

355



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PRUEBAS DE CITOTOXICIDAD Y
BIOCOMPATIBILIDAD DE UN CEMENTO DE
RESINA DUAL

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

P R E S E N T A

MONTERO SÁNCHEZ ERIC AURIEL

TUTORA: DRA. SANTA PONCE BRAVO

ASESORES: MTRO. JORGE MARIO PALMA CALERO

ACT. JOSÉ A. MONTERO SÁNCHEZ
MÉXICO, D.F. 2001



Santa Ponce Bravo



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.

A mi madre

a mis hermanos

a mis amigos

a mis profesores

Índice

I. Introducción	1
II. Marco Teórico	3
A. Proceso inflamatorio	3
1. Inflamación aguda	5
2. Inflamación crónica	7
3. Inflamación granulomatosa crónica	8
B. Respuesta Inmunitaria	9
1. Inmunidad innata	9
2. Inmunidad adquirida	10
3. Sistema inmunitario de las mucosas	13
C. Resinas de uso Odontológico	16
1. Clasificación	17
2. Cementos de Resina	18
2.1. Matriz de la Resina	19
2.2. Refuerzo inorgánico	22
2.3. Puente de unión entre las fases	23
2.4. Sistema de adhesión química	23
3. Solubilidad de las Resinas dentales	24
4. Toxicidad de las resinas	25
D. Consideraciones sobre biocompatibilidad	31
1. Norma no. 41 A.D.A.	32
E. Estadística	37
F. Planteamiento del problema	39
G. Justificación del estudio	40
H. Objetivo general	41
Objetivos específicos	42
I. Hipótesis	43

III. Metodología	44
1. Equipo, material e instrumental	44
2. Método	46
a. Procedimiento	47
b. Criterios para evaluar la respuesta biológica (A.D.A.)	51
c. Parámetros para establecer el grado de respuesta inflamatoria	52
IV. Resultados	54
1. Respuesta clínica	54
2. Resultados histológicos	55
V. Análisis estadístico	66
1. Interpretación	77
VI. Discusión	79
VII. Conclusiones	83
VIII. Referencias	85
IX. Apéndice	89

Índice de esquemas, figuras, tablas y gráficas.

Esquema 1. (Respuesta inmunitaria)	12
Esquema 2. (molécula Bis-GMA)	19
Esquema 3. (molécula TEGDMA)	20
Esquema 4. (molécula peróxido de benzoilo)	21
Esquema 5. (molécula dimetil p-toluidina)	21
Esquema 6. (molécula hidroquinona)	22
Esquema 7. (molécula vinil silano)	23
Figura 1. (Ratas Wistar)	48
Figura 2. (Incisiones)	48
Figura 3. (Implantación del material)	49
Figura 4. (Sutura)	50
Figura 5. (Cicatrización)	50
Figura 6. (Grupo I)	57
Figura 7. Acercamiento	58
Figura 8. (Grupo II)	59
Figura 9. Acercamiento	60
Figura 10. (Grupo III)	61
Figura 11. Acercamiento	62
Figura 12. (Grupo IV)	63
Figura 13. Acercamiento	64
Figura 14. (Inflamación granulomatosa)	65
Tabla 1. (Procedimientos de evaluación A.D.A.)	34
Tabla 2. (Distribución de muestras)	66
Gráfica 1. (Linfocitos)	70
Gráfica 2. (Control Linfocitos)	70
Gráfica 3. (Macrófagos)	71
Gráfica 4. (Control macrófagos)	71
Gráfica 5. (Células Plasmáticas)	72
Gráfica 6. (Control c. Plasmáticas)	72
Gráfica 7. (CGMN)	73
Gráfica 8. (Control CGMN)	73
Gráfica 9. (Comparación de los promedios por semana)	75
Gráfica 10. (Evolución de los promedios)	75
Gráfica 11. (Comparación de los promedios por semana, control)	76
Gráfica 12. (Evolución de los promedios, control)	76

I. INTRODUCCIÓN

Con el advenimiento de la nueva tecnología y el creciente avance en las investigaciones sobre los principios físicos, biológicos y estéticos en el área de la restauración dental, las empresas encargadas de elaborar materiales de uso odontológico compiten por ofrecer las fórmulas más novedosas y de mejores propiedades para sobresalir en un mercado de gran demanda.

Esta competencia influye en la creación de nuevas fórmulas y variación de las ya existentes que ofrecen al consumidor el producto más conveniente para cada necesidad.

Internacionalmente, la ANSI, I.S.O. y la Asociación Dental Americana (A.D.A.) normatizan, mediante una serie de especificaciones, los requisitos que un material de restauración dental debe cubrir para su introducción al mercado. Estos requisitos se estructuran tomando en cuenta aspectos como su fórmula, propiedades físicas, durabilidad, resistencia y biocompatibilidad.

Es por eso, que las compañías que fabrican estos materiales deben someter a prueba sus productos con el fin de verificar que esas especificaciones se cumplan como lo indica la norma.

Este estudio valorará en términos de biocompatibilidad el producto destinado a servir como cemento para incrustaciones y coronas con base en resinas duales de la marca MEDENTAL.

La investigación se llevó a cabo implantando muestras subdérmicas de estos materiales a modelos experimentales (ratas Wistar), en las cuales se realizaron observaciones posteriores a la implantación del material, para valorar clínicamente el efecto que generaron en los tejidos blandos. Las ratas fueron sacrificadas a diferentes intervalos de tiempo con la finalidad de estudiar histológicamente la repuesta generada en el tejido.

II. MARCO TEÓRICO

A. PROCESO INFLAMATORIO

Siempre que algún estímulo físico, químico o biológico actúa sobre el organismo, éste responde en consecuencia con un proceso inflamatorio para erradicar del organismo al agente causante.

El grado de la respuesta inflamatoria se ve modificado por el carácter e intensidad de la lesión, el sitio y tejido afectados y la reactividad del huésped. Las células que intervienen en la inflamación son los leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos y basófilos), monocitos, linfocitos y células plasmáticas (Robbins, 1990).

Los **neutrófilos** participan como primera línea de defensa contra el agente agresor y durante toda la reacción inflamatoria. Son células fagocíticas que intentan eliminar al agente irritante en las primeras horas. Su semivida es de siete horas y mueren después de ingerir al cuerpo extraño, dando lugar a la formación de picocitos.

Los **eosinófilos** tienen un periodo de vida en la sangre de cinco horas, para después emigrar a los tejidos ante la presencia de proteínas extrañas. Contienen una gran cantidad de gránulos ricos en peroxidasa. Se cree que participan en el final de las reacciones alérgicas porque degradan mediadores químicos como la histamina.

Los **basófilos** poseen gránulos metacromáticos grandes cargados de heparina e histamina, liberan compuestos activos a estímulos como traumatismos, fármacos y complejos antígeno-anticuerpo, por lo que son partícipes de las reacciones de hipersensibilidad (Robbins, 1990).

Los leucocitos polimorfonucleares presentan tres tipos distintos de gránulos (primarios, secundarios y terciarios) en su citoplasma, cada uno de los cuales expone un espectro único de enzimas capaz de degradar componentes en la matriz extracelular (Rubin, 1990).

Los **gránulos primarios** contienen hidrolasas ácidas, capaces de digerir mucopolisacáridos, proteasas, que digieren proteínas estructurales como la colágena y elastina, lisosima y fosfolipasa A, que atacan bacterias y pared celular respectivamente y mieloperoxidasa, que metaboliza el peróxido de hidrógeno, incrementando la citotoxicidad.

En los **gránulos secundarios** encontramos fosfolipasa A₂, lactoferrina y colagenasa específica para colágena tipo IV.

Los gránulos terciarios (o partículas C) contienen hidrolasas ácidas y gelatinasa.

Los **monocitos** y **macrófagos** pertenecen al sistema de fagocitos mononucleares o sistema reticuloendotelial. En el tejido conectivo se llaman histiocitos, poseen la capacidad de englobar y digerir partículas extrañas, restos de células lesionadas, eritrocitos y proteínas. Los macrófagos pueden efectuar pinocitosis de moléculas solubles con menos de 10 nm de diámetro. Contienen abundantes enzimas hidrolíticas y pueden ser activados por estímulos externos (Robbins, 1990).

Los macrófagos llevan a cabo las funciones de:

- Fagocitosis y digestión microorganismos y partículas extrañas.
- Liberación de enzimas que degradan el tejido conectivo
- Liberación de factores quimiotácticos
- Liberación de prostaglandinas y pirógeno endógeno, sustancias promotoras de la leucocitosis y fiebre.
- Libera factores que favorecen la cicatrización.
- Secreta proteínas del sistema de defensa como la lisozima e interferón.

Los leucocitos polimorfonucleares, monocitos y macrófagos son células fagocíticas. Estas células forman un fagolisosoma al ingerir las partículas extrañas, que posteriormente se fusiona con el lisosoma para originar un fagosoma, donde la partícula es expuesta a las enzimas hidrolíticas (Rubin, 1990).

Los **linfocitos** y **células plasmáticas** aparecen en la etapa tardía del proceso inflamatorio, generalmente en la etapa crónica de las inflamaciones.

1. Inflamación Aguda

En los tejidos, cuando las células son agredidas, liberan histamina que estimula la permeabilidad de los capilares, aumentando el flujo sanguíneo e incrementando la cantidad de líquido y proteínas al sitio de la lesión, constituyendo así un edema.

Los exudados celulares y líquido linfático reaccionan con el fibrinógeno coagulándose y formando una barrera que delimita la zona lesionada para evitar la diseminación de bacterias o productos tóxicos a los tejidos circundantes.

Las primeras células en responder a la agresión son los leucocitos polimorfonucleares tipo **neutrófilos**, que son atraídos a la zona afectada, donde "marginan" la inflamación al adherirse a las paredes del capilar lesionado (Guyton, 1990). En término de 48 horas son el tipo celular predominante.

El tejido inflamado secreta el factor de estimulación de la leucocitosis, que actúa directamente sobre la médula ósea para aumentar el número de granulocitos, especialmente neutrófilos, en la sangre.

Posteriormente los productos bacterianos interactúan con los factores plasmáticos (leucotrienos, polipéptidos y componentes del sistema de complemento), atrayendo por quimiotaxis a los neutrófilos hacia las células agresoras.

Algunas inmunoglobulinas como la IgG y proteínas del complemento actúan como opsoninas adhiriéndose a las bacterias, permitiendo que los neutrófilos se dirijan a ellas y las fagociten, lisándolas en los lisosomas mediante el proceso de degranulación (Ganong, 1998).

Las células monocíticas emigran por quimiotaxis a la zona de la inflamación. Los histiocitos del tejido (monocitos fijos) forman macrófagos por diferenciación que se desplazan por movimientos ameboides al sitio de la lesión.

Los neutrófilos descargan tromboxanos (vasoconstrictores y agentes agregadores de plaquetas), leucotrienos (incrementan la permeabilidad vascular y atraen a otros neutrófilos al sitio) y otras prostaglandinas que ejercen un efecto antiinflamatorio moderado.

Este proceso permite que las células de defensa fagociten a las células agresoras. Cuando el agente irritante que ocasiona la inflamación es eliminado, el proceso inflamatorio se resuelve, implicando un drenaje paulatino de líquido edematoso del lugar, por medio de los vasos linfáticos y las venas, en tanto que los elementos celulares de la sangre que habían invadido la zona vuelven a la circulación o bien, son destruidos y fagocitados localmente.

2. Inflamación Crónica

Algunos procesos inflamatorios persisten por semanas, meses o años, generando una inflamación crónica (Robbins, Cotran y 1997). Este estado se caracteriza por un infiltrado de células mononucleares (macrófagos), linfocitos y células plasmáticas, proliferación de fibroblastos y de vasos sanguíneos de pequeño calibre.

Los macrófagos se acumulan en los procesos inflamatorios crónicos por tres mecanismos:

- Reclutamiento continuado de monocitos por liberación de factores quimiotácticos.
- Proliferación local, producto de la división mitótica.
- Supervivencia duradera e inmovilización de los macrófagos en el foco de inflamación.

Se cree que la producción de fibroblastos está favorecida por factores derivados de los macrófagos activados, aumentando el depósito de colágena.

Las células plasmáticas elaboran anticuerpo contra el antígeno persistente en el foco inflamatorio.

3. Inflamación Granulomatosa Crónica

Es un tipo específico de inflamación crónica caracterizada por acumulaciones nodulares de macrófagos modificados (células epitelioides) ante la presencia de irritantes poco digeribles, inmunidad mediada por células al irritante o ambas.

Los granulomas son acumulaciones de 1-2 mm de células inflamatorias, principalmente células epitelioides, rodeadas por un anillo de linfocitos.

La célula epiteliode es un macrófago modificado de abundante citoplasma de color rosa pálido y aspecto regordete. Se forma cuando en los procesos inflamatorios de larga duración los macrófagos que han fagocitado el cuerpo extraño pueden almacenarlo en su citoplasma por periodos indefinidos evitando así que pueda seguir generando respuesta inflamatoria. Entonces la célula pierde su movilidad y sufre cambios estructurales, adquiriendo un aspecto similar al de la célula epitelial (Rubin, 1990).

Las células gigantes de Langhans y las de tipo de cuerpo extraño se forman por fusión de los macrófagos y están presentes también en los granulomas. Se pueden encontrar además, fibroblastos, células plasmáticas y neutrófilos (Robbins, 1990).

B. REPUESTA INMUNITARIA

La respuesta inmunitaria es una sucesión de eventos desencadenada por un estímulo, que busca distinguir lo propio de lo ajeno, para eliminar del organismo al agente que la provoca. La propiedad del sistema inmune de reconocer y distinguir una molécula de otra y responder sólo hacia una de ellas se conoce como especificidad (Moreno, 1996). Es un proceso que está relacionado íntegramente con la respuesta inflamatoria y sus componentes.

Son tres tipos de células las que intervienen en este proceso: macrófagos, linfocitos T y B (Goodman, 1990). Estas células interactúan directamente y por medio de interleucinas.

1. Inmunidad Innata

La piel es la barrera de defensa física más importante frente a la invasión de organismos extraños al cuerpo. Cuando éstos penetran, se encuentran con otros elementos del sistema inmunitario innato, como la lisozima (enzima lítica que ataca la pared celular de muchas bacterias con el fin de detener el progreso de la infección). Al mismo tiempo, el sistema de complemento se activa por la presencia de las bacterias, facilita su eliminación y fagocitosis por los macrófagos que reconocen los componentes de este sistema a través de sus receptores. Del mismo modo, los neutrófilos reaccionan por quimiotaxis a la activación del complemento.

En una infección viral, la inmunidad innata se implementa por los interferones (α , β , γ), que son producidos por leucocitos y que a su vez, activan a las células Asesinas Naturales, que son linfocitos que se adhieren y matan a células tumorales o infectadas por virus (Stites, Terr, 1993).

2. Inmunidad Adquirida

Cuando un agente extraño escapa a la eliminación por el sistema inmunitario innato, se inicia la respuesta adaptativa o adquirida, un sistema defensor del organismo, altamente especializado, en el que el agente extraño o inmunógeno dispara una cadena de sucesos que dan como resultado la activación de linfocitos y la producción de anticuerpos y linfocitos efectores específicos para el inmunógeno.

Los macrófagos, que funcionan como células presentadoras de antígenos (APC), las células T y células B son la base de este sistema inmune innato (Stites, Terr, 1993).

Un **inmunógeno** (o antígeno) es una molécula (generalmente una proteína) que puede inducir una respuesta inmunitaria en un individuo en particular. El antígeno tiene regiones reconocidas por el sistema inmune en forma específica e independiente, denominadas determinantes antigénicos o **epítomos**, que interactúan directamente con anticuerpos de especificidad única en la zona llamada **parátipe** (Moreno, 1996).

En el caso de agentes agresores no protéicos, la respuesta se puede generar por medio de un **hapteno**, que es un antígeno incompleto (o determinante antigénico aislado) que actúa como inmunógeno cuando se une a una proteína acarreadora (Moreno, 1996).

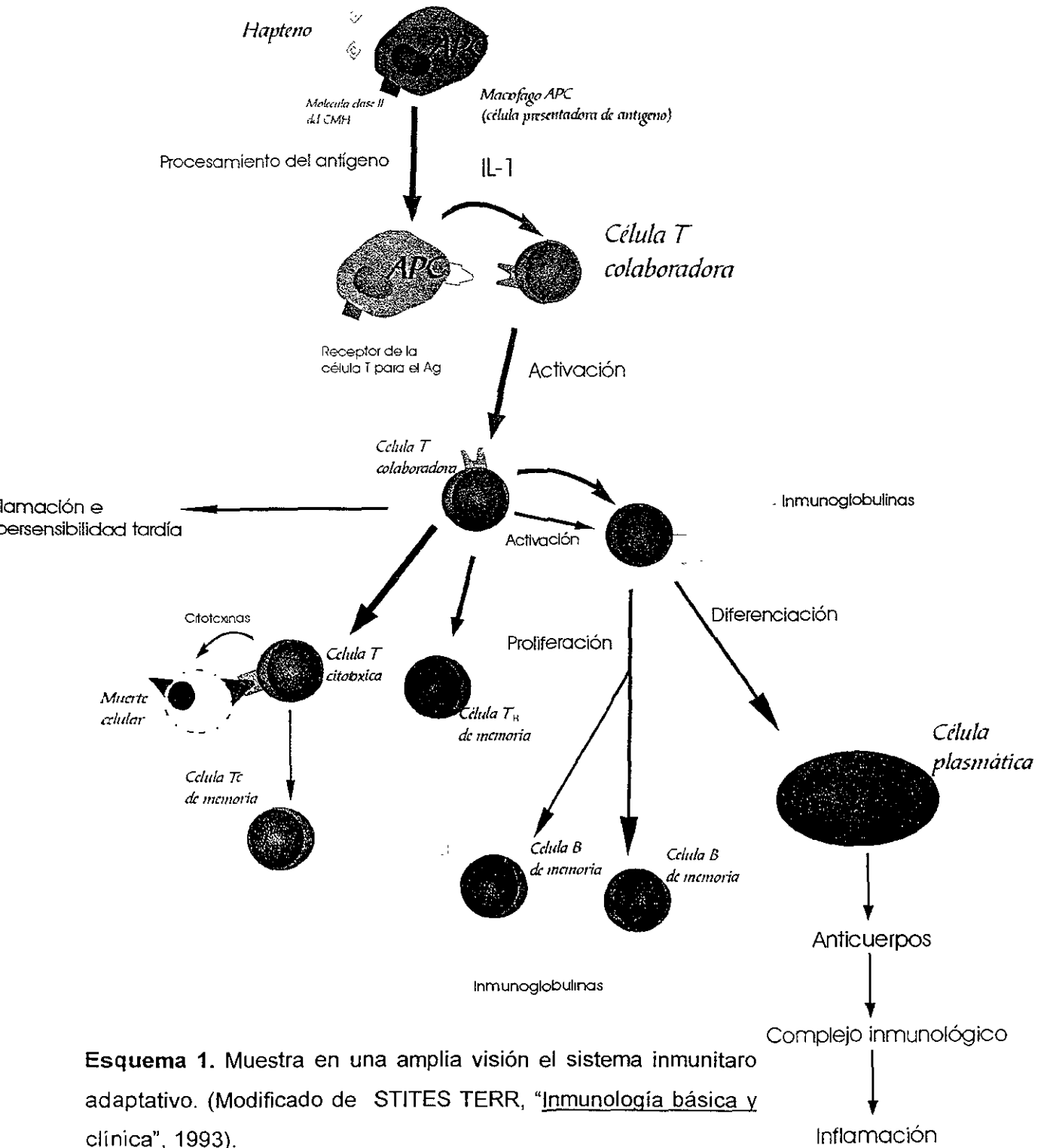
Son dos los tipos inmunitarios de defensa. La inmunidad humoral, que la proporcionan los anticuerpos circulantes en la fracción de globulinas de las proteínas plasmáticas. La inmunidad celular es responsable de las reacciones alérgicas retardadas y los rechazos de tejido extraño así como las infecciones por virus, hongos y algunas bacterias.

La inmunidad humoral comienza cuando entran al cuerpo virus, bacterias y otras proteínas extrañas (ya opsonizadas) y son fagocitadas por los macrófagos, que exponen en su superficie parte del antígeno ingerido, junto con proteínas del complejo de histocompatibilidad mayor (CHM). Los macrófagos entran en contacto con los linfocitos y las células TCD4 se activan al fijarse al antígeno y la proteína II del CHM. Ahora, las células TCD4 contactan a las células B, las activan y las hacen proliferar en células B de memoria y células plasmáticas. Estas últimas secretan anticuerpos (inmunoglobulinas) hacia la circulación general (Stites, Terr, 1993).

Las células T asesinas y supresoras tienen un marcador glucoproteico en su superficie, llamado TCD8 y a su vez, las células auxiliares e inductoras tienen uno llamado TCD4, que les da su nombre a cada una.

Al contacto con la proteína CHM-I, el antígeno activa los linfocitos TCD8 para que proliferen y formen células citotóxicas y supresoras. Los macrófagos que han ingerido material extraño secretan interleucina 1 (IL-1) que estimula a las células TCD4 para que secreten IL-2, que a su vez induce la proliferación de más células TCD8 y activadas. De este modo, el organismo bloquea la invasión de células extrañas mediante un complejo específico (Esquema 1).

Las **células B** se diferencian en células plasmáticas y células B de memoria. A su vez, las **células T** identifican y responden contra los distintos epítopos presentes en una molécula antigénica (Moreno, 1996). Se dividen en cooperadoras o inductoras, supresoras, citotóxicas o asesinas y células de memoria.



