

01451

29



Universidad Nacional Autónoma de México



FACULTAD DE ODONTOLOGIA

4/

VALORACIÓN BIOLÓGICA DE UN CEMENTO
ENDODONCICO CON FIBRAS
CELULOSICAS
ESTUDIO COMPARATIVO

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRIA EN ODONTOLOGÍA
P R E S E N T A :

CARLOS ALBERTO MORALES ZAVALA

*Vo Bo
Santa Ponce Bravo*

TUTOR: DRA SANTA PONCE BRAVO

ASESOR: DR. FEDERICO H. BARCELÓ SANTANA

JULIO 1998

267906



FACULTAD DE
ODONTOLOGIA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

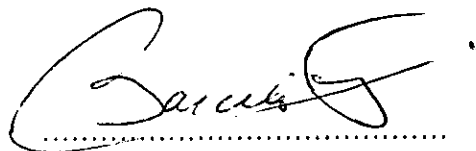
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

VALORACIÓN BIOLÓGICA DE UN CEMENTO ENDODONTICO CON FIBRAS
CELULOSICAS, ESTUDIO COMPARATIVO

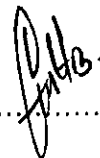
APROBADA POR:

Asesor:
Dr. Federico H. Barceló Santana




.....

Asesora:
Q.F.B. Cecilia Hernández Barba



.....

Director de tesis
Dra. Santa Ponce Bravo



.....

RECONOCIMIENTOS

Agradezco la ayuda en la dirección de esta tesis a la Dra. Santa Ponce Bravo

Al Dr. Federico H. Barceló S. Por su atinada asesoría en la elaboración de esta investigación

Asimismo a la Q.F.B. Cecilia Hernández Barba, docente de la F.E.S. Cuautitlan por su invaluable ayuda como siempre para la realización de este trabajo

También al Dr. Gustavo Adolfo Jimenez por su asistencia en la parte estadística de este trabajo

De igual forma al Departamento de Patología en especial a su parte técnica, sin los cuales no podría haberse culminado esta tarea.

Y a mis padres y hermanos por su apoyo moral para concluir este estudio.

INDICE

| | PAG. |
|----------------------------------------------|------|
| I.- RESUMEN | 1 |
| II.- ABSTRACT..... | 2 |
| III.- INTRODUCCION | 3 |
| IV.- ANTECEDENTES | 4 |
| V.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 13 |
| VI.- JUSTIFICACIÓN | 13 |
| VII.-HIPOTESIS | 14 |
| VIII.- OBJETIVOS GENERAL Y ESPECIFICOS | 15 |
| IX.- METODOLOGÍA | 16 |
| X.- RESULTADOS | 24 |
| XI.- ANALISIS ESTADISTICO..... | 40 |
| XII.- DISCUSIÓN | 47 |
| XIII.- CONCLUSIONES..... | 51 |
| XIV.- PROPUESTAS DE INVESTIGACIONES | 52 |
| XV.- BIBLIOGRAFIA | 53 |
| XVI.- CURRICULUM VITAE..... | 57 |
| XVII.- ANEXOS | |

INDICE DE FIGURAS

| | PAG |
|----------------|------------|
| FIG A.- | 22 |
| FIG B.-..... | 22 |
| FIG 4.- | 26 |
| FIG 5.- | 27 |
| FIG 6.- | 28 |
| FIG 7.- | 29 |
| FIG 8.-..... | 30 |
| FIG 9.- | 31 |
| FIG 10.- | 32 |
| FIG 11.- | 33 |
| FIG 12.- | 34 |
| FIG 13.-..... | 35 |
| FIG 14.- | 36 |
| FIG 15.-..... | 37 |
| FIG 16..... | 39 |
| FIG 17.- | 39 |

INDICE DE TABLAS

| | PAG |
|-----------------|-----|
| TABLA 1.- | 40 |
| TABLA 2.-..... | 40 |
| TABLA 3.-..... | 41 |
| TABLA 4.- | 41 |

INDICE DE ANEXOS

| | |
|---------------|----|
| Anexo 1 | 57 |
| Anexo 2 | 58 |
| Anexo 3 | 59 |

VALORACIÓN BIOLÓGICA DE UN CEMENTO ENDODONCICO CON FIBRAS CELULOSICAS. ESTUDIO COMPARATIVO

Resumen :

Se desarrolló un cemento sellador endodóncico en la Facultad de Odontología de la UNAM, al cual se le incorporaron fibras celulósicas (madera) para que en presencia de humedad se pueda expandir y selle mejor el conducto. A este material se le realizaron pruebas de valoración física de acuerdo a la norma # 57 de la A.D.A. consistentes en espesor de película, tiempo de endurecimiento, solubilidad, estabilidad dimensional y radioopacidad, así como pruebas biológicas en modelos experimentales (ratas cepa Wistar) a los cuales se les implantó el cemento y se comparó su comportamiento biológico con otros 2 cementos existentes en el mercado nacional; se sacrificaron a los 8,15,30 y 60 días, se tomaron las muestras para estudio histológico se fijaron en formalina al 10% , se procesaron en forma automatizada en el histokinnete y se revisaron cada una para determinar la intensidad de la respuesta inflamatoria .

La observación histopatológica mostró a los 8 días una reacción inflamatoria severa, la cuál disminuyó hasta una respuesta muy leve a los 60 días. No se observaron cambios irreversibles. El Viarden fue el cemento que mostró una reacción inflamatoria más intensa, de tipo crónico, en tanto que el BLCP su respuesta inflamatoria fue de moderada (++) a leve (+). Esto permite establecer que existe una mayor compatibilidad del cemento BLCP que los otros dos cementos estudiados, por lo que es posible fabricar en serie y comercializar el cemento BLCP para beneficio de la institución y como otra opción en el mercado nacional, ya que el cemento endodóncico BLCP con fibras celulósicas no produce reacción adversa en los tejidos de las ratas a nivel histológico, y por lo tanto es compatible en la cavidad bucal.

Palabras clave: **Cemento endodóncico, Biocompatibilidad, ZOE y fibras celulósicas**

BIOLOGICAL VALORATION OF ONE ENDODONTIC CEMENT WITH CELLULOSE FIBERS: COMPARATIVE STUDY

Abstract:

The aim of this study was evaluate an endodontic sealer cement developed in the Faculty of Odontology, UNAM, at this cement was incorporated cellulose fibers (wood) to expanded in humidity enviroment to seal better the radicular conduct. The material had evaluated by physical test according the A.D.A # 57 regulation, consistent in thickness of pelicle, hardening time solubility, dimensional stability and radioopacity. Biological tests had been made in experimental models. (Wistar rats) the cement was implanted and compared their biological behavior with another 2 comercial cements of the national market, they were sacrificed to dieferent times 8,15,30 60 days, we had taken the samples to histopatology study, fixed in formaline (10%), processed automaticably in the histokinnete, and they were cutted to 3 mm, stained with H y E and observed in order to determine the intensity of the inflammatory reaction.

The histopatology observation to 8 days showed an severe inflammatory reaction, and this was diminished until a very light answer to 60 days. Irreversible changes were not observed. Viarden cement showed a more intensive inflammatory reaction, of chronic type, as long as the BLCP answer inflammatory response was from moderate (++) to light (+). This results show to establish that BLCP cement had a best compatibility that the other two cements, for what it is possible manufacture in series and market the BLCP cement for benefit of the institution and like another option in the national market, since the cement BLCP endodontic with fibers cellulose doesn't produce adverse reaction in the fabrics of the rats to level histology, and it therefore is compatible in the oral cavity.

Key Word: *Endodontic cement, Biocompatibility, Cellulosic fibers and Zoe*

INTRODUCCIÓN.-

El estudio de los Materiales Dentales de reciente aparición, requiere de numerosas pruebas físicas y biológicas, ya que va a ser un material que se llevara a cavidad oral. Es decir pruebas que valoren el efecto que produce cualquier material en un organismo vivo.

Esto se hace principalmente en modelos experimentales como ratas, conejos, perros, monos, cobayos etc., que permita determinar la toxicidad en tejidos blandos.

Se estableció la respuesta biológica del cemento endodónico BLCP que fabricó F.O. U.N.A.M, y se comparó con otros cementos endodónicos de uso conocido, se le realizaron pruebas físicas, así como pruebas in vitro. Para así concluir la línea de investigación que se abrió con el desarrollo de este cemento.

Es importante aclarar que el objetivo de este estudio fue valorar la respuesta tisular debido a que si se utilizaba como material de obturación tendríamos como variable el trabajo biomecánico en el tratamiento de conductos.

II ANTECEDENTES:

A.- Normas para la elaboración de materiales dentales

Todo producto elaborado para ser usado en la cavidad bucal debe ser aprobado pasando por diversas normas establecidas con anterioridad, estas normas a pesar del tiempo que tienen de ser aplicadas siguen empleándose en la actualidad y han servido de guía para desarrollar otras recomendaciones.

La primera asociación que se dio a la tarea para la elaboración de éstas normas fue la ANSI (Asociación de Normas y Standares Internacionales) y posteriormente la ADA (Asociación Dental Americana), vinculándose para establecer los requisitos que deben reunir los materiales tanto nacionales como extranjeros.

En 1972 la Asociación Dental Americana (A.D.A.), publicó las "Recomendaciones Estándares para la evaluación biológica de materiales dentales", sin embargo en 1976 la Medical Device Bill asumió la responsabilidad de evaluar y valorar los materiales y aparatos usados en humanos incluyendo los materiales dentales.(A.N.S.I. / A.D.A. 1982.)¹ Es así como surge el documento No. 41, con recomendaciones para la evaluación biológica de los materiales dentales en animales de experimentación. Aunque están conscientes de que, "**muchos de los materiales no pueden presentar todas las pruebas debido a que implicaría un gran gasto. Productos y aparatos que ya estaban en el mercado y que han sido usados por años no requieren ninguna reevaluación**". (A.N.S.I. / A.D.A. 1982).¹ Todas las pruebas experimentales y preclínicas deberán ser realizadas en modelos experimentales.

Es importante contemplar para este tipo de pruebas "La Declaración de Helsinki" ², que es utilizada para la investigación médica que involucre seres humanos, en la cual marca los lineamientos y limitantes que existen para la realización de este tipo de pruebas, como son : Que el paciente este consciente de su participación en el estudio, lo apruebe por escrito y de manera voluntaria. Por lo tanto el empleo de animales esta justificado, para las pruebas preclínicas, aunque tiene una limitante que, no se pueden aceptar los resultados como representativos para seres humanos en un 100%. por lo que es difícil traspolarlos y esto hace necesario que se lleven a cabo en seres humanos.

También pueden hacerse pruebas en cultivos de células como un método de protección inicial contra la toxicidad de un material determinado, pero la prueba final debe hacerse en la boca del paciente. Pitt Ford en 1980, comparó la respuesta tisular de un sellador endodóncico en canales radiculares de perros (Pitt Ford 1983) ³. Además, el código de Nuremberg menciona en uno de sus puntos, que, para la experimentación en seres humanos **"el experimento debe ser proyectado de tal manera y basado en los resultados de las pruebas aplicadas a animales** (Declaración de Helsinki 1975)²

Por su parte Vesuksit en 1988, inyectó selladores de canales en tejido subdermal dorsal en puercos de guinea y fueron sacrificados a los 6, 15 y 80 días (Vesuksit C. 1988)⁴

Dentro de lo posible se prefiere emplear métodos no destructivos que permitan llevar a cabo estudios longitudinales. Tales métodos incluyen el examen microscópico y la citología exfoliativa. El estudio histológico de muestras obtenidas por biopsia, (Lynch MJ. 1991)⁵ y fijados en solución de formalina al 10%., nos permite tener una información mas correcta. El tipo de la solución empleada depende de la técnica de microscopía a utilizar.(Levy B. 1969)⁶

Existen dos importantes fases para las pruebas biológicas de los materiales dentales, una es la respuesta inmediata y otra es la respuesta a largo plazo, los primeros no representan problema al poder determinarse en estudios histológicos (Hensten-Petterson 1991)⁷. Los efectos a largo plazo pueden comprender aberraciones cromosómicas y actividad carcinógena ⁶

El documento No. 41 "Prácticas estándar para la evaluación biológica de Materiales Dentales" de la A.D.A., marca las pruebas biológicas que se le deben hacer a todo tipo de material y en este caso al óxido de zinc y eugenol como cemento sellador lo clasifica como material endodóncico tipo III clase 2 C.

