno ácido. La combinación más frecuente es la de hematoxilina y eosina, en la que las estructuras nucleares se tiñen de azul o púrpura oscuros y las estructuras citoplásmicas y las sustancias intercelulares de rosado <sup>(26)</sup>.

Montaje. Antes del montaje se elimina del corte el exceso de colorante lavándolo con agua o alcohol, luego se deshidrata pasándolo por concentraciones crecientes de alcohol. Después del alcohol absoluto, el corte se pasa a una solución de agente aclarador. Luego se saca de este agente y se le pone una gota de medio de montaje, se cubre con un cubreobjetos y se deja secar. Cuando el medio de montaje seca la muestra está lista para el estudio al microscopio <sup>(26)</sup>.

## MICROSCOPIA

Para el estudio del material biológico se dispone de varios tipos de microscopios, los cuales, según el tipo de fuente luminosa que emplean, se pueden clasificar en <sup>(26)</sup>:

- 1) Microscopios que utilizan luz visible, entre los que se encuentran el óptico, el de luz polarizada, el de contraste de fases, el de interferencia y el de campo oscuro; y
- 2) Microscopios que utilizan luz invisible, que comprenden el de luz ultravioleta, el electrónico, el electrónico de transmisión y el electrónico de centello.

La utilidad de un microscopio depende de sus capacidades de aumento y de resolver detalles. El microscopio más usado es el óptico, que posee un aumento útil de 1500 veces (1500 x). El poder de resolución es la medida de la capacidad del microscopio para separar claramente dos puntos que se encuentran muy juntos <sup>(26)</sup>.

El microscopio óptico actúa como un mecanismo de ampliación en dos etapas: primero, la lente del objetivo proporciona el aumento inicial, y segundo, la lente del ocular amplifica la imagen por segunda vez. El aumento total se obtiene multiplicando el poder de ampliación del objetivo por el del ocular. La lente ocular que se usa con mayor frecuencia tiene una ampliación de x 10; el objetivo consta de varias lentes colocadas en un disco giratorio en el extremo inferior del tubo del microscopio, las cuales se pueden intercambiar según se necesite. Los 4 objetivos usados sistemáticamente son <sup>(26)</sup>:

1. De pequeño aumento (x 10): da un aumento total de x 100.
2. De mediano aumento (x 25): da un aumento total de x 250.
3. De gran aumento (x 40): da un aumento total de x 400.
4. De inmersión en aceite (x 100): da un aumento total x 1000.

La extensión de lo que se puede ver en un corte histológico disminuye en proporción del aumento que se está utilizando <sup>(26)</sup>.

También se emplea una lente condensadora, la cual concentra la luz proveniente de la fuente de iluminación en un haz muy brillante que ilumina el objeto. La lente condensadora no influye en el aumento total, pero sí en la calidad de la imagen observada <sup>(26)</sup>.

## OBJETIVOS

### Objetivo General:

Evaluar la respuesta del tejido conectivo subcutáneo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2.

### Objetivos Específicos:

1. Evaluar la respuesta histológica del tejido conectivo subcutáneo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2, 24 horas después del implante.
2. Evaluar la respuesta histológica del tejido conectivo subcutáneo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2, 7 días después del implante.
3. Evaluar la respuesta histológica del tejido conectivo subcutáneo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2, 30 días después del implante.
4. Determinar si procede continuar con otras pruebas de biocompatibilidad que conduzcan a considerarlo como un material endodóntico de fraguado rápido que en un futuro pueda utilizarse en humanos.

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis de Investigación:**

Hi: La respuesta del tejido conectivo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2, está relacionada con la duración del implante en el tejido.

### **Hipótesis Nula:**

Ho: La respuesta del tejido conectivo de ratones a la implantación de tubos de dentina obturados con Cemento Pórtland tipo I modificado con un acelerante del tiempo de fraguado diluido en agua desmineralizada en proporción 1:2, no está relacionada con la duración del implante en el tejido.

## VARIABLES

### **Variable Dependiente: INFLAMACIÓN**

**Definición conceptual:** Reacción de los tejidos vivos a toda forma de lesión, básicamente es una reacción de defensa. De acuerdo a la cantidad de células inflamatorias presentes se clasificó como leve, moderada y severa <sup>(56)</sup>.

**Definición operacional:** Conteo por campos del número de células inflamatorias en los cortes histológicos de las biopsias, por medio del cual se determinó el grado de inflamación. Se empleó la siguiente clasificación:

Sin reacción: ausencia de células inflamatorias por campo.

Leve: < 40 células inflamatorias por campo.

Moderada: de 40 a 80 células inflamatorias por campo.

Severa: > 80 células inflamatorias por campo.

### **Variable Independiente: TIEMPO**

**Definición conceptual:** Duración de las cosas sujetas a mutación. Duración del implante, períodos predeterminados durante los cuales los implantes permanecieron en contacto con los tejidos subcutáneos de los ratones.

**Definición operacional:** Se anotó en la boleta de recolección de datos la hora y fecha de implantación, y al transcurrir los períodos previamente establecidos se procedió a sacrificar a los especímenes para obtener una biopsia y realizar el estudio histológico. Los períodos fueron los siguientes:

Grupo A: 24 horas de implantación ( $\pm 15$  minutos).

Grupo B: 7 días de implantación ( $\pm 15$  minutos).

Grupo C: 30 días de implantación ( $\pm 15$  minutos).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio que se realizó fue de tipo experimental, con un diseño de investigación para un estudio de caso con una sola medición (estudio piloto); el cual se llevó a cabo en tres etapas: 1) Etapa pre-quirúrgica, la cual comprendió: preparación de los materiales y obtención de los sujetos del estudio; 2) Etapa quirúrgica, la cual comprendió: implantación de los materiales, post-operatorio y obtención de las biopsias, y 3) Etapa histológica, que comprendió: preparación de los cortes, estudio histológico y descripción de los hallazgos.

### 1. Etapa pre-quirúrgica

#### 1.1. Preparación de los tubos de dentina:

El investigador preparó, a partir de 20 raíces de dientes humanos previamente extraídos, 20 tubos de dentina, acorde con las especificaciones descritas en Holland et al. <sup>(18, 21, 22)</sup>. Los conductos radiculares de dichas raíces se ensancharon instrumentándolos manualmente hasta una lima K # 35, sobreinstrumentando el foramen apical aproximadamente 2 milímetros. Por medio de piedras de diamante se removió el cemento que cubre la raíz, dejando tubos con paredes de dentina con grosor de 0.5 de milímetro aproximadamente. Luego se recortaron, dándoles un alto aproximado de 5 milímetros.

Durante su preparación los tubos fueron copiosamente irrigados con EDTA, para eliminar el lodo dentinal y dejar permeables las paredes, e hipoclorito de sodio, para remover restos de tejido, y luego lavados con agua destilada antes de ser esterilizados por autoclave. Se esterilizaron, como máximo, 24 horas antes de ser implantados.

