



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**VALORACIÓN DE LA RESPUESTA HISTOLÓGICA DE
LA IMPLANTACIÓN SUBCUTÁNEA DE MATERIALES
COMPUESTOS EN RATAS *WISTAR SP.***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

JANETH SERRANO BELLO

**TUTOR: DR. MIGUEL ÁNGEL ARAIZA TÉLLEZ.
ASESORES: DRA. MARGARITA GARCÍA GARDUÑO.
C.D. DANIEL QUEZADA RIVERA.**

MÉXICO D. F.

2007



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.

Índice general.

Contenido

1. Resumen y summary.
2. Antecedentes.
 - 2.1. Biomateriales.
 - 2.2. Biocompatibilidad y desempeño biológico.
 - 2.3. Carbonato de calcio (CC).
 - 2.4. Carbonato de calcio de origen natural (CCN).
 - 2.5. Poliácido láctico (PAL).
3. Planteamiento del problema y justificación.
4. Objetivos.
 - 4.1. Objetivo general.
 - 4.2. Objetivos específicos
5. Hipótesis.
 - 5.1. Hipótesis de trabajo.
 - 5.2. Hipótesis nula.
6. Material y Método.
 - 6.1 Síntesis de PAL.
 - 6.2. Preparación del carbonato de calcio natural (CCN).
 - 6.3. Carbonato de calcio sintético (CC).
 - 6.4. Preparación del composite.
 - 6.5. Implantación del material.
 - 6.6. Recuperación de la muestra.
 - 6.7. Proceso histológico.
7. Resultados.
 - 7.1. Respuesta inflamatoria por grupo experimental.
 - 7.1.1 Grupo de CaCO_3 natural (CCN).
 - 7.1.2. Grupo de Poli Ácido Láctico (PAL).
 - 7.1.3. Grupo de Poli Acido Láctico/Carbonato de Calcio Natural (PAL/CCN).
 - 7.1.4. Grupo de Poli Ácido Láctico/Carbonato de Calcio sintético (PAL/CC).

7.2.. Análisis de resultados.

7.2.1.- Infiltrado celular por material implantado(CCN, PAL, PAL/CCN, PAL/CC).

7.2.2.- Infiltrado celular en función del tiempo(7, 14, 21, 28 días) de los 4 materiales.

8. Discusión.
9. Conclusiones.
10. Glosario.
11. Referencias.
12. Anexos.

Índice de fotografías.

No.	Título
1	Mellita <i>eduardobarrosoi</i> sp.
2	Proceso para la obtención de carbonato de calcio natural.
3	Carbonato de calcio de grado reactivo.
4	Preparación de las muestras.
5	Modelo animal.
6	Asignación del material por cuadrantes.
7	El material es implantado lo más distal a la incisión.
8	La muestra se ubicó a contra luz.
9	Fijación de la muestra en formaldehído al 10%.
10	Proceso de las muestras en el Laboratorio de Patología Experimental en la DEPEI UNAM.
11	Cortes histológicos de sitios implantados con CCN a 7 días.
12	Cortes histológicos a diferentes aumentos de sitios implantados con CCN a 14 días.
13	Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con CCN a 21 días.
14	Cortes histológicos de sitios implantados con CCN a 28 días.
15	Cortes histológicos a 100X de sitios implantados con PAL a 7 días.
16	Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con PAL a 7 días.
17	Cortes histológicos de sitios implantados con PAL a 14 días.
18	Corte histológico a 100X correspondiente a sitios implantados con PAL a 21 días.
19	Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con PAL a 21 días.
20	Cortes histológicos a 28 días posteriores a la implantación de PAL a 100X.
21	Cortes histológicos a 400X de sitios implantados con PAL posterior a los 28 días.
22	Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CCN a 7 días.
23	Cortes histológicos posteriores a los 14 días de implantación de PAL/CCN a 14 días.
24	Corte histológico a 100X correspondiente al sitio de implantación de PAL/CCN a 21 días.
25	Cortes histológicos a 400X de sitios implantados con PAL/CCN a 21 días.

- 26 Cortes histológicas de sitios implantados con PAL/CCN a 28 días.
- 27 Cortes histológicos correspondientes al sitio de implantación de PAL/CC a 7 días.
- 28 Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CC a 14 días a 100X.
- 29 Cortes histológicos a 400X de sitios implantados con PAL/CC posterior a 14 días.
- 30 Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con PAL/CC a 21 días.
- 31 Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CC posterior a los 28 días.



Índice de figuras.

No.	Título
1	Fases más comunes del CaCO_3 .
2	Ácido láctico y formas estequiométricas.
3	Componentes del sistema para la síntesis de ácido láctico en atmósfera inerte.

Índice de tablas.

No.	Título
1	Porcentaje en peso.
2	Criterios de biocompatibilidad según la norma No. 41 de la ADA.
3	Tipo de infiltrado inflamatorio.
4	Células presentes.
5	Respuesta histológica de la implantación subcutánea de 4 materiales en tejido celular subcutáneo de ratas Wistar.

Índice de gráficas.

No.	Título
1	Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de CCN en ratas <i>Wistar</i> .
2	Presencia de CGCE en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> posterior a la implantación de CCN.
3	Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de PAL en ratas <i>Wistar</i> .
4	Presencia de CGCE posterior a la implantación de PAL en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> .
5	Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de PAL/CCN en ratas <i>Wistar</i> .
6	Presencia de CGCE posterior a la implantación de PAL/CCN en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> .
7	Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de PAL/CC en ratas <i>Wistar</i> .
8	Presencia de CGCE posterior a la implantación de PAL/CC en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> .
9	Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 7 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.
10	Presencia de células gigantes de cuerpo extraño en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 7 días de implantación de los diferentes materiales.
11	Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 14 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.
12	Presencia de células gigantes de cuerpo extraño en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 14 días de implantación de los diferentes materiales.
13	Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 21 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.
14	Presencia de células gigantes de cuerpo extraño en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 21 días de implantación de los diferentes materiales.
15	Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 28 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.
16	Presencia de células gigantes de cuerpo extraño en tejido celular subcutáneo de ratas <i>Wistar</i> a los 28 días de implantación de los diferentes materiales.

Valoración de la respuesta histológica de la implantación subcutánea de materiales compuestos en ratas *Wistar sp.*

1.- Resumen.

En la ciencia de materiales, la tendencia actual es el desarrollo de sustancias que aprovechen las cualidades de los distintos componentes en la formación de uno nuevo con un fin específico, es decir, un composite. El objetivo de este trabajo fue la valoración de la respuesta histológica posterior a la implantación subcutánea, en ratas *Wistar*, de materiales compuestos de poliácido láctico (PAL) adicionado con distintas cargas inorgánicas. Se prepararon muestras de materiales compuestos de PAL y CaCO_3 sintético (CC) y natural (CCN) que fueron implantadas en 20 ratas *Wistar* en un periodo de 7, 14, 21 y 28 días. Al término de cada periodo las muestras fueron recuperadas y se procesaron histológicamente, se tiñeron con hematoxilina y eosina. Los cortes fueron observados en un fotomicroscopio para determinar el tipo de infiltrado inflamatorio presente en los sitios implantados (CCN, PAL, PAL/CCN y PAL/CC). En todos los grupos, de los 7 a los 14 días, la respuesta fue caracterizada por un infiltrado inflamatorio crónico de moderado a leve, con presencia de células gigantes de cuerpo extraño, esto disminuyó con el paso del tiempo y se produjeron haces de colágena alrededor del implante a los 21 y 28 días (CCN, PAL/CCN, PAL/CC), con tendencia a la cicatrización (PAL/CC). En conclusión, los diferentes materiales probados son compatibles con los tejidos, sin embargo es necesario continuar con diferentes pruebas tanto *in vitro* como *in vivo*.

Summary.

A tendency in materials science is to create materials with improved properties; composite materials are a good example of that. The purpose of this work was to determine the histological response of subcutaneous tissue after implantation of poly-lactic acid added with different inorganic charges. Twenty healthy adult *Wistar* rats were implanted with composite materials Poly-lactic acid (PLA) and synthetic and natural CaCO_3 (CC and NCC respectively) during 7, 14, 21 and 28 days. After post-implantation periods, experimental sites were recovered and processed for histological evaluation, and observed in a photomicroscope in order to determine the inflammatory response. At periods of 7 and 14 days, the cellular response was characterized by chronic inflammatory infiltrate, ranged from moderate to light severity. The foreign-body giant cells were decreasing as time gone, and a collagen capsule was formed around the NCC, PLA/NCC and PLA/CC sites. The capsule formed around materials could be considered as a tendency to adaptation. In conclusion, composite materials showed compatibility, however is necessary to make more *in vitro* and *in vivo* test.

2.- Antecedentes.

La aplicación de biomateriales para el tratamiento de lesiones óseas, ha evolucionado en gran medida en las últimas décadas, cuyo objetivo es el de desarrollar materiales con un mejor desempeño biológico, aprovechando las cualidades de diferentes componentes para la formación de uno nuevo, es decir, un composite, tal es el caso de los que se están desarrollando en el laboratorio de Materiales Dentales y Biomateriales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación en Odontología de la UNAM, los cuales son una mezcla de poliácido láctico con carbonato de calcio sintético y poliácido láctico con carbonato de calcio de origen natural (*mellita eduardobarrosoi*, sp.nov), esperando que sean estos una alternativa tecnológica en el tratamiento de lesiones óseas en odontología y medicina. Para lograrlo, es indispensable realizar una serie de fases experimentales, una de ellas es la evaluación biológica posterior al implante ya que el organismo esta preparado para reconocer, reaccionar y defenderse de manera automática e inmediata frente a todo material extraño como forma particular de un proceso de defensa, ya que estos composites pueden tener un adecuado desarrollo físico, pero de alguna manera pueden poseer efectos adversos indeseables, por lo cual en este proyecto se pretende valorar la respuesta inflamatoria que se puede producir alrededor de la muestra del material posterior a 7, 14, 21 y 28 días de la implantación en el tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar*, pretendiendo que esta respuesta sea mínima y reaccione lo mejor posible en el tejido.

2.1.- Biomateriales.

Los biomateriales son materiales de origen sintético o natural, destinados a estar en contacto e interactuar con el sistema biológico⁽¹⁾, son utilizados en los procesos de reparación, restauración e incluso sustitución de tejidos u órganos humanos que han sufrido daños considerables por diversas causas, y poder

conseguir con ellos soluciones óptimas a gran cantidad de problemas biomédicos que se presentan en la sociedad⁽²⁾. Atendiendo a las propiedades y requisitos que hacen necesaria la selección de materiales para diferentes aplicaciones como los materiales de injerto óseo, se pueden agrupar en tres categorías generales, estas son: autoinjertos, obtenidos de un sitio óseo donador en el mismo sujeto, aloinjertos, obtenidos de un sujeto diferente dentro de la misma especie y aloplásticos, materiales sintéticos, cuyo origen puede ser natural o completamente sintético⁽³⁾. En este grupo de los materiales sintéticos, la naturaleza química de los mismos se toma como parámetro para dividirlos en subgrupos: materiales metálicos, cerámicos, poliméricos y materiales compuestos o “composites”, que permiten la preparación de materiales con aplicaciones avanzadas de nuevas generaciones de implantes tanto para tejidos duros como blandos, bioestables o biodegradables⁽⁴⁾.

2.2.- Biocompatibilidad y desempeño biológico.

Biocompatibilidad es la capacidad de un determinado material para dar una respuesta apropiada en una aplicación específica⁽¹⁾. Inevitablemente la implantación de cualquier tipo de material en el organismo humano, o la aplicación de una determinada solución o dispersión inyectables, origina una respuesta del organismo, característica que no solo depende de la composición del biomaterial, sino de factores tan específicos como la forma, el tamaño, la geometría o las propiedades y características superficiales, con respecto a los materiales, y desde un punto de vista de las reacciones que se manifiestan en el organismo receptor, aspectos tan variables como la edad, sensibilidad inmunológica, estado de salud, zona donde se implanta, etc.. Con estas peculiaridades resulta muy complicado poder considerar unos criterios subjetivos que definan y establezcan claramente los parámetros de biocompatibilidad, teniendo en cuenta además que la respuesta puede ser muy diferente considerando implantes para tejido duro (hueso), para tejido blando, o en contacto con el flujo sanguíneo⁽⁴⁾.

La biocompatibilidad es compleja y de carácter específico, para darnos una idea de esto podemos considerar de forma general el proceso de la cicatrización tras la implantación de un dispositivo biomédico. Cuando se activan los mecanismos de cicatrización después de haber sido implantado un determinado biomaterial o dispositivo biomédico, la agresión producida al tejido receptor estimula una secuencia bien establecida de reacciones inflamatorias que finalmente conducen a la curación o cicatrización. El implante es reconocido como cuerpo extraño y las reacciones del organismo estarán moduladas por la capacidad de respuesta del organismo, así como por la zona afectada con una notable variación en cuanto a intensidad y tiempo dependiendo de las características anatómicas de la zona del implante. Por lo tanto, la consideración de las características anatómicas de la zona de implantación son necesarias para establecer la respuesta más previsible por parte del organismo receptor⁽⁵⁾.

Respecto a las características de los biomateriales, los factores más importantes que modulan la respuesta del organismo humano son; la naturaleza, composición, morfología y geometría de superficie de los materiales. De esta manera, la respuesta que provoca una superficie muy hidrofóbica puede ser muy diferente a la originada por una superficie hidrofílica, o la influencia de la rugosidad superficial puede ser de gran trascendencia en prótesis de articulaciones, donde la fricción entre componentes rotantes es de vital importancia para establecer la vida media de la prótesis, por ello se presta gran atención al análisis superficial de los dispositivos implantables, recurriendo a técnicas bien establecidas⁽⁶⁾.

2.3.- Carbonato de calcio (CC).

El carbonato de calcio (CaCO_3), es un mineral que se encuentra abundantemente en la naturaleza⁽⁷⁾ y está presente en gran parte de los procesos químicos, físicos y biológicos, prácticamente durante todo el tiempo geológico, una de las razones de la amplia distribución del CaCO_3 es la independencia de los iones Ca^{+2} y CO_3 en potencial redox⁽⁷⁾.

El CaCO_3 se encuentra en la naturaleza, según sus características fisicoquímicas (solubilidad, densidad y morfología)⁽⁸⁾, en una fase amorfa la cual es el *carbonato de calcio amorfo* (CCA) y tres fases cristalinas, las cuales son:

vaterita (V) de forma hexagonal, *calcita* (C) de forma romboidal y *aragonita* (Ar) de forma ortorrómbica^(8, 9, 10). (Fig. 1).

La fase menos estable e importante del CaCO_3 es la *vaterita* y se encuentra en altas temperaturas bajo circunstancias geológicas, esta precipita rápidamente a *calcita* o *aragonita* en soluciones acuosas^(10, 11).

La *calcita* y la *aragonita*, son las fases más estables del CaCO_3 en condiciones ambientales, siendo la *calcita* la más abundante en la naturaleza (más del 90%)⁽¹¹⁾, ambas están presentes en numerosos sistemas biológicos y tejidos mineralizados, esta presencia se activa a través de procesos de biomineralización, genéticamente comandados y controlados por células que son responsables de sintetizar matrices biológicas que permitan al organismo el control de la microestructura, morfología y crecimiento de los cristales durante la mineralización⁽¹²⁾.

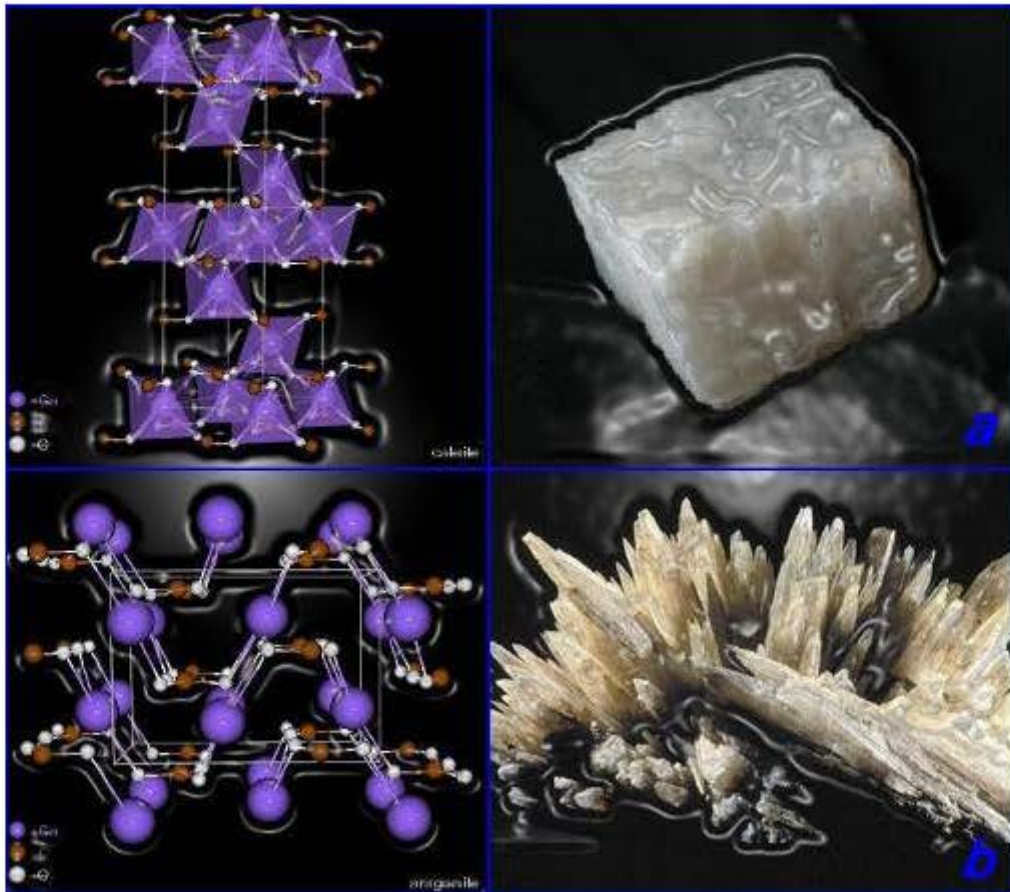


Figura 1.- Fases más comunes del CaCO_3 , izquierda estructura química, derecha forma mineral de a) calcita y b) aragonita.

El carbonato de calcio es el principal componente de los esqueletos de los artrópodos y este se forma directamente en la superficie estructural de la célula de dichos organismos ⁽¹²⁾.

En los corales y el nácar, el CaCO_3 se encuentra en forma cristalina de *aragonita*, con el cual se han desarrollado sustitutos óseos por su alta biocompatibilidad, estos se han empleado por más de 30 años como polvos, cerámicas porosas y geles. Diversos estudios *in vivo* reportan que el CaCO_3 derivado del coral es una biocerámica macroporosa que promueve el crecimiento óseo, por lo cual se debe obtener un balance entre osteogénesis y la resorción del biomaterial, para obtener buenos resultados clínicos ⁽⁹⁾.

Los rechazos de los sustitutos óseos a base de coral pueden deberse a la presencia de residuos orgánicos en el material ⁽⁹⁾.

Como el CaCO_3 , es uno de los materiales más abundantes en el planeta, también es uno de los más aplicados en diferentes industrias, utilizándolo en la

elaboración de papel, plástico, toallas sanitarias, comida enriquecida con calcio entre otras ^(8, 9). Se sabe que este es un mineral que puede causar cambios en la síntesis de polímeros, ya que las propiedades de dichas partículas (tamaño y forma) pueden provocar un efecto significativo, especialmente en su comportamiento ⁽¹³⁾.

2.4.- Carbonato de calcio de origen natural (CCN).

Entre los invertebrados marinos, existen organismos que como parte de su desarrollo constituyen su esqueleto a partir de la síntesis y precipitación de carbonato cálcico, este proceso pueden llevarlo a cabo como reparación después de una agresión, o como muestra de adaptación ⁽¹⁴⁾. El invertebrado comúnmente llamado estrella de mar o dólar de mar, taxonómicamente se le identifica como la especie *mellita eduardobarrosoi sp*, perteneciente al género *mellita (Me)*, de la familia *mellitidae*, del orden *Clypeasteroidea*, clase equinoideo, del *phylum Echinodermata*⁽⁵⁾, esta especie es particular de las costas mexicanas y ha sido bien caracterizada desde el punto de vista biológico y de su posibilidad para ser considerado un biomaterial⁽¹⁵⁾, crece en un ambiente poco profundo y cercano a la playa, tiene forma de disco (fotografía 1) con 5 perforaciones largas (lúnulas), de coloración amarillo café a oro ocre con verde, esta coloración es debida a las fibras orgánicas que cubren su esqueleto, puede tener un diámetro de 115 mm., las características de composición química del esqueleto de los equinoideos los hacen ser uno de los modelos representativos de los procesos de calcificación⁽¹⁴⁾.



Fotografía 1.- *Mellita eduardobarrosoi* sp. a) vista frontal, b) vista dorsal.

El esqueleto del equinodermo es distinto en su estructura básica, la apariencia en fotomicrografías de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) de una de sus unidades esqueléticas, muestra una apariencia de enrejado calcáreo compuesto de calcita magnésica. La forma de este enrejado mineral comúnmente parece una construcción en la cual una superficie divide al espacio en dos regiones interpenetrantes, cada una continúa y cruza con la que no tiene conexiones, los espacios interconectados en la unidad esquelética están llenos con una dermis consistente de una variedad de tipos celulares y fibras de colágena. Mientras una epidermis cubre la superficie externa del esqueleto, células específicas de la dermis elaboran el enrejado calcificado. Las áreas llenas de dermis constituyen el 10% al 50% del volumen esquelético, dependiendo de la región y las especies⁽¹⁵⁾.

2.5.- Políácido láctico (PAL).

El políácido láctico (PAL) es un poliéster alifático derivado del ácido láctico (ácido 2-hidroxiopropanoico). El ácido láctico es un ácido orgánico que se encuentra en diferentes productos de origen natural, se produce en la naturaleza por animales y microorganismos, y también como producto secundario de la síntesis del acetaldehído y el etanol o incluso se puede producir a partir de productos del carbón (acetileno) y del aceite (etileno)⁽¹⁶⁾.

Los polímeros fabricados con ácido láctico, han demostrado una baja estabilidad en condiciones de humedad, lo cual hizo que este tipo de polímeros no se considerara relevante sino hasta después de 1960, cuando se consideraron las ventajas de su uso en aplicaciones medicas. En las últimas décadas ha crecido enormemente la investigación y el desarrollo de polímeros a partir de ácido láctico para uso médico y tecnológico⁽¹⁷⁾. En este sentido existe gran cantidad de estudios que hacen referencia al diseño, al peso molecular, a su uso en aplicaciones médicas, biodegradación, degradación hidrolítica en diferentes ambientes y su uso como polímeros y biocomposites para la sustitución ósea⁽¹⁸⁾. Existen diferentes maneras de clasificar a los polímeros derivados del ácido láctico, ya sea por los medios y técnicas de polimerización, por las propiedades específicas, estructura e incluso por el uso que se les da⁽¹⁷⁾.

La estructura de los polímeros se relaciona con el tipo y el orden de las unidades repetitivas (monómeros) que lo constituyen, pero principalmente se asocia con el tipo de ramificaciones que contiene (lineal, pocas ramificaciones, muchas ramificaciones, en forma de cepillo, en forma de estrella o entrecruzado).

Existe otra clasificación de acuerdo al tipo de polimerización, esta determina la nomenclatura del polímero, en primer lugar tenemos a los polímeros sintetizados por policondensación (PC) los cuales se denominan poli(ácido láctico) y en segundo lugar a los polímeros sintetizados por apertura de anillos (Ring Opening Polymerization ROP) los cuales son denominados como poli(lactide), en cualquiera de los casos, en la literatura son considerados como PAL (poliácido láctico)⁽¹⁷⁾.

Las propiedades de los polímeros de ácido láctico (PAL's) varían de acuerdo a la estequiometría del ácido y su distribución⁽¹⁷⁾ (fig. 2).

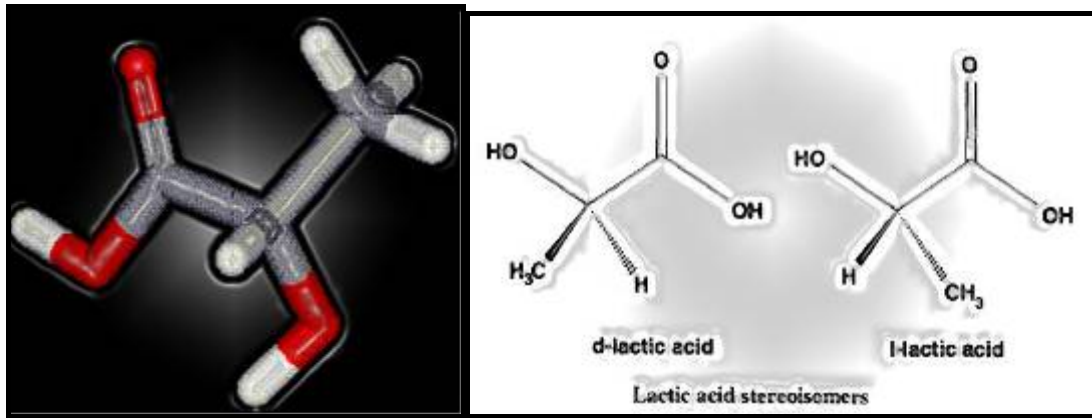


Figura 2.-Ácido láctico y formas estequiométricas.