El antecedente de este material es el óxido de zinc y eugenol como material de obturación temporal. (Janet G. 1987)⁸

Selladores hechos con oxido de zinc y eugenol.-

En general los selladores están hechos a base de oxido de zinc y eugenol, combinados con más ingredientes. Aunque en algunos selladores existan componentes tóxicos en la formula **“con el objeto de contrarrestar los efectos de una limpieza deficiente durante el tratamiento”** (Phillips RW 1993, Reisbick 1985)^{9,10}. El eugenolato de Zinc que es el material a probar en los animales de experimentación, se le considera autocatalítico, ya que durante la reacción se libera agua, que es indispensable para el endurecimiento de la mezcla. (Markowitz K 1992, Barceló F 1991)¹¹⁻¹²

Se clasifica dentro de los materiales medicados al considerarse antiséptico, paliativo y germicida, su composición es a base de oxido de zinc, el cual es un polvo de color blanco o blanco amarillento, amorfo, inodoro, insoluble en agua, soluble en ácido acético o ácidos minerales diluidos. Tiene una densidad de 5.47, es decir es la unión de un metal y un no metal que lo convierte en un material cerámico mal conductor térmico y eléctrico por lo que se utiliza también como base aislante. (Peyton FA. 1974, O'Brien 1985)^{13,14} en restauraciones temporales e intermedias, como agente de cementación temporal y permanente para restauraciones; recubrimientos cavitarios, protector pulpar y como apósito quirúrgico.

En la industria se usa en pigmentos para pinturas, cosméticos, secantes, vidrio opaco y algunos tipos de transparente, esmaltes, llantas de automóviles, cola blanca, cerillos, tintas de imprenta, porcelana y como reactivo químico. En la naturaleza existe como Zincita. Tiene también uso dental con resina hidrogenada, borato de sodio, sulfato de bario, lo que le da radiopacidad, y subcarbonato de bismuto. Por otra parte el Eugenol o ácido eugénico es un líquido oleoso, incoloro o amarillo pálido, se oscurece por exposición al aire, tiene olor a clavo y especias, sabor picante, es soluble en alcohol, cloroformo, éter y aceites volátiles, muy poco soluble en agua, su densidad es de 1.0696 y su punto de ebullición es de 253.5° C.

Se extrae por medio del aceite de clavo con solución de potasa, liberación con ácido y rectificación en corriente de bióxido de carbono, se purifica por redestilación y es incompatible con cloruro férrico y permanganato de potasio. En dosis de 0.1 a 1cc se usa en odontología como anestésico y antiséptico, en la industria se usa para perfumes, aceites, producción de isoeugenol para la manufactura de vainillina, evita la producción de hongos.

En líquido el agua es esencial para la reacción y parece necesaria para que se forme un hidróxido de zinc que reacciona con el eugenol. Si el polvo y el líquido están completamente libres de agua el material demora su fraguado en forma indefinida.

Funciones de los materiales de uso endodóncico

Gutapercha.- En la obturación de conductos radiculares en endodoncia se han utilizado diversos materiales buscando un sellado hermético, como por ejemplo la gutapercha que junto con un "sellador", se emplea para rellenar cualquier irregularidad o conductos accesorios entre el material y las paredes del conducto o como lubricante durante la obturación, es el jugo coagulado de la *isonandra gutta*, su olor recuerda al caucho, se reblandece entre 48 y 65° y se funde a 120° C. Es bastante tenáz a la temperatura ordinaria y únicamente la alteran los ácidos enérgicos. Parcialmente soluble en bisulfuro de carbono, cloroformo, bencina y benceno caliente. (Molina 1989)¹⁵

Puntas de plata.- A pesar de ser una de las técnicas con mayor tiempo en la práctica odontológica se sigue empleando. Consisten en la colocación de puntas de plata las cuales actualmente son sustituidas por puntas de gutapercha, sin embargo las de plata ya no requieren el uso de un sellador.

Amalgama.- También se ha utilizado como material de obturación previo a la reimplantación, pero en un estudio previo se demostró que la respuesta inflamatoria al óxido de zinc y eugenol (super eba) era menor que con la amalgama (Pitt F. 1995).¹⁶. Este material es una aleación de plata, estaño, cobre y zinc más el mercurio el cual es un metal líquido a temperatura ambiente, la unión de estos metales le da características de ser un buen conductor térmico y/o eléctrico, y se favorece la contracción ante los cambios de temperatura.

Material propuesto.-

Bl.CP. Barceló, Castellanos, Lopez y Platas, realizaron una evaluación de cementos selladores y propusieron uno a base de óxido de Zinc y Eugenol denominado BLCP, agregándole fibras celulósicas, con la finalidad de que, ante la presencia de agua propia de la reacción, dichas fibras se hinchan expandiendo su volumen y sellando la interfase conducto-material. (Le fueron hechas pruebas físicas, siguiendo la norma número 57 de la A.D.A para materiales endodónticos, espesor de película, estabilidad dimensional, tiempo de endurecimiento, soubilidad, radioopacidad, se reviso la bibliografía encontrándose a este material como una innovación por contener fibras celulósicas que buscan la expansión dentro del conducto obturado provocando un mejor sellado. (García Aranda 1995, Jendrensen 1979, Barceló F. 1994, ANSI / ADA No. 57 1984.)^{17,18,19,20}.

INFLAMACIÓN

La inflamación es la reacción local de tejido vascularizado a una lesión o a un agente extraño, y tiene la finalidad de destruir, diluir o tabicar al agente lesivo. (Robbins SL. 1992)²¹

Consta de una reacción bioquímica suscitada por mediadores químicos y una reacción morfológica con salida de células y otros elementos de la sangre. Todo ello va seguido de un proceso de reparación de los tejidos lesionados. (Holland PT. 1995)²²

Cornelio Celso, describió los cuatro signos cardinales de la inflamación: Rubor, tumor, calor y dolor. Hunter afirmó que **... "La inflamación no es una enfermedad si no una respuesta inespecífica, que tiene un efecto saludable para el huésped"** (Rubin 1990)²³

Es la reacción del tejido vivo vascularizado a una agresión local caracterizada por una reacción de los vasos sanguíneos, que conducen al acúmulo de líquido y células sanguíneas, estrechamente relacionada con el proceso de reparación células lesionadas por sustitución del defecto por tejido fibroblástico cicatrizal o una combinación de ambos. Se define también como una reacción de la microcirculación caracterizada por el desplazamiento de líquido y de leucocitos hacia el compartimento extravascular. Esto es una expresión del intento del huésped por localizar y eliminar células metabólicamente alteradas, partículas extrañas, microorganismos o antígenos.

En condiciones normales la respuesta inflamatoria elimina la agresión patógena y retira a los componentes histicos lesionados. Proceso que cumple mediante la regeneración de la histoarquitectura típica y de un retorno funcional normal o la formación de tejido cicatrizal. Los efectos de la respuesta inflamatoria pueden conducir a la pérdida de la función del organo o tejido, en estas condiciones la inflamación es nociva para el huésped.

Después de lesionarse un tejido ocurren alteraciones en la estructura de la pared vascular de modo que se pierde la integridad de las células endoteliales se filtra líquido y componentes del plasma desde una migración de hematíes y leucocitos desde el espacio intraluminal hacia el tejido extravascular.

Los mediadores específicos de la inflamación, producidos en los sitios lesionados regulan la respuesta de los vasos a la agresión, entre estos mediadores encontramos moléculas vasoactivas que actúan directamente sobre los vasos aumentando su permeabilidad o la agregación de leucocitos a través de los factores quimiotácticos, del compartimiento vascular y los envían al tejido lesionado. Una vez que están los leucocitos en los tejidos secretan mediadores de la inflamación adicionales que potencializan la respuesta inflamatoria o la inhiben. Una de las funciones de la inflamación es activar la fagocitosis en el sitio lesionado para que engloben a las bacterias invasoras. Otras de sus funciones que tiene la inflamación son : destruir y tabicar al agente lesivo reconstituyendo la estructura lesionada.

La inflamación se puede clasificar en aguda, crónica y granulomatosa. La primera entra en todas las formas de lesión, cualquiera que sea el agente causal, de corta duración y con exudado de líquido y proteínas plásmaticas (edema) con migración de leucocitos principalmente neutrófilos. La intensidad de la reacción en la inflamación aguda depende de la gravedad del agente y la capacidad de reacción del huésped. (Robbins 1992)²¹. Hay acumulación de líquido y componentes del plasma en el tejido afectado, estimulación intravascular de las plaquetas y presencia de leucocitos polimorfonucleares, tiene una duración corta, desde unos minutos hasta varias horas o uno o dos días, siendo sus principales características el edema (exudación de líquido y proteínas plasmáticas) y la migración leucocitaria predominantemente de neutrofilos.

En la inflamación crónica los componentes celulares característicos de la inflamación son : macrófagos, linfocitos y plasmocitos, este tipo de inflamación es menos uniforme, de mayor duración, se asocia a la proliferación de vasos sanguíneos, tejido conjuntivo y macrófagos

Para la inflamación granulomatosa se sabe que la fagocitosis seguida de la digestión es el mecanismo por el cual, los neutrófilos inactivan y eliminan agentes que incitan una respuesta inflamatoria aguda ; sin embargo, en ciertas circunstancias no pueden ser digeridos por los neutrófilos que reaccionan frente a ellas. Este tipo de inflamación es típica de la respuesta hística suscitada por las infecciones micóticas, tuberculosis, lepra, esquistosomiasis y la presencia de cuerpos extraños.

Los granulomas son pequeños acumulos de 0.5 a 2 mm, de macrófagos modificados denominados células epitelioides, generalmente rodeadas por un ribete linfocitario. Los macrófagos modificados tienen un citoplasma abundante rosa pálido, que a diferencia de otros macrófagos tienen menos capacidad fagocítica pero son ricos en retículo endoplásmico, aparato de golgi, vesículas y vacuolas.

La inflamación también se clasifica por el tipo de exudado en: serosa que se observa en etapa temprana; fibrinosa, que ocurre en las inflamaciones agudas más severas; supurada, con abundante producción de pus y hemorragia, resultante de la forma de lesión grave que cause rotura de vasos.

Las células que se destruyen durante la inflamación, son sustituidas por células vitales y un estroma de tejido conectivo que dan inicio a un proceso de cicatrización.

El proceso de cicatrización es de primera y segunda intención. **“El ejemplo más sencillo de reparación por tejido conectivo se aprecia en la cicatrización de una incisión quirúrgica”**,(Robbins 1992)²¹ aquí, los tejidos quedan en aposición por la sutura. A esta forma se le llama de primera intención y termina aproximadamente en dos semanas.(Pardo 1991)²⁴

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La apertura al mercado mundial del país así como su situación económica obliga a realizar materiales odontológicos que tengan una buena calidad y que cumplan con las normas físicas y biológicas para usarse en boca y de este modo compitan con otros productos dentales. La valoración del cemento endodóncico obedece a la norma No. 57 de la A.D.A., ésta menciona en el punto 3.1.3, las pruebas de valoración biológica que se deben desarrollar de acuerdo a la norma No. 41.

JUSTIFICACIÓN

En base a lo anterior el laboratorio de Materiales Dentales se dio a la tarea de fabricar un cemento endodóncico llamado BLCP el cual ha pasado las pruebas físicas que se establecen en las normas ANSI/ADA. El último paso para su puesta en el mercado nacional es la realización de pruebas biológicas debido a que la A.D.A. recomienda que en un producto de reciente desarrollo, si los ingredientes originales han variado en más de un 5%, o si en su composición entran sustancias consideradas carcinógenas y que están en contacto con los tejidos vitales durante un periodo largo de tiempo, se deben de hacer pruebas biológicas en modelos de experimentación.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La apertura al mercado mundial del país así como su situación económica obliga a realizar materiales odontológicos que tengan una buena calidad y que cumplan con las normas físicas y biológicas para usarse en boca y de este modo compitan con otros productos dentales. La valoración del cemento endodóncico obedece a la norma No. 57 de la A.D.A., ésta menciona en el punto 3.1.3, las pruebas de valoración biológica que se deben desarrollar de acuerdo a la norma No. 41.

