



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA

DETERMINACIÓN DE LA RESPUESTA BIOLÓGICA PROVOCADA
POR EL QUITOSÁN COMO MATERIAL DE RECUBRIMIENTO
PULPAR VS HIDRÓXIDO DE CALCIO EN UN MODELO
EXPERIMENTAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

MARÍA ANTONIA MARIN TALAMANTES

TUTORA: Dra. SANTA PONCE BRAVO

ASESORES: Dra. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO

Q.F.B. FERNANDO JAVIER FRANCO MARTÍNEZ



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.

AGRADECIMIENTOS

A mis **padres Mario y Dora** por su gran esfuerzo por inculcarme valores y hacer de mi una persona de bien, por criarme dentro de una familia unida llena de amor, por su absoluto apoyo e interés en la realización de mis estudios y por su exigencia que creó en mi una incansable búsqueda de superación. Siempre le agradeceré a Dios por ustedes.

A **Mariela**, mi **hermana** por su amor incondicional, por sus palabras de aliento, por llevarme de la mano por el camino. Eres un pilar en mi vida, mi vida es inimaginable sin ti.

A mi **Tía Delia**, la inmensidad de tu amor me das las fuerzas necesarias para creer que todo lo puedo y que todo es posible. Gracias por llenar mi vida de infinita felicidad.

A **Jorge** por su total entrega y apoyo en la realización de todos mis sueños. Gracias por ser un ejemplo y motivación tan grande para mí, mi amor.

A todos mis amigos **Andrés, Cua-cua, Eli, Fercha, Isela, Karen, Lili-án, Liz, Mery, Olgui, Rocío, Serch y Vic**, que hicieron que cada día en la escuela fuera el mejor día de mi vida, por hacerme reír cuando pensé que era imposible poder reír aún más, gracias por esos maravillosos años, son un tesoro para mí. Un agradecimiento especial para Isela por su amistad tan auténtica e incondicional, y para Elisa por compartir siempre conmigo su valiosa ayuda.

A mi tutora, **Dra. Santa** gracias por aceptar trabajar conmigo en la realización de esta investigación, por brindarme todos los medios necesarios para llevarla a cabo, por dedicarme su tiempo y su esfuerzo.

Al **Q.F.B. Franco** por interesarse en mi proyecto, destinarle tiempo y guiarme como necesitaba que lo hicieran. Usted fue la primera persona en comprometerse con mi trabajo, demostró su fuerte sentido de responsabilidad y me enseñó que gracias a maestros como usted hay alumnos que pueden llevar a cabo sus proyectos y no dejarlos en simples ideas.

A la **Dra. Patricia** por brindarme el material necesario para llevar a cabo este recubrimiento pulpar, por su excelente disposición y su carácter siempre amable.

Al **Bioterio de la facultad de medicina de la UNAM** por su colaboración en el manejo de los sujetos experimentales.

Al **Sr. Juan** quiero agradecerle por su invaluable ayuda en el manejo de las ratas, por las largas horas de trabajo, por su entera disposición y sus constantes aportaciones. Sin usted me hubiera sido imposible realizar este trabajo.

Al **Sr. Teo** por la realización de los cortes histológicos, que sin duda fue una ardua y laboriosa tarea.

Al **Dr. Jaime Orea, Dr. Jaime Vera, Dr. Barceló, Dra. Leyva, Dr. Argüello** y al **Dr. Sámano** por aportarme sus valiosos puntos de vista acerca de esta investigación, por orientarme cuando no sabía a quién acudir y por conducirme en el camino de la investigación.

A **Dios** por regalarme el don de la vida, por darme un cuerpo y una mente aptos para realizar este trabajo. Por cada amanecer y cada atardecer en esta tierra, donde me encuentro parada, maravillada por el potencial que nos has regalado para desarrollar.

Y por último a mi casa de estudios, la **Universidad Nacional Autónoma de México** que me abrió sus brazos para poder orgullosamente formar parte de ella.

ÍNDICE

	Páginas
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2-3
III. MARCO TEÓRICO.	
1. Tejido pulpar	
1.1 Descripción	4-5
1.2 Zonas topográficas.	
A. Zona o capa odontoblástica.	5-6
B. Zona basal u oligocelular de Weil.	6-7
C. Zona rica en células.	7-8
D. Zona central de la pulpa.	8
1.3 Circulación sanguínea.	8-9
1.4 Inervación.	10
1.5 Actividades funcionales de la pulpa.	10-11
• Inductora.	
• Formativa.	
• Nutritiva.	
• Sensitiva.	
• Defensiva o reparadora.	
1.6 Inflamación pulpar.	11-12
2. Dentina	
2.1 Descripción	12
2.2 Dentinogénesis.	12
2.3 Ciclo vital de los odontoblastos.	12-16
2.4 Clasificación histogenética de la dentina.	16-18
• Dentina primaria.	
• Dentina secundaria.	
• Dentina terciaria.	
2.5 Histofisiología dentinaria.	
• Actividad mecánica	18
• Actividad defensiva	18-19
• Actividad sensitiva	19-22

	Páginas
3. Recubrimiento pulpar directo.	
3.1 Descripción.	23
3.2 Procedimiento clínico.	23-25
Pasos para el procedimiento de recubrimiento pulpar.	
3.3 Cicatrización del sitio expuesto.	25
3.4 Recubrimiento pulpar directo vs tratamiento de conductos.	26-27
3.5 Materiales.	
• Hidróxido de calcio.	27-29
• Mineral de trióxido agregado.	29-30
• Otros materiales.	30-35
4. Quitosán.	
4.1 Quitina.	36-37
4.2 Quitosán.	37-38
Propiedades y aplicaciones.	
IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	39
V. JUSTIFICACIÓN.	40
VI. OBJETIVOS.	41
Objetivo general.	
Objetivos específicos.	
VII. HIPÓTESIS.	42
Hipótesis de trabajo.	
Hipótesis nula.	
VIII. MATERIALES Y MÉTODO.	
1. Tipo de estudio.	43
Experimental, observacional y descriptivo.	
2. Variables.	43-44
2.1. Variables dependientes.	
2.1.1. Formación del puente de dentina.	
2.1.2. Continuidad del puente de dentina.	
2.1.3. Morfología del puente de dentina.	
2.1.4. Grosor del puente de dentina.	
2.1.5. Localización del puente de dentina.	

	Páginas
2.1.6. Tipo de proceso inflamatorio.	
2.1.7. Intensidad de la reacción inflamatoria pulpar.	
2.1.8. Extensión de la reacción inflamatoria pulpar.	
2.1.9. Estado general de la pulpa.	
2.1.10. Presencia de células gigantes y partículas del material de recubrimiento.	
2.1.11. Presencia de microorganismos: ausencia o presencia.	
2.2. Variables independientes.	
2.2.1. Preparación cavitaria.	
2.2.2. Material de recubrimiento pulpar.	
2.2.3. Intervalos de tiempo.	
3. Criterios de selección.	44
3.1. Criterios de inclusión.	
3.2. Criterios de exclusión.	
4. Diseño experimental.	44-45
4.1. Metodología.	
4.1.1. Materiales.	45-47
4.1.2. Método.	47-48
❖ Etapa 1.	48-49
○ Inducción inflamatoria pulpar sin exposición.	
❖ Etapa 2.	49-52
○ Procedimiento de recubrimiento pulpar directo en pulpas sanas e inflamadas.	
Exposición pulpar en dientes libres de inflamación.	
IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS	50
❖ Etapa 3.	53
○ Eutanización de los sujetos experimentales.	
❖ Etapa 4.	53-54
○ Obtención de cortes histológicos.	
❖ Etapa 5.	54
○ Análisis de los cortes histológicos.	
CRITERIOS DE MESTRENER Y COL.	55-56
IX. RESULTADOS.	57-99
X. DISCUSIÓN.	100-101
XI. CONCLUSIONES.	102
XII. BIBLIOGRAFÍA.	103-106

I. RESUMEN

Existe una gama de materiales dentro de los cuales el clínico puede elegir cuando se encuentra ante una comunicación pulpar. Todos los recubrimientos, en mayor o menor medida cumplen con el requisito de formar un puente de dentina. Sin embargo, el éxito de éstos tan solo alcanza un porcentaje alrededor del 80% en dientes maduros en el mejor de los casos¹, lo cual deja grandes metas por alcanzar.

El objetivo de este estudio fue observar y comparar la respuesta dentino-pulpar del quitosán con la del hidróxido de calcio, enfocada en la búsqueda de materiales que promuevan la formación del puente de dentina y que también estimulen el restablecimiento de la salud pulpar aún en presencia de pulpitis reversible. También se buscó promover el cuidado del medio ambiente, ya que el quitosán se obtiene a partir de desechos de la industria procesadora de alimentos marinos.

Se comparó la acción de 2 diferentes tipos de recubrimiento pulpar, incluyendo uno experimental a base de quitosán y otro a base de hidróxido de calcio, sobre pulpas sanas (grupos controles) y sobre pulpas inflamadas (grupos experimentales), en 18 ratas Wistar a intervalos de tiempo de 7, 28 y 60 días. Al término de estos intervalos los modelos experimentales se sacrificaron y se obtuvieron cortes histológicos con tres diferentes tinciones correspondientes a Hematoxilina y Eosina, Tricrómica de Masson y Brown y Brenn, para analizar tanto la formación de un puente de dentina como la respuesta tisular del tejido pulpar, todos los cortes se analizaron a 5X, 10X, 20X Y 40X.

Los grupos control mostraron una mejor respuesta general que la de los grupos experimentales, observando que el hidróxido de calcio promovió una buena formación de tejido duro, pero una respuesta agresiva sobre el tejido pulpar, no así el quitosán que mostró una favorable respuesta pulpar, pero una menor capacidad de formación de tejido duro. Por otro lado, los grupos experimentales mostraron una mejor formación de tejido duro en comparación con su respuesta pulpar, incluso la formación de tejido duro fue equiparable o ligeramente mejor que la de los grupos control, así mismo en estos grupos experimentales la formación de tejido duro fue mejor en los correspondientes al quitosán. Tanto en los grupos control como en los experimentales, el quitosán mostró menor presencia de bacterias que los de $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

La realización de este estudio advierte que el quitosán es un adecuado material de recubrimiento pulpar, sin embargo habrá que realizar modificaciones en su formulación para obtener los resultados buscados.

II. INTRODUCCIÓN

Estudios realizados sobre recubrimiento pulpar directo, han descrito fracasos y éxitos a distintos intervalos de tiempo y condiciones experimentales¹⁻¹⁴. Diversos investigadores han proporcionado pruebas de que el recubrimiento pulpar no tiene éxito cuando existe inflamación pulpar². Otros, en cambio, han demostrado en estudios en animales que la cicatrización pulpar ocurre independientemente de que haya una reacción manifiesta. Por otro lado, Weiss y Bjorvatn describieron que puede existir una pulpa saludable por debajo de un recubrimiento pulpar directo aun cuando no exista un puente de dentina. Sin embargo, Cox y Subay encontraron que 89% de los puentes formados en respuesta a los recubrimientos pulpares con hidróxido de calcio demostraron defectos de túnel, que permitían el acceso de productos de la microfiltración por debajo de la restauración hacia la pulpa, encontrando inflamación pulpar recurrente en 41% de todos los puentes formados en la muestra¹⁵.

Desde el punto de vista biológico es importante mantener la vitalidad pulpar, por ello el mejor tratamiento es aquel que permita mantener la integridad y funciones del complejo dentino-pulpar¹⁰. En mi opinión, las controversias en este ámbito se deben a que la mayoría de estos estudios han enfocado sus esfuerzos en la formación de un puente dentinario, cuando en sí, lo que dará el mantenimiento de la vitalidad pulpar será la capacidad de esta a superar la inflamación y recuperar su estado de salud. En el estudio de Kakehashi y colaboradores realizado en 1965¹⁶, expusieron el tejido pulpar de modelos experimentales libres de gérmenes (animales gnotobióticos), encontraron cicatrización pulpar con formación de puentes de dentina e incluso cuando se dejaban sin cubrir, es posible que la respuesta inflamatoria al trauma mecánico haya sido de menor intensidad debido a que el tejido pulpar no es expuesto a agentes biológicos, por lo cual los odontoblastos son capaces de reaccionar de manera normal, generar dentina reparativa y restablecer la salud pulpar.

En el estudio de Tronstad y Mjör¹³ se colocaron como recubrimientos pulpares directos, hidróxido de calcio y óxido de zinc y eugenol sobre pulpas inflamadas, lo cual resultó en necrosis para la gran mayoría de los dientes recubiertos con hidróxido de calcio, sin embargo 10 de 15 dientes recubiertos con óxido de zinc y eugenol presentaron formación de dentina terciaria y aunque en ninguno existió formación completa de los puentes dentinarios muchos dientes se encontraban libres de inflamación. Estos resultados confirman lo previamente mencionado, presumiendo que el mejor resultado en el grupo de óxido de zinc y eugenol puede deberse a su efecto paliativo, antibacterial y farmacológico, lo cual en cierta medida reduce la inflamación, aunque por otro lado su efecto tóxico no permite una prognosis tan favorable como la deseada. Por lo anterior, es suposible que si aplicamos sobre la pulpa un recubrimiento pulpar que tenga efectos cicatrizantes, hemostáticos, germicidas, sea biocompatible con el tejido pulpar y por tanto permita la formación del puente de dentina, el éxito del recubrimiento podría verse

incrementado en gran medida y podríamos no sólo estar hablando del mantenimiento de la vitalidad pulpar, sino también de una posible reversión de un estado de pulpitis previo, como el que encontramos en una pulpa vital expuesta por caries.

III. MARCO TEÓRICO.

1. Tejido pulpar

1.1 Descripción.

La pulpa está formada en el 75% por agua y en el 25% por materia orgánica. Esta última está constituida por células y matriz extracelular conformada por fibras y sustancia fundamental (Fig. 1)¹⁷.

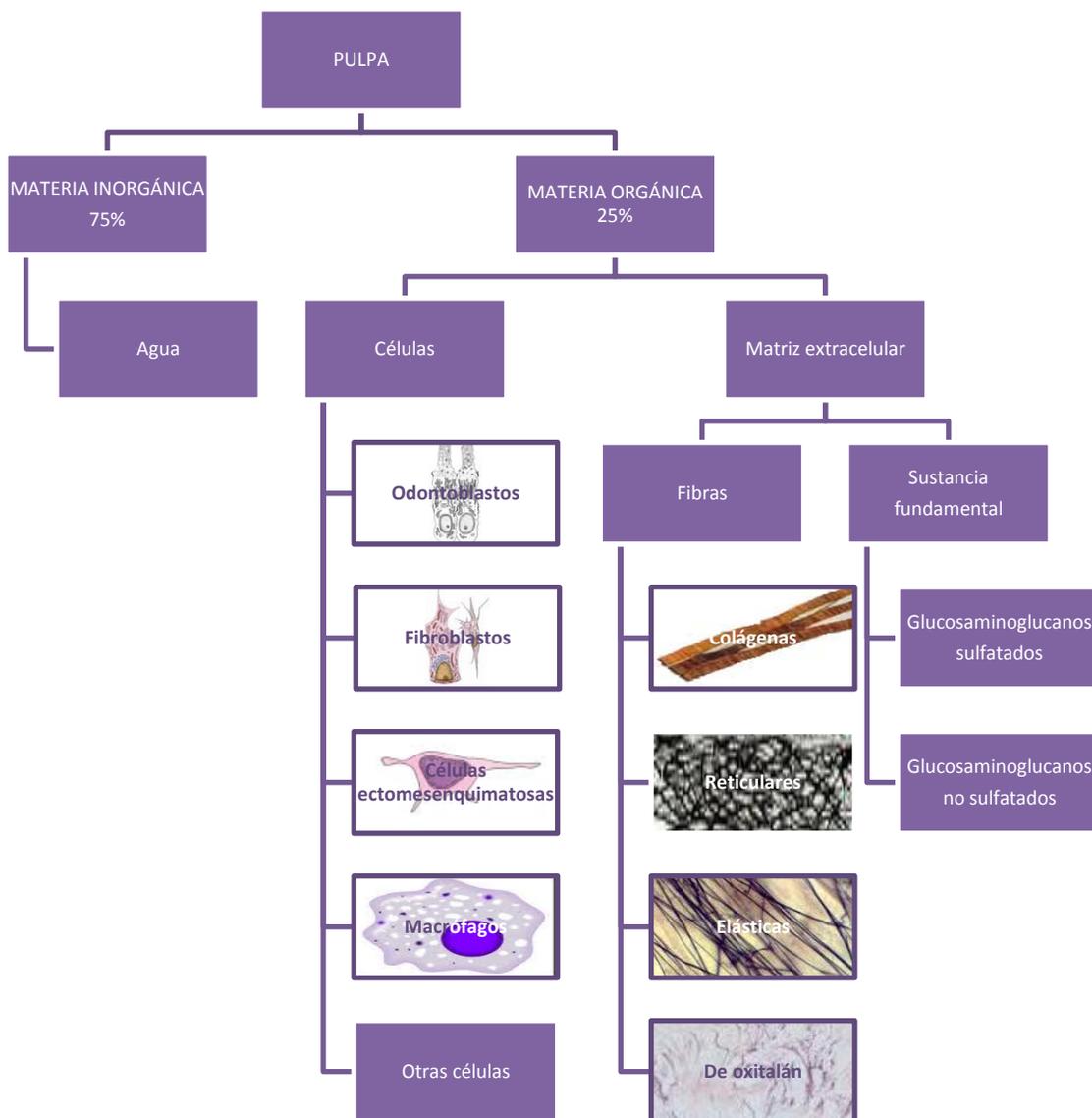


Fig. 1. Mapa conceptual del tejido pulpar y sus diferentes componentes.



La pulpa dentaria está constituida por tejido conjuntivo laxo, ricamente vascularizado e innervado, es el único tejido blando del diente y se encuentra rodeado por dentina dentro del área denominada cámara pulpar. El tejido pulpar junto con el dentinario conforman estructural, embriológica y funcionalmente la unidad biológica conocida como complejo dentino-pulpar cuyo origen embriológico es la papila dental (tejido ectomesenquimático).

La cámara pulpar adopta la forma del elemento dentario, por lo que cambia según la anatomía de los dientes. En la porción coronaria se identifica el piso y el techo pulpar, así como los cuernos pulpares, que son prolongaciones que se dirigen hacia las cúspides. La presencia y la dimensión de los cuernos pulpares, se deben recordar al momento de realizar alguna preparación cavitaria con la finalidad de preservar la vitalidad pulpar durante el tallado.

Del piso de la cámara pulpar salen uno o varios conductos que albergan al tejido pulpar y se prolongan desde la porción cervical de las raíces hasta los orificios apicales que pueden ser uno o varios en el vértice distal de la raíz (foramen apical). En el foramen apical la pulpa radicular se conecta directamente con el tejido periapical del ligamento periodontal.

1.2 Zonas topográficas.

Por la disposición de sus componentes estructurales, podemos observar en la pulpa cuatro regiones diferentes desde el punto de vista histológico.

Las zonas identificadas desde la predentina hacia la pulpa son:

- A. Zona odontoblástica.**
- B. Zona subodontoblástica u oligocelular de Weil.**
- C. Zona rica en células.**
- D. Zona central de la pulpa o tejido pulpar propiamente dicho.**

A. Zona o capa odontoblástica.

Está constituida por los odontoblastos dispuestos en empalizada, los cuales son las células específicas del tejido pulpar, altamente diferenciada que ha perdido la capacidad de dividirse.

Dicha capa es semejante a un epitelio cilíndrico pseudoestratificado en la región coronaria y, a un epitelio cilíndrico simple en la zona radicular. En la zona coronaria el número de odontoblastos es aproximadamente 45, 000 por mm^2 y su número disminuye

considerablemente en la zona radicular. El tamaño celular es también mayor en la corona que en la raíz.

Los odontoblastos adoptan la forma de células cilíndricas altas (40 μm) con núcleos grandes de localización basal, cuando se encuentran en su máxima actividad secretora. Los cuerpos odontoblásticos con su forma cúbica, se conectan entre sí por complejos de unión como: uniones ocluyentes y desmosomas. Funcionalmente este tipo de uniones son las que mantienen la integridad de la capa odontoblástica. En tanto, en las caras laterales predominan las uniones de hendidura, que regulan el intercambio de metabolitos de bajo peso molecular entre los odontoblastos. El proceso odontoblástico y sus pequeñas ramificaciones laterales son los responsables de transportar y liberar por medio de exocitosis los gránulos maduros al espacio extracelular. Los gránulos contienen GAG, glicoproteínas y precursores del colágeno, componentes básicos de la matriz orgánica de la dentina. Los nuevos odontoblastos que se originan en los procesos reparativos de la dentina lo hacen a expensas de las células ectomesenquimatosas, otros autores opinan que éstas pueden derivarse de los fibroblastos pulpares, lo que provoca polémica entre los estudiosos.

La fibronectina juega un importante papel como mediador en la diferenciación de las células ectomesenquimatosas en odontoblastos.

Abramovich denomina “zona ebúrnea” a la capa odontoblástica y a los componentes fibrilares de von Korff, que intervienen en la formación de la matriz dentaria. Otros autores llaman “zona odontogénica de la pulpa” o “membrana éboris” al conjunto de los odontoblastos y a las fibras precolágenas en espiral. Estas fibras de von Korff son fibras reticulares, que se disponen al azar en el tejido pulpar, excepto a nivel de la región odontoblástica donde se insinúan entre las células y constituyen el plexo de von Korff. En este plexo las fibras reticulares son más gruesas y adoptan el aspecto de fibras en “sacacorchos”. Actualmente, se considera a estas fibras en espiral de la región predentaria compuestas por colágeno tipo VI, con funciones de sostén. En el adulto el colágeno tipo III es sustituido por colágeno tipo I, por lo que a las fibras reticulares se les suele denominar fibras precolágenas.

B. Zona basal u oligocelular de Weil.

Esta capa se localiza por debajo de la anterior, tiene aproximadamente 40 μm de ancho y se identifica como una zona pobre en células.