#### 1.2. Preparación del cemento:

Se consiguió en el mercado el cemento y el acelerante. El investigador tomó una muestra de 75 gramos de Cemento Pórtland Tipo I (5,000 psi) de reciente elaboración y una de 100 mililitros de solución de acelerante y agua desmineralizada en proporción 1:2 respectivamente (1 parte acelerante/2 partes agua), las cuales se esterilizaron por medio de óxido de etileno <sup>(41)</sup>.

### 1.3. Sujetos del estudio:

Se utilizaron ratones blancos, del género *Mus*, como sujetos del estudio <sup>(33, 37)</sup>. La población requerida se obtuvo por medio de un muestreo no probabilístico, la cual por conveniencia estuvo conformada por 12 ratones albinos machos, de 7 semanas de edad, y con aproximadamente 15 gramos de peso; los ratones se recibieron el mismo día para tener un parámetro de crecimiento y reducir las variables.

#### Criterios de inclusión:

- Ratones del género *Mus*
- De color blanco
- Machos
- De 7 semanas de edad ( $\pm 3$  días)
- Con 15 gramos de peso ( $\pm 1$  gramo)
- Saludables (sin enfermedades aparentes)

#### Criterios de exclusión:

- Roedores de otro género
- De otro color o con manchas en el pelambre
- Hembras
- Con más de 7 semanas de edad
- Con mayor o menor peso al establecido.
- Enfermos.

El investigador agrupó a los ratones, de manera aleatoria, en tres grupos de cuatro individuos cada uno, luego de agruparlos los colocó individualmente en contenedores previamente identificados. Los grupos se identificaron por medio de letras mayúsculas (A, B y C), y a cada miembro se le asignó, también de manera aleatoria, un número arábigo (1, 2, 3 y 4) que lo identificaba dentro del grupo asignado. Luego, cada ratón se marcó con tinta indeleble en la región dorsal con la letra y el número asignados (A 1-4, B 1-4 y C 1-4).

Cada ratón recibió un implante. La implantación se realizó en la región dorsal derecha, a un lado de la línea media, debido a su fácil acceso operatorio. A los primeros tres ratones de

cada grupo se les implantó con tubos de dentina obturados con el material a investigar, mientras que el cuarto ratón, que sirvió de control, se le implantó un tubo de dentina vacío. Al cabo del tiempo de implantación correspondiente se sacrificaron los ratones por medio de una sobredosis de Pentobarbital sódico por vía intraperitoneal.

Los tiempos en que se sacrificaron los ratones fueron los siguientes:

Grupo A: se sacrificó a las 24 horas de recibir el implante.

Grupo B: se sacrificó a los 7 días de recibir el implante.

Grupo C: se sacrificó a los 30 días de recibir el implante.

Es importante hacer notar que se hubiese considerado la posibilidad de sacrificar a algún(os) animal(es) antes del tiempo estipulado si hubiese(n) presentado un deterioro en su salud, y que, al consultar con un Médico Veterinario, no se encontrase solución o no se pudiese paliar su sufrimiento <sup>(5, 36)</sup>. Las siguientes son algunas de las situaciones que se hubiesen considerado para tomar tal decisión: pérdida de peso del 15 % o más, deshidratación, piloerección, depresión y letargo <sup>(5)</sup>. Únicamente después de consultar con un Médico Veterinario se realizaría cualquier acción extrema <sup>(36)</sup>.

#### 1.4. Preparación del equipo:

El investigador se encargó de preparar el equipo quirúrgico y los instrumentos para la manipulación del cemento, esterilizándolos como máximo 48 horas antes de la cirugía de implantación y de obtención de la biopsia.

## 2. Etapa quirúrgica

### 2.1. Anestesia:

Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron bajo anestesia y supervisión de un Médico Veterinario<sup>1</sup>, quién, se hizo cargo de la anestesia de los ratones para el proceso quirúrgico. Se procedió a desinfectar el sitio de inyección y se les anestesió intramuscularmente con una solución de Ketamina (22 mg/kg de peso) y Xilacina (50 mg/kg de

---

<sup>1</sup> Dr. Héctor Orellana, Médico Veterinario.

peso), con una concentración de 0.025 de Ketamina al 1% y de 0.015 de Xilacina al 2%.

## 2.2. Procedimiento quirúrgico:

El investigador, con la colaboración del asesor y del Médico Veterinario, realizó los procedimientos preparatorios y quirúrgicos.

El área quirúrgica se desinfectó con alcohol, se rasuró a ras de piel y finalmente se desinfectó con yodo. Con el equipo y materiales debidamente esterilizados, se colocaron los especímenes sobre campos estériles y se procedió a realizar, con una hoja de bisturí No. 15, una incisión en su dorso, del lado derecho, aproximadamente de 1 centímetro de largo. Se retrajo el tejido y se practicó disección roma, con el propósito de hacer espacio para el implante.

En una loseta de vidrio se mezcló el cemento con la solución acelerante, en proporción polvo-agua 1:3, cuando el material adquirió la consistencia adecuada se transportó por medio de un porta-amalgama hasta el tubo de dentina, en donde, con ayuda de un porta plástico se obturó por completo. Los tubos de dentina con material, y los controles (vacíos), se colocaron en los espacios preparados en el tejido subcutáneo, luego de lo cual se afrontaron los bordes de la incisión y se suturó con seda negra 3-0.

## 2.3. Período post-operatorio:

El investigador se encargó del cuidado y mantenimiento de los animales.

Para promover su recuperación luego de la intervención quirúrgica se les brindó calor, por medio de una bombilla de luz de 60 W que se colocó a 20 centímetros de distancia, durante aproximadamente dos horas.

Los roedores se colocaron en sus jaulas, las que, como ya se mencionó, se encontraban debidamente identificadas. Para procurarles comodidad física y bienestar psicológico las jaulas contaban con viruta, y los ratones disponían en todo momento de alimento y agua pura.

Todos los días se realizó limpieza de las jaulas, se cambió el agua, el alimento y la viruta; también se limpió el área donde se encontraban las jaulas, depositándose cualquier material de desecho en bolsas para basura para luego descartarlas.

#### 2.4. Obtención de las biopsias:

De acuerdo a los períodos de eutanasia establecidos (24 horas, 7 y 30 días), se sacrificaron los animales por grupos (A, B y C) y se obtuvieron las biopsias. El investigador le administró a cada espécimen una sobredosis de Pentobarbital sódico por vía intraperitoneal, luego procedió a tomar las muestras tisulares, las cuales incluían el tubo de dentina y una buena porción del tejido circundante, mismas que colocó inmediatamente en frascos previamente preparados con una solución fijadora a base de formalina al 10% y bisulfito de sodio <sup>(26, 29)</sup>.