JUSTIFICACIÓN

En base a lo anterior el laboratorio de Materiales Dentales se dio a la tarea de fabricar un cemento endodóncico llamado BLCP el cual ha pasado las pruebas físicas que se establecen en las normas ANSI/ADA. El último paso para su puesta en el mercado nacional es la realización de pruebas biológicas debido a que la A.D.A. recomienda que en un producto de reciente desarrollo, si los ingredientes originales han variado en más de un 5%, o si en su composición entran sustancias consideradas carcinógenas y que están en contacto con los tejidos vitales durante un periodo largo de tiempo, se deben de hacer pruebas biológicas en modelos de experimentación.

HIPÓTESIS DE TRABAJO:

El cemento endodónico BLCP con fibras celulósicas y otros componentes parecidos a los que se encuentran en el mercado nacional y que se ha comprobado que no tienen reacciones. **No producirá una reacción adversa en los tejidos, y por lo tanto será compatible en la cavidad bucal.**

HIPÓTESIS NULA:

El cemento endodónico BLCP con fibras celulósicas y otros componentes parecidos a los que se encuentran en el mercado nacional y que se ha comprobado que no tienen reacciones. **Producirá una reacción adversa en los tejidos, y por lo tanto será incompatible en la cavidad bucal.**

OBJETIVO GENERAL:

El propósito principal de esta investigación fue determinar el comportamiento biológico y la toxicidad ocasionada en los tejidos blandos, por el cemento BLCP, (cemento endodóncico que contiene fibras celulósicas) y compararlo con otros cementos endodóncicos e identificar los riesgos que pudiesen presentarse por un mal manejo de este, lo que hace necesario probarlo primero en animales de experimentación (ratas) para poder traspolar los resultados a humanos.

OBJETIVO ESPECIFICO:

Establecer el tipo de reacción inflamatoria ocasionada por la implantación del BLCP a diferentes intervalos de tiempo.

Comparar la respuesta inflamatoria del tejido, ocasionada por el BLCP con otros cementos endodóncicos.

Determinar en base a las pruebas físicas y biológicas la factibilidad de fabricarlo en serie y comercializar el BLCP en beneficio de la institución y como otra opción en el mercado.

Establecer la compatibilidad del material con los tejidos blandos

Valorar la respuesta del tejido blando a la implantación del material a diferentes intervalos de tiempo.

MATERIALES Y METODOS :

Metodología:

- Universo de trabajo*: Ratas Cepa Wistar, de 250 gms en promedio
- Tipo y tamaño de la muestra : 20 animales hembra adulto
- Criterio de exclusión : Ratas macho, ratas de otra cepa, cementos que no esten hechos a base de oxido de zinc y eugenol
- Criterios de inclusión : Ratas hembra, raza Wistar, cementos a base de oxido de zinc y eugenol
- Variables independientes : Sexo, edad, peso de los animales, marca del medicamento
- Variable dependiente : Respuesta histológica
- Escala de medicón : Grado de la respuesta inflamatoria en, leve (+), moderada (++) o severa (+++).
- Tipo de estudio*: Experimental longitudinal
- Operacionalización*: El cemento puede provocar reacción, que se podría considerar dentro de los parámetros de lo normal
- Análisis estadístico:

Se recolectaron los datos de cada una de las laminillas en base a la intensidad de la respuesta inflamatoria, y se agruparon de acuerdo a si esa intensidad era leve (+), moderada (++) o severa (+++), con estos datos se asignó un número a cada cemento (BLCP 1, Silco 2, Viarden 3, Control 4) para vaciarlos a una base de datos y obtener la moda, mediana, Chi cuadrada y prueba de kurtosis de cada grupo de linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, neutrófilos y cels. gigantes multinucleadas de cada cemento, para determinar qué datos seguían una distribución normal dentro de una campanal, se procedió a comparar entre grupos, y aplicar la prueba Kruskal Wallis y Anova de 1 vía con el objetivo de comparar las medias para conocer si hay diferencia entre ellas y la prueba W (W lcoxon- Mann- Whitney) para detectar si muestras independientes son diferentes.

-Recursos:

Humanos.- Tres personas para el manejo de animales (sedación, rasurado, incisión y sutura) y una persona exclusiva para el manejo del material consistente en un veterinario, un tesista, un patólogo bucal

-Físicos.- Bioterio, Laboratorio de Patología Experimental, Laboratorio de Materiales Dentales

Materiales:

Equipo para pruebas físicas: Ambientador Hanau, aguja de Gilmore, moldes cilíndricos de acero inoxidable de 12 mm de alto y 6mm de diámetro, prensas en forma de "C" para sujetar, micrómetro marca TOTOYO, con aproximación de 1 mm, moldes en forma de anillos de 1.5 mm de grosor y 20 mm de diámetro interno, moldes de 2 mm de espesor por 10 mm, aparato de Rayos X, rasuradora de uso veterinario.

Equipo para pruebas histológicas: histokinette, microscopio ZEISS, dispensador de parafina, incubadora, afilador de cuchillas reafilables, cuchillas reafilables.

Cristalería:

Loseta de vidrio, placas de vidrio lisas de 200 mm² y de espesor uniforme excediendo los 5/mm, placas de vidrio pulidas, frascos de boca ancha de 50 ml de capacidad, portaobjetos con pantalla, matraces de bola y Erlenmeyer, cubreobjetos

Material dental :

Cementos a probar .- Viarden^{MR} reg 102E84 SSA, lote 581195

Silco^{MR} reg 0138C85SSA, lote S/L

BLCP

Soluciones :

Anestésicos (un fco de Combelen^{MR} y un fco. de Ketamina^{MR}),

soluciones fijadoras (formalina al 10%)

Reactivos. Hematoxilina , eosina, xilol, alcohol, resina

Varios :

10 hojas de bisturíes # 15 , cubrebocas, guantes, sutura seda negra 3-0 no absorbible, 4 jeringas de insulina c/ 10 agujas intercambiables, pinzas de mosco, 30 frascos ámbar con tapa, espátula para cementos tipo Tarno. alambres de acero inoxidable. una regla de aluminio en forma escalonada

-Método

Material propuesto.-

Se desarrolló el cemento BLCP de acuerdo a la formula propuesta por el Dr. Barceló y cols.^{MR} haciéndole a este cemento y a los de comparación las pruebas establecidas en las normas # 57 y 41

PRUEBAS FÍSICAS

Las pruebas físicas se tuvieron que volver a realizar puesto que la formulación anterior se usó toda para sus pruebas particulares por lo que fue necesario preparar más material y comprobar su eficiencia con estas pruebas.

Tiempo de endurecimiento.- Se mezcló el material de acuerdo a las instrucciones del fabricante en una loseta de vidrio con ayuda de una espátula para cementos, dos minutos después de iniciada la mezcla se llevó a un ambientador, el cual estaba en una condición de 95-100 % de humedad relativa y $37 \pm 1^\circ \text{C}$; 2.30 minutos después se empezó a medir haciendo penetrar una aguja de Gilmore que tiene un peso de 400 gms, se vuelve a meter al ambientador y se saca cada minuto, hasta que la aguja no penetra el cemento, hasta ese momento se consideró que endureció el producto.

Espesor de película.- En dos placas de vidrio lisas con un área de superficie de contacto de aproximadamente 200 mm^2 y 5 mm. de espesor uniforme, el material fue mezclado de acuerdo a las instrucciones del fabricante, se colocó en el centro de una placa de vidrio, colocando la segunda placa centrada al montículo de cemento sellador. A los tres minutos desde el comienzo de la mezcla, se le aplicó una carga de 15 Kg/Fuerza verticalmente sobre la segunda placa de vidrio; diez minutos después tomados desde el inicio de la mezcla se retiró la carga y se midió el grosor de la mezcla con un micrómetro para medir el espesor logrado una vez hecha la mezcla. La diferencia en el grosor de las dos placas de vidrio con y sin cemento sellador interpuesto se reporta como el espesor de película.

Estabilidad dimensional Se mezcló el material de acuerdo a las instrucciones del fabricante se colocó en tres moldes cilíndricos de acero inoxidable, con dimensiones de 12 mm de alto y 6 mm de diámetro, sobre unas placas de vidrio plano, del tamaño del portaobjetos para microscopio, otra placa de vidrio se colocó arriba y se sujeto con la prensa en forma de "C" . Cinco minutos después de iniciada la mezcla, el molde con el cemento y las abrazaderas fue transferido a un ambientador con humedad relativa a 95-100% de humedad relativa y $37 \pm 1^\circ \text{C}$; Las muestras obtenidas se midieron con un micrómetro y almacenaron en agua bidestilada a 37°C por treinta días, para posteriormente volverse a medir.

Solubilidad .- Se mezcló el material de acuerdo a las instrucciones del fabricante, se colocó en el centro de dos moldes que tienen forma de anillo con un grosor de 1.5 mm de grosor y 20 mm de diámetro interno, sobre un cristal plano de vidrio pulidas y sobre estos una hoja de poliestileno para evitar la adhesión del material, se presionó otro cristal insertando previamente un alambre de ortodoncia de calibre # 0.33

Los moldes llenos junto con el alambre de acero inoxidable, se colocaron en frascos de boca ancha de 50 ml de capacidad en un gabinete con control de temperatura a $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ y humedad relativa de 95% por un periodo de tiempo igual a tres veces el tiempo de fraguado medido, con la finalidad de estabilizar su peso. Las muestras se retiraron del molde y se registró la masa neta de cada una lo más cercano a 0.001 g, se suspendieron las dos muestras dentro de un frasco de agua destilada por una semana en un gabinete a $37 \pm 1^\circ \text{C}$. Se retiraron las muestras y desecaron por un periodo de 24 horas y se repesaron. La pérdida de masa promedio para cada una de las muestras, fue expresada como porcentaje de la masa original del material, se reportó lo más cercano a 0.1 % como la solubilidad del material.

Radiopacidad.- Se mezclaron los cementos de acuerdo a las indicaciones del fabricante se colocaron en los moldes que según la norma debe ser de 2mm de espesor por 10 mm de diámetro circunferencial, los cuales se depositaron sobre una superficie de una placa de vidrio, otra placa de vidrio se colocó en la parte superior y se sujeto firmemente con una prensa en forma de "C" y se llevó a un gabinete a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa de 95%, posteriormente los hacedores fueron llevados al aparato de Rayos X y se tomó la exposición junto con una regla de aluminio en forma escalonada con un tiempo de exposición de 1 seg. (60 impulsos). y se comparó el cemento con la densidad de la regla.

PRUEBAS BIOLÓGICAS

Una vez aprobadas las pruebas físicas se realizaron las pruebas de compatibilidad biológica. Para este estudio se emplearon 20 ratas cepa Wistar las cuales fueron distribuidas en 4 grupos con 5 ratas en cada lote, con intervalos de tiempo de 8,15,30,60 días. A cada modelo experimental se le hicieron 4 incisiones y se implantaron los cementos en estudio: BLCP, Viarden y Silco, el cuarto sitio se dejó sin material implantado para establecer el proceso de cicatrización que presentaría el tejido durante el tiempo que estuviera implantado el material.

Procedimiento: Las ratas fueron sedadas y anestesiadas, (Combelen y Ketamina), se les rasuró la zona ventral, se limpio con una solución aséptica (clorhexidina) y se realizaron las incisiones para la implantación subcutánea de los cementos. Los cementos se prepararon según instrucciones del fabricante y se colocó aproximadamente 50 miligramos. (Fig A y B) y posteriormente se suturó.