Ésta en general, es bien definida en la región coronaria de los dientes recién erupcionados, pero, en cambio, suele estar ausente en la región radicular. Tampoco se distingue en pulpas embrionarias, ya que, al igual que la zona rica en células, se forma tardíamente durante el proceso de histogénesis pulpar. En pulpas maduras la capa

oligocelular alcanza un espesor de 60 μm y en la misma se identifican el plexo nervioso de Raschkow, el plexo capilar subodontoblástico y los denominados fibroblastos subodontoblásticos, que están en contacto con los odontoblastos por medio de uniones comunicantes tipo nexus.

Los fibroblastos son las células principales y más abundantes del tejido conectivo pulpar y son los encargados de secretar los precursores de las fibras: colágenas, reticulares y elásticas; así como también la sustancia fundamental de la pulpa. El aspecto alargado, fusiforme o estrellado que presentan los fibroblastos, depende del tipo de matriz en la que se encuentran inmersos. En el caso del tejido pulpar se encuentran inmersos en la sustancia fundamental o matriz extracelular amorfa que está constituida, principalmente, por proteoglicanos y agua. Los proteoglicanos, están formados por un núcleo proteico y cadenas laterales de glicosaminoglicanos (GAG). En la sustancia fundamental del tejido pulpar en dientes recién erupcionados el GAG predominante es el dermatán sulfato. En cambio en pulpas maduras el ácido hialurónico es el componente esencial y en menor proporción se encuentra el dermatán y el condroitínsulfato.

El ácido hialurónico le confiere viscosidad y cohesión, por lo que el conectivo es gelatinoso. Esta propiedad, más el refuerzo fibrilar, es lo que permite extirpar la pulpa sin que se rompa durante los tratamientos endodóncicos. Además, este proteoglicano es el encargado de mantener la fluidez, la permeabilidad de la sustancia fundamental y de regular el transporte de metabolitos e impedir la difusión de microorganismos. La sustancia fundamental se comporta como un verdadero medio interno, a través del cual las células reciben los nutrientes provenientes de la sangre arterial; igualmente los productos de desecho son eliminados en él para ser transportados hasta la circulación eferente.

Por lo general los fibroblastos pulpares se ubican entre las fibras colágenas, las cuales se orientan en las distintas direcciones del espacio. En la pulpa adulta, los fibroblastos se transforman en fibrocitos tomando una forma ovalada y en los procesos de reparación o de naturaleza inflamatoria del tejido conectivo los fibrocitos pueden diferenciarse y volver a ser fibroblastos ante distintos estímulos.

C. Zona rica en células.

Se caracteriza por su alta densidad celular, esta zona se constituye por células ectomesenquimáticas o de reserva que derivan del ectodermo de las crestas neurales; los fibroblastos que originan a las fibras de von Korff. Los pericitos, estas células se derivan del ectomesenquima, se encuentran alrededor de los capilares sanguíneos, por lo que suelen denominarse células perivasculares o pericitos. Las células ectomesenquimáticas o mesenquimáticas indiferenciadas constituyen la población de reserva pulpar por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos o fibroblastos según el estímulo que



actúe. El número de células ectomesenquimáticas disminuye con la edad, lo cual reduce la capacidad de autodefensa de la pulpa.

Los fibroblastos pulpares sintetizan fibronectina, glicoproteína extracelular que actúa como mediador de adhesión celular, uniendo las células entre sí y a éstas a los componentes de la matriz. Los fibroblastos tienen por función formar, mantener y regular el recambio de la matriz extracelular fibrilar y amorfa. Son células multifuncionales, tienen también la capacidad de degradar el colágeno, como respuesta ante distintos estímulos fisiológicos del medio interno. Existen poblaciones de fibroblastos fenotípicamente diferentes que poseen propiedades químicas y funcionales específicas, y que dan origen a los diversos tipos de colágeno. Esta zona rica en células es especialmente prominente en dientes adultos los cuales poseen un menor número de células en su parte central.

D. Zona central de la pulpa.

Está formada por tejido conectivo laxo característico de la pulpa, con distintos tipos celulares, escasas fibras colágenas inmersas en la matriz extracelular amorfa y abundantes vasos sanguíneos y nervios. Se ha identificado además, colágeno tipos IV y V en la matriz de la pulpa. El colágeno tipo IV forma parte de la membrana basal de los vasos sanguíneos y la variedad V refuerza las paredes vasculares.

La población celular está representada esencialmente por fibroblastos, células ectomesenquimáticas y macrófagos de localización perivascular. La forma de los macrófagos cambia según se encuentren fijos (histiocitos) o libres en el tejido conectivo. Las células libres son redondeadas con pequeños repliegues citoplasmáticos en la superficie, mientras que los macrófagos fijos son de aspecto irregular por la presencia de verdaderas prolongaciones citoplasmáticas. Por su capacidad de fagocitosis y por participar en el mecanismo de defensa, pertenecen al sistema fagocítico mononuclear y como todas las células de este sistema, tienen su origen en los monocitos. En los procesos inflamatorios los histiocitos se transforman en macrófagos libres. Su función consiste en digerir microorganismos, remover bacterias y eliminar células muertas. Además de su actividad fagocítica, están en relación con la función inmunológica (al fagocitar partículas extrañas y presentarlas a los linfocitos). También elaboran enzimas, que facilitan su migración dentro del tejido conectivo. Proporcionalmente la zona central de la pulpa tiene menor cantidad de células por unidad de superficie que la zona rica en células^{15,17,18}.

1.3 Circulación sanguínea.

Los vasos sanguíneos penetran en la pulpa acompañados de fibras nerviosas sensitivas y simpáticas y salen de ella a través del conducto o foramen apical, debido al reducido tamaño de la pulpa, los vasos sanguíneos son de pequeño calibre. Los vasos

penetrantes o arteriolas son los de mayor tamaño, tienen aproximadamente 150 μm de diámetro. Realizan un recorrido casi rectilíneo hasta llegar a la región de la pulpa central y en su trayecto emiten pequeñas ramas colaterales. Estructuralmente las arteriolas presentan una túnica íntima endotelial y una media de músculo liso muy poco desarrollada. En la región coronaria los vasos se ramifican, disminuyen de calibre y forman el plexo capilar subodontoblástico. Esta red es muy extensa y se localiza en la zona basal u oligocelular de Weil, su función es nutrir a los odontoblastos. Presenta predominio de capilares de tipo continuo, y sólo un pequeño porcentaje (5%) del total es de tipo fenestrado. Se ha sugerido que los capilares de este tipo intervendrían en el transporte rápido de metabolitos, debido a que son más permeables que los continuos.

Tanto los capilares continuos como los fenestrados están rodeados de pericitos o células adventiciales, incluidos en la misma lámina basal que rodea las células endoteliales. Los pericitos presentan numerosas prolongaciones citoplasmáticas que abrazan la pared endotelial de los capilares. Con microscopio confocal se puede observar que estas células, de apariencia dendrítica, forman una red tridimensional alrededor de los pequeños vasos pulpares, de ahí que se les designe como células dendríticas perivasculares. Se postula que los pericitos actúan a manera de células contráctiles, regulando el calibre de los capilares y manteniendo la estabilidad de sus paredes. También se les atribuye funciones de potencialidad, ya que serían capaces de diferenciarse en otros tipos celulares, y con funciones fagocíticas, evidenciadas por la presencia de lisosomas y de antígenos tipo macrófagos.

Los capilares pulpares tienen un diámetro de 7 a 10 μm . A través de ellos la sangre llega a las vénulas, las cuales van confluyendo hasta constituir circulación eferente, que abandona el tejido pulpar a través del agujero apical en forma de venas de diámetro pequeño, con una capa muscular muy delgada y discontinua¹⁵. La circulación sanguínea de la pulpa es de tipo terminal, ya que entre los vasos aferentes y eferentes, de menor calibre, existen comunicaciones alternativas, como anastomosis arteriovenosas y venovenosas, que constituyen la llamada microvascularización pulpar y cuya función es la de regular el flujo sanguíneo.

La circulación linfática de la pulpa corresponde a un sistema de tipo primitivo. Actualmente utilizando el MEB y técnicas histoquímicas enzimáticas de doble tinción (5 nucleotidasa-fosfatasa alcalina), se corrobora la existencia de numerosos vasos linfáticos en la parte central de la pulpa y en menor número en la zona periférica próxima a la capa odontoblástica. Con métodos especiales (linfografías) se ha evidenciado que estos vasos abandonan la región de la pulpa radicular conjuntamente con los nervios y los vasos sanguíneos, y salen por el agujero apical, para drenar en los vasos linfáticos mayores del ligamento periodontal. Los linfáticos procedentes de los dientes anteriores drenan hacia los ganglios linfáticos submentonianos, mientras que los linfáticos de los dientes posteriores lo hacen en los ganglios linfáticos submentonianos y cervicales profundos.

1.4 Inervación.

El tejido pulpar se caracteriza por tener una doble inervación, sensitiva y autónoma. La inervación está a cargo de fibras nerviosas tipo A (mielínicas) y C (amielínicas) que llegan a la pulpa junto con los vasos a través del foramen apical.

Los nervios amielínicos están constituidos por fibras tipo C simpáticas pertenecientes al sistema nervioso autónomo. Los axones amielínicos provienen del ganglio cervical superior y llegan a la pulpa apical para dirigirse a la túnica muscular de las arteriolas. Estas fibras son de conducción lenta (0.5 a 2 m/seg.) e intervienen en el control del calibre arteriolar (función vasomotora).

Los nervios mielínicos están constituidos por axones tipo A, son fibras sensitivas y están representadas por aferentes sensoriales del trigémino (V par craneal). Las fibras A son de conducción rápida (15 a 100 m/seg.) y su función es la transmisión del dolor. Es importante señalar que la pulpa frente a cualquier agresión responde siempre con dolor. Actualmente se ha identificado en los axones sensitivos un péptido denominado sustancia P, que tiene la función de aumentar en forma transitoria la capacidad de respuesta, la cual en este caso va seguida de un periodo refractario²⁵. Los nervios mielínicos en la pulpa coronaria se ramifican considerablemente, de manera que el número de fibras se cuadruplica con respecto a la región radicular. En la zona basal de Weil, dichas ramificaciones constituyen el plexo nervioso subodontoblástico de Raschkow. Utilizando métodos de plata y MET, se ha demostrado que algunas fibras del plexo continúan su recorrido entre los espacios interodontoblásticos, donde pierden su vaina de mielina. Otras, en cambio, penetran hasta 200 μm en la preentina y dentina, junto con las prolongaciones odontoblásticas. Las fibras nerviosas, al finalizar sobre los cuerpos de los odontoblastos o sobre las prolongaciones de estos en el interior de los túbulos dentinarios, lo hacen en forma similar a una sinapsis (terminaciones en cesta, retículo, botón, arrosariadas, etcétera). Estos contactos fibra nerviosa/prolongación odontoblástica actuarían como receptores sensoriales jugando un papel fundamental en la sensibilidad dentinaria¹⁵.

1.5 Actividades funcionales de la pulpa.

- Inductora: es necesario el depósito de dentina para que se produzca la síntesis y depósito de esmalte.
- Formativa: la pulpa tiene como función esencial formar dentina. La capacidad dentinogénica se mantiene mientras dura su vitalidad. La elaboración de la dentina está a cargo de los odontoblastos, y según el momento en que ésta se produce, surgen los distintos tipos de dentina: primaria, secundaria o adventicia, terciaria o reparativa. Esta última variedad se elabora en respuesta a distintos estímulos

irritantes, como por ejemplo: biológicos (caries), físicos (calor o presión), o químicos (sustancias nocivas provenientes de algunos materiales dentales).

- **Nutritiva:** la pulpa nutre a la dentina a través de las prolongaciones odontoblásticas y de los metabolitos provenientes del sistema vascular pulpar que se difunden a través del licor dentinario.
- **Sensitiva:** la pulpa, mediante los nervios sensitivos, responde, ante los diferentes estímulos o agresiones, con dolor dentinario o pulpar. En la sensibilidad de la pulpa y la dentina no interesa la naturaleza del agente estimulante, ya que la respuesta es siempre de tipo dolorosa. El dolor dentinal es agudo y de corta duración, mientras que el dolor pulpar es sordo y pulsátil, persistiendo durante cierto tiempo; estos datos son de importancia para el diagnóstico clínico diferencial.
- **Defensiva o reparadora:** el tejido pulpar tiene una notable capacidad reparativa, formando dentina ante las agresiones. Las dos líneas de defensa son: 1) formación de dentina peritubular, con estrechamiento de los conductos, para impedir la penetración de microorganismos hacia la pulpa. Esta esclerosis dentinaria representa la primera defensa pulpar frente al avance de una caries y 2) formación de dentina terciaria, reparativa o de irritación. Esta dentina es elaborada por los nuevos odontoblastos que se originan de las células ectomesenquimáticas, o de los fibroblastos pulpares. Estudios experimentales con animales de laboratorio han demostrado que el tiempo que transcurre entre una agresión pulpar directa hasta neoformar odontoblastos, es de aproximadamente 5 días. Estas células recién diferenciadas comienzan a depositar dentina debajo de los túbulos a una velocidad promedio de 4.5 μm por día. En dientes humanos se ha comprobado que la velocidad de aposición es menor y sólo alcanza 1.5 μm por día¹⁵.

1.6 Inflamación pulpar.

Las estructuras y funciones pulpares son alteradas, en ocasiones radicalmente, por las lesiones y la inflamación que resultan. Como parte de la reacción inflamatoria, los leucocitos neutrófilos son atraídos por quimiotaxis hacia el sitio afectado. Las bacterias o las células pulpares no viables son fagocitadas y liberan enzimas lisosómicas que atacan el tejido normal circundante y ocasionan daño adicional. Por ejemplo, los productos derivados de la hidrólisis del colágeno y de la fibrina pueden actuar como cininas y producir vasodilatación y aumento en la permeabilidad vascular.

El líquido que se escapa tiende a acumularse en los espacios intersticiales de la pulpa, pero debido a que estos espacios son limitados, se eleva la presión dentro de la cámara pulpar. Esta presión alta en los tejidos ocasiona graves efectos sobre la microcirculación local. Cuando la presión local en los tejidos sobrepasa a la presión venosa local, los vasos tienden a sufrir colapso, lo cual incrementa su resistencia; de esta



manera la sangre se aleja de esta zona de mayor presión hística hacia zonas de menor resistencia. La presión persistente sigue obstaculizando la circulación. Las consecuencias del decremento en el flujo sanguíneo son mínimas en los tejidos normales, pero graves en los que están inflamados, debido a que al obstruirse la circulación se facilita la acumulación de factores irritantes como enzimas nocivas, factores quimiotóxicos y toxinas bacterianas. Este fenómeno conduce al "síndrome de compartimiento" en el cual la presión alta en los tejidos en un espacio limitado altera la estructura y deprime gravemente el funcionamiento de los tejidos localizados dentro de ese espacio. Tal presión suele ocasionar muerte celular, que a su vez produce inflamación, con escape de líquido y aumento de la presión dentro del compartimiento. El aumento de la presión cierra las venas e incrementa la resistencia al flujo sanguíneo por los capilares. La sangre es entonces desviada de las zonas de presión alta hacia zonas de menor presión.

Así se produce un círculo vicioso en el que las regiones inflamadas suelen inflamarse más, debido a que tienden a limitar su propio flujo sanguíneo local de nutrimentos. Desde el punto de vista fisiológico las pulpas presentan compartimientos múltiples en toda su extensión. Es como si pequeños volúmenes de tejido pulpar estuvieran encerrados en vainas separadas de tejido conectivo, en cada una de las cuales puede haber elevaciones locales en la presión hística. Si bien no hay pruebas histológicas que apoyen tal concepto, estos compartimientos individuales pueden degenerarse de manera individual y tornarse necróticos y unirse para formar microabscesos¹⁵.

Los recientes trabajos de micropunción llevados a cabo por Tönder y Kvinnsland demostraron que hay elevaciones muy circunscritas en la presión del tejido intersticial en la pulpa inflamada. Algunos consideran que esto se debe a la liberación de péptidos vasoactivos, como son la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina, los cuales se encuentran en fibras nerviosas pulpares. Durante la inflamación pulpar, hay un aumento en el número de nervios que contienen péptido relacionado con el gen de la calcitonina, en zonas previamente desprovistas de inervación. Al parecer, la liberación de estos péptidos favorece y mantiene la inflamación, lo cual ha hecho que algunos la llamen inflamación neurógena¹⁰.

2. Dentina

2.1 Descripción.

La dentina también llamada sustancia ebúrnea o marfil, es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que conforma el mayor volumen de la pieza dentaria. En la porción coronaria se halla recubierta a manera de casquete por esmalte, mientras que en la región radicular está tapizada por cemento. Internamente, la dentina delimita una cavidad, denominada cámara pulpar, que contiene a la pulpa dental.

En la estructura de la dentina podemos distinguir dos componentes básicos: la matriz mineralizada y los conductos o túbulos dentinarios. La matriz mineralizada se encuentra compuesta a base de cristales de hidroxiapatita inmersos en una matriz colágena y los conductos o túbulos dentinarios que la atraviesan en todo su espesor y que alojan a los procesos odontoblásticos. Dichos procesos odontoblásticos son largas prolongaciones citoplasmáticas de las células especializadas llamadas odontoblastos, cuyos cuerpos se ubican en la región más periférica de la pulpa. Estas células producen la matriz colágena de la dentina y también participan en el proceso de calcificación de la misma, siendo por tanto responsables de la formación y del mantenimiento de la dentina.

Los cuerpos celulares de los odontoblastos están separados de la dentina mineralizada por una zona de matriz orgánica no mineralizada denominada predentina¹⁵.

2.2 Dentinogénesis.

La dentinogénesis es el conjunto de mecanismos mediante los cuales la papila dental elabora por medio de sus células especializadas -los odontoblastos- una matriz orgánica que más tarde se calcifica para formar la dentina. En la dentinogénesis se pueden considerar tres etapas:

- a) Elaboración de la matriz orgánica, compuesta por una trama fibrilar y un componente fundamental amorfo.
- b) Maduración de la matriz.
- c) Precipitación de sales minerales (calcificación o mineralización).

2.3 Ciclo vital de los odontoblastos.

Los odontoblastos se diferencian a partir de las células ectomesenquimatosas de la papila dental, bajo la influencia inductora del epitelio interno del órgano del esmalte. En su ciclo vital podemos considerar las siguientes etapas:

- a) **Células mesenquimatosas indiferenciadas.**
- b) **Preodontoblastos.**
- c) **Odontoblastos jóvenes.**
- d) **Odontoblastos secretores.**

Las **células mesenquimatosas indiferenciadas** adoptan una forma cilíndrica baja y presentan varias prolongaciones citoplasmáticas apicales que llegan a la membrana basal.

Estos elementos que se denominan ahora **preodontoblastos** y cuyo índice nucleocitoplásmico es alto, se ubican próximos unos a otros hasta adquirir un aspecto similar al del epitelio cilíndrico simple. La zona acelular, existente entre estas células y la membrana basal del órgano del esmalte, se reduce y progresivamente desaparece. Los preameloblastos inician su diferenciación terminal hacia odontoblastos, con una última división mitótica que supone la salida definitiva del ciclo celular y, el nacimiento de dos nuevas células hijas. El huso mitótico de esta última división es perpendicular a la membrana basal originando dos células superpuestas. La más próxima a dicha membrana basal se diferenciará en odontoblasto y la subyacente origina las denominadas, por algunos autores, células subodontoblásticas de Höhl o de reserva.

Los odontoblastos así formados desarrollan sistemas de unión entre ellos de tipo adherente y comunicante y luego se polarizan. Como resultado de dicha polarización el volumen celular aumenta y la célula se hace cilíndrica y el núcleo se desplaza hacia la zona basal. La diferenciación de las células ectomesenquimatosas es precedida por la maduración de los preameloblastos, en ameloblastos jóvenes. Inmediatamente las células ectomesenquimatosas comienzan a incrementar su volumen. En el polo proximal del odontoblasto se observa, también una prolongación única y de mayor tamaño que se denomina proceso odontoblástico y que caracteriza al **odontoblasto joven**.

La actividad secretora de esta célula se manifiesta hacia dicho polo proximal, por el que se segrega la predentina que ocupa el espacio existente entre el órgano del esmalte y los odontoblastos. La predentina elaborada por el odontoblasto joven está formada por colágeno tipos I, V y VI, proteoglicanos y algunas sustancias no colágenas. El colágeno tipo III deja de sintetizarse. Una vez formada la predentina, el odontoblasto contribuye, a la primera mineralización de la misma y a su transformación en matriz dentinaria calcificada (formación de la dentina del manto). Cuando la prolongación odontoblástica queda alojada en el túbulo dentinario de la matriz de la dentina recién formada el odontoblasto, que se desplaza hacia el interior, recibe la denominación de **odontoblasto maduro**.

Más tarde este odontoblasto continua contribuyendo al proceso de mineralización (formación de la dentina circumpulpar) y más tarde disminuye de volumen y contribuye, durante el resto de su vida que es la del diente, al mantenimiento de la matriz dentinaria. La evolución y maduración de los odontoblastos se inicia en el vértice de la papila progresando hacia cervical, de ahí que es posible observar en un preparado de germen

dentario (en etapa aposicional temprana) los odontoblastos en sus distintos estadios de maduración.

En el proceso de diferenciación de los odontoblastos intervienen numerosos factores como se ha demostrado *“in vivo”* e *“in vitro”*. En dicho proceso, que tiene lugar en cada diente según un patrón espaciotemporal específico, participan el epitelio dental interno, la membrana basal, los componentes de la matriz extracelular existentes en la papila y distintos factores de crecimiento. En este sentido se postula que el TGF- β (factor transformador de crecimiento) sintetizado por los preameloblastos o ameloblastos jóvenes y adecuadamente activado en el seno de la membrana basal interactuaría con receptores existentes en la superficie de los preodontoblastos. En estas células la estimulación conduciría a la expresión de los genes Msx2 y TGF- β . Al parecer el incremento en la expresión de estos compuestos constituye un prerrequisito fundamental para la diferenciación terminal del odontoblasto pues intervendrían en la regulación de la síntesis de la predentina (incluida la fibronectina) y en la reorganización del citoesqueleto y, en consecuencia, en la polaridad celular.