Esquema 1. Muestra en una amplia visión el sistema inmunitario adaptativo. (Modificado de STITES TERR, "Inmunología básica y clínica", 1993).

3. Sistema Inmunitario de las mucosas

El sistema inmunitario de las mucosas está compuesto de tejidos linfoides que se relacionan con las superficies mucosas de los aparatos digestivo, respiratorio y urogenital. La Ig A se relaciona fuertemente con este sistema. En las mucosas se encuentran células T con propiedades reguladoras efectoras específicas.

Este sistema proporciona defensa al individuo junto con factores protectores no inmunitarios como la flora bacteriana residente, secreciones mucosas (que forman una barrera protectora entre los patógenos y las células epiteliales) y enzimas como la lisozima, que tienen efectos inhibitorios sobre microorganismos específicos. Así mismo, evita la entrada de antígenos por esta vía para proteger el sistema inmunitario sistémico (Strober, James de Stites ETR, 1991).

Este sistema se divide morfológica y funcionalmente en dos partes principales: 1) tejidos organizados que consisten de folículos de la mucosa (donde los antígenos penetran e inducen respuestas inmunitarias) y 2) tejido linfoide difuso que consiste de células de amplia distribución localizadas en la lámina propia de la mucosa (donde los antígenos interactúan con las células diferenciadas y provocan la liberación de anticuerpos).

Los agregados linfoides de las mucosas reciben al antígeno a través del epitelio, este entra a través de las células M (células membranosas), que son células epiteliales aplanadas caracterizadas por bordes vellosos poco desarrollados, un delgado glucocáliz y un citoplasma rico en vesícula pinocíticas. El transporte de antígeno se da por la unión de antígeno a la superficie celular (célula M) por medio de sitios de captación, ingresa en vesículas pinocíticas para ser transportado a través de la célula y finalmente es expulsado en forma no degradada en el área subepitelial.

El área debajo del epitelio aglomerado linfoide es rica en células que llevan antígenos del complejo de histocompatibilidad mayor clase II (presente en las células de defensa), capaces de presentar antígeno después de exposición a los antígenos. Estas se denominan células domo.

Justo debajo de este conjunto celular se encuentra la zona folicular que contiene los centros germinales, donde predominan las células B.

Los tejidos linfoides difusos consisten de poblaciones celulares presentes en dos compartimientos separados, el compartimiento linfocitario intraepitelial (IEL) y el compartimiento linfocitario de la lámina propia (Strober, James de Stites Terr, 1991).

Los linfocitos intraepiteliales son células que yacen por encima de la membrana basal entre las células epiteliales, consistentes en su mayoría de células T. Tienen funciones efectoras inmunitarias especializadas, como actividad de células asesinas y citotoxicidad celular específica.

Los linfocitos de la lámina propia se dividen igualmente entre células B (dominada por las células B tipo IgA) y células T.

Los macrófagos se encuentran en áreas difusas a través del sistema inmunitario de las mucosas, donde tienden a concentrarse en las partes más superficiales de la mucosa, justo debajo del epitelio (Strober, James de StitesTerr, 1991).

En la boca, las encías están estructuralmente compuestas por epitelio oral y el epitelio de unión, así como por una densa lámina propia de colágeno que incluye al aparato de fibras supra alveolares, vasos sanguíneos y linfáticos y nervios.

Los tejidos gingivales sanos muestran signos de protección estructural y fisiológicos, como el surco gingival y el epitelio de unión con espacios intercelulares anchos donde hospeda a un elevado número de granulocitos neutrofilicos y fluido del surco. En la lámina propia pueden observarse focos de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas mayormente a lo largo del epitelio de unión (Schroeder, Listgarten, 2000).

La protección a los tejidos bucales está dada en parte por medio de la secreción de las glándulas salivales mayores y menores que contienen inmunoglobulina A y al fluido crevicular que contiene leucocitos tipo neutrófilos originados de los vasos del plexo gingival y emigran de la porción coronal del epitelio de unión y representan una importante línea de defensa (Schroeder, Listgarten, 2000).

C. RESINAS DE USO ODONTOLÓGICO

La introducción de los materiales de resina para restauración en odontología se produjo al reemplazar como material estético a los silicatos, que resultaban ser un sistema de restauración de corto plazo por su solubilidad y desintegración en el entorno bucal.

Los primeros acrílicos (sin relleno) aparecieron hacia 1945 y fueron mejorando hasta convertirse en un material bastante utilizado en los años sesenta. Los acrílicos de este tipo eran menos solubles y no se deshidrataban, aunque sufrían importantes cambios dimensionales al fraguar y ante cambios de temperatura, favoreciendo la percolación de saliva en los márgenes. Además, su poca resistencia al desgaste, su escasa rigidez y los problemas de infiltración daban lugar a caries recidivante (García, Giner, 1998).

Para 1972, Bowen y colaboradores definieron "composite" como una combinación de dos materiales químicos diferentes con una interfase que separa ambos componentes y con propiedades específicas que no podrían alcanzar por separado. Este material está compuesto esencialmente por partículas inorgánicas de relleno distribuidas por una matriz de resina orgánica, tratadas con agentes acopladores, que permiten una buena unión química entre ambas y por iniciadores y activadores, que favorecen la polimerización del material (García, Giner, 1998).

Algunas resinas compuestas están adicionadas con fluor que le confiere poder anticariogénico, además pueden desprender iones de calcio en situaciones en las que el pH disminuye, produciendo un efecto tamponador de la acidez en el medio bucal, aparte de poder recaptar los elementos fluorados aportados en la higiene bucal, una vez que han perdido su capacidad para cederlos. Estas resinas reciben el nombre de "composite inteligente"

1. CLASIFICACIÓN

La Asociación Dental Americana en su especificación No. 27 clasifica los materiales de resina empleados en operatoria dental en dos tipos (Guzmán, 1990):

Tipo I. Resinas sin carga (no compuestas)

Tipo II. Resinas compuestas. Con material de relleno adicionado.

Las resinas compuestas se denominan así por ser una combinación tridimensional de un mínimo de dos materiales químicamente diferentes y con una interfase definida que separa los componentes (Phillips, 1982).

Un material compuesto para restauración dental es aquel en el que se agrega relleno inorgánico a una matriz de resina con el objeto de modificar las propiedades de la matriz.

Las resinas de empleo en odontología presentan sistemas de polimerización químicos o por generación de radicales libres por acción de la luz. La **resina dual contiene en su fórmula los dos sistemas de polimerización, químico y fotosensible**, para garantizar un mayor grado de conversión monómero-polímero. Esto mejora las propiedades mecánicas de la resina y reduce la cantidad de monómeros no polimerizados en la matriz polimérica.

2. CEMENTOS DE RESINA

Los cementos de resina aparecieron a principios de 1950, siendo las primeras fórmulas de metil metacrilato, que por su gran contracción de polimerización, tendencia a la irritación pulpar, inclinación a la microfiltración y características de manipulación deficiente tuvieron un uso limitado (Skiner, 1991).

El desarrollo de las resinas compuestas para obturación directa con propiedades mejoradas, la aceptación de una técnica de grabado ácido para adherir la resina al esmalte y moléculas con capacidad de unión a la dentina, favorecieron que el empleo de los cementos de resina se hiciera más popular y nuevas fórmulas fueran creadas.

Los cementos de resina **basan su química en las formulaciones de resinas compuestas**, brindando alta adhesividad a sustratos dentarios, cerámicos y metálicos, previa preparación de estos y con cohesión con sustratos poliméricos (www.encolombia.com/scodb_analisis15.htm). Por sus propiedades, estos polímeros se emplean para la cementación de restauraciones estéticas como coronas e incrustaciones cerámicas o poliméricas, veneers, prótesis adhesiva (Maryland Br.), prótesis fija, postes y núcleos.

Estos cementos constan de una matriz con rellenos inorgánicos que se unen a la matriz por una cubierta con un agente acoplador organosilano. Se les adicionan agentes adhesivos como el HEMA para inducir la unión química al tejido dentario. Las matrices pueden ser de monómeros de diacrilato diluidos en monómeros de baja viscosidad de dimetacrilato (Skiner). Su fórmula está dada por:

2.1. Matriz de la Resina

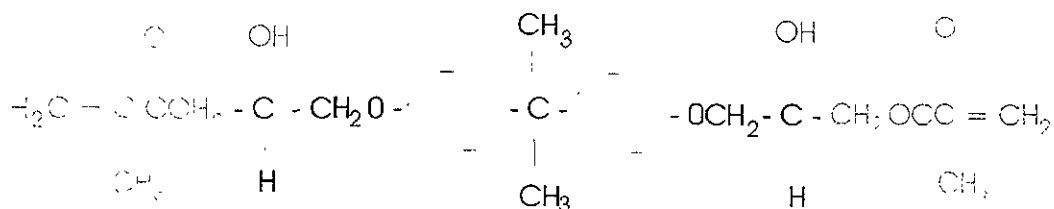
2.1.1. Matriz orgánica (Bis-GMA).

La molécula bis-GMA (o Resina de Bowen), es el monómero de dimetacrilato sintetizado por la reacción entre el bisfenol A y el metacrilato de glicidilo, catalizada por un sistema de peróxido y aminas. Constituida por una molécula híbrida acrílica-epóxica, cuyos grupos reactivos epóxicos (oxiranos) terminales se reemplazan por grupos metacrílicos (O'Brien, 1980).

a) *Núcleo bisfenol A.* 2, 2-bis (p[2'-hidroxi-3'-metacriloxipropoxi]fenil) propano. Núcleo químico presente en plásticos de alta resistencia. El grupo fenólico le confiere resistencia mecánica y rigidéz.

b) *Grupos terminales metacrílicos.* Polimerizables por iniciador y grupos activadores (en rojo).

c) *Grupos hidroxílicos.* (en azul) Inducen la unión por el hidrógeno, haciendo de alta viscosidad el producto.

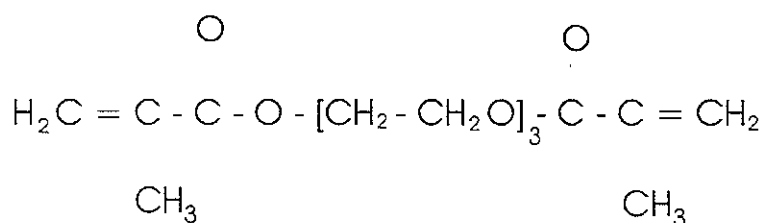


Esquema 2. Representación esquemática de la molécula Bis-GMA

Para disminuir la solubilidad, algunos fabricantes agregan a su fórmula bis-GMA modificado con uretano para añadir fuerza y dureza a la resina. De este modo el desprendimiento de bis-GMA y TEGDMA decrece en 10 veces (Leylanaz, 1999).

2.1.2. Monómeros

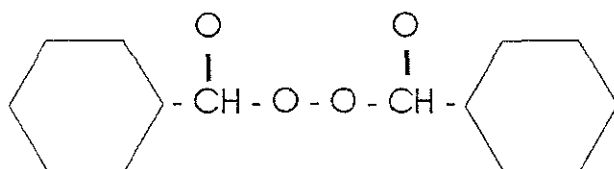
Moléculas de bajo peso molecular, que reducen la viscosidad de la resina no polimerizada y favorecen su unión a los constituyentes inorgánicos. Poseen un coeficiente de dilatación térmica menor, actúan dando dureza y resistencia, menos encogimiento y hacen al producto menos “soluble” al agua. Los más empleados son el dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA, por sus siglas en inglés) y el dimetacrilato de etilenglicol (EGDMA, por sus siglas en inglés) (Vallikanthan, 1997).



Esquema 3. Representación esquemática de la molécula TEGDMA

2.1.3. Iniciadores de Polimerización

Los iniciadores más empleados en la actualidad son el peróxido de benzoilo y aminas terciarias, que generan radicales libres para iniciar químicamente la polimerización.

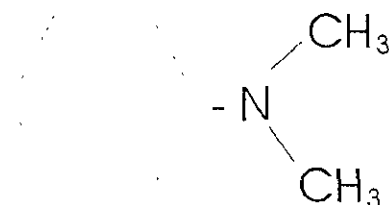


Esquema 4. Representación esquemática del peróxido de benzoilo

Los fotoiniciadores se basan en la generación de radicales libres resultantes de la interacción de luz ultravioleta o luz natural con ciertos compuestos orgánicos. El más común es la canforo-quinona, una alfa-diquetona que absorbe la luz en un rango de 420 - 450 nm, produciendo junto con una amina alifática (4-N,N-dimetilaminofenil alcohol), radicales iónicos que inician la reacción.

2.1.4. Aceleradores de la reacción

Se emplea dimetil p-toluidina y trietilen amina para favorecer que la reacción se lleve a cabo en un menor tiempo (Nayebzadeh et al, 2000).

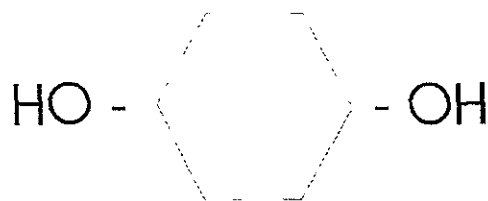


Esquema 5. Representación esquemática de la molécula dimetil p- toluidina

2.1.5. Inhibidores de la Polimerización

Son compuestos que retardan e inhiben la polimerización cuando los componentes de un sistema químicamente activado forman parte de la mezcla. Se emplean para aumentar su vida en conservación y para hacer mayor el tiempo de trabajo al colocarlas antes de que la resina endurezca.

El inhibidor más empleado es el monometil-eter de hidroquinona.



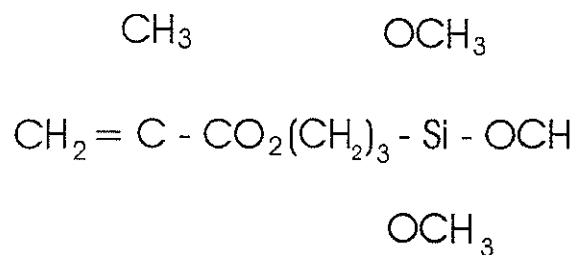
Esquema 6. Representación esquemática de la molécula hidroquinona

2.2. Refuerzo inorgánico

El relleno representa entre un 50 – 84% en peso de la resina. Se emplean partículas molidas de sílice fundido, cuarzo cristalino o vidrio de silicato bórico, silicatos de litio y aluminio, fluoruros de calcio, vidrio de estroncio, vidrio de cinc, ayudando a resistir la deformación de la matriz de resina blanda, reduciendo la contracción por polimerización y aumentando la dureza (Phillips, 1982, Guzmán, 1990).

2. 3. Puente de unión entre fases orgánica e inorgánica.

El agente de unión más común es el metacril-oxi-propil-trimetoxi-silano. Los dobles enlaces de esta molécula permiten fácil unión a los monómeros metacrílicos, mientras que las fracciones reaccionan con el grupo inorgánico, construyendo un puente de unión.



Esquema 7. Representación esquemática de la molécula silano

La matriz y el relleno también tienen una unión de tipo mecánico, ya que las partículas inorgánicas del relleno confirieren una superficie irregular entre la que se introducirá la matriz (García, Giner, 1998).

2. 4. Sistema de adhesión química o específica

A diferencia de las resinas para restauración, en los cementos de resina algunos fabricantes incorporan los mecanismos de unión que se utilizan con los agentes de adhesión dentinaria en sistemas de organofosfatos como el HEMA (hidroximetacrilato de etilo) y 4 META (4 metacriteil trimelítico anhidro) que se unen al calcio dentinario y a la colágena para crear adhesión química a nivel molecular.

3. SOLUBILIDAD DE LAS RESINAS DENTALES

Aunque sus propiedades se ven modificadas por su composición, cantidad de monómeros diluidos y niveles de relleno, los cementos de resina son casi insolubles en líquidos bucales (0.0- 0.01 % *wt*) (Skiner, 1991). Sin embargo estos materiales se ven afectados por la absorción hídrica, que implica la penetración de las moléculas de agua en el polímero. Esta absorción es favorecida por las porosidades y fisuras de la resina (mayor cuanto más relleno) y constituye un factor de degradación del composite en los fluidos bucales. La degradación hidrotérmica puede hidrolizar el enlace silánico a mediano plazo, acentuando los fenómenos de descohesión entre las fases mineral y orgánica (Roth, 1994).

4. Toxicidad de las resinas

Por ser consideradas como biomateriales, a las resinas con Bis-GMA se les emplea en áreas de la salud humana como lentes de contacto, cementos en cirugía traumática, materiales de relleno y restauraciones dentales que requieren manipulación extensa y polimerización en sitio.

Las resinas metacrílicas son sintetizadas mediante reacciones entre químicos individuales, resultando en polímeros con características fisicoquímicas particulares.

Aunque en pocos casos, con el uso de las resinas dentales, existe evidencia de dermatitis, dermatosis, induración, parestesia, faringitis, bronco constricción, eritema, prurito, vesículas intra bucal y eritema en piel, demostrado al practicar pruebas alérgicas con las resinas que contienen bis-GMA. También hay reportes de quemaduras en boca, edema, vesículas intra bucales y reacciones ampollares en cara, oídos, labios, urticaria en todo el cuerpo y rash en piel observados en pacientes después del tratamiento dental con estos materiales (Katayoun, 1997; Lloyd, 1997).

Estudios de biocompatibilidad practicados a las resinas dentales han dejado de manifiesto que éstas pueden provocar daño tanto por su toxicidad, como por su potencial para generar respuesta inmune (Jontell, 1995). A nivel celular las resinas y sus monómeros influyen en la viabilidad celular y las reacciones inflamatorias.

Las propiedades físicas y biológicas (compatibilidad celular y tisular local y sistémica) están fuertemente influenciadas por el grado de conversión de los componentes poliméricos de la fórmula, que los estudios valoran entre el 35 y el 77% (Wataha, 1994).

Desde un punto de vista toxicológico, las resinas dentales pueden desprender oligómeros, monómeros, precursores de polímeros sintéticos y moléculas de bajo peso molecular de cadenas poliméricas durante el proceso de colocación o bien como degradación del material ya polimerizado (proporcional al grado de conversión). El daño a los tejidos por toxicidad de los componentes de las resinas está dado en función de su concentración y por su potencial citotóxico, ya que estos compuestos orgánicos pueden reaccionar con moléculas biológicamente importantes como el ADN (Jontell, 1995; Pulgar, 2000).

Este desprendimiento de componentes (por lixiviación) y erosión de la superficie de la resina se ve favorecido por condiciones como el pH (alcalino), hidrólisis, acción de enzimas presentes en la saliva, esterasas tisulares y bacterianas (Hanks, 1991), los diferentes monómeros que constituyen la matriz, el grado de conversión de los monómeros en polímero y el tiempo de almacenaje del producto (Örtengren, 2001).

Enzimas sintetizadas por los macrófagos (esterasas) en sitios de inflamación, como bolsas periodontales pueden degradar la matriz de resina hidrolizando los enlaces ester de la fórmula, favoreciendo así su degradación y el desprendimiento de más componentes de la resina (Leylanaz, 1999).

Cuando las resinas dentales son sometidas a pruebas de solubilidad con solventes orgánicos (como el metanol), es posible identificar cada uno de los componentes monoméricos y varios de los aditivos, además de contaminantes

resultantes del proceso de fabricación. Las cantidades varían dependiendo de la marca del producto aún siendo de similar composición.

En agua, aunque la solubilidad es menor, es posible identificar algunos de los componentes de la muestra de resina, especialmente concentraciones considerables de TEGDMA (que es altamente soluble al agua y se difunde con facilidad en resinas con relleno inorgánico) y concentraciones menores del monómero de bis-GMA, así mismo pueden crearse sustancias por degradación hidrolítica o enzimática, como el formaldehído (asociado a la oxidación de los grupos metacrilato), que pudieran ser responsables de efectos alérgicos o adversos (Spahl, 1998).

Como consecuencia de la interacción entre las resinas y el medio bucal, se ha demostrado la presencia de bisfenol A y bis-GMA en muestras de saliva en pacientes 1 hora después del tratamiento dental.

El bis-GMA puede producir depresión en la síntesis de ADN a una concentración de 0.5 y 5 $\mu\text{M/L}$ a las ocho horas en cultivos celulares, aumentando su efecto nocivo conforme transcurre el tiempo, pudiendo llegar a la muerte celular por disminución e inhibición en la síntesis de proteínas y ADN (Wataha et al, 1994).

El bisfenol A, núcleo precursor de la molécula bis-GMA, se puede formar por almacén de saliva, pH extremo, acción enzimática de la saliva y esterasas salivales y bacterianas que hidrolizan al bis-DMA generado como subproducto en la polimerización de la resina. Esta molécula aduce al ADN y puede enmascarar los receptores de estrógeno, mimetizándose con el 17β -estradiol (Pulgar, 2000). Este efecto estrogénico puede acarrear efectos adversos como cáncer mamario y caída de la cuenta espermática a concentraciones significativas (Sharpe, Skakkebaek, 1993).

Los compuestos TEGDMA, metacrilato de hidroxietil (HEMA), metacrilato de bis-glicidilo (bis-GMA), peróxido de benzoilo y metacrilato de metilo (MMA) son componentes de las resinas de uso dental relacionados con reacciones alérgicas en personal odontológico y pacientes al ser liberados de la matriz y entrar al organismo a través de la piel, mucosa oral y gastrointestinal, dentina y pulpa (Munksgaard, 1992).