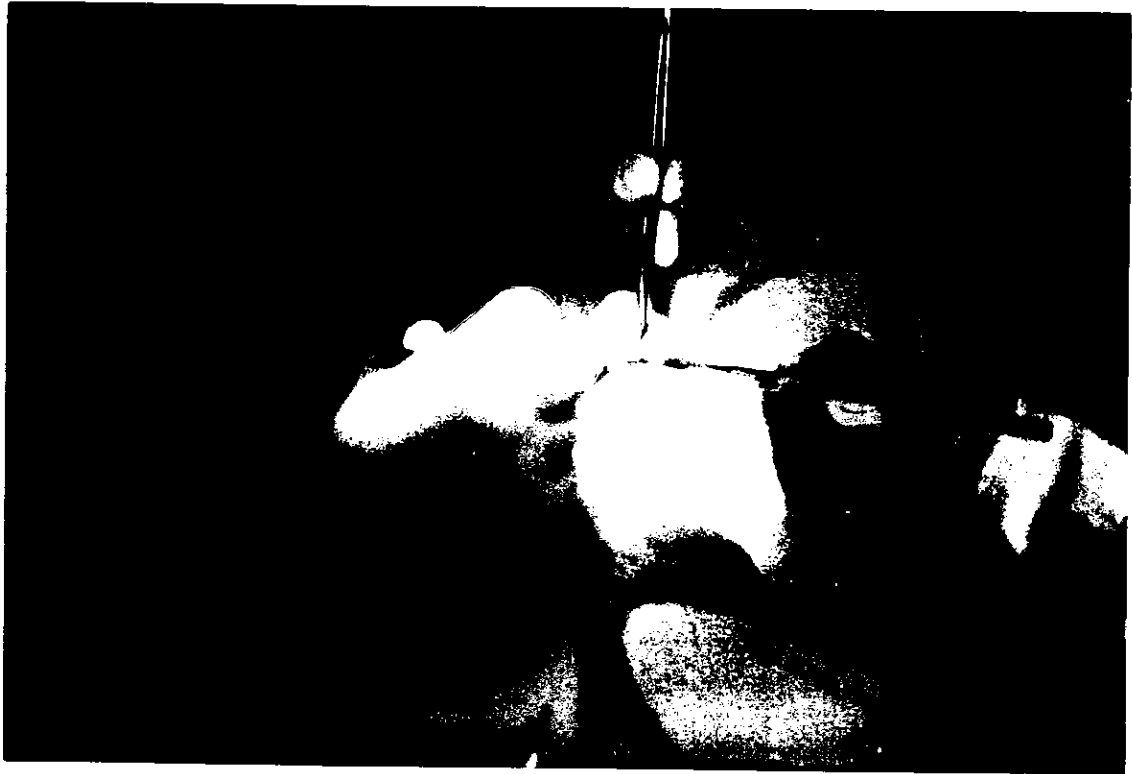


FIGURA A .- SE MUESTRA LA RATA RASURADA Y CON LAS 4 INCISIONES HECHAS COLOCÁNDO EN CADA UNA, EL MATERIAL EN FORMA DE MASILLA Y B) SE PROCEDIO A SUTURA Y CONFRONTAR LOS PLANOS

Procesamiento de las muestras.

Las muestras, ya fijadas con formalina al 10%, se procesaron en forma automática en el histokinette (deshidratación, clarificación, y embebido en parafina) posteriormente, se incluyó en parafina y se realizaron cortes seriados a 3 micras, se tiñeron con Hematoxilina y Eosina, (H-E) y se montaron para su observación al microscopio óptico con técnica de campo claro. Se revisaron las laminillas en base al tipo de respuesta inflamatoria y al predominio celular en :

- a) Inflamación aguda : con presencia extravascular de plaquetas, presencia de leucocitos polimorfos nucleares
- b) Inflamación crónica : presencia de macrófagos, linfocitos, y proliferación de fibroblastos
- c) Inflamación granulomatosa : presencia de células epitelioides, linfocitos, células plásmaticas, macrófagos, fibroblastos periféricos, células gigantes multinucleadas

Así como por su intensidad en la respuesta en : leve (+), moderada (++), severa (+++) y sin respuesta (-)

Se sacaron las muestras al azar para hacer el estudio doble ciego, se tomaron las fotomicrofotografías de cortes representativos y se hizo el análisis estadístico.

RESULTADOS :

Pruebas físicas

| | Espesor de película | de Tiempo de fraguado | de Estabilidad dimensional | Solubilidad | Radiopacidad |
|--------------|----------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|
| Silco | .070 micras | no endureció | No se realizó al no pasar prueba ant. | No se realizó al no pasar prueba ant. | 8.5 ° |
| Varden | .150 micras | 20 min | 0.32 % | 2.7 % | 9 ° |
| B.LCP | .200 micras | 19 min | 0.77 % | 2.6 % | 10 ° |
| Norma No. 57 | .050 micras | ± 10 % de lo que indique el fabricante | No debe exceder del 1.0 % del peso inic. | 3% | 1° mínimo comparado con 1mm de Al. 1100 |

El espesor de película debe ser de .050 micras para que a la hora de colocar las puntas de gutapercha, quede menos espacio entre cada una de ellas.

*Nota : Los fabricantes indican 15 minutos de tiempo de fraguado para Silco, Viarden y BLCP

RESULTADOS PRUEBAS BIOLÓGICAS.

Características clínicas

Clínicamente la respuesta a los 8 días se presentó como una inflamación focal alrededor y en el sitio de la implantación, con aumento de volumen y cambio de color (de rosa pálido a rojo), a los 15 días la respuesta inflamatoria había disminuido en tamaño y color (más intenso), en el sitio donde se implantó el BLCP, y su respuesta en el sitio control, que mostró una cicatrización completa. También es importante mencionar que en el momento de tomar las muestras los cementos implantados se encontraron rodeados por una cápsula bien delimitada.

A los 30 días el sitio donde se habían realizado las incisiones estaban totalmente cicatrizadas, solo se observó un aumento de volumen ocasionado por la presencia del material implantado y el encapsulamiento de éste bien delimitado y móvil.

A los 60 días solo era palpable el material, clínicamente no se observó y al tomar la muestra el material se encontró totalmente encapsulado.

RESULTADOS HISTOLÓGICOS :

GRUPO DE 8 DÍAS

BLCP. La inflamación en este grupo fue predominantemente de tipo aguda, se observó la formación de microabscesos localizados en la periferia del material implantado con presencia de neutrófilos, macrófagos, linfocitos soportados por una cápsula fibrosa y bien organizada, constituida por haces de fibras colágenas gruesas y delgadas, así como también se encontraron áreas difusas de infiltrado inflamatorio de tipo crónico, angiogénesis, fibrina y exudado purulento adyacente al material implantado (fig 4)

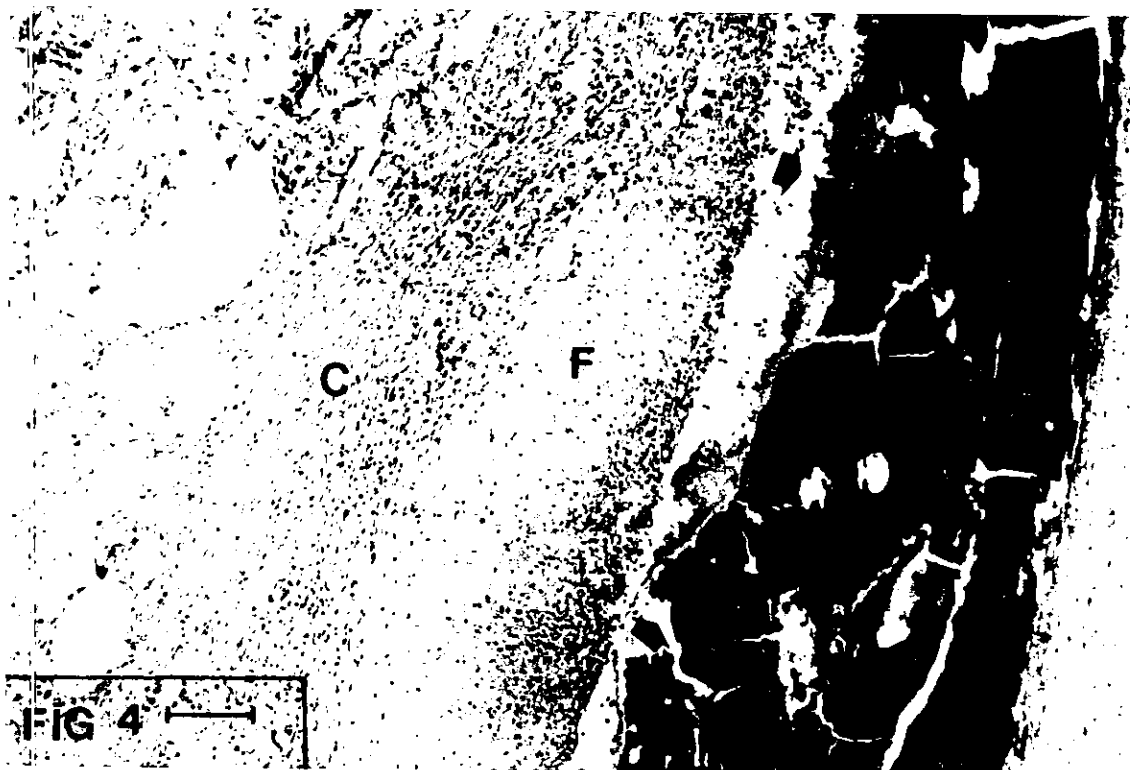


FIG. 4 FOTOMICROGRAFIA A 20X QUE MUESTRA EL MATERIAL BLCP IMPLANTADO (FLECHAS) RODEADO POR FIBRINA (F) NEUTROFILOS SOPORTADOS POR UNA CAPSULA FIBROSA DE TEJIDO CONJUNTIVO (C) ASÍ COMO TEJIDO CELULAR SUBCUTANEO

Silco. Se observó alrededor del material implantado la formación de una cápsula fibrosa densa constituida por haces gruesos de fibras colágenas, varias de ellas organizadas en forma paralela o entrecruzadas, abundantes vasos sanguíneos y neoformación vascular. En general la respuesta fue abundante (+++) y de tipo agudo con la formación de microabscesos focales.(Fig 5)

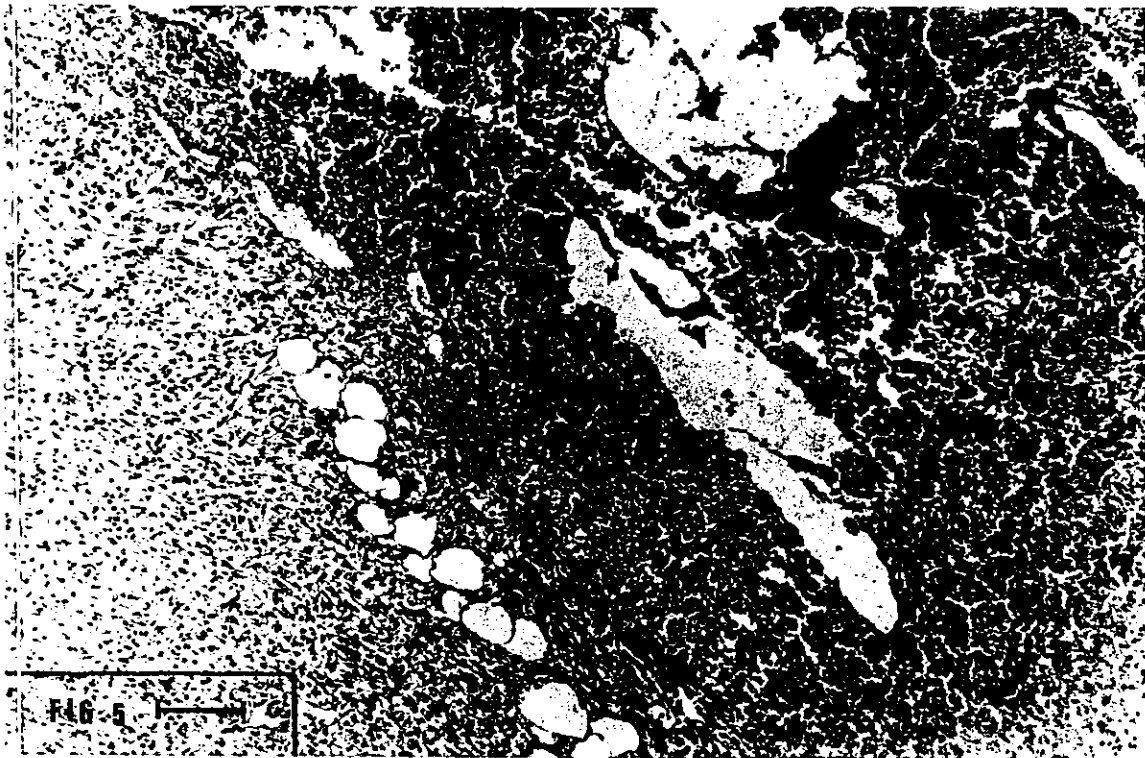


FIG 5. SE OBSERVO ALREDEDOR DEL MATERIAL IMPLANTADO UNA RESPUESTA INFLAMATORIA DE TIPO AGUDO CON FORMACIÓN DE MICROABSCESOS EN FORMA FOCAL.