### 3. Etapa histológica

Las muestras de tejido permanecieron en la solución fijadora durante 2 semanas, para que la misma penetrara en todo su espesor, al cabo de dicho tiempo, se lavaron por 24 horas para eliminar cualquier resto de solución fijadora. Los procedimientos de preparación histológica fueron realizados por la Técnica de Laboratorio<sup>2</sup>, en el Laboratorio de Histopatología de la Facultad de Odontología de la USAC.

#### 3.1 Desmineralización:

Debido a que se trabajó con tejido y material mineralizado las muestras debieron desmineralizarse previo a ser cortadas con el micrótopo; para dicho propósito el investigador las sumergió en una solución descalcificadora, la cual consistió en una solución de ácido fórmico y ácido clorhídrico, en la que permanecieron durante 6 días. Se finalizó la desmineralización al comprobarse que el tejido era fácilmente atravesado por una aguja, lo que indicó que ya se había reblandecido lo suficiente como para ser cortado. Una vez completado el proceso de descalcificación las muestras de tejido se lavaron por 48 horas <sup>(29)</sup>, previas a la preparación para el proceso de inclusión.

#### 3.2. Inclusión:

La preparación para el proceso de inclusión es automatizada, la Técnica de Laboratorio colocó las muestras dentro del Autotechnicon, aparato en el que pasaron 24 horas sumergiéndose en varias soluciones: dos formoles, para fijar; cinco alcoholes isopropílicos (al 95%), para deshidratar; tres xiloles, para aclarar y una parafina, para soporte. Al cabo de las 24

---

<sup>2</sup> Sra. Mayra Duarte, Técnica de Laboratorio III.

horas se retiraron los tejidos del aparato y se incluyeron en parafina, luego se refrigeraron para solidificarlos y permitir su corte.

### 3.3. Corte:

La Técnica de Laboratorio, por medio de un micrótomo, realizó cortes transversales seriados, a intervalos de 7 micras, los cuales depositó en un baño de flotación; el cual contenía agua a una temperatura aproximada de 50° C y gelatina, esta última, para fijarlos en las láminas. El baño de flotación también sirvió para extender los cortes y disolver la parafina, luego se montaron en un portaobjetos, de tres a cuatro cortes por lámina, y se hornearon a 48° C por 15 minutos. El horneado eliminó los restos de parafina y fijó el tejido al portaobjetos.

### 3.4. Tinción de las muestras con hematoxilina-eosina:

La Técnica de Laboratorio sumergió los cortes dentro recipientes que contenían las siguientes soluciones:

Para desparafinar:

1. Xilol I
2. Xilol II

Para remover el xilol e hidratar:

3. Alcohol absoluto-xilol
4. Alcohol absoluto I
5. Alcohol absoluto II
6. Alcohol de 96° I
7. Alcohol de 96° II
8. Agua corriente

Para teñir los núcleos:

9. Hematoxilina de Harris
10. Agua corriente
11. Alcohol ácido
12. Agua corriente

Para contrastar:

13. Eosina

#### 14. Agua corriente

Para aclarar:

#### 15. Xilol I

#### 16. Xilol II

### 3.5. Montaje:

Los cortes teñidos se limpiaron para eliminar los excesos de xilol, utilizado para aclarar. Se les colocó una gota de resina sintética y se cubrieron con un cubreobjetos, el cual hizo que la resina se extendiera para proteger el tejido. Así terminó el procesamiento de los tejidos dejándolos listos para su observación al microscopio.

### 3.6. Estudio histológico:

El investigador inspeccionó cada lámina con sus respectivos cortes, de 3 a 4, para seleccionar la que mejor representase cada caso, y con ella proceder al estudio histológico. Dicho estudio fue realizado con la colaboración de los especialistas<sup>3</sup> de la Facultad de Odontología de la USAC, quienes desconocían el sitio y los tiempos de implantación. Por medio de un microscopio de luz y con un Objetivo a 20x y Ocular a 10x, dando un total de doscientos aumentos (200x), observaron la reacción que se presentó en los tejidos circundantes a los implantes, seleccionaron la zona en la que la reacción fue más evidente, en ella realizaron un conteo de células y lo reportaron. El tipo de respuesta inflamatoria se determinó de acuerdo al patrón histológico observado. Los criterios empleados para clasificar el grado de inflamación fueron: 0, ausencia de células inflamatorias por campo, sin reacción inflamatoria; 1, < 40 células inflamatorias por campo, reacción leve; 2, de 40 a 80 células inflamatorias por campo, reacción moderada; y 3 > 80 células inflamatorias por campo, reacción severa. Los datos obtenidos se anotaron en las boletas correspondientes (ver anexos), se tabularon y analizaron para presentar los resultados. (Ver resultados)

### 3.7. Análisis y presentación de resultados:

Se procedió con el análisis estadístico de los resultados, para lo que se utilizó estadística descriptiva (mediana y desviación cuartil). Se interpretaron los resultados, y se presentaron en cuadros (ver resultados).

---

<sup>3</sup> Dres. Leonel Gómez Rebullá e Ingrid Arrillaga, del Área Básica.

## RESULTADOS

La muestra del presente estudio estuvo compuesta por doce ratones blancos de sexo masculino, de siete semanas de edad y  $\pm 15$  gramos de peso. Se dividieron de manera aleatoria en tres grupos de 4 sujetos cada uno, en los que el cuarto sujeto recibió un implante vacío que sirvió como control. Cada grupo se designó como A, B ó C, representando los períodos de 24 horas, 7 y 30 días respectivamente, en los que se sacrificaron los ratones para obtener las biopsias.

Los tejidos obtenidos se procesaron para su estudio histológico, tiñéndose con hematoxilina y eosina. Para el análisis histológico los cortes se observaron con un microscopio a 200 aumentos (200x), se seleccionó la zona, siempre cercana al implante, en la que la reacción fuese más evidente, y en ella se realizó el conteo celular.

Macroscópicamente se observó cicatrización satisfactoria de las heridas quirúrgicas en todos los sujetos de cada período de evaluación. La reacción del tejido se evaluó microscópicamente luego de 24 horas, 7 y 30 días de implantación.

En los tejidos en contacto con los tubos de dentina obturados con el material estudiado se pudo observar lo siguiente:

A las 24 horas en los tejidos circundantes a los implantes se observó un infiltrado inflamatorio de tipo agudo severo (Figuras No. 1 y 2), caracterizado por la ausencia de linfocitos y células plasmáticas, y por conteo elevado de macrófagos y polimorfonucleares. La presencia de macrófagos se vio a veces sobrepasada por polimorfonucleares, principalmente del tipo neutrófilo. En estos cuadros agudos fueron más notables las dilataciones vasculares.

A los 7 días en los tejidos circundantes a los implantes se observó un infiltrado inflamatorio crónico caracterizado por conteo elevado de macrófagos, cantidades moderadas de linfocitos y células plasmáticas, y ausencia de polimorfonucleares. Se observaron respuestas de grado leve (Figura No. 5) y moderado (Figura No. 6).