Poli(ácido láctico) por policondensación.

Estos polímeros consisten en la repetición de las unidades estructurales del ácido láctico, y la polimerización se lleva a cabo por un simple proceso de polimerización por condensación, en la cual, en el caso del ácido láctico, al polimerizar crea como subproducto agua. Este tipo de polímeros, se sintetizan a partir de ácido láctico. La desventaja que presenta este tipo de polimerización, es la obtención de polímeros con un peso molecular bajo, y al mismo tiempo amorfo, a diferencia de los polímeros sintetizados por apertura de anillos, donde podemos obtener altos pesos moleculares y estructuras cristalinas⁽¹⁷⁾.

El peso molecular es un factor determinante de las propiedades mecánicas del polímero, en el caso del PAL sintetizado por condensación, su peso molecular es bajo, lo hace indicado para aplicaciones médicas, por ejemplo liberación de fármacos⁽¹⁷⁾.

Existen diferentes maneras para obtener pesos moleculares elevados en los polímeros sintetizados por condensación, utilizando para ello solventes orgánicos⁽¹⁹⁾, o a través de agentes multifuncionales de ramificación, como el dipentaeritritol, lo cual forma polímeros ramificados en forma de estrella ⁽¹⁷⁾, otra manera es a través de una policondensación secuencial en base a la fundición y endurecimiento del polímero ⁽²⁰⁾.

El peso molecular que se obtiene en los polímeros sintetizados por condensación, se pueden clasificar en tres grupos; bajo (<20 kDa.), medio (20 – 70 kDa.) y alto peso molecular (> 70kDa.)⁽¹⁷⁾. La policondensación forma polímeros de forma lineal y generalmente con peso molecular bajo y medio, sin

embargo, utilizando las técnicas sugeridas por Ajioka y Kim, se pueden obtener altos pesos moleculares y polímeros ramificados.

Propiedades termo físicas.

El PAL puro, es un polímero semicristalino con una temperatura de transición vítrea (T_g) que oscila entre los 55°C y tiene un punto de fusión (T_m) de 180°C , el polímero del ácido láctico, es en general amorfo, sin embargo se puede obtener una estructura cristalina, pseudo – ortorrómbica para el PAL⁽¹⁷⁾.

Solubilidad.

La solubilidad del PAL, depende del peso molecular, del grado de cristalinidad y de la presencia o ausencia de copolímeros. Para el PAL puro, los solventes orgánicos clorados o fluorados, así como el dioxano, dioxolano y el furano son excelentes solventes. En el caso de los polímeros obtenidos por apertura de anillos, además de los anteriores solventes, funcionan la acetona, piridona, etil lactato, tetrahidrofurano, xilol, etil acetato, dimetilsulfoxido, N–dimetilformoamida y la metil – etil cetona. Por otro lado, también se sabe que en compuestos como el agua, alcoholes (metanol, etanol propilenglicol) y ciertos hidrocarburos (hexanos, heptano) el PAL es insoluble, a pesar de esto, se ha demostrado que una combinación de acetona–metanol (50/50) en volumen, es capaz de disolver cualquier tipo de PAL⁽¹⁷⁾.

Propiedades mecánicas.

Las propiedades mecánicas del PAL varían, obteniendo polímeros suaves y elásticos, e incluso rígidos y resistentes. Los polímeros semicristalinos tienen mejores propiedades mecánicas que los amorfos.

En el caso de los semicristalinos, estos refieren valores de 3 GPa para el módulo elástico en tensión, 50 a 70 MPa para resistencia a la tensión, 5 GPa de módulo de flexión, 100 MPa para resistencia a la flexión y una elongación de 4% antes de la ruptura. El peso molecular del polímero, o bien el grado de cristalinidad son determinantes por las propiedades mecánicas⁽¹⁷⁾.

Estabilidad térmica.

La estabilidad térmica de los poliésteres alifáticos es limitada, con lo que respecta a los polímeros obtenidos a partir del ácido láctico y sus variantes, la estabilidad térmica es pobre a temperaturas elevadas. La tendencia de los polímeros derivados del ácido láctico a absorber agua agrava el problema, dando lugar a la termohidrólisis, los polímeros amorfos son altamente higroscópicos, en cambio los semicristalinos solo absorben humedad en un bajo porcentaje. Se ha demostrado que la cantidad de humedad presente en el polímero, es determinante para la degradación térmica que puede sufrir, a mayor humedad menor estabilidad⁽¹⁷⁾.

Estabilidad hidrolítica.

La hidrólisis en los polímeros ocasiona la fragmentación molecular, la cual puede considerarse como una policondensación inversa. El proceso de hidrólisis dependiendo de las condiciones de humedad, afecta al polímero en la estructura química, la masa molar, pureza, morfología y color, lo cual repercute en el tiempo de vida del polímero. Este fenómeno es indeseable, principalmente cuando se trata de su almacenamiento, sin embargo es benéfico para las aplicaciones médicas⁽¹⁷⁾.

La hidrólisis inicia con una primera fase de absorción de agua seguida de una ruptura aleatoria de todos los enlaces éster, esto de acuerdo al principio de Flory, el cual dice que todos los enlaces iguales tiene la misma actividad. Esta ruptura genera gran cantidad de finales de cadena, disminuyendo el volumen del polímero cristalino. El grado inicial de cristalinidad de los polímeros afecta el nivel de degradación hidrolítica ya que las propiedades cristalinas reducen la penetración de agua en la matriz⁽¹⁷⁾.

En resumen las partes amorfas del poliéster son las primeras en hidrolizarse, antes que las proporciones cristalinas, debido a la gran cantidad de agua que absorben las primeras.

3.- Planteamiento del problema y justificación.

La utilización de biomateriales para el tratamiento de lesiones óseas, independientemente de la etiología, ha tenido un gran desarrollo en las últimas décadas, sin embargo, aún no se consigue un material que cumpla con todos los requisitos del desempeño biológico. La tendencia en la ciencia de materiales es la de aprovechar las cualidades de diferentes componentes en la formación de uno nuevo, es decir, de un composite, tal es el caso de los materiales que se están desarrollando en el laboratorio de materiales dentales y biomateriales de la División de Estudios de Posgrado e Investigación en Odontología de la UNAM, dichos composites son una mezcla de poliácido láctico (PAL) y de cargas inorgánicas (carbonato de calcio sintético y natural) con propiedades diferentes. Por un lado, el PAL es utilizado como matriz que da estabilidad y se absorberá en un periodo relativamente corto, dando lugar a que el relleno permanezca el mayor tiempo posible y la reconstrucción del defecto óseo sea mayor. Los materiales de poliácido láctico y carbonatos de calcio son materiales que por su composición son biocompatibles con los tejidos humanos, sin embargo, al ser sintetizados en el laboratorio de materiales dentales, no se tiene conocimiento del desempeño biológico que estos producirán ya que estos están en etapa de desarrollo y es necesario determinar su potencial biológico y su posibilidad de continuar en etapas posteriores de evaluación.

4.- Objetivos.

4.1.- General:

- Evaluar el tipo de respuesta inflamatoria posterior a la implantación subcutánea de materiales compuestos de poliácido láctico y carbonato de calcio sintético y natural en ratas *Wistar*.

4.2.- Específicos:

- Evaluar la presencia de células inflamatorias en la zona de implantación de los materiales (PAL, PAL con carbonato de calcio natural, PAL con carbonato de calcio sintético y carbonato de calcio natural), a los 7, 14, 21 y 28 días posteriores a su implantación en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*.
- Evaluar cual de los diferentes materiales produce una mayor respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas *Wistar* en los diferentes periodos de tiempo.
- Evaluar cual de los diferentes materiales produce una menor respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas *Wistar* en los diferentes periodos de tiempo.
- Determinar si existe la formación de una pseudocápsula de fibrina alrededor del implante.

5.- Hipótesis.

5.1.- H_1 : Los materiales compuestos de poliácido láctico/carbonato de calcio sintético y natural y el PAL son biocompatibles al ser implantados en tejido celular subcutáneo de ratas Wistar.

5.2.- H_0 : Los materiales compuestos de poliácido láctico/carbonato de calcio sintético y natural y el PAL, no son biocompatibles cuando son implantados en tejido celular subcutáneo de ratas Wistar.

6.- Material y Método.

Con la finalidad de conocer el desempeño biológico de los materiales a base de PAL y CaCO_3 se llevó a cabo un estudio longitudinal, prospectivo en 20 ratas Wistar obtenidas del bioterio de la Facultad de Medicina de la UNAM, las cuales fueron machos sanos, adultos jóvenes de aproximadamente 250 g de peso, para lo cual el material que se utilizó fue el siguiente:

Reactivos químicos:

- Ácido Láctico 85% [$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$] (J.T Baker® ACS)
- Trióxido de antimonio [Sb_2O_3] (J.T Baker® ACS)
- Carbonato de calcio [CaO_3] (J.T Baker® grado reactivo)
- Carbonato de calcio natural [CaO_3] (Me)
- Acetona [$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$] (Reactivos analíticos REASOL)
- Metanol [CH_3OH] (Reactivos analíticos REASOL)
- Nitrógeno [N] (Reactivos analíticos REASOL)
- Formol al 10% [CH_2O] (Reactivos analíticos REASOL)
- Ácido nítrico al 5% [HNO_3] (J.T Baker® ACS)

Equipo:

- Reactor de polimerización con atmósfera inerte
- Mesa de disección
- Jung Histokinette 2000 (Leica ®)
- Fotomicroscopio (Axiolab Zeiss ®)

Varios:

- *Campos quirúrgicos*
- *Guantes*
- *Cubre bocas*

- *Lentes de protección*
- *Rasuradora*
- *Solución estéril*
- *Loseta de vidrio*
- *Hilo cáñamo*
- *Jeringa hipodérmica de 1 ml.*
- *Hoja de bisturí # 15*
- *Mango de bisturí del #3, (Hu – Friedy)*
- *Espátula 7ª (Hu – Friedy)*
- *Porta agujas (Hu – Friedy)*
- *Espátula para cemento (Hu – Friedy)*
- *Tijeras para cortar sutura (Hu - Friedy)*
- *Seda USP 3 – 0 /EP2 (Atramat)*
- *Silicona pesada (Optosil / Xantoprem Heraeus Kulzer)*
- *Gasas de algodón (Medicom)*
- *Parafilm (American Nacional Can TM)*
- *150 Porta objetos con pantalla de 26 X76 mm. (Madesa)*
- *150 cubre objetos 24 X50 mm. (Madesa)*
- *2 Kg. Parafina (Paraplast)*
- *Navajas desechables de perfil bajo 35°/75 mm. (Shandon)*
- *Mortero y pistilo*
- *Tamiz (Fiicsr)*

Fármacos:

- Clorhidrato de Ketamina solución inyectable (Ketalin®)
- Yodopovidona (Isodine®)

Recursos financieros:

Este trabajo fue apoyado por el proyecto IN-121205 del Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) UNAM.

6.1.- Síntesis de PAL.

Para la síntesis de PAL se utilizó un reactor de polimerización en condiciones de atmósfera inerte (N_2) (figura 3).

En una balanza analítica se pesaron 80g. de ácido láctico al 85 % y 0.0400 g. de trióxido de antimonio, ambos reactivos se vertieron en un matraz para su polimerización, por lo cual, todas las salidas del reactor fueron selladas con parafilm para evitar fugas durante dicha reacción. La polimerización se consiguió mediante la mezcla continua de los reactivos con un agitador magnético con flujo constante de nitrógeno N_2 , a una temperatura constante de $180^\circ C$ durante 7 horas⁽²⁰⁾.

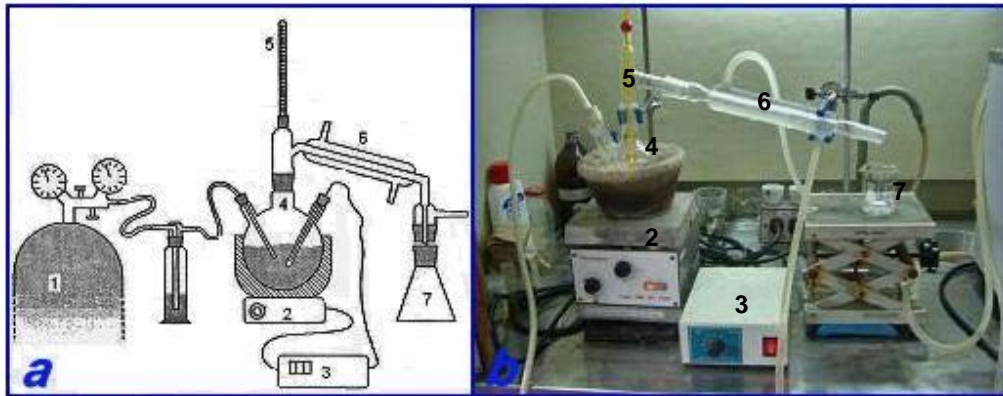


Figura 3.- En la figura a se observan los componentes del sistema para la síntesis de ácido láctico en atmósfera inerte⁽²⁰⁾; 1) tanque de nitrógeno, 2) agitador magnético, 3) variador de potencia, 4) matraz, 5) termómetro, 6) condensador, 7) recipiente recolector de agua. En la figura b, se observa la fotografía del reactor de polimerización del Laboratorio de Materiales Dentales, DEPEI, UNAM.

6.2.- Preparación del carbonato de calcio natural (CCN).

Los esqueletos de la mellita *eduardobarrosoi*, *sp.nov.* (Me) (fotografía 2a) se colocaron en una solución de NaClO al 15% durante 24 horas, con la finalidad de

remover los restos de tejido orgánico, posteriormente se lavó en agua corriente durante 30 minutos hasta eliminar dicha solución y restos de arena, a

continuación se trituro en un mortero (fotografía 2b y c) y se seco a una temperatura de 90°C durante 24 horas en una estufa (Felisa).

Una vez desecada la Me, se comprobó que no tuviera restos de arena, y se pulverizó en un mortero de ágata, posteriormente se cernió en un tamiz de 0.00017 pulgadas (Fiicsr, México) (fotografía 2d), de esta manera se obtuvo un material pulverizado que se consideró como carbonato de calcio natural (CCN). (fotografía 2).



Fotografía 2.- Proceso para la obtención de carbonato de calcio natural a) mellita *eduerdobarrosoi*, *sp.nov.*, b y c) mellita triturada, d) tamiz donde se cernió la mellita, obteniendo carbonato de calcio natural.

6.3.- Carbonato de calcio sintético (CC).

El carbonato de calcio que se utilizó fue de grado reactivo (fotografía 3), a 100.09 partes por millón (P.M.) de la marca J.T Baker®, con el número de lote D03338 de un frasco de 500 g.



Fotografía 3.- Carbonato de calcio de grado reactivo.

6.4.- Preparación del composite.

La preparación de las formulaciones, fue de acuerdo a proporciones entre el PAL y los compuestos de calcio que previamente demostraron tener un buen comportamiento mecánico (fotografía 4a) las proporciones se obtuvieron según su porcentaje en peso, el cual se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1.-Porcentaje en peso

Formulación	PAL	CaCO ₃ sintético (CC)	CaCO ₃ natural (CCN)	Ácido tartárico. (ac.TT)
PAL/ CCN	30		40	30
PAL/CC	30	40		30

Una vez que se obtuvo el porcentaje en peso de cada uno de los materiales, (PAL/CCN + ac.TT, PAL/CC + ac. TT), se incorporaron los polvos en un mortero hasta lograr una mezcla homogénea, posteriormente, en una loseta de vidrio se colocó una porción del polvo y se agregó agua destilada en cantidad

suficiente para obtener una consistencia homogénea, no fluida (fotografía 4b); después se transfirió a un hacedor de muestras elaborado previamente, con dimensiones de 1 x 1 x 10 mm. donde se dejaron los materiales mezclados durante 15 minutos, tiempo en el cual endurecieron, y de esta manera se obtuvo el composite (fotografía 4c).

El polvo de PAL se empacó en los hacedores de muestras los cuales se introdujeron en una estufa a 36°C, para que el polvo formara un bloque homogéneo, el cual se colocó posteriormente a un congelador para obtener una consistencia dura.

Para su esterilización, todos los materiales, previamente empaquetados en bolsas espaciales se introdujeron en un esterilizador de gas de óxido de etileno, en un ciclo de 18 horas.



Fotografía 4.- Preparación de las muestras; a) recipientes donde se almacenan los polvos del material y hacedores de muestras, b) mezcla homogénea del material con agua desionizada, c) colocación del material en los hacedores de muestras.

6.5.- Implantación material.

del

Para valorar la respuesta histológica del material, el modelo animal consistió de 20 ratas Wistar, machos, adultos jóvenes y sanos, de aproximadamente 250 g. de peso (fotografía 5), obtenidas del bioterio de la Facultad de Medicina, UNAM, las cuales se dividieron en grupos de 5 animales cada uno,

correspondiendo a los periodos de recuperación de los materiales implantados, para determinar posteriormente la respuesta histológica (7, 14, 21 y 28 días).



Fotografía 5.- Modelo animal, ratas wistar sp, machos, jóvenes adultos, de 250 mg de peso.

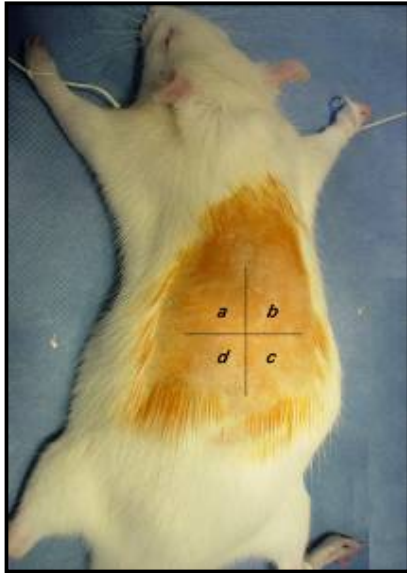
Antes de la intervención quirúrgica y como proceso de adaptación, los animales se mantuvieron en observación durante una semana. Para el procedimiento quirúrgico, se registró el peso de cada animal y se determinó la proporción del sedante (Ketamina, ketalin ®), el cual fue administrado por vía intramuscular en la proporción dosis/peso (40 mgrs/Kg)⁽²¹⁾.

La preparación del animal consistió de la cricotomía y rasurado de la piel del dorso y la aplicación de una solución antiséptica de yodopovidona (Isodine, Boeringer-Ingelheim, México).

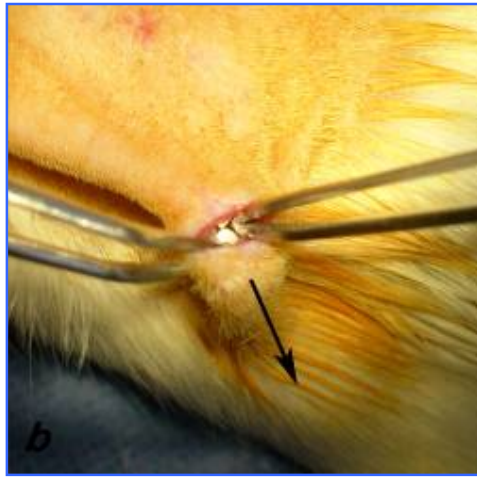
La zona preparada se dividió en cuadrantes, donde serían implantados los materiales de prueba; asignando las letras "A-D" de acuerdo al sentido del reloj (fotografía 6). Siendo "A" el cuadrante superior izquierdo (PAL/CCN), la B el superior derecho (PAL/CC), la C el inferior derecho (PAL) y la D el inferior izquierdo (CCN, control positivo).

Se realizó una incisión por cuadrante de aproximadamente 2 cm. cada una, utilizando hojas de bisturí #15, hasta llegar al tejido celular subcutáneo,

posteriormente se realizó disección roma del tejido con unas pinzas de mosco, formando un saco subcutáneo de aproximadamente 3 cm. En el fondo de este espacio se colocó el material (fotografía 7), por último se afrontó el tejido y se suturó con seda 3-0 mediante puntos aislados. En el periodo posquirúrgico, los animales fueron aislados, se les dio alimentación y agua *ad libitum*, sin administrar analgésico ni antibiótico en el posoperatorio.



Fotografía 6.- Asignación del material por cuadrantes, a) PAL/CCN, b) PAL/ CC, c) PAL, d) CCN.



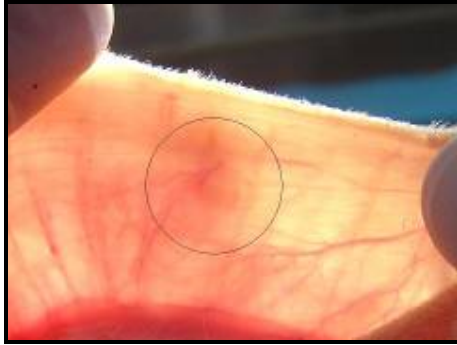
Fotografía 7.- El material es implantado lo más distal a la incisión.

6.6.- Recuperación de la muestra.

Al término del tiempo que permaneció el material en los animales (7, 14 21 y 28 días), el sacrificio se llevó a cabo mediante sobredosis de cloroformo hasta llegar al paro cardio - respiratorio. El método por el cual se recuperó el material fue haciendo una incisión vertical primaria en la parte media del lomo, posteriormente a contra luz se ubicó el implante (figura 8) y con unas tijeras se cortó alrededor del mismo, obteniendo una sección constituida por piel y tejido celular subcutáneo. Durante la recuperación de las muestras, se tuvo cuidado de no desplazar el implante o desgarrar el tejido.

Una vez que se obtuvieron las muestras se lavaron en agua desionizada y se fijaron durante 24 horas (figura 9) en solución de formaldehído al 10% a pH

neutro, y se llevaron al laboratorio de Patología Experimental de la División de Estudios de Posgrado e Investigación en Odontología de la UNAM, para ser procesadas histológicamente.



Fotografía 8.- La muestra se ubicó a contra luz, con el cuidado de no desplazarla.



Fotografía 9.- Fijación de la muestra en formaldehído al 10% durante 24 horas.

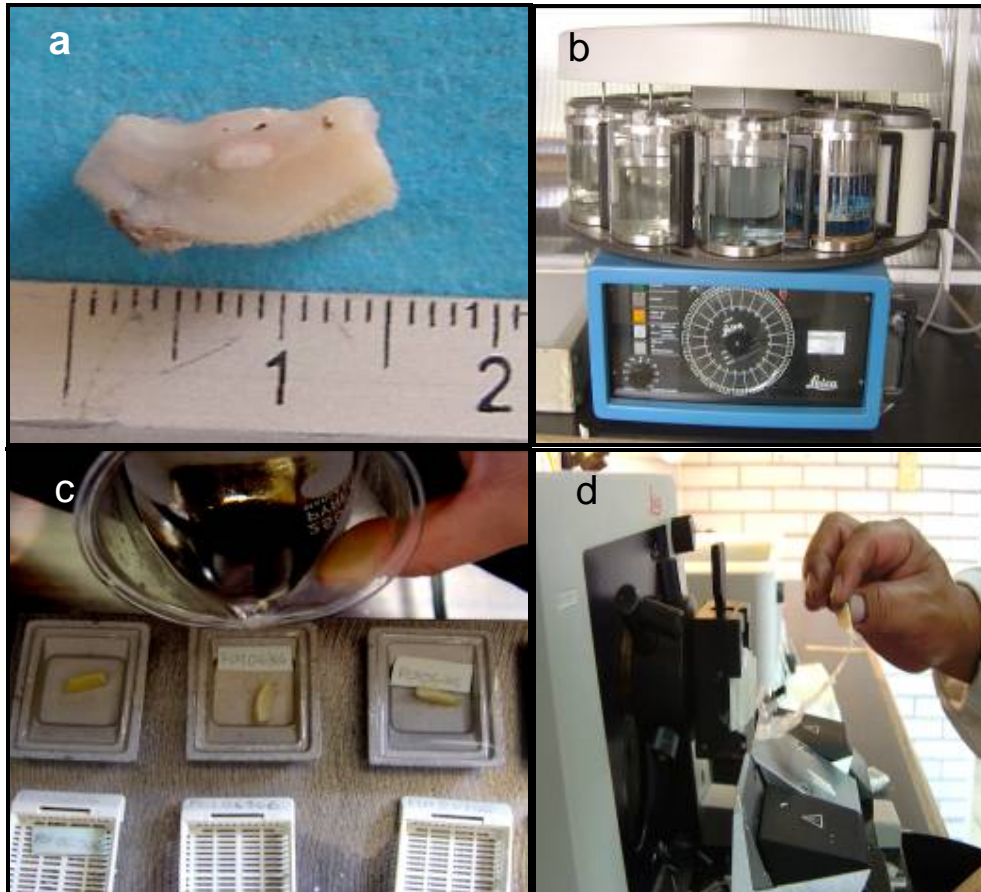
6.7.- Proceso histológico.