Viarden. Microscópicamente se observó que la inflamación que predominó fue aguda y abundante (+++), localizándose adyacente al material implantado y con áreas focales de fibrina y material cristalizado. En tanto que en otras áreas mostró una respuesta inflamatoria crónica severa (+++) con presencia de grandes cantidades de células plásmáticas, vasos sanguíneos y neoformación vascular (por el contacto con los fluidos corporales) Fig 6.

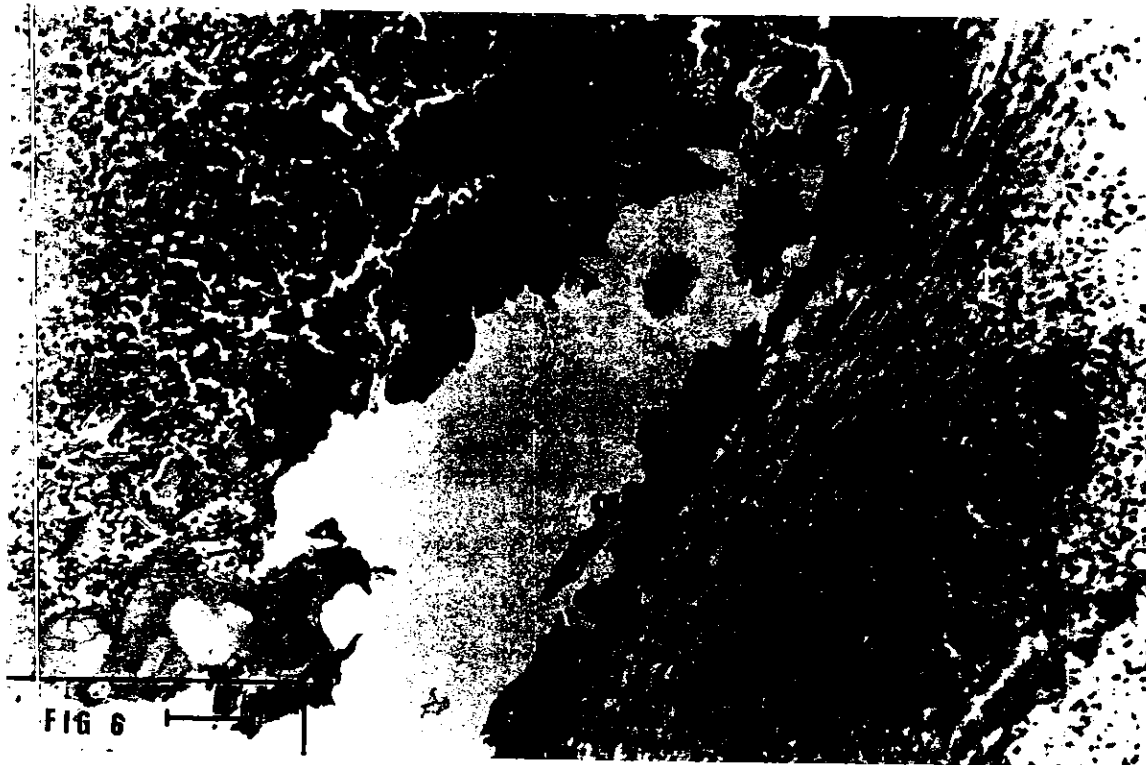


FIG. 6 RESPUESTA INFLAMATORIA CRÓNICA SEVERA CON PREDOMINIO DE CÉLULAS PLÁSMATICAS Y ABUNDANTE INFILTRADO INFLAMATORIO, CON ABUNDANTES VASOS SANGUÍNEOS Y NEOFORMACIÓN VASCULAR; ASÍ COMO CRISTALIZACIÓN DEL MATERIAL IMPLANTADO.

Grupo control Se observó infiltrado inflamatorio crónico leve (+) con presencia de áreas focales de linfocitos (++), células plásmáticas (+) y macrófagos (+). Así como neoformación vascular y abundantes vasos sanguíneos en la profundidad, soportado en un estroma denso y con abundantes fibroblastos activos y colagenización en el sitio de la incisión. (Fig 7).

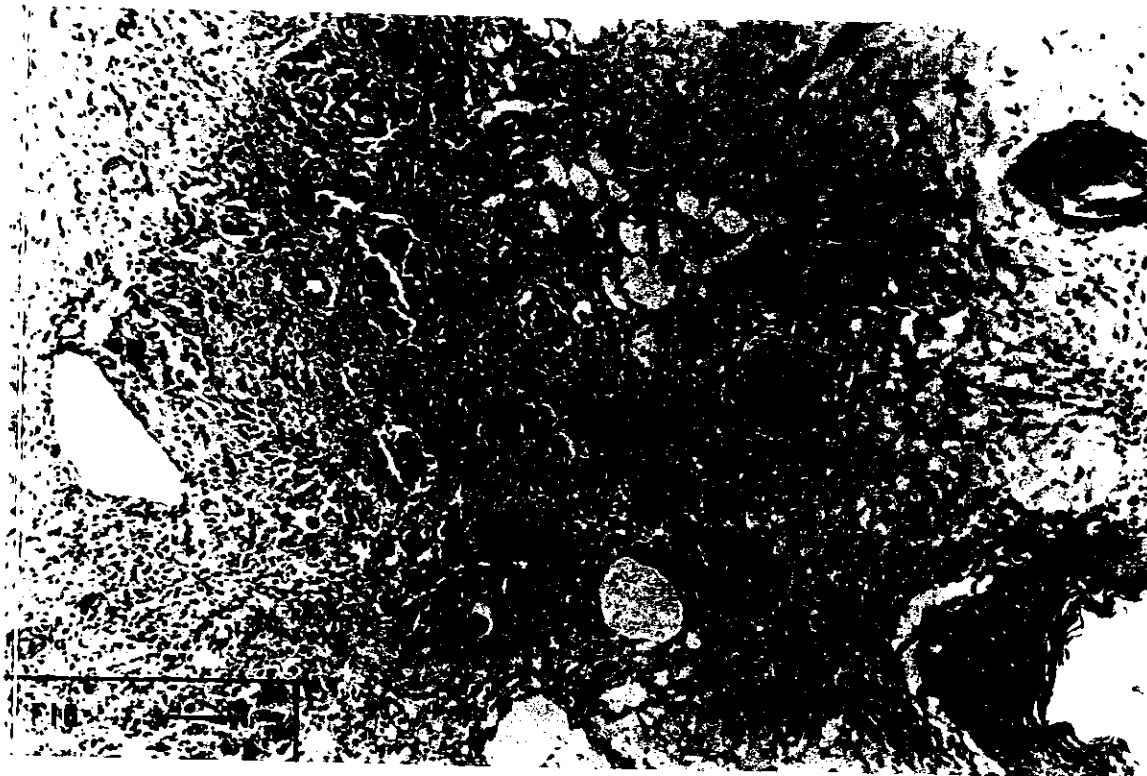


FIG 7 CORTE HISTOLÓGICO TEÑIDO CON H-E DONDE SE OBSERVA LA PRESENCIA DE CELULAS GIGANTES MULTINUCLEADAS (CGM) Y EL INFILTRADO LINFOPLASMOCITARIO (FOI 139-96, 20X)

REPORTE A LOS 15 DÍAS DE IMPLANTACIÓN

BLCP. El material implantado provocó una reacción crónica de moderada (++) a severa (+++), con la formación de un menor número de abscesos focales de poco tamaño, que en las muestras de 8 días. También se observaron áreas focales de inflamación que mostraban en el centro fragmentos de material implantado. (Fig 8. TABLA 2)



FIG.8 .- CORTE HISTOLÓGICO A 20X TEÑIDO CON H-E QUE MUESTRA LA PRESENCIA DE MATERIAL IMPLANTADO (FLECHA) RODEADO POR INFILTRADO INFLAMATORIO CRÓNICO , MUSCULO ESTRIADO EN LA PROFUNDIDAD , TODO ESTO CUBIERTO POR EPITELIO ESTRATIFICADO ESCAMOSO QUERATINIZADO (FOI 160-96, 20X)

Silco. El material implantado fue encapsulado por tejido conjuntivo fibroso denso b.en vascularizado que soportaba una moderada (++) cantidad de células linfoplasmocitarias, así como también células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño que mostraron material fagocitado en el interior del citoplasma. El material cristalizó en el tejido observándose una mayor respuesta giganto celular. (Fig 9 TABLA 2)



FIG 9. MICROFOTOGRAFÍA A 20X QUE MUESTRA EL MATERIAL IMPLANTADO CRISTALIZADO RODEADO POR TEJIDO CONJUNTIVO FIBROSO DENSO Y MODERADA CANTIDAD DE CÉLULAS LINFOPLASMOCITARIAS Y CÉLULAS GIGANTOCELULARES (FOI 159-96, 20X)

Viarden. Las muestras observadas microscópicamente mostraron respuesta inflamatoria moderada (++) a severa (+++) con predominio de células plásmaticas en un estroma de tejido conjuntivo fibroso denso, muy colagenizado bien vascularizado y con yemas vasculares, escasos microabscesos y restos de material implantado (Fig 10 TABLA 2)



FIG.10 CORTE HISTOLÓGICO TEÑIDO CON H-E A 20X EN EL QUE SE OBSERVA LA PRESENCIA DE CÉLULAS GIGANTES MULTINUCLEADAS A CUERPO EXTRAÑO ENGLOBANDO MATERIAL IMPLANTADO, CÉLULAS LINFOPLASMOCITARIAS Y NEUTROFILOS (FOI 170-96)

Grupo control. No presentó respuesta inflamatoria, en algunos solo se presentó una inflamación crónica, leve (+) con un proceso de colagenización. (Fig 11 TABLA 2)

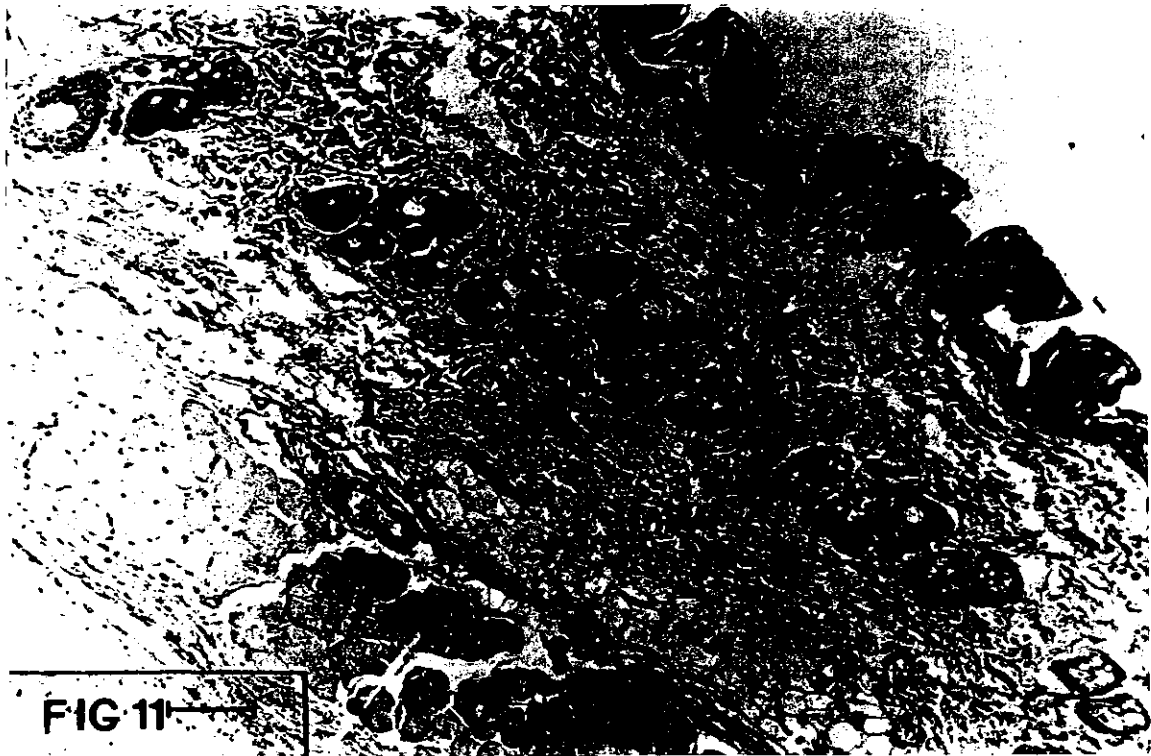


FIG 11 LA MICROFOTOGRAFÍA MUESTRA UN TEJIDO COLAGENIZADO BIEN VASCULARIZADO, EL EPITELIO QUE LO CUBRE ESTA REGENERADO EN SU TOTALIDAD (FOI 159-96, 20 X)

GRUPO DE 30 DÍAS

BLCP. La revisión microscópica reveló una reacción inflamatoria crónica de leve (+) a moderada (++) en resolución, así como escaso material implantado en el tejido celular subcutáneo, éste se mostró encapsulado por una fina banda de tejido conjuntivo denso bien organizado, con abundantes yemas capilares.