A los 30 días en los tejidos circundantes a los implantes se observó un infiltrado inflamatorio crónico caracterizado por conteo moderado de macrófagos, escasos linfocitos y células plasmáticas, y ausencia de polimorfonucleares. Se observaron respuestas de grado leve (Figura No. 8) y moderado.

En los tejidos en contacto con los tubos de dentina vacíos se observó lo siguiente:

A las 24 horas en los tejidos circundantes al implante se observó un infiltrado inflamatorio de tipo crónico leve (Figuras No. 3 y 4), caracterizado por conteo moderado de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, y ausencia de polimorfonucleares. También se observaron células sanguíneas, específicamente glóbulos rojos.

A los 7 días en los tejidos circundantes al implante se observó un infiltrado inflamatorio de tipo crónico leve (Figura No. 7), caracterizado por conteo moderado de macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, y ausencia de polimorfonucleares.

A los 30 días en los tejidos circundantes al implante se observó un infiltrado inflamatorio de tipo crónico leve, caracterizado por conteo escaso de macrófagos y linfocitos; sin células plasmáticas, ni polimorfonucleares.

En el cuadro No. 1 se aprecia la distribución por períodos de los sujetos del estudio, así como el tipo y grado de respuesta que presentaron. A las 24 horas en el 75 % de los sujetos se presentó una respuesta inflamatoria aguda leve, el 25 % restante presentó una respuesta crónica leve. A los 7 y 30 días el 100 % de los sujetos presentó una respuesta crónica, de la cual 50 % fue moderada y 50 % leve.

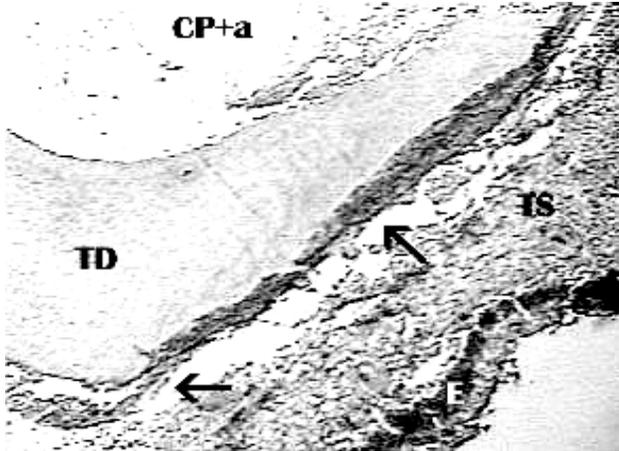
En la cuadro No. 2 se aprecia la frecuencia del tipo de respuesta inflamatoria presentada por todos los sujetos del estudio, y el porcentaje representado en la misma. De los 12 ratones que conformaron la muestra, nueve, equivalentes al 75 % presentaron inflamación de tipo crónica, mientras que el 25 % restante presentó de tipo agudo.

En el Cuadro No. 3 se aprecia la frecuencia por grados de respuesta inflamatoria presentada por todos los sujetos del estudio, y el porcentaje que representan. De los 12 ratones que conformaron la muestra, cinco, correspondientes al 42 % presentaron inflamación de grado leve; cuatro,

correspondientes al 33 % presentaron grado moderado, mientras que el 25 % restante presentó grado severo.

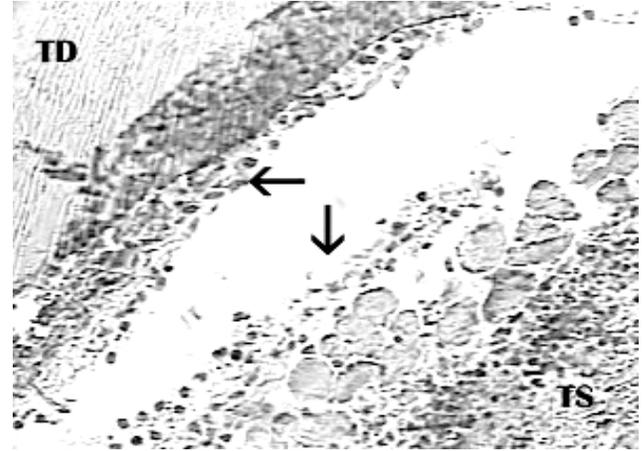
En el Cuadro No. 4 se aprecia, entre otras, la mediana y la desviación intercuartil de cada grupo del estudio, de acuerdo a los criterios aplicados a los grados de la respuesta inflamatoria (0, 1, 2, 3). En ella se observa que en el Grupo A la mayoría de los datos (m) se encuentra en 3, mientras que en B y en C se encuentran en 1.5. Los datos del Grupo A se desvían por 1 de su mediana. En los Grupos B y C los datos se desvían por 0.5 de su mediana. Estos datos son solo aplicables a la muestra, no pueden proyectarse a la población.

**Figura No. 1**  
Cemento y acelerante a las 24 horas



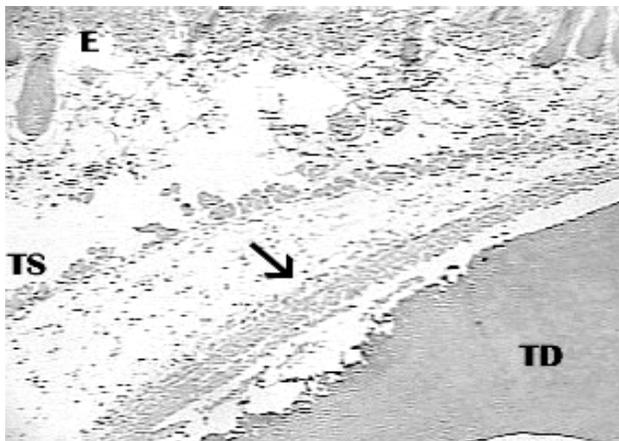
Tubo de dentina (TD), Cemento Pórtland y acelerante (CP+a), tejido subcutáneo (TS), epitelio (E), e infiltrado inflamatorio de tipo agudo severo (flechas). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 100x)

**Figura No. 2**  
Cemento y acelerante a las 24 horas



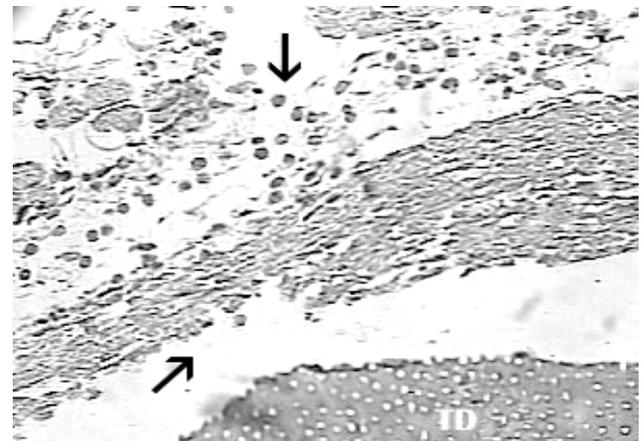
Tubo de dentina (TD), tejido subcutáneo (TS), e infiltrado inflamatorio de tipo agudo severo caracterizado por altos números de macrófagos y polimorfonucleares (flechas). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 400x)