La primera predentina (matriz orgánica) que se forma corresponde a la dentina del manto. Clásicamente se describía como el primer indicio de dentinogénesis la aparición de fibras reticulares entre los cuerpos de los odontoblastos, las que a nivel de su extremo apical se abren en abanico, formando la matriz fibrosa de la primera dentina. Estas fibras, denominadas fibras de von Korff, parecen originarse a partir de la región subodontoblástica. Según esta interpretación, la primera matriz dentinaria formada tendría origen en la papila dentaria, y el resto en los odontoblastos.

La matriz extracelular de la dentina del manto consta de gruesas fibras colágenas incluidas en abundante sustancia fundamental amorfa, que se disponen paralelamente entre sí y perpendiculares a la membrana basal (futura conexión amelodentinaria). Cuando la predentina de la zona del manto alcanza un espesor aproximado de 6 μm comienza la mineralización. Los odontoblastos una vez que elaboran dicha predentina participan en el proceso de calcificación de la misma 1°) captando y almacenando calcio; 2°) elevando la concentración local de iones fosfatos, mediante la fosfatasa alcalina que se localiza en su superficie y se difunde en la matriz extracelular formando las denominadas vesículas matriciales. Los iones acumulados en las vesículas precipitan como fosfato cálcico amorfo, para finalmente transformarse en cristales de hidroxiapatita, en general, ricos en magnesio. Los cristales crecen y terminan por romper las vesículas, esparciéndose en la matriz circundante. Estos núcleos de calcificación se fusionan con otros vecinos, constituyéndose un frente lineal de calcificación. Los cristales siguen una orientación definida con respecto a las fibras colágenas, disponiéndose en su superficie y en su interior. También, una vez comenzado el proceso de mineralización la fibronectina desaparece de la matriz extracelular de la dentina. Simultáneamente con el primer depósito de la dentina del manto, los ameloblastos fagocitan la lámina basal y por ello la interfaz dentina-esmalte está constituida por una mezcla de ambos tejidos.

A medida que se calcifica la dentina del manto, los odontoblastos (que ya son odontoblastos maduros) continúan produciendo matriz orgánica para formar el resto de la dentina primaria, es decir, la dentina circumpulpar. La matriz extracelular de la dentina circumpulpar difiere de la anterior, pues las fibras colágenas son más finas y se disponen irregularmente, formando una red de orientación perpendicular a los túbulos dentinarios. La sustancia amorfa es producida exclusivamente por los odontoblastos. La calcificación de la dentina circumpulpar también es diferente en varios aspectos, en relación a la dentina del manto, no se forman vesículas matriciales, y la mineralización sigue un patrón globular. Esto implica que se produce aposición de cristales de hidroxiapatita en varios puntos a la vez, formándose núcleos de cristalización globulares (calcosferitos) que más tarde se fusionan con sus vecinos. Si esa fusión no se completa, persiste la dentina interglobular. La dentina circumpulpar madura está más calcificada que la del manto, pero su estructura histológica es similar, ambas tienen matriz calcificada que constituye la dentina intertubular, atravesada por túbulos dentinarios. En el interior de esos túbulos, la actividad secretora de los odontoblastos lleva progresivamente a la formación de la dentina peritubular, que va reduciendo el diámetro de los mismos. La dentina circumpulpar ocupa gran volumen en el diente. La aposición rítmica de la matriz y las distintas etapas de la calcificación quedan registradas, en las líneas incrementales de la dentina. Siempre persiste una capa de dentina no mineralizada (predentina) entre los odontoblastos y el frente de mineralización cuyo espesor oscila entre 10 y 40 μm de ancho.

La dentinogénesis de la raíz se inicia una vez que se ha completado la formación del esmalte, y ya se encuentra avanzada la deposición de la dentina coronaria. Los odontoblastos radiculares se diferencian a partir de las células ectomesenquimáticas de la periferia de la papila, bajo la inducción del epitelio interno del órgano del esmalte, que conjuntamente con el epitelio externo han pasado a constituir la vaina de Hertwig, órgano encargado de modelar la raíz. Las etapas de maduración de los odontoblastos y los mecanismos de formación de la dentina del manto y circumpulpar, son básicamente similares a los de la corona. Existen, sin embargo, algunas variantes en la dentina del manto radicular, las gruesas fibras colágenas son paralelas entre sí y paralelas a la interfaz dentina-cemento (perpendicular a los túbulos dentinarios). Por otra parte, la aposición de dentina es más lenta en la raíz que en la corona. El patrón de mineralización es semejante, pero los calcosferitos son más pequeños^{15,18}.

2.4 Clasificación histogénica de la dentina.

En los dientes humanos se reconocen desde el punto de vista de su formación tres tipos de dentina: la dentina primaria, la dentina secundaria, que se forman fisiológicamente en todas las piezas dentarias y la dentina terciaria que se produce como respuesta ante una agresión o noxa.

- **Dentina primaria.** La dentina primaria es la que se forma primero y representa la mayor parte de ésta, delimitando la cámara pulpar de los dientes ya formados. Desde el punto de vista funcional se considera dentina primaria la que se deposita desde que comienzan las primeras etapas de la dentinogénesis hasta que el diente entra en oclusión. Comprende la dentina del manto y la circumpulpar.
- **Dentina secundaria.** Es la dentina producida después de que se ha completado la formación de la raíz del diente. Clásicamente se la describía como sintetizada a partir del momento en que el diente entra en oclusión, pero se ha demostrado que también se halla presente en dientes que aún no han erupcionado o están retenidos. Esta dentina se deposita mucho más lentamente que la primaria, pero su producción continúa durante toda la vida del diente. Los anatomopatólogos la denominan dentina adventicia, regular o fisiológica. La distribución de los túbulos en la dentina secundaria es ligeramente menos regular que en la dentina primaria. El límite entre ambas se manifiesta por un cambio en la dirección de los túbulos dentinarios. La disminución del volumen de la pulpa como resultado de la formación de dentina secundaria trae como consecuencia la disminución del número de odontoblastos por un mecanismo de apoptosis.
- **Dentina terciaria.** Esta dentina es conocida por los anatomopatólogos como dentina reparativa, reaccional, irregular o patológica. Es la dentina que se forma más internamente, deformando la cámara, pero sólo en los sitios donde existe una noxa o estímulo localizado. Es decir que esta dentina es producida por odontoblastos directamente implicados por el estímulo nocivo, de manera que sea posible aislar la pulpa de la zona afectada. Algunos autores hacen una distinción entre la dentina reaccional o reactiva, que es la dentina terciaria segregada ante un estímulo nocivo por los odontoblastos terminales postmitóticos (que se han diferenciado durante el desarrollo del diente.) y la dentina reparativa, que es la dentina terciaria elaborada por una nueva generación de odontoblastos originados a partir de células precursoras de la pulpa tras la muerte de estos como consecuencia del estímulo nocivo. La estimulación de los odontoblastos para la diferenciación y secreción posterior de dentina terciaria tendría su origen en factores de crecimiento tales como el TGF- β que serían solubilizados como consecuencia de la actividad de los ácidos de la placa bacteriana sobre la dentina. La cantidad y calidad de la dentina terciaria que se produce se halla relacionada con la duración e intensidad del estímulo; cuanto más acentuados sean esos factores, más rápida e irregular, será la aposición de dentina reparativa. Por ejemplo, frente a una caries de rápido progreso y gran extensión, la pulpa puede defenderse formando dentina terciaria con un patrón tubular irregular y donde con frecuencia pueden quedar odontoblastos incluidos (osteodentina). En estos casos se llega a depositar hasta 3.5 μ m diarios de dentina. Si por el contrario, la noxa es menos activa, la dentina se deposita más lentamente, siendo su patrón tubular más regular. Si bien la dentina terciaria ofrece una protección pulpar de acuerdo con su espesor, la pulpa subyacente a la dentina terciaria puede inflamarse y su normalización dependerá de la intensidad y la duración del irritante, la extensión del tejido pulpar dañado y el estado previo de la pulpa. Los patólogos

consideran a la dentina reparativa dentro de la categoría de la dentina de neoformación, en la cual también estaría incluida la dentina cicatrizal o puente de dentina que se forma bajo la acción de protectores pulpares como el hidróxido de calcio u óxido de zinc. El odontólogo utiliza tales sustancias para estimular la formación de dentina, cuando ha habido extirpación casi total de la dentina, e incluso exposición pulpar o pulpotomía parcial. Los protectores pulpares inducen a la diferenciación de las células mesenquimáticas pulpares cercanas a la zona afectada, las cuales se transforman en odontoblastos y elaboran dentina de cicatrización; la respuesta depende, obviamente, de la vitalidad de la pieza dentaria^{15,18}.

2.5 Histofisiología dentinaria.

Por tener incluida en su seno las prolongaciones citoplásmicas de los odontoblastos funcionales y por el licor dentinario que la nutre, la dentina se considera un tejido vivo. La actividad funcional más significativa del tejido dentinario consiste en actuar como soporte mecánico en la normal actividad masticatoria de las piezas dentarias y en particular también, por sus caracteres estructurales y biológicos, en la defensa y en la sensibilidad del complejo dentinario-pulpar.

- **Actividad mecánica.**

Como consecuencia de su composición química y de su estructura histológica la dentina posee dos propiedades físicas esenciales, la dureza y la elasticidad, que resultan imprescindibles para ejercer su función mecánica en la fisiología de las piezas dentarias. La dentina constituye, en este sentido, el eje estructural del diente sobre el que se articula el resto de los tejidos duros del mismo, el esmalte y el cemento. La dentina, además, facilita con su grado de elasticidad que el esmalte, duro y rígido, pero quebradizo, quede protegido de los distintos impactos masticatorios. Ello se debe a la pequeña depresibilidad que le otorgan la existencia en su seno de fibras colágenas aún cuando la dentina sea un tejido también mineralizado.

- **Actividad defensiva.**

La dentina responde defendiéndose ante las distintas agresiones que actúan sobre ella, formando además de la dentina terciaria las denominadas dentina translúcida y dentina opaca.

- **Dentina translúcida o esclerótica.**

Los estímulos nocivos, además de provocar el depósito de dentina terciaria, pueden inducir a cambios en la morfología de los túbulos de las propias dentinas primaria y secundaria. En las regiones dentinarias sometidas a estímulos lentos, persistentes y no muy severos, puede producirse depósito de sales de calcio sobre las prolongaciones odontoblásticas en degeneración, o alrededor de las mismas, aumentando de esta manera la cantidad de dentina peritubular, la cual puede

llegar a obliterar completamente los túbulos. De esta manera, toda la región queda constituida por matriz mineralizada. Al observar cortes por desgaste al MO se verá más clara que el resto, estas zonas son más mineralizadas, pero también más frágiles que la dentina normal. La dentina translúcida suele formarse debajo del esmalte con laminillas o fisuras, o bien con caries de evolución lenta. En las personas de edad se produce la denominada dentina esclerótica fisiológica, por obliteración y mineralización de los túbulos de la dentina radicular, en especial en la zona apical. En una pieza dentaria cuya cámara y conductos se ven radiográficamente disminuidos, se reducen las posibilidades de conservación de la pulpa lesionada. La permeabilidad de la dentina es un hecho determinante en la respuesta pulpar, la cual dependerá entre otros varios factores de la edad del tejido pulpar, la composición de los tejidos duros del diente, el contenido en fluoruros, la higiene oral, la saliva y la dieta.

- **Dentina opaca o tractos desvitalizados.**

Cuando la dentina es afectada por una lesión relativamente intensa, los odontoblastos se defienden retrayendo sus prolongaciones quedando segmentos de túbulos vacíos sin proceso odontoblástico. Si el estímulo es excesivo se produce la muerte de los odontoblastos y una necrosis de las prolongaciones, quedando los restos celulares incluidos en los túbulos, acompañados de líquido y sustancias gaseosas. Como este proceso lleva algún tiempo, pueden ocurrir algunas precipitaciones de calcio. La zona de dentina afectada por prolongaciones odontoblásticas degeneradas se denomina dentina opaca o tractos desvitalizados o muertos. Cuando se observa con el MO un corte de diente por desgaste, estas zonas aparecen negras, debido a que los túbulos se llenan de aire. Esta dentina se localiza especialmente en los vértices de los bordes incisales o de los cuernos pulpares, debajo de la zona de abrasión. Con frecuencia está acompañada por dentina reparativa que protege a la pulpa de la zona subyacente. También puede formarse dentina opaca en regiones cervicales, ya sea porque hay una abrasión o porque la dentina está expuesta, sin protección de esmalte o cemento. Con la edad aumenta la formación de este tipo de dentina, en especial en la porción coronaria del diente. La dentina translúcida y la dentina opaca son consideradas <<dentinas de remineralización>>. Si bien ambas dentinas son menos permeables y más resistentes que la normal, otorgándole mayor protección en casos de filtración o invasión bacteriana. No obstante, en dientes desvitalizados la filtración es mayor por la ausencia del licor dentinario¹⁵.

• **Actividad sensitiva.**

El profesional odontólogo conoce que la dentina es un tejido sumamente sensible y que todos los estímulos externos recibidos por las terminaciones nerviosas de la pulpa, se interpretan de la misma manera y producen siempre la sensación de dolor.

Si bien la propagación del estímulo nervioso está en íntima relación con la estructura de la dentina, se desconoce y se discute aún la forma de cómo se transmiten los impulsos y cuál es la estructura que sirve de base al mecanismo de esta sensibilidad.

Debe recordarse que los tejidos dentinario y pulpar constituyen un verdadero complejo, no sólo desde el punto de vista embriológico y estructural, sino también funcional, ya que los procesos biológicos de ambos están estrechamente relacionados entre sí.

En el tejido pulpar los nervios mielinizados y no mielinizados penetran por el foramen apical acompañados del paquete vascular. Siguen por lo general el recorrido de los vasos sanguíneos aferentes, siendo de gran tamaño en la parte central de la pulpa. Otros cursan con independencia y emiten prolongaciones arboriformes hacia la periferia para terminar como redes (plexos) en la zona subyacente a los odontoblastos (zona oligocelular de Weil o zona basal de Weil).

Estas fibras nerviosas localizadas en la zona acelular, conforman un plexo nervioso denominado plexo de Raschkow. Se pueden poner de manifiesto con MO mediante técnicas de sales de plata.

Las fibras nerviosas que penetran en la pulpa dentinaria son mielínicas y amielínicas, rodeadas por una vaina de tejido conjuntivo.

La cantidad y grosor de los axones nerviosos varían de acuerdo con el elemento dentario; también existen diferencias entre elementos dentarios permanentes y temporales, y entre dientes en desarrollo y dientes totalmente maduros.

Los axones que llevan la sensibilidad son mielínicos y amielínicos. Conocer los tipos de fibras nerviosas nos puede ser de utilidad para comprender la sintomatología dolorosa.

Hay **fibras mielínicas A**, que son responsables del dolor agudo, punzante, (localizadas en la región periférica de la pulpa) y **fibras nerviosas amielínicas C** responsables del dolor difuso, por ejemplo producido en la pulpa por caries, (se localizan en la zona profunda de la pulpa).

Todas las **fibras sensoriales** alcanzan el plexo subodontoblástico como **fibras amielínicas**, algunos de estos axones miden aproximadamente 2 μm , otros pierden la delgada vaina de células de Schwann y penetran entre los cuerpos de los odontoblastos. Con el MET se demostró que algunas fibras nerviosas penetran dentro del túbulo dentinario y se disponen en estrecha relación con la prolongación odontoblástica, estableciendo uniones similares a sinapsis.

Algunas de estas fibras nerviosas terminan en la predentina o dentina (tercio interno).

Las **fibras nerviosas intertubulares** contienen neurotúbulos, neurofilamentos, vesículas y numerosas mitocondrias. La estrecha relación entre fibrilla nerviosa y prolongación o proceso odontoblástico tiene importancia en la transmisión del impulso nervioso.

La determinación de la estructura que sirve de base al mecanismo de sensibilidad dentinaria ha sido objeto de numerosísimos estudios, los cuales han arrojado resultados dispares, originando una serie variable de hipótesis. Estas hipótesis son susceptibles de agruparse de manera que se evidencien las principales teorías o corrientes de opinión sustentadas sobre el tema.

Así, tres mecanismos podrían explicar la sensibilidad de la dentina. Los tres exigen la compresión de las estructuras nerviosas del complejo dentino-pulpar.

Un primer grupo de autores sostiene que la base morfológica que explica el mecanismo de sensibilidad dentinaria, al igual que ocurre en otros territorios del organismo viene dada por la presencia de terminaciones nerviosas propias.

Sin embargo, si bien se conoce que existe inervación por parte del plexo de Raschkow, no se ha podido demostrar la cantidad de fibrillas nerviosas que hay por túbulo dentinario. Además existen dudas de cómo se transmitiría la sensibilidad en la parte externa de la dentina (que es la más sensible) ya que no se ha demostrado la presencia de terminaciones nerviosas en esta zona. También la aplicación de diferentes anestésicos en superficie no elimina el dolor.

Un segundo grupo de autores sustenta que el odontoblasto actuaría como receptor del estímulo y que estaría acoplado a las terminaciones nerviosas de la pulpa mediante sinapsis. Se propone que el odontoblasto al ser una célula derivada de la cresta neural, podría haber tenido la capacidad de recibir estímulos a través de sus prolongaciones citoplasmáticas, las cuales llegan hasta la periferia de la pulpa donde se ramifican y anastomosan, así como de transmitir los estímulos y establecer sinapsis con fibras nerviosas de la pulpa. La actividad del odontoblasto como célula nerviosa no ha podido ser comprobada, como tampoco la sinapsis odontoblasto-axón.

La **teoría hidrodinámica de Brannstrom** es, en el momento presente, la más aceptada. Dicha teoría tiene en cuenta la presencia de líquido o licor dentinario dentro de los túbulos; un líquido que es ultrafiltrado del plasma del tejido conjuntivo de la pulpa.

La teoría postula que los estímulos que actúan sobre la dentina provocan un movimiento del citado líquido dentinal, que transmite las diferencias de presión existentes a las terminaciones nerviosas libres intratubulares y por ende al plexo nervioso subodontoblástico. También, se tiene en cuenta que el licor dentinario circula lentamente

por los túbulos (impulsado por la presión de los capilares de la pulpa) y el movimiento podría verse alterado por diferentes estímulos sobre el complejo dentino-pulpar. Así, de este modo, se distorsionaría el medio pulpar local y se afectarían las terminaciones nerviosas del plexo de Raschkow.

En operatoria dental, cuando la dentina se expone al realizar una cavidad, el líquido dentinario fluye hacia la cavidad, si se seca, ya sea con una torunda de algodón o con aire, hay mayor pérdida de líquido, con cambios en el coeficiente de expansión, que estimulan las terminaciones nerviosas libres y originaría dolor.

Además de la desecación, el calor también provoca el movimiento del licor hacia afuera, mientras que el frío en cambio lo desplaza hacia la profundidad. El desplazamiento del fluido dentinal en cualquier sentido, estimula únicamente las terminaciones nerviosas.

Las dos teorías comentadas en primer término no pueden explicar la sensibilidad dentinaria existente en la conexión amelodentinaria; en cambio la teoría hidrodinámica, sí lo hace, puesto que en este nivel existen ramificaciones de los túbulos dentinarios, que están ocupadas por líquido dentinario y tal vez también por los procesos odontoblásticos¹⁸.

3. Recubrimiento pulpar directo.

3.1 Descripción.

El recubrimiento pulpar directo es el tratamiento de una pulpa vital expuesta con un material dental para facilitar la formación de dentina reparativa y mantener la vitalidad pulpar. Ha sido estudiado como una alternativa para evitar la extirpación de la pulpa vital. El “Glosario de Términos Endodóncicos” de la Asociación Americana de Endodoncistas (AAE) define “recubrimiento pulpar” como “tratamiento de una pulpa vital expuesta mediante sellado de la herida pulpar con un material dental tal como hidróxido de calcio o mineral de trióxido agregado para facilitar la formación de dentina reparativa y mantenimiento de la vitalidad pulpar”¹⁹.

Los métodos de preservación de la pulpa vital se clasifican de acuerdo a 2 tipos de exposición pulpar: mecánica y cariosa. De acuerdo con la definición más reciente del glosario de la AAE, la exposición mecánica se refiere a “exposición accidental de la pulpa manual o mecánica por medio de instrumentos dentales en ausencia de caries dental”¹⁹. De igual modo, traumatismos, tal como fractura de un diente con pulpa vital, asemejan la exposición pulpar mecánica. Si se mantiene bajo condiciones asépticas, la pulpa subyacente normalmente no se inflama ni infecta. Por el contrario, la exposición pulpar por caries se refiere a aquella que “resulta de la destrucción progresiva de la estructura dental por ácidos y enzimas proteolíticas que han sido sintetizadas a través de la actividad bacteriana”^{20,21}.

3.2 Procedimiento clínico.

El procedimiento para llevar a cabo un recubrimiento pulpar es muy simple. El éxito depende esencialmente del grado en que el sitio expuesto pueda mantenerse libre de agresiones bacterianas tanto a corto como a largo plazo, por lo que la restauración final es de vital importancia.

Existen ocasiones en que el tratamiento de recubrimiento pulpar deba acompañarse de una pulpotomía. La cirugía pulpar superficial o pulpotomía está destinada a preservar porciones importantes de la pulpa como un órgano funcional. El glosario de la AAE define “pulpotomía (amputación pulpar)” como “la remoción quirúrgica de la porción coronal de una pulpa vital como un medio para preservar la vitalidad de la porción radicular remanente. En 1978, Cvek diseñó una cirugía pulpar superficial, la cual denominó “pulpotomía parcial”, utilizando una técnica de corte pulpar descrita por Granath y Hagman. El tejido pulpar es cortado atraumáticamente con una fresa de diamante con punta activa a alta velocidad con irrigación abundante. La superficie de la herida es alisada y completamente debridada y limpiada antes de ser recubierta. Esta técnica

quirúrgica para cirugía pulpar superficial ha sido bien fundamentada en trabajos por Granath y Hagman, Schröder, Schröder y Granath y por Cvek y colaboradores¹⁵. Cvek investigó si la herida puede ser inducida a diferentes niveles de la pulpa coronal. Una serie de casos limitados de seguimiento clínico del tratamiento utilizando tales medidas mostró que la tasa de supervivencia pulpar a los 5 años en dientes jóvenes con caries penetrante puede ser tan alta como del 90%; de cualquier modo, tal dato no existe en dientes permanentes más maduros. En el glosario de la AAE, "Pulpotomía de Cvek" es también sinónimo con "pulpotomía superficial" o "pulpotomía parcial" y se define como "la remoción quirúrgica de la porción coronal de una pulpa vital como una medida para preservar la vitalidad del tejido pulpar radicular y coronal remanente.