(Fig 12 TABLA 3)



FIG 12.- EL CORTE HISTOLÓGICO TEÑIDO CON H-E MUESTRA UN LEVE INFILTRADO INFLAMATORIO LINFOPLASMOCITARIO ALREDEDOR DEL MATERIAL IMPLANTADO (FOI 185-96, 20 X)

Silco. A los 30 días se encontró parte del material encapsulado, por tejido conjuntivo fibroso denso, bien vascularizado, con yemas capilares, e infiltrado inflamatorio moderado (++) de tipo linfoplasmocitario y moderada cantidad de células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño(++). (Fig 13 TABLA 3)



FIG 13 .- FOTOMICROGRAFÍA A 20 X EN LA QUE SE OBSERVA UNA RESPUESTA INFLAMATORIA CRÓNICA MODERADA (++) EN UN ESTROMA DE TEJIDO CONJUNTIVO FIBROSO DENSO BIEN VASCULARIZADO Y PRESENCIA DE MATERIAL IMPLANTADO (FOI 192-96)

Viarden. Microscópicamente alrededor del material implantado se presentaron abundantes piocitos, un estroma conjuntivo fibroso denso bien organizado con neoformación vascular, vasos sanguíneos amplios, macrófagos, linfocitos con predominio de células plásmáticas y escasa respuesta gigante celular (Fig 14.)



FIG 14.- CORTE HISTOLÓGICO CON H y E EN LA QUE SE OBSERVAN FRAGMENTOS DE MATERIAL IMPLANTADO RODEADO POR PIOCITOS EN UNA CÁPSULA FIBROSA DENSA CON MODERADA CANTIDAD DE CELULAS LINFOPLASMOCITARIAS (FOI 179-96, 20 X)

Control. La respuesta inflamatoria en este grupo no existió, solo se observó tejido conjuntivo fibroso denso bien organizado, cubierto por epitelio estratificado escamoso queratinizado (Fig 15 TABLA 3)



FIG. 15.- FOTOMICROGRAFIA A 20 X TEÑIDA CON H y E EN LA QUE SE OBSERVA EPITELIO ESTRATIFICADO ESCAMOSO QUERATINIZADO SOPORTADO EN TEJIDO CONJUNTIVO FIBROSO DENSO BIEN VASCULARIZADO, CÉLULAS ADIPOSAS Y TEJIDO MUSCULAR ESTRIADO. (FOI 180-96)

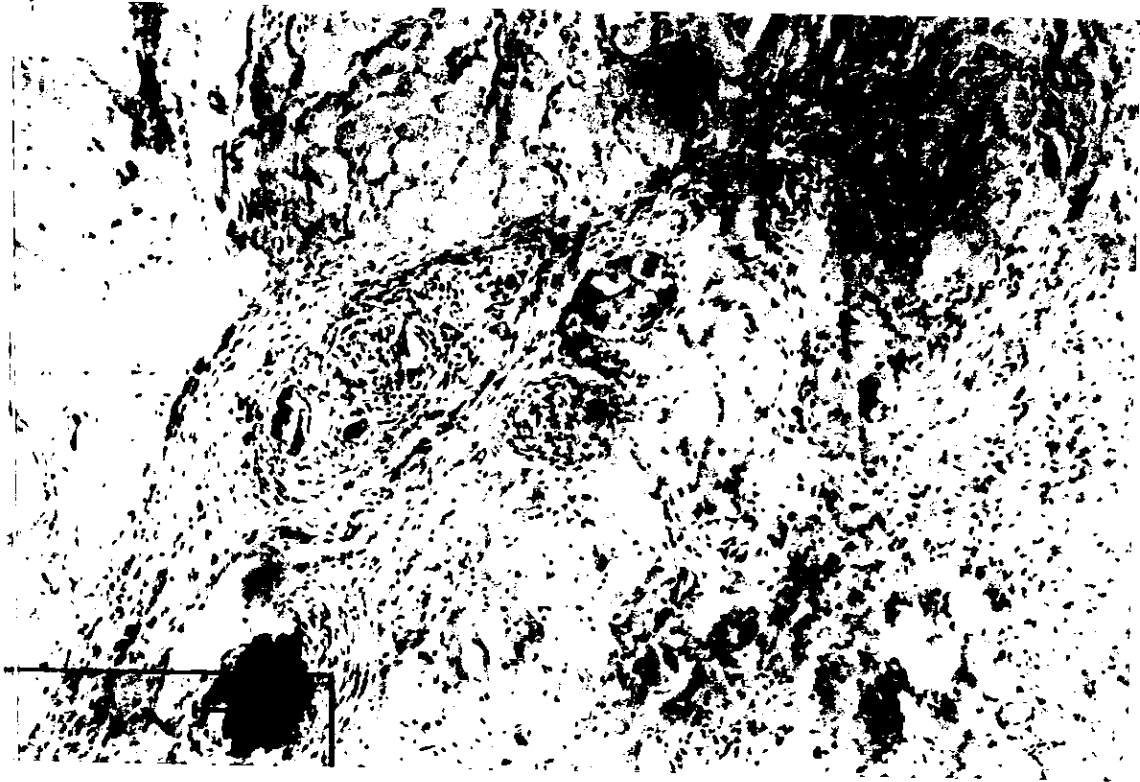
GRUPO DE 60 DÍAS.

BLCP. La reacción inflamatoria de tipo crónica que provocó el material fue leve (+) en algunos modelos el material fue expulsado y los residuos estuvieron encapsulados por tejido conjuntivo fibroso denso, sin mostrar respuesta inflamatoria y el tejido reparado. (FIG. 16)

Silco. La respuesta inflamatoria fue leve (+) con reacción gigante celular en forma moderada (++), el estroma fue fibroso denso con haces de fibras colágenas anchas y delgadas distribuidas en forma paralela, el tejido estuvo bien vascularizado.

Viarden. El escaso material que se encontró estaba bien encapsulado y la respuesta inflamatoria fue leve (+), se observó que el tejido estaba en vías de cicatrización. (FIG 17)

Control. El tejido se encontró totalmente reparado.



(FIG 16) La reacción inflamatoria de tipo crónica que provocó el material fue leve (+).

(FIG 17) El tejido estaba en vías de cicatrización.

Análisis estadístico:

Se recolectaron los datos de cada una de las laminillas en base a la intensidad de la respuesta inflamatoria, y se agruparon de acuerdo a si esa intensidad era leve (+), moderada (++) o severa (+++) dependiendo de la cantidad de macrófagos, células plasmáticas, linfocitos, pirocitos y demás elementos presentes en el proceso de la inflamación, obteniéndose los resultados que se señalan en las siguientes tablas:

Tabla 1

| 8 días | Intensidad de la reacción | | | Predominio celular | | | | |
|---------|---------------------------|---------------|--------|--------------------|-----------------|------------------|---------|----------------|
| | leve | modera- da | severa | linfocitos | Neutrófil os | plasmáti -cas | C.G.M.N | macrófa gos |
| BLCP | | | * | ++ | +++ | - | - | +++ |
| Silco | | | * | ++ | +++ | - | - | +++ |
| Viarden | | | * | ++ | ++ | +++ | - | +++ |
| Control | | * | | + | ++ | | | ++ |

Tabla 2

| 15 días | Intensidad de la reacción | | | Predominio celular | | | | |
|---------|---------------------------|---------------|-------------|--------------------|-----------------|----------------------|---------|----------------|
| | leve | modera- da | severa | linfocitos | neutrófil os | Plasmáti -cas | C.G.M.N | macrófa gos |
| BLCP | | * | | ++ | + | + | + | ++ |
| Silco | | * | | ++ | + | ++ | ++ | ++ |
| Viarden | | * | | +++ | + | +++ | ++ | ++ |
| Control | NO | SE | OBSER VÓ | REACCI ÓN | | INFLA MATORI A | | |

Tabla 3 A los 30 días de implantación

| 30 días | Intensidad de la reacción | | | Predominio celular | | | | |
|---------|---------------------------|---------------|--------|--------------------|-----------------|------------------|---------|----------------|
| | leve | modera- da | severa | linfocitos | Neutrófil os | Plasmáti -cas | C.G.M.N | macrófa gos |
| BLCP | * | | | + | + | + | + | |
| Silco | | * | | ++ | + | ++ | ++ | |
| Viarden | | * | | +++ | ++ | ++ | ++ | |
| Control | NO | SE | OBSER | VO | REACCI | ON | INFLA | MAJORI A |

Tabla 4 A los 60 días de implantación

| 30 días | Intensidad de la reacción | | | Predominio celular | | | | |
|---------|---------------------------|---------------|--------|--------------------|-----------------|------------------|---------|----------------|
| | leve | modera- da | severa | linfocitos | neutrófil os | plásmati -cas | C.G.M.N | macrófa gos |
| BLCP | * | | | + | | + | | |
| Silco | * | | | + | | + | ++ | |
| Viarden | * | | | ++ | + | + | ++ | |
| Control | | TEJIDO | | | NORMA | L | | |

Con estos datos se asignó un número a cada cemento (BLCP 1, Silco 2, Viarden 3, Control 4) para vaciarlos a una base de datos y obtener la moda, mediana, Chi cuadrada y prueba de kurtosis de cada grupo de linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, neutrófilos y cels. gigantes multinucleadas de cada cemento, con el fin de determinar qué datos seguían una distribución normal dentro de una campana; para cada lote de 8, 15, 30 y 60 días. (ver anexo 1)

Al determinar que estos salían de la distribución normal, se procedió a comparar los grupos:

1 vs. 2,

1 vs. 3,

1 vs. 4,

2 vs. 3,

2 vs. 4,

3 vs. 4

Y aplicar la prueba Kruskal Wallis (ver anexo 2) que es igual a Anova de 1 vía y que tiene por objetivo comparar las medias para conocer si hay diferencia entre ellas y la prueba W (Wilcoxon- Mann- Whitney) (ver anexo 3) que sirve para detectar si dos poblaciones o muestras independientes son diferentes, en donde para Wilcoxon:

$W_{tablas} < W_{calculada} =$ No hay diferencia significativa

U de Mann- Whitney

si $n < 15$

$U_{calculada} > U_{tablas} =$ No hay diferencia significativa

Esto también para cada lote a 8,15,30 y 60 días respectivamente, obteniéndose por resultado que:

8 días

Gigantes multinucleadas

Hay diferencia entre los 3 y contra Control

Linfocitos

Entre BLCP y Silco no hay diferencia significativa

si la hay para Viarden

y los 3 vs. Control hay diferencia

Macrófagos

Entre BLCP, Silco y Viarden no hay diferencia significativa, solo vs. Control

Neutrófilos

Entre BLCP y Silco si hay diferencia significativa vs. Viarden no hay diferencia,

los tres vs. Control hay diferencia

Plasmáticas

Hay diferencia entre los 3 y contra Control

A los 15 días

Gigantes multinucleadas

Hay diferencia entre los 3 y contra Control

Linfocitos

BLCP vs. Silco no hay diferencia

Silco vs. Viarden si hay diferencia

y los 3 contra Control

Macrófagos

Hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

pero no entre Silco y Control.