Posterior a la fijación en formol de las muestras, se realizó una incisión en sentido sagital para ubicar el material (fotografía 10a), el cual se marcó con tinta china para no perder la orientación, posteriormente las muestras se colocaron en cápsulas de procesamiento y se lavaron con agua corriente durante 4 horas.

Las muestras que contenían en su fórmula CCN o CC, se desmineralizaron en una solución de ácido nítrico al 5% (J.T Baker® ACS) durante 24 horas y posteriormente se lavaron en agua corriente por 3 horas.

Las muestras fueron procesadas durante 12 horas en un Histokinnet (fotografía 10b), donde se deshidrataron en alcohol en concentraciones crecientes de 50%, 70%, 90% y 100%, al finalizar este ciclo, se incluyeron en parafina orientadas según el punto de tinta china (fotografía 10c), y se hicieron cortes seriados de 5 micrómetros de espesor (fotografía 10d), posteriormente se

colocaron en una tina de flotación por 30 segundos a una temperatura de 20°C, donde se montaron en un portaobjetos, se metieron al tren de tinción con hematoxilina y eosina (H y E), finalmente se les colocó un cubreobjetos y se observaron las laminillas en un foto microscopio (Axiolab Zeiss ®) a 50X, 100X, y 400X.



Fotografía 10.- Proceso de las muestras en el laboratorio de Patología Experimental en la DEPeI UNAM, a) corte sagital de la muestra, donde se localiza el implante, b) proceso de las muestras en el histokinnet, c) inclusión en parafina de las muestras, d) micrótopo donde se cortaron las muestras a 5 μ m.

7.- Resultados.

De cada uno de los animales se obtuvieron 4 especímenes, tres por los sitios implantados y uno control, en total se recuperaron 80 muestras. En el proceso histológico de cada espécimen se hicieron 5 cortes de 5 μm de grosor, lo que produjo un total de 400 cortes, de los cuales se montaron 2 por laminilla de cada una de las muestras, haciendo un total de 80 laminillas que fueron teñidas con H y E.

La observación y estudio de las laminillas fue bajo un modelo doble ciego, en el cual participaron dos patólogos expertos, los cuales registraron sus observaciones en cédulas de recolección (Anexo 1) que contenían los siguientes elementos: Leucocitos polimorfo nucleares neutrófilos (LPNN), linfocitos (L), macrófagos (M), células plasmáticas (CP), células gigantes de cuerpo extraño (CGCE), tipo de infiltrado inflamatorio (agudo, crónico o mixto) y formación de una pseudocápsula. El resultado de estas observaciones fue utilizado para determinar el grado de biocompatibilidad según los criterios de la Norma No. 41 de la ADA (Tabla 2).

Tabla 2.- Criterios de biocompatibilidad según la norma No. 41 de la ADA ⁽²²⁾:

Tiempo	Nula	Moderada	Severa
2 semanas	Tejido bien organizado y mínima respuesta alrededor del implante y de la disección.	El tejido adyacente al implante presenta no en remarcable acumulación: leucocitos, linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y ocasionalmente CGCE. Mínima respuesta alrededor de la disección	Tejido desorganizado y abundantes neutrófilos, leucocitos, linfocitos. CGCE alrededor del implante. Mínima respuesta alrededor de la disección
12 semanas	Tejido bien organizado y mínima respuestas inflamatoria alrededor del implante.	El tejido adyacente al implante presenta no en remarcable acumulación: leucocitos, linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y ocasionalmente CGCE. Presencia de tejido fibroso solo alrededor del implante.	Severa reacción inflamatoria y fibrosa alrededor del implante, acumulación de linfocitos, células plasmáticas, macrófagos, CGCE y necrosis.

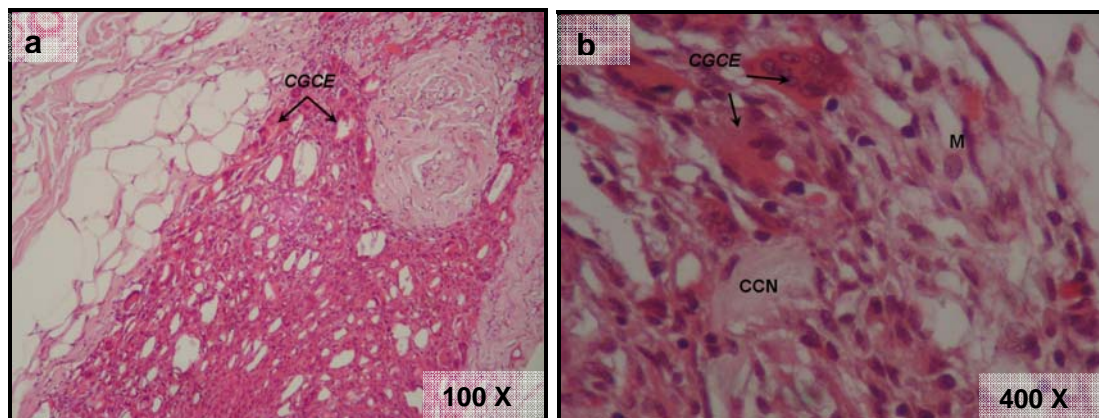
7.1 Respuesta inflamatoria por grupo experimental.

7.1.1. Grupo de CaCO₃ (CCN).

Los sitios implantados con el CCN, en específico el obtenido del esqueleto de la mellita *eduardobarrosoi*, fueron considerados como grupo control positivo, tomando en consideración que existe información acerca de su comportamiento en tejido subcutáneo, (Araiza, 1994). En términos generales la respuesta estuvo caracterizada por una inflamación crónica leve con tendencia a la reabsorción del material. A continuación se describen las observaciones en cada uno de los periodos experimentales.

CCN 7 días.

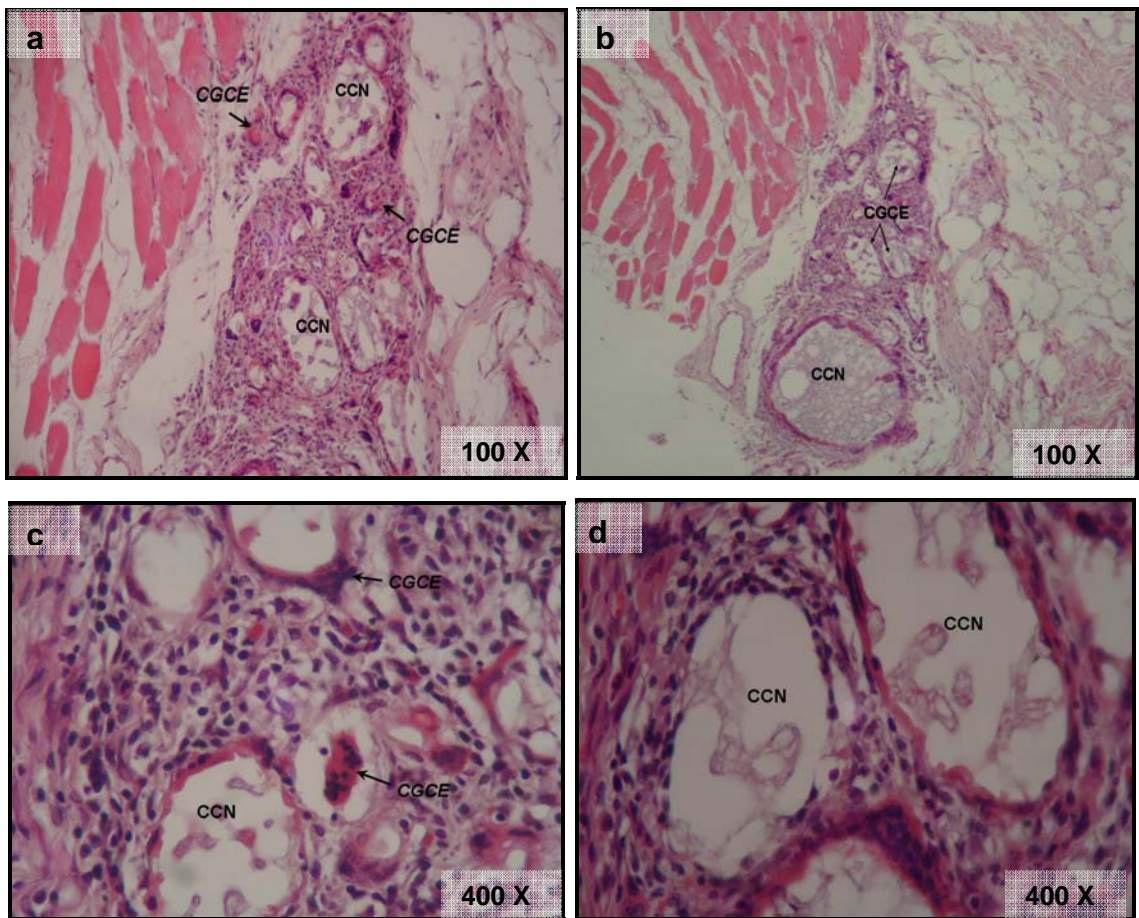
En la respuesta celular de los especímenes observados a los 7 días, se identificó tejido fibroadiposo, con un área bien delimitada por infiltrado inflamatorio crónico moderado, correspondiente a la zona donde fue implantado el material, en la cual se observa la presencia de insignificantes leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y células plasmáticas, escasos linfocitos, moderados macrófagos y abundantes células gigantes de cuerpo extraño (CGCE) en la periferia. (fotografía 11)



Fotografía 11.- Cortes histológicos de sitios implantados con CCN a 7 días, vista a diferentes aumentos 100X (a) y 400X (b), teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico, presencia de CGCE, restos de CCN y macrófagos M.

CCN 14 días.

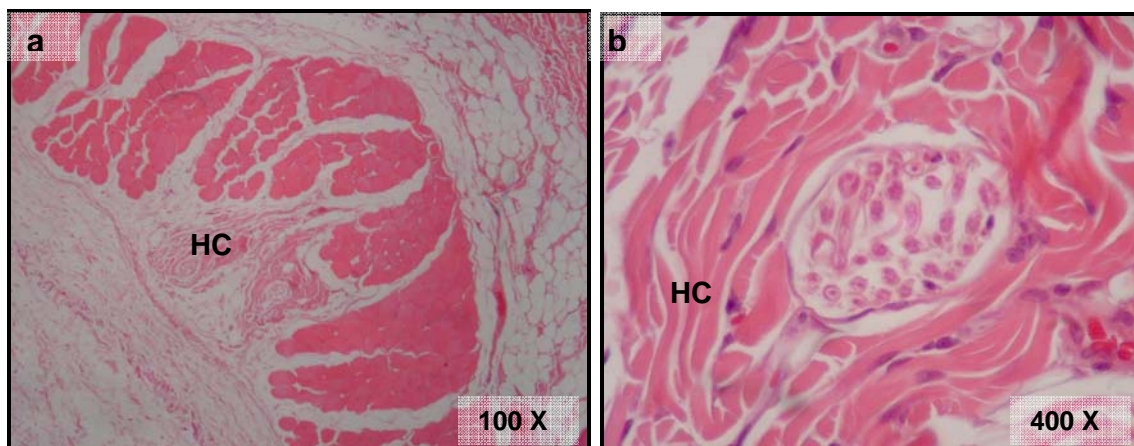
En los especímenes observados en el periodo de 14 días, se identificó tejido fibromuscular con un área bien delimitada por infiltrado inflamatorio crónico de moderado a leve, presencia de escasos linfocitos, moderados macrófagos, células gigantes de cuerpo extraño y células plasmáticas, además se observaron espacios con material amorfo de diferentes tamaños en el área de implantación, lo que corresponde a restos del material (fotografía 12).



Fotografía 12.- Cortes histológicos a diferentes aumentos de sitios implantados con CCN a 14 días, 100X (a, b) y 400X (c y d) teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico moderado, CGCE y espacios con material birrefringente correspondiente a CCN.

CCN 21 días.

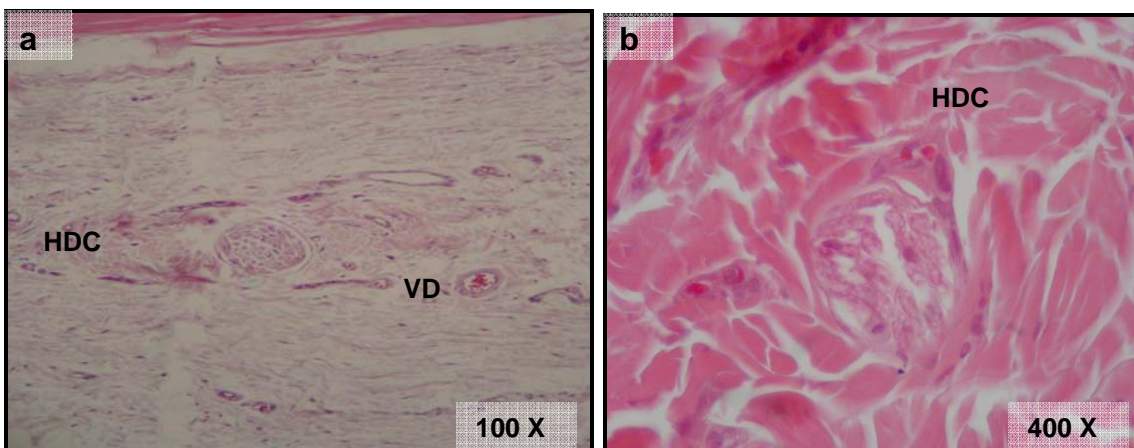
En los cortes histológicos correspondientes a este periodo de tiempo (21 días) se identificó tejido fibromuscular, adiposo, tejido conjuntivo y presencia de haces de colágena densa de manera focal, la cual se encuentra con fibras poco organizadas (fotografía 13).



Fotografía 13.- Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con CCN a 21 días a 100X (a) y 400X (b), , donde se observan haces desorganizados de colágena (HC).

CCN 28 días.

En los cortes histológicos correspondientes al último periodo de tiempo (28 días), se identificó tejido fibromuscular con haces de colágena densa en forma parcialmente desorganizada, así como vasos dilatados y congestivos (fotografía 14).

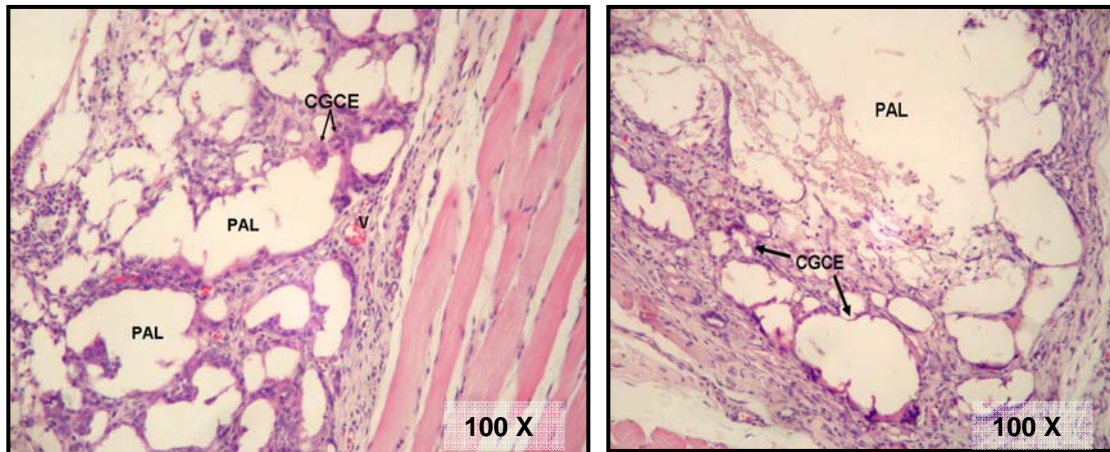


Fotografía 14.- Cortes histológicos de sitios implantados con CCN a 28 días, teñidos con hematoxilina y eosina a diferentes aumentos, en la fotografía a (100X) de observan la presencia de vasos dilatados (VD) y haces desorganizados de colágena (HDC). En la imagen b (400X), es evidente la presencia de los haces desorganizados de colágena.

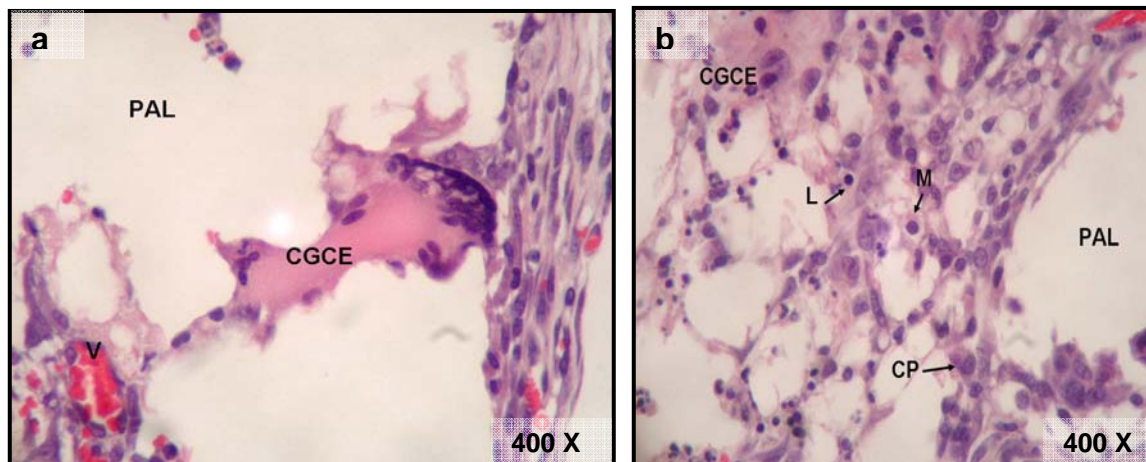
7.1.2.- Grupo de Poli Ácido Láctico (PAL).

PAL 7 días.

En los cortes histológicos correspondientes al primer periodo de tiempo, se identificó tejido fibromuscular con infiltrado inflamatorio mixto, (fotografía 15), caracterizado por linfocitos en moderada cantidad, macrófagos, células plasmáticas y leucocitos polimorfo nucleares neutrófilos aislados. Además, escasas células gigantes de cuerpo extraño y restos de PAL (fotografía 16).



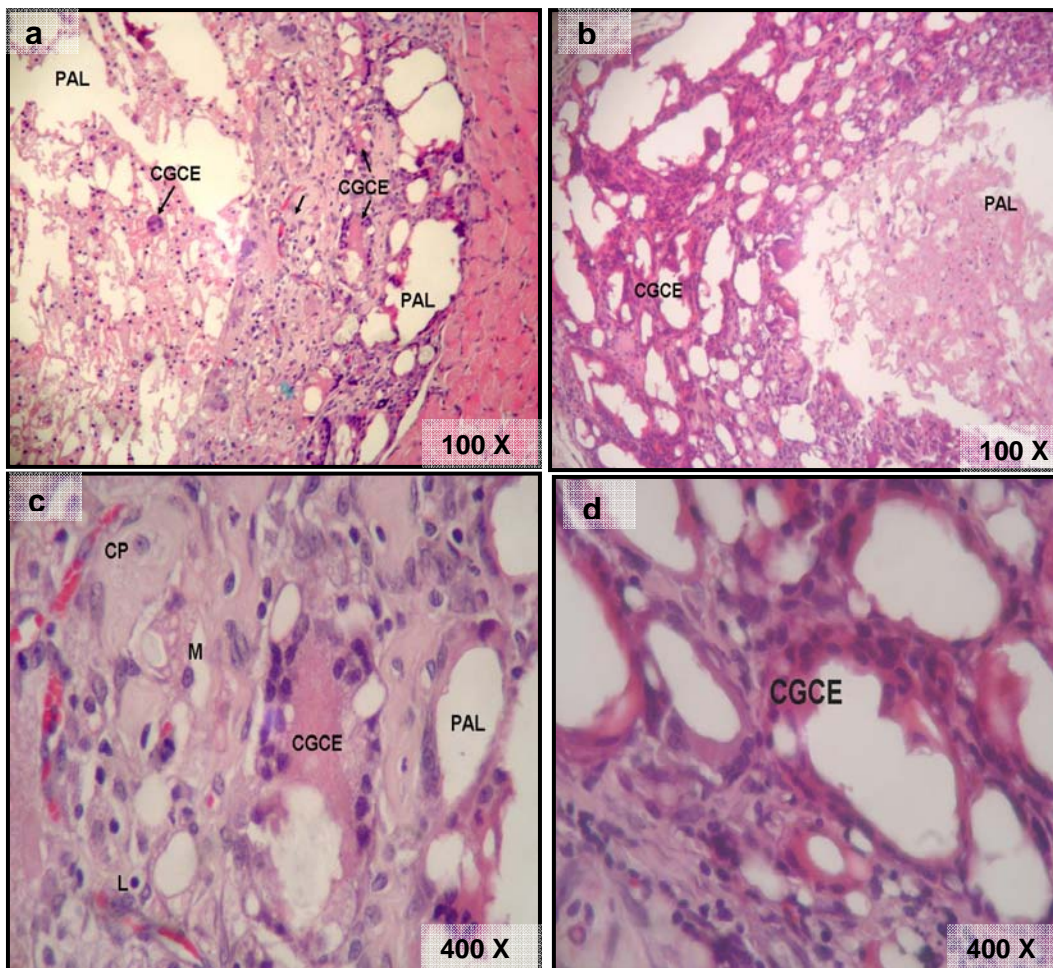
Fotografía 15.- Cortes histológicos a 100X de sitios implantados con PAL a 7 días, teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico, presencia de CGCE y espacios que corresponden al lugar de implantación del PAL.



Fotografía 16.- Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con PAL a 7 días, donde se observa infiltrado inflamatorio crónico, presencia de CGCE y espacios que corresponden al lugar de implantación del PAL, en la fotografía b se observa la presencia de linfocitos (L) y macrófagos (M).

PAL 14 días.

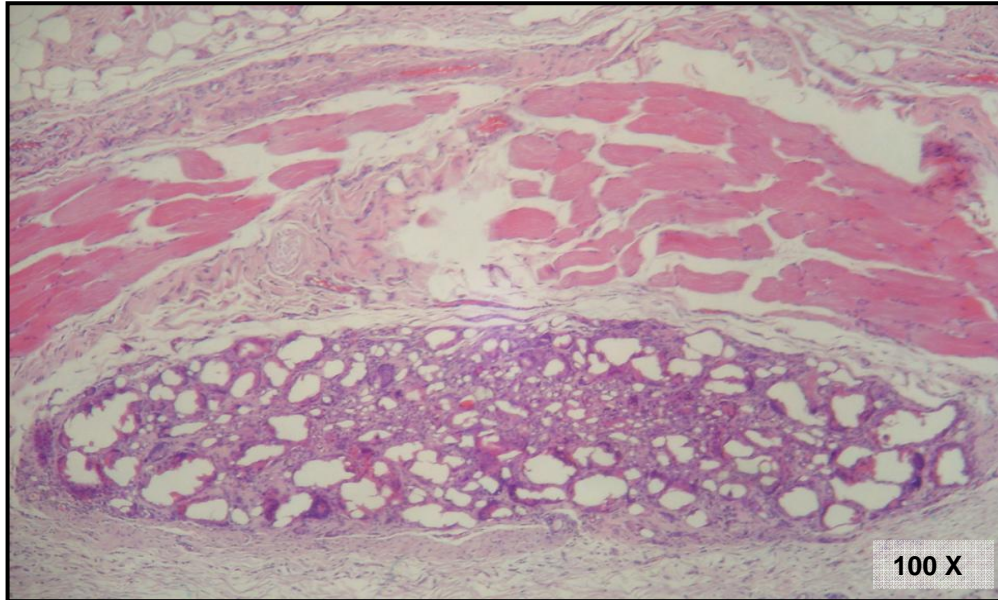
En los cortes histológicos correspondientes a este periodo de implantación del PAL (14 días), se identifico tejido fibromuscular con presencia de un área bien delimitada por infiltrado inflamatorio crónico moderado, se observan zonas con material basófilo granular y algunos espacios vacíos, estos sitios corresponden al área del material implantado y en la periferia de dichos sitios se identifica reacción gigantocelular de tipo cuerpo extraño, además de abundantes macrófagos, escasos linfocitos e insignificantes polimorfo nucleares neutrófilos (fotografía 17).



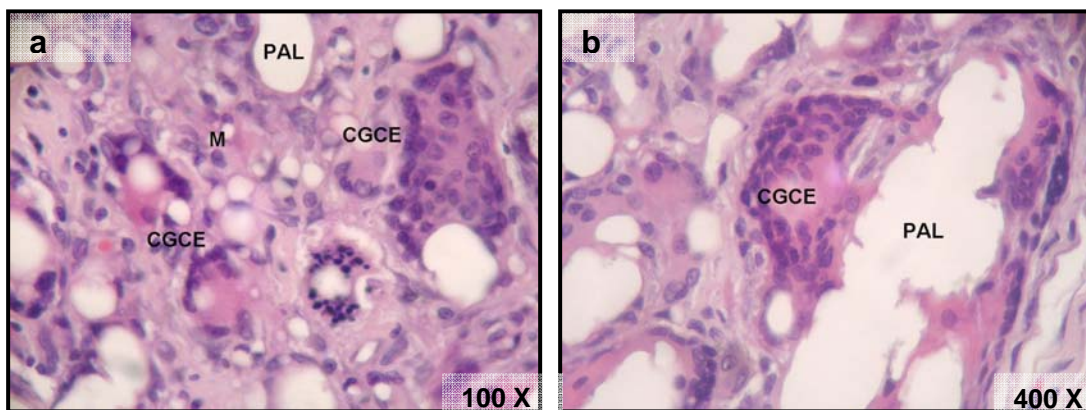
Fotografía 17.- Cortes histológicos de sitios implantados con PAL a 14 días a 100X (a y b) y 400X (c y d), teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico, espacios de diferentes tamaños correspondientes a la zona de implantación del PAL y presencia de abundantes CGCE.