El recubrimiento pulpar es considerado apropiado en exposiciones pequeñas inmediatas, mientras que la pulpotomía parcial es más adecuada en heridas que han sido expuestas a agresiones bacterianas por un período de tiempo, incluyendo exposiciones cariosas extensas. La recomendación se basa en resultados de estudios experimentales que muestran que después de la exposición pulpar accidental la infección permanece superficial dentro de las primeras 24 horas. Después de este período, normalmente la infección ha involucrado zonas más profundas de la pulpa por lo que la pulpotomía parcial es recomendable en estas situaciones.

La pulpotomía parcial ofrece la ventaja de remover la capa superficial y potencialmente infectada de la pulpa. De igual modo se remueve un poco de dentina circundante, lo cual crea un espacio bien definido para la colocación del material de recubrimiento. La preparación debe llevarse a cabo a 1-2 mm de profundidad con una fresa de diamante de punta activa en pieza de mano bajo abundante refrigeración con el fin de reducir el trauma en el tejido.

Pasos para el procedimiento de recubrimiento pulpar:

1. Aislar el diente con dique de hule.
2. De ser necesario, retirar la caries.
3. Remover cualquier coágulo con un excavador afilado en el caso de que haya transcurrido tiempo entre la exposición y el tratamiento.
4. Establecer hemostasia aplicando ligera presión en la herida con una torunda de algodón humedecida con clorhexidina, solución anestésica o solución salina estéril. Cambiar la torunda de ser necesario y esperar a que haya hemostasia total.
5. Aplicar cuidadosamente el material de recubrimiento a la herida sin hacer presión excesiva.
6. Cubrir el recubrimiento pulpar con un cemento de endurecimiento como el cemento de ionómero de vidrio o IRM.
7. Restaurar y sellar la cavidad con una restauración de resina o sellarla en su totalidad con IRM de manera temporal.
8. Evaluar la presencia o ausencia de síntomas, después de una semana.

9. A los 6 meses, evaluar:
 - i. Síntomas.
 - ii. Reacción al estímulo térmico.
 - iii. Prueba de sensibilidad eléctrica.
 - iv. Cambios periapicales radiográficos.
 - v. Verificación radiográfica de formación del puente de dentina.

Basándose en los hallazgos, continuar con visitas de seguimiento o realizar el tratamiento de conductos.

10. Repetir la evaluación por intervalos de un año^{15,22}.

El punto más crítico en el procedimiento de recubrimiento pulpar y pulpotomía es parar el sangrado y eliminar los coágulos más grandes para la colocación del recubrimiento de la herida. Los coágulos sirven como sustrato bacterial y pueden favorecer el crecimiento de microorganismos orales contaminantes. Si el sangrado no se puede detener adecuadamente, el tratamiento de conductos debe llevarse a cabo. Otra consideración importante es aplicar una técnica cuidadosa para evitar dilaceración y desplazamiento del material de recubrimiento hacia zonas más profundas de la pulpa. Así como verificar la integridad de la restauración temporal a corto plazo y la de la restauración permanente a largo plazo.

3.3 Cicatrización del sitio expuesto.

El objetivo del recubrimiento pulpar directo es facilitar la formación de dentina reparativa y el mantenimiento de la vitalidad pulpar. Se ha considerado que la formación de un puente de dentina es la condición obligatoria para el éxito en la respuesta a los procedimientos de recubrimiento pulpar directo. No obstante es importante mencionar que puede existir una pulpa saludable por debajo de un recubrimiento pulpar directo aún cuando no exista un puente de dentina¹⁴. Así como que la formación del puente de dentina no asegura la vitalidad pulpar a largo plazo.

Se han reportado un número de factores que tienen efecto sobre la formación del puente de dentina. La reexaminación de estudios extensos de recubrimiento pulpar, involucrando análisis estadístico de los datos, ha proporcionado información valiosa para evaluar factores que son estadísticamente significativos: la presencia de desechos dentinarios en el sitio de la herida, presencia de bacterias por microfiltración bacteriana en la interface diente-restauración, la presencia de células tipo odontoblastos, el tipo de material de recubrimiento pulpar utilizado, el tiempo transcurrido desde la colocación del recubrimiento pulpar, y la presencia de inflamación en el sitio de la herida. Una revisión sobre los criterios histológicos de los estudios de recubrimiento pulpar señaló que las siguientes características deben ser consideradas: control de la hemorragia y filtración plasmática, el tamaño de la exposición, la localización de los puentes dentinarios (vertical y horizontal) y la calidad del puente dentinario^{23,24}.

3.4 Recubrimiento pulpar directo vs tratamiento de conductos.

El tratamiento endodóncico complejo, también conocido como tratamiento de conductos, actualmente se realiza cuando la pulpa dental se inflama y/o infecta. De los 22 millones de tratamientos de conductos que se estima se llevan a cabo anualmente en los Estados Unidos, varios millones fracasan, identificados por la recurrencia de síntomas en el paciente o por medio de la detección de enfermedad perirradicular. El fracaso en el control de infecciones es siempre la causa de estos tratamientos fallidos, en ocasiones aunado a factores contribuyentes como complicaciones técnicas tales como perforación de la raíz, fracaso en la identificación de todas las ramificaciones pulpares y calidad deficiente de la obturación del canal.

Clínicamente, el recubrimiento pulpar es más fácil de llevar a cabo que la extirpación pulpar. Comenzando por el importante factor de que el recubrimiento pulpar permite inspección directa del área herida. Por el contrario la complicada e inaccesible anatomía del complejo pulpar hace difícil la desinfección minuciosa durante el tratamiento de conductos. La extirpación pulpar, es técnicamente muy desafiante. La remoción completa de la pulpa dental es llevada a cabo usando una técnica de limpieza y conformación dentro del canal radicular, después de lo cual un relleno radicular es colocado para proteger la herida de tejido conectivo localizada apicalmente.

Teniendo en cuenta la morfología del espacio de la pulpa dental, el recubrimiento pulpar es una terapia preferible comparada con la extirpación pulpar. Desde el punto de vista biológico, el resultado más deseado para cualquier tratamiento endodóncico es preservar la vitalidad pulpar, promoviendo de esta manera el funcionamiento normal del complejo dentino-pulpar. Un equipo de investigación sueco estudió dicha situación cargando dientes vitales y no vitales con peso voladizo, se pudo colocar mucho más peso en un diente con endodoncia antes de que se experimentara dolor. Estos hallazgos sugieren que la remoción de la pulpa dental resulta en pérdida de función protectora. Una comparación de los costos adicionales involucrados en el recubrimiento pulpar directo versus la remoción convencional de toda la pulpa en el tratamiento de conductos indica que el recubrimiento pulpar directo es menos costoso y requiere menor tiempo de tratamiento. Debido a que este tratamiento es probablemente más aceptado por el paciente, pueden ser minimizadas extracciones dentales innecesarias debidas al rechazo y miedo del paciente al tratamiento de conductos convencional. Debido a que el fracaso endodóncico afecta la productividad laboral debido a inevitables días de incapacidad, un resultado exitoso del tratamiento del paciente usando la técnica de recubrimiento pulpar directo va más allá del paciente y beneficia a la familia, al empleador y la comunidad.

Es tiempo de reconsiderar si dados los recientes avances en manejo de tejidos y cicatrización de heridas, todas las enfermedades de la pulpa vital requieren extirpación pulpar para la óptima cicatrización y éxito. Stanley y Bender han señalado que han sido extirpadas un número de pulpas que pudieron haberse salvado mediante métodos conservadores de recubrimiento pulpar directo. Muchos dientes que son diagnosticados con pulpitis reversible, los cuales por definición no requieren remoción completa de la pulpa; son tratados como si tuvieran pulpitis irreversible, debido a que la remoción entera

de la pulpa es preferida por muchos endodoncistas que consideran controversial el recubrimiento pulpar directo. Estudios recientes acerca de la base celular y molecular del proceso inflamatorio y de reparación de la pulpa, y el advenimiento de farmacología moderna y estrategias de bioingeniería, tal como los sistemas de liberación de fármacos, han creado muchos caminos para el desarrollo de métodos de tratamientos más predecibles y mejorados para las pulpas inflamadas e infectadas^{10,21}.

3.5 Materiales.

Algunos investigadores proponen que la colocación de Ca(OH)_2 y otros materiales de recubrimiento pulpar directo estimulan la formación de dentina reparativa. Sin embargo, otros sugieren que el trauma de la preparación y la microfiltración bacteriana juegan un papel mayor en la estimulación de la formación de dentina reaccionaria y reparativa^{4-8,11,12,14,20}.

- **Hidróxido de calcio.**

Desde la década de 1930 el hidróxido de calcio puro y los compuestos comerciales pasta-pasta basados en hidróxido de calcio han sido los materiales principales para el tratamiento conservador de las heridas pulpares tanto en recubrimiento pulpar como pulpotomía. El Ca(OH)_2 puro y la pasta-pasta se caracterizan por su inherente alto pH. Cuando se colocan sobre una pulpa expuesta la mezcla acuosa (pH 12.5) cauteriza el tejido y causa necrosis superficial. Uno asumiría que tal tratamiento es perjudicial para la pulpa; es perjudicial, pero solo en un sentido menor. De hecho, la experiencia ha demostrado que, en comparación con muchos otros compuestos, la cicatrización es predecible con este material. Incluso inicialmente se creía que la zona necrótica era un prerrequisito para que la reparación del tejido duro fuera organizada. Estudios posteriores demostraron que esto no es necesario y también que la reparación del tejido duro se puede desarrollar en un medio menos alcalino sin una zona distintiva de necrosis.

La reparación del tejido duro de una herida pulpar es un proceso multifactorial que involucra un amplio rango de células, moléculas extracelulares e interacciones fisicoquímicas. A pesar de que el mecanismo por el cual el Ca(OH)_2 inicia la reparación de tejido duro de la exposición pulpar no está completamente claro, está claro que en el proceso los odontoblastos secundarios son cruciales. Estas células son reclutadas de las células mesenquimales (células madre) localizadas en la pulpa. Siguiendo una serie de replicaciones de DNA, estas células migran del sitio de la herida y se diferencian en células tipo odontoblasto polarizadas y elongadas. La secuencia de cicatrización después del tratamiento de una herida en una pulpa sana y donde se ha aplicado hidróxido de calcio o cementos que contienen hidróxido de calcio con una técnica operatoria cuidadosa puede resumirse de la siguiente manera:

Un día después del recubrimiento habrá una capa superficial de tejido necrótico e infiltración inflamatoria celular. En respuesta al cemento de hidróxido de calcio, el cual provee un pH más bajo, Fitzgerald no observó necrosis sino signos de sangrado y únicamente un leve infiltrado de leucocitos.

Durante los primeros días posteriores, los coágulos de sangre están resueltos y el tejido se encuentra en un proceso de reorganización.

La reacción inflamatoria gradualmente se reduce y se forma una matriz rica en colágena en cercana relación a la zona necrótica o directamente adyacente al material de recubrimiento.

En la semana siguiente, comienza la mineralización del tejido amorfo.

El primer tejido mineralizado es irregular en naturaleza y contiene muchas inclusiones celulares. Subsecuentemente se forma un tejido con túbulos más parecido a la dentina. Las células tipo odontoblasto alinean el tejido. Es una característica común que también el tejido duro de forma más regular contenga inclusiones celulares y defectos en túnel, haciéndolo permeable a elementos nocivos de la cavidad oral. Un término frecuentemente utilizado para la reparación de tejido duro es "puente dentinario". Esta designación es errónea, debido a que frecuentemente el tejido se vuelve altamente permeable a las bacterias y elementos bacterianos. De hecho, frecuentemente es menos capaz de proteger a la pulpa de tales elementos que la dentina primaria. Por lo tanto, siempre habrá un riesgo de infección pulpar por posible fallo del sellado de la superficie.

Se ha reportado que los materiales de hidróxido de calcio pasta-pasta tienen propiedades de protección pulpar: capacidad de prevenir la sensibilidad postoperatoria, estimular la deposición de dentina reaccionaria o reparativa, estimular esclerosis de los túbulos dentinarios, proporcionar una capa antibacterial, y estimular la diferenciación de células tipo odontoblastos y posterior formación del puente de dentina. Estudios han demostrado que tanto las pulpas expuestas como las no expuestas tienen capacidad inherente de reparación y cicatrización cuando son tratadas con diferentes sistemas de hidróxido de calcio pasta-pasta y otros materiales dentales. Estudios que evaluaron las propiedades físicas de ciertas bases y liners comerciales (ej. Dycal [Dentsply, York, PA], Hydrex [Henkel, Dusseldorf, Germany], Life [Kerr, Orange, CA], Reolit, Procal y Renew) mostraron solubilidad en agua destilada y en soluciones ácidas o barniz. Además, cuando se colocan en mayor grosor, los sistemas de hidróxido de calcio pasta-pasta se deforman debido a su baja resistencia. La disolución y desintegración subsecuentes reduce su supuesta capacidad terapéutica y antimicrobial, finalmente permite caries recurrente por medio de la microfiliación. Además, si no se remueve por completo, las partículas de la disolución pueden comprometer el sellado en tratamientos de hibridación adhesiva. Por lo tanto, las propiedades físicas de los sistemas de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ confieren sustanciales ventajas y desventajas. Ciertos materiales de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ pasta-pasta proveen in vivo antisepsia de

la dentina cariada, una propiedad importante para protección pulpar indirecta. Sin embargo, este efecto antibacterial es transitorio, y no hay sellado mecánico a largo plazo de la interface de la restauración debido a la propiedad no adhesiva del material. Las bases y liners tradicionales de Ca(OH)_2 se adhieren a la dentina por fuerzas de van der Waals débiles, confiriéndole capacidad no adhesiva. Por otra parte, los adhesivos disponibles actuales fracasan en unirse a la interfase de la mayoría de los agentes de Ca(OH)_2 pasta-pasta. La colocación de un liner o una base pasta-pasta de Ca(OH)_2 en la pared de la cavidad disminuye la reacción de hibridación, reduciendo la formación de un sellado contra la interfase dentinaria.

Los materiales de Ca(OH)_2 son populares debido a que reportan la habilidad de estimular la formación de un puente de dentina reaccionaria o reparativa. Sin embargo, la utilidad clínica de esta propiedad es reducida por la demostración de la formación incompleta del puente de dentina. Los defectos en los puentes de dentina permiten un paso descontrolado de bacterias y sus productos hacia la pulpa. Los productos bacterianos y las subsecuentes reacciones pulpares provocan deposición de dentina reparativa e inflamación pulpar. Estos defectos permiten la migración de partículas de Ca(OH)_2 disuelto dentro de la pulpa subyacente, permitiendo una constante percolación por toda la pulpa, con partículas que permanecen en los fibroblastos pulpares hasta por dos años.

Los endodoncistas utilizan polvo de Ca(OH)_2 mezclado con solución estéril en dientes maduros como un procedimiento temporal predecible para el tratamiento no quirúrgico de resorción interna, perforaciones, y limpieza de conductos antes de la obturación o reparación final. Por otro lado, en odontología restauradora frecuentemente se colocan materiales de Ca(OH)_2 pasta-pasta para el recubrimiento pulpar con confianza en su éxito clínico. Los fracasos, cuando estos ocurren, son frecuentemente atribuidos a otros factores. Es importante enfatizar que los fracasos del tratamiento en la mayoría de los estudios de recubrimiento pulpar directo se encuentran asociados a la falta de capacidad del material restaurador para mantener un sello biológico o mecánico a largo plazo contra la microfiltración y contaminantes orales^{15,25,26}.

- **Mineral de trióxido agregado.**

La búsqueda durante las últimas décadas de agentes biocompatibles que puedan inducir mecanismos de reparación pulpar in vivo ha producido una variedad de materiales. Entre estos, el material más prometedor es el mineral de trióxido agregado (MTA), ya sea blanco o gris, debido a sus características iguales o superiores como agente de recubrimiento pulpar directo en comparación con los controles de Ca(OH)_2 en varias muestras en animales.

El MTA es un derivado del cemento Portland hecho principalmente de partículas hidrofílicas finas cuyos componentes principales son silicato tricálcico, aluminato tricálcico, óxido tricálcico y óxido de silicato. En el mercado se encuentra disponible como ProRoot

MTA(Tulsa Dental, Tulsa, OK). El material muestra un pH inicial de 10.2 y final de 12.5, similar al $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y endurece aproximadamente entre 3 y 4 horas, la colocación de una torunda de algodón humedecida sobre el MTA induce un endurecimiento adecuado, y una vez endurecido, el material es desinhibido por sangre o humedad.

Estudios indican que el MTA muestra alta biocompatibilidad, mínima toxicidad, una excelente adaptación marginal y capacidad de sello, una fuerza compresiva final igual a la del IRM (aproximadamente 70 MPa) y una producción de citoquinas segura en osteoblastos humanos.

Torabinejad y Pitt Ford y Witherspoon y Robertson compararon el mineral de trióxido agregado (MTA) y el hidróxido de calcio como agentes de recubrimiento pulpar. Estos informes indicaron que el MTA fue más efectivo ya que hubo menos inflamación (de acuerdo con Torabinejad y Pitt Ford, no hubo) y una formación más homogénea del puente de dentina/tejido duro.

Se ha demostrado que el MTA tiene múltiples aplicaciones clínicas: en recubrimiento pulpar, obturación de conductos, reparación de perforaciones y resorción interna, promoción de la apexificación, y recientemente en pulpotomía. Los estudios clínicos actuales están examinando el uso de MTA como agente de recubrimiento pulpar en conjunto con sistemas de adhesión. Los hallazgos iniciales favorables indican que el MTA puede ser colocado directamente sobre el tejido pulpar con una respuesta adversa mínima^{6,8,15}.

- **Otros materiales.**

Glucocorticoesteroides.-

En los 60's y 70's, se utilizaron frecuentemente los glucocorticoesteroides en combinación con antibióticos con el objetivo de controlar el dolor pulpar y suprimir la inflamación pulpar. En consecuencia, comenzaron a emerger reportes acerca de cicatrización escasa e incluso necrosis pulpar, por lo que los esteroides se dejaron de usar para recubrimiento pulpar directo. Durante este período, hubo algunas preocupaciones acerca de infección posterior al tratamiento pulpar directo. Muchos de los tratamientos en estos estudios pudieron haber fallado como resultado de problemas secundarios tal como complicaciones relacionadas con el control técnico que comprende las medidas necesarias para evitar la filtración bacteriana^{9,15}.

Adhesivos.-

Pruebas recientes han demostrado que la eliminación de la microfiltración bacteriana es el factor más importante que afecta la biocompatibilidad del material restaurador. Recientemente se ha experimentado con sistemas adhesivos dentinarios debido a que se cree que la formación de una capa híbrida y la posterior restauración con

resina resulta en restauraciones libres de filtración. En algunos artículos la tasa de éxito ha sido similar a la del hidróxido de calcio. Kashiwada y Takagi demostraron que 60 de 64 dientes se encontraban vitales y libres de signos clínicos y radiográficos de degeneración pulpar 12 meses después del recubrimiento pulpar con un agente de cementación de resina y resina compuesta. El tejido pulpar no estuvo expuesto al acondicionador ácido durante la técnica. Algunos terceros molares que recibieron esta técnica se analizaron histológicamente, y se demostró la formación del puente de dentina por debajo del área de exposición. Kanca notificó un éxito clínico y radiográfico a cuatro años con la aplicación de un agente de cementación de dentina tras el material de grabado aplicado directamente a una pulpa y dentina expuestas a causa de fractura en la recementación de un fragmento dentario. Otros estudios han demostrado que el uso de adhesivos dentinarios no necesariamente resulta en un sellado bacteriano permanente de la cavidad y formación del puente de la zona de la herida. Se ha descrito inflamación pulpar y reacciones a cuerpo extraño en la cercanía de partículas de resina desplazadas. Algunos investigadores que han usado ionómero de vidrio y restauraciones adhesivas de composite para sellar cavidades después de terminado el tratamiento de recubrimiento pulpar han afirmado que la toxicidad química es la causa principal de inflamación en el sitio expuesto. Otros reportes sobre el efecto del uso de materiales de resina como agentes de recubrimiento pulpar en dientes de simios y humanos mostraron resultados menos favorables, incluyendo la presencia de inflamación crónica sin resolver y la ausencia de formación de puente de dentina. Un estudio comparó la curación después de la pulpotomía en 176 dientes de perro intactos usando como agentes de recubrimiento pulpar hidróxido de calcio mezclado con agua o resina de anhídrido trimetil 4-metacriloxietil (4-META). La curación subyacente al material de resina fue ligeramente más tardada comparada con el uso de hidróxido de calcio como material de recubrimiento. En el grupo de resina, el esmalte y la dentina alrededor de la pulpa fueron tratados con ácido cítrico al 10% y cloruro férrico al 3% por 30 segundos. En el grupo de hidróxido de calcio, el esmalte y la dentina fueron tratados con ácido fosfórico al 40% por 30 segundos. Las cavidades y la superficie de la herida fueron lavadas con agua destilada y secadas con aire en ambos grupos.