Neutrófilos

Hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

Plasmáticas

Hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

30 días

Gigantes multinucleadas

Hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

Linfocitos

BLCP vs. Silco y Viarden hay diferencia

pero entre BLCP y Control no hay diferencia significativa

Macrófagos

Hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

Neutrófilos

Hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

Plasmáticas

BLCP vs Silco y Viarden si hay diferencia

pero entre BLCP y Control no hay diferencia significativa

60 días

Gigantes multinucleadas

Hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

Linfocitos

BLCP vs Silco y Viarden si hay diferencia

pero entre BLCP y Control no hay diferencia significativa

Macrófagos

No hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

pero si los 3 contra Control

Neutrófilos

BLCP vs Silco y Viarden si hay diferencia

pero entre BLCP y Control no hay diferencia significativa

Plasmáticas

No hay diferencia entre BLCP vs. los otros 3

pero si los 3 contra Control

Discusión :

Muchos de los materiales dentales que actualmente son utilizados de manera rutinaria en la cavidad bucal, pueden durante su colocación provocar respuesta inflamatoria local

(Vallikanthan N. 1996) ²⁵ y no mencionan si sus productos han sido sometidos a algún proceso de esterilización, posiblemente esto se debe a que las propiedades del producto se pueden ver afectadas aún con la esterilización por medio de gas, así como también el costo de producción repercutiría en los precios al consumidor, por lo cual todos recomiendan que lo mejor es manejar el producto con la mayor asepsia posible, y hacen un mayor hincapié en las características físicas de sus productos. Por ejemplo, resistencia a la compresión, solubilidad, tiempo de fraguado, tiempo de mezcla etc. y pruebas químicas y biológicas que establezcan todas las propiedades del producto, esto siempre regulado por normas de la ANSI/ADA ¹

Las mismas pruebas físicas y químicas fueron aplicadas al cemento endodóncico, que se desarrollo en la Facultad de Odontología UNAM y al cual se le incorporaron fibras celulósicas que favorecen un sellado radicular, mismas que están contempladas dentro de la norma numero 57 de la ANSI/ADA ¹⁹. Los resultados de las pruebas físicas aplicadas al BLCF reportaron que el comportamiento de este nuevo material es muy similar a los productos con los que se le comparó e incluso mejor en algunas pruebas como: radiopacidad (por la adición de fibras celulósicas) y estabilidad dimensional (también conferida por las fibras celulosicas, mismas que al hincharse por el contacto con el agua contenida en el líquido de los cementos permiten su mayor estabilidad dimensional), los cementos endodóncicos no manifiestan en su avío, ningún valor relacionado con la radiopacidad, este dato es importante en el tratamiento endodóncico final por las implicaciones que trae el poder determinar una sobresaturación o bien una mala obturación.

El sellado que reportó y que se observó clínicamente nos ayuda a determinar que este cemento (BLCP) no permite la filtración de microorganismos patógenos que alteren el equilibrio de salud del organismo, esto puede ser debido al espesor de película que es de .200 micras pero entra en contradicción con la norma que establece que el grosor de película debe ser de .050 micras, en tanto Silco y Viarden estuvieron por debajo de el material BLCP pero por arriba de lo establecido por la norma. El tiempo de endurecimiento fue menor a comparación con el Viarden y el Silco no endureció, por tal motivo estas propiedades físicas repercuten en la valoración histológica ya que inciden en forma directa con la respuesta inflamatoria.

Los resultados de las pruebas biológicas, también apoyadas por las recomendaciones de la ANSI/ADA en su documento numero 41 ¹ y con pleno conocimiento de la declaración de Helsinki; nos indican que los mismos componentes de los productos son responsables directos de la respuesta inflamatoria, misma que se disminuye conforme el organismo acepta, se adapta o rechaza al agente externo, en este caso los cementos endodóncicos implantados. Orstavik en 1988 hizo estudios para observar la respuesta histológica de selladores endodóncicos implantados subcutáneamente y a la vez hacen un microanálisis por medio de rayos X, sin embargo concluyen que se deben armonizar las metodologías con el fin de hacer comparaciones directas entre diferentes estudios ²⁷. Actualmente este tipo de materiales (selladores) se esta inoculando en tubos de silicona que contienen la mezcla de los materiales a probar y se coloca en tejido conectivo tisular de rata, siguiendo controles a diferentes días (7, 30, y 90 días de implantación) pero concluyen estos estudios en que es necesario traspolar y/o aplicar en clínica los resultados (Zmener O. 1988, Kolokuris 1996)²⁹⁻³⁰.

Los diferentes tipos de reacción inflamatoria que presentó el tejido, van desde aguda, crónica y por último de tipo granulomatosa; al implantar los distintos cementos probados en este estudio, se observó que en diferentes intervalos de tiempo la inflamación cambio.

A los 8 días de implantación los cementos presentaron una respuesta inflamatoria de tipo aguda, principalmente con áreas de inflamación severa crónica (+++), solo en el grupo control la respuesta inflamatoria observada fue moderada (++) misma que puede ser atribuida a la agresión de la incisión y de la sutura.

A los 15 días de implantación los cementos provocaron una reacción inflamatoria crónica de moderada (++) a severa (+++), el cemento (Silco) cristalizó en el tejido, observándose un mayor incremento en la respuesta gigante celular, lo que pudiese hacer pensar que es difícil la eliminación de este, además el tipo de producto empleado en su fabricación y que el fabricante no menciona por ser parte de su formula, ocasiona este tipo de respuesta. En el Grupo Control que no presentó respuesta inflamatoria, se observó tejido de cicatrización.

En el grupo de 30 días la revisión microscópica reveló una reacción inflamatoria crónica de leve (+) a moderada (++) para todos los cementos, excepto en el Grupo Control en donde la respuesta inflamatoria no se hizo manifiesta. Todos los cementos a los 60 días tuvieron una reacción inflamatoria crónica leve (+), en algunos modelos el material fue expulsado y los residuos estuvieron encapsulados por tejido conjuntivo fibroso y englobado por células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño, por el contrario en el Grupo Control el tejido se encontró totalmente reparado. Este tipo de reacción es normal en base a otros estudios que reportan el mismo comportamiento. (Vesuksit C. 1988, Hanna Stromme 1989, Yasumasa 1985, Zmener O. 1988) ^{4,26,28,29}, incluso aún los estudios que reportan implantación subcutanea e intraosea. (Ronald L. 1998) ³¹

Todos los materiales de obturación endodóncicos que se utilizaron en la presente investigación, presentaron una respuesta muy fuerte en las primeras etapas, posteriormente junto con el cemento experimental fueron comportándose aceptablemente, para terminar todos con una buena reacción final, es importante resaltar que los tejidos que fueron sometidos a la implantación del material no presentaron áreas de necrosis, esto permite establecer que el material no causara daños irreversibles en los tejidos, únicamente se observó una respuesta normal que se ve en cualquier material extraño al organismo.

Akagawa et al 1985³⁰; hace un estudio de posibles causales responsables del comportamiento de los tejidos y concluye que se puede deber a las diferentes propiedades y texturas de la superficie del material implantado

La falta de más reportes de estudios histológicos no permiten establecer parámetros que sirvan de comparación, ya que son tantos los materiales dentales y su composición química tan diferente que necesitaríamos realizar pruebas con cada uno de los componentes que constituyen el material empleado, además las normas establecen que los productos con determinado tiempo en el mercado ya no deben ser sometidos a pruebas.

El ahondar en este tipo de productos nos podría ayudar a derivar investigaciones encaminadas a observar si el hecho de agregar sustancias inertes como el caso de la fibra celulósica disminuye la irritación de un producto sea de reciente desarrollo o de los ya existentes, dado que precisamente al aumentar este componente en su composición se disminuyen otras sustancias que irritan en primera instancia el conducto radicular a obturar, aunado al trabajo biomecánico propio del tratamiento y de la técnica de obturación.

Conclusiones :

De acuerdo a las pruebas físicas, las fibras celulósicas adicionadas al BLCP incrementan su radiopacidad y permiten un mayor sellado a las paredes radiculares y por ende, menos filtración de microorganismos. Una vez obturado el conducto ya no hay contacto con humedad por lo que no se expande más.

- La respuesta inflamatoria ocasionada por el BLCP es la misma y hasta menor que otros cementos endodóncicos (Viarden y Silco) de procedencia extranjera que se encuentran en el mercado nacional.

-El BLCP al haber aprobado las pruebas de la ANSI/ADA podrá ser fabricado en serie para su uso en la misma dependencia y para su venta en el mercado nacional.

- Se comprueba la hipótesis del trabajo

Propuestas de investigaciones a futuro.

Con este trabajo de tesis se concluye la investigación preclínica lo único que restaría es:

La valoración clínica del cemento BLCP.

Y la investigación de mercado

BIBLIOGRAFÍA

1.- American National Standards Institute, American Dental Association, Document No. 41 Recommended Practices for biological evaluation of dental materials, J. Am. Dent. Assoc. 1979 p.p.697-698, Approved January 4, 1982.

2.- Declaración de Helsinki, Recomendaciones para guiar a los Médicos Cirujanos en la investigación Biomédica que involucra seres humanos. Adoptada por la Asamblea médica mundial No 18 Helsinki Finlandia, 1964 y revisado por la Asamblea Médica Mundial, Tokio Japón, 1975.

3.- Pitt Ford. Relation between seal of root fillings and tissue response Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1983;(146):273-278

4.- Vesuksit C. A comparative tissue toxicity evaluation of established and newer root canal sealers. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1988;65:459-69

5.- Lynch M.J. ; Raphael S.S. ; Mellor L.D. ; Sapre P.D. e Inwood M.J.H.. Métodos de laboratorio Tomo II, Segunda Edición , Editorial Interamericana México 1991. p.1099-1114

6.- Levy, B; Discussion of: Proposal for biological testing of dental materials: International conference: Standardization of methods for evaluation of tissue reactions to dental restorative procedures. F.D.I / A.D.A., New York, 1969.p.28

7.- Hensten-Pettersen A and Jacobsen N. Toxic effects of dental materials. International Dental Journal 1991.(41): 262-273,

8.- Janet G, Al-Rubayi A. Tissue response to direct filling materials. The Journal of Prosthetic Dentistry. ; 1987.58: (5) 584-589.

- 9.- Phillips R.W.; La Ciencia de los Materiales Dentales de Skinner, 9a Edición, Editorial Interamericana 1993. México, p.p.467-497,
- 10.- Reisbick, MH. Materiales dentales en odontología clínica. Edit. El Manual Moderno. 3a edición 1985, p. 261.
- 11.- Markowitz, K ; Moynihan M, Liu M, Kim S. Biologic properties of eugenol and zinc oxide-eugenol. Oral surg Med Oral Pathol; 1992, (73): 729-737,
- 12.- Barceló F. Castellanos B. López A. y Platas J.C. Cement with Fibers a root canal sealers evaluación. J. Dent. Res. 1991.(15): 4
- 13.-Peyton. F.A. Materiales dentales restauradores, Edit. Mundi, 2da edición 1974 . p. 201.
- 14 - O' Brien. W.Y. Materiales dentales restauradores y su selección,3ª Edición, edit. Panamericana, Buenos Aires Argentina,1985, p.p. 122-135.
- 15.- Molina F. Diccionario Químico, 1ª Edición. Editorial de Libros Científicos. México D.F. 1989 p.p. 208, 242, 332.
- 16.- Pitt F; Effect of Super -Eba as a Root End Filling on Healing after Replantation, Journal of Dental Endodontics. 1 : (21) 34-37.1995
- 17.-García Aranda L. Barceló F. y Tehuacaneros Apical microleanage using eleven diferent root canal sealers. Journal of Dental Research 72: (225) 305-1995
- 18.-Jendresen MD, and Phillips RW: A comparative study of four zinc oxide and eugenol formulations as restorative materials. J. Prosthet Dent, 21:300-302. 1979.