**Figura No. 3**  
Control a las 24 horas



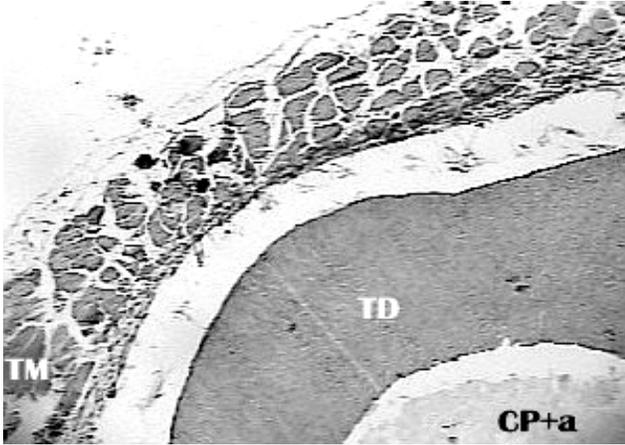
Tubo de dentina (TD), epitelio (E), tejido subcutáneo (TS), e infiltrado inflamatorio crónico leve (flecha). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 100x)

**Figura No. 4**  
Control a las 24 horas



Tubo de dentina (TD), e infiltrado inflamatorio crónico leve (flechas). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 400x)

**Figura No. 5**  
Cemento y acelerante a los 7 días



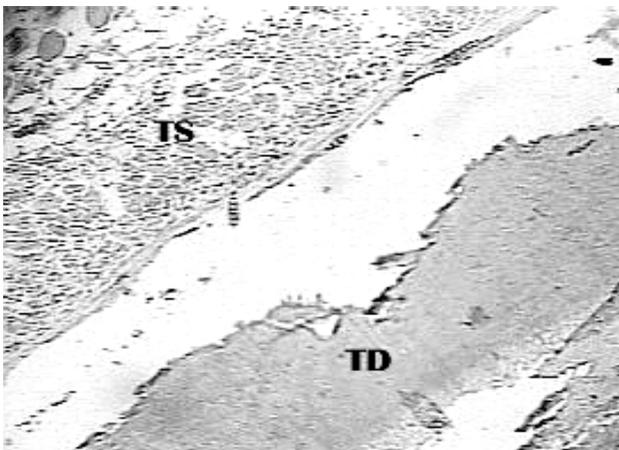
Tubo de dentina (TD), Cemento Pórtland y acelerante (CP+a), tejido muscular (TM), y escasas células inflamatorias (infiltrado crónico leve). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 100x)

**Figura No. 6**  
Cemento y acelerante a los 7 días



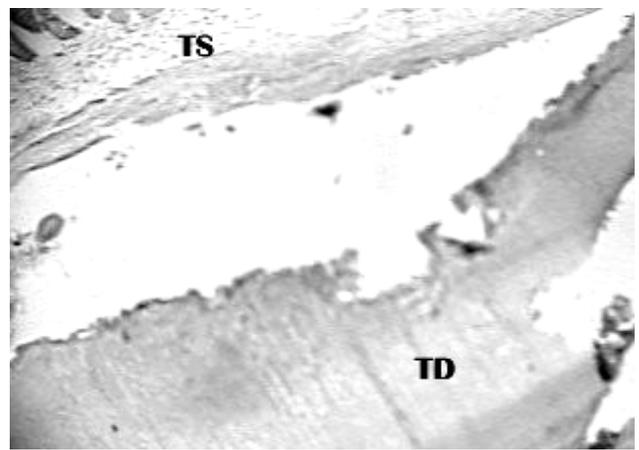
Tubo de dentina (TD), e infiltrado inflamatorio de tipo crónico moderado (flechas). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 400x)

**Figura No. 7**  
Control a los 7 días



Tubo de dentina (TD), tejido subcutáneo (TS), y escasas células inflamatorias (infiltrado crónico leve). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 100x)

**Figura No. 8**  
Cemento y acelerante a los 30 días



Tubo de dentina (TD), tejido subcutáneo (TS), y escasas células inflamatorias (infiltrado crónico leve). (Hematoxilina y eosina; magnificación original 100x)

**Cuadro No. 1.**

Respuesta del tejido subcutáneo de ratón de acuerdo al tipo y grado de inflamación en los tres períodos de implantación

Período	Sujeto	Tipo de inflamación	Grado de inflamación	Criterio
24 horas	A – 1	Aguda	Severa	3
	A – 2	Aguda	Severa	3
	A – 3	Aguda	Severa	3
	A – 4	Crónica	Leve	1
7 días	B – 1	Crónica	Moderada	2
	B – 2	Crónica	Leve	1
	B – 3	Crónica	Moderada	2
	B – 4	Crónica	Leve	1
30 días	C – 1	Crónica	Moderada	2
	C – 2	Crónica	Leve	1
	C – 3	Crónica	Moderada	2
	C – 4	Crónica	Leve	1

Fuente: reporte histológico Ref.: ABO-072-2005 y boleta de recolección de datos.

**Cuadro No. 2.**

Distribución de la respuesta inflamatoria del tejido subcutáneo de 12 ratones por tipo de inflamación

Respuesta inflamatoria	Frecuencia absoluta ( $f_i$ )	Frecuencia relativa ( $h_i$ )	Porcentaje (%)
Aguda	3	0.25	25%
Crónica	9	0.75	75%
Total	12	1.00	100%

Fuente: reporte histológico Ref.: ABO-072-2005 y boleta de recolección de datos.

**Cuadro No. 3.**

Distribución de la respuesta inflamatoria del tejido subcutáneo de 12 ratones por grado de inflamación

Grado de la Respuesta inflamatoria	Frecuencia absoluta ( $f_i$ )	Frecuencia relativa ( $h_i$ )	Porcentaje (%)
Leve	5	0.42	42%
Moderada	4	0.33	33%
Severa	3	0.25	25%
Total	12	1.00	100%

Fuente: reporte histológico Ref.: ABO-072-2005 y boleta de recolección de datos.

**Cuadro No. 4.**

Mediana, cuartil primero, cuartil tercero, rango intercuartil y desviación cuartil del grado de la respuesta inflamatoria presentada por cada grupo del estudio

Grupo	Mediana (m)	Cuartil primero ( $c_1$ )	Cuartil tercero ( $c_3$ )	Rango intercuartílico	Desviación cuartil
A	3	1	3	2	1
B	1.5	1	2	1	0.5
C	1.5	1	2	1	0.5

Fuente: reporte histológico Ref.: ABO-072-2005 y boleta de recolección de datos.

## DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En este estudio se investigó la biocompatibilidad del Cemento Pórtland tipo I al modificarlo con una dilución de acelerante de fraguado en proporción 1:2 y colocarlo en tubos de dentina que se implantaron en el tejido subcutáneo de ratón por 24 horas, 7 y 30 días.