El material de composite aplicado directamente sobre la pulpa estuvo asociado a una capa de 0.0- a 0.5 mm de grosor de tejido edematoso y exudativo con inflamación leve a moderada. Hubo degeneración de la capa odontoblástica cerca del sitio expuesto. En la pulpa más alejada prevalecieron condiciones normales. Después de 7 días, la inflamación se encontraba disminuida y se observaban células tipo fibroblasto con núcleos grandes; presencia de abundantes macrófagos. No hubo formación de puente de dentina después del tratamiento con resina en los dientes con pulpotomía después de 21 días, el período de tiempo más largo disponible. Sin embargo, hubo formación de dentina terciaria subyacente a los túbulos cortados a los 21 días. Se encontró presencia de antígeno de proliferación celular nuclear a los 3 y 21 días. Las pulpotomías tratadas con hidróxido de calcio mostraron la usual capa de tejido necrótico e infiltración de células redondas y macrófagos a los 3 días. La reacción al antígeno de proliferación celular nuclear fue significativamente más grande a los 3 días que a cualquier otro período de observación. A

los 14 días, se observó dentina con inclusiones celulares; a los 21 días, los puentes de dentina se habían formado. La reactividad del antígeno de proliferación celular nuclear también fue más marcada a los 3 días en las pulpotomías de hidróxido de calcio, confirmando resultados anteriormente encontrados con uso de timidina tritiada. La reactividad del antígeno de proliferación celular nuclear no difirió significativamente entre los dos procedimientos de recubrimiento, excepto a los 21 días, cuando fue más alta en las pulpas tratadas con material de resina; es decir, la reacción antigénica mostró una respuesta retrasada en las pulpotomías tratadas con resina. La inmunofluorescencia reveló que las fibras nerviosas que contienen proteína de neurofilamento estaban presentes cerca de la superficie de la herida. Las fibras nerviosas positivas a la proteína se encontraron subyacentes a ambos materiales de recubrimiento a los 3 días, y abundantes fibras a los 21 días. Aparentemente existe una relación estrecha entre fibras nerviosas y células tipo odontoblasto involucradas en la formación del puente de dentina. Estudios de microscopía inmunoelectrónica de fibras nerviosas que contienen péptido relacionado con el gen de calcitonina también han demostrado brotes de nervios asociados a curación pulpar después de la pulpotomía (Mjor 2002). Trope y col. desacreditaron el uso del composite OptiBond Solo (Kerr Corporation, Orange, California) como agente de recubrimiento pulpar directo.

Si bien se ha recomendado el empleo de agentes de cementación de dentina como un reemplazo para el hidróxido de calcio en la técnica de recubrimiento pulpar directo, se requieren más pruebas a largo plazo y evaluación histológica. Mientras no se disponga de estos datos, sería prudente que el clínico utilizara una combinación de hidróxido de calcio como medicamento para la pulpa expuesta seguido de un agente de cementación de resina hibridante para el sello microbiológico satisfactorio^{11,15,20,22}.

Cemento de óxido de zinc y eugenol.-

Glass y Zander encontraron que el ZOE, en contacto directo con el tejido pulpar, producía inflamación crónica, falta de barrera calcificada y necrosis como resultado final. Hembree y Andrews, en una revisión bibliográfica sobre el ZOE utilizado como material de recubrimiento pulpar directo, no encontraron recomendaciones positivas. Watts también observó inflamación leve a moderada sin puentes calcificados en especímenes bajo su estudio, y esto fue confirmado por Holland y col. y por Weiss y Bjorvatn, por otra parte, observaron necrosis insignificante de la pulpa en contacto directo con ZOE pero afirmaron que cualquier formación de puente calcificado en un sitio de exposición probablemente representaba una capa de fragmentos de dentina. Tampoco encontraron diferencia manifiesta en las reacciones pulpares de dientes primarios y permanentes. Tronstad y Mjör, al comparar el ZOE con el hidróxido de calcio, encontraron que el ZOE resultaba más benéfico para las pulpas expuestas inflamadas, y consideraron que no es necesaria la producción de un puente calcificado si la pulpa está libre de inflamación después del tratamiento^{13,15}.

Cemento de fosfato cálcico.-

Este material se ha desarrollado para la reparación de defectos craneales después de la neurocirugía cerebral. Los componentes de este material incluyen fosfato tetracálcico y fosfato dicálcico, que reaccionan en un medio acuoso para formar hidroxiapatita, el componente mineral de los tejidos duros. Chaung y col. compararon histológicamente el cemento de fosfato de calcio con hidróxido de calcio como agente para el recubrimiento pulpar directo. Si bien ambos materiales produjeron similares resultados con respecto a la biocompatibilidad pulpar y la formación de barreras de tejido duro, se sugirió al cemento de fosfato de calcio como una alternativa viable en virtud de que: 1) su pH más neutro produce menos destrucción localizada de los tejidos, 2) tiene mejor resistencia a la compresión, 3) se transforma en hidroxiapatita con el tiempo. Yoshimine y col. demostraron los posibles beneficios del recubrimiento pulpar directo con cemento de fosfato tetracálcico. Al igual que con el cemento de fosfato cálcico, este material tiene la capacidad de convertirse gradualmente en hidroxiapatita con el tiempo. En contraste con el hidróxido de calcio, el cemento de fosfato tetracálcico indujo formación de puentes sin necrosis del tejido superficial y ausencia importante de inflamación pulpar¹⁵.

Factores de crecimiento.-

A la luz de nuevos conocimientos, Rutherford y col. trabajaron en una terapia pulpar vital en los 90's utilizando proteína morfogenética osteogénica (BMP), también conocida como proteína osteogénica 1, la cual induce formación de dentina reparativa en modelos experimentales de grandes exposiciones pulpares directas en dientes permanentes. No se hizo ningún intento especial para inducir pulpitis antes de la exposición ni se realizó amputación parcial de la pulpa vital. La regeneración de tejido blando seguida de la regeneración de dentina regular sería un resultado más deseable. En 2002, Six y col. experimentaron con diferentes concentraciones de este mismo miembro de la superfamilia de los factores de crecimiento transformantes en dientes de rata a distintos niveles de la pulpa (coronal y radicular), encontraron que a nivel coronal se formó una sustancia mineralizada heterogénea y a nivel radicular hubo una dentinogénesis que obliteró por completo el canal radicular en 11 de 16 dientes, estos resultados enfatizaron interesantes diferencias biológicas entre la pulpa cameral y radicular, y el potencial de las moléculas bioactivas para proporcionar una alternativa al tratamiento de conductos convencional.

La dentina contiene muchas proteínas capaces de estimular respuestas reparativas. La desmineralización de los tejidos dentales puede conducir a la liberación de factores de crecimiento atrapados en la matriz dentinaria después de la aplicación de agentes grabadores de cavidades o materiales de restauración e incluso cuando la caries está en desarrollo. Una vez liberados, estos factores de crecimiento desempeñan un

papel clave en la señalización de muchos de los procesos involucrados en la formación de dentina reparativa. Los factores de crecimiento, especialmente relacionados son los de la familia del factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), los cuales son importantes en la señalización celular para la diferenciación y estimulación de la secreción de la matriz dentinaria. Estos factores de crecimiento son secretados por células formadoras de dentina durante el desarrollo dental y se depositan dentro de la matriz orgánica antes de la formación del tejido mineralizado donde permanecen protegidos en una forma activa mediante la interacción con otros componentes. La adición de fracciones de proteína dentinaria purificada estimula un aumento en la secreción de matriz dentinaria¹².

Investigadores han reportado el uso de TGF-beta junto con un vehículo liberador de fármacos en pulpas expuestas para administrar un agente antiinflamatorio a la pulpa. En 1998, Hu sugirió el uso de un material de TGF-beta como agente de recubrimiento pulpar directo. Con este método, la pulpa expuesta mecánicamente tratada con TGF-beta, junto con una membrana reabsorbible estéril de colágena, mostró una significativa mejoría en la cicatrización de tejidos duros y blandos en molares de rata después de 3 semanas. Sin embargo, los inconvenientes del estudio fueron la inclusión de la pulpa expuesta mecánicamente (sin involucración previa de caries) y una mala descripción de los resultados de la membrana de colágena usada como vehículo liberador de fármacos para el TGF-beta-1. En 2007, Zhang y col. evaluaron el efecto de un material de fosfato de calcio equipado con microesferas de poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) para recubrimiento pulpar y se midió la formación del puente de dentina utilizando varias concentraciones de TGF-beta-1. La composición de 400 ng de TFG-beta-1 fue capaz de desencadenar las células madre residentes de la pulpa de incisivos de cabra para diferenciarse en células tipo odontoblasto e inducir la formación de dentina terciaria, lo que sugiere que este material podría ser un buen candidato para la terapia pulpar vital. Las debilidades de este estudio incluyen el uso de pulpas mecánicamente expuestas (sin involucración previa de caries), los métodos de producción y manipulación, y la degradación insuficiente del polímero PLGA.

Con base en la información anterior, se establece la hipótesis de que la aplicación de factores antiinflamatorios en pulpas expuestas con caries limita la respuesta inflamatoria, acelera la regeneración tisular, y conduce a la deposición de dentina mineralizada de calidad fisiológica. La ventaja de esta propuesta es que el aumento del riesgo de necrosis pulpar o calcificación excesiva resultante de la irritación tisular inducida por el hidróxido de calcio se evita. La aplicación local de antibióticos, en conjunto con el material de recubrimiento pulpar, puede ser más eficaz en la eliminación de bacterias. Aunque es sabido que el tratamiento de recubrimiento pulpar es teóricamente ideal para preservar la vitalidad pulpar, no se sabe como transformar la pulpa existente de un estado de inflamación (pulpitis) a un estado libre de inflamación (pulpa sana). Se especula que si un factor antiinflamatorio se coloca en una pulpa expuesta con caries limita la respuesta inflamatoria, las posibles sustancias tóxicas dentro de la pulpa serán eliminadas una vez que se haya logrado un estado libre de inflamación (pulpa sana). Estos avances en el

tratamiento demuestran que existe una necesidad crítica de afinar las bases biológicas terapéuticas que promuevan la formación continua de un nuevo complejo dentino-pulpar y que restablezcan la vitalidad al estimular el nuevo crecimiento del tejido pulpar^{10,26,27}.

4. Quitosán

4.1 Quitina.

Hablar sobre quitina, es hablar acerca de los inicios de la vida en la tierra, ya que esta pudo ser la forma primordial del primer ser viviente. A pesar de ser un elemento tan antiguo en la tierra, no es sino, hasta hace un poco más de 30 años que los japoneses comenzaron a experimentar con la quitina y el quitosán uno de sus derivados más importantes, desde la forma en cómo lo separaban de las estructuras que lo contenían, hasta las más diversas aplicaciones en la amplia gama de industrias que conforman el mundo actual. La quitina es la versión animal de la celulosa y es el segundo polímero más abundante de la naturaleza después de la celulosa. La quitina es encontrada en los exoesqueletos de aproximadamente un millón de especies de artrópodos –insectos, langostas y cangrejos, por ejemplo-, hongos y algas unicelulares^{28,29}. Químicamente se describe como β -(1-4)-2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa. La quitina es un homopolisacárido estructural lineal no ramificado compuesto por residuos de N-acetil-D-glucosamina unidos por un enlace β , [unidad repetitiva $(\beta 1 \rightarrow 4)\text{GlcNAc}$]; en C-2 contiene un grupo amino acetilado, por lo que la quitina corresponde a una amida de ácido acético (Fig. 2)³⁰.

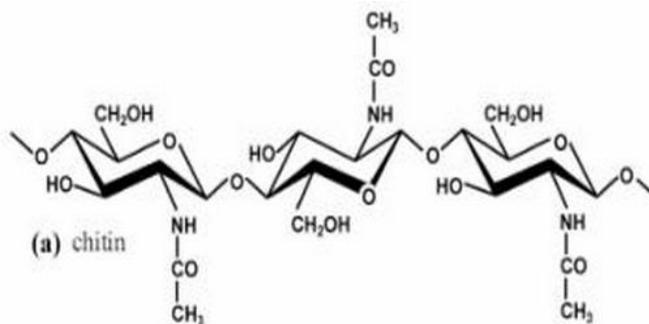


Fig. 2. Estructura química de la quitina

La quitina y el quitosán son sustancias renovables con grandes posibilidades de explotación. En Japón se tienen más de 200 industrias dedicadas a este rubro y más de 10,000 médicos la están probando en distintas enfermedades con gran éxito, aparte de todas las demás áreas de aplicación. En algunos países como Canadá y Estados Unidos, se tienen industrias explotadoras de quitina y quitosán que, aunque no se comparan con Japón, se piensa que crecerán en un futuro no muy lejano, ya que muchas Universidades están estudiando el potencial de estos compuestos. La producción de quitina y quitosán actualmente está basada en caparazones de cangrejos y camarones desechados por industrias conserveras en Oregón, Washington, Virginia, Japón y varias flotas pesqueras

en la Antártica. Varios países poseen grandes recursos crustáceos sin explotar, como son Noruega, México y Chile³¹. Hablar de quitina y quitosán en México, es hablar de un material poco conocido, pero que pudiera tener una gran capacidad de explotación ya que, México cuenta con reservas de este material en sus tres litorales.

La producción de quitosán a través de caparazones de crustáceos obtenidos como desecho de la industria alimentaria es económicamente factible, especialmente si incluye la recuperación de carotenoides utilizados como aditivo en la comida de peces de acuicultura, especialmente salmones. En la actualidad el quitosán y la quitina son producidos comercialmente en la India, Japón, Polonia, Noruega y Australia. El precio mundial del quitosán (al menudeo) es de \$7.5 US/10 G (precio de lista de Sigma and Aldrich)³¹.

4.2 Quitosán.

El quitosán es un polímero natural de alto peso molecular, derivado de la forma desacetilada de la quitina, siendo un polímero de los más abundantes en la naturaleza. Es un polímero único de gran importancia. El quitosán es un polisacárido que consiste en unidades repetidas de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, enlazadas por medio de uniones glucosídicas (1-4). Descrito químicamente como (1-4)-2-amino-2-desoxi-β-D-glucosa. Es un poliamino lineal cuyo grupo amino se encuentra disponible para reacciones químicas y formación de sales con ácidos (Fig. 3)^{29,31,32}.

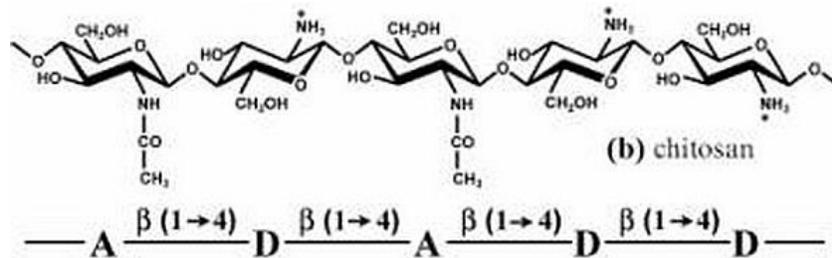


Fig. 3. Estructura química del quitosán

Propiedades y aplicaciones.

El quitosán es un amino polisacárido altamente versátil, de cuyas propiedades fisicoquímicas -origen del material, peso molecular, grado de deacetilación, viscosidad y cristalinidad- dependerán sus características especiales y su potencial funcional.

Los usos y aplicaciones que se le han dado al quitosán dentro de las múltiples industrias son innumerables³³⁻⁴³. El quitosán ha resultado útil para incrementar el rendimiento de los cultivos, para modificar o controlar las propiedades funcionales de los

alimentos en la clarificación y purificación de aguas y bebidas, en eliminación de metales pesados de aguas residuales, en la industria cosmética se le ha introducido en cremas, esmalte de uñas, shampoo, polvo de maquillaje, etc. debido a sus propiedades humectantes, su capacidad para formar películas, sus propiedades fungicidas y fungiestáticas^{28,31}, además de ser el único pegamento catiónico natural que se torna viscoso al ser neutralizado con ácido, por lo que es utilizado en cremas y lociones onduladoras permanentes.

En las tres últimas décadas se han reportado una amplia variedad de aplicaciones médicas debido a que prácticamente no es tóxico en animales y humanos^{31,44}. Dentro de estas aplicaciones encontramos al quitosán como vehículo de distribución de fármacos^{33,34,36} ya que es fácilmente mezclado propiciando la formación de glóbulos, películas, tubos, polvos, geles, entre otros. Uno de sus usos actuales más importante es en los sistemas de liberación de fármacos. Se ha demostrado que el quitosán es biodegradable debido a la acción de la lisozima, la cual está presente en la mayoría de las heridas. El quitosán ha demostrado un efecto rápido en el proceso de recuperación de las heridas^{37,43,44}. Diversos productos para la cicatrización de heridas a base de quitosán se encuentran en estadios iniciales de investigación. Los compuestos sulfatados de quitosán tienen actividades de liberación de anticoagulantes y lipoproteína lipasa, por lo que estos pueden ser utilizados como heparinoides para diálisis de sangre artificial. Las fibras de quitosán por su actividad trombogénica y hemostática pueden ser utilizadas como material hemostático mientras por el contrario fibras conteniendo N-hexanoil y N-octanoilquitosán pueden ser utilizadas como materiales antitrombogénicos. El quitosán tiene actividad inmunoestimulante, debido a la estimulación de TNF-alfa, IL-1 e IL-6 y producción de monocitos, los cuales podrían ser muy útiles en el tratamiento de las infecciones y enfermedades virales³⁸.

La quitina y el quitosán no han sido tan ampliamente utilizados en el campo de la odontología como lo han sido en el de la medicina. En la actualidad algunos autores comienzan a tomar interés en sus posibles usos dentro de la primera^{35,39,42}. Dentro de las aplicaciones dentales tenemos su incursión en el tratamiento de la periodontitis, en la formulación de dentífricos para la inhibición de placa y limpiadores de dentaduras, debido a su efecto preventivo sobre la caries, su capacidad de controlar el pH, su acción hemostática, bactericida⁴⁷ y candidida.

La seguridad del quitosán ha sido demostrada en ratas y humanos. Únicamente en perros se ha encontrado que dosis altas de quitosán (arriba de 50 mg/kg) producen neumonía letal. También se ha sugerido que la activación de macrófagos por el quitosán media su efecto antitumoral in vivo, mientras que sus propiedades inductoras angiogénicas pueden tener efectos nocivos del quitosán, tales como la promoción de crecimiento e invasión tumoral, en pacientes con cierto tipo de tumores previos⁴⁴.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La comunicación pulpar representa un dilema tanto para el odontólogo como para el paciente. Por una parte la bibliografía reporta índices muy variables de éxito en el recubrimiento pulpar directo en dientes permanentes con el ápice cerrado, que en parte se atribuye a que es casi imposible establecer clínicamente si la pulpa se encuentra completamente sana sin signos de inflamación. Por otro lado, el mantenimiento de la vitalidad pulpar es la condición óptima del diente, ya que esto le permitirá conservar sus funciones formativas, nutritivas, sensitivas, defensoras y reparadoras.

Hoy en día, en el mercado nacional existe una amplia variedad de productos que son empleados en el recubrimiento pulpar tanto directo como indirecto, algunos de ellos son de costo elevado, otros no son claros sus beneficios, otros no reportan resultados favorables para el tejido pulpar, por lo anterior y debido a las discrepancias es que el material de recubrimiento pulpar de mayor uso sigue siendo el hidróxido de calcio que nos ofrece tasas de éxito tan variables como del 56 al 92%³ en pulpas sanas y del 13 al 37%²¹ en pulpas inflamadas.

Por lo antes mencionado, y debido a que hoy en día la cultura que se tiene es la de la conservación de los órganos dentales, se hace necesaria la búsqueda de un material de recubrimiento que pueda ser utilizado exitosamente en dientes con o sin signos de inflamación, que contribuya a controlar el proceso inflamatorio, devolver la salud pulpar y/o estimule la formación del puente dentinario.

También es necesario promover la utilización de materiales odontológicos que sean amigables con el medio ambiente, por ello evaluaremos la respuesta pulpar al quitosán como producto empleado para el recubrimiento pulpar directo, que se fabrica a partir de los exoesqueletos de crustáceos, permitiendo de esta forma el reciclaje de productos orgánicos y el cuidado del ambiente.

V. JUSTIFICACIÓN.

El recubrimiento pulpar es un procedimiento que permite mantener la vitalidad y función del órgano dental, por lo que es considerado de tiempo atrás el tratamiento ideal en caso de exposición pulpar. Este procedimiento, colabora al mantenimiento de la salud bucal siendo un método sencillo que permite la visualización directa del área a tratar, el tiempo necesario para llevarlo a cabo es corto y no es doloroso, evitando el rechazo por parte del paciente aunado a tener un bajo costo.

La problemática que representan las variables tasas de éxito del tratamiento de recubrimiento pulpar directo se traduce en el uso del criterio clínico que en múltiples ocasiones es subjetivo y poco confiable. Esto debido a que es imposible saber clínicamente si el tejido pulpar se encuentra libre de inflamación, lo cual en ocasiones nos lleva a la realización de tratamientos de conductos radiculares innecesarios ya que la extirpación pulpar es el procedimiento estándar para el tratamiento de pulpas inflamadas. El tratamiento de conductos radicular es técnicamente desafiante. A menos que este sea llevado a cabo por un especialista en endodoncia, este tratamiento implica grandes riesgos ya que si no se cuenta con un microscopio quirúrgico no nos permite una visualización de la zona a tratar, la limpieza y desinfección no son 100% predecibles debido a la complejidad de la topografía del sistema de conductos radicular y el riesgo de accidentes durante el tratamiento es mayor. Mencionando del mismo modo que desde el punto de vista de la salud pública es un tratamiento que requiere más tiempo, provoca el uso de restauraciones más extensas, eleva el costo y en el peor de los casos extracciones innecesarias debido a la renuencia de los pacientes a realizarlo debido al temor y ansiedad que este causa en ellos¹⁰.

Por lo tanto, existe la necesidad latente de crear y utilizar un material de recubrimiento pulpar que permita la conservación de la vitalidad pulpar tanto en pulpas sanas como en pulpas con presencia de pulpitis reversible. Por lo que, es de gran interés el desarrollo de un nuevo material que promueva y mejore la cicatrización del tejido pulpar, estimule la reparación del tejido dentinario, mantenga una actividad germicida y nos permita ir a la vanguardia del cuidado ambiental.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general.

- Evaluar biológicamente la acción de un material propuesto como material de recubrimiento pulpar de origen orgánico, en pulpa sana y pulpa con inducción inflamatoria evaluando el mantenimiento de la vitalidad pulpar y/o restablecimiento de su función (control del proceso inflamatorio e inducción del puente dentinario), comparándolo con el hidróxido de calcio a diferentes intervalos de tiempo (8, 28 y 60 días).