19.- Barceló F. García A. ; Evaluación física de un cemento endodóntico experimental con fibras celulósicas. *Practica Odontológica* 1994.15 (4) 43-47.

20.- ANSI, Specification No. 57 for endodontic filling materials, J. Am. Dent. Assoc. 1984.108-188.

21.- Robbins S.L./ Cotran R.S; *Patología estructural y funcional*, 2 Edición, Editorial Interamericana .México .D.F.1992 p.p. 53-99

22.- Holland, PT. Sueli Satoni Murata, DDS, Eloi Dezan, Jr, MS, and Oswaldo Gralipp, DDS. Experimental Study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. *J. of Endodontics.* 21(3), 1995

23.- Rubin E. y Farber. *Essential Pathology* Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires Argentina 1990 ; p.p.33-87

24.- Pardo Mindán F. J. *Anatomía patológica general*. Vol. 1, Ediciones Doyma 1991 p.p.215-224

25.- Vallikathan Nadarajah, Cohen R E, Neiders M E and A. Aguirre. Cellular inflammatory responses to implanted dental materials. *J Prosthet Dent.* ;75 :(552) 61, 1996.

26.- Hanna Stromme Koppang ; Rolf Koppang, PhD, Tore Solheim, H. Aarnes, and S. O. Stolen. Cellulose Fibers from Endodontic Paper Points as an Etiological Factor in Postendodontic Periapical Granulomas and Cyst. *Journal of Endodontics*, 15: (8), 369-372, 1989

27.- Dag Orstavik Ivar A Mjör. Histopatology and X ray microanalysis of the subcutaneous tissue Response to Endodontic Sealers, Journal of Endodontics, 15: (14)13-23,1988.

28.- Yasumasa Akagawa, Masaki Hashimoto, Noriaki Kondo, akira Yamasaki, ad Hiromichi Tsuru. Tissue reaction implanted biomaterials. The Journal of Prosthetic Dentistry, 1985, 22: (3) 681-685.

29.- Zmener O. Biocompatibility of two calcium hidroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in subcutaneous connective tissue of the rat. J. Endod. 1988;14:299-305.

30.- Kolokuris I. Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac- Endo). J. Endod 1996 22(8):395-398

31.-Ronald L .Biocompatibility of two apatite cements J. Endod1998 24(5) 335-341

CURRICULUM VITAE

Nombre: Carlos Alberto Morales Zavala

Fecha y lugar de nacimiento: 4 de Julio 1968 en la ciudad de México D.F.

Padres: Aarón Morales Jain y Guillermina Zavala Rodriguez

Título y estudios profesionales y de grado.

Licenciatura : Carrera de cirujano Dentista generación 1987- 1990 en la Facultad de odontología de UNAM, obteniendo el título profesional el 19 de Julio de 1991 con la tesis titulada "Influencia de la exposición al medio ambiente en los líquidos de los cementos dentales" (investigación)

Especialidad: Materiales Dentales, generación 1993-1994

Maestría en odontología (Materiales Dentales), generación 1996-1997 en la División de Estudios de posgrado e Investigación de la Facultad de odontología UNAM.

Diplomado en Docencia de la Odontología 1992-1993

Distinciones: Medalla Gabino Barreda, por mas alto promedio de especialidad

Experiencia Docente y profesional: Ayudante de profesor B con 30 horas, 11 frente a grupo y 19 en investigación, en la Facultad de Odontología en la UNAM y la División de Estudios de Posgrado e Investigación de la F.O. UNAM. Respectivamente, de Agosto de 1991 a la fecha.

- Práctica privada de 1991 a la fecha.

- Dirección actual: Calle Giotto 30-3 col. Mixcoac c.p. 03910 México D.F.

tel. 5-98-38-02

CONTROL

| Value Label | Value | Frequency | Percent | Valid Percent | Cum Percent |
|-------------|-------|---------------|---------|---------------|-------------|
| | 0 | 18 | 90.0 | 90.0 | 90.0 |
| | 2 | 2 | 10.0 | 10.0 | 100.0 |
| | Total | 20 | 100.0 | 100.0 | |
| Mean | .000 | Std err | .100 | Median | .000 |
| Mode | .000 | Std dev | .616 | Variance | .379 |
| Kurtosis | 7.037 | S E Kurt | .992 | Skewness | 2.833 |
| S E Skew | .512 | Range | 2.000 | Minimum | .000 |
| Maximum | 2.000 | Sum | 4.000 | | |
| Percentile | Value | Percentile | Value | Percentile | Value |
| 25.00 | .000 | 50.00 | .000 | 75.00 | .000 |
| Valid cases | 20 | Missing cases | 0 | | |

LINEO

| Value Label | Value | Frequency | Percent | Valid Percent | Cum Percent |
|-------------|-------|---------------|---------|---------------|-------------|
| | 1 | 3 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| | 2 | 16 | 80.0 | 80.0 | 90.0 |
| | 3 | 1 | 10.0 | 10.0 | 100.0 |
| | Total | 20 | 100.0 | 100.0 | |
| Mean | 2.000 | Std err | .103 | Median | 2.000 |
| Mode | 2.000 | Std dev | .459 | Variance | .211 |
| Kurtosis | 3.980 | S E Kurt | .992 | Skewness | .000 |
| S E Skew | .512 | Range | 2.000 | Minimum | 1.000 |
| Maximum | 3.000 | Sum | 40.000 | | |
| Percentile | Value | Percentile | Value | Percentile | Value |
| 25.00 | 2.000 | 50.00 | 2.000 | 75.00 | 2.000 |
| Valid cases | 20 | Missing cases | 0 | | |

MACRO

| Value Label | Value | Frequency | Percent | Valid Percent | Cum Percent |
|-------------|-------|---------------|---------|---------------|-------------|
| | 0 | 3 | 15.0 | 15.0 | 15.0 |
| | 1 | 1 | 5.0 | 5.0 | 20.0 |
| | 2 | 5 | 25.0 | 25.0 | 45.0 |
| | 3 | 11 | 55.0 | 55.0 | 100.0 |
| | Total | 20 | 100.0 | 100.0 | |
| Mean | 2.200 | Std err | .247 | Median | 3.000 |
| Mode | 3.000 | Std dev | 1.105 | Variance | 1.221 |
| Kurtosis | .185 | S E Kurt | .992 | Skewness | -1.217 |
| S E Skew | .512 | Range | 3.000 | Minimum | .000 |
| Maximum | 3.000 | Sum | 44.000 | | |
| Percentile | Value | Percentile | Value | Percentile | Value |
| 25.00 | 2.000 | 50.00 | 3.000 | 75.00 | 3.000 |
| Valid cases | 20 | Missing cases | 0 | | |

NEUTRO

| Value Label | Value | Frequency | Percent | Valid Percent | Cum Percent |
|-------------|-------|-----------|---------|---------------|-------------|
| | 1 | 4 | 20.0 | 20.0 | 20.0 |
| | 2 | 6 | 30.0 | 30.0 | 50.0 |

| | | | |
|-------|---|----------|---------|
| 10.50 | 5 | TIPO = 1 | BLCP |
| 10.50 | 5 | TIPO = 2 | SILCO |
| 14.10 | 5 | TIPO = 3 | VIARDEN |
| 6.90 | 5 | TIPO = 4 | CONTROL |

--
20 Total

| | | | | | | |
|------------|------|--------------|------------|--------------------|------|--------------|
| Chi-Square | D.F. | Significance | Chi-Square | Corrected for ties | D.F. | Significance |
| 3.7629 | 3 | .2954 | 7.6920 | | 3 | .0550 |

--- Kruskal-Wallis 1-Way Anova

MA 50
by TIPO TIPO DE CEMENTO

| Mean Rank | Cases | | |
|-----------|-------|----------|---------|
| 10.40 | 5 | TIPO = 1 | BLCP |
| 11.60 | 5 | TIPO = 2 | SILCO |
| 12.40 | 5 | TIPO = 3 | VIARDEN |
| 5.40 | 5 | TIPO = 4 | CONTROL |

--
20 Total

| | | | | | | |
|------------|------|--------------|------------|--------------------|------|--------------|
| Chi-Square | D.F. | Significance | Chi-Square | Corrected for ties | D.F. | Significance |
| 4.9866 | 3 | .1726 | 6.1094 | | 3 | .1054 |

--- Kruskal-Wallis 1-Way Anova

NEUTRO
by TIPO TIPO DE CEMENTO

| Mean Rank | Cases | | |
|-----------|-------|----------|---------|
| 13.90 | 5 | TIPO = 1 | BLCP |
| 6.70 | 5 | TIPO = 2 | SILCO |
| 13.90 | 5 | TIPO = 3 | VIARDEN |
| 5.50 | 5 | TIPO = 4 | CONTROL |

--
20 Total

| | | | | | | |
|------------|------|--------------|------------|--------------------|------|--------------|
| Chi-Square | D.F. | Significance | Chi-Square | Corrected for ties | D.F. | Significance |
| 7.3271 | 3 | .0613 | 8.7129 | | 3 | .0314 |

--- Kruskal-Wallis 1-Way Anova

PLASMA
by TIPO TIPO DE CEMENTO

| Mean Rank | Cases | | |
|-----------|-------|----------|---------|
| 6.50 | 5 | TIPO = 1 | BLCP |
| 13.90 | 5 | TIPO = 2 | SILCO |
| 9.10 | 5 | TIPO = 3 | VIARDEN |
| 13.50 | 5 | TIPO = 4 | CONTROL |

--
20 Total

| | | | | | | |
|------------|------|--------------|------------|--------------------|------|--------------|
| Chi-Square | D.F. | Significance | Chi-Square | Corrected for ties | D.F. | Significance |
| 4.6743 | 3 | .1973 | 6.6770 | | 3 | .1079 |

--- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

NEUTRO
by TIPO TIPO DE CEMENTO

| Mean Rank | Cases | | |
|-----------|-------|--|--|
|-----------|-------|--|--|

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

| NEUTRO | | TIPO DE CEMENTO | |
|-----------|--------------------|-----------------|--------------------|
| by TIPO | | | |
| Mean Rank | Cases | | |
| 5.50 | 5 TIPO = 1 BLCF | | |
| 5.50 | 5 TIPO = 3 VIARDEN | | |
| | -- | | |
| | 10 Total | | |
| U | W | Exact | Corrected for ties |
| 12.5 | 27.5 | 2-Tailed P | Z |
| | | 1.0000 | .0000 |
| | | | 2-Tailed P |
| | | | 1.0000 |

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

| NEUTRO | | TIPO DE CEMENTO | |
|-----------|------------------|-----------------|--------------------|
| by TIPO | | | |
| Mean Rank | Cases | | |
| 5.70 | 5 TIPO = 1 BLCF | | |
| 4.30 | 5 TIPO = 2 SILCO | | |
| | -- | | |
| | 10 Total | | |
| U | W | Exact | Corrected for ties |
| 6.5 | 33.5 | 2-Tailed P | Z |
| | | .2222 | -1.4230 |
| | | | .1547 |
| | | | 2-Tailed P |
| | | | .3094 |

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

| NEUTRO | | TIPO DE CEMENTO | |
|-----------|--------------------|-----------------|--------------------|
| by TIPO | | | |
| Mean Rank | Cases | | |
| 4.30 | 5 TIPO = 2 SILCO | | |
| 6.70 | 5 TIPO = 3 VIARDEN | | |
| | -- | | |
| | 10 Total | | |
| U | W | Exact | Corrected for ties |
| 6.5 | 21.5 | 2-Tailed P | Z |
| | | .2222 | -1.4230 |
| | | | .1547 |
| | | | 2-Tailed P |
| | | | .3094 |

----- Mann-Whitney U - Wilcoxon Rank Sum W Test

| NEUTRO | | TIPO DE CEMENTO | |
|-----------|--------------------|-----------------|--------------------|
| by TIPO | | | |
| Mean Rank | Cases | | |
| 6.10 | 5 TIPO = 2 SILCO | | |
| 4.90 | 5 TIPO = 4 CONTROL | | |
| | -- | | |
| | 10 Total | | |
| U | W | Exact | Corrected for ties |
| 9.5 | 30.5 | 2-Tailed P | Z |
| | | .5476 | -.6703 |
| | | | .5023 |
| | | | 2-Tailed P |
| | | | 1.0046 |