PAL 21 días.

En los cortes histológicos correspondientes a este periodo de tiempo se observa tejido fibromuscular con infiltrado inflamatorio crónico (fotografía 18), abundantes macrófagos, moderadas células plasmáticas, escasos linfocitos y presencia focal de células gigantes de cuerpo extraño (fotografía 19).



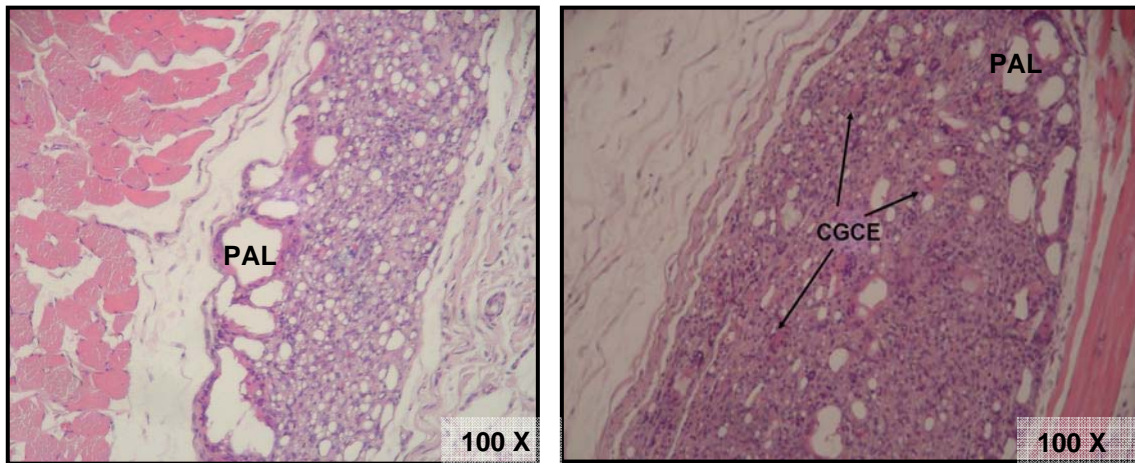
Fotografía 18.- Corte histológico a 100X correspondiente a sitios de implantación de PAL a 21 días a 100X teñido con hematoxilina y eosina, donde se observa un área bien delimitada por infiltrado inflamatorio crónico moderado (IICM), correspondiente al área de implantación.



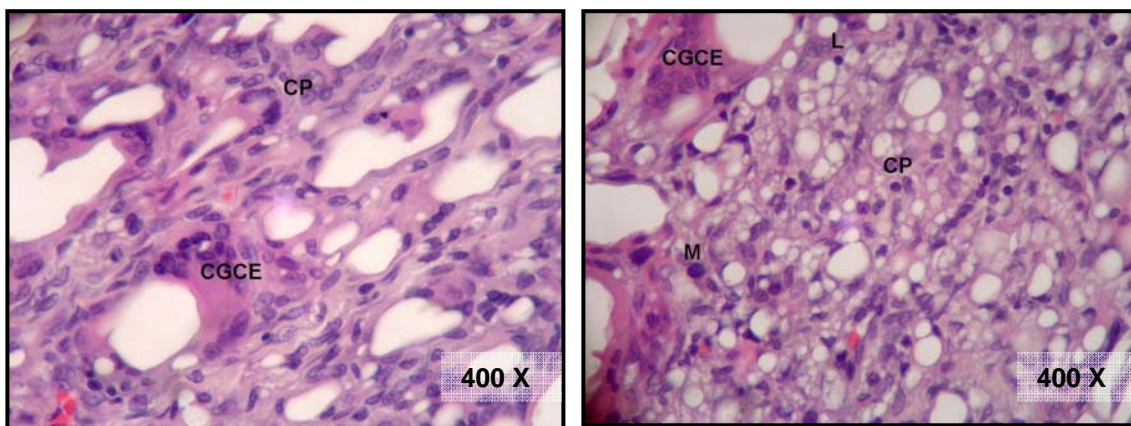
Fotografía 19.- Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con PAL a 21 días de su implantación a 100X (a) y 400X (b), donde se observa infiltrado inflamatorio crónico y presencia de abundantes CGCE, macrófagos (M) y espacios correspondientes al PAL

PAL 28 días.

En los cortes histológicos correspondientes al último periodo de tiempo (28 días) se observó tejido fibromuscular con infiltrado inflamatorio crónico (fotografía 20), abundantes macrófagos, células plasmáticas y presencia de células gigantes de cuerpo extraño (fotografía 21).



Fotografía 20.- Cortes histológicos a 28 días posteriores a la implantación de PAL a 100X, teñidos con hematoxilina y eosina, donde se observa infiltrado inflamatorio crónico, espacios de diferentes tamaños correspondientes al sitio de implantación del PAL y presencia de CGCE.

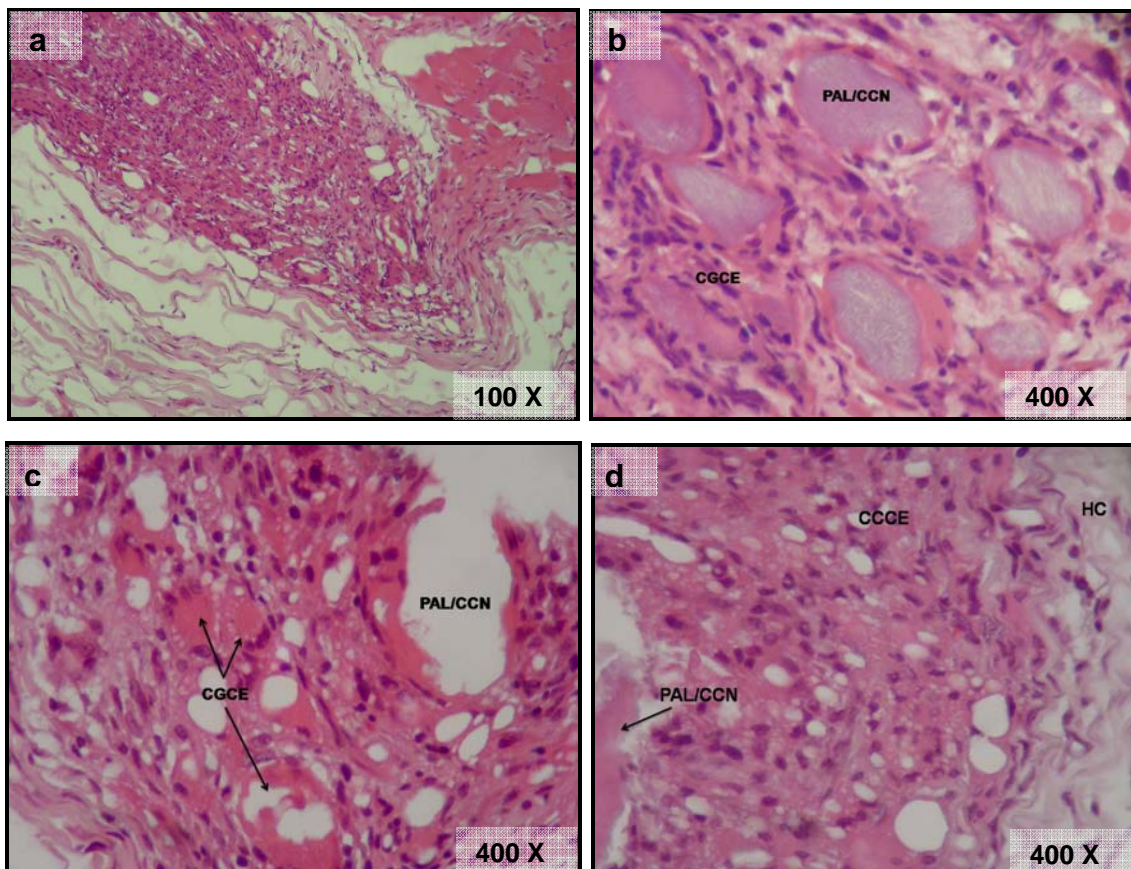


Fotografía 21.- Cortes histológicos a 400X de sitios implantados con PAL a los 28 días posteriores a su implantación a 400X, teñidos con hematoxilina y eosina, donde se observa infiltrado inflamatorio crónico, células plasmáticas (CP), abundantes CGCE, además, en la fotografía b se observan macrófagos (M) y linfocitos (L).

7.1.3 Grupo de Poli Acido Láctico/Carbonato de Calcio Natural (PAL/CCN).

PAL/CCN 7 días.

En los cortes histológicos observados en este periodo de tiempo, se identificó tejido fibromuscular, con un área bien delimitada de infiltrado inflamatorio crónico moderado, presencia de escasos macrófagos, neutrófilos y linfocitos, así como células gigantes de cuerpo extraño e insignificantes células plasmáticas. Se observan pequeñas zonas que contienen material amorfo granular con áreas predominantemente basófilas, las cuales corresponden al PAL/CCN (fotografía 22).

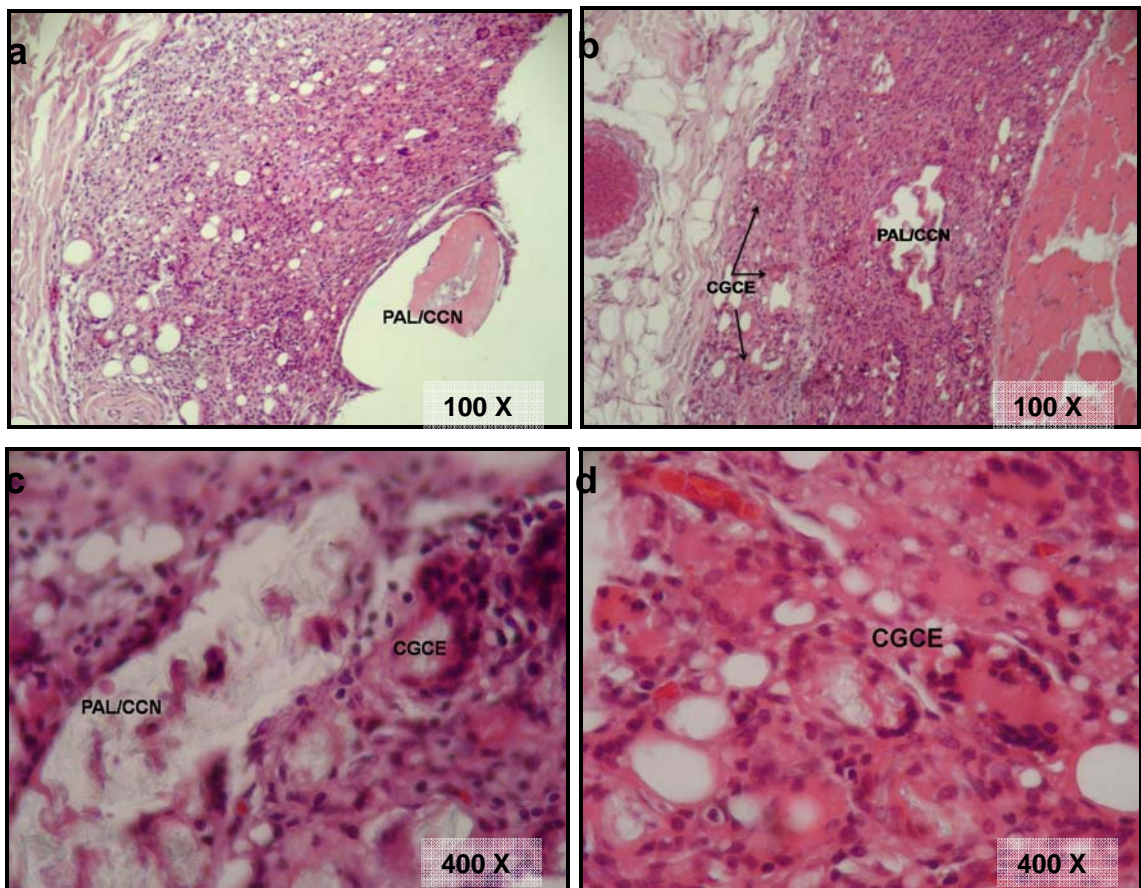


Fotografía 22.- Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CCN a 7 días, teñidos con hematoxilina a 100X (a) y 400X (b, c y d) y eosina donde se observan infiltrado inflamatorio crónico, presencia de CGCE y espacios con restos de PAL/CCN, en las fotografías b y d se observan espacios que contienen material granular y basófilo.

PAL/CCN 14 días.

En los cortes histológicos observados a los 14 días de implantación del PAL/CCN, se identificó tejido fibromuscular con un área bien delimitada por infiltrado inflamatorio crónico de moderado a leve, presencia moderada de macrófagos, escasos linfocitos y células plasmáticas, insignificantes neutrófilos y presencia de células gigantes de cuerpo extraño, además de neoformación vascular.

Se observan espacios con material amorfo de diferente tamaño en el área de implantación, lo que corresponde a restos del material (fotografía 23).



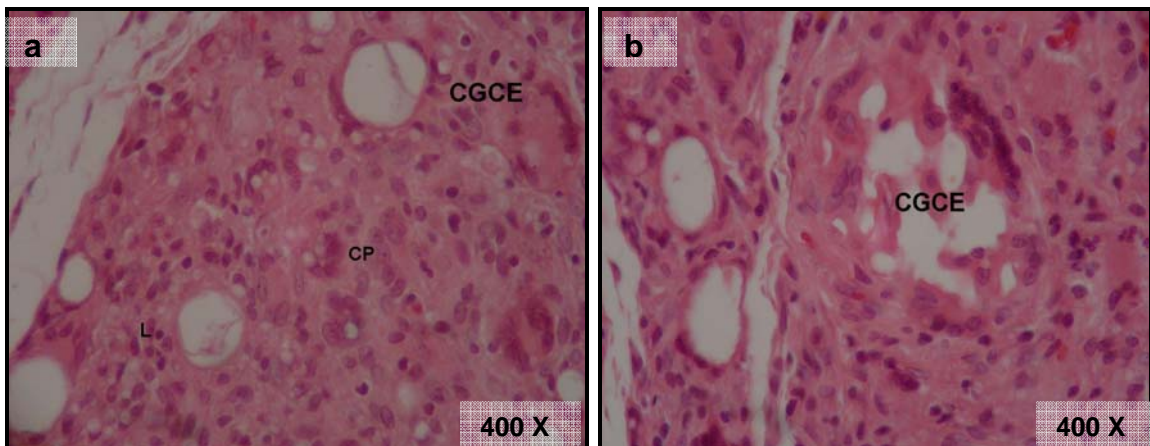
Fotografía 23.- Cortes histológicos posteriores a los 14 días de implantación de PAL/CCN a 100X (a y b) y 400X (c y d), teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico leve, presencia de células gigantes de cuerpo extraño (CGCE), en la fotografía c se observa mayor cantidad de material amorfo, correspondiente a PAL/CCN.

PAL/CCN 21 días.

En los cortes histológicos correspondientes a los 21 días de implantación de PAL/CCN, se identificó tejido fibromuscular, tejido conjuntivo y adiposo, presencia de inflamación crónica leve (fotografía 24), escasos macrófagos (M) e insignificantes células plasmáticas (CP), así como presencia de células gigantes de cuerpo extraño (CGCE) y haces de colágena densa poco organizada (fotografía 25).



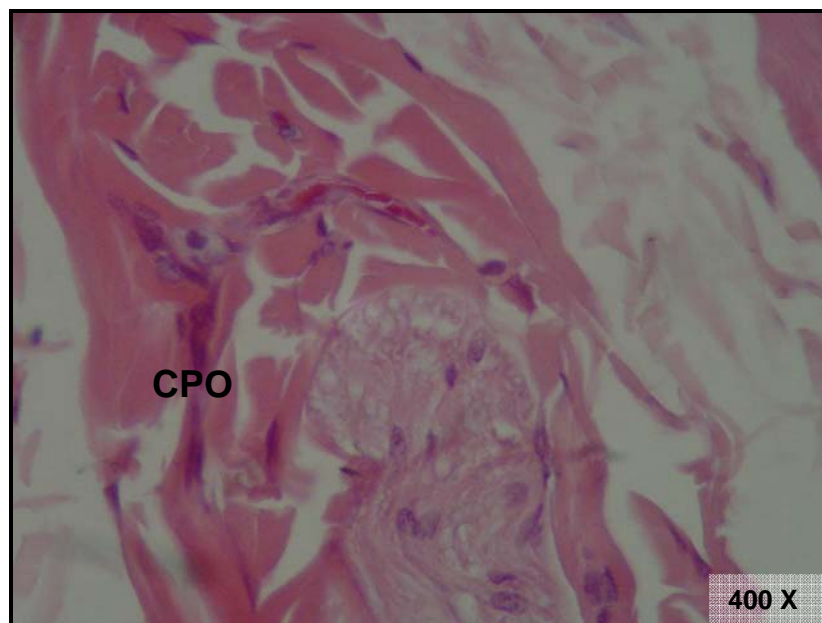
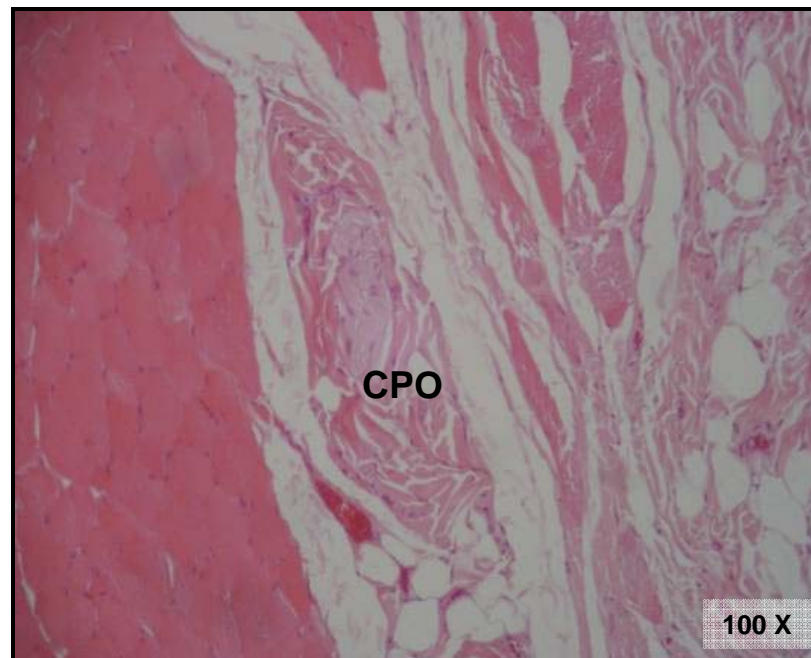
Fotografía 24.- Corte histológico a 100X correspondiente al sitio de implantación de PAL/CCN a 21 días, teñido con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico leve y presencia de CGCE.



Fotografía 25.- Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CCN a 21 días a 400X teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico leve, presencia de CGCE, en la fotografía b se observa la presencia de linfocitos (L) y células plasmáticas (CP)

PAL/CCN 28 días.

Posterior a los 28 días de implantación del PAL/CCN, se identificó en los cortes histológicos, tejido fibromuscular con haces de colágena densa en forma parcialmente desorganizada e insignificante presencia celular (fotografía 26).

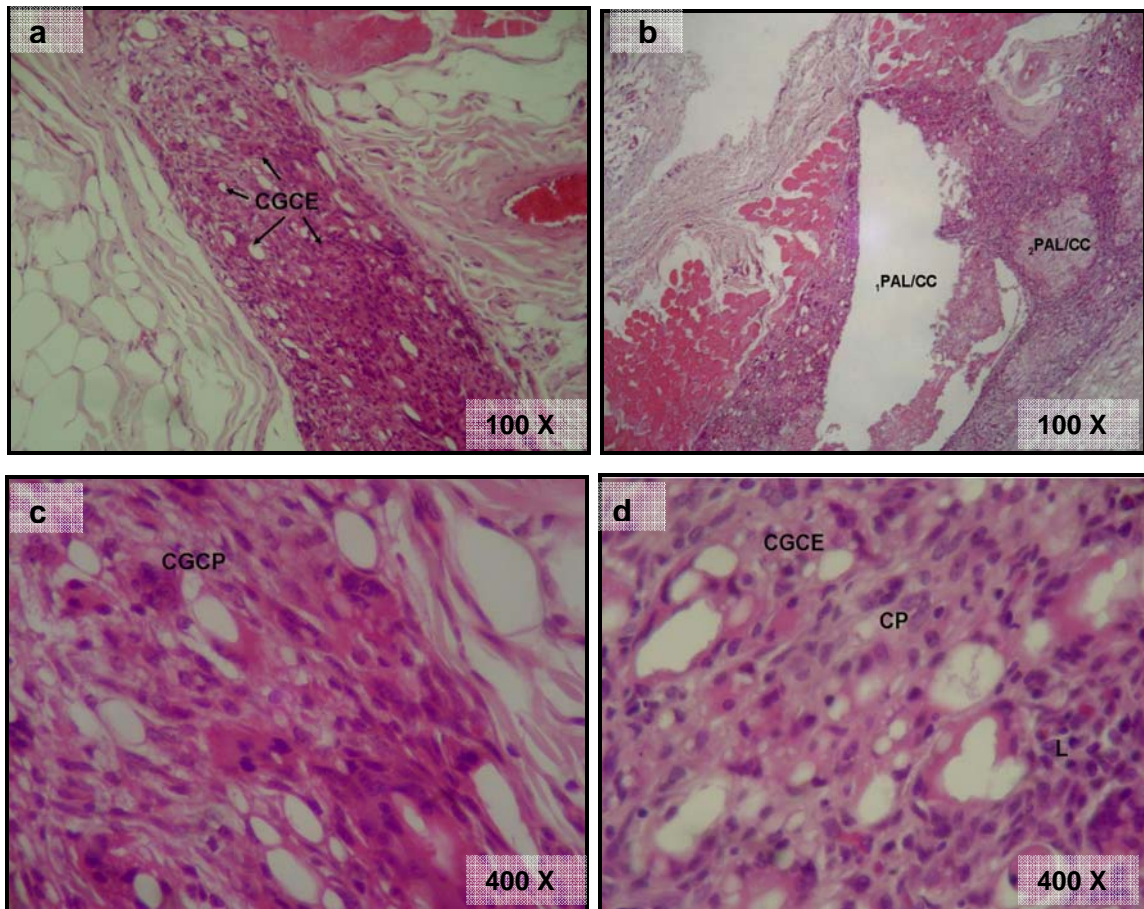


Fotografía 26.- Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CCN posterior a 28 días, a 100X (a) y 400X (b) teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa colágena poco organizada (CPO).

7.1.4.- Grupo de Poli Ácido Láctico/Carbonato de Calcio sintético (PAL/CC).

PAL/CC 7 días.

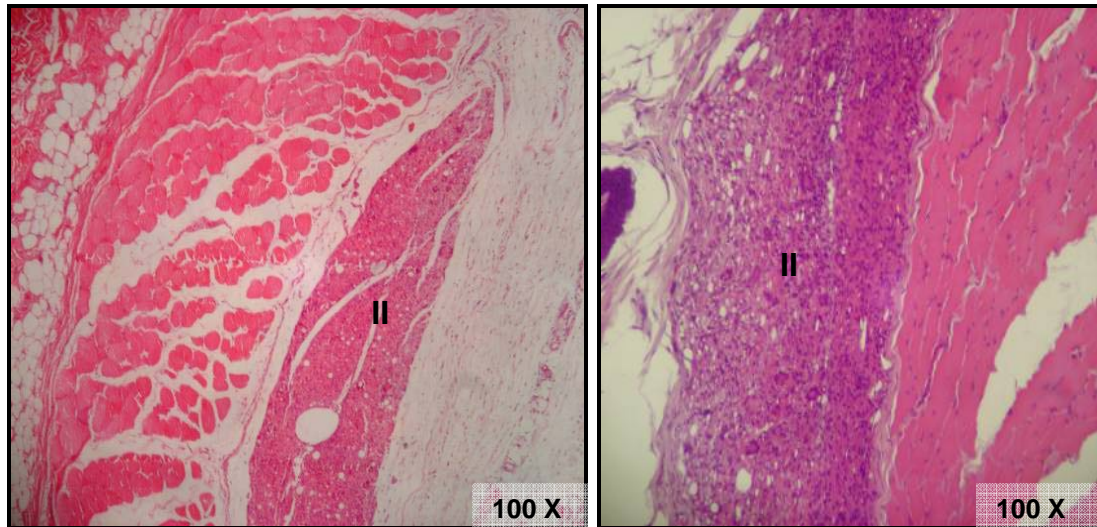
En los cortes histológicos correspondientes a este periodo de tiempo se identificó tejido conjuntivo, tejido adiposo y tejido fibromuscular, donde se observó infiltrado inflamatorio crónico moderado, presencia de macrófagos, escasos neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas, se observó la presencia de células gigantes de cuerpo extraño y neoformación vascular, además de pequeños espacios vacíos correspondientes al sitio de implantación del PAL/CC. (fotografía 27).