Se ha observado que los monómeros de bajo peso molecular como TEGDMA y HEMA atraviesan los guantes de látex y en los fluidos corporales se difunden fácilmente por ser más solubles. Al estudiar la carcinogenicidad del TEGDMA a la exposición dérmica en ratas, se le ha encontrado causante de linfomas, por la propiedad mutagénica de los esteres de acrilato al aducir al ADN (Schweickl, Schmalz, 1999). Este efecto mutagénico se ha observado incluso en concentraciones sub tóxicas del material, cuya dosis letal media determinada en fibroblastos humanos es de 0.80mg ml^{-1} (Spahl, 1998).

En la boca, el TEGDMA puede favorecer el crecimiento bacteriano como sustrato para microorganismos degradadores de polietilén glicol (Hansel, 1998) en el margen de las cavidades para restauración, con la subsecuente producción de sustancias microbianas citotóxicas (Spahl et al, 1998).

El peróxido de benzoilo tiene la propiedad de convertir los ácidos grasos poli-insaturados y fosfolípidos en peróxidos. Esta cualidad le confiere efectos sobre las membranas biológicas. La misma propiedad la tienen el etanol, metil metacrilato, etilen glicol dimetacrilato, trietilen glicol dimetacrilato (que se une a los liposomas) y bis-glicidil metacrilato. En teoría, estas reacciones se dan en la membrana celular, permitiendo que la permeabilidad se incremente para las sustancias tóxicas, que inhiben la síntesis proteica y de ADN (Hanks, 1991). Inhalado, el peróxido de benzoilo puede causar irritación de la mucosa respiratoria a concentraciones mayores a 5 mg/m^3 .

La toxicidad de las resinas de uso dental también está dada por los componentes inorgánicos de la matriz de relleno. Los efectos en la salud atribuidos a la exposición a los cristales de sílice van desde fibrosis pulmonar hasta silicosis nodular cuando se está expuesto por largos periodos (Nayebzadeh et al, 2000)

La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) considera que existe suficiente evidencia sobre la carcinogenicidad en humanos del sílice cristalino cuando es inhalado en forma de cuarzo y cristobalita, por lo que supone un riesgo al personal odontológico cuando se emplean resinas con cuarzo como material de relleno, especialmente por la exposición en la etapa de ajuste, recortado y pulido de la restauración (IARC, 1997).

A nivel dental, algunos componentes de las resinas monoméricas (composites) resultan de gran toxicidad para los fibroblastos y pueden interferir en el sistema inmune local de la pulpa dental, reduciendo su potencial defensivo a causa de su citotoxicidad.

Está comprobado que la dentina no es una barrera contra la difusión de sustancias antigénicas hacia la pulpa. En este caso, se cree que los residuos de resina no polimerizados pueden alcanzar concentraciones suficientes para inducir reacciones inmunopatológicas en las primeras horas después de haber sido colocadas, pues afectan a los fibroblastos y tienen una acción directa sobre células inmunocompetentes, pudiendo generar inflamación e incluso necrosis de la pulpa dental (Hanks y col). 1991).

El Dimetacrilato de uretano (UDMA), metacrilato de glicidilo (GMA), dimetacrilato de trietilen glicol (TEGDMA), bisfenol A (BPA), N,N-dihidroxietilen-p-toluidina (DHEpT) son componentes de estas resinas capaces de provocar inmunosupresión e inmunoestimulación, especialmente en residuos no polimerizados del material (Jontell y cols, 1995).

El dimetil p- toluidina puede ser tóxico si es ingerido o expuesto continuamente a la superficie de la piel, aunque aparentemente las concentraciones en las resinas de uso odontológico son bajas para este efecto.

La hidroquinona puede causar irritación y ulceración corneal y lagrimal.

Los estudios realizados en modelos animales dejan claro que la implantación de composites en tejidos blandos puede acarrear una inflamación crónica persistente.

En estas pruebas los resultados mostraron siempre infiltrado de leucocitos polimorfonucleares, seguido de la formación de una cápsula de fibrina e infiltrado crónico de linfocitos y macrófagos, independientemente del estado de polimerización del material, la técnica de implantación y el tamaño y forma de la muestra (Vallikanthan, 1997).

D. Consideraciones sobre biocompatibilidad

Al momento de elegir un material restaurador en odontología, debemos tener presente, además de sus propiedades físicas, aspectos de biocompatibilidad, ya que en presencia del material pueden desencadenarse reacciones locales o sistémicas.

Un biomaterial es aquel material no biológico destinado a interactuar con el medio biológico (Barreiro). Un material que es idealmente biocompatible induce una respuesta adecuada en su interacción con el medio biológico en el que se encuentra, pero puede ser afectado por el medio modificando su composición.

Los materiales de uso odontológico pueden ser inertes y no provocar ningún tipo de reacción, pueden tener un efecto benéfico como inducir la formación de dentina de reparación o bien, tener un efecto tóxico.

Las reacciones que pueden ocurrir entre los materiales dentales y el medio biológico son:

- **Sensibilidad postoperatoria**
- **Desgaste**
- **Reacciones alérgicas e hipersensibilidad**
- **Corrosión**
- **Toxicidad**

Es importante siempre que se estudie la biocompatibilidad de los materiales de restauración, tener en cuenta los principios biomecánicos a los que son sometidos. Cuando un material sufre corrosión, éste reacciona con el medio y libera productos que pueden afectar a los tejidos circundantes o producir efectos adversos sistémicos.

1. Norma no. 41 de la Asociación Dental Americana

Las recomendaciones para la práctica de evaluaciones biológicas de los materiales dentales se establecen en el documento No. 41 de la A.D.A., efectivo desde octubre de 1980, publicado en el Journal of the American Dental Association, 1979, actualmente vigente.

En el documento se incluye una lista con una serie de pruebas necesarias para sentar la atoxicidad de los materiales. No todas las pruebas son requeridas para cada material.

Productos y materiales existentes en el mercado, similares a los contenidos en la lista de Materiales Dentales Clasificados de la A.D.A. que han sido empleados por años sin reportar problemas o quejas no requieren ser re-evaluados. Sólo si los ingredientes son modificados en una dirección desconocida o si uno de los componentes originales es variado en su concentración en más de un 5%, ésta será necesaria.

a. Clasificación y campo de acción.

La A.D.A. clasifica los materiales de restauración dental con base en su campo de acción, como sigue:

Tipo I. Materiales de Restauración.

- Clase 1. Materiales metálicos
- Clase 2. Materiales no metálicos
- Clase 3. Forros cavitarios y bases
- Clase 4. Cementos
 - 4a. Fosfato de cinc
 - 4b. ZOE y EBA

4c. Policarboxilato

4d. Silico-fosfato

4e. Resinas

Clase 5. Selladores

Clase 6. Pre-tratamiento de esmalte y/o dentina

Clase 7. Recubrimientos para superficies externas de restauraciones

Tipo II. Materiales protésicos

Clase 1. Materiales de impresión

Clase 2. Ceras

Clase 3. Materiales de aplicación protésica

Clase 4. Implantes

Clase 5. Protectores bucales

Tipo III. Materiales de endodoncia

Clase 1. Materiales para pulpotomía

Clase 2. Materiales para obturación de conductos

Tipo IV. Materiales Periodontales

Clase 1. Empaques y revestimientos

Clase 2. Desensibilizadores

Tipo V. Materiales de Ortodoncia

Clase 1. Metales y soldaduras

Clase 2. Materiales de resina

Tipo VI. Materiales misceláneos en contacto con partes del cuerpo además de la cavidad bucal por manipulación, ingestión accidental e inhalación.

Clase 1. Materiales de revestimiento

Clase 2. Materiales que contienen asbesto

Clase 3. Metales de baja fusión para soldaduras y flux.

Clase 4. Materiales de electropulido

Clase 5. Materiales muertos

Clase 6. Agentes de limpieza y pulido.

b. Especificaciones Aplicables.

Se indican los documentos que clasifican y caracterizan a los materiales por su tipo y clase.

c. Requerimientos

Toxicidad. Los materiales deben ser evaluados mediante los procedimientos indicados en la tabla 1 y deben cumplir con los límites de aceptación dados para cada prueba.

Tabla 1. Procedimientos de Evaluación

Pruebas Iniciales	Pruebas Secundarias	Pruebas patrón preclínicas
<ul style="list-style-type: none"> • Citotoxicidad • Hemólisis • Ames • Styles`transformación celular • LD 50 Oral • IP-LD50 • Prueba de inhalación aguda 	<ul style="list-style-type: none"> • Prueba de irritación de membrana mucosa • Toxicidad dérmica por exposiciones repetidas • Implantación subcutánea en cerdos de guinea • Sensibilización (cerdos de guinea) 	<ul style="list-style-type: none"> • Irritación pulpar • Cubrimiento pulpar (con pulpotomía) • Prueba con uso de endodoncia • Implante dental

Precauciones. Materiales de cierto tipo y clase deben contener en su etiqueta indicaciones de precaución respecto al contenido de la fórmula.

d. Procedimientos de Muestreo, Inspección y Pruebas.

Frecuencia de las pruebas.

Las pruebas no se aplicarán a materiales existentes que han sido seguros desde antes de la publicación de la norma, salvo si uno de sus componentes cambia en una concentración mayor del 5%.

Muestreo

Las muestras empleadas para realizar las pruebas deben tomarse de la producción comercial normal si es posible. No deben tener más de un año al momento de iniciar los procedimientos. Los productos para pruebas deben prepararse de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

Inspección.

Debe haber una inspección visual para determinar que se acaten los requerimientos señalados.

Para este estudio se siguió el protocolo indicado para **implantación subcutánea en cerdos de Guinea** (que se aplica detalladamente en la metodología), sustituyendo al modelo experimental por ratas Wistar, debido a que representan un menor costo y son más fáciles de manipular.

Las ratas son un modelo ideal para la práctica de pruebas biológicas porque son fáciles de manejar, implican un menor costo, se reproducen con facilidad, son muy tranquilas y han sido empleadas por muchos años con resultados satisfactorios.

Entre las distintas cepas de ratas de laboratorio se encuentra la **Sprague-Dawley**, que crece rápidamente y es muy prolífica. No es tan resistente a infecciones como la Wistar y suele ser susceptible a padecimientos respiratorios.

La cepa **Long-Evans** es la de menor tamaño, es blanca y tiene una línea negra dibujada en la espalda que remata con una cabeza y cuello negros.

La rata cepa **Wistar** es muy resistente a las infecciones y tiene una menor incidencia a presentar tumores espontáneos.

Las ratas de laboratorio pueden llegar a vivir hasta tres años en virtud de una buena salud, pero son propensas a presentar enfermedades respiratorias crónicas. En el laboratorio se mantienen a una temperatura de entre 20 y 25 °C con una humedad del 50-65% (Hume, C W, 1979).

E. Estadística

La estadística es una ciencia que trata de la recolección, análisis, interpretación y representación de datos numéricos (Pastor, 1998).

La estadística inferencial proporciona técnicas que permiten hacer predicciones a partir de datos conocidos u obtener información acerca de una población conociendo sólo algunos representantes de ella.

El objetivo de la inferencia estadística es obtener conclusiones acerca de una población usando una muestra de la misma.

Una técnica de inferencia estadística llamada prueba de hipótesis (o pruebas de significación) puede ayudar a comparar dos resultados sobre bases objetivas, proporcionando una medida de riesgos asociados de llegar a una conclusión equivocada (Montgomery, 1991).

La estructura probabilística de una variable aleatoria puede ser descrita por su distribución de probabilidad, la cual a su vez puede ser resumida mediante dos estadísticos, la media o promedio de una distribución de probabilidades es una medida de su tendencia central o localización, mientras que su extensión o dispersión es comúnmente estimada por medio de la varianza.

Los experimentos de comparación simples se usan para comparar dos condiciones, llamadas tratamientos. Una estadística se define como cualquier función de las observaciones de una muestra que no contenga parámetros desconocidos.

Una hipótesis estadística es una afirmación acerca de los parámetros de una población. Por ejemplo, la afirmación $H_0: \mu_1 = \mu_2$ (i.e. la hipótesis nula es que el promedio del grupo uno es igual al promedio del grupo 2) se conoce como hipótesis nula, mientras que la hipótesis contra la que se compara se conoce como alternativa (Montgomery 1991).

La aplicación de la estadística refuerza los datos obtenidos en los experimentos y permite determinar patrones de comportamiento de los fenómenos que se estudian.

F. Planteamiento del problema

Algunos materiales empleados por el cirujano Dentista en su practica diaria, como los cementos de resina dual, pueden llegar a generar reacciones en los tejidos circundantes como la mucosa o la piel por la falta de precaución para protegerlos. Es por ello que muchos pacientes se quejan de la aparición de lesiones inflamatorias o de tipo ulcerativas y vesiculares posteriores al tratamiento dental. A esto se suma el hecho de que productos de nueva creación o formulación nacionales o de importación sean introducidos al mercado sin antes realizarles pruebas de toxicidad y biocompatibilidad.

G. Justificación del estudio

El cemento de resina dual de la marca MEDENTAL es un material nuevo que no ha sido probado aún en el mercado mexicano como las normas internacionales señalan para su introducción a la práctica odontológica nacional.

Es un hecho bien conocido que los componentes de este producto, como los polímeros de Bis-GMA causan reacciones sobre función celular, y siendo que el producto no entra dentro de los criterios de exclusión para la aplicación de pruebas de toxicidad indicadas en la norma 41 de la A.D.A., es importante que sea sometido a esta evaluación.

Este estudio trata de exponer cuáles son los efectos que causa la implantación del cemento de resina dual MEDENTAL cuando entra en contacto con las mucosas y/o la piel. Experimentalmente las reacciones se estudiaron en el tejido subdérmico de especímenes vivos durante diferentes periodos de tiempo, para valorar la intensidad de la respuesta generada por el material en función del tiempo y poder entender cual es el comportamiento de los tejidos al estar en contacto con el material.

H. Objetivo General

Valorar la respuesta biológica que genere el cemento dual MEDENTAL sobre los tejidos blandos mediante pruebas de tolerancia y biocompatibilidad.

Objetivos Específicos

Preparar modelos experimentales para realizar las pruebas de biocompatibilidad a los cementos de resina dual MEDENTAL.

Valorar clínicamente la respuesta generada en el animal por el material a distintos intervalos de tiempo.

Valorar a diferentes intervalos de tiempo la respuesta celular del tejido, generada por el material implantado en el modelo experimental.

I. Hipótesis

Los cementos de composite MEDENTAL generarán una respuesta al interactuar con los tejidos blandos, proporcional a su factor de conversión, respuesta que será menor conforme transcurra el tiempo una vez implantados.

III. Materiales y Metodología

1. Equipo, material e instrumental

Para este estudio se contará con infraestructura del Laboratorio de Patología Clínica y Experimental y del Bioterio de la DEPEl de la FO UNAM.

Equipo: Histokinette (marca Leica), dispensador de parafina, microtomo (Leica), afilador de cuchillas, cuchillas reafilables, tina de flotación, plancha, incubadora, fotomicroscopio Axiophot marca Zeiss, batería y canastillas para tinción, rasuradora con navaja para pelo fino marca Oster.

Cristalería: Matraces, probetas, pipetas, embudos, porta y cubreobjetos.

Soluciones y reactivos: Formaldehído al 10%, cloroformo, etanol, alcohol, xileno, acetona, solución de Scott, hematoxilina de Harris, eosina, resina, solución aséptica Dermocline.

Materiales consumibles: Parafina, cassettes de inclusión.

Medicamentos: Anestésicos Propiopil prozamina (Combelen) y Ketamina (Imalgen)

Instrumental: Mango para bisturí # 3, hojas para bisturí # 15, legra tipo Hopkins, estuche de cirugía.

Materiales de estudio: cemento de resina dual (composite) marca MEdENTAL, con número de lote 00072002.

Criterios de Inclusión (Material de estudio)

Muestras de cemento de resina dual composite MEDENTAL de 2x2x1mm, lote 00072002.

Criterios de exclusión (Material de estudio)

Cementos de resina de marca distinta a MEDENTAL, muestras mayores o menores de resina.

Modelos Experimentales (Recursos Biológicos)

20 ratas cepa Wistar, adultas, de aproximadamente 300 gramos de peso corporal, sanas, observadas por un periodo de 16 días antes de la intervención.

Criterios de Inclusión

Ratas cepa Wistar sanas, de 300g (+/- 25) de peso.

Criterios de Exclusión

Ratas con signos de patología local o sistémica detectados durante el periodo de observación.

Ratas con peso menor a 275 g al momento de realizar las pruebas.

2. Método

Este estudio se realizó teniendo como modelo experimental ratas cepa Wistar, hembras, adultas (300 g de peso), sanas, que estuvieron bajo observación y no presentaron signos de patología sistémica o local (fig. 1).

Las ratas fueron clasificadas en cuatro grupos de cinco especímenes en los que se llevaron a cabo pruebas de tolerancia, biocompatibilidad y atoxicidad a los cementos de composite MEDENTAL. A las ratas de los cuatro grupos se les implantó el material en el tejido subcutáneo del abdomen, para observar su respuesta en 7, 14, 21 y 28 días respectivamente, tiempo que fueron observados para valorar su evolución clínica. Cumplido el término, los animales se sacrificaron por medio de inhalación prolongada de cloroformo, para analizar histopatológicamente la respuesta del tejido. Posteriormente se tomaron muestras de tejido blando para su estudio y determinación de la respuesta inflamatoria.

Definición de Grupos

Grupo I a 7 días

Grupo I A: Cemento de resina (composite).

Grupo I B: Control negativo.

Grupo II a 14 días

Grupo II A: Cemento de resina.

Grupo II B: Control negativo.

Grupo III a 21 días

Grupo III A: Cemento de resina,

Grupo III B: Control negativo.

Grupo IV a 28 días

Grupo IV A: Cemento de resina.

Grupo IV B: Control negativo

a) Procedimiento

Para realizar cualquier procedimiento quirúrgico menor en animales, es necesario contar con el respaldo de la anestesia. Las ratas fueron sedadas con una dosis de 0.5 x 1.0 mg/Kg. de peso de propiopil prozamina (Combelen) y 100 mg/Kg. de peso corporal de Ketamina.

Se procedió a preparar la zona quirúrgica rasurando y limpiando con solución aséptica (dermocline) el área de implantación. Se practicaron dos incisiones separadas en la piel, con profundidad en el tejido subcutáneo y separadas por una distancia de 1.5 cm (fig. 2). Se disecó el tejido y se implantaron las muestras. Estas consistieron de: (A) cemento de resina (composite), a la derecha. (B) La incisión de la izquierda sirvió como control negativo (fig. 3) mediante el cual observamos la respuesta inflamatoria causada por la incisión, debridación y la sutura, así como el proceso de cicatrización tanto clínica como histopatológicamente (fig. 4).

La piel se suturó con puntos aislados y se le aplicó solución antiséptica (fig. 5). Las ratas fueron revisadas constantemente para verificar cualquier dato en su evolución.



Figura 1. Rata cepa Wistar hembra adulta, de 300 g de peso, sana, previo a la sedación.



Figura 2. Ya anestesiada, se rasura el abdomen de la rata, se limpia con una solución antiséptica y se realizan dos incisiones con profundidad hasta tejido celular subcutáneo.

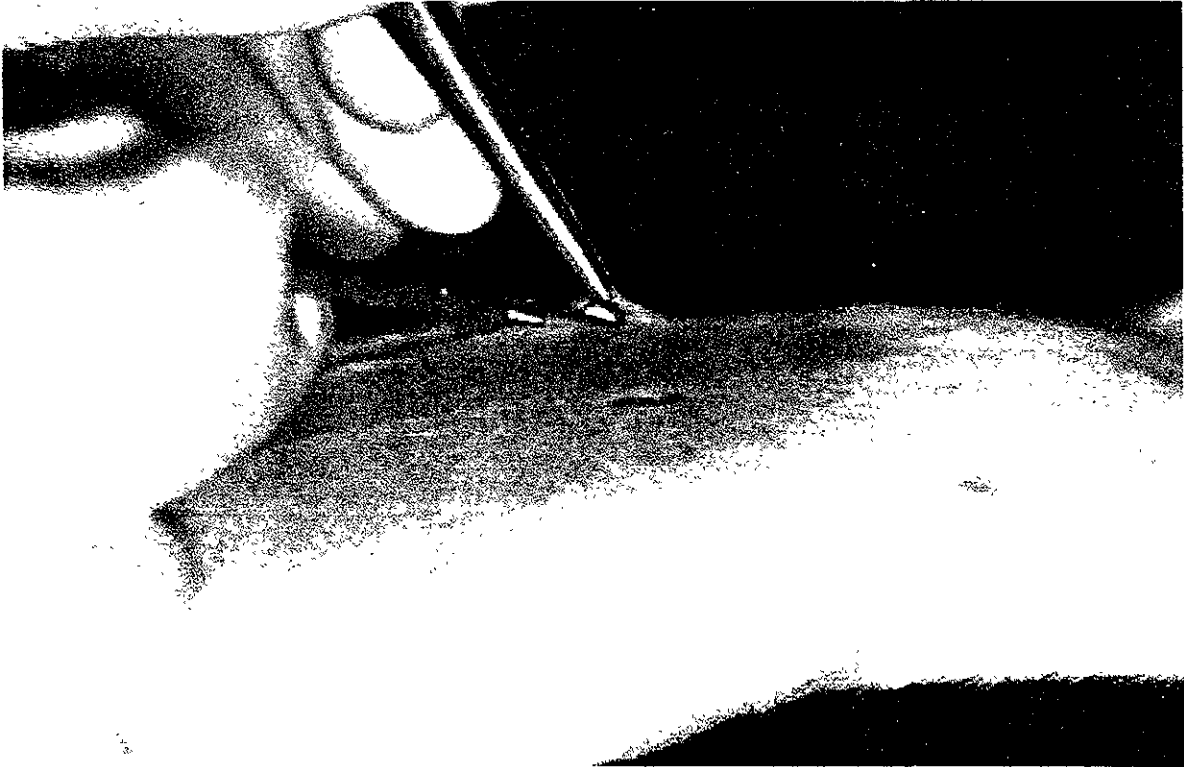


Figura 3. Implantación del material según se estableció para el estudio. El material es introducido por debajo de la dermis en la incisión del lado derecho. El lado izquierdo se empleó como control negativo al incidir y debridar sin implantar material.