Estudios de implantación, como el realizado, proporcionan información preliminar sobre su posible biocompatibilidad al evaluar la respuesta histológica al material <sup>(56)</sup>.

Algunos estudios colocan los materiales en contacto directo con los tejidos, mientras que otros se valen de tubos como medios para transportarlos. Dichos tubos pueden ser de silicona, polietileno, teflón o dentina, y tienen como ventajas simular las condiciones clínicas, estabilizar el material, proveer un modelo del conducto radicular y estandarizar la interfase material-tejido, por lo cual se decidió hacer uso de ellos <sup>(18, 21, 22, 56)</sup>.

Para el análisis histológico los cortes se observaron con un microscopio a 200 aumentos, seleccionando para el conteo celular la zona en que la reacción fuese más evidente.

Debido a que los implantes actuaron como cuerpos extraños, en todos los períodos la respuesta inflamatoria siempre fue mayor en las áreas cercanas a ellos, disminuyendo conforme se alejaba hacia los tejidos. El criterio 0, sin inflamación, no se observó, siempre hubo una respuesta inflamatoria, 1-3.

Tanto el tipo como el grado de las respuestas inflamatorias están basados en patrones histológicos y conteos celulares, cabe notar que los patólogos desconocían los diferentes períodos de implantación en este estudio.

La respuesta inflamatoria aguda presentada a las 24 horas por la mezcla estudiada concuerda con la cronología de la inflamación, y la severidad de la misma probablemente se deba a que el material es altamente cáustico <sup>(6, 18, 52)</sup>. El control presentó inflamación crónica leve, no concordando con la cronología inflamatoria, según la cual debió ser aguda, lo anterior es atribuible a una infección sistémica previa o concomitante; en la literatura no se reporta la evaluación a las 24 horas. La

presencia de glóbulos rojos en el control probablemente se deba al rompimiento de un vaso sanguíneo durante el procedimiento quirúrgico.

Aún cuando se reportan resultados idénticos en tipo y grado de inflamación para los períodos de 7 y 30 días, correspondientes a los grupos B y C respectivamente, debe hacerse notar que los conteos celulares del grupo C fueron menores, encontrándose en los límites inferiores de los grados leve y moderado. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Holland et al. <sup>(18, 21)</sup> y Yaltirik et al. <sup>(56)</sup>. Por lo anterior, los hallazgos se consideran como un proceso reparador en vía de resolución.

El 75 % de la muestra presentó inflamación crónica y el 25 % restante aguda; esto debido a que los períodos de implantación eran cada vez mayores, no pudiéndose observar el estadio agudo que presentaron los grupos B y C. El 42 % de la muestra presentó una respuesta inflamatoria de grado leve, el 33 % de grado moderado, y el 25 % restante de grado severo; las respuestas leve y moderada presentadas por los grupos B y C mostraron porcentajes mayores debido a que, sus períodos de implantación mayores, ya se encontraban en el proceso reparador.

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que:

1. De acuerdo a lo observado, existe relación inversa entre el tiempo de implantación y la respuesta inflamatoria, por lo cual se acepta la hipótesis de investigación.
2. La inflamación estaba cediendo, por acción del proceso reparador, por lo que se considera que en períodos de observación más prolongados podría llegarse a apreciar su resolución.
3. La respuesta inflamatoria del tejido subcutáneo siempre fue mayor en las áreas cercanas a los implantes, tanto los obturados con Cemento Pórtland tipo I y acelerante como los vacíos.
4. Los tejidos cercanos a los implantes obturados con el material de estudio presentaron, en todos los períodos, una respuesta inflamatoria mayor a aquellos cercanos a los implantes vacíos.

## RECOMENDACIONES

De este modelo experimental se pueden realizar las siguientes recomendaciones:

1. Emplear una muestra mayor en la que los resultados puedan ser proyectados a la población estudiada (ratones).
2. Considerar el uso de períodos más prolongados, con lo que se espera seguir en su totalidad la evolución de la respuesta presentada.
3. Establecer otros grupos experimentales con fines comparativos, para brindarle mayor validez a los resultados que se obtengan.
4. Utilizar en próximos estudios al mismo equipo de Patología y los mismos criterios de evaluación aplicados en esta investigación.
5. Evitar el uso de la mezcla empleada en esta investigación en humanos hasta que futuros estudios proporcionen resultados concluyentes.
6. Propiciar medidas que permeabilicen la opción de un espacio propio dedicado a la investigación dentro de los confines de la Facultad de Odontología de la USAC.

## **LIMITACIONES**

El modelo experimental empleado en este estudio limita la proyección de los datos obtenidos al resto de la población, debido al tamaño de la muestra y a los grupos experimentales, a la vez que no permite establecer causalidad con certeza.

La Facultad de Odontología de la USAC no cuenta con un espacio propio dedicado a la investigación en el cual se puedan conseguir, hospedar, atender y cuidar a animales de laboratorio empleados en investigaciones propias, tanto por parte de profesionales como de estudiantes, por lo que el costo de estudios de este tipo resulta elevado.

La resina sintética empleada para adherir los cubreobjetos a las laminillas formó burbujas, en algunas de ellas, las que produjeron alteraciones en zonas de importancia diagnóstica, debiéndose trabajar alrededor de ellas para el análisis histológico.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ACS (American College of Surgeons). (2002). **Statement on the use of animals in research, education, and teaching.** Bulletin of the American College of Surgeons 87(10):16.
2. Apaydin, E.; Shabahang, S. and Torabinejad, M. (2004). **Hard-tissue healing after application of fresh or set MTA as root-end-filling material.** J Endodon. 30(1):21-24.
3. Ávila, D. (2002). **Estudio comparativo de los cementos: Pórtland, MTA e hidróxido de calcio con propilenglicol, evaluando respuesta inflamatoria en tejido subcutáneo en roedores.** Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. pp. 31, 43-44, 47-48.
4. Balto, H. (2004). **Attachment and morphological behavior of human periodontal ligament fibroblasts to mineral trioxide aggregate: A scanning electron microscope study.** J Endodon. 30(1):25-29.
5. Bailey, M. (s.f.). **Ethics and animal use in research.** (en línea). Canadá: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: [http://www.pirweb.org/pir07c\\_ethics.htm](http://www.pirweb.org/pir07c_ethics.htm)
6. Bernabé, P.F.E. y Holland, R. (2003). **MTA e cemento portland: considerações sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas.** En: Odontología Arte e Conhecimento. Cardoso, R.J.A y Machado, M.E.L. editores. Brasil: Artes-Médicas Ltda. v.1, pp. 225-264.
7. Blake, J. (2001). **Moral and ethical considerations for the use of animals.** (en línea). USA: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: [http://www.uaf.edu/iacuc/training/module\\_1/1\\_ethics.html](http://www.uaf.edu/iacuc/training/module_1/1_ethics.html).
8. Búcaro, E. (2004). **Evaluación clínica y radiográfica de tratamientos de conductos radiculares en forámenes apicales sobreinstrumentados de piezas dentales de perros, utilizando hidróxido de calcio con propilenglicol, cemento de pórtland y ProRoot MTA.**



Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. pp. 5-54.