Objetivos específicos.

- Establecer y comparar la acción biológica del quitosán en tejido pulpar sano a 8, 28 y 60 días con el hidróxido de calcio.
- Establecer y comparar la acción biológica del quitosán en tejido pulpar inflamado (inducido experimentalmente mediante exposición dentinaria a bacterias orales) a 8, 28 y 60 días con el hidróxido de calcio.
- Determinar la formación del puente dentinario a 8, 28 y 60 días en tejido pulpar sano y contaminado y compararlo con el hidróxido de calcio.
- Establecer el tipo de respuesta inflamatoria a 8, 28 y 60 días en el tejido pulpar de la cavidad contaminada y compararla con el hidróxido de calcio.
- Identificar la acción germicida del quitosán a 8, 28 y 60 días en tejido pulpar inflamado y compararla con la del hidróxido de calcio.

VII. HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo.

El recubrimiento pulpar del grupo a base de quitosán nos ofrecerá una tasa de éxito igual o mayor que la del recubrimiento pulpar del grupo de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tanto sobre pulpas sanas como sobre pulpas inflamadas.

Hipótesis nula.

El recubrimiento pulpar del grupo a base de quitosán ofrecerá una tasa de éxito menor que la del recubrimiento pulpar del grupo de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tanto sobre pulpas sanas como sobre pulpas inflamadas.

VIII. MATERIALES Y MÉTODO.

1. Tipo de estudio.

Experimental, observacional y descriptivo.

2. Variables.

2.1. Variables dependientes.

2.1.1. Formación del puente de dentina: presencia o ausencia de puente dentinario en el sitio de la exposición pulpar.

2.1.2. Continuidad del puente de dentina: deposición completa o incompleta de tejido de reparación en el sitio de la exposición pulpar.

2.1.3. Morfología del puente de dentina: dentina de reparación o tejido duro irregular.

2.1.4. Grosor del puente de dentina: medida en μm .

2.1.5. Localización del puente de dentina: por encima del tejido pulpar, invadiendo este espacio o únicamente en las paredes del sitio expuesto.

2.1.6. Tipo de proceso inflamatorio: agudo, crónico o granulomatoso de acuerdo al tipo de células presentes.

2.1.7. Intensidad de la reacción inflamatoria pulpar: leve, moderada o severa de acuerdo a la cantidad de células encontradas.

2.1.8. Extensión de la reacción inflamatoria pulpar: únicamente en el área de exposición pulpar, en parte la pulpa cameral o en toda la pulpa cameral.

2.1.9. Estado general de la pulpa: sin reacción inflamatoria, con reacción inflamatoria, con presencia de abscesos o necrótica.

2.1.10. Presencia de células gigantes y partículas del material de recubrimiento: ausencia, leve, moderada o gran número de células.

2.1.11. Presencia de microorganismos: ausencia o presencia.

2.2. Variables independientes.

2.2.1. Preparación cavitaria: clase I.

2.2.2. Material de recubrimiento pulpar: hidróxido de calcio puro o quitosán.

2.2.3. Intervalos de tiempo: 7, 28 y 60 días.

3. Criterios de selección.

3.1. Criterios de inclusión.

3.1.1. Ratas Wistar adultas, sexo indistinto, de 300-400 grs de peso, que hayan pasado el periodo de adaptación en el bioterio sin presentar alteraciones.

3.1.2. Quitosán obtenido de la Facultad de Química de la FES Cuautitlán.

3.2. Criterios de exclusión.

3.2.1. Especímenes que presenten alteraciones, conductas atípicas o muerte.

4. Diseño experimental

Se realizaron 72 recubrimientos pulpares directos en los primeros y segundos molares superiores derechos e izquierdos de 18 ratas Wistar con 2 diferentes materiales de recubrimiento pulpar. Los molares se dividieron en 12 grupos de estudio:

Grupos control.

Grupo 1A (GC1A). Cinco molares con pulpas sanas; con recubrimiento pulpar directo de hidróxido de calcio a 7 días. Se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 1B (GC1B). Cinco molares con pulpas sanas; con recubrimiento pulpar directo de quitosán a 7 días. Se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 2A (GC2A). Seis molares con pulpas sanas; con recubrimiento pulpar directo de hidróxido de calcio a 28 días. Se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 2B (GC2B). Seis molares con pulpas sanas; con recubrimiento pulpar directo de quitosán a 28 días. Se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 3A (GC3A). Siete molares con pulpas sanas; con recubrimiento pulpar directo de hidróxido de calcio a 60 días. Se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 3B (GC3B). Siete molares con pulpas sanas; con recubrimiento pulpar directo de quitosán a 60 días. Se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupos experimentales.

Grupo 1A (GE1A). Cinco molares con pulpas inflamadas; con recubrimiento pulpar directo de hidróxido de calcio a 7 días, se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 1B (GE1B). Cinco molares con pulpas inflamadas; con recubrimiento pulpar directo con quitosán a 7 días, se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 2A (GE2A). Seis molares con pulpas inflamadas; con recubrimiento pulpar directo de hidróxido de calcio a 28 días, se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 2B (GE2B). Seis molares con pulpas inflamadas; con recubrimiento pulpar directo de quitosán a 28 días, se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 3A (GE3A). Siete molares con pulpas inflamadas; con recubrimiento pulpar directo de hidróxido de calcio a 60 días, se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

Grupo 3B (GE3B). Siete molares con pulpas inflamadas; con recubrimiento pulpar directo de quitosán a 60 días, se realizaron cortes histológicos, se observaron al microscopio y se realizó el análisis descriptivo de los resultados.

4.1. Metodología.

4.1.1. Materiales.

Para realizar el experimento se requirió de diversos equipos, instrumental y material, que se encuentran descritos en la **Tabla 1 y Fig. 1**:

Tabla 1. Material empleado.

Anestésicos	3 frascos de Ketamina (Anesket, 1000 mg/10 ml)
Antisépticos	Digluconato de clorhexidina al 2% (Consepsis, Ultradent) NaOCl al 2% (Viardent, México)
Consumibles	190 Puntas de papel estériles 100 Torundas de algodón estériles 60 Microbrush 360 Portaobjetos Cloroformo Solución salina estéril Jeringas para insulina Jeringas para irrigar Eyectores Manta de indio
Equipo	Microscopio de luz Lupas quirúrgicas (Task-Vision, 2.5x) Pieza de mano para motor rotatorio (NSK, Japón) Motor para endodoncia (NSK, Japón) Microtomo Tina de flotación Tren de tinción Eyector quirúrgico Lámpara de fotocurado (Ortholux LED, 3M) Lentes para resina Histokinette Balanza
Instrumental	4 Espátulas de cemento 4 Loseta de vidrio 10 fresas redondas de carburo (ISO 008, Edenta, Switzerland) 10 fresas cilíndricas de diamante (ISO 007, Edenta, Switzerland) 2 Espejos intraorales (Hu-Friedy, Chicago, IL) 2 Pinzas de curación 40 Cepillos para profilaxis 2 Abrebocas para rata fabricados manualmente 2 Espátulas de resina 2 Shock adaptador para pieza de baja 2 Condensadores de amalgama 2 Dispensadores de amalgama 2 Exploradores de cavidades Mortero y pistilo para amalgama Pulidores para resina
Materiales de recubrimiento	Ca(OH) ₂ y solución salina estéril (Polvo, Viarden, México) Quitosán en polvo, y solución de quitosán y ácido láctico al 2% (FES Cuautitlán, UNAM)
Materiales de obturación	Compules de resina Filtek Z350 XT (3M ESPE, Minnesota E.U.) Botella de adhesivo autograbante (Adper Easy One, 3M ESPE) 10 Amalgamas
Reactivos	Parafina
Sujeto experimental	18 Ratas Wistar
Tinciones	Hematoxilina y eosina Brown-Brenn Tricrómica de Masson



Fig. 1. A) Anestésico. B) Hipoclorito de sodio. C) Clorhexidina. D) Lupas de aumento. E) Motor de endodoncia. F) Solución irrigadora. G) Hidróxido de Calcio Puro. H) Solución de Quitosán. I) Quitosán en polvo. J) Amalgama. K) Adhesivo autograbante. L) Pistola para resina y compule de resina.

4.1.2. Método.

Las 18 ratas macho cepa Wistar con peso aproximado de 300 grs. (**Fig. 2**). Fueron proporcionadas por la Facultad de Medicina de la UNAM. Se albergaron en el bioterio de la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPeI) de la Facultad de Odontología de la UNAM, cada 3 modelos experimentales fueron colocados en una jaula durante 7 días para su adaptación. Las jaulas se asearon 3 veces por semana. Se les administró alimento y agua “*ad libitum*”. Se pesaron los modelos y el alimento para verificar que estuvieran comiendo y llevar un control del peso. Todo el instrumental que se utilizó en el experimento se esterilizó en paquetes que fueron usados individualmente en las ratas^{45,46}.

El material de recubrimiento pulpar experimental fue realizado en colaboración con la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la UNAM.

El material de recubrimiento pulpar desarrollado consta de dos componentes uno polvo y otro líquido, los cuales al mezclarse mediante espatulado forman una pasta de consistencia parecida al gel. El material empleado para hacer el componente polvo/líquido, fueron dos Quitosanos obtenidos de quitina desacetilada de acuerdo al procedimiento en solicitud de patente* y fue caracterizado en el laboratorio de Biotecnología de la FESC. El quitosán que se preparó en solución al 0.5% en agua- ácido láctico tenía un peso molecular promedio viscosimétrico de 251.553 g/mol, un grado de desacetilación de 100%, 0.31% de ceniza y 8.4% de nitrógeno, la solución obtenida fue al 2% de quitosán con un pH 6. Para formar la pasta se utilizó esta solución de Quitosán y otro Quitosán en polvo de peso molecular 2000 g/mol. Ambos materiales fueron esterilizados por medio de luz ultravioleta.

*Solicitud de Patente "Proceso para la extracción de quitina a partir de crustáceos y su conversión a quitosán. En trámite Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial No. de expediente 005444. mayo 31, 2000. No de folio 1175930-5.



Fig. 2. Ratas Wistar.

❖ Etapa 1.

○ Inducción inflamatoria pulpar sin exposición.

Al término del período de adaptación en el bioterio (7 días), se procedió a preparar las cavidades de los grupos experimentales (GE1A, GE1B, GE2A, GE2B, GE3A, GE3B), se anestesió con 1 ml de Ketamina al 10% administrada por vía intraperitoneal utilizando una dosis de 0.1 ml por 50g de peso, trabajando 3 a 4 ratas por día. En esta primera etapa se trabajaron únicamente 2 molares por rata. Antes de la preparación de la cavidad, los primeros y segundos molares superiores izquierdos de cada rata se limpiaron mecánicamente con un cepillo de profilaxis, químicamente con NaOCl al 5%, y se desinfectaron con digluconato de clorhexidina al 2%. Con ayuda de las lupas de aumento (Task-Vision, 2.5x) se prepararon cavidades clase I en dichos molares libres de caries con ayuda de un motor de endodoncia (NSK, Japón) con irrigación de solución salina estéril y una fresa cilíndrica de diamante (ISO 007, Edenta, Switzerland) a una velocidad de 1300 rpm hasta acercarnos al techo de la cámara pulpar teniendo mucho cuidado en no exponer la pulpa mediante observación del cambio de coloración, la fresa se cambió cada

4 cavidades. En seguida, para inducir la inflamación pulpar de acuerdo a los criterios de Trope y col.²¹ se tomó una torunda de algodón estéril y se empapó en placa bacteriana que fue tomada de la lengua y el surco gingival de la misma rata y se colocó dentro de la cavidad por 15 minutos; se tomó de nuevo la torunda y se empapó con placa por segunda vez y se selló dentro de la cavidad con amalgama por 8 días, para asegurar que la pulpa subyacente se encontrara inflamada al momento de realizar la exposición pulpar (**Fig. 3**).

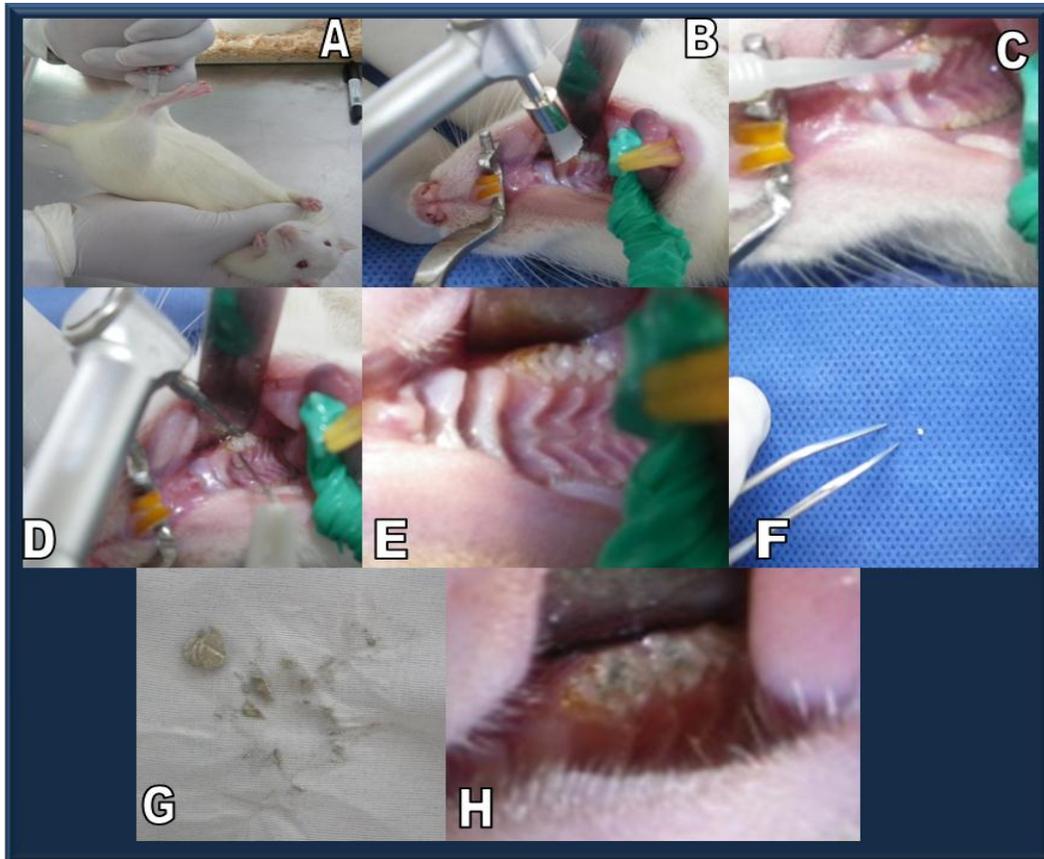


Fig. 3. A) en esta imagen se aprecia el momento de la sedación. B) Se realizó la limpieza mecánica con hipoclorito de sodio. C) Se realizó la limpieza con clorhexidina. D) Se realizaron las cavidades del primero y segundo molar izquierdo. E) Se observan las cavidades realizadas. F) Torunda de algodón empapada en bacterias. G) Amalgama. H) Se observan las restauraciones de amalgama.

❖ **Etapa 2.**

- **Procedimiento de recubrimiento pulpar directo en pulpas sanas e inflamadas.**

Dicho procedimiento se realizó a los 7 días posteriores a la inducción inflamatoria pulpar, comenzando por las 3 primeras ratas tratadas y así consecutivamente por 6 días hasta haberlo realizado en las 18 ratas. Se trabajaron en total 4 dientes por rata por día

en esta etapa, 2 con pulpas sanas que correspondieron a los molares superiores derechos y 2 con pulpas inflamadas que correspondieron a los molares superiores izquierdos.

IDENTIFICACIÓN DE GRUPOS.

GRUPO	MOLAR SUPERIOR	MATERIAL DE RECUBRIMIENTO	NÚMERO DE DIENTES	NÚMERO DE RATAS	INTERVALO TIEMPO	ESTADO PULPAR
GC1A	1 ^{ero} derecho	Ca(OH) ₂	5	5	7 días	Sano
GC1B	2 ^{do} derecho	Quitosán	5	5	7 días	Sano
GC2A	1 ^{ero} derecho	Ca(OH) ₂	6	6	28 días	Sano
GC2B	2 ^{do} derecho	Quitosán	6	6	28 días	Sano
GC3A	1 ^{ero} derecho	Ca(OH) ₂	7	7	60 días	Sano
GC3B	2 ^{do} derecho	Quitosán	7	7	60 días	Sano
GE1A	1 ^{ero} izquierdo	Ca(OH) ₂	5	5	7 días	Inflamado
GE1B	2 ^{do} izquierdo	Quitosán	5	5	7 días	Inflamado
GE2A	1 ^{ero} izquierdo	Ca(OH) ₂	6	6	28 días	Inflamado
GE2B	2 ^{do} izquierdo	Quitosán	6	6	28 días	Inflamado
GE3A	1 ^{ero} izquierdo	Ca(OH) ₂	7	7	60 días	Inflamado
GE3B	2 ^{do} izquierdo	Quitosán	7	7	60 días	Inflamado

Exposición pulpar en dientes libres de inflamación.

Se tomaron las medidas necesarias para evitar o minimizar el malestar o dolor en las ratas. Se anestesiaron mediante 1 ml de ketamina al 10% por vía intraperitoneal utilizando una dosis de 0.1 ml por 50 g de peso. Se comenzó con las cavidades de los grupo control (**GC1A, GC1B, GC2A, GC2B, GC3A, GC3B**). Antes de la preparación de estas, los dientes se limpiaron mecánicamente con un cepillo pequeño, químicamente con NaOCl al 5%, y se desinfectaron con digluconato de clorhexidina al 2%. Con ayuda de lupas de aumento (Task-Vision, 2.5x), se prepararon cavidades clase I en los primeros y segundos molares superiores derechos, libres de caries con ayuda de un motor de endodoncia (NSK, Japón) con irrigación de solución salina estéril y una fresa cilíndrica de diamante (ISO 007, Edenta, Switzerland) a una velocidad de 1300 rpm hasta acercarnos al techo de la cámara pulpar mediante la observación del cambio de coloración del techo, biselando la terminación del esmalte con dicha fresa. En seguida, se perforaron los techos pulpares con la punta de un explorador. Para remover todos los remanentes de sangre de las paredes de la cavidad, las cavidades se irrigaron cuidadosamente con solución salina estéril y se secaron con torundas de algodón y puntas de papel estériles.

Después se aplicó el recubrimiento pulpar de la siguiente manera:

Se recubrió con pasta de hidróxido de calcio químicamente puro (Viarden, México) el tejido pulpar de los primeros molares superiores derechos pertenecientes a los grupos control (**GC1A, GC2A, GC3A**). El hidróxido de calcio se mezcló de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

A los segundos molares superiores derechos pertenecientes a los grupos control (**GC1B, GC2B, GC3B**) se les colocó una mezcla de quitosán en polvo y solución de quitosán con ácido láctico al 2% (FESC, UNAM).

Todas las cavidades se restauraron con material de restauración de composite Filtek Z350 XT (3M ESPE, Minnesota E.U.) que se fotocuró durante 20 segundos, en combinación con el adhesivo dentinario autograbante Adper Easy One (3M ESPE, Minnesota E.U.) que se fotocuró por 10 segundos con la lámpara de fotocurado Ortholux LED (3M UNITEK, Minnesota E.U.).

Colocación del recubrimiento pulpar en dientes con inflamación.

Finalizado el procedimiento de recubrimiento pulpar del lado derecho, se procedió a la limpieza mecánica de los primeros y segundos molares superiores del lado izquierdo pertenecientes al grupo experimental (**GE1A, GE1B, GE2A, GE2B, GE3A, GE3B**) con un cepillo de profilaxis y a la química con NaOCl al 5%. Con ayuda de las lupas de aumento (Task-Vision, 2.5x), se eliminaron las amalgamas existentes en los primeros y segundos molares superiores e inferiores izquierdos, con una fresa de bola de carburo de tungsteno de 0.6 mm (ISO 008, Edenta, Switzerland) montada en un motor de endodoncia (NSK, Japón) con irrigación de solución salina estéril. Una vez eliminada toda la amalgama y la torunda de algodón se procedió a la desinfección con digluconato de clorhexidina al 2% y con ayuda de una fresa cilíndrica de diamante (ISO 007; Edenta, Switzerland) a una velocidad de 1300 rpm nos acercamos al techo de la cámara pulpar mediante observación del cambio de coloración del techo, biselando la terminación del esmalte con dicha fresa. En seguida, se perforaron los techos pulpares con la punta de un explorador. Se verificó la existencia de sangrado pulpar para confirmar la vitalidad pulpar y a continuación la sangre se removió de las cavidades con irrigación suave con solución salina estéril, se secó con puntas de papel y torundas de algodón estériles.

Después se aplicó el recubrimiento pulpar de la siguiente manera:

Se recubrió con pasta de hidróxido de calcio químicamente puro (Viarden, México) el tejido pulpar de los primeros molares superiores izquierdos pertenecientes a los grupos experimental (**GE1A, GE2A, GE3A**). El hidróxido de calcio se mezcló de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

A los segundos molares superiores izquierdos pertenecientes a los grupos experimental (**GE1B, GE2B, GE3B**) se les colocó una mezcla de quitosán en polvo con solución de quitosán y ácido láctico al 2% (FESC, UNAM).

Todas las cavidades se restauraron con material de restauración de composite Filtek Z350 XT (3M ESPE, Minnesota E.U.) que se fotocuró durante 20 segundos, en combinación con el adhesivo dentinario autograbante Adper Easy One (3M ESPE, Minnesota E.U.) que se fotocuró por 10 segundos con la lámpara de fotocurado Ortholux LED (3M UNITEK, Minnesota E.U.).

Para finalizar todas las resinas se pulieron al ras del bisel de esmalte con puntas pulidoras optrapol (Ivoclar Vivadent, Ellwangen, Germany) (**Fig. 4**).