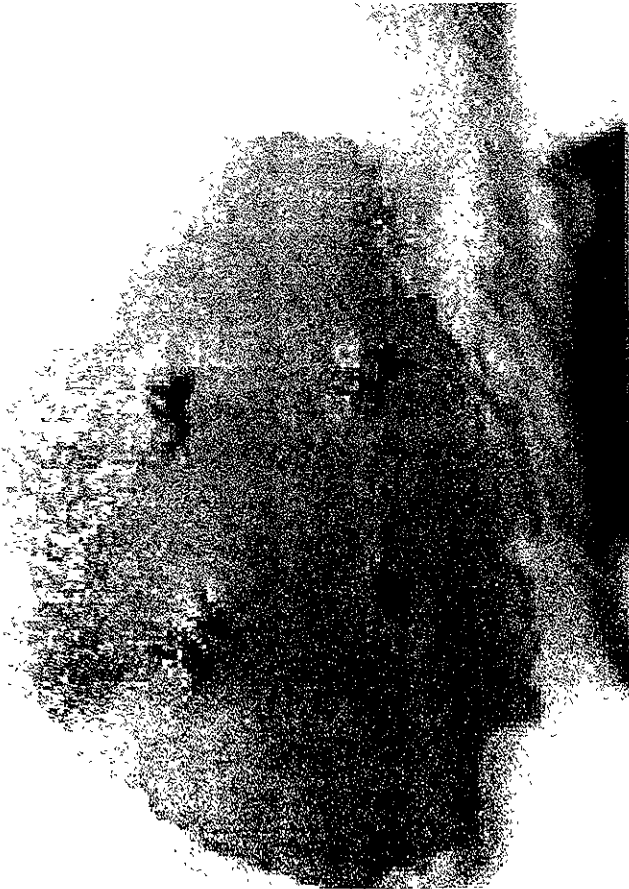


Figura 4. Se suturó con seda negra 000 y se limpió con dermoclina.



Figura 5. Se evaluó a diferentes intervalos de tiempo (7, 14, 21 y 28 días) la respuesta clínica al material implantado y al sitio control.

Cumplido el termino para cada grupo, los animales fueron sacrificados para tomar la muestra del tejido del área de implantación. Esto se hizo con la ayuda de una sutura que atravesó la piel, pasando por debajo de la muestra del material implantado para retraer el tejido y hacer una incisión ojival que circundara la lesión con un margen de 1 cm.

Las muestras se fijaron inmediatamente en una solución de formalina al 10% durante 24 horas y fueron procesadas en forma automatizada (deshidratadas, clarificadas, embebidas en parafina) en el Histokinette. Se incluyeron en parafina, se cortaron y montaron cinco laminillas por muestra para hacer la tinción con hematoxilina y eosina (H y E) de las laminillas 1, 3 y 5 y ser observadas al microscopio fotónico para hacer los análisis cualitativo y cuantitativo de la respuesta inflamatoria.

Antes de hacer los cortes al tejido las muestras del material (resina) fueron retiradas de manera cuidadosa procurando no dañar al tejido para facilitar los microcortes.

b) Criterios para evaluar la respuesta biológica (A.D.A., 1979):

Para la implantación subcutánea en cerdos de Guinea, se debe observar la respuesta generada en el tejido entre el material de estudio y el tejido conectivo en busca de necrosis o inflamación. La inflamación se valorará por su intensidad y la extensión abarcada y se deben observar los cambios que pueda reportar el material.

La severidad de la respuesta inflamatoria se debe basar en el número, tipo y localización de las células inflamatorias.

c) Parámetros para establecer el grado de respuesta inflamatoria (Goodman, 1990):

Inflamación leve: Se observa infiltrado inflamatorio crónico escaso diseminado.

Inflamación moderada: Infiltrado inflamatorio crónico con distribución focal.

Inflamación severa: La totalidad del tejido se encuentra reemplazado por infiltrado inflamatorio.

Inflamación crónica: Reacción predominantemente proliferativa, caracterizada por acumulación de leucocitos, principalmente macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.

Inflamación granulomatosa: Reacción de tipo crónico con predominio de células gigantes multinucleadas a cuerpo extraño.

Recursos Físicos

La investigación fue realizada en la División de Estudios de Postgrado e Investigación (DEPeI) de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los animales se albergaron, operaron y sacrificaron en el Bioterio de este plantel y las muestras biológicas fueron procesadas en el Laboratorio de Patología Clínica y Experimental.

Recursos Financieros

Industria privada.

Variables Dependientes

Manifestaciones clínicas

Respuesta tisular

Variables Independientes

Cemento de resina, marca MEDENTAL.

Análisis Estadístico

T Students, pruebas F, prueba t.

Diseño del Estudio

Experimental transversal cualitativo y cuantitativo.

IV. Resultados

1. Respuesta clínica

Los animales fueron evaluados clínicamente durante todo el periodo de espera previo al sacrificio. En todos los grupos fue evidente una reacción inflamatoria a las pocas horas después de la intervención, porque se produjo un aumento de volumen de 2.5 a 3.5 mm por encima de la superficie cutánea y de 3-4 mm alrededor de la incisión. El volumen disminuyó conforme transcurrieron los días, siendo más evidente en las primeras 24 horas.

Para los días 10 y 12 del grupo 2 se halló que el material había sido expulsado del organismo en dos de los animales respectivamente, dando paso a la cicatrización. En ninguno de los animales se encontró exudado o signos de infección.

Sucedió lo mismo en un animal del grupo 4, cuando se encontró evidencia de cicatrización por la expulsión de la muestra de resina a los 21 días después de haber sido implantada.

Con respecto a los grupos control, todos los especímenes del grupo II (14 días) presentaron una excelente recuperación y su cicatrización fue completa, por lo que no se contó con muestras para su estudio. Lo mismo sucedió con 2 de los animales del grupo III (21 días). En este caso, los controles para el grupo cuentan con sólo 3 muestras.

2. Resultados histológicos

El establecimiento del nivel de repuesta inflamatoria en nuestros grupos mostró la presencia de un proceso inflamatorio de tipo crónico persistente. A una semana de la fecha de implantación de la resina (grupo IV), esta provocó lisis celular y desorganización del estroma. Se halló infiltrado linfocítico severo, presencia abundante de pirocitos y focos localizados de fibrina formando micro abscesos (fig. 6). Se observaron macrófagos y fibroblastos organizados alrededor del material implantado. Es importante hacer notar que en nuestra observación encontramos múltiples fragmentos de la resina dispersos en el tejido inflamatorio (fig. 7).

A la segunda semana (grupo II) se hizo evidente la formación de una cápsula fibrosa circundando al material implantado, con la presencia de fibras colágenas bien organizadas y células plasmáticas. El nivel de macrófagos y linfocitos se mantuvo aparentemente constante (fig. 8). En esta etapa se incrementó la presencia de neoformaciones vasculares. Los restos multi-fragmentados de la resina se pueden explicar por la acción enzimática de las células inflamatorias, el nivel de humedad y el grado de conversión de los componentes de la fórmula en polímeros (Fig. 9).

Para la tercera semana (grupo III) proliferaron células gigantes multinucleadas, el material estaba rodeado por células epitelioides en las porciones fragmentadas. La cápsula fibrosa está ya bien constituida y en el tejido encontramos infiltrado linfocítico en la periferia (fig. 10 y 11).

Para la cuarta semana (grupo IV) los fibroblastos y las células epiteliales tenían un arreglo más denso, la actividad fagocítica disminuyó por la acción de las CGMN.

Los tipos celulares observados en los grupos anteriores disminuyeron, pero aumentaron en presencia las de tipo inflamatorio crónico como células gigantes multinucleadas y epitelioides (fig. 12 y 13).

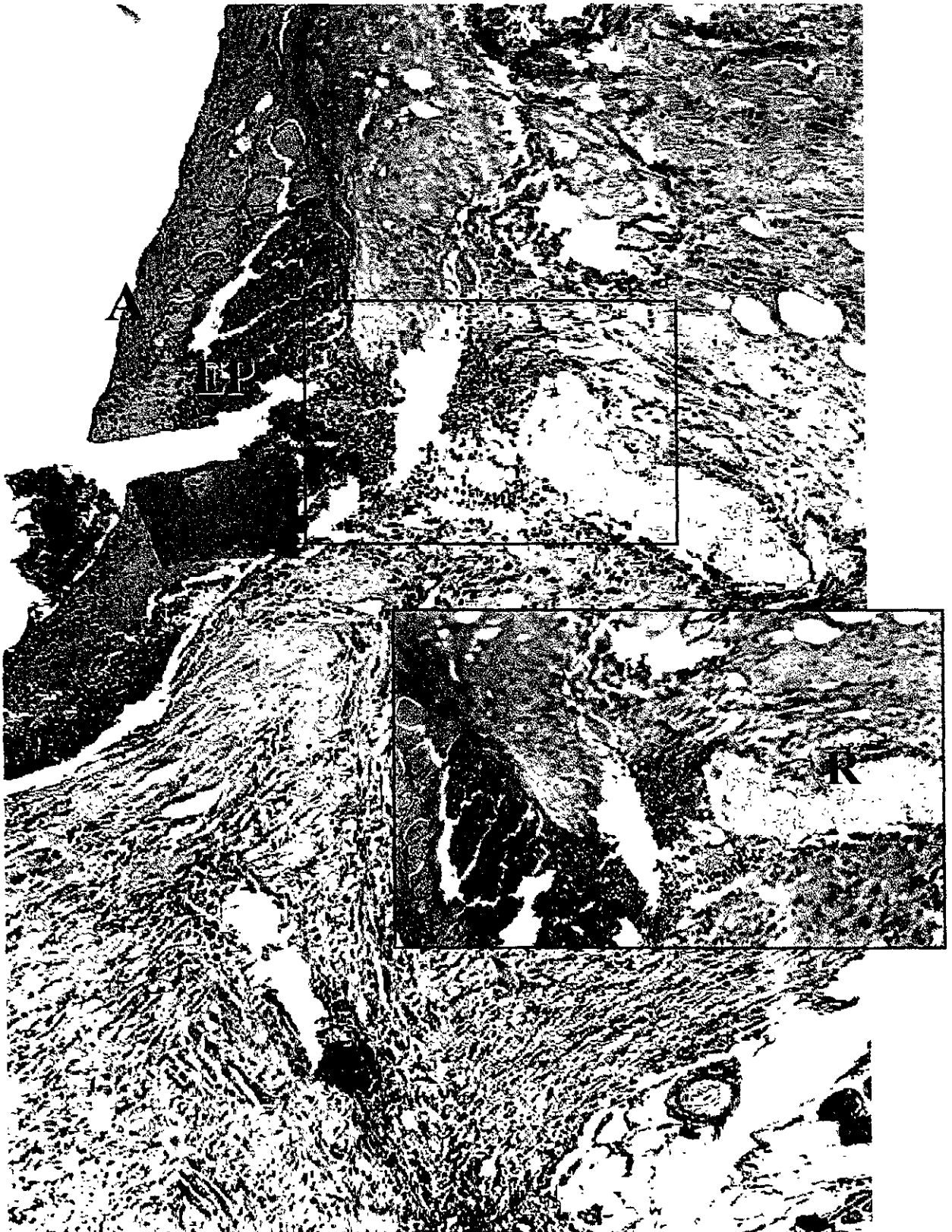


Figura 6. Fotomicrografía a 10x de un corte histológico con la tinción H/E donde se aprecia la formación de un absceso (A) como resultado de la respuesta inflamatoria a los 7 días. Se aprecia claramente el exudado purulento (EP).

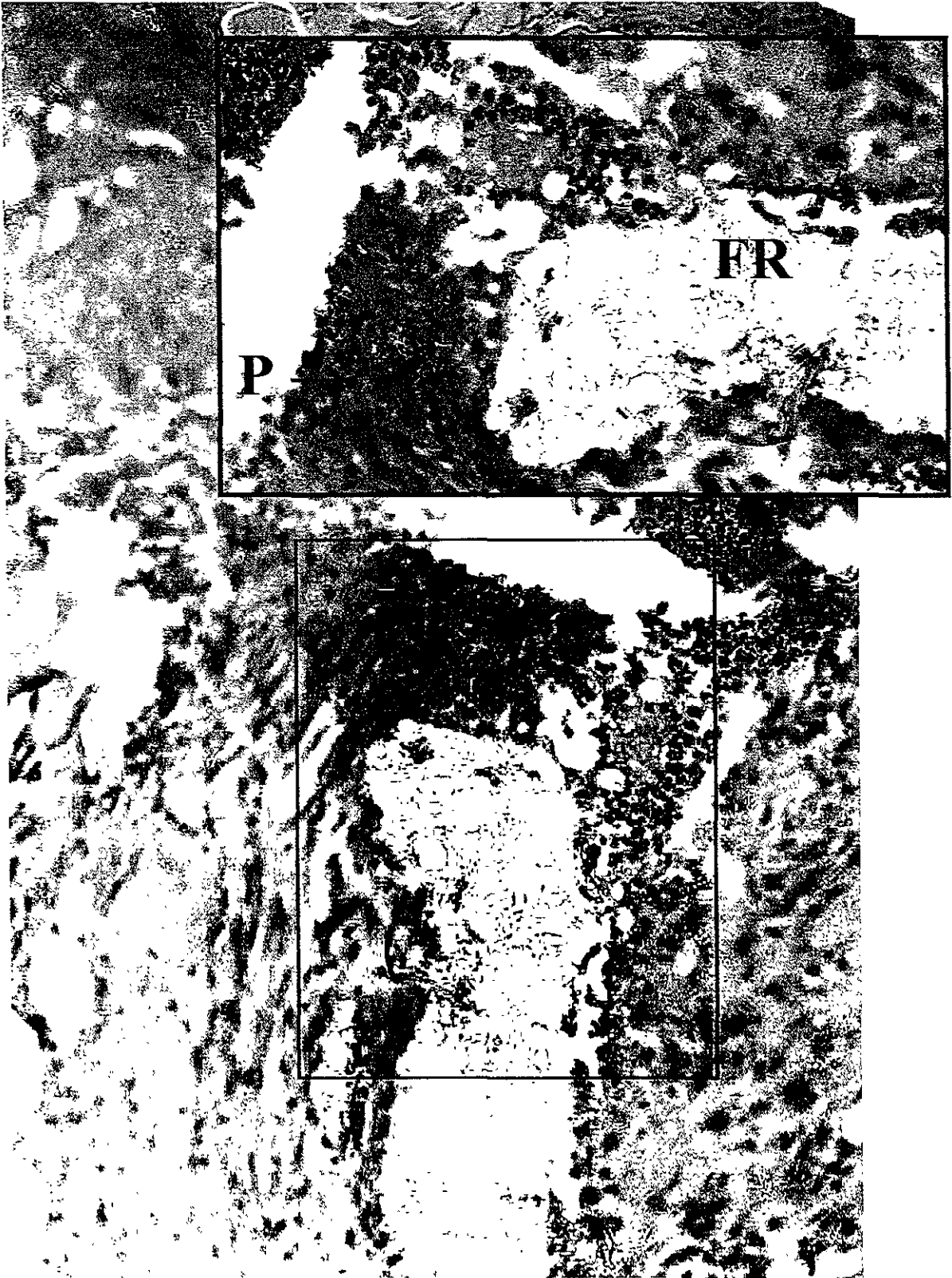


Figura 7. Acercamiento de la fotografía anterior donde se puede ver con mayor claridad el exudado purulento (EP) caracterizado por la presencia de pocios (P) rodeando fragmentos de la resina (FR).

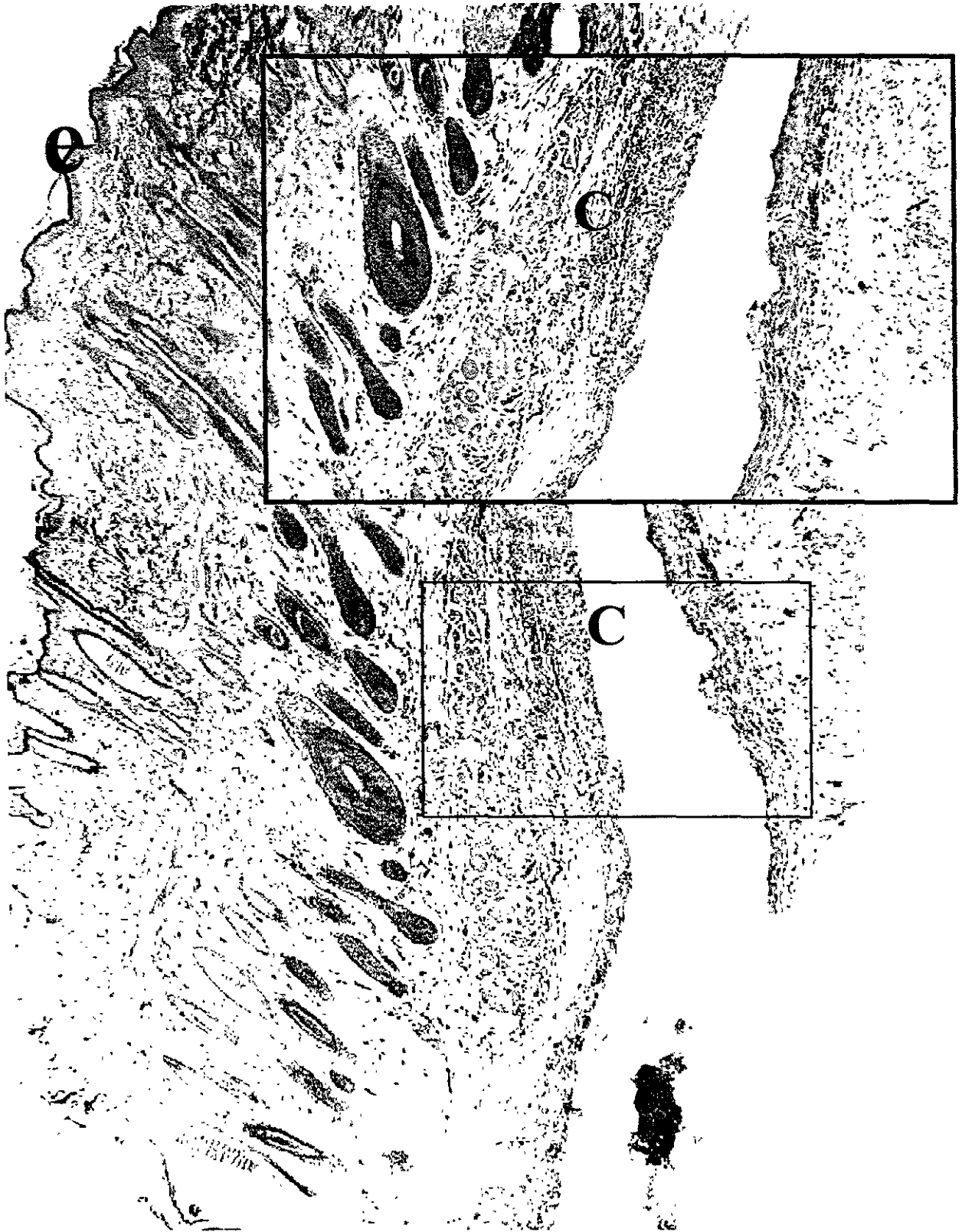


Figura 8. A los 14 días se hizo evidente la formación de una cápsula fibrosa (C), con la presencia de fibras colágenas bien organizadas (5x). El epitelio (e) aparece como referencia.