9. Camp, M.; Jeansonne, B. and Lallier, T. (2003). **Adhesion of human fibroblasts to root-end-filling materials.** J Endodon. 29(9):602-607.
10. Cementos Progreso. (s.f.). **Ficha técnica: 5000 psi.** (en línea). Guatemala. Consultado el 28 de Jul. 2004. Disponible en: <http://www.cempro.com/pdfs/5000.pdf>.
11. Daoudi, F. and Saunders, W. (2002). **In vitro evaluation of furcal perforation repair using mineral trioxide aggregate or resin modified glass ionomer cement with and without the use of the operating microscope.** J Endodon. 28(7):512-515.
12. Estrela, C. et al. (2000). **Antimicrobial and chemical study of MTA, portland cement, calcium hydroxide paste, Sealapex and Dycal.** Braz Dent J. 11(1):19-27.
13. Ferris, D. and Baumgartner, C. (2004). **Perforation repair comparing two types of mineral trioxide aggregate.** J Endodon. 30(6):422-424.
14. Fogel, H. and Peikoff, M. (2001). **Microleakage of root-end filling materials.** J Endodon. 27(7):456-458.
15. Francione, G. and Charlton, A. (2002). **Animal rights law: Federal animal welfare act and regulations: 2143. Standards and certification process for humane handling, care, treatment and transportation of animals.** (en línea). USA: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: <http://www.animal-law.org/welfact/2143.htm>.
16. Fridland, M. and Rosado, R. (2003). **Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios.** J Endodon. 29(12):814-817.
17. Holland, R. et al. (2001). **Agregado de trióxido mineral y cemento portland en la obturación de conductos radiculares de perro.** Endodoncia 19(4):275-280.



18. \_\_\_\_\_ et al. (2002). **Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers.** J Endodon. 28(3):173-176.
19. \_\_\_\_\_ et al. (2001). **Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with mineral trioxide aggregate or portland cement.** Braz Dent J. 12(2):109-113.
20. \_\_\_\_\_ et al. (2001). **Mineral trioxide aggregate repair of lateral root perforations.** J Endodon. 27(4):281-284.
21. \_\_\_\_\_ et al. (2001). **Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tube filled with mineral trioxide aggregate, portland cement or calcium hydroxide.** Braz Dent J. 12(1):3-8.
22. \_\_\_\_\_ et al. (2002). **Reaction of rat connective tissue to implanted dentin tubes filled with a white mineral trioxide aggregate.** Braz Dent J. 13(1):23-26.
23. Keiser, K.; Jonson, C. And Tipton, D. (2000). **Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts.** J Endodon. 26(5):288-291.
24. Kunze, M. (2002). **Evaluación clínica, radiológica e histológica de veinte raíces premolares de perro con perforaciones radiculares laterales selladas con hidróxido de calcio con propilenglicol como vehículo, cemento pórtland y cemento mineral trióxido agregado, en la inducción del cierre biológico.** Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. pp. 35-54.
25. Lazo, S. (2002). **Evaluación clínica, radiológica e histológica de 20 raíces de premolares de perros sobreinstrumentadas y selladas con hidróxido de calcio propilenglicol, cemento pórtland y cemento mineral trióxido agregado (ProRoot MTA) en la inducción del cierre biológico.** Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. pp. 19-20, 48-52.
26. Leeson, T.; Leeson, R. y Paparo, A. (1990). **Texto atlas de Histología.** Trad. Carlos Hernández Zamora. México: McGraw-Hill Interamericana. pp. 1-19, 127-158.



27. Lehigh Portland Cement Company. (1997). **Material safety data sheet for portland cement.** (en línea). USA: Consultado el 28 de Jul. 2004. Disponible en: [http://www.lehighcement.com/tech\\_support/msds.html](http://www.lehighcement.com/tech_support/msds.html).
28. Main, C. et al. (2004). **Repair of root perforations using mineral trioxide aggregate: A long-term study.** J Endodon. 30(2):80-83.
29. **Manual of histologic and special staining techniques.** (1960). 2 ed. USA: McGraw-Hill Book Company. pp 1-32.
30. MAST (Materials Science and Technology). (s.f.). **Concrete: Scientific principles.** (en línea). USA: Consultado el 28 de Jul. 2004. Disponible en: <http://www.matse1.mse.uiuc.edu/~tw/concrete/prin.html>.
31. Morales, D. (2003). **Estudio comparativo de los cementos: Pórtland, ProRoot MTA, e hidróxido de calcio con propilenglicol, evaluando respuesta inflamatoria en tejido óseo de roedores.** Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. pp. 50-53.
32. Nott, R. (2004). **General information: Functional ingredients.** Portugal: Consultado el 28 de Jul. 2004. Disponible en: <http://portugal.digestarom.com/239+M54a6ed897d2.0.html>.
33. OPS (Organización Panamericana de la Salud). (1974). **Manual para técnicos en animales de laboratorio.** Buenos Aires, Argentina: Oficina Sanitaria Panamericana. pp. 101-110, 166-175, 215-235.
34. Ovando, T. (2001). **Evaluación clínica y radiológica de tratamientos de conductos radiculares con perforaciones laterales de piezas dentales de perros, utilizando hidróxido de calcio con propilenglicol, cemento pórtland y MTA.** Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. pp. 31-35, 42, 50.



35. PIR (Partners in Research). (s.f.). **4 reasons animals are used in biomedical research.** (en línea). Canadá: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: [http://www.pirweb.org/pir04a\\_animals.htm](http://www.pirweb.org/pir04a_animals.htm).
36. \_\_\_\_\_. (s.f.). **Canadian Council on Animal Care: Ethics of animal investigation.** (en línea). Canadá: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: [http://www.pirweb.org/pir07b\\_ccac.htm](http://www.pirweb.org/pir07b_ccac.htm).
37. \_\_\_\_\_. (s.f.). **Mouse.** (en línea). Canadá: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: [http://www.pirweb.org/pir04b\\_mouse.htm](http://www.pirweb.org/pir04b_mouse.htm)
38. \_\_\_\_\_. (s.f.). **Regulations governing research in the U.S.** (en línea). Canadá: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: [http://www.pirweb.org/pir07e\\_usa.htm](http://www.pirweb.org/pir07e_usa.htm).
39. \_\_\_\_\_. (s.f.). **The Ontario animals for research act.** (en línea). Canadá: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: [http://www.pirweb.org/pir07a\\_act.htm](http://www.pirweb.org/pir07a_act.htm)
40. Ramírez, M.A. (2004). **Evaluación de las propiedades físico-mecánicas tales como: consistencia de la pasta, tiempo de fraguado, resistencia a la compresión y pH del cemento pórtland tipo I (5,000 psi) modificado con una acelerante del tiempo de fraguado para su uso en Odontología.** Tesis (Lic. Cirujano Dentista). Guatemala: Universidad de San Carlos, Facultad de Odontología. s.p. (Notas preliminares a su impresión).
41. Ríos, G. (2003). **Apuntes de enfermería.** (en línea). Chile: Consultado el 28 de Jul. 2004. Disponible en: <http://gerthy.galeon.com>.
42. Robbins, S. y Kumar, V. (1990). **Patología humana.** Trad. Alberto Folch P. y Bernardo Rivera M. 4 ed. México: McGraw-Hill Interamericana. pp. 29-62.
43. Sánchez Sanz, R., editor. (2000). **Enciclopedia Microsoft® Encarta® 2001.** (CD-ROM). Versión: 10.0.0.0811. USA: Microsoft Corporation. Para Windows 95/98/NT/Millennium.