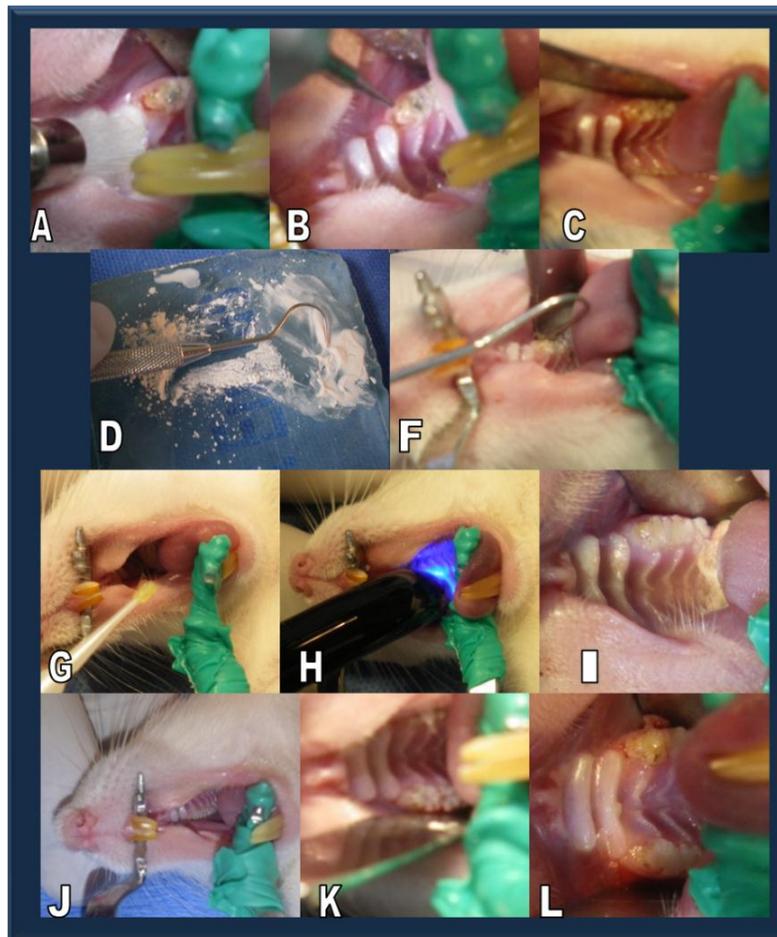


Fig. 4. A) Limpieza mecánica de la amalgama. B) Eliminación de la amalgama. C) Comunicación pulpar. D) Recubrimiento pulpar de Hidróxido de Calcio. E) Recubrimiento pulpar de Quitosán. F) Colocación de los recubrimientos pulpares. G) Colocación de adhesivo dentinario autograbante. H) Fotocurado. I) Restauración de resina. J) Primer y segundo molar derecho. K) Cavidades con comunicación pulpar. L) Restauraciones de resina en los 4 molares.

❖ Etapa 3.

○ Eutanización de los sujetos experimentales.

Se procedió a sacrificar a las ratas a los 7, 28 y 60 días posteriores a la finalización del procedimiento de recubrimiento pulpar directo, por medio de inhalación de Cloroformo y asfixia.

Una vez sacrificadas se procedió a la disección del maxilar superior derecho e izquierdo. Las muestras se colocaron en viales con formaldehído al 10% y se procesaron en el laboratorio de Patología de la División de Estudios de Posgrado e Investigación (DEPEI) de la Facultad de Odontología de la UNAM. (Fig. 5).



Fig. 5. Hemiarcada maxilar disecada.

❖ Etapa 4.

○ Obtención de cortes histológicos.

Una vez que las hemiarcadas fueron disecadas, se fijaron en solución de formalina neutralizada buffer al 10% por al menos 48 hrs, pasado este tiempo las muestras fueron procesadas de forma automatizada en el Histokinette, se incluyeron en parafina, se realizaron cortes seriados con grosor de $3\mu\text{m}$, se montaron, tiñeron con Hematoxilina y Eosina y Tricrómica de Masson para evaluar la respuesta tisular y celular, así como la formación de dentina reparativa; y con la técnica Brown-Brenn para identificar la presencia de bacterias. Finalmente se realizó la observación microscópica. (Fig. 6).

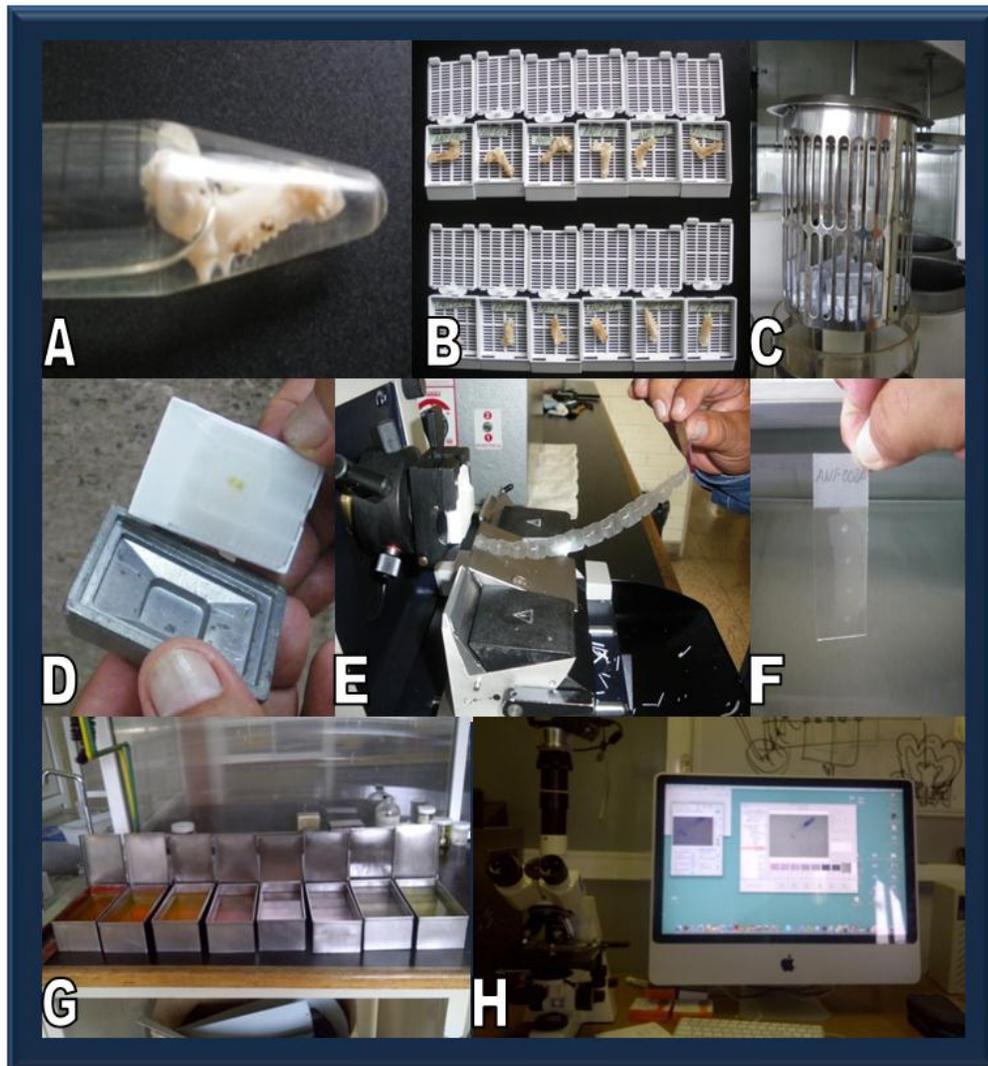


Fig. 6. Procesamiento de muestras. A) Hemiarcada disecada y fijada. B) encapsulación, C) procesamiento automatizado, D) inclusión en parafina, E) corte seriado, F) montaje, G) tinción y H) observación.

❖ Etapa 5.

○ Análisis de los cortes histológicos.

Los cortes histológicos fueron fotografiados bajo el microscopio óptico a 4 objetivos diferentes (5x, 10x, 20x y 40x).

Los resultados se evaluaron a doble ciego por el tutor y por la autora de la tesis, de acuerdo a los criterios mencionados por Mestrener *et al.*³² Cada punto histomorfológico fue evaluado por puntuaciones que irán del 1 al 4, siendo 1 el mejor resultado y 4 el peor.

CRITERIOS DE MESTRENER Y COL.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

1. Completo.
2. Parcial con pequeña comunicación del material de recubrimiento con la pulpa dental.
3. Parcial únicamente deposición lateral de tejido duro en las paredes de la cavidad del sitio expuesto.
4. Ausencia de puente de tejido duro y ausencia de deposición lateral de tejido duro.

Morfología

1. Dentina de reparación o dentina de reparación y tejido duro irregular.
2. Únicamente deposición de tejido duro irregular.
3. Únicamente una delgada deposición de tejido duro.
4. Sin deposición de tejido duro.

Grosor

1. Más de 250 μm .
2. De 150 a 249 μm .
3. De 1 a 149 μm .
4. Puente ausente o parcial.

Localización

1. Cierre del sitio expuesto sin invasión del espacio pulpar.
2. Puente invadiendo el espacio pulpar a un lado de la pared dentinal opuesta.
3. Puente que alcanza la pared dentinal opuesta.
4. Sin puente o únicamente deposición de tejido duro en las paredes del sitio expuesto.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

1. Ausencia o unas cuantas células.
2. Leve: número promedio menor a 10 células.
3. Moderada: número promedio de 10-25 células.
4. Severa: número promedio mayor a 25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

1. Ausencia.
2. Leve: células inflamatorias únicamente junto al puente dentinario o área de exposición pulpar.
3. Moderada: se observan células inflamatorias en parte de la pulpa cameral.
4. Severa: toda la pulpa cameral se encuentra infiltrada o necrosada.

Estado general de la pulpa

1. Sin reacción inflamatoria.
2. Con reacción inflamatoria.
3. Abscesos.
4. Necrosis.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

1. Ausencia
2. Leve
3. Moderado
4. Gran número o necrosis pulpar.

Presencia de microorganismos

1. Ausencia.
2. Presencia.

IX. RESULTADOS

GRUPOS CONTROL

GRUPO CONTROL 1A (GC1A)

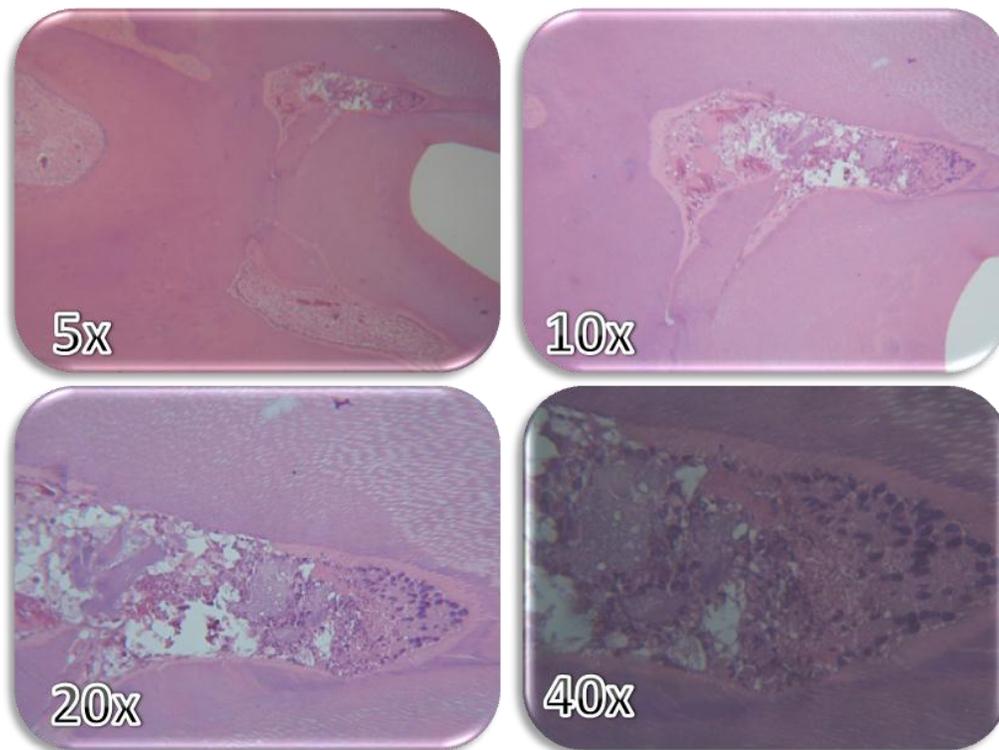


Fig. 1. Corte histológico de molar de rata teñido con HyE: a 5X se aprecia la cavidad preparada con motor para endodoncia, con comunicación a la cámara pulpar cubierta con material de hidróxido de calcio Ca(OH)_2 , el tejido pulpar no muestra reacción inflamatoria. A 10 y 20X se ve el sellado que se obtuvo con el Ca(OH)_2 a las paredes dentinarias de la cavidad, el cual no es óptimo. A 40X se observa la colonización bacteriana sobre el material, sin penetración al tejido pulpar. También se observa el aspecto granuloso del material.

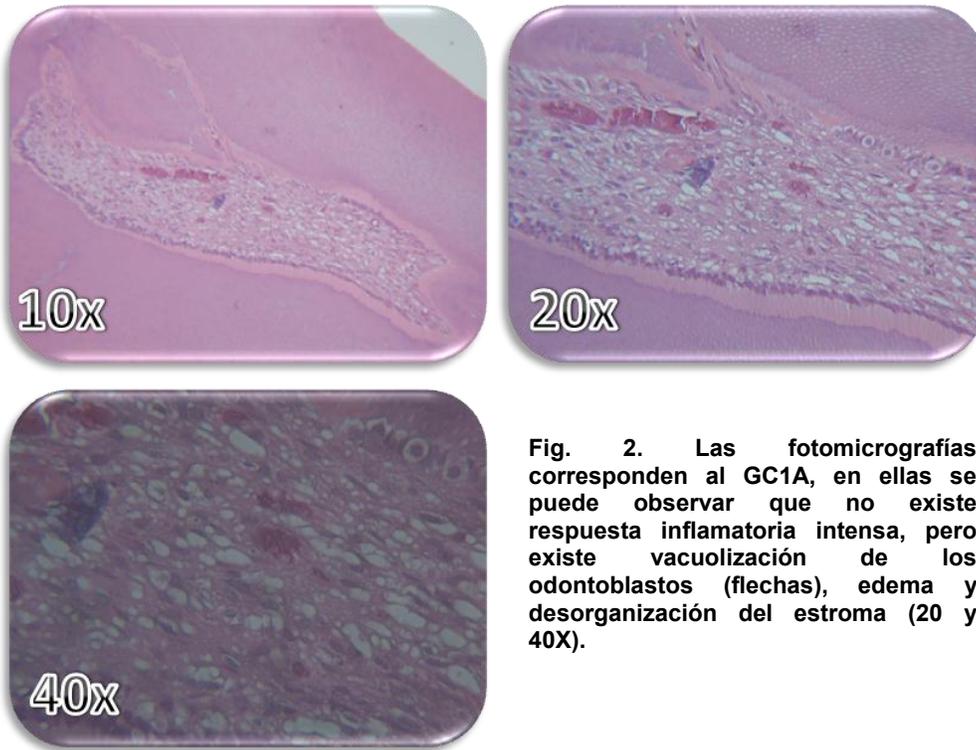


Fig. 2. Las fotomicrografías corresponden al GC1A, en ellas se puede observar que no existe respuesta inflamatoria intensa, pero existe vacuolización de los odontoblastos (flechas), edema y desorganización del estroma (20 y 40X).

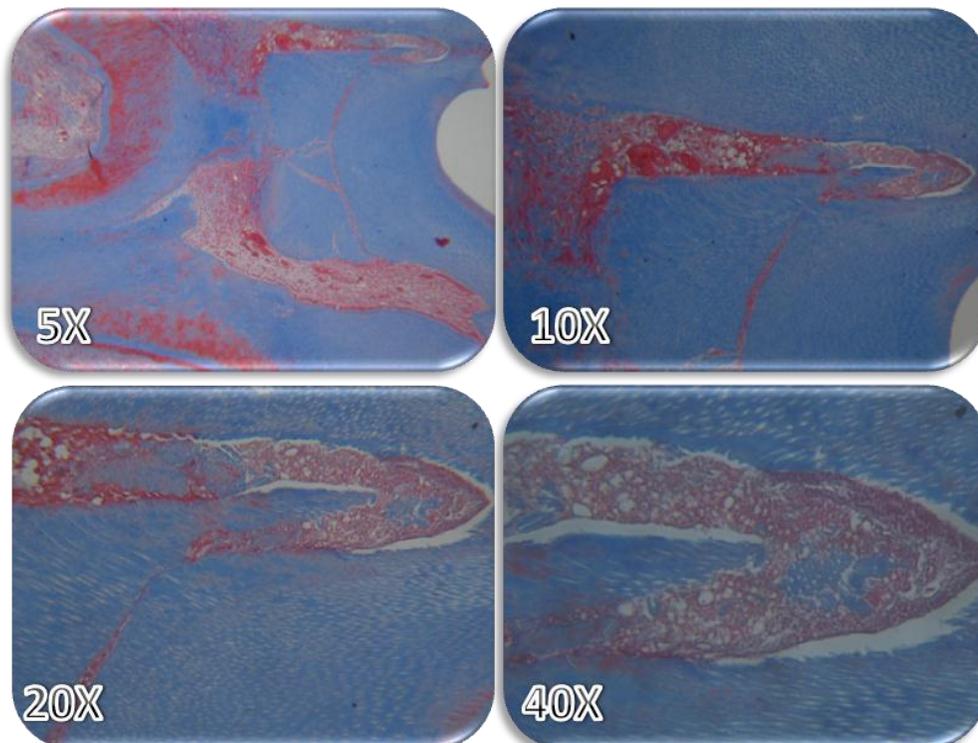


Fig. 3. Con Tricrómica de Masson, se observa la respuesta inflamatoria del tejido pulpar, edema, vacuolización, pérdida de la organización de la capa odontoblástica, odontoblastos con aspecto balonoide.

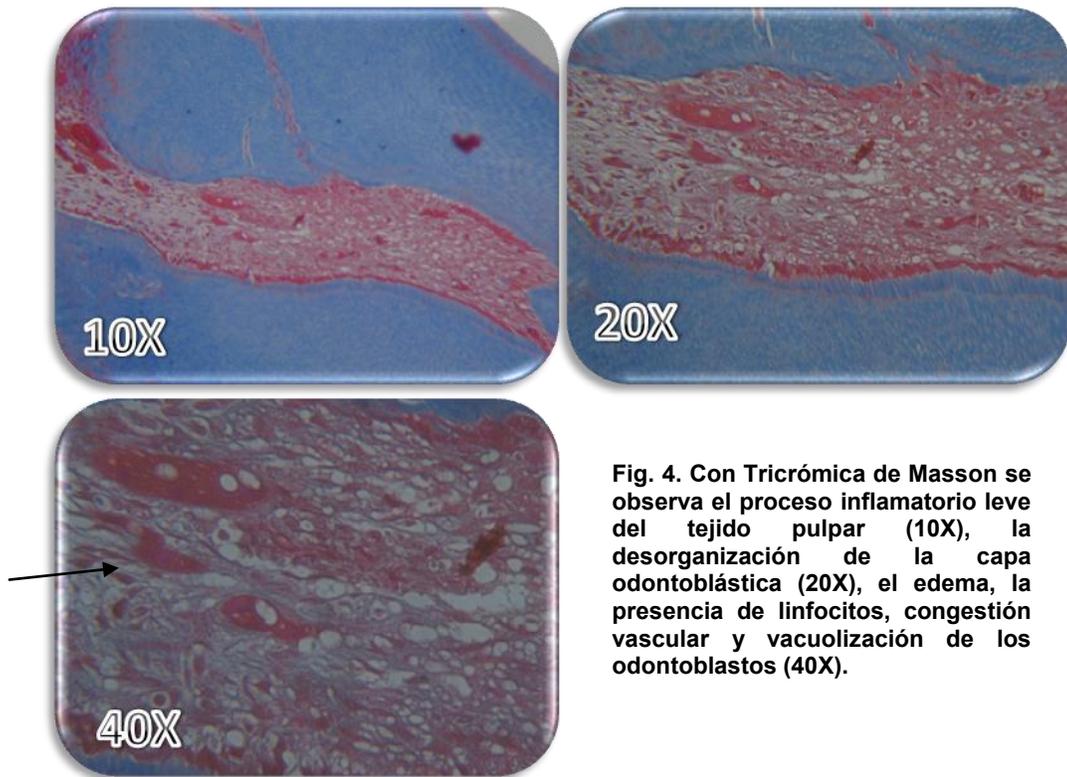


Fig. 4. Con Tricrómica de Masson se observa el proceso inflamatorio leve del tejido pulpar (10X), la desorganización de la capa odontoblástica (20X), el edema, la presencia de linfocitos, congestión vascular y vacuolización de los odontoblastos (40X).