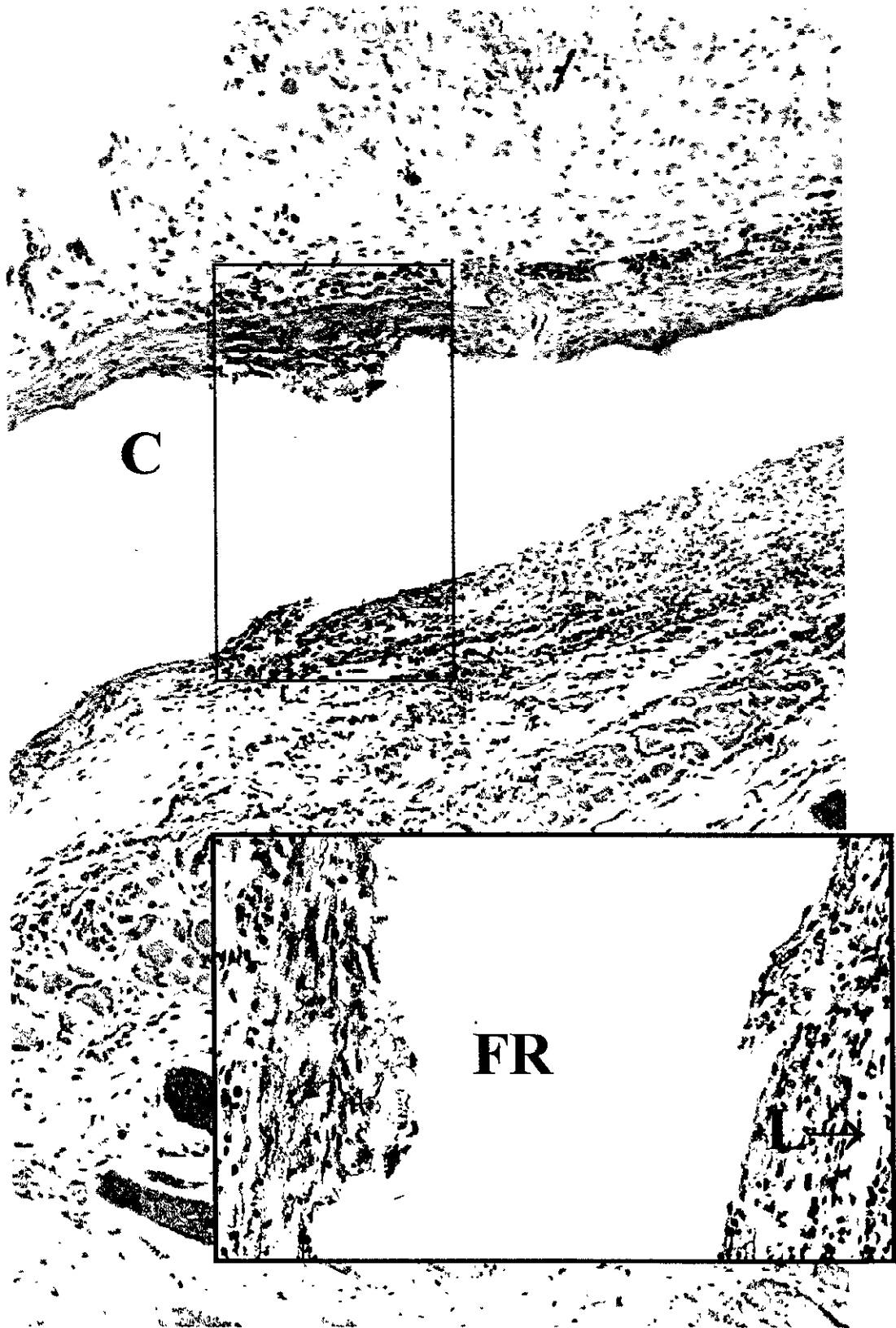


Figura 9. Acercamiento a 10x que muestra los fragmentos de la resina (FR) dispersos en la cápsula (C) de tejido inflamatorio.

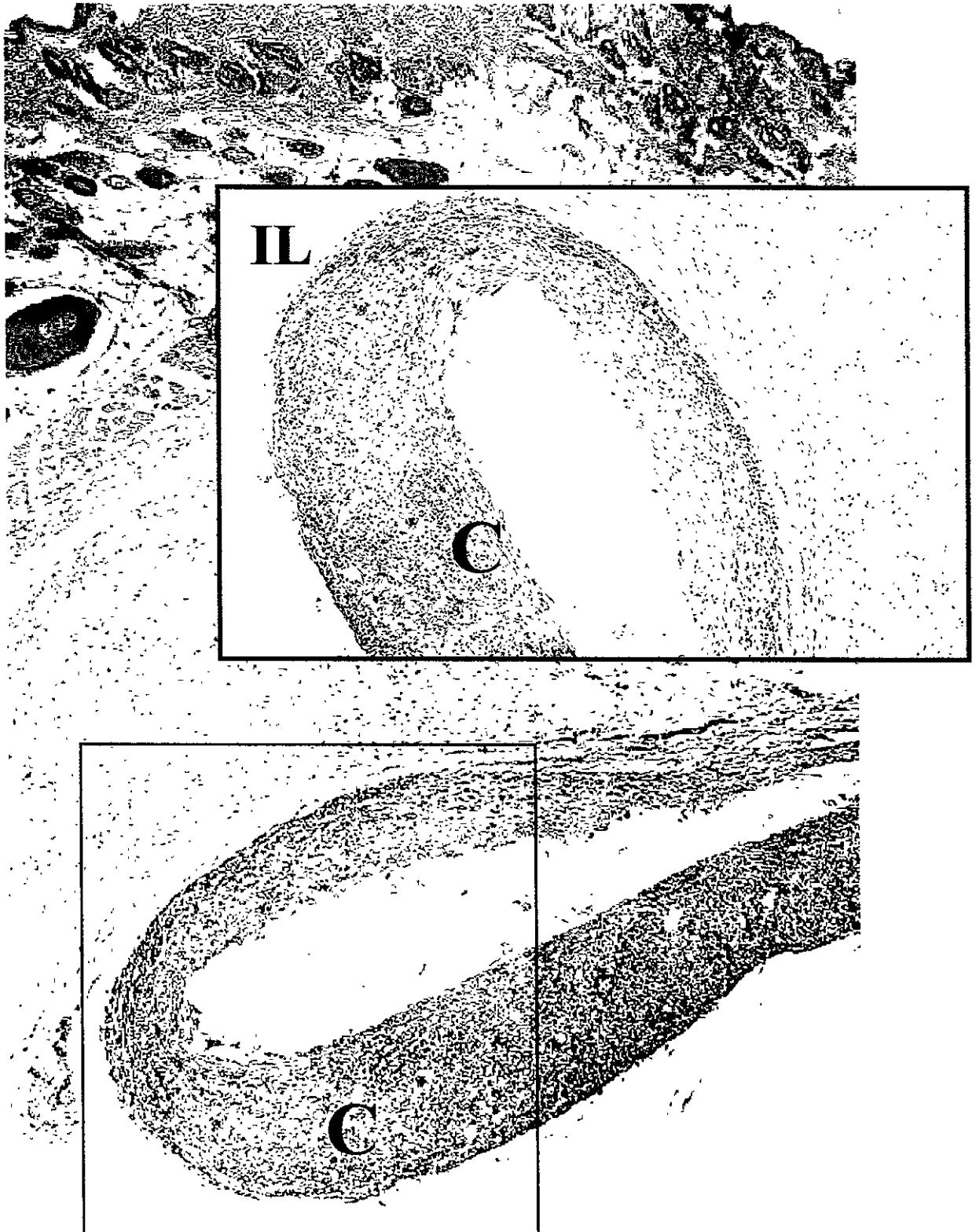


Figura 10. Para la tercera semana (grupo III) la cápsula está ya bien constituida (C). Se puede apreciar la presencia de infiltrado linfoplasmocitario en la periferia (ILP). 5x

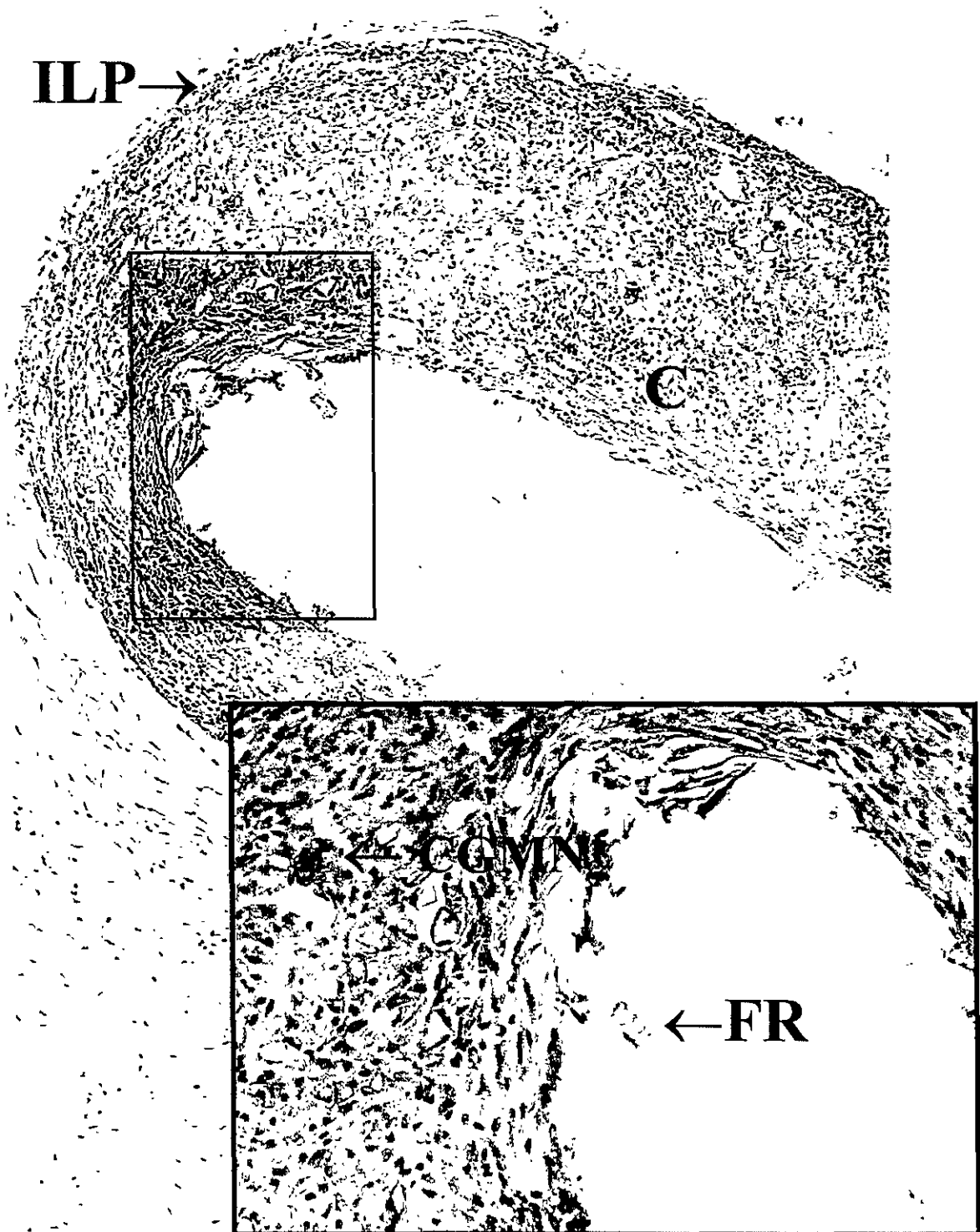


Figura 11. A 10x podemos observar la presencia de fragmentos de la resina (FR) dispersos, así como infiltrado linfocítico en la periferia (ILP). En esta fase proliferaron células gigantes multinucleadas (CGMN).

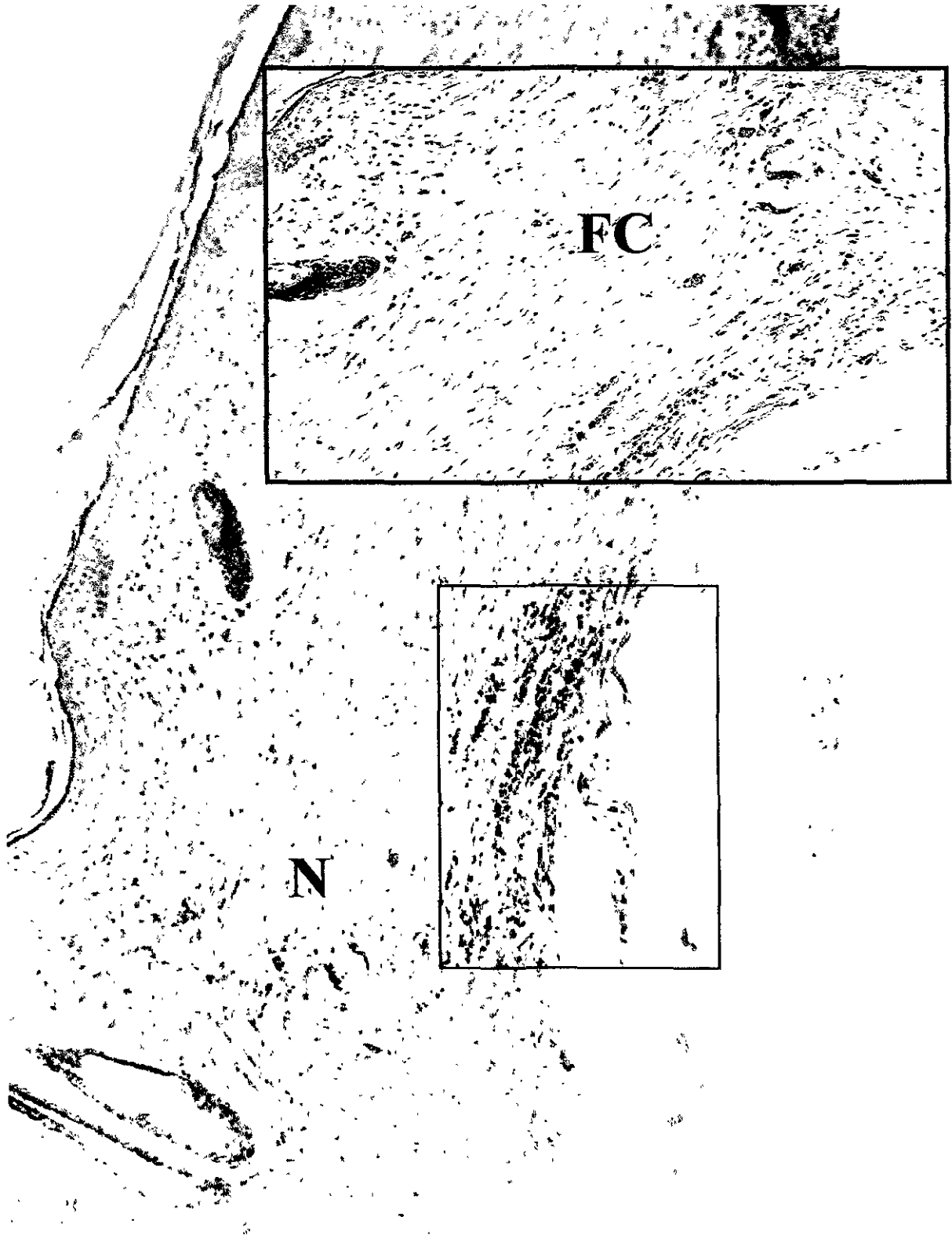


Figura 12. A los 28 días las fibras colágenas (FC) muestran un aspecto más denso. En esta fotomicrografía a 5x se aprecian también neoformaciones vasculares (NV).

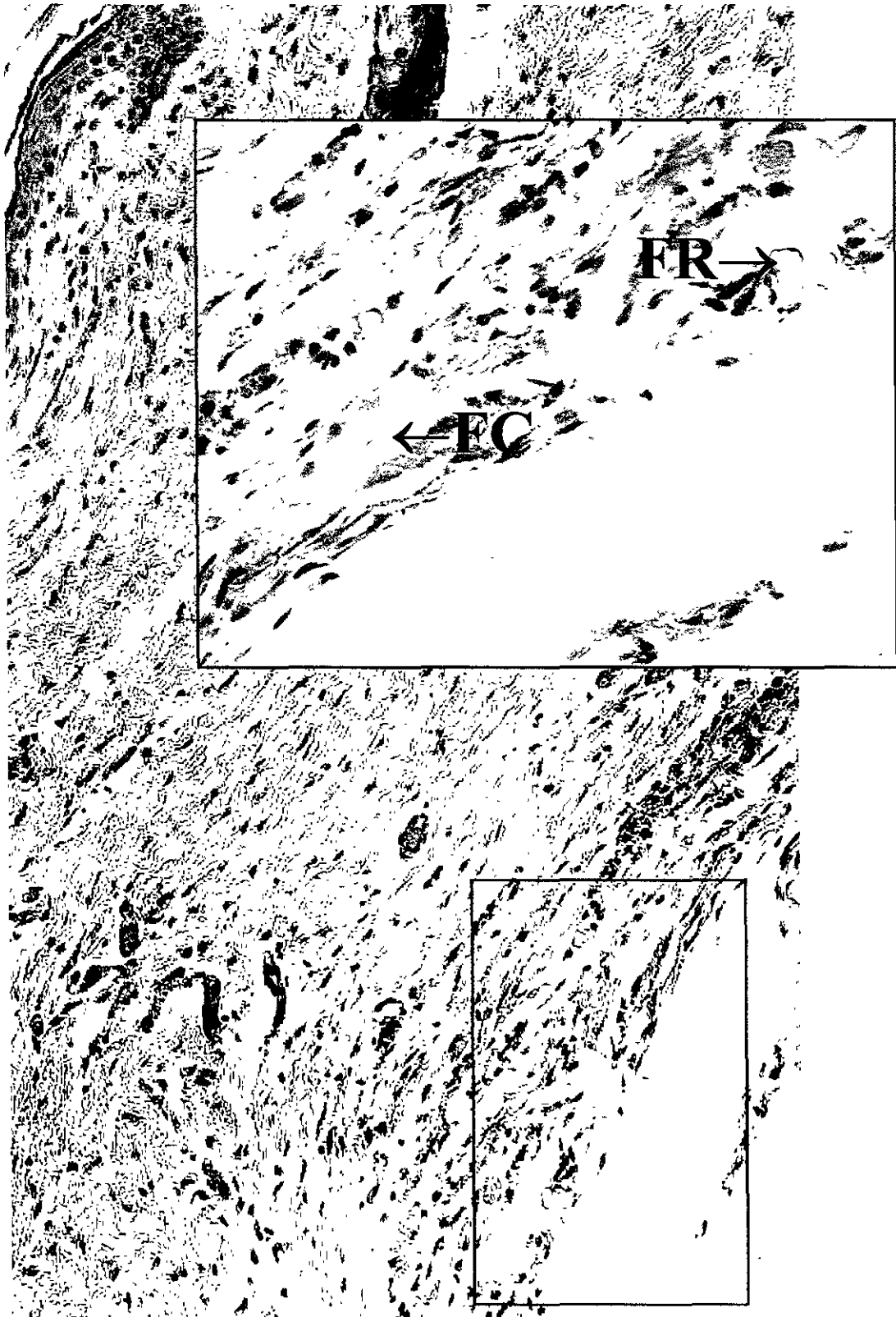


Figura 13. El acercamiento a 10x revela que algunos especímenes respondieron favorablemente al material implantado y la respuesta disminuyó para la cuarta semana. Se aprecian fibras colágenas (FC) y fragmentos de la resina (FR).

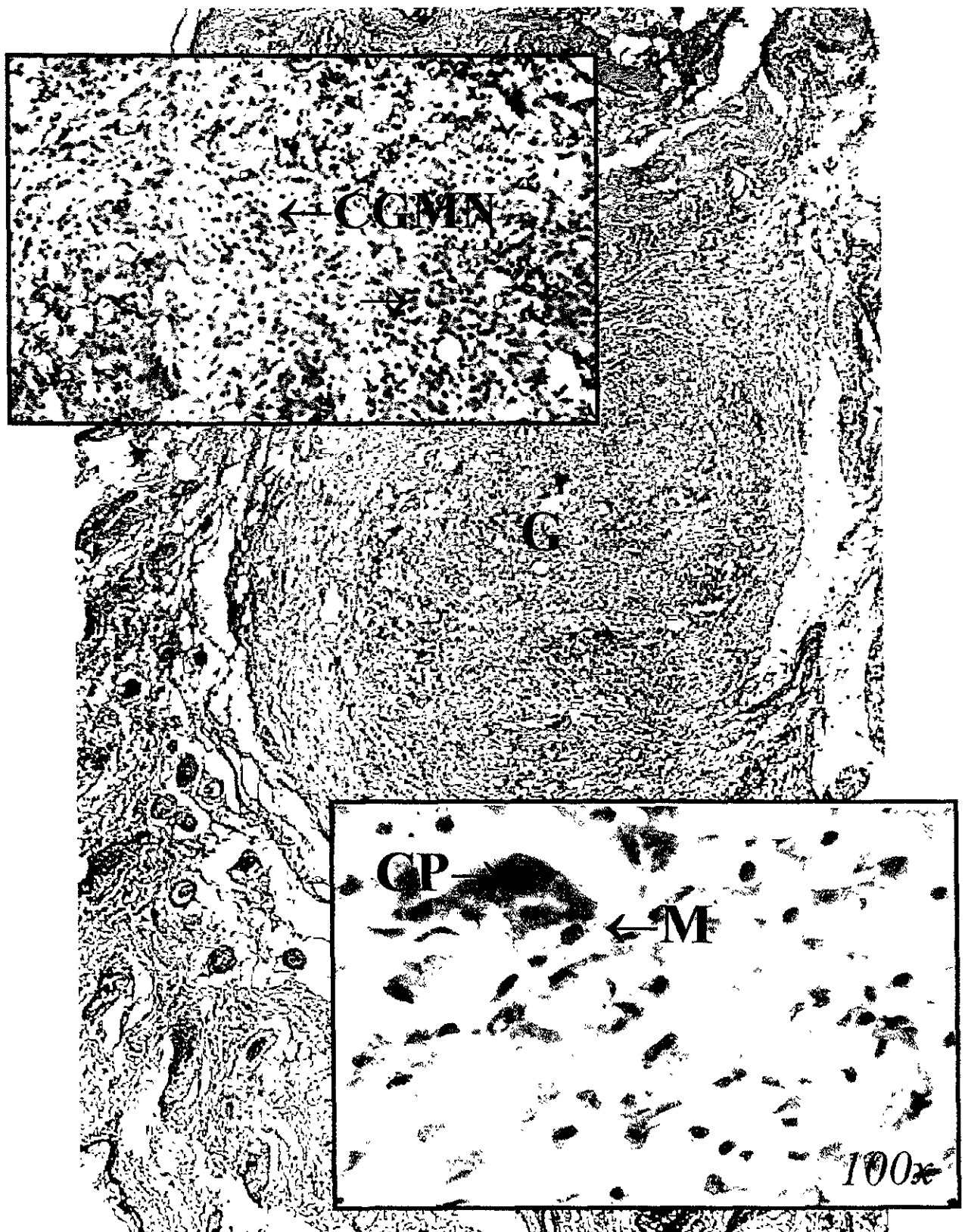


Figura 14. Granuloma (G) a 10x formado como consecuencia a la implantación del material. El acercamiento a 100x permite identificar células gigantes multinucleadas (CGMN) y macrófagos (M).