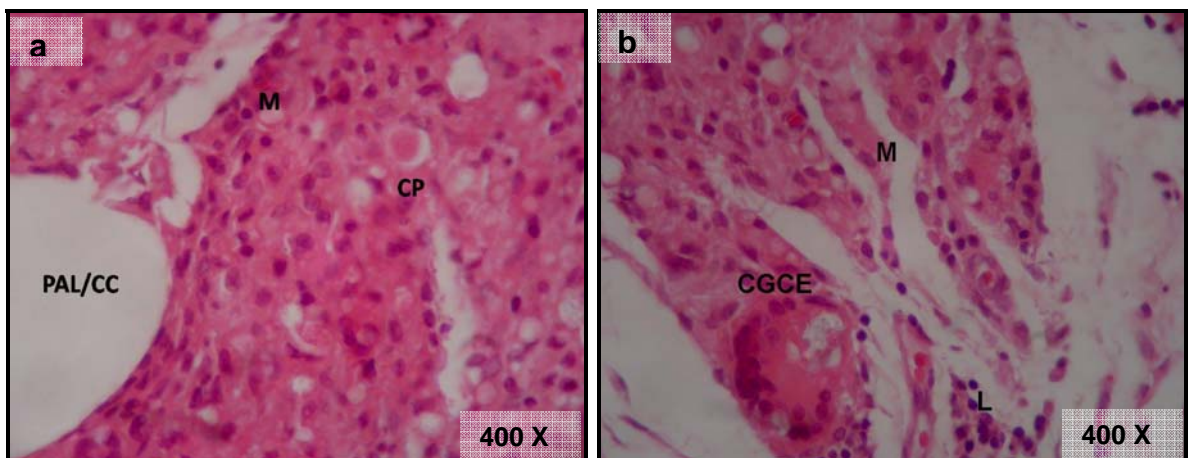
Fotografía 27.- Cortes histológicos correspondientes al sitio de implantación de PAL/CC a 7 días, teñidos con hematoxilina y eosina a 100X (a y b) y 400X (c y d), donde se observa infiltrado inflamatorio crónico moderado, CGCE, en la fotografía b se observan espacios vacíos correspondientes al material (1PAL/CC) y espacios con material granular correspondiente también al material (2PAL/CC), en la fotografía d se observa la presencia de células plasmáticas (CP) y linfocitos (L).

PAL/ CC 14 días.

En los cortes histológicos correspondientes a este periodo de tiempo (14 días) se identificó tejido fibromuscular y adiposo, un área bien delimitada por infiltrado inflamatorio crónico de moderado a leve (fotografía 28), presencia de escasos macrófagos, linfocitos y células plasmáticas, insignificantes neutrófilos y presencia de células gigantes de cuerpo extraño (fotografía 29).



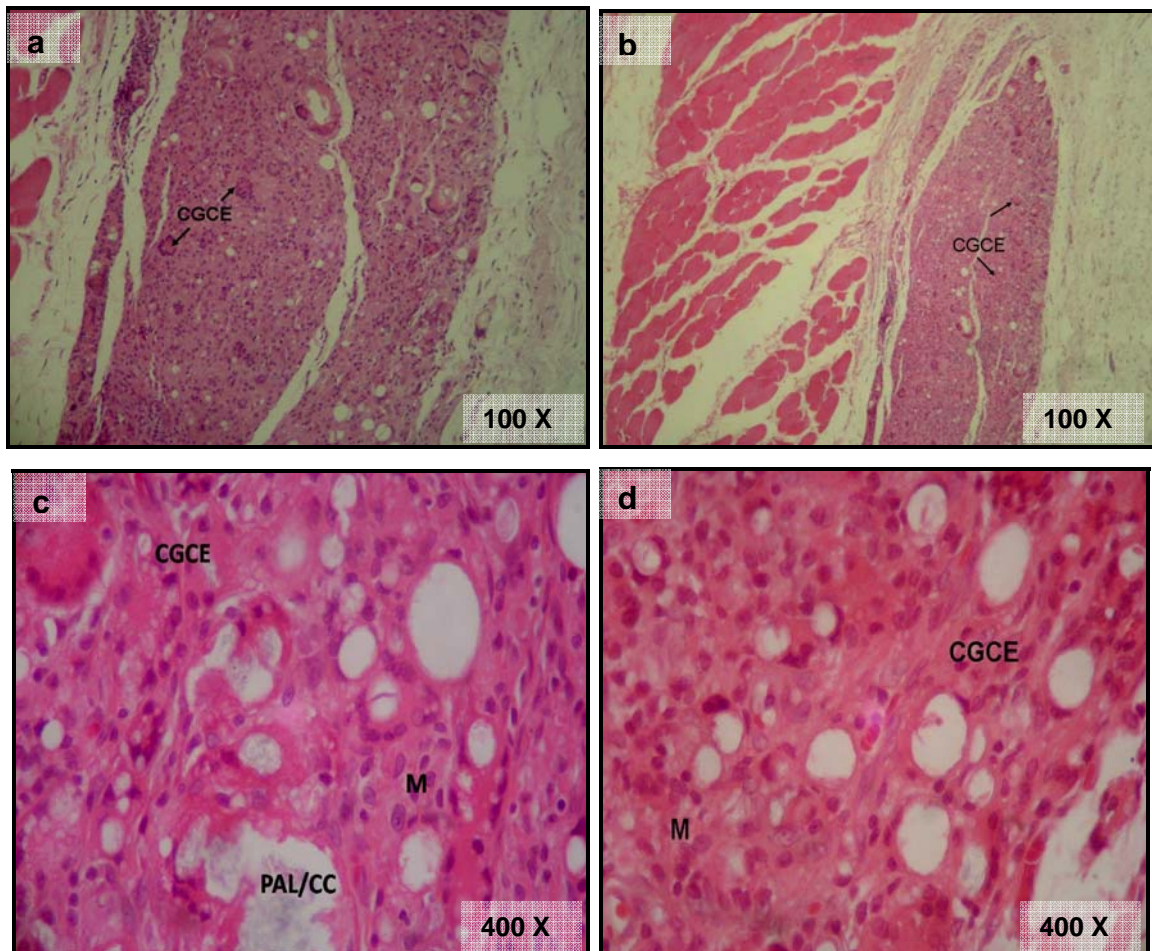
Fotografía 28.- Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CC posterior a 14 días a 100X, teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio (II).



Fotografía 29.- Cortes histológicos a 400X de sitios implantados con PAL/CC posterior a 14 días, teñidos con hematoxilina y eosina donde se observa infiltrado inflamatorio crónico moderado localizado, presencia de macrófagos (M), células plasmáticas (CP) y espacios correspondientes al PAL/CC, en la fotografía b se observa la presencia de CGCE fagocitando el material.

PAL/CC 21 días.

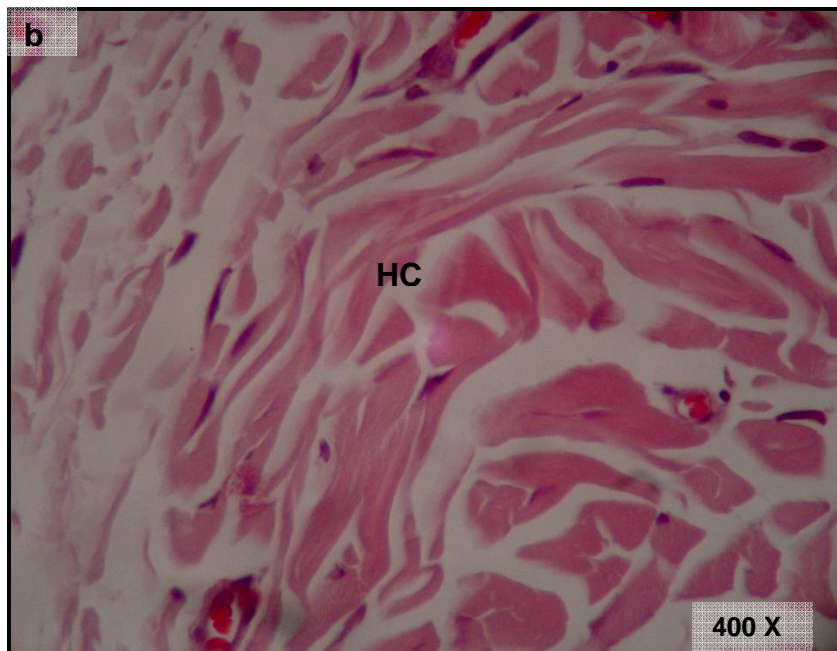
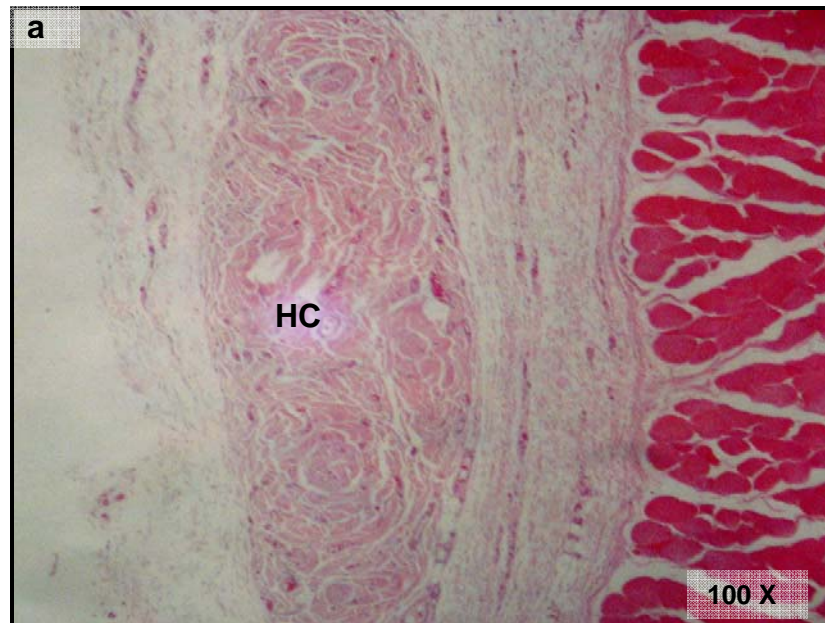
Posterior a los 21 días de implantación de PAL/CC, se identificó en los cortes histológicos tejido fibromuscular y tejido conjuntivo, presencia de inflamación crónica de moderada a leve con presencia de células plasmáticas, macrófagos y abundantes células gigantes de cuerpo extraño, además se observan en menor grado linfocitos, neutrófilos y pequeñas zonas con material amorfo de color grisáceo, lo que correspondería a restos del material, en la periferia de la lesión se observa la presencia de haces de colágena con fibras poco organizadas (fotografía 30).



Fotografía 30.- Cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina de sitios implantados con PAL/CC a 21 días a 100X (a y b) y 400X (c y d), donde se observa infiltrado inflamatorio crónico leve, macrófagos (M) y CGCE, en la fotografía c se observan algunas de las CGCE fagocitando el material.

PAL/CC 28 días.

En los cortes histológicos correspondientes a este periodo de tiempo (28 días) se identificó tejido fibromuscular y tejido conectivo, un área con proliferación de haces de colágena densa en forma focal, la cual se encuentra con fibras poco organizadas e insignificante proliferación celular (fotografía 31).



Fotografía 31.- Cortes histológicos de sitios implantados con PAL/CC posterior a los 28 días de su implantación a 100X (a) y 400X (b), teñidos con hematoxilina y eosina, donde se observan haces de colágena entrecruzadas y poco organizada (HC).

7.2.- Análisis de resultados.

La observación microscópica de los materiales implantados (CCN, PAL, PAL/CCN y PAL/CC) se realizó en un modelo de estudio doble ciego en el que participaron dos patólogos. En la tabla 5 se describe la respuesta histológica predominante en cada uno de los grupos, en los periodos de tiempo en que fueron recuperados los especímenes.

Para determinar la posible asociación estadística entre la respuesta histológica y el tipo de material, así como el tiempo de implantación, los resultados fueron analizados por medio del programa estadístico Sigmapstat 3.1 (Jandel Corporation, USA). Las cédulas que contenían los datos cualitativos de la observación de las laminillas de cada grupo, fueron tratadas estadísticamente y se les asignaron valores cuantitativos (tabla 3 y 4) para el manejo del tipo de infiltrado inflamatorio y del tipo celular (Anexos A2 al A41):

Tabla 3.- Tipo de infiltrado inflamatorio

VALOR	VARIABLE
1	Infiltrado inflamatorio agudo
2	Infiltrado inflamatorio mixto
3	Infiltrado inflamatorio crónico.

Tabla 4.- Células presentes

VALOR	VARIABLE
1	Insignificantes
2	Escasas
3	Moderadas
4	Abundantes

Tabla 5.- Respuesta histológica de la implantación subcutánea de 4 materiales en tejido celular subcutáneo de ratas Wistar.

Tiempo	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
7 días	Infiltrado inflamatorio crónico moderado con presencia de CGCE.	Abundante infiltrado inflamatorio mixto, con presencia de CGCE.	Infiltrado inflamatorio crónico moderado y presencia de CGCE.	Infiltrado inflamatorio crónico moderado con presencia de CGCE
14 días	Infiltrado inflamatorio crónico moderado más localizado, con disminución de CGCE.	Infiltrado inflamatorio crónico moderado, con presencia de abundantes CGCE.	Infiltrado inflamatorio crónico moderado más localizado y presencia de CGCE.	Infiltrado inflamatorio crónico moderado, con presencia de CGCE
21 días	Formación de pseudocápsula de colágena	Infiltrado inflamatorio crónico moderado con moderadas CGCE	Infiltrado inflamatorio crónico moderado más localizado, con presencia de CGCE	Infiltrado inflamatorio crónico de moderado a leve, con escasas CGCE
28 días	Organización completa de fibras de colágena	Infiltrado inflamatorio crónico de moderado a leve, con presencia de CGCE	Formación de pseudocápsula de colágena	Haces de colágena densa en forma focal.

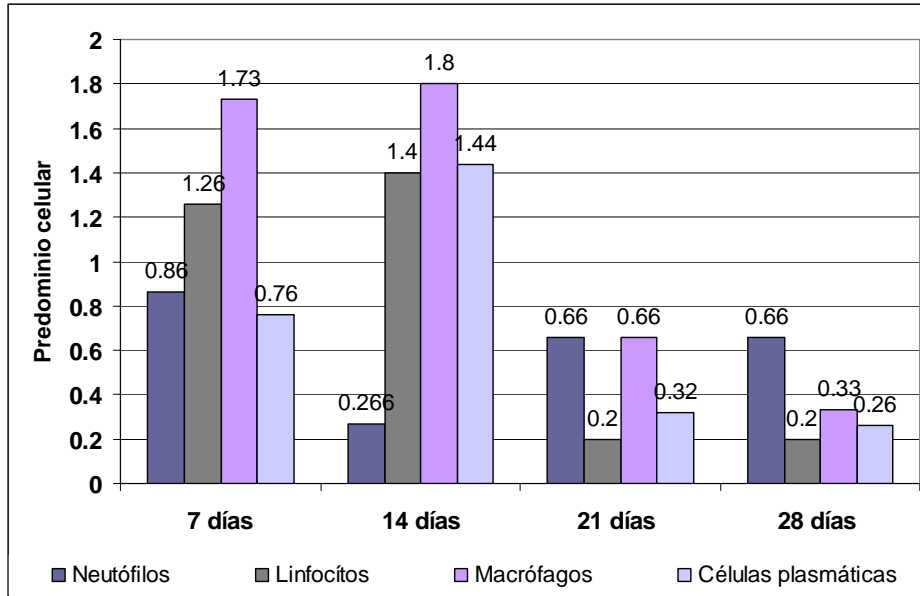
7.2.1 Infiltrado celular por material implantado (CCN, PAL, PAL/CCN, PAL/CC).

Infiltrado celular en el grupo de CCN.

Posterior a la implantación de CCN, la reacción que se observó en el primer periodo de tiempo (7 días) en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* fue predominantemente de macrófagos ($\bar{x} = 1.73 \pm 1.44$), los cuales aumentaron a los 14 días ($\bar{x} = 1.80 \pm 1.12$) y disminuyeron a los 21 y 28 días ($\bar{x} = 0.667 \pm 1.49$, $\bar{x} = 0.333 \pm 0.74$ respectivamente) sin presentar diferencia estadísticamente significativa para este grupo celular ($P = 0.185$), el siguiente grupo celular en predominar fueron los linfocitos (gráfica 1), los cuales aumentaron de los 7 ($\bar{x} = 1.267 \pm 0.72$) a los 14 días ($\bar{x} = 1.400 \pm 1.01$) y disminuyeron en la misma cantidad a los 21 y 28 días ($\bar{x} = 0.200 \pm 0.44$), no se presentó diferencia estadísticamente significativa para este grupo celular ($P = 0.029$), el siguiente grupo en proliferar fueron los neutrófilos los cuales disminuyeron de los 7 a los 14 días ($\bar{x} = 0.867 \pm 0.9$, $\bar{x} = 0.267 \pm 0.27$ respectivamente) y aumentaron a los 21 en misma cantidad que a los 28 ($\bar{x} = 0.667 \pm 0.14$) sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.068$), las células plasmáticas fueron las que se presentaron en menor cantidad, de las cuales aumentaron de los 7 a los 14 días ($\bar{x} = 0.760 \pm 0.89$, $\bar{x} = 1.44 \pm 1.8$ respectivamente), disminuyeron a los 21 y 28 días ($\bar{x} = 0.320 \pm 0.71$, $\bar{x} = 0.260 \pm 0.58$ respectivamente) sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.099$).

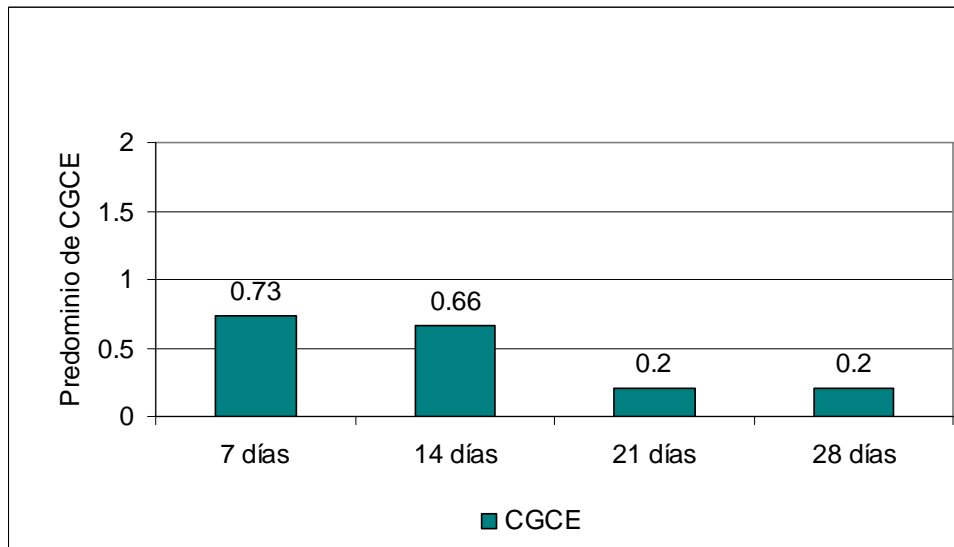
La presencia de células gigantes de cuerpo extraño (CGCE) fue disminuyendo respecto a los diferentes periodos de tiempo (gráfica 2), a los 7 ($\bar{x} = 0.73 \pm 0.45$), 14 ($\bar{x} = 0.667 \pm 0.47$), 21 y 28 días ($\bar{x} = 0.200 \pm 0.44$), sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.138$).

Gráfica 1.- Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de CCN en ratas *Wistar*.



Fuente directa.

Gráfica 2.- Presencia de CGCE en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a la implantación de CCN.



Fuente directa.

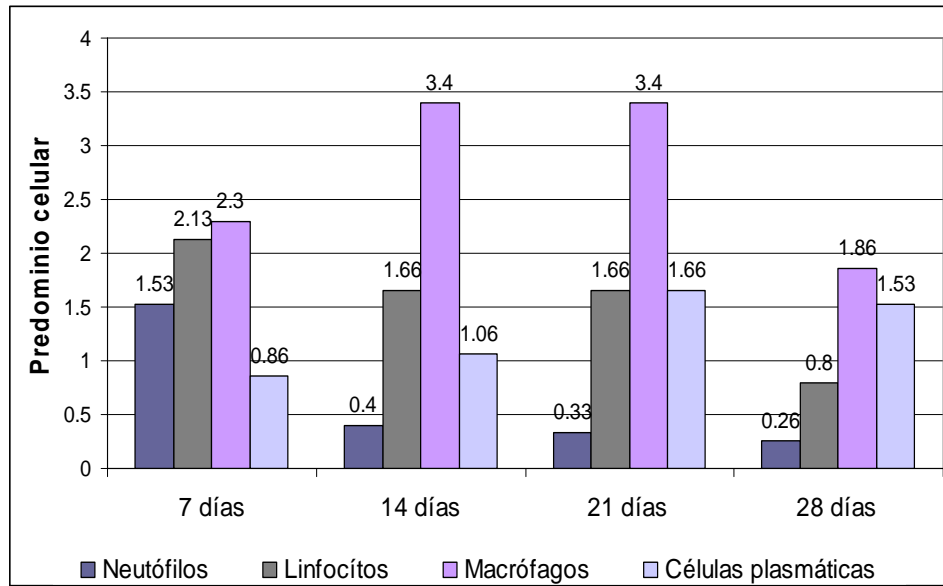
Infiltrado celular en el grupo de PAL.

Posterior a la implantación de PAL se encontró que en los cuatro periodos de tiempo se presentó infiltrado inflamatorio crónico. En la gráfica 3 se encuentra la distribución de las células presentes en el tejido celular subcutáneo, en ella se observa que el infiltrado fue más abundante en los primeros tres periodos de tiempo (7, 14 y 21 días). Las células que predominaron a los 7 días fueron los macrófagos ($\bar{x} = 2.333 \pm 0.40$), los cuales aumentaron a los 14 días en la misma cantidad que a los 21 ($\bar{x} = 3.400 \pm 0.43$) y disminuyendo a los 28 ($\bar{x} = 1.867 \pm 1.57$), no se presentó diferencia estadísticamente significativa para este grupo celular ($P=0.023$). El siguiente grupo que se presentó fueron los linfocitos los cuales disminuyeron en misma cantidad de los 7 ($\bar{x} = 2.13 \pm 0.71$) a los 14 y 21 días ($\bar{x} = 1.66 \pm 0.14$), disminuyendo aun más a los 28 días ($\bar{x} = 0.800 \pm 0.50$), se presentó diferencia estadísticamente significativa, entre el periodo de tiempo de los 7 a los 28 días con una diferencia de 1.33 ($P=0.05$). La presencia de células plasmáticas aumento de los 7 ($\bar{x} = 0.867 \pm 0.18$), a los 14 ($\bar{x} = 1.067 \pm 0.54$) y 21 días ($\bar{x} = 3.400 \pm 0.54$) y disminuyeron a los 28 días ($\bar{x} = 1.667 \pm 0.000$), sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($P=0.041$).

Los neutrófilos fueron disminuyendo con el paso del tiempo de 7 días ($\bar{x} = 1.533 \pm 0.44$), 14 días ($\bar{x} = 0.400 \pm 0.43$), 21 días ($\bar{x} = 0.333 \pm 0.000$) y 28 días ($\bar{x} = 0.267 \pm 0.14$) sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($P=0.007$).

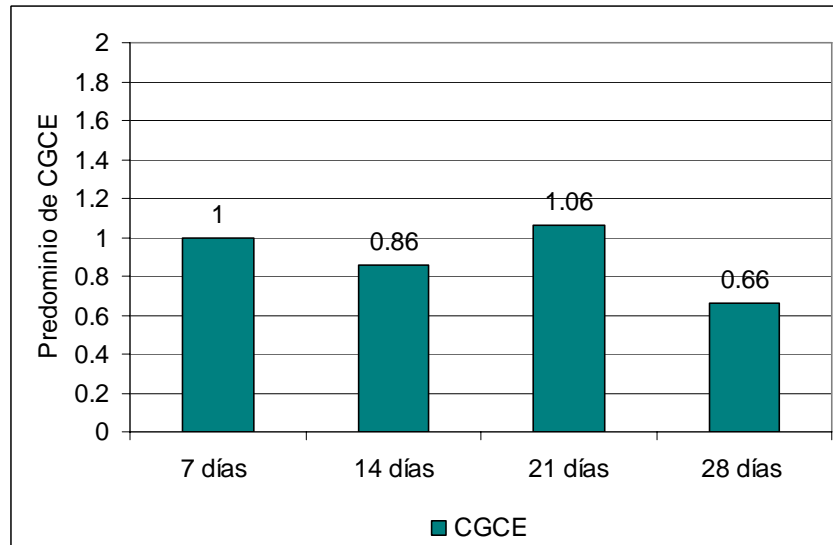
En cuanto a las CGCE, su presencia fue variable (gráfica4), ya que del valor inicial a los 7 días ($\bar{x} = 1.000 \pm 0.00$), se observó una disminución a los 14 ($\bar{x} = 0.867 \pm 0.18$), aumentando a los 21 ($\bar{x} = 1.067 \pm 0.14$) y disminuyeron nuevamente a los 28 días ($\bar{x} = 0.667 \pm 0.47$), sin presentar diferencia estadísticamente significativa ($P=0.131$).