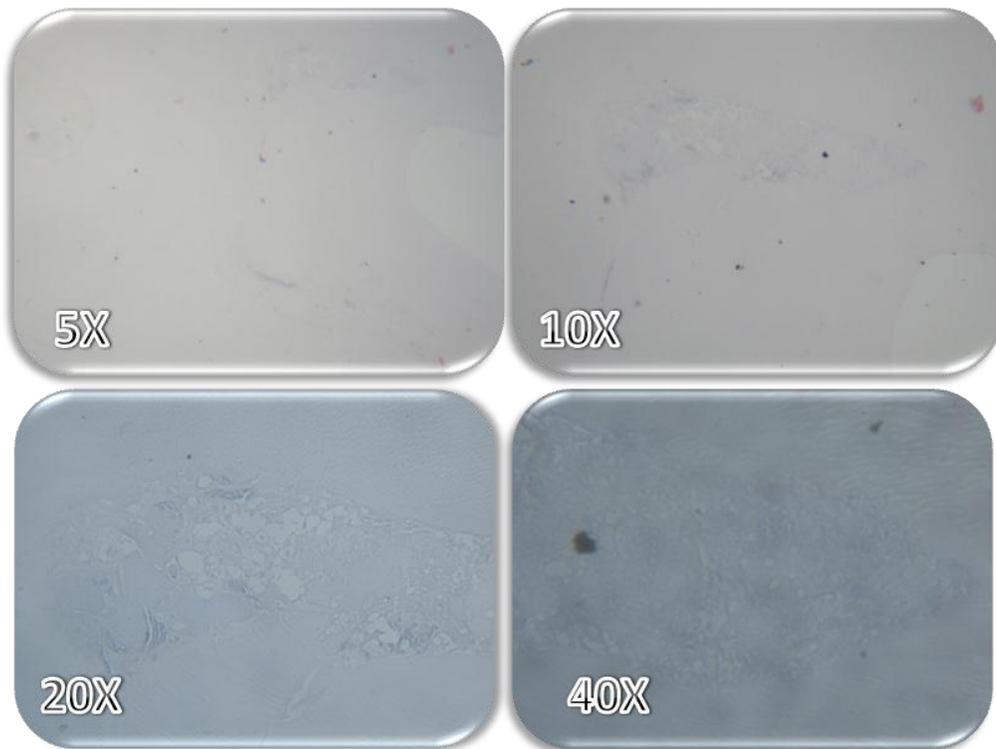


Fig. 5. Técnica de Brown and Brenn negativa, no hay presencia de bacterias en el tejido pulpar.

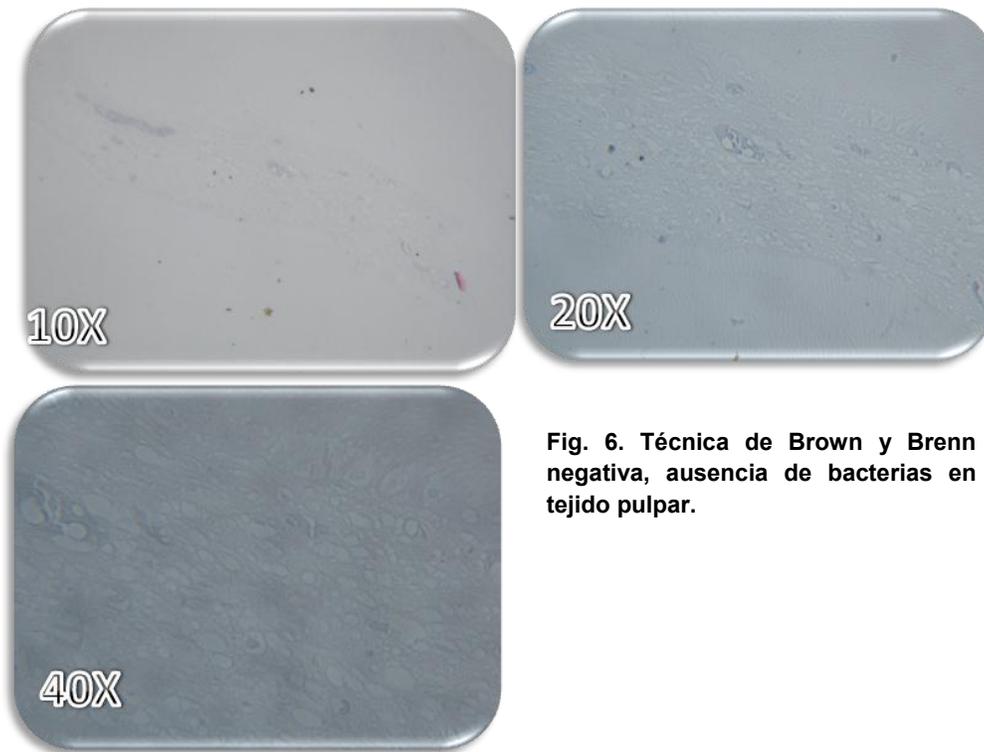


Fig. 6. Técnica de Brown y Brenn negativa, ausencia de bacterias en tejido pulpar.

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

5. Completo.

Morfología

5. Dentina de reparación o dentina de reparación y tejido duro irregular.

Grosor

5. Más de 250 μm .

Localización

5. Puente que alcanza la pared dentinal opuesta.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico).

5. Leve: número promedio menor a 10 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

5. Moderada: se observan células inflamatorias en parte de la pulpa cameral.

Estado general de la pulpa

5. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

5. Moderado

Presencia de microorganismos

3. Ausencia.

GRUPO CONTROL 1B (GC1B).

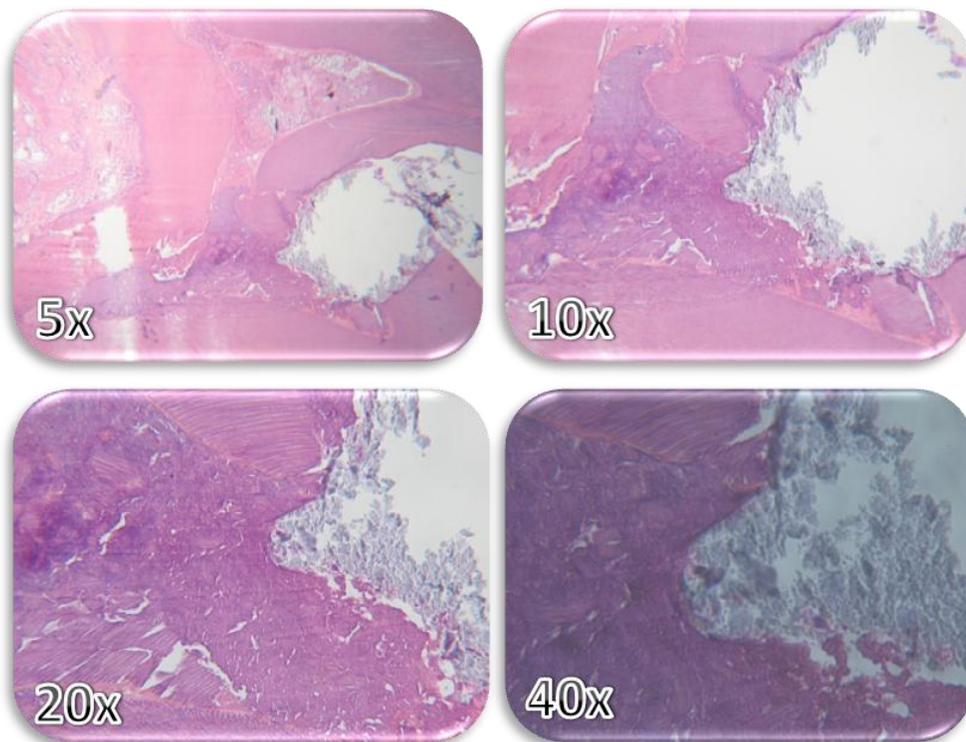


Fig. 7. Corte histológico de molar de rata teñido con HyE: a 5X se aprecia la cavidad preparada con motor para endodoncia, con comunicación a la cámara pulpar cubierta con material de quitosán sobre el tejido pulpar no muestra reacción inflamatoria. A 10X y 20X se ve el sellado que se obtuvo con el quitosán a las paredes dentinarias de la cavidad. A 40X se observa la colonización bacteriana sobre el material, sin penetración al tejido pulpar.

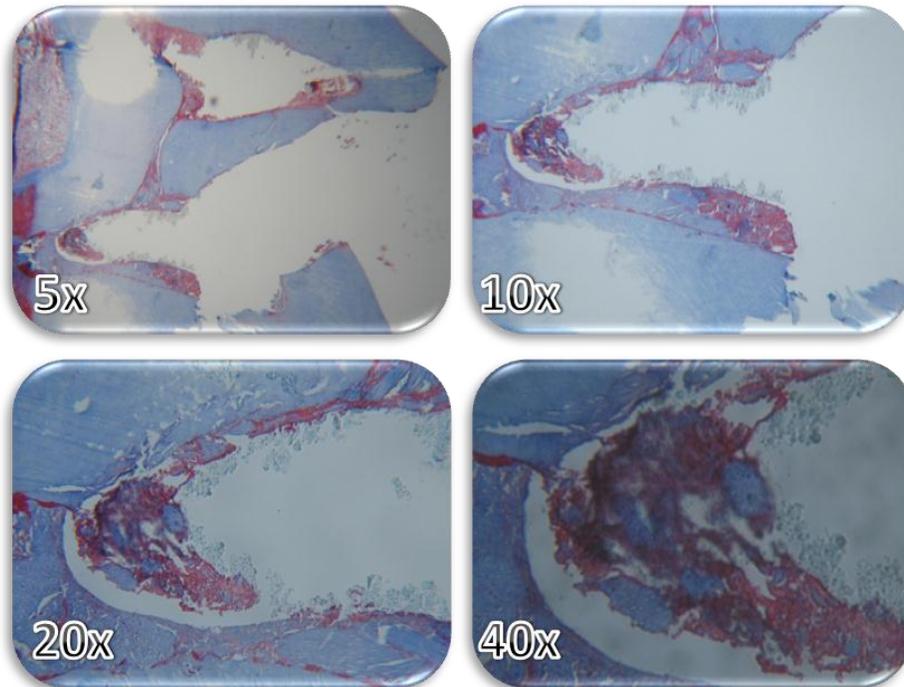


Fig. 8. Corte histológico de molar de rata teñido con Tricrómica de Masson: a los diferentes aumentos no se aprecia la formación de puente de tejido duro, únicamente una deposición lateral de éste, y se observa el material de quitosán y su sellado a las paredes dentinarias.

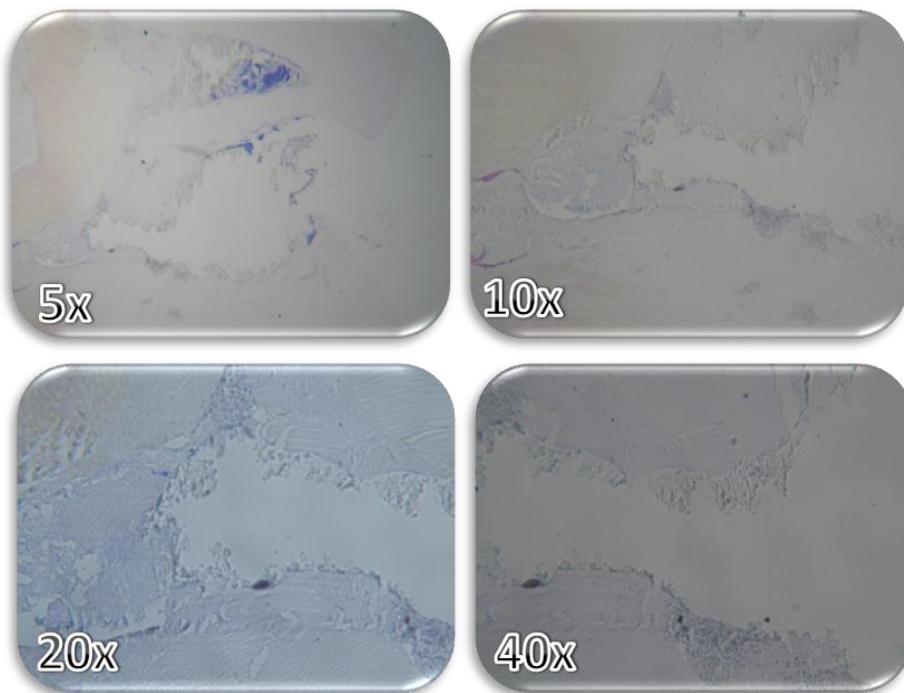


Fig. 9. GC1A. Cortes histológicos teñidos con Brown y Brenn en donde se corrobora a los diferentes aumentos que no existe colonización del tejido pulpar por parte de bacterias.

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad.

3. Parcial únicamente deposición lateral de tejido duro en las paredes de la cavidad del sitio expuesto.

Morfología.

2. Únicamente deposición de tejido duro irregular.

Grosor.

4. Puente ausente o parcial.

Localización.

4. Sin puente o únicamente deposición de tejido duro en las paredes del sitio expuesto.

Pulpa dental.

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

1. Ausencia o unas cuantas células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

1. Ausencia.

Estado general de la pulpa.

1. Sin reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

1. Ausencia

Presencia de microorganismos

1. Ausencia.

GRUPO CONTROL 2A (GC2A).

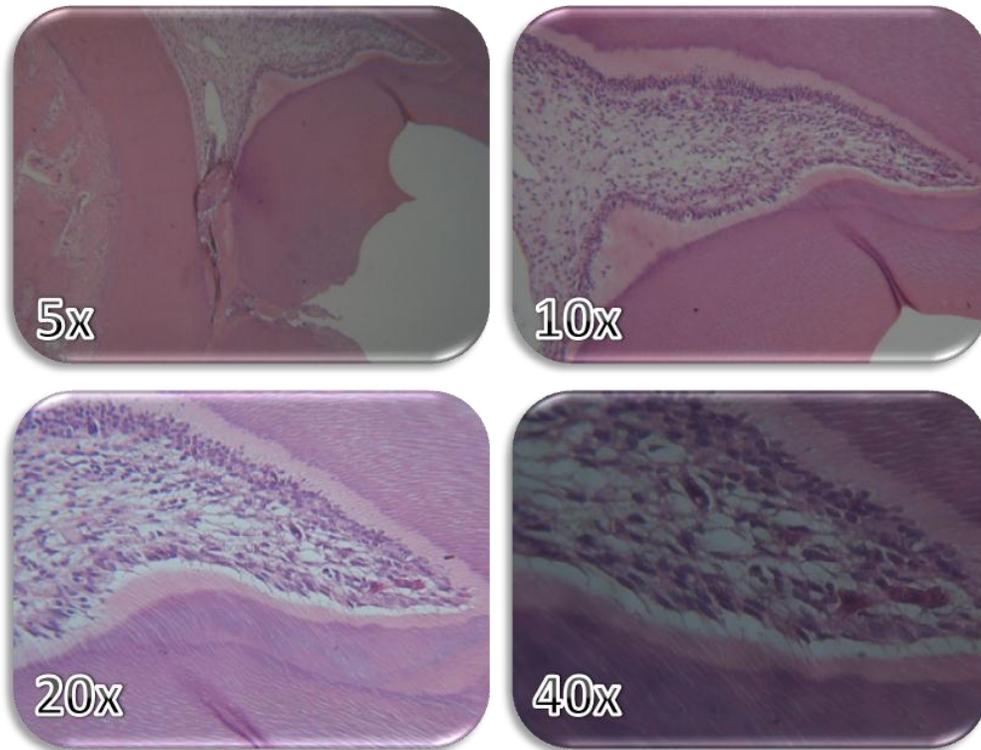


Fig. 10. En los cortes histológicos de HyE se aprecia la comunicación pulpar (5X) y la respuesta inflamatoria leve en el tejido pulpar con células linfo-plasmocitarias dispersas en el estroma de tejido conjuntivo fibroso denso, incremento de la vascularidad, aumento del grosor de la dentina de reparación e hiperplasia de la capa odontoblástica (10X, 20X y 40X).

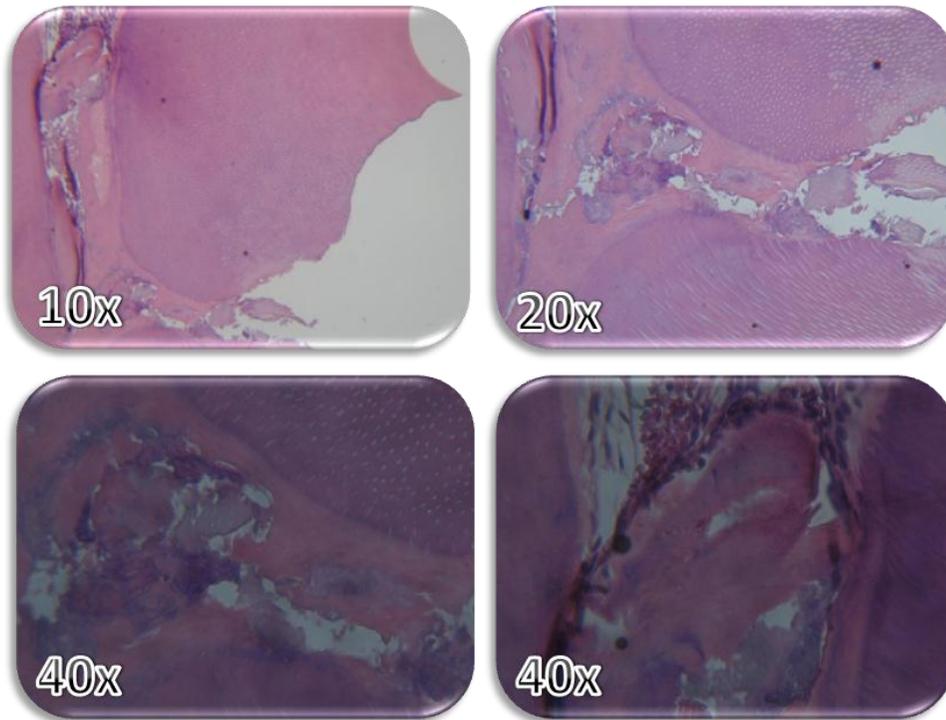


Fig. 11. En la fotomicrografía se aprecia la zona de comunicación del exterior con el tejido pulpar, la pérdida de la continuidad, tejido necrótico, el material de recubrimiento a base de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se aprecia mezclado con bacterias, lo que se puede inferir que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ permitió la proliferación y profundización de las colonias bacterianas invadiendo la pulpa cameral (10X, 20X, y 40X).

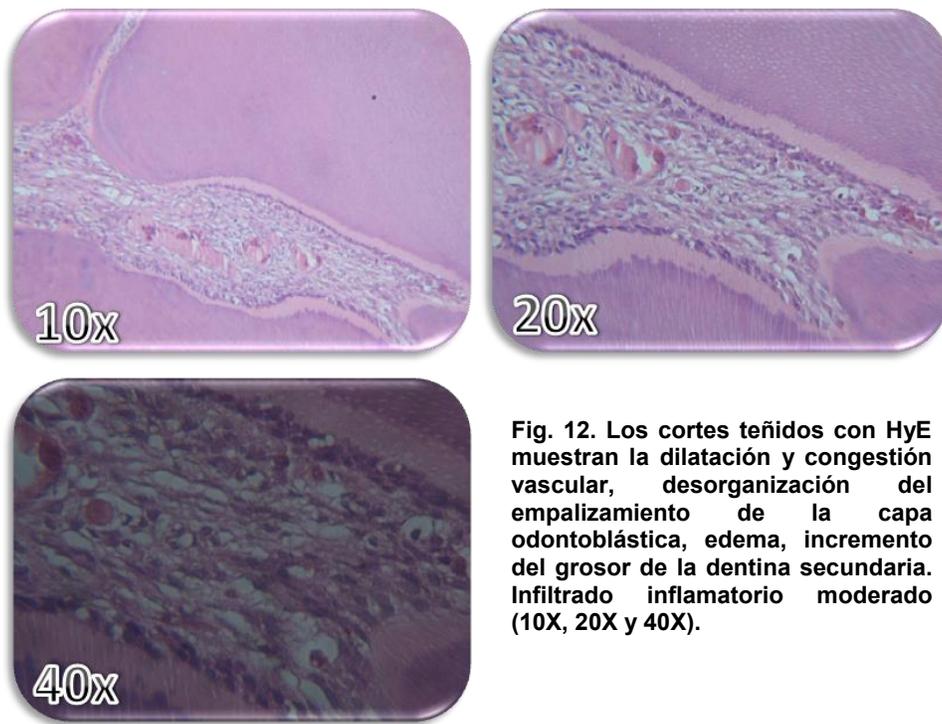


Fig. 12. Los cortes teñidos con HyE muestran la dilatación y congestión vascular, desorganización del empalme de la capa odontoblástica, edema, incremento del grosor de la dentina secundaria. Infiltrado inflamatorio moderado (10X, 20X y 40X).

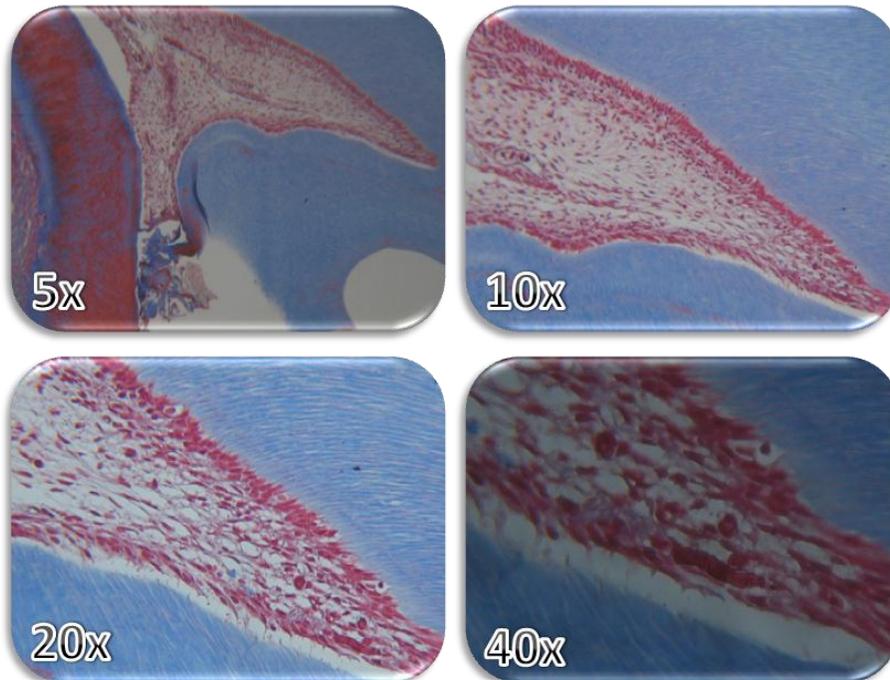


Fig. 13. Tinción de tricrómica de Masson, a 5X se observa el sitio de comunicación, la presencia del material de recubrimiento y la respuesta inflamatoria que se extiende al cuerno pulpar (10X y 20X), con infiltrado inflamatorio leve, el estroma es fibroso laxo, con edema, fibroblastos activos, de núcleos estrellados (40X), los odontoblastos con pérdida de la organización de la capa.