V. Análisis Estadístico

En este estudio, por cada uno de los 20 especímenes se tomaron dos muestras de tejido, que se procesaron, cortaron a un grosor de $4\mu\text{m}$ y tiñeron para su montaje en laminillas que se revisaron al fotomicroscopio. La primer muestra de tejido corresponde al grupo de estudio y el segundo al control.

Por cada laminilla se realizó la cuantificación a doble ciego de cada tipo celular presente en la respuesta inflamatoria por cada espécimen biológico (rata Wistar) a un aumento de 40x. Después se calculó el número promedio de células por muestra como la suma de las células observadas dividida entre el número de campos u observaciones por laminilla.

Al final se conservaron pares de datos (control y estudio) para cada grupo, cada uno representativo de las respuestas observadas a cada semana:

Grupo	Tiempo	Tamaño del grupo
1	7 días	5 especímenes
2	14 días	3 especímenes
3	21 días	5 especímenes
4	28 días	4 especímenes

Tabla 2. Distribución de grupos por tiempo y número de especímenes

Para los grupos 2 y 4 se cuenta con un menor número de datos, porque el material fue encapsulado y expulsado antes del plazo establecido para estos grupos. Respecto a los grupos II y III del control negativo se cuenta con cero y 3 datos respectivamente debido a la favorable cicatrización del tejido que impidió identificar la muestra para su obtención.

Las células consideradas fueron linfocitos, macrófagos, células plasmáticas, células gigantes multinucleadas y basófilos.

Cada grupo fue comparado en función del tiempo (i. e. semanas) y contra su respectivo control. Las pruebas que se realizaron fueron comparaciones de varianzas, para verificar supuestos de varianzas homogéneas (homoscedasticidad) mediante pruebas F y después se compararon los promedios mediante pruebas t, la prueba t utilizada fue de varianzas homogéneas o heterogéneas dependiendo de los resultados obtenidos en cada prueba F.

Los resultados se observan en las tablas anexas del apéndice.

Para fines de este documento se utilizaron pruebas unilaterales tanto para probar varianzas como promedios, las hipótesis nulas se plantearon para cada prueba, dependiendo del valor que fuera mayor para poder verificar la cola correspondiente a cada una.

Las hipótesis nula y alternativa para las comparaciones de varianzas fueron:

$$H_0: \sigma_1^2 \geq \sigma_2^2 \quad \text{vs.} \quad H_a: \sigma_1^2 < \sigma_2^2$$

Donde se utilizó siempre para σ_1^2 la mayor de las dos varianzas a comparar y las varianzas fueron estimadas con la varianza muestral:

$$s^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Por otra parte, las hipótesis nula y alternativa para las comparaciones de medias fueron:

$$H_0: \mu_1 \geq \mu_2 \quad \text{vs.} \quad H_a: \mu_1 < \mu_2$$

Donde también se utilizó siempre para μ_1 el valor mayor del par.

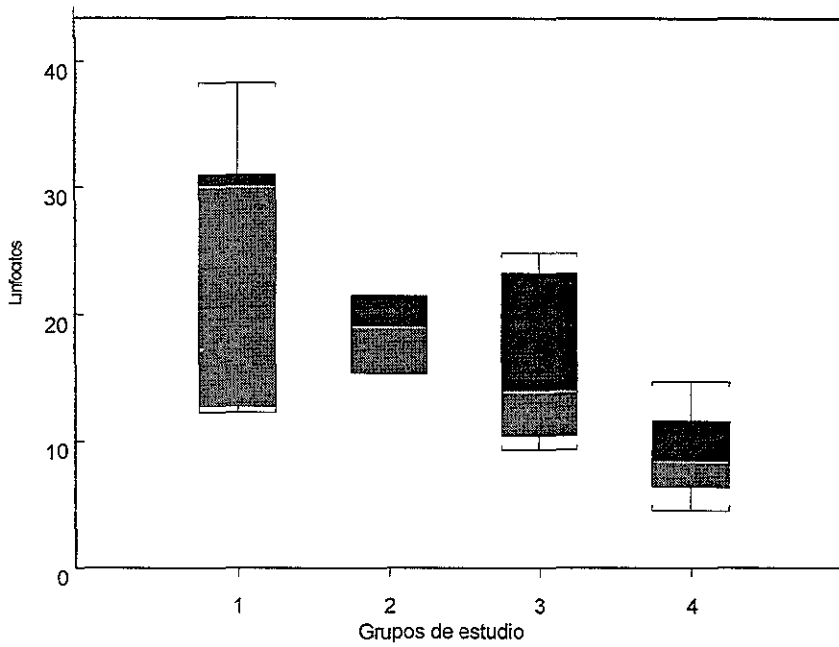
La significancia (α) para todas las pruebas se utilizó al 5%, por lo que el nivel de confianza ($1-\alpha$) fue de 95%.

Como el efecto que se quería estudiar era el provocado por el transcurso del tiempo y validarlo contra los datos de control, el procedimiento que se realizó fue comparar cada grupo con cada uno de los grupos que le siguieron, para observar la evolución de la respuesta inflamatoria y después cada grupo con su control.

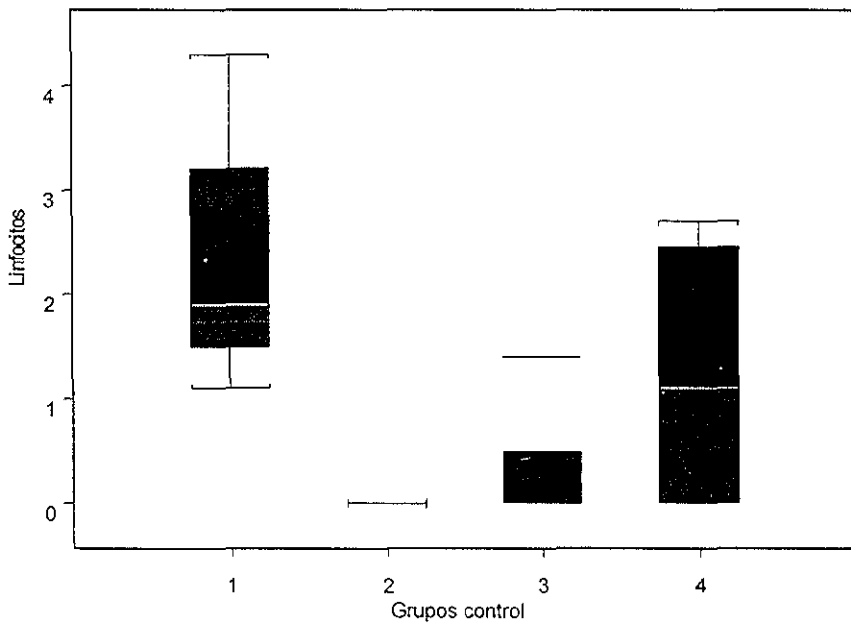
Para estudiar la evolución se tomó para cada tipo de células el grupo 1 (7 días) y se comparó su varianza y promedio contra los grupos 2, 3 y 4, con la intención de poder determinar el momento en el que la cantidad de células es estadísticamente diferente a la encontrada en la primer semana, y así sucesivamente con los grupos 2 y 3.

Se realizó un análisis exploratorio de datos utilizando gráficas de caja y brazos (box plots) para comparar las distribuciones de cada tipo de célula a los distintos tiempos y con su control y tener una primera idea de los resultados de las pruebas F (gráficas 1-8).

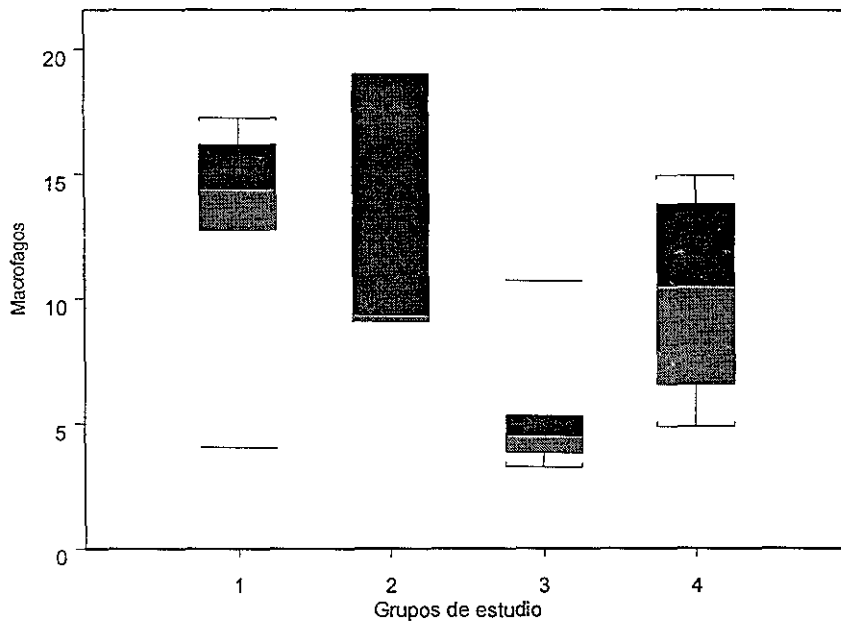
Sin embargo, cabe señalar que la diferencia entre promedios de los grupos de estudio y de control es tan evidente gracias a los diagramas de caja (pues nunca se empalman) que no fue necesario realizar las pruebas t para comparar contra control.



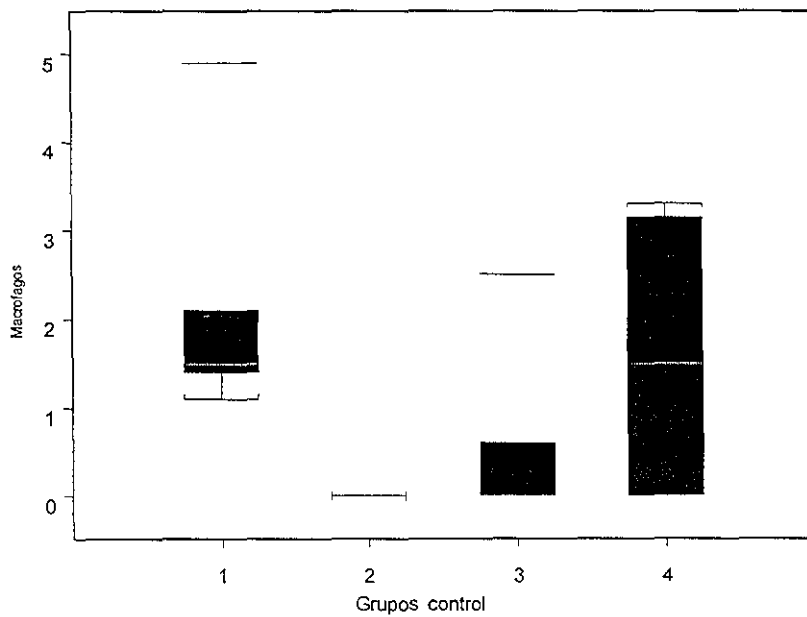
Gráfica 1. Los linfocitos disminuyen claramente con el paso del tiempo



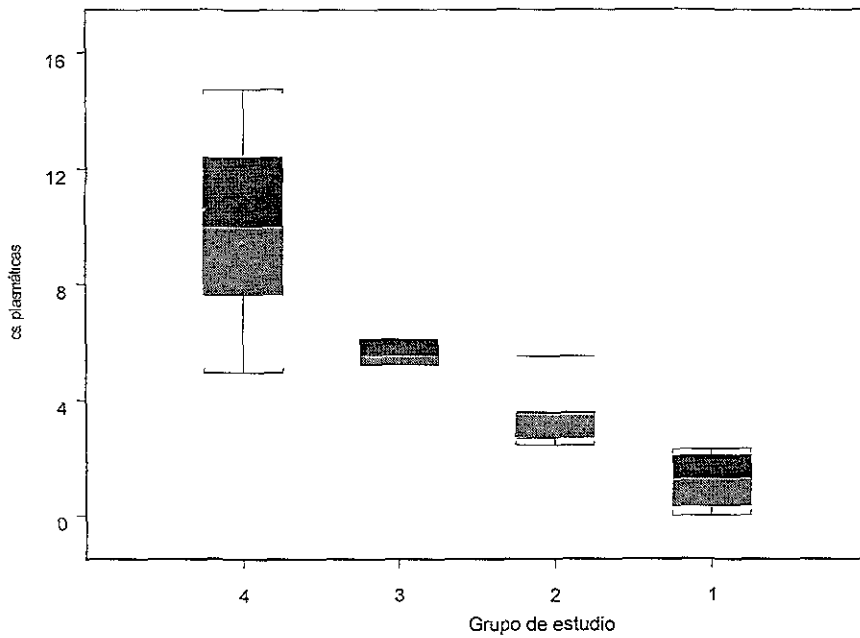
Gráfica 2. Los valores del grupo control son estadísticamente menores a los generados por la implantación del material



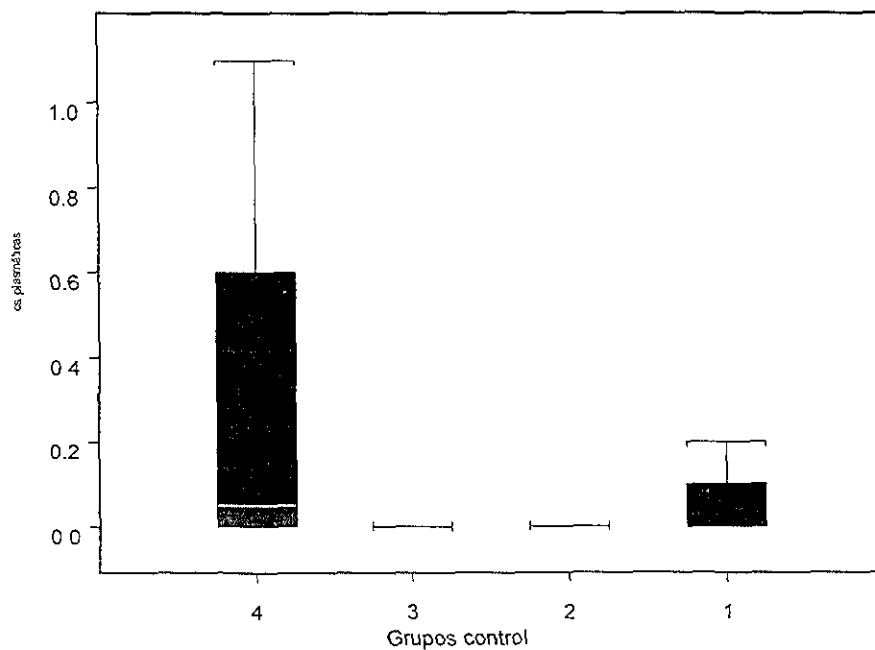
Gráfica 3. Los macrófagos tienden a disminuir, pero presentan un efecto de “regreso” para la cuarta semana.



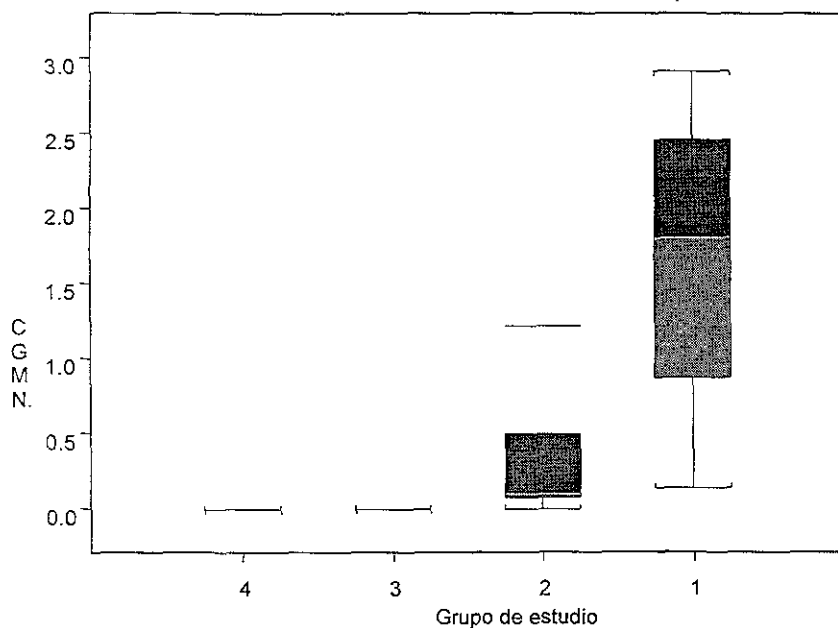
Gráfica 4. El mismo efecto se aprecia en los grupos control.



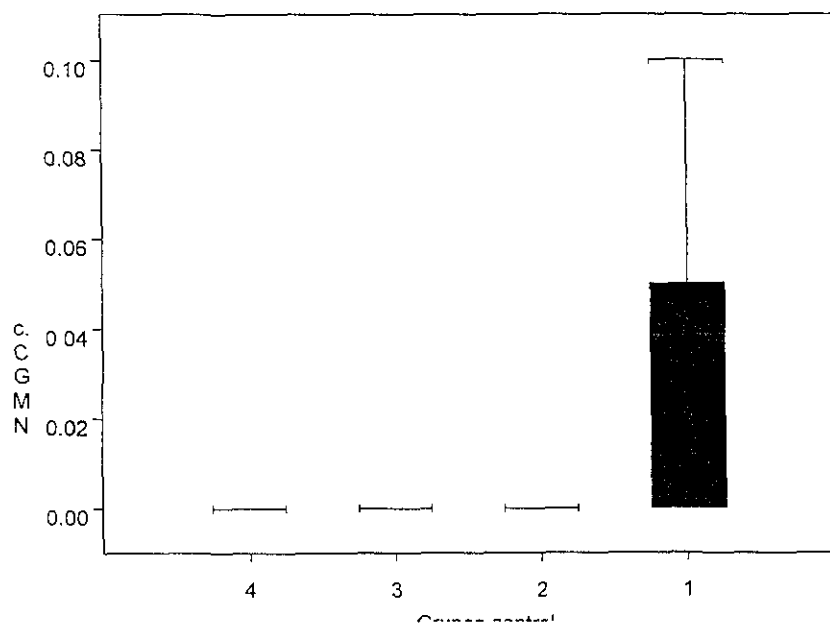
Gráfica 5. Las células plasmáticas presentan una clara disminución conforme transcurre el tiempo



Gráfica 6. El control negativo evidencia la misma disminución en la presencia de células plasmáticas.



Gráfica 7. Las células gigantes multinucleadas aparecen hasta la tercera semana y aumentan en número al pasar del tiempo



Gráfica 8. En el control negativo su presencia apenas es perceptible hasta la semana cuatro

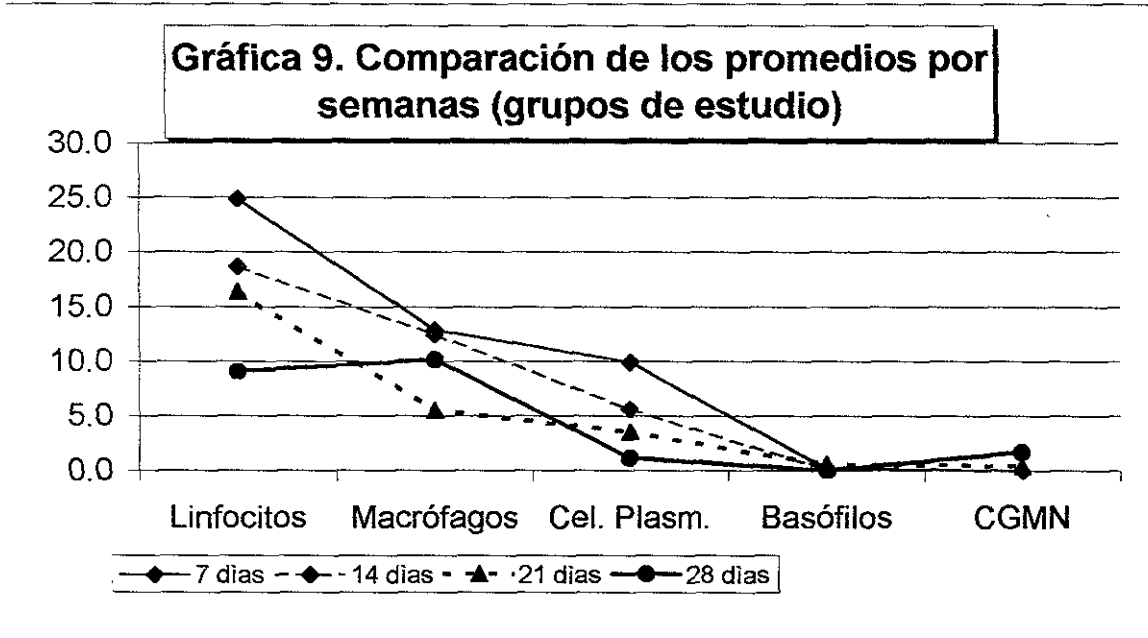
También se realizaron gráficos temporales para ver la evolución de las respuestas promedios y tener una primera idea de los resultados de las pruebas t (gráficas 9-12).