44. Scheerer, S.; Steiman, R and Cohen, J. (2001). **A comparative evaluation of three root-end filling materials: An in vitro leakage study using *Prevotella nigrescens***. J Endodon. 27(1):40-42.
45. Sika. (2004). **Sika®-2: Hoja técnica 1.2.1.** (en línea). España. Consultado el 28 de Jul. 2004. Disponible en: [http://www.Sika.es/sika\\_doc/R1401\\_1\\_2.pdf](http://www.Sika.es/sika_doc/R1401_1_2.pdf).
46. Stockdale, C.R. (1992). **Endodontic surgery**. Great Britain: Quintessence Publishing. pp. 29-38.
47. Stowe, T. et al. (2004). **The effects of clorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate**. J Endodon. 30(6):429-431.
48. Torabinejad, M. y Lemon R. (1996). **Accidentes de procedimiento**. En: Endodoncia Principios y práctica. Torabinejad, M. y Walton, R. autores. 2 ed. México: McGraw-Hill Interamericana. pp. 328-344.
49. \_\_\_\_\_ et al. (1995). **Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material**. J Endodon 21(3):109-112.
50. \_\_\_\_\_ et al. (1995). **Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials**. J Endodon. 21(6):295-299.
51. \_\_\_\_\_ et al. (1995). **Cytotoxicity of four root end filling materials**. J Endodon. 21(10):489-492.
52. \_\_\_\_\_ et al. (1995). **Physical and chemical properties of a new root-end filling material**. J Endodon. 21(7):349-353.
53. \_\_\_\_\_ et al. (1995). **Tissue reaction to implanted Super-EBA and mineral trioxide aggregate in the mandible of guinea pigs: a preliminary report**. J Endodon. 21(11):569-571.



54. US Congress. (2002). **Animal welfare act.** (en línea). USA: Consultado el 12 de Oct. 2004. Disponible en: <http://www.aphis.usda.gov/ac/awapdf.pdf>.
55. Weldon, J.K. et al. (2002). **Sealing ability of mineral trioxide aggregate and Super-EBA when used as furcation repair materials: A longitudinal study.** J Endodon. 28(6):467-470.
56. Yaltirik, M. et al. (2004). **Reactions of connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam.** J Endodon. 30(2):95-99.
57. Zhu, Q. et al. (2000). **Adhesion of human osteoblasts on root-end filling materials.** J Endodon. 26(7):404-406.



## **ANEXOS**



3 de junio de 2005  
Ref.: ABO-072-2005

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

Edificio M-4, Segundo Piso  
Ciudad Universitaria, zona 12  
Apartado Postal 1029  
Guatemala, Centroamérica

Odontólogo Practicante  
Oscar Rolando Camey Flores  
Facultad de Odontología  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Estimado O. P. Camey:

Reciba por este medio un atento saludo y los resultados de la lectura histopatológica de las doce (12) láminas enviadas a esta coordinación, para determinar el nivel de inflamación presente.

**Criterios:**

Objetivo 20x (ocular 10x)

**Clasificación:**

Leve: Menos de 40 células inflamatorias por campo  
Moderada: Entre 40 y 80 células inflamatorias por campo  
Severa: Más de 80 células inflamatorias por campo

**Área:**

Tejido conectivo fibroso adyacente a fragmentos calcificados.

**Limitación Técnica:** Láminas con alteración de "burbujas" en zonas de importancia diagnóstica.

**RESULTADOS**

<b>Lámina</b>	<b>Inflamación</b>	<b>Lámina</b>	<b>Inflamación</b>
ORC - 1	Severa aguda	ORC - 7	Moderada crónica
ORC - 2	Severa aguda	ORC - 8	Leve crónica
ORC - 3	Severa aguda	ORC - 9	Moderada crónica
ORC - 4	Leve crónica	ORC - 10	Leve crónica
ORC - 5	Moderada crónica	ORC - 11	Moderada crónica
ORC - 6	Leve crónica	ORC - 12	Leve crónica

Sin otro particular nos suscribimos de usted. Atentamente,

Dra. Ingrid Arriaga M.  
Patóloga, Área Básica



Dr. Leonel Gómez Rebullá  
Coordinador, Área Básica

cc.: archivo  
correlativo  
LGR/zira

## BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### Criterios de evaluación:

- 0: ninguna o pocas células inflamatorias por campo, sin reacción inflamatoria.
- 1: menos de 40 células inflamatorias por campo, reacción leve.
- 2: de 40 a 80 células inflamatorias por campo, reacción moderada.
- 3: más de 80 células inflamatorias por campo, reacción severa.

Grupo \_\_\_\_\_ : se sacrificará a \_\_\_\_\_ de recibir el implante.

Fecha de implantación: \_\_\_\_\_ Fecha de Eutanasia: \_\_\_\_\_

	RESPUESTA INFLAMATORIA	
	Aguda	Crónica
1		
2		
3		
4		

Observaciones:

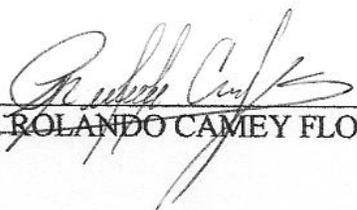
---

---

---

---

EL CONTENIDO DE ESTA TESIS ES UNICA Y EXCLUSIVA RESPONSABILIDAD DEL  
AUTOR

  
OSCAR ROLANDO CAMEY FLORES

OSCAR ROLANDO CAMEY FLORES  
SUSTENTANTE

Dr. WERNER EDGARDO FLORIAN JEREZ  
ASESOR

Dr. EDWIN OSWALDO LOPEZ DIAZ  
COMISION DE TESIS



Dr. VICTOR HUGO LIMA SAGASTUME  
COMISION DE TESIS



Vo.Bo. IMPRÍMASE

Dra. CANDIDA LUZ FRANCO LEMUS  
SECRETARIA ACADEMICA DE LA FACULTAD