Gráfica 3.- Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de PAL en ratas *Wistar*.



Fuente directa.

Gráfica 4.- Presencia de CGCE posterior a la implantación de PAL en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar*.



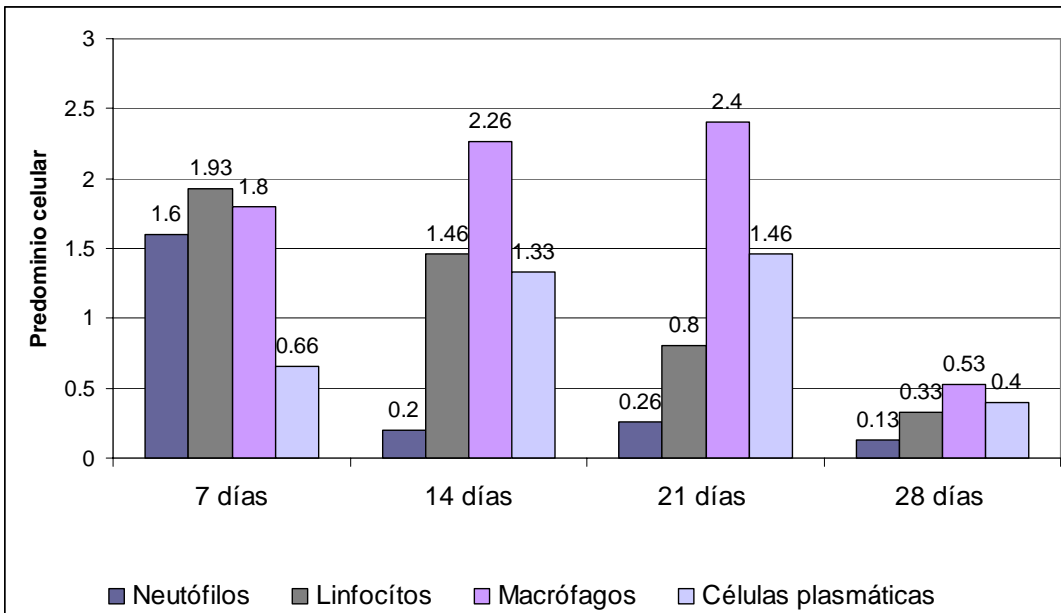
Fuente directa.

Infiltrado celular en el grupo de PAL/CCN.

La respuesta celular que se observó posterior a la implantación de PAL/CCN, a los 7 días fue predominantemente de linfocitos ($\bar{x} = 1.933 \pm 1.362$), los cuales disminuyeron a los 14 días ($\bar{x} = 1.467 \pm 1.12$) y 28 días ($\bar{x} = 0.333 \pm 0.47$) sin embargo, aumentaron de los 14 a los 21 días ($\bar{x} = 0.800 \pm 0.50$) (gráfica 5). Entre los cuatro periodos de tiempo no se presentó una diferencia estadísticamente significativa para este grupo celular ($P = 0.074$). El segundo grupo celular que predominó a los 7 días fue el de los macrófagos ($\bar{x} = 1.800 \pm 1.38$), los cuales aumentaron a los 14 y 21 días ($\bar{x} = 2.267 \pm 1.30$, $\bar{x} = 2.400 \pm 1.46$ respectivamente) y disminuyeron notablemente a los 28 días ($\bar{x} = 0.533 \pm 1.01$). En este grupo celular no fue posible determinar una diferencia estadísticamente significativa entre los periodos de tiempo ($P = 0.136$). La presencia de neutrófilos fue el tercer grupo celular en predominar, los cuales disminuyeron de los 7 ($\bar{x} = 1.600 \pm 1.34$) a los 14 días ($\bar{x} = 0.200 \pm 0.29$), aumentaron a los 21 días ($\bar{x} = 0.267 \pm 0.14$) y disminuyeron nuevamente a los 28 días ($\bar{x} = 0.133 \pm 0.18$), sin encontrar diferencia estadísticamente significativa para ningún periodo de tiempo ($P = 0.177$). La presencia de células plasmáticas aumentó de los 7 ($\bar{x} = 0.667 \pm 0.471$) a los 14 ($\bar{x} = 1.333 \pm 1.26$) y 21 días ($\bar{x} = 1.467 \pm 0.86$) posterior a la implantación del material y disminuyó a los 28 días ($\bar{x} = 0.400 \pm 0.72$), sin encontrar diferencia estadísticamente significativa en los diferentes periodos de tiempo ($P = 0.206$).

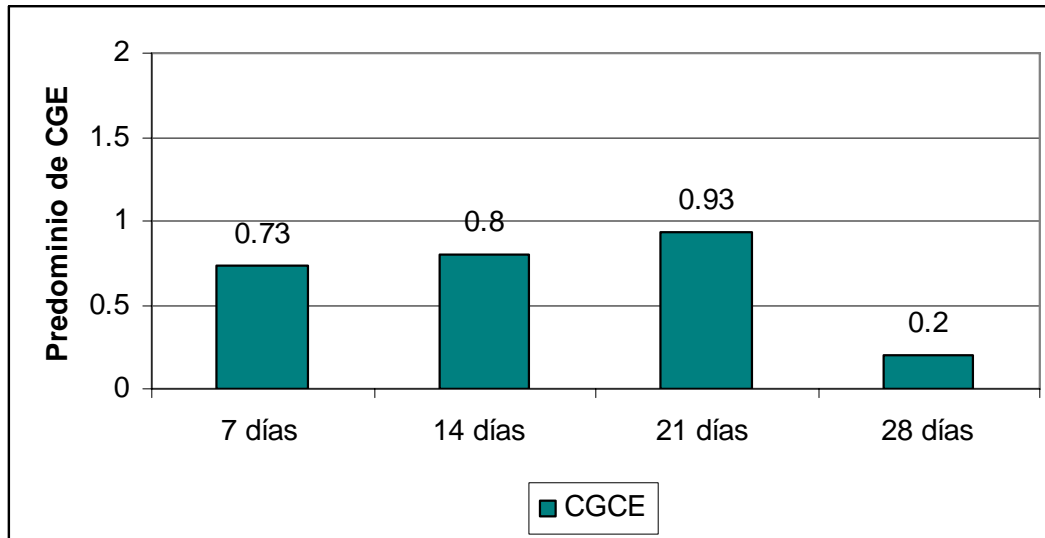
En los diferentes periodos de tiempo se observó la presencia de CGCE (gráfica 6), las cuales aumentaron de los 7 ($\bar{x} = 0.733 \pm 0.43$) a los 14 ($\bar{x} = 0.800 \pm 0.44$) y 21 días ($\bar{x} = 0.933 \pm 0.59$), disminuyendo a los 28 días ($\bar{x} = 0.200 \pm 0.298$), entre los cuatro periodos de tiempo no se encontró diferencia estadísticamente significativa para este grupo celular ($P = 0.080$).

Gráfica 5.- Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de PAL/CCN en ratas *Wistar*.



Fuente directa.

Gráfica 6.- Presencia de CGCE posterior a la implantación de PAL/CCN en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar*.



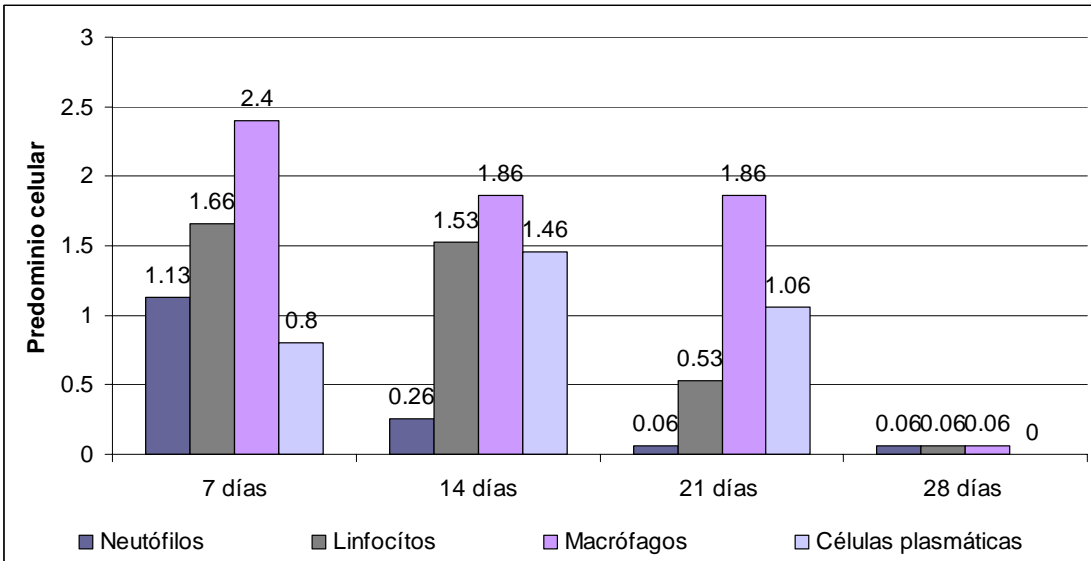
Fuente directa.

Infiltrado celular en el grupo de PAL/CC.

En el grupo correspondiente a PAL/CC se observó que a los 7 días posteriores a la implantación (gráfica 7), el grupo celular que predominó fue el de los macrófagos ($\bar{x} = 2.400 \pm 1.03$), los cuales disminuyeron a los 14 días ($\bar{x} = 1.867 \pm 0.98$) en misma cantidad que a los 21 ($\bar{x} = 1.867 \pm 1.70$) y disminuyeron aun más a los 28 días ($\bar{x} = 0.0667 \pm 0.14$), no se observó diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes periodos de tiempo ($P = 0.039$). Los linfocitos predominaron a los 7 ($\bar{x} = 1.66 \pm 0.62$), disminuyendo a los 14, 21 y 28 días ($\bar{x} = 1.533 \pm 0.69$, $\bar{x} = 0.533 \pm 0.50$, $\bar{x} = 0.0667 \pm 0.14$ respectivamente), sin encontrar diferencia estadísticamente significativa en ningún periodo de tiempo ($P = 0.006$). El siguiente grupo celular, fue el de los neutrófilos los cuales disminuyeron de los 7 a los 14 y 21 días ($\bar{x} = 1.133 \pm 1.19$, $\bar{x} = 0.267 \pm 0.26$, $\bar{x} = 0.0667 \pm 0.14$ respectivamente), presentando entre los 21 y 28 días en la misma cantidad ($\bar{x} = 0.0667 \pm 0.14$), entre los diferentes periodos de tiempo no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los neutrófilos ($P = 0.197$), las células plasmáticas aumentaron de los 7 ($\bar{x} = 0.800 \pm 0.55$) a los 14 días ($\bar{x} = 1.467 \pm 1.01$), disminuyeron a los 21 ($\bar{x} = 1.067 \pm 0.98$) y ausencia de estos a los 28 días, en los diferentes periodos de tiempo no se encontró diferencia estadísticamente significativa en este grupo celular ($P = 0.047$).

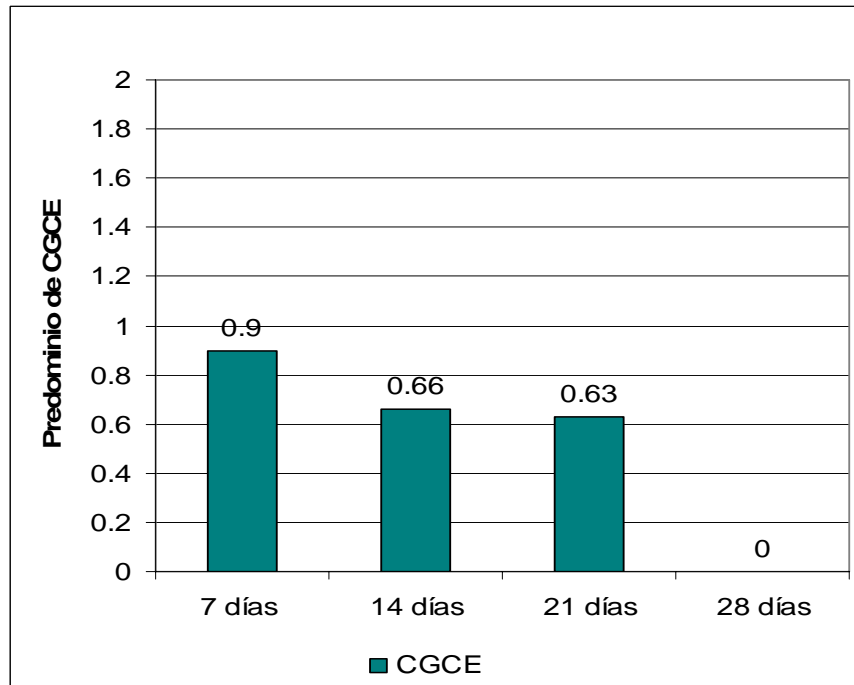
En la gráfica 8 se observa la presencia de células gigantes de cuerpo extraño, las cuales predominaron a los 7 días ($\bar{x} = 0.800 \pm 0.29$), disminuyeron a los 14 y 21 días ($\bar{x} = 0.667 \pm 0.471$, $\bar{x} = 0.600 \pm 0.43$ respectivamente) sin encontrar presencia a los 28 días. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes periodos de tiempo ($P = 0.023$).

Gráfica 7.- Distribución de la respuesta celular posterior a la implantación subcutánea de PAL/CC en ratas *Wistar*.



Fuente directa.

Gráfica 8.- Presencia de CGCE posterior a la implantación de PAL/CC en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar*.



Fuente directa.

7.2.2. Infiltrado celular en función del tiempo de implantación de los 4 materiales (7, 14, 21 y 28 días).

Infiltrado celular posterior a los 7 días de implantación de los 4 materiales.

A los 7 días posteriores a la implantación de los 4 diferentes materiales, CCN, PAL, PAL/CCN y PAL/CC, se identificó el tipo de respuesta celular que cada uno de ellos produjo, en la grafica 9 se observa que las células que predominaron en estos materiales fueron los macrófagos, presentándose en mayor cantidad en la respuesta producida en tejido celular subcutáneo de ratas Wistar del grupo correspondiente al PAL/CC (\bar{x} 2.04 \pm 0.4), seguido del grupo PAL (\bar{x} = 2.3 \pm 0.1), PAL/CCN (\bar{x} de 1.80 \pm 0.6), finalmente el grupo que presentó menos macrófagos fue el correspondiente al CC (\bar{x} = 1.70 \pm 0.6), entre los cuatro grupos no hubo diferencia estadísticamente significativa con respecto a los macrófagos (P= 0.712).

Los linfocitos se presentaron en los cuatro materiales, en mayor cantidad en la respuesta producida por el PAL (\bar{x} = 2.13 \pm 0.8), seguido del PAL/CCN (\bar{x} = 1.93 \pm 1.3), PAL/CC (\bar{x} = 1.66 \pm 0.6 y CCN) y CCN (\bar{x} = 1.26 \pm 0.7), entre los grupos no se presentó diferencia estadísticamente significativa con respecto a los linfocitos (p= 0.500).

Los neutrófilos se presentaron en menor medida, predominando en la respuesta producida por el PAL/CCN (\bar{x} = 1.60 \pm 1.3), seguido del PAL (\bar{x} = 1.53 \pm 0.4), PAL/CC (\bar{x} = 1.13 \pm 1.1) y el CCN (\bar{x} = 0.86 \pm 0.9). Entre los cuatro diferentes grupos de materiales implantados a los 7 días, no se presentó diferencia estadísticamente significativa con respecto a la presencia de neutrófilos (P= 0.64).

De todos los tipos celulares evaluados, el que se presentó en menor cantidad en este periodo de tiempo fueron las células plasmáticas, presentándose principalmente en la respuesta del PAL (\bar{x} = 0.86 \pm 0.1), seguido de CCN (\bar{x} = 0.80 \pm 0.9), PAL/CC (\bar{x} = 0.80 \pm 0.5) y PAL/CCN (\bar{x} = 0.66 \pm 0.4), sin presentar diferencia estadísticamente significativa con respecto al predominio de células plasmáticas (P= 0.95).

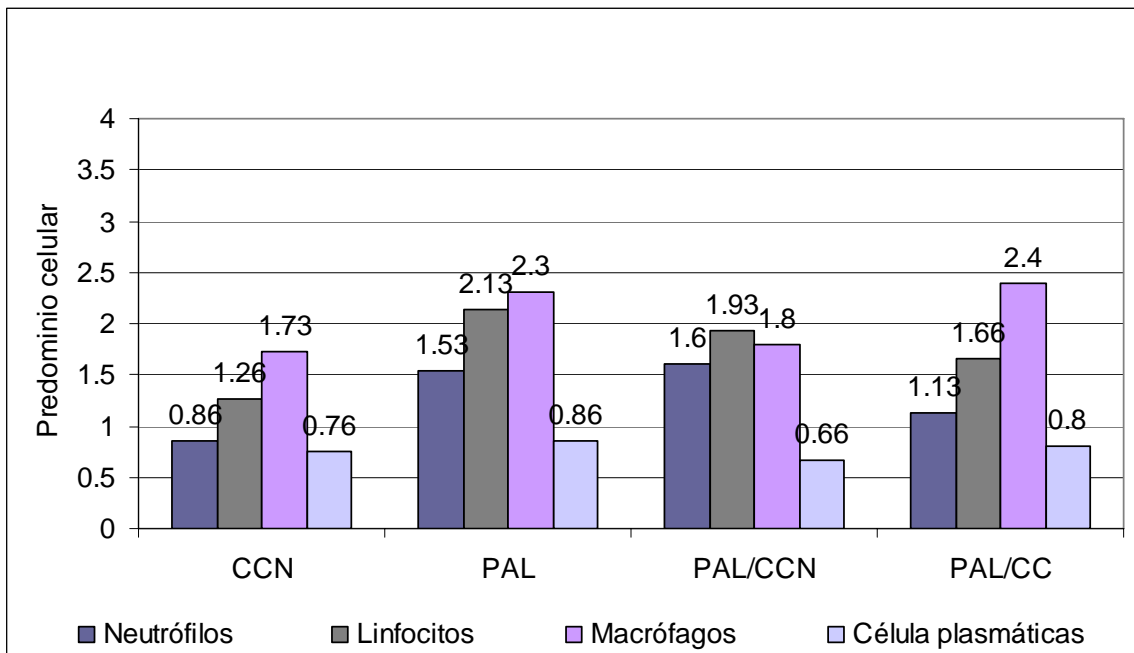
Las CGCE se presentaron en los cuatro diferentes materiales (gráfica 10) predominando en la respuesta celular que produjo el PAL (\bar{x} = 2.333 \pm 0.40),

seguido del PAL/CC ($\bar{x} = 0.800 \pm 0.29$), PAL/CCN ($\bar{x} = 0.733 \pm 0.43$) y CCN ($\bar{x} = 0.733 \pm 0.43$).

Entre los diferentes materiales no se encontró diferencia estadísticamente significativa con las CGCE (P=0.452).

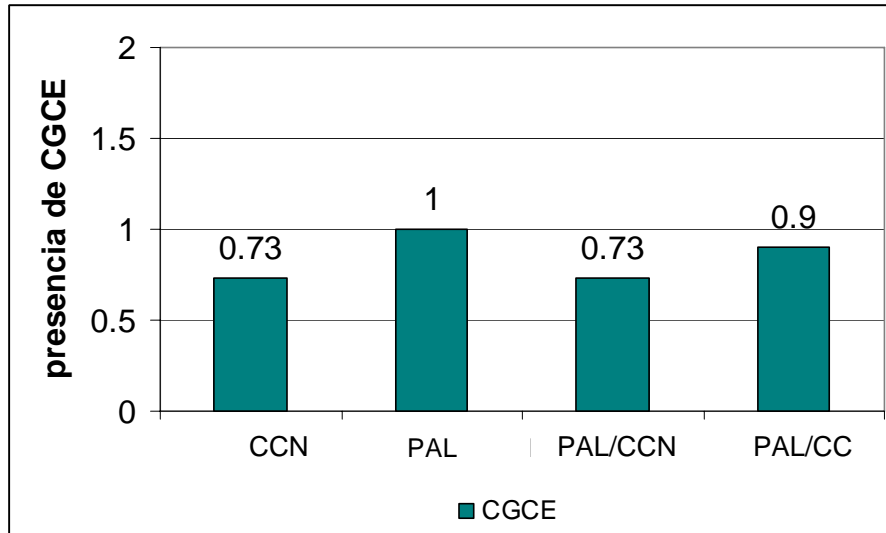
En este periodo de tiempo no se formó una pseudocápsula de fibrina, en ninguno de los cuatro diferentes materiales y no se encontró diferencia estadísticamente significativa (P = 0.3).

Gráfica 9.- Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas *Wistar* a los 7 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.



Fuente: Directa.

Gráfica 10.- Presencia de CGCE en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* a los 7 días de implantación de los diferentes materiales.



Fuente: Directa.

Infiltrado celular posterior a los 14 días de implantación de los 4 materiales.

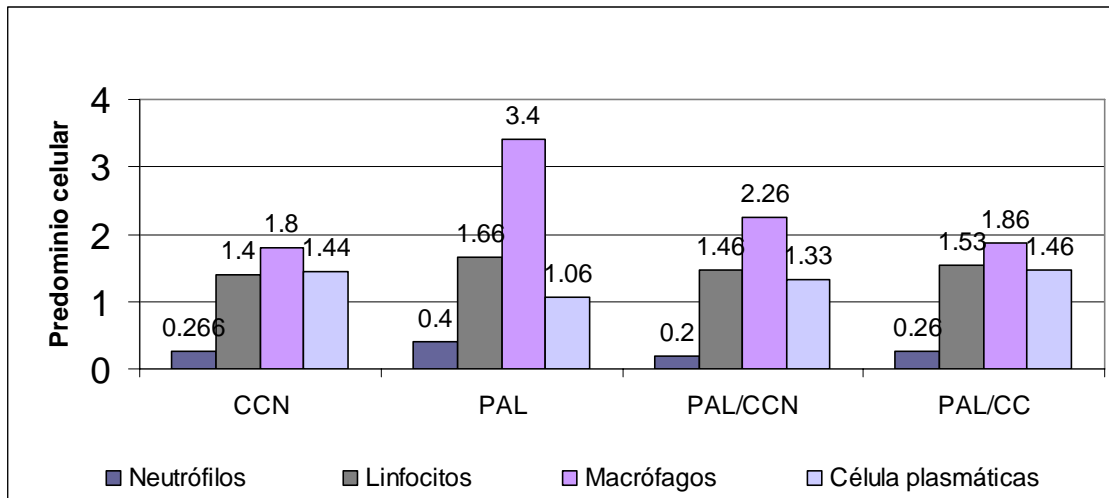
La respuesta celular a los 14 días se destacó por la presencia de macrófagos (gráfica 11), el grupo que presentó mayor respuesta macrofágica fue el implantado con PAL ($\bar{x} = 3.40 \pm 0.4$), seguido del PAL/CCN ($\bar{x} = 2.26 \pm 1.3$), PAL/CC ($\bar{x} = 1.86 \pm 0.9$) y el que presentó menor cantidad fue el grupo correspondiente al CCN ($\bar{x} = 1.80 \pm 1.1$). No se encontró diferencia estadísticamente significativa con respecto a los macrófagos ($P = 0.08$). El siguiente grupo celular que predominó fue el de los linfocitos, presentándose en mayor cantidad en la respuesta del PAL ($\bar{x} = 1.66 \pm 0.6$), seguido del PAL/CC ($\bar{x} = 1.53 \pm 0.6$), PAL/CCN ($\bar{x} = 1.46 \pm 1.1$), y CCN ($\bar{x} = 1.40 \pm 1.0$), no se presentó diferencia estadísticamente significativa con respecto a los linfocitos ($P = 0.9$). En los cuatro grupos se presentaron células plasmáticas, la respuesta producida por el PAL y el PAL/CC presentaron la misma cantidad ($\bar{x} = 1.46 \pm 1.19, \pm 1.01$ respectivamente), PAL/CCN presentó una $\bar{x} = 1.33 \pm 1.2$, por último el grupo de CCN presentó una $\bar{x} = 1.06 \pm 0.5$. Entre los diferentes grupos no se presentó diferencia estadísticamente significativa con respecto a las células plasmáticas ($P=0.9$).