Posteriormente las conclusiones obtenidas mediante las gráficas son verificadas con las pruebas F y t.

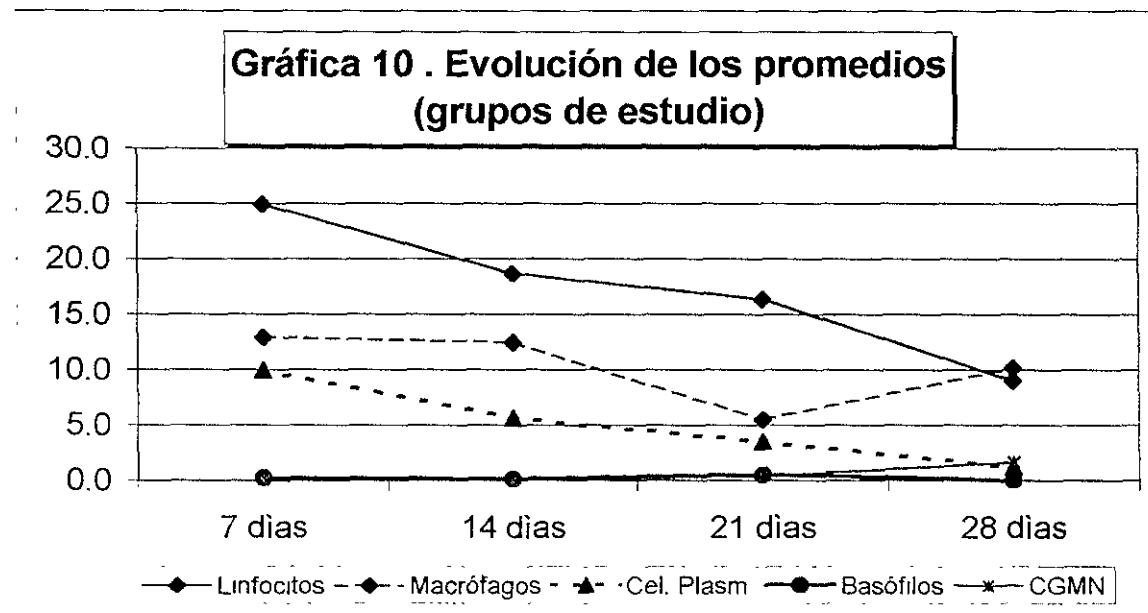
PROMEDIOS POR LAMINILLA

Grupo	Linfocitos	Macrófagos	Cel. Plasm.	Basófilos	CGMN
7 días	24.9	12.9	9.9	0.3	0.0
14 días	18.7	12.4	5.6	0.1	0.0
21 días	16.4	5.5	3.5	0.5	0.4
28 días	9.0	10.2	1.2	0.0	1.7

Grupo 4 = 7 días, grupo 3 = 14 días, grupo 2 = 21 días, grupo 1 = 28 días



En la gráfica se puede observar el comportamiento de la respuesta inflamatoria en los diferentes intervalos de tiempo.

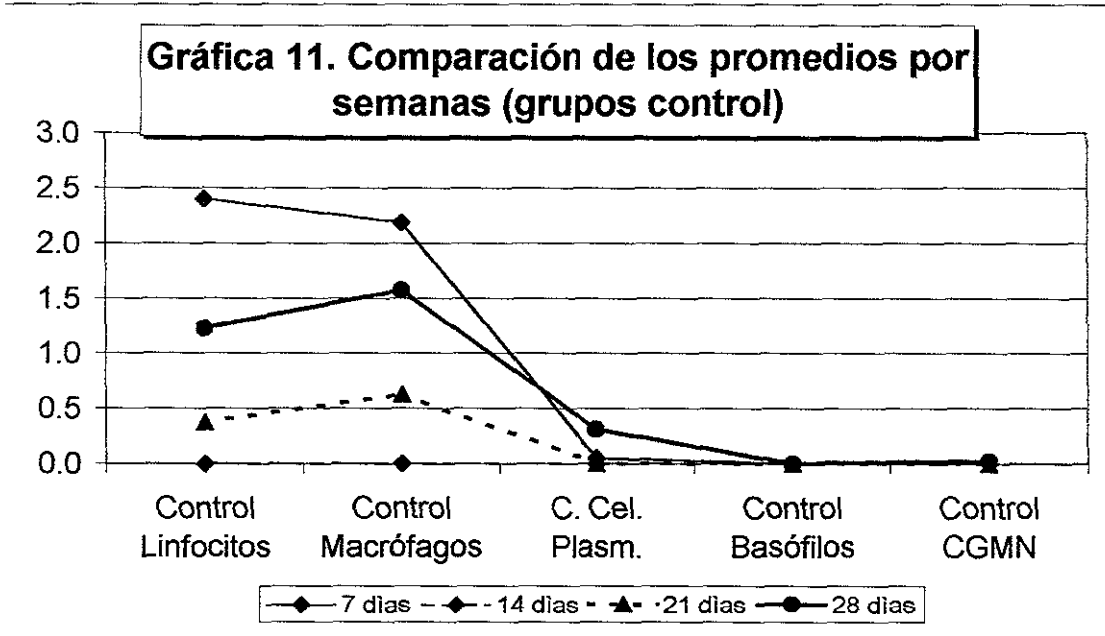


El patrón de disminución que presentan los grupos de estudio se observa también en los grupos control.

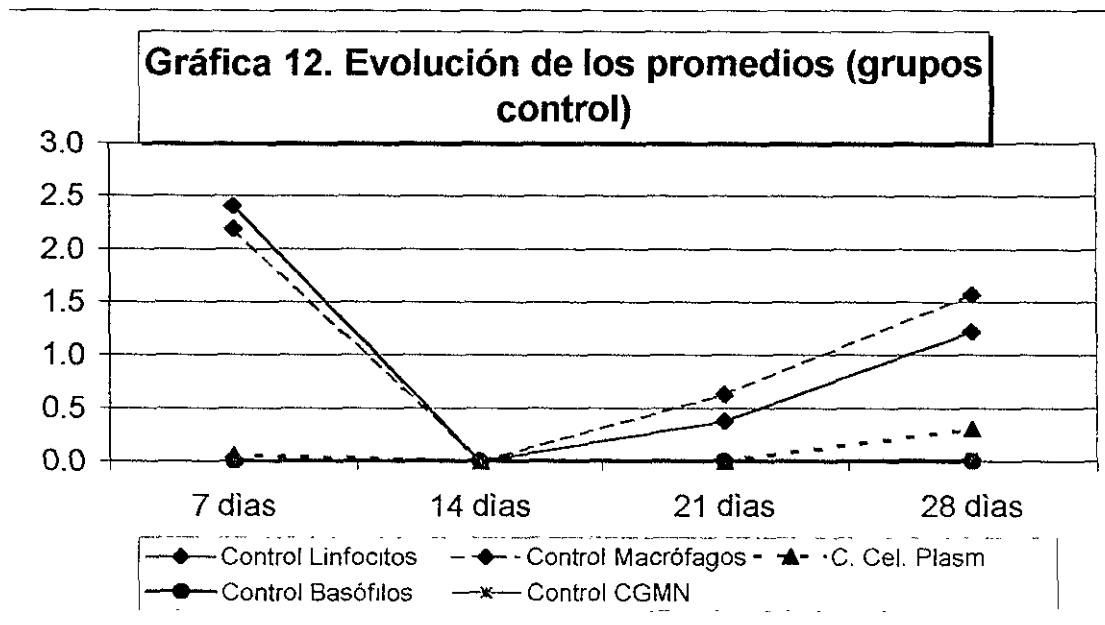
PROMEDIOS POR LAMINILLA

Grupo	Control Linfocitos	Control Macrófagos	C. Cel. Plasm.	Control Basófilos	Control CGMN
7 días	2.4	2.2	0.1	0.0	0.0
14 días	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
21 días	0.4	0.6	0.0	0.0	0.0
28 días	1.2	1.6	0.3	0.0	0.0

Grupo 4 = 7 días, grupo 3 = 14 días, grupo 2 = 21 días, grupo 1 = 28 días



En los diferentes grupos (estudio y control) el número de células disminuyó, pero siempre se encontró un predominio linfocítico.



En los grupos control la evolución de los promedios también mostró una disminución con el paso del tiempo

1. Interpretación

Linfocitos. En las gráficas se observa una evidente disminución de los linfocitos conforme pasa el tiempo (gráfica 1), que es verificada con las pruebas t, ya que al comparar los promedios del grupo 1 contra el grupo 4 se encuentra que son estadísticamente diferentes.

Es de observar que por el tamaño de las varianzas y la metodología utilizada (pruebas destructivas), la diferencia entre los linfocitos observados en la semana uno es significativa hasta la semana cuatro.

Macrófagos. Del análisis exploratorio se observa una disminución aparente en los macrófagos (gráfica 2), sin embargo, presentan un efecto de “regreso” en la cuarta semana, fenómeno que se aprecia tanto en los grupos de estudio como de control (gráficas 9 y 10).

Las pruebas t verifican esto, pues al comparar el grupo 1 (7 días) contra el grupo 3 (21 días) se encuentra que son estadísticamente diferentes (con $\alpha = 0.05$) pero después el grupo 1 y el grupo 4 vuelven a ser estadísticamente iguales.

Células plasmáticas. En el análisis exploratorio se observa una clara disminución de las células plasmáticas conforme transcurre el tiempo (gráfica 5), esto es verificado por las pruebas t, comparando el grupo 1 (7 días) contra los grupos posteriores, donde se observa una diferencia significativa a partir de los 21 días (grupo 3).

Células Gigantes Multinucleadas. De acuerdo con el análisis exploratorio, estas células aparecen en el grupo 3 (21 días), tanto en el grupo de estudio como de control. La idea se refuerza con las pruebas t, pues su presencia se vuelve significativa hasta la semana 4 (gráfica7).

Basófilos. Los basófilos siempre presentan un conteo bajo, de hecho, las pruebas t no logran encontrar diferencias significativas entre los valores observados de ninguno de los grupos, es decir, su presencia siempre es relativamente la misma.

VI. DISCUSIÓN

Las resinas metacrílicas han sido consideradas como biomateriales que pueden tener una gran variedad de aplicaciones. En Odontología son empleadas como material de restauración de tipo estético o como cemento para la colocación de prótesis y restauraciones estéticas indirectas.

Pese a que se han realizado estudios al respecto es muy poca la atención que se le da al uso y manejo de las mismas, principalmente cuando son empleadas en restauraciones dentales clase V (Angle) o para cementar coronas totales cuyos márgenes están íntimamente relacionados con el periodonto.

Estudios previos han arrojado resultados respecto al tipo de respuesta inflamatoria cuando persisten restos de resina que quedan alojados en los tejidos blandos (Hansasuta, 1993). La interacción del material con las células a nivel molecular puede ser responsable de reacciones a nivel tisular como inflamación, necrosis, inmunogénesis y carcinogénesis (Wataha, 1994).

El riesgo a los tejidos puede disminuir por la difusión de los componentes mediante barreras biológicas, como el dique de hule durante la colocación de la resina que disminuye el tiempo de interacción con los tejidos.

Sin embargo, como gran parte del riesgo por exposiciones permanentes al material se da durante la fase de acabado y pulido por expulsión violenta de micropartículas que se llegan a incrustar en la mucosa, es importante ser lo más precisos al modelar la restauración y controlar el escurrimiento del cemento durante la fase no polimerizada.

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

En este estudio, al implantar muestras del cemento de resina por debajo de la piel, la resina se mostró fragmentada en todos los grupos de estudio. Los fragmentos fueron englobados por neutrófilos y células epiteloides en un inicio (7 días), aunque principalmente se encontró que estaban dispersos. A los 14 días se observó la formación de una cápsula fibrosa delgada bien organizada que delimitó a la resina implantada. En el tercer grupo de trabajo (21 días) la actividad fagocítica fue muy baja a través de las células gigantes multinucleadas (CGMN) sobre la resina (fig. 14).

La fragmentación del material está relacionada con un desprendimiento constante de productos y subproductos de la polimerización, resultado de la interacción con el medio (Hanks, 1991). En este caso, este fenómeno puede explicar que la respuesta inflamatoria haya sido de tanta duración por la exposición repetida a los compuestos.

Experimentalmente y mediante pruebas en cultivos celulares *in vitro*, se ha determinado que la exposición permanente de las células a las resinas resulta en un constante desprendimiento de monómeros y oligómeros que pueden agravar el daño a los tejidos, explicando así los efectos tóxicos retardados (Adams, 1994). Sin embargo los resultados *in vivo* de nuestro experimento y otros similares, muestran que aunque el efecto nocivo es prolongado, aparentemente el organismo es capaz de controlar esta agresión mediante el encapsulamiento del material y en ocasiones expulsión del mismo (grupos II y IV), evitando que el daño se extienda.

Es importante hacer notar que en las ratas del primer grupo de estudio la respuesta fue mayor en cuanto a hemorragia, inflamación y presencia de exudado fibrino-purulento, debido posiblemente a la acción de los iniciadores de la resina

como el peróxido de benzoilo, aminas terciarias aromáticas y éteres aromáticos de benzoilo que se sabe que no forman parte de la matriz polimerizada y se difunden en las primeras horas debido a su volatilidad.

Así mismo, estudios similares al presente han evidenciado que ante la implantación subdérmica de resina con Bis-GMA en modelos experimentales, la respuesta inflamatoria de los tejidos se mantiene en rangos de moderada a severa en los primeros treinta días, para volverse a leve y moderada 90 días después de la implantación (Hanks, 1991).

Lo anterior se explica porque los componentes no polimerizados (monómeros) son responsables de la citotoxicidad. Es el caso del peróxido de benzoilo (catalizador) que puede convertir los ácidos grasos poli-insaturados y fosfolípidos en peróxidos, y el TEGDMA que puede unirse a los liposomas, aumentando el riesgo de difusión de compuestos tóxicos al interior de la célula por actuar a nivel de la membrana celular.

Cultivos de células periodontales expuestas a los cementos de resina por ADAMS (1994) sentaron la toxicidad de algunas resinas con Bis-GMA en niveles de moderado a severo poco después de entrar en contacto con la capa celular. Esta toxicidad se incrementó constantemente para volverse severa a los siete días. Nuevamente, lo anterior se explica por el desprendimiento constante de monómeros y oligómeros no polimerizados de la matriz que continuamente agredían al cultivo.

Trabajos de implantación de resina en tubos de polietileno (Bauer, 1987) mostraron reacciones que comenzaron con infiltrado inflamatorio, leucocitos polimorfonucleares y la formación de cápsulas fibrosas circunscribiendo el material seguido de un infiltrado inflamatorio crónico leve.

A nivel estadístico, cabe señalar que en este estudio la diferencia entre promedios de los grupos de estudio y control es muy evidente (apreciable en los diagramas de caja de las gráficas 1-9) porque los resultados nunca se empalman. Por ello no fue necesario realizar las pruebas t para comparar los grupos de estudio contra control. Esto demuestra que el grado de respuesta inflamatoria fue mucho mayor para la implantación del material que para sus respectivos controles, haciendo evidente su impacto en el organismo.

Los datos obtenidos mediante las gráficas comparativas entre los grupos de estudio en función del tiempo son verificadas con las pruebas F y t, en donde se puede observar para el tamaño de las varianzas y la metodología utilizada (pruebas destructivas) la diferencia entre los linfocitos, macrófagos y células plasmáticas observados en la semana uno a la semana cuatro.

Los linfocitos disminuyeron significativamente desde la semana 1 hasta la semana 4, siendo estadísticamente diferentes. Con respecto a los macrófagos, las pruebas t corroboraron la diferencia estadística al comparar el grupo 1 (7 días) contra el grupo 3 (21 días) en donde se encontró diferencia ($\alpha=0.05$), pero después el grupo 1 y el grupo 4 vuelven a ser estadísticamente iguales. Mientras que en el comportamiento que mostraron las células plasmáticas con las pruebas t al comparar el grupo 1 contra los grupos posteriores, se observó una diferencia significativa desde la segunda semana. Esto indica que la respuesta inflamatoria mostró una tendencia a disminuir. No obstante, al plazo de nuestro último grupo (28 días) la respuesta del grupo de estudio seguía siendo mayor que la del control.

La presencia de células gigantes multinucleadas no es significativa estadísticamente sino hasta la semana cuatro. En tanto que los basófilos no tienen significado estadístico en este estudio.

VII. Conclusiones

Las resinas son tóxicas porque entre sus componentes cuentan con compuestos orgánicos como el Bis-GMA y TEGDMA, que son liberados de las restauraciones dentales al estar en contacto con los fluidos bucales incluso en las mejores condiciones de polimerización.

En contacto con las mucosas los monómeros y oligómeros de las resinas dentales pueden causar irritación y daño por difundirse a través de esta barrera y entrar en contacto con el sistema inmunitario, desencadenando reacciones inflamatorias o de hipersensibilidad.

Durante la colocación, el ajuste y terminado de las restauraciones de resina y el recorte de excedentes del cemento de resina, pueden expulsarse partículas del material que se incrustan en la mucosa o bien que por su fluidez pueden alojarse en el surco gingival. De ser así, pudiera generarse una reacción de tipo inflamatoria granulomatosa persistente.

Toda vez que una resina fabricada con base en Bis-GMA sea colocada estrechamente al margen gingival, se correrá el riesgo de provocar una respuesta inflamatoria que pueda afectar a los tejidos periodontales.

Como se tiene conocimiento de reacciones de hipersensibilidad a las resinas de uso dental, los fabricantes deberían declarar en el empaque los compuestos que integran la fórmula del producto, de tal manera que sea posible identificar las sustancias que pudieran generar efectos adversos o respuestas alérgicas tanto para los pacientes como para el personal odontológico.

Es importante tomar en cuenta el riesgo al que está expuesto el personal odontológico respecto al paso de monómeros de bajo peso molecular a través del látex de los guantes para evitar en lo posible el contacto con este material. Así mismo se debe ser cauteloso en el uso del cubrebocas, especialmente cuando se utilizan instrumentos giratorios para desgastar la resina que generan una gran dispersión de micropartículas que pudieran aspirarse.

VIII. Referencias

ADAMS AM, "Cytotoxicity studies of dental restorative materials using human periodontal ligament cell in vitro", Int Endodontic Journal, 1994 (27), 171-177.

American Dental Association, Document 41 for Recommended standard Practices for Biological Evaluation of Dental Material, Journal of the American Dental Association, 1979

BARRIERO, M., "Criterios de Selección de Materiales Dentales", <http://www.odontología-online.com/tecnología/TN3/TN301/tn301.html>

GANONG, William, "Fisiología Médica", ed. El Manual Moderno, México D.F., 1998.

GARCÍA Araceli, Giner Luis, "Los composites en odontología restauradora", Servicio de información odontológica, www.dvd-dental.com/ServOdontologico/Articulos/8-98.html#inicio.

GUZMAN, Humberto, "Biomateriales Odontológicos de uso Clínico", Cat editores, Colombia, 1990, pp.45-50, 55, 56.

Introduction to Hormone Disrupting Compounds, "Bisphenol A", <http://website.lineone.net/~mwarhurst/bisphenol.html>, june 2000.

GUYTON, "Fisiología Humana", editorial Interamericana Mac Graw-Hill, México, 1990.

HANKS, C.T., STRAWN, J.C., et al, "Cytotoxic Effects of Resin Components on Cultured Mammalian Fibroblasts", J Dent Res 70(11):1450-1455, Noviembre, 1991.

HANSASUTA et al, "Cellular inflammatory responses to direct restorative composite resins", J Prosthet Dent 1993; 69:611-6

HANSEL et al, "Effect of various components extracts on the growth of Streptococcus sobrinus", J Dent Res 1998: 77 (1):60-7

HUME, C W, "The UFAW Handbook on the care and management of laboratory animals" 5 th ed. , London: Ed. UFAW Churchil Livingstone; 1976.

IARC, International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to human. Silica and some silicates, coal dust and *para*-armed fibrils, vol 68. Lyon:IARC, 1997:210-211.

JONTELL, M. HANKS C.T., et al, "Effects of Unpolymerized Resin Components on the Function of Accesory Cells Derived from the Rat Incisor Pulp", J Dent Res 74 (5) 1162, May, 1995.

KATAYOUN, Adab, "Bioavailability from resin-based dental materials", Dental Study Club online, <http://www.tambcd.edu/DentalCE/dsc>

K.KEHE, FX REICHL et al, "Cytotoxicity of dental composite componentes and mercury compounds in pulmonary cells", Biomaterials 22 (2001), 317-322.

LEYLANAZ, SANTERRE, "Effect of filler content on the profile of released biodegradation products in micro-filled bis-GMA/TEGDMA dental composite resins", Biomaterials 20 (1999) 1897-1908.

LLOYD, SCRIMGEOUR, "Dental Materials Review", J Dent 1997; 25:Nos 3-4.

MONTGOMERY, Douglas, "Diseño y Análisis de Experimentos", Grupo editorial Iberoamérica, primera edición, México 1991.

MORENO, José, "Respuesta inmune y mecanismos de inmunidad", Noriega editores, primera edición, México 1996.

MORGAN et al, "Analysis of dimetacrylate copolymer (Bis-GMA and TEGDMA) network by DSC and C solution and solid-state NMR spectroscopy", Biomaterials 21 (2000), 1897-1903.

MUNKSGAARD, EC, "Toxicology versus allergy in restorative dentistry", Adv Dent Res 1992; 6:17-21.

NAYEBZADEH et al, "Risk of respiratory exposure of dental personnel to amalgam alternatives", Science of the Total Enviroment 247 (2000) 33-39.

O'BRIEN, William, "Materiales Dentales y su elección", editorial Panamericana, Buenos Aires, 1980.

ÖRTENGREN U. et al, "Influence of pH and storage time on the sorption and solubility behaviour of three composite resin materials", J Dentistry 29 (2001) 35-41.

PASTOR Guillermo, "Estadística Básica", editorial Trillas, primera edición, México 1998.

PHILLIPS, R.W., "Skinner's Science of Dental Materials", 8th Edition, 1982, Philadelphia, USA.

PULGAR, Rosa et al, "Determination of Bisphenol A and related aromatic compounds released from Bis-GMA-based composites and Sealants by high performance liquid chromatography", Environmental Health Perspectives Volume 108, number 1, January 2000.

ROBBINS, "Patología Estructural y Funcional", ed. Interamericana S.A. de C.V, 2da edición, México 1991.

ROTH, "Los composites", Editorial Mason, 1a edición, España, 1994.

RUBIN, Emanuel, "Essential Pathology", Lippincott Company, USA, 1990.

SCHROEDER Hubert, LISTGARTEN Max, "The gingival tissues: the architecture of periodontal protection", Periodontology 2000, vol 13, 1997, 91-120.

SCHWEIKL, H, SCHMALZ, G, "Triethylen glycol dimetacrylate induces large deletions in the *hprL* gene of VI cells", Mutation Research 438 (1999) 71-78.

SHARPE R, SKAKKEBAEK EN, "Are estrogens involved in falling sperm counts and disorders in male reproductive tracts?", Lancet 1993; 341:1392-1395

SKINER, "La ciencia de los materiales dentales", ed. Interamericana-McGraw-Hill, México 1991.

SPAHL et al, "Determination of leach able components from four commercial dental composites by gas and liquid chromatography/mass spectrometry", J Dentistry 26(2). 1998, 137-145.

STITES, TERR, "Inmunología Básica y Clínica", Ed. El Manual Moderno, S.A. de C.V., México D.F., 1993.

VALLIKANTHAN, N., et al., "Local Inflammatory Effects of Composite Resins", 18 (4), 367-374, April, 1997

WATAHA et al, "Cytotoxicity of components of resins and other dental restorative materials", J Oral Rehab, 1994, volume 21, 453-462.

"Cementos poliméricos, grupo IV-C, Resinas cementantes",
www.encolombia.com/scdb_analisis15.htm

IX. Apéndice

En este apéndice de 8 hojas se muestran las tablas de cálculo estadístico correspondientes al estudio que se presenta.

Las tablas siguen este orden:

1. Descripción de datos
2. Promedios y varianzas
3. Comparación de varianzas entre grupos de estudio y control respectivo
4. Comparación de varianzas
5. Comparación de varianzas por tiempo (1)
6. Comparación de varianzas por tiempo (2)
7. Comparación de medias por grupo (1)
8. Comparación de medias por grupo (2)

OBSERVACIONES NATURALES (VARIABLES Y CONTROLES)

Grupo	FOI	# de campos	Linfocitos	Control Linfocitos	Macrófagos	Control Macrófagos	Células Plasmáticas	C. Células Plasmáticas	Basófilos	Control Basófilos	CGMN
1	18	18	690	35	229	27.0	223	1.0	0	0.0	0
	22	15	451	65	259	74.0	221	0.0	6	0.0	0
	26	24	306	27	344	26.0	183	0.0	0	0.0	0
	30	20	247	29	81	41.0	99	0.0	0	0.0	0
	34	24	746	76	388	33.0	239	5.0	21	0.0	0
		Promedio	488	46.4	260.2	40.2	193	1.2	5.4	0.0	0
		Varianza	49986	507.8	14110.7	392.7	3184	4.7	82.8	0	0
		Desviación Estándar	223.6	22.5	118.8	19.8	56.4	2.2	9.1	0.0	0.0
2	45	30	571	0	278	0.0	157	0.0	8	0.0	0
	41	26	560	0	236	0.0	143	0.0	0	0.0	0
	42	9	139	0	171	0.0	55	0.0	0	0.0	0
		Promedio	423.3	0.0	228.3	0.0	118.3	0.0	2.7	0.0	0.0
		Varianza	60664.3	0.0	2906.3	0.0	3057.3	0.0	21.3	0.0	0.0
		Desviación Estándar	246.3	0.0	53.9	0.0	55.3	0.0	4.6	0.0	0.0
3	50	14	195	20	74	35.0	49	0.0	3	0.0	0
	54	16	372	0	171	0.0	88	0.0	10	0.0	8
	57	9	94	0	40	0.0	24	0.0	6	0.0	11
	60	12	113	0	39	0.0	43	0.0	12	0.0	1
	63	31	771	14	118	20.0	75	0.0	0	0.0	3
		Promedio	309	6.8	88.4	11.0	55.8	0.0	6.2	0.0	4.6
		Varianza	78763	91.2	3172.3	255	656.7	0	24.2	0	22.3
		Desviación Estándar	280.6	9.5	56.3	16.0	25.6	0.0	4.9	0.0	4.7
4	67	11	162	24	164	33.0	25	12.0	0	0.0	32
	71	5	23	0	63	0.0	3	0.0	0	0.0	8
	74	4	33	0	33	0.0	0	0.0	0	0.0	8
	81	7	60	19	34	23.0	13	1.0	0	0.0	1
		Promedio	69.5	10.8	73.5	14.0	10.3	3.3	0.0	0.0	12.3
		Varianza	4047.0	158.3	3833.7	278.0	127.6	34.3	0.0	0.0	184.3
		Desviación Estándar	63.6	12.6	61.9	16.7	11.3	5.9	0.0	0.0	13.6

Grupo 1 = 7 días, grupo 2 = 14 días, grupo 3 = 21 días, grupo 4 = 28 días

PROMEDIO POR LAMINILLA (OBSERVACIONES / # DE CAMPOS)

Grupo	Linfocitos	Control Linfocitos	Macrófagos	Control Macrófagos	Células Plasmáticas	C. Células Plasmáticas	Basófilos	Control Basófilos	CGMN	Control CGMN
1	38.3	1.9	12.7	1.5	12.4	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
	30.1	4.3	17.3	4.9	14.7	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0
	12.8	1.1	14.3	1.1	7.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	12.4	1.5	4.1	2.1	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	31.1	3.2	16.2	1.4	10.0	0.2	0.9	0.0	0.0	0.0
Promedio	24.9	2.4	12.9	2.2	9.9	0.1	0.3	0.0	0.0	0.0
Varianza	137.6	1.8	27.5	2.5	14.8	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
Desviación Est.	11.7	1.3	5.2	1.6	3.8	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0

2	19.0	0.0	9.3	0.0	5.2	0.0	0.3	0.0	0.0	0.0
	21.5	0.0	9.1	0.0	5.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	15.4	0.0	19.0	0.0	6.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Promedio	18.7	0.0	12.4	0.0	5.6	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
Varianza	9.4	0.0	32.2	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Desviación Est.	3.1	0.0	5.7	0.0	0.5	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0

3	13.9	1.4	5.3	2.5	3.5	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
	23.3	0.0	10.7	0.0	5.5	0.0	0.6	0.0	0.5	0.0
	10.4	0.0	4.4	0.0	2.7	0.0	0.7	0.0	1.2	0.0
	9.4	0.0	3.3	0.0	3.6	0.0	1.0	0.0	0.1	0.0
	24.9	0.5	3.8	0.6	2.4	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0
Promedio	16.4	0.4	5.5	0.6	3.5	0.0	0.5	0.0	0.4	0.0
Varianza	52.3	0.4	9.0	1.2	1.5	0.0	0.2	0.0	0.3	0.0
Desviación Est.	7.2	0.6	3.0	1.1	1.2	0.0	0.4	0.0	0.5	0.0

4	14.7	2.2	14.9	3.0	2.3	1.1	0.0	0.0	2.9	0.1
	4.6	0.0	12.6	0.0	0.6	0.0	0.0	0.0	1.6	0.0
	8.3	0.0	8.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0	0.0
	8.6	2.7	4.9	3.3	1.9	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0
Promedio	9.0	1.2	10.2	1.6	1.2	0.3	0.0	0.0	1.7	0.0
Varianza	17.6	2.0	20.1	3.3	1.1	0.3	0.0	0.0	1.3	0.0
Desviación Est.	4.2	1.4	4.5	1.8	1.1	0.5	0.0	0.0	1.2	0.0

Grupo 1 = 7 días, grupo 2 = 14 días, grupo 3 = 21 días, grupo 4 = 28 días

MEDIDAS DE RESUMEN POR LAMINILLA

Grupo	Linfocitos	Control Linfocitos	Macrófagos	Control Macrófagos	Células Plasmáticas	C. Células Plasmáticas	Basófilos	Control Basófilos	CGMN	Control CGMN
Promedio G.1	24.9	2.4	12.9	2.2	9.9	0.1	0.3	0.0	0.0	0.0
Varianza	137.6	1.8	27.5	2.5	14.8	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
Desviación Est. G.1	11.7	1.3	5.2	1.6	3.8	0.1	0.4	0.0	0.0	0.0
Observaciones	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Grados de Libertad	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Valor crítico	78.0		11.1		1819.1					
Valor p	0.0005		0.0193		0.0000					
Conclusión	Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		No se rechaza hipótesis nula	
	No son iguales		No son iguales		No son iguales		No son iguales		Sí son iguales	

MEDIDAS DE RESUMEN POR LAMINILLA

Promedio G.2	18.7	0.0	12.4	0.0	5.6	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0
Varianza	9.4	0.0	32.2	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Desviación Est. G.2	3.1	0.0	5.7	0.0	0.5	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0
Desviación Est. G.4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Desviación Est. G.5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Desviación Est. G.6										
Desviación Est. G.7										
Conclusión	Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		No se rechaza hipótesis nula	
	No son iguales		No son iguales		No son iguales		No son iguales		Sí son iguales	

MEDIDAS DE RESUMEN POR LAMINILLA

Promedio G.3	16.4	0.4	5.5	0.6	3.5	0.0	0.5	0.0	0.4	0.0
Varianza	52.3	0.4	9.0	1.2	1.5	0.0	0.2	0.0	0.3	0.0
Desviación Est. G.3	7.2	0.6	3.0	1.1	1.2	0.0	0.4	0.0	0.5	0.0
Observaciones	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Grados de Libertad	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Valor crítico	135.9		7.7							
Valor p	0.0002		0.0368							
Conclusión	Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula	
	No son iguales		No son iguales		No son iguales		No son iguales		No son iguales	

MEDIDAS DE RESUMEN POR LAMINILLA

Promedio G.4	9.0	1.2	10.2	1.6	1.2	0.3	0.0	0.0	1.7	0.0
Varianza	17.6	2.0	20.1	3.3	1.1	0.3	0.0	0.0	1.3	0.0
Desviación Est. G.4	4.2	1.4	4.5	1.8	1.1	0.5	0.0	0.0	1.2	0.0
Observaciones	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Grados de Libertad	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Valor crítico	8.6		6.1		4.1				642.3	
Valor p	0.0551		0.0862		0.1394				0.0001	
Conclusión	No se rechaza hipótesis nula		No se rechaza hipótesis nula		No se rechaza hipótesis nula		No se rechaza hipótesis nula		Se rechaza hipótesis nula	
	Sí son iguales		Sí son iguales		Sí son iguales		Sí son iguales		No son iguales	

Grupo 1 = 7 días, grupo 2 = 14 días, grupo 3 = 21 días, grupo 4 = 28 días
 Pruebas F de una cola, por lo tanto rechazas H_0 si p-value es menor a 0.05

Linfocitos										
Grupo	G. 1	G. 2	G. 3	G. 4		G. 2	G. 3		G. 3	G. 4
Promedio	24.9	18.7	16.4	9.0		18.7	16.4		16.4	9.0
Varianza	137.6	9.4	52.3	17.6		9.4	52.3		52.3	17.6
Desviación Estándar	11.7	3.1	7.2	4.2		3.1	7.2		7.2	4.2
Observaciones	5	3	5	4		3	5		5	4
Grados de Libertad	4	2	4	3		2	4		4	3
Valor crítico		14.7	2.6	7.8		5.6			3.0	
Valor p		0.0648	0.1855	0.0615		0.0698			0.1994	
Conclusión:		No rechaza hi	No rechaza hi	No rechaza hipóte		No se rechaza hipótesis nula			No se rechaza hipótesis nula	
		Varianzas igu	Varianzas igu	Varianzas iguales		Varianzas iguales			Varianzas iguales	

Macrófagos										
Grupo	G. 1	G. 2				G. 2	G. 3		G. 3	G. 4
Promedio	12.9	12.4				12.4	5.5		5.5	10.2
Varianza	27.5	32.2				32.2	9.0		9.0	20.1
Desviación Estándar	5.2	5.7				5.7	3.0		3.0	4.5
Observaciones	5	3				3	5		5	4
Grados de Libertad	4	2				2	4		4	3
Valor crítico		1.2				3.6			2.2	
Valor p		0.5093				0.1285			0.2677	
Conclusión:		No se rechaza hipótesis nula				No se rechaza hipótesis nula			No se rechaza hipótesis nula	
		Varianzas iguales				Varianzas iguales			Varianzas iguales	

Células Plasmáticas										
Grupo	G. 1	G. 2				G. 2	G. 3		G. 3	G. 4
Promedio	9.9	5.6				5.6	3.5		3.5	1.2
Varianza	14.8	0.2				0.2	1.5		1.5	1.1
Desviación Estándar	3.8	0.5				0.5	1.2		1.2	1.1
Observaciones	5	3				3	5		5	4
Grados de Libertad	4	2				2	4		4	3
Valor crítico		73.1				7.2			1.3	
Valor p		0.0135				0.0469			0.4316	
Conclusión:		Sí se rechaza hipótesis nula				Sí se rechaza hipótesis nula			No se rechaza hipótesis nula	
		Varianzas diferentes				Varianzas diferentes			Varianzas iguales	

Basófilos

Grupo	G. 1	G. 2			G. 2	G. 3		G. 3	G. 4
Promedio	0.3	0.1			0.1	0.5		0.5	0.0
Varianza	0.2	0.0			0.0	0.2		0.2	0.0
Desviación Estándar	0.4	0.2			0.2	0.4		0.4	0.0
Observaciones	5	3			3	5		5	4
Grados de Libertad	4	2			2	4		4	3
Valor crítico	6.3				6.6			#¡DIV/0!	
Valor p	0.1410				0.0542			#¡DIV/0!	
Conclusión:	No se rechaza hipótesis nula Varianzas iguales				No se rechaza hipótesis nula Varianzas iguales			Sí se rechaza hipótesis nula Varianzas diferentes	

CGMN

Grupo	G. 1	G. 2			G. 2	G. 3		G. 3	G. 4
Promedio	0.0	0.0			0.0	0.4		0.4	1.7
Varianza	0.0	0.0			0.0	0.3		0.3	1.3
Desviación Estándar	0.0	0.0			0.0	0.5		0.5	1.2
Observaciones	5	3			3	5		5	4
Grados de Libertad	4	2			2	4		4	3
Valor crítico	#¡DIV/0!				#¡DIV/0!			5.1	
Valor p	#¡DIV/0!				#¡DIV/0!			0.1054	
Conclusión:	No se rechaza hipótesis nula Varianzas iguales				Sí se rechaza hipótesis nula Varianzas diferentes			No se rechaza hipótesis nula Varianzas iguales	

Grupo 1 = 7 días, grupo 2 = 14 días, grupo 3 = 21 días, grupo 4 = 28 días

Pruebas F de una cola, por lo tanto rechazas Ho si p-value es menor a 0.05

Linfocitos											
Grupo	G. 1	G. 2	G. 3	G. 4		G. 2	G. 3	G. 4		G. 3	G. 4
Promedio	24.9	18.7	16.4	9.0		18.7	16.4	9.0		16.4	9.0
Varianza	137.6	9.4	52.3	17.6		9.4	52.3	17.6		52.3	17.6
Desviación Estándar	11.7	3.1	7.2	4.2		3.1	7.2	4.2		7.2	4.2
Observaciones	5	3	5	4		3	5	4		5	4
Grados de Libertad	4	2	4	3		2	4	3		4	3
Supuesto varianza											
Prueba t		0.8779	1.3849	2.5496		0.5089	3.3321			1.7900	
p-value		0.207	0.102	0.019		0.314	0.010			0.058	
Conclusión		No rechaza hipot	No rechaza hipot	Rechaza hipótesis nula		No rechaza hipot	Rechaza hipótesis nula			No rechaza hipótesis nula	
		Promedios igua	Promedios igua	Promedios diferentes		Promedios igua	Promedios diferentes			Promedios iguales	

Macrófagos											
Grupo	G. 1	G. 2	G. 3	G. 4		G. 2	G. 3	G. 4		G. 3	G. 4
Promedio	12.9	12.4	5.5	10.2		12.4	5.5	10.2		5.5	10.2
Varianza	27.5	32.2	9.0	20.1		32.2	9.0	20.1		9.0	20.1
Desviación Estándar	5.2	5.7	3.0	4.5		5.7	3.0	4.5		3.0	4.5
Observaciones	5	3	5	4		3	5	4		5	4
Grados de Libertad	4	2	4	3		2	4	3		4	3
Supuesto varianza											
Prueba t		0.1168	2.7423	0.8320		2.3273	0.6014			1.8728	
p-value		0.455	0.013	0.216		0.029	0.287			0.052	
Conclusión		No rechaza hipot	Rechaza hipóte	No rechaza hipótesis nula		Rechaza hipóte	No rechaza hipótesis nula			No rechaza hipótesis nula	
		Promedios igua	Promedios difer	Promedios iguales		Promedios difer	Promedios iguales			Promedios iguales	

Células Plasmáticas											
Grupo	G. 1	G. 2	G. 3	G. 4		G. 2	G. 3	G. 4		G. 3	G. 4
Promedio	9.9	5.6	3.5	1.2		5.6	3.5	1.2		3.5	1.2
Varianza	14.8	0.2	1.5	1.1		0.2	1.5	1.1		1.5	1.1
Desviación Estándar	3.8	0.5	1.2	1.1		0.5	1.2	1.1		1.2	1.1
Observaciones	5	3	5	4		3	5	4		5	4
Grados de Libertad	4	2	4	3		2	4	3		4	3
Supuesto varianza											
Prueba t		1.8747	3.5459	4.3606		2.7878	6.6688			3.0502	
p-value		0.055	0.004	0.002		0.016	0.001			0.009	
Conclusión		No rechaza hipot	Rechaza hipóte	Rechaza hipótesis nula		Rechaza hipóte	Rechaza hipótesis nula			Rechaza hipótesis nula	
		Promedios igua	Promedios difer	Promedios diferentes		Promedios difer	Promedios diferentes			Promedios diferentes	

Basófilos

Grupo	Basófilos										
	G. 1	G. 2	G. 3	G. 4		G. 2	G. 3	G. 4		G. 3	G. 4
Promedio	0.3	0.1	0.5	0.0		0.1	0.5	0.0		0.5	0.0
Varianza	0.2	0.0	0.2	0.0		0.0	0.2	0.0		0.2	0.0
Desviación Estándar	0.4	0.2	0.4	0.0		0.2	0.4	0.0		0.4	0.0
Observaciones	5	3	5	4		3	5	4		5	4
Grados de Libertad	4	2	4	3		2	4	3		4	3
Supuesto varianza											
Prueba t		0.6922	0.9945	1.2979		1.6864	1.1952			2.5003	
p-value		0.257	0.175	0.118		0.071	0.143			0.020	
Conclusión		No rechaza hipótesis nula				No rechaza hipótesis nula				Rechaza hipótesis nula	
		Promedios iguales				Promedios iguales				Promedios diferentes	

CGMN

Grupo	CGMN										
	G. 1	G. 2	G. 3	G. 4		G. 2	G. 3	G. 4		G. 3	G. 4
Promedio	0.0	0.0	0.4	1.7		0.0	0.4	1.7		0.4	1.7
Varianza	0.0	0.0	0.3	1.3		0.0	0.3	1.3		0.3	1.3
Desviación Estándar	0.0	0.0	0.5	1.2		0.0	0.5	1.2		0.5	1.2
Observaciones	5	3	5	4		3	5	4		5	4
Grados de Libertad	4	2	4	3		2	4	3		4	3
Supuesto varianza											
Prueba t			1.6714	3.2872		1.2535	2.4401			2.2582	
p-value			0.067	0.007		0.128	0.029			0.029	
Conclusión		No rechaza hipótesis nula		Rechaza hipótesis nula		No rechaza hipótesis nula		Rechaza hipótesis nula		Rechaza hipótesis nula	
		Promedios iguales		Promedios diferentes		Promedios iguales		Promedios diferentes		Promedios diferentes	

Grupo 1 = 7 días, grupo 2 = 14 días, grupo 3 = 21 días, grupo 4 = 28 días

Pruebas t de una cola