En este periodo de implantación se presentaron CGCE en los diferentes materiales, predominado en la respuesta producida por el grupo del PAL ($\bar{x} =$

3.400 ± 0.43), seguido del PAL/CCN (\bar{x} = 0.800 ± 0.44) en el grupo correspondiente a CCN (\bar{x} = 0.667 ± 0.47) y PAL/CC (\bar{x} = 0.667 ± 0.47) se presentaron en igual cantidad, siendo estos dos los que presentaron menor respuesta gigantocelular (gráfica 12), no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes materiales con respecto a las CGCE (P= 0.910).

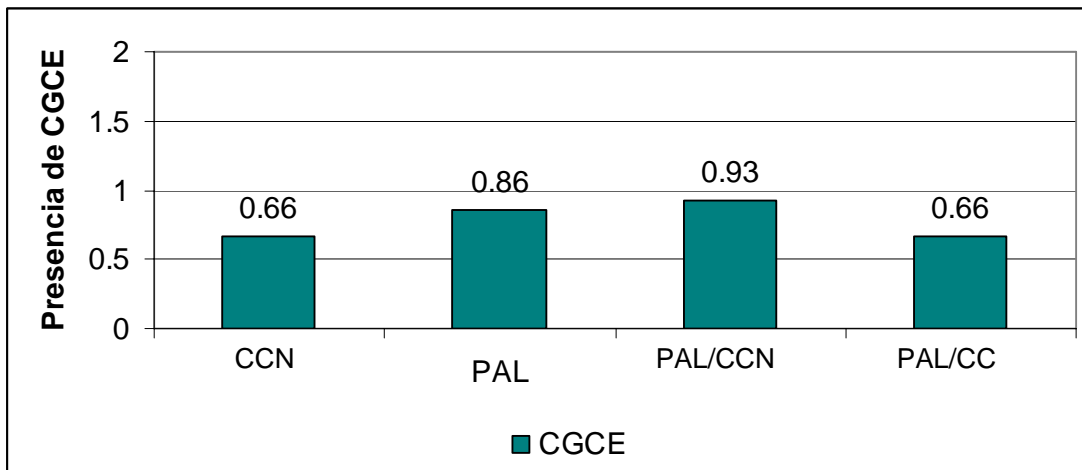
A los 14 días de implantación no se formó una pseudocápsula de fibrina en ninguno de los grupo, esto no fue estadísticamente significativo (P= 0.09).

Gráfica 11.- Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas *Wistar* a los 14 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.



Fuente directa.

Gráfica 12.- Presencia de células gigantes de cuerpo extraño en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* a los 14 días de implantación de los diferentes materiales.



Fuente directa.

Infiltrado celular posterior a los 21 días de implantación de los 4 materiales.

Posterior a la implantación de los cuatro materiales, las células que proliferaron en este periodo de tiempo, fueron los macrófagos (gráfica 13), presentándose principalmente en la respuesta producida por el PAL con una $\bar{x} = 3.40 \pm 0.5$, seguido del PAL/CCN ($\bar{x} = 2.40 \pm 1.4$), PAL/CC ($\bar{x} = 1.86 \pm 1.7$) y el CCN ($\bar{x} = 0.66 \pm 1.4$), en este grupos se presentó una diferencia estadística ($P = 0.04$), entre la respuesta del PAL y del CCN ($\bar{x} 2.73$).

Las células plasmáticas fueron el segundo grupo celular que predominó en la respuesta histológica de los diferentes materiales, presentándose en mayor cantidad en el correspondiente al PAL ($\bar{x} = 1.66 \pm 0.0$), seguido del PAL/CCN ($\bar{x} = 1.46 \pm 0.8$), el PAL/CC ($\bar{x} = 1.06 \pm 0.9$) y el que presentó menor respuesta celular fue el grupo CCN ($\bar{x} = 0.33 \pm 0.7$), este grupo no presentó una diferencia estadísticamente significativa obteniendo una $p = 0.05$.

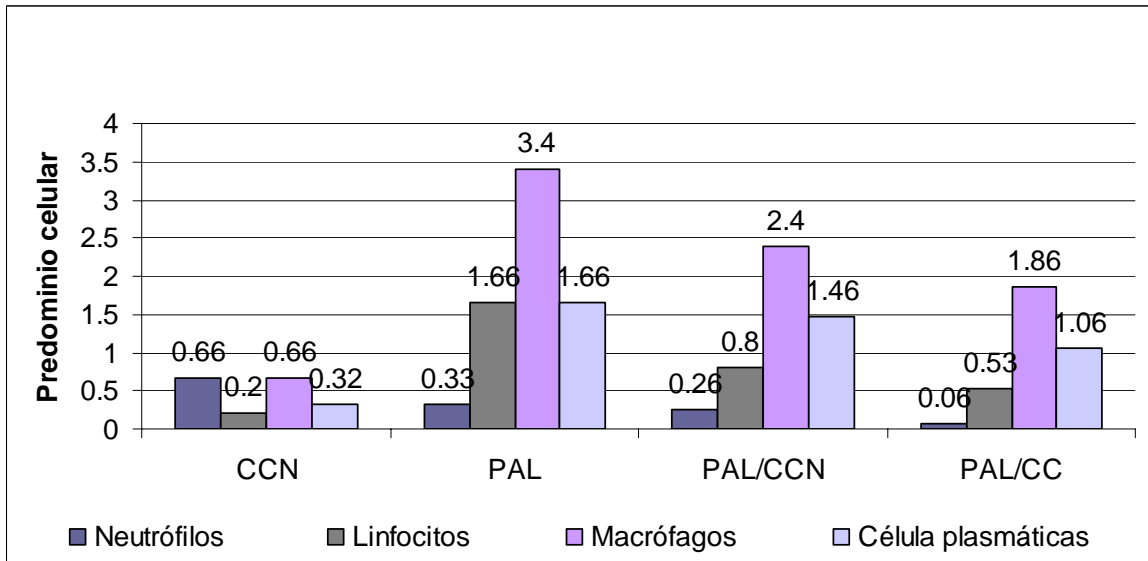
Los linfocitos estuvieron presentes en este periodo de tiempo, siendo mayor en la respuesta producida por el PAL ($\bar{x} = 1.06 \pm 0.1$), seguido del grupo PAL/CCN ($\bar{x} = 0.80 \pm 0.5$), PAL/CC ($\bar{x} = 0.53 \pm 0.5$) y el CCN ($\bar{x} = 0.20 \pm 0.4$), los linfocitos en este periodo de tiempo presentaron diferencia estadística ($P = 0.033$), entre el grupo de PAL y CCN ($\bar{x} = 0.867$).

Los neutrófilos se presentaron en menor cantidad en los diferentes materiales, el grupo que presentó mayor respuesta fue el correspondiente al PAL, ($\bar{x} = 0.33 \pm 0.00$), seguido del PAL/CCN ($\bar{x} = 0.267 \pm 0.14$), CCN ($\bar{x} = 0.0800 \pm 0.14$), y PAL/CC ($\bar{x} = 0.0667 \pm 0.149$), este grupo no presentó una diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.020$).

Las CGCE se presentaron en los diferentes grupos (gráfica 14), predominando en la respuesta producida por el PAL ($\bar{x} = 1.06 \pm 0.1$), seguido del PAL/CCN ($\bar{x} = 0.93 \pm 0.5$), PAL/CC ($\bar{x} = 0.60 \pm 0.4$) y CCN ($\bar{x} = 0.20 \pm 0.4$), la presencia de CGCE fue estadísticamente significativa ($p = 0.029$) siendo mayor en la respuesta del PAL y CCN ($\bar{x} = 0.86$), seguido del PAL/CCN y CCN ($\bar{x} = 0.73$), PAL y PAL/CC ($\bar{x} = 0.46$), PAL/CC y CCN ($\bar{x} = 0.40$), PAL/CCN y PAL/CC ($\bar{x} = 0.33$) y por último el PAL y PAL/CCN ($\bar{x} = 0.13$).

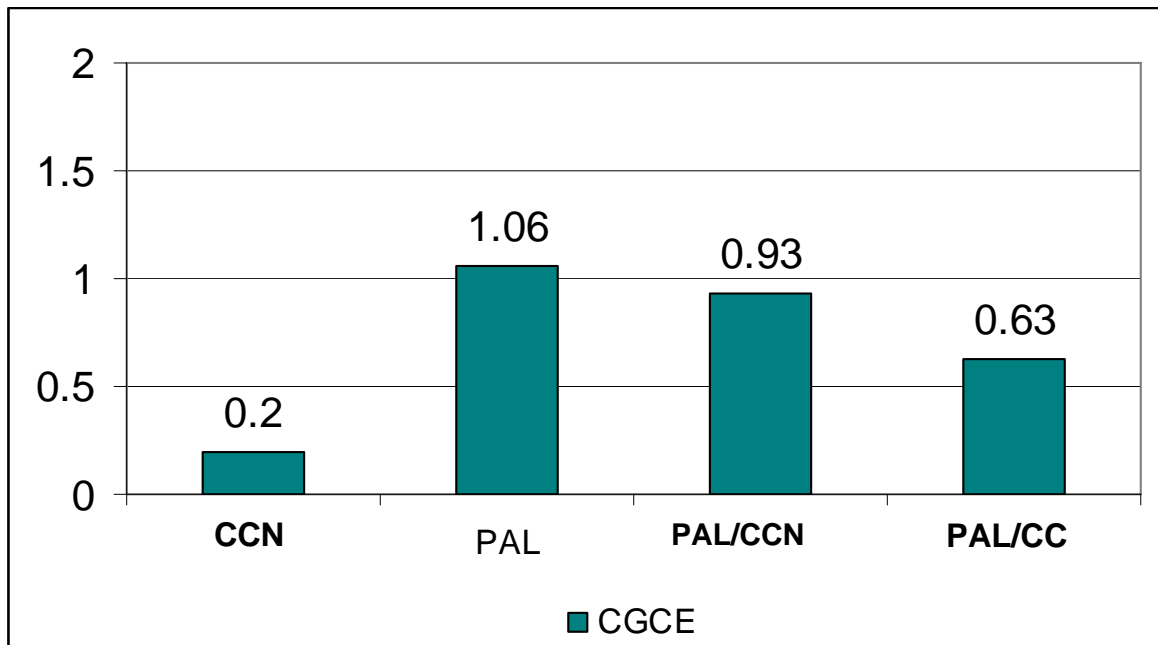
A los 21 días posterior a la implantación de los diferentes materiales, ningún grupo presentó formación de pseudocápsula de fibrina, siendo no significativo estadísticamente con una $p = 0.096$.

Gráfica 13.- Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas *Wistar* a los 21 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.



Fuente directa.

Gráfica 14.- Presencia de células gigantes de cuerpo extraño en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* a los 21 días de implantación de los diferentes materiales.



Fuente directa.

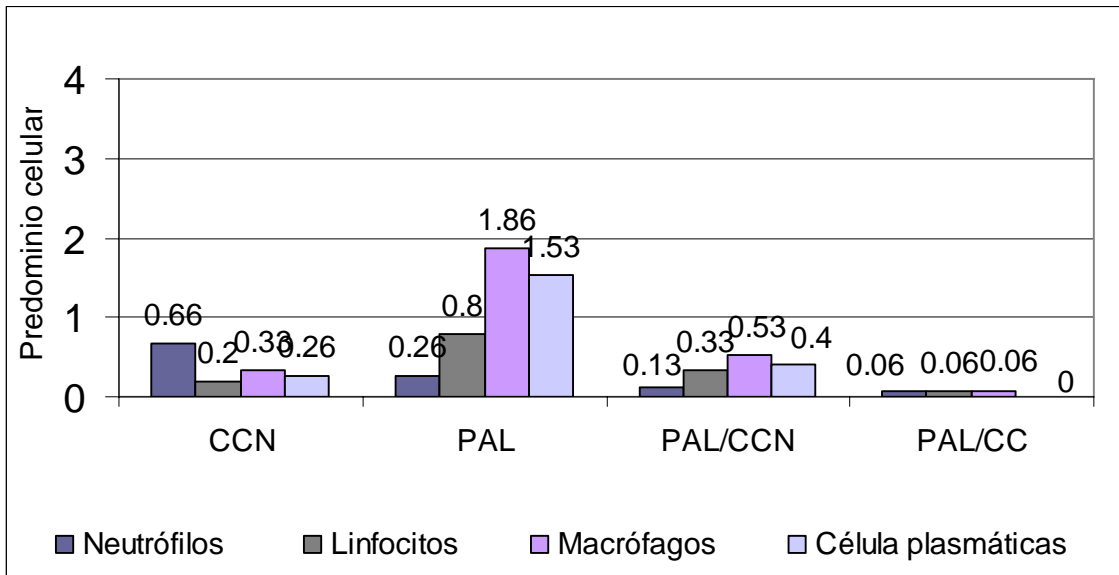
Respuesta celular de los 4 materiales a los 28 días posteriores a su implantación.

En este periodo de tiempo la mayoría de células disminuyó considerablemente (gráfica 15), de los diferentes grupos celulares que se observaron, predominaron los macrófagos en el grupo correspondiente a la respuesta histológica del PAL ($\bar{x} = 1.267 \pm 1.60$), seguido del PAL/CCN ($\bar{x} = 0.533 \pm 1.01$), CCN ($\bar{x} = 0.333 \pm 0.74$) y PAL/CC ($\bar{x} = 0.0667 \pm 0.14$), sin encontrar diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.088$), los linfocitos se presentaron en mayor cantidad en el la respuesta producida por el PAL ($\bar{x} = 0.680 \pm 0.60$) seguido del CCN ($\bar{x} = 0.240 \pm 0.43$), PAL/CCN ($\bar{x} = 0.133 \pm 0.18$) y PAL/CC ($\bar{x} = 0.0667 \pm 0.14$), no se presentó diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.11$), el tercer grupo celular que predominó fue el de los neutrófilos en el grupo correspondiente a la respuesta producida por el PAL ($\bar{x} = 0.267 \pm 0.14$) seguido del PAL/CCN ($\bar{x} = 0.133 \pm 0.18$), CCN ($\bar{x} = 0.0800 \pm 0.14$), PAL/CC ($\bar{x} = 0.0667 \pm 0.14$), sin presentar diferencia estadísticamente significativa en ningún material, ($P = 0.191$), las células plasmáticas, predominaron principalmente en la respuesta producida por el PAL ($\bar{x} = 1.53 \pm 0.76$), PAL/CCN ($\bar{x} = 0.400 \pm 0.72$), CCN ($\bar{x} = 0.260 \pm 0.58$) y con ausencia en el grupo del PAL/CC, no se encontró diferencia estadísticamente significativa para ningún material ($P = 0.008$)

En este periodo de implantación, se presentaron CGCE en los diferentes materiales, excepto en el grupo correspondiente al PAL/CC (gráfica 16), la respuesta producida por estos materiales predominó en el PAL ($\bar{x} = 1.86 \pm 1.57$), seguido de CCN ($\bar{x} = 0.200 \pm 0.47$) y PAL/CCN ($\bar{x} = 0.200 \pm 0.29$), sin presentar diferencia estadísticamente significativa entre los diferentes materiales, con respecto a las CGCE ($P = 0.057$).

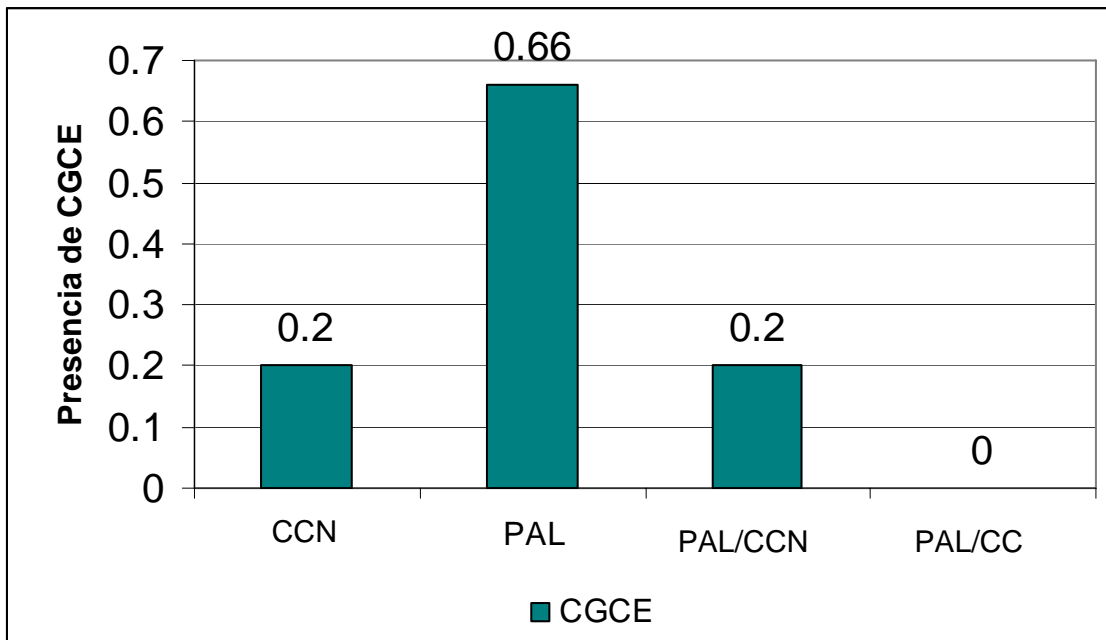
A los 28 días de implantación, no se formó una pseudocápsula de fibrina en los diferentes grupos, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa ($P = 0.335$).

Gráfica 15.- Distribución de la respuesta celular en tejido subcutáneo de ratas *Wistar* a los 28 días posteriores a la implantación de los diferentes materiales.



Fuente directa.

Gráfica 16.- Presencia de células gigantes de cuerpo extraño en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* a los 28 días de implantación de los diferentes materiales.



Fuente directa.

8.- Discusión.

El desarrollo de nuevos biomateriales para el tratamiento de lesiones óseas, tiene implícita la necesidad de cumplir con diferentes etapas experimentales, ya que si dichos materiales serán utilizados en interacción con los tejidos del huésped, una etapa importante es la correspondiente con la respuesta biológica, ya que de nada servirá tener un material con características físicas y químicas ideales, si la reacción causada en los tejidos es agresiva; por esta razón, es importante considerar que *“los factores más importantes que modelan la respuesta del huésped ante los materiales, son la naturaleza, la composición, la morfología y la geometría de su superficie, así como las características de cada individuo y la especie animal”*⁽⁴⁾.

Los cuatro materiales implantados, carbonato de calcio natural (CCN), poliácido láctico (PAL), poliácido láctico con carbonato de calcio natural (PAL/CCN), y poliácido láctico con carbonato de calcio sintético (PAL/CC), causaron una respuesta histológica similar en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar sp.* Siendo el PAL el que produjo mayor respuesta inflamatoria en los diferentes periodos de tiempo en comparación con los demás, esta situación puede ser explicada por la cantidad del material utilizado en la zona de implantación, aunque, como se mencionó, la composición química juega un papel importante para el tipo y extensión de la respuesta inflamatoria⁽²⁾, porque en el caso de los sitios implantados con PAL, el porcentaje en peso fue del 100% y en los composites PAL/CCN y PALCC el porcentaje en peso de PAL fue del 30% y la respuesta inflamatoria fue menor.

Quester y Col.⁽²³⁾ realizaron la implantación de mallas de poliéster (PET, polietilen tereftalato) siguiendo el mismo modelo animal y los mismos periodos de tiempo, en sus resultados encontraron que a los 7 días había un infiltrado inflamatorio crónico caracterizado especialmente por macrófagos y por la presencia de células gigantes multinucleadas. Esta respuesta fue similar a la encontrada en el tejido subcutáneo de los animales observados en nuestro estudio a los 7 días, es decir, en el infiltrado inflamatorio producido por los diferentes materiales había neutrófilos, linfocitos, macrófagos, células plasmáticas y células gigantes de cuerpo extraño (células multinucleadas). El

material que produjo menor respuesta inflamatoria fue el CCN, con predominio de macrófagos. Estos resultados coinciden con los descritos por Araiza⁽¹⁴⁾ en 1994, en donde encontró infiltrado celular predominantemente linfocítico en sitios implantados con CCN en un modelo animal similar, en sus resultados a los 7 días. Sin embargo, a los 7 días de implantación, en ambos estudios se observó infiltrado inflamatorio crónico moderado con presencia de células gigantes de cuerpo extraño.

Si se compara la respuesta celular del CCN con el PAL y PAL/CCN, el comportamiento fue similar entre ellos. Con respecto al PAL/CC predominó una respuesta macrofágica en comparación con los anteriores.

A los 14 días el sitio de implantación que presentó menor respuesta celular fue el correspondiente al CCN. Quester, Daamen⁽²⁵⁾ y Araiza obtuvieron resultados similares en este periodo de tiempo, la presencia de CGCE aumento en los materiales que ellos probaron, sin embargo en este estudio el único material que aumento la respuesta de las CGCE fue el correspondiente al PAL/CCN, ya que en los demás disminuyo.

Quester encontró a los 21 y 28 días posteriores a la implantación de PET abundantes fibroblastos, colágena, macrófagos y escasas CGCE (la respuesta celular disminuyo), sin embargo en este estudio se encontró que a los 21 días la respuesta del PAL fue la misma que a los 14 días, solo aumentando la respuesta de las CGCE, tanto en el PAL como en el PAL/CCN, la respuesta celular a los 21 y 28 disminuyo para el resto de los materiales, siendo menor en el sitio correspondiente al CCN.

A los 7, 14 y 28 días el sitio de implantación que presentó menor respuesta fue el correspondiente al CCN, sin embargo a los 28 días el sitio que ya no presentó CGCE fue el correspondiente al PAL/CC.

Aplicando los parámetros según la norma N. 41 de la ADA, el comportamiento de los diferentes materiales en el tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* puede ser valorado como de biocompatibilidad moderada, ya que en los diferentes periodos de tiempo se encontraron células gigantes de cuerpo extraño, siendo un indicador de la existencia de rechazo del huésped ante un agente agresor⁽²⁶⁾, sin embargo es de esperarse que al implantar cualquier material o agente extraño estas células estén presentes²⁶. Los resultados que obtuvieron Quester al implantar PET y Araiza al implantar CCN, encontraron

presencia de CGCE desde los 7 días posteriores a la implantación, ambas respuestas tuvieron buena evolución, Quester a los 28 días encontró escasas CGCE, sin embargo Araiza las observó hasta los 60 días posteriores a la implantación, en nuestro estudio disminuyeron con el paso del tiempo, incluso en el sitio correspondiente al PAL/CC ya no se observaron estas células a los 28 días, esto indica que “el papel que desempeñan estas células no debe considerarse estrictamente, porque así como pueden ser indicadores de rechazo, también pueden serlo de tolerancia y adaptación a los materiales, es decir, la presencia de este tipo de células puede ser indicador de adaptación funcional del huésped ante el agente agresor”⁽²⁶⁾ Esta adaptación “dependerá tanto del tipo y cantidad de las células de rechazo, así como el tejido que se forme hacia el interior y alrededor del material de implante” ⁽²⁴⁾, además de la cantidad y forma del material implantado ya que Araiza observó a los 60 días CGCE en un implante en bloque de CCN y en este estudio se implantó el CCN en polvo y a los 21 y 28 días la presencia celular fue escasa, si se continúa con la metodología de implantación más tiempo, posiblemente las células GCCE ya no estarían presentes o se observarían en cantidades muy escasas, como en el caso del PAL/CC a los 28 días.

Quester implantó mallas de PET y a los a 28 días la respuesta fue favorable, en comparación con el PAL que fue implantado en bloque y a los 28 días la respuesta fue moderada, si bien los materiales son químicamente diferentes, el comportamiento de cada uno varía en función de la naturaleza y estructura, por un lado el PET es un poliéster considerado como un polímero lineal de alto grado de cristalinidad, utilizado en envases de bebidas y textiles⁽²⁷⁾ sin embargo también se utiliza en el área médica como electrodos en implantes auditivos⁽²³⁾. Mientras que el PAL es un poliéster alifático empleado en la industria textil y sobre todo en la médica, en suturas, sustitutos para hueso, válvulas, etc., a pesar de que se emplean en diferentes cosas el PET y el PAL tienen características similares en cuanto a densidad, tenacidad, alargamiento a la rotura, absorben poca humedad y su temperatura de fusión es de 175°C⁽²⁷⁾, ambos presentan una respuesta histológica similar, según los resultados obtenidos por Quester y los obtenidos en el presente estudio.

Los resultados de la valoración de la respuesta histológica de los diferentes materiales fue mejor en los materiales compuestos, haciendo pensar que estos

son buenos candidatos para el desarrollo de nuevos biomateriales de sustitución y reparación ósea, tomando en cuenta que se deben realizar distintos estudios complementarios sobre diferentes pruebas biológicas tanto *in vivo* como *in vitro*.

9.- Conclusiones.

De los resultados de este trabajo se puede concluir que:

- La respuesta del huésped ante implantes de CCN, PAL, PAL/CCN, PALCC, fue caracterizada por infiltrado inflamatorio crónico y presencia de células gigantes de cuerpo extraño.
- La presencia de infiltrado inflamatorio crónico en los sitios de implantación disminuye con respecto al paso del tiempo.
- El CCN, PAL/CCN, PALCC tienden a la reabsorción y a la formación de colágena alrededor de ellos.
- El CCN y los materiales compuestos presentaron una menor reacción en comparación con el PAL.
- Según la norma 41 de la ADA los materiales provocaron una respuesta de leve a moderada y pueden ser considerados como biocompatible, sin embargo existe la necesidad de hacer diferentes pruebas *in vitro* e *in vivo* para determinar realmente si estos materiales son biocompatibles.

10.- Glosario.

Biocompatibilidad: Capacidad de un material para desempeñar una aplicación específica con una respuesta apropiada del sistema biológico huésped⁽¹⁾.

Biomaterial: Material sintético, natural o natural modificado, destinado a estar en contacto e interactuar con el sistema biológico⁽¹⁾.

Células gigantes de cuerpo extraño CGCE: Células que contienen numerosos núcleos; secretan abundante cantidad de enzimas hidrolíticas que causan necrosis y daño tisular manifiesto⁽²⁸⁾.

Células plasmáticas: Células por lo general ovaladas. El núcleo redondo u oval tiene localización excéntrica y contiene cúmulos gruesos de cromatina, ubicados sobre todo en la periferia del núcleo. Se forman por diferenciación de linfocitos B, que se activan en presencia de una reacción inmune. Las células plasmáticas sintetizan y secretan anticuerpos⁽²⁸⁾.

Composite: Material heterogéneo formado por dos componentes, que posee cualidades superiores a las de cada uno de ellos⁽²⁹⁾.

Equinodermo: Se dice de los animales metazoos marinos de simetría radiada pentagonal, con un dermatoesqueleto que consta de gránulos calcáreos dispersos en el espesor de la piel o, más frecuentemente, de placas calcáreas unidas y a veces provistas de espinas⁽³⁰⁾.

Estequiometría: Medición directa, en una muestra de una sustancia pura, que puede convertirse en la cantidad del número de partículas que componen la muestra⁽³¹⁾.

Implante: Aparato, prótesis o sustancia que se coloca en el cuerpo para mejorar alguna de sus funciones, o con fines estéticos⁽¹⁾.

Inflamación: (lat. Inflammare, encender) es la denominación dada a la reacción del organismo vivo frente a una reacción tisular y el principal mecanismo de defensa. En principio, la inflamación es una reacción defensiva local, cuyo objetivo es destruir o debilitar el agente causal, limitar la lesión y reconstruir la estructura tisular original mediante la regeneración (en lo posible) o la cicatrización⁽²⁸⁾.

In Vitro: Del latín “en vidrio”, aplicado a experimentos realizados en condiciones artificiales, esto es en un tubo de ensayo⁽²⁷⁾.

In Vivo: Del latín “en vida”, aplicado a experimentos en células de organismos vivos⁽²⁷⁾.

Linfocito polimorfo nuclear neutrófilo (LPMNN): Glóbulos blancos del tipo de los granulocitos, es el tipo de leucocitos más abundantes en la sangre. Su citoplasma contiene abundantes gránulos que contienen abundantes enzimas, así como una sustancia antibacteriana llamada fagocitina, ya que la principal función de los neutrófilos es la de detener o retardar la acción de agentes infecciosos o materiales extraños, su propiedad más importante es la fagocitosis y son capaces de ingerir bacterias y pequeñas partículas⁽²⁸⁾.

Macrófagos: Células que desempeñan un papel importante en el sistema que prepara las defensas del organismo contra partículas extrañas invasoras, se originan a partir de los monocitos, por lo que de este modo tiene lugar una transformación continua de tamaño bastante constante de los macrófagos, que viven unos dos meses en condiciones normales, es decir en ausencia de inflamación en el organismo⁽²⁸⁾.

Polímero: Unión de molécula pequeñas denominadas monómeros (significa que tienen una parte) para formar otras más grandes, denominadas polímeros (significa que tienen muchas partes). Un polímero es una molécula de gran tamaño (macromolécula) y muchas de ellas forman un material orgánico. Sin embargo es frecuente denominar polímero al material orgánico final. Por este motivo muchas veces se utiliza la palabra polímero como sinónimo de material orgánico, especialmente en el caso de los sintéticos⁽³²⁾.

11.- Referencias.

- 1.- Sastre R, San Román J, De Aza S. Biomateriales, Anexo: Glosario básico de biomateriales, Italia: Ed. Faenza Editrice Ibérica, 2004; 517-522.
- 2.- Morales J, Pereira C, Cap. 10: Biocompatibilidad, en Biomateriales, editores Sastre R, San Román J, De Aza S. Italia: Ed Faenza Editrice Ibérica, 2004; 197-218.
- 3.- Baladron J, Colmenero C, Elizondo J, González J, Hernández F, Monje F, Santos J, Valdés A, Viliente F. Cirugía avanzada en implantes, Madrid: Ed. ERGON, 2000; 468 pp.
- 4.- Monteiro F, San Roman J, Cap. 1: Introducción y desarrollo histórico, en Biomateriales, editores Sastre R, San Román J, De Aza S. Italia: Ed. Faenza Editrice Iberica, 2004: 17–26 pp.
- 5.- Caso ME, Contribución al estudio de los echinozoa de México. La familia *mellitida stefanini*. Descripción de una nueva especie del genero *mellita*. *Mellita eduardobarrosoi sp.nov*, Contribución 214 del Centro de Ciencias del Mar y Limología UNAM, México: 1980; 19pp.
- 6.- Blesa M, Gil F. Cap 13: Degradación de biometales, en Biomateriales, editores Sastre R, San Román J, De Aza S, Italia: Ed. Faenza Editrice Ibérica, 2004; 271 – 290 pp.
- 7.- Legeros RZ. Calcium phosphates in oral biology and medicine, New York: Ed. Karger, 1991; 201, pp.
- 8.- Yong SH, Gunawan H, Masayoshi F, Minoru T. Factors affecting the phase and morphology of CaCO₃ prepared by a bubbling method. Journal of the European Ceramic Society. 2006; 26: 843–847.
- 9.- Combes C, Miao B, Bareille R, Rey C. Preparation – chemical characterization and cytocompatibility of calcium carbonate cements. Biomaterials. 2006; 26: 1945–1954.
- 10.- Gunawan H, Yong SH, Masayoshi F, Minoru T. Synthesis of hollow calcium carbonate particles by the bubble templating method. Materials Letters. 2005; 59: 2519 – 22.
- 11.- Wedin P, Lewis J, Bergström L, Soluble organic additive effects on stress development during drying of calcium carbonate suspensions. Journal of Colloid and Interface Science. 2005; 290: 134 – 44.
- 12.- Pavez J, Silva J, Melo F. Effects of alginic acid from marine algae on calcium carbonate. Journal of Crystal Growth. 2005; 282: 438 – 47.

- 13.- Teixeira S, Moreira M. Study of blends of HDPE and different grades of CaCO₃ Part I. Factorial experimental design. *Polymer Testig.* 2005; 24: 983 – 987.
- 14.- Araiza M, Caracterización ultraestructural de la *mellita eduardobarrosoi sp. nov.* y la valoración in vivo de su capacidad como biomaterial, Tesis Doctoral, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México, 1994.
- 15.- Sophie BG, Shaun B. The ectosymbiotic crab *dissodactylus mellitae*—sand dollar *Mellita isometra* relationship. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 2003; 294: 235–255.
- 16.- Porjazoska A, Oksan K, Nilhan K, Biocompatible polymer blends of Poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid) and triblock PCL-PDMS-PCL copolymers: their characterizations and degradations. *Croatica Chemica Acta.* 2004; 4: 545 – 551.
- 17.- Södergard A, Stolt M. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Progress in Polymer Science.* 2002; 27: 1123–63.
- 18.- Kim SH, Kim YH. Direct condensation polymerization of lactic acid. *Macromol Symp.* 1999; 144: 177–287.
- 19.- Ajioka I, Enomoto K, Suzuki K, Yamaguchi A. The basic properties of poly(lactic acid) produced by the direct condensation polymerization of lactic acid. *J Environ Polym Degrad.* 1995; 3: 225–34.
- 20.- Proikakis C, Tarantili P, Andreopoulos A. Synthesis and characterization of low molecular weight polylactic acid. *European Polymer Journal.* 2006; 42: 3269–3276.
- 21.- Wildemann B, Sander A, Philipp S, Lucke M, Stöckle U. Short term in vivo biocompatibility testing of biodegradable poly(D,L-lactide)—growth factor coating for orthopaedic implants. *Biomaterials.* 2005; 26: 4035–4040.
- 22.- Addendum to American National Standards/ American Dental Association Document No. 41 for Recommended Standard Practices for Biological Evaluation of Dental Materials, Broadway, New York, 1982. 63 pp.
- 23.- Quester R, Hermanns B, Klosterhalfen B. Biocompatibility and healing process of polyester meshes in the brain: in vivo examination in rats. *Biomaterials.* 2003; 24: 711 – 712.
- 24.- Araiza MA, Portilla J, Hernández JC, Arita I, Castano UM. Physicochemical characterization of an invertebrate's skeleton and its possible use as biomaterial. *Ceramic Transactions,* 1996; 63: 27 – 36.
- 25.- Daamen W, Nillesen S, HafmansT, Veerkamp J. Tissue response of defined collagen – elastin scaffolds in young and adult rats with special attention to calcification. *Biomaterials.* 2005; 26: 81 – 92.

26.- Black J. Biological performance of materials fundamentals of biocompatibility, 2 edición. New York: MerceL Dekker Inc; 1992.

27.- Lagowski J. Chemistry foundations and application. New York: Ed. Thomson Gale; 2004, 390 pp.

28.- Geneser F. Histología, tercera edición. México: Ed. Medica Panamericana; 2002, 813 pp.

29.- Roth F. Los composites. México: Ed. Masson; 1994, 244 pp.

30.- Curtis H, Barnes S. Biología, sexta edición en español. México: Ed. Medica Panamericana; 2000, 1496 pp.

31.- Phillips J, Strozalk V, Wistrom C. Química conceptos y aplicaciones. México: Ed. McGraw – Hill; 2000, 857 pp.

32.- Macchi R. Materiales dentales, tercera edición. México: Ed. Medica Panamericana; 2000, 373 pp.

12.- Anexos

A 1
Tabla de vaciado de datos

# de laminilla	Neutrófilos	Linfocitos	Macrófagos	Células plasmáticas	CGCE	Formación de Seudocápsula	*Tipo de infiltrado	**Grado de biocompatibilidad

*Tipo de infiltrado
 1.- Infiltrado inflamatorio agudo
 2.- Infiltrado inflamatorio mixto
 3.- Infiltrado inflamatorio crónico

Células presentes
 -+ Insignificantes
 + Escasas
 ++ Moderadas
 +++ Abundantes.

** Grado de biocompatibilidad
 A.- Nulo
 B.- Moderado
 C.- Severo.

A2.- Neutrófilos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1	0.33333333	0	0
2	0	0	0	0
3	0.6666	0.33333333	0	0
4	2.3333	0	0.33333333	0.33333333
5	0.3333	0.66666667	0	0
Media	0.86666667	0.26666667	0.06666667	0.06666667
Des. Est.	0.8055364	0.24944383	0.13333333	0.13333333

A3.- Linfocitos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1.66666667	1	0	0
2	0	0	0	0
3	1.66666667	2	0	0
4	1.66666667	2.66666667	1	1
5	1.33333333	1.33333333	0	0
Media	1.26666667	1.4	0.2	0.2
Des. Est.	0.72264945	1.01105006	0.4472136	0.4472136

A4.- Células plasmáticas presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	2.3	0.3	0	0
2	0	0	0	0
3	0.6	2.3	0	0
4	0.3	2.3	1.6	1.3
5	0.6	2.3	0	0
Media	0.76	1.44	0.32	0.26
Des. Est.	0.89610267	1.1823705	0.71554175	0.58137767

A5.- Macrófagos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	3	1.66666667	0	0
2	0	0	0	0
3	3.33333333	2	0	0
4	0.66666667	3	3.33333333	1.66666667
5	1.66666667	2.33333333	0	0
Media	1.73333333	1.8	0.66666667	0.33333333
Des. Est.	1.44144989	1.12051575	1.49071198	0.74535599

A6.- CGCE presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1	0.33333333	0	0
2	0	0	0	0
3	1	1	0	0
4	0.66666667	1	1	1
5	1	1	0	0
Media	0.73333333	0.66666667	0.2	0.2
Des. Est.	0.38873013	0.42163702	0.4	0.4

A7.- Neutrófilos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1.33333333	0	0.33333333	0.33333333
2	2	0.66666667	0.33333333	0.33333333
3	2	1	0.33333333	0
4	1.33333333	0	0.33333333	0.33333333
5	1	0.33333333	0.33333333	0.33333333
Media	1.53333333	0.4	0.33333333	0.26666667
Des. Est.	0.4	0.38873013	0	0.13333333

A8.- Linfocitos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	3	2	1	1
2	3	2	1	0.66666667
3	1.66666667	1.33333333	1	0
4	1.66666667	0.66666667	1	1
5	1.33333333	2.33333333	1.33333333	1.33333333
Media	2.13333333	1.66666667	1.06666667	0.8
Des. Est.	0.71802197	0.59628479	0.13333333	0.45215533

A9.- Células plasmáticas presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1	1.66666667	1.66666667	2.33333333
2	0.66666667	1.33333333	1.66666667	1.33333333
3	1	0.33333333	1.66666667	0.33333333
4	0.66666667	1.33333333	1.66666667	1.66666667
5	1	0.66666667	1.66666667	2
Media	0.86666667	1.06666667	1.66666667	1.53333333
Des. Est.	0.16329932	0.48989795	0	0.68637534

A10.- Macrófagos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	2.33333333	3	4	3
2	2.33333333	3.66666667	4	0.33333333
3	2	4	3	0
4	2	3	3	2.66666667
5	3	3.33333333	3	3.33333333
Media	2.33333333	3.4	3.4	1.86666667
Des. Est.	0.40824829	0.43461349	0.54772256	1.57409586

A11.- CGCE presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1	1	1	1
2	1	0.66666667	1	0.33333333
3	1	0.66666667	1	0
4	1	1	1	1
5	1	1	1.33333333	1
Media	1	0.86666667	1.06666667	0.66666667
Des. Est.	0	0.18257419	0.1490712	0.47140452

A12.- Neutrófilos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	2.33333333	0	0.33333333	0
2	2.33333333	0.33333333	0.33333333	0.33333333
3	3	0	0.33333333	0
4	0	0	0.33333333	0
5	0.33333333	0.66666667	0	0.33333333
Media	1.6	0.2	0.26666667	0.13333333
Des. Est.	1.34164079	0.2981424	0.1490712	0.18257419

A13.- Linfocitos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	3	2	0.66666667	0
2	3	3	1.33333333	1
3	2.66666667	0	1	0
4	0	1	1	0
5	1	1.33333333	0	0.66666667
Media	1.93333333	1.46666667	0.8	0.33333333
Des. Est.	1.36218778	1.12051575	0.50552503	0.47140452

A14.- Células plasmáticas presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	0.33333333	0.66666667	1.66666667	0
2	1	0.66666667	2.33333333	1.66666667
3	1	0	1.66666667	0
4	0	3	1.66666667	0
5	1	2.33333333	0	0.33333333
Media	0.75	1.5	1.41666667	0.5
Des. Est.	0.47140452	1.26929552	0.86922699	0.72264945

A15.- Macrófagos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	3.33333333	3	3.33333333	0
2	1.66666667	3	2	2.33333333
3	1	0	3.33333333	0
4	0	3	3.33333333	0
5	3	2.33333333	0	0.33333333
Media	1.8	2.26666667	2.4	0.53333333
Des. Est.	1.38644229	1.29957258	1.46059349	1.01653005

A16.- CGCE presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CCN en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1	1	1	0
2	1	1	1.66666667	0.66666667
3	1	0	1	0
4	0	1	1	0
5	0.66666667	1	0	0.33333333
Media	0.73333333	0.8	0.93333333	0.2
Des. Est.	0.43461349	0.4472136	0.59628479	0.2981424

A17.- Neutrófilos presentes en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CC en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	2	0	0	0
2	0	0.33333333	0.33333333	0
3	2.66666667	0.66666667	0	0
4	1	0	0	0
5	0	0.33333333	0	0.33333333
Media	1.13333333	0.26666667	0.06666667	0.06666667
Des. Est.	1.19256959	0.27888668	0.1490712	0.1490712

A18.- Linfocitos en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CC en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1.66666667	1.66666667	1	0
2	0.66666667	2.33333333	0.66666667	0
3	1.66666667	0.66666667	0	0
4	2.33333333	1	0	0
5	2	2	1	0.33333333
Media	1.66666667	1.53333333	0.53333333	0.06666667
Des. Est.	0.62360956	0.69121471	0.50552503	0.1490712

A 19.- Células plasmáticas en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CC en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	1.66666667	0.66666667	1.66666667	0
2	0.33333333	2	2	0
3	0.33333333	1	0	0
4	1	3	0	0
5	0.66666667	0.66666667	1.66666667	0
Media	0.8	1.46666667	1.06666667	0
Des. Est.	0.55777335	1.01653005	0.98319208	0

A 20.- Macrófagos en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CC en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	3	3	3	0
2	0.66666667	0.66666667	3.33333333	0
3	2.66666667	1	0	0
4	3.33333333	2.33333333	0	0
5	2.33333333	2.33333333	3	0.33333333
Media	2.4	1.86666667	1.86666667	0.06666667
Des. Est.	1.03816077	0.98882646	1.70945085	0.1490712

A21.- CGCE en tejido subcutáneo de ratas *Wistar*, posterior a la implantación de PAL/CC en los diferentes periodos de tiempo.

Espécimen	7 días	14 días	21 días	28 días
1	0.66666667	1	1	0
2	0.33333333	0.33333333	1	0
3	1	0	0	0
4	1	1	0.33333333	0
5	1	1	0.66666667	0
Media	0.8	0.66666667	0.6	0
Des. Est.	0.2981424	0.47140452	0.43461349	0

A22.- Neutrófilos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 7 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	1	1.33333333	2.33333333	2
2	0	2	2.33333333	0
3	0.66666667	2	3	2.66666667
4	2.33333333	1.33333333	0	1
5	0.33333333	1	0.33333333	0
Media	0.86666667	1.53333333	1.6	1.13333333
Des. Est.	0.90061707	0.4472136	1.34164079	1.19256959

A23.- Linfocitos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 7 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	1.66666667	3	3	1.66666667
2	0	3	3	0.66666667
3	1.66666667	1.66666667	2.66666667	1.66666667
4	1.66666667	1.66666667	0	2.33333333
5	1.33333333	1.33333333	1	2
Media	1.26666667	2.13333333	1.93333333	1.66666667
Des. Est.	0.72264945	0.80277297	1.36218778	0.62360956

A24.- Células plasmáticas en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 7 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	2.33333333	1	0.33333333	1.66666667
2	0	0.66666667	1	0.33333333
3	0.66666667	1	1	0.33333333
4	0.33333333	0.66666667	0	1
5	0.66666667	1	1	0.66666667
Media	0.8	0.86666667	0.66666667	0.8
Des. Est.	0.90061707	0.18257419	0.47140452	0.55777335

A25.- Macrófagos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 7 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	3	2.33333333	3.33333333	3
2	0	2.33333333	1.66666667	0.66666667
3	3.33333333	2	1	2.66666667
4	0.66666667	2	0	3.33333333
5	1.66666667	3	3	2.33333333
Media	1.73333333	2.33333333	1.8	2.4
Des. Est.	1.44144989	0.40824829	1.38644229	1.03816077

A26.- CGCE en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 7 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	1	1	1	0.66666667
2	0	1	1	0.33333333
3	1	1	1	1
4	0.66666667	1	0	1
5	1	1	0.66666667	1
Media	0.73333333	1	0.73333333	0.8
Des. Est.	0.43461349	0	0.43461349	0.2981424

A27.- Neutrófilos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 14 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0.33333333	0	0	0
2	0	0.66666667	0.33333333	0.33333333
3	0.33333333	1	0	0.66666667
4	0	0	0	0
5	0.66666667	0.33333333	0.66666667	0.33333333
Media	0.26666667	0.4	0.2	0.26666667
Des. Est.	0.27888668	0.43461349	0.2981424	0.27888668

A28.- Linfocitos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 14 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	1	2	2	1.66666667
2	0	2	3	2.33333333
3	2	1.33333333	0	0.66666667
4	2.66666667	0.66666667	1	1
5	1.33333333	2.33333333	1.33333333	2
Media				
Des. Est.				

A 29.- Células plasmáticas en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 14 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0.33333333	1.66666667	0.66666667	0.66666667
2	0	1.33333333	0.66666667	2
3	2.33333333	0.33333333	0	1
4	2.33333333	1.33333333	3	3
5	2.33333333	0.66666667	2.33333333	0.66666667
Media	1.4	1.66666667	1.46666667	1.53333333
Des. Est.	1.01105006	0.66666667	1.12051575	0.69121471

A30.- Macrófagos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 14 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	1.66666667	3	3	3
2	0	3.66666667	3	0.66666667
3	2	4	0	1
4	3	3	3	2.33333333
5	2.33333333	3.33333333	2.33333333	2.33333333
Media	1.8	3.4	2.26666667	1.86666667
Des. Est.	1.12051575	0.43461349	1.29957258	0.98882646

A31.- CGCE en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 14 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0.33333333	1	1	1
2	0	0.66666667	1	0.33333333
3	1	0.66666667	0	0
4	1	1	1	1
5	1	1	1	1
Media	0.66666667	0.86666667	0.8	0.66666667
Des. Est.	0.47140452	0.18257419	0.4472136	0.47140452

A32.- Neutrófilos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 21 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	0.33333333	0.33333333	0
2	0	0.33333333	0.33333333	0.33333333
3	0	0.33333333	0.33333333	0
4	0.33333333	0.33333333	0.33333333	0
5	0	0.33333333	0	0
Media	0.06666667	0.33333333	0.26666667	0.06666667
Des. Est.	0.1490712	0	0.1490712	0.1490712

A33.- Linfocitos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 21 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	1	0.66666667	1
2	0	1	1.33333333	0.66666667
3	0	1	1	0
4	1	1	1	0
5	0	1.33333333	0	1
Media	0.2	1.06666667	0.8	0.53333333
Des. Est.	0.4472136	0.1490712	0.50552503	0.50552503

A34.- Células plasmáticas en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 21 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	1.66666667	1.66666667	1.66666667
2	0	1.66666667	2.33333333	2
3	0	1.66666667	1.66666667	0
4	1.66666667	1.66666667	1.66666667	0
5	0	1.66666667	0	1.66666667
Media	0.33333333	1.66666667	1.46666667	1.06666667
Des. Est.	0.74535599	0	0.86922699	0.98319208

A35.- Macrófagos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 21 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	4	3.33333333	3
2	0	4	2	3.33333333
3	0	3	3.33333333	0
4	3.33333333	3	3.33333333	0
5	0	3	0	3
Media	0.66666667	3.4	2.4	1.86666667
Des. Est.	1.49071198	0.54772256	1.46059349	1.70945085

A36.- CGCE en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 21 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	1	1	1
2	0	1	1.66666667	1
3	0	1	1	0
4	1	1	1	0.33333333
5	0	1.33333333	0	0.66666667
Media	0.2	1.06666667	0.93333333	0.6
Des. Est.	0.4472136	0.1490712	0.59628479	0.43461349

A 37.- Neutrófilos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 28 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	0.33333333	0	0
2	0	0.33333333	0.33333333	0
3	0	0	0	0
4	0.33333333	0.33333333	0	0
5	0	0.33333333	0.33333333	0.33333333
Media	0.06666667	0.26666667	0.13333333	0.06666667
Des. Est.	0.1490712	0.1490712	0.18257419	0.1490712

A38.- Linfocitos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 28 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	1	0	0
2	0	0.66666667	1	0
3	0	0	0	0
4	1	1	0	0
5	0	1.33333333	0.66666667	0.33333333
Media	0.2	0.8	0.33333333	0.06666667
Des. Est.	0.4472136	0.50552503	0.47140452	0.1490712

A39.- Células plasmáticas en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 28 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	2.33333333	0	0
2	0	1.33333333	1.66666667	0
3	0	0.33333333	0	0
4	1.33333333	1.66666667	0	0
5	0	2	0.33333333	0
Media	0.26666667	1.53333333	0.4	0
Des. Est.	0.59628479	0.76739096	0.72264945	0

A40.- Macrófagos en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 28 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	3	0	0
2	0	0.33333333	2.33333333	0
3	0	0	0	0
4	1.66666667	2.66666667	0	0
5	0	3.33333333	0.33333333	0.33333333
Media	0.33333333	1.86666667	0.53333333	0.06666667
Des. Est.	0.74535599	1.57409586	1.01653005	0.1490712

A41.- CGCE en tejido celular subcutáneo de ratas *Wistar* posterior a los 28 días de implantación de los diferentes materiales.

Espécimen	CCN	PAL	PAL/CCN	PAL/CC
1	0	1	0	0
2	0	0.33333333	0.66666667	0
3	0	0	0	0
4	1	1	0	0
5	0	1	0.33333333	0
Media	0.2	0.66666667	0.2	0
Des. Est.	0.4472136	0.47140452	0.2981424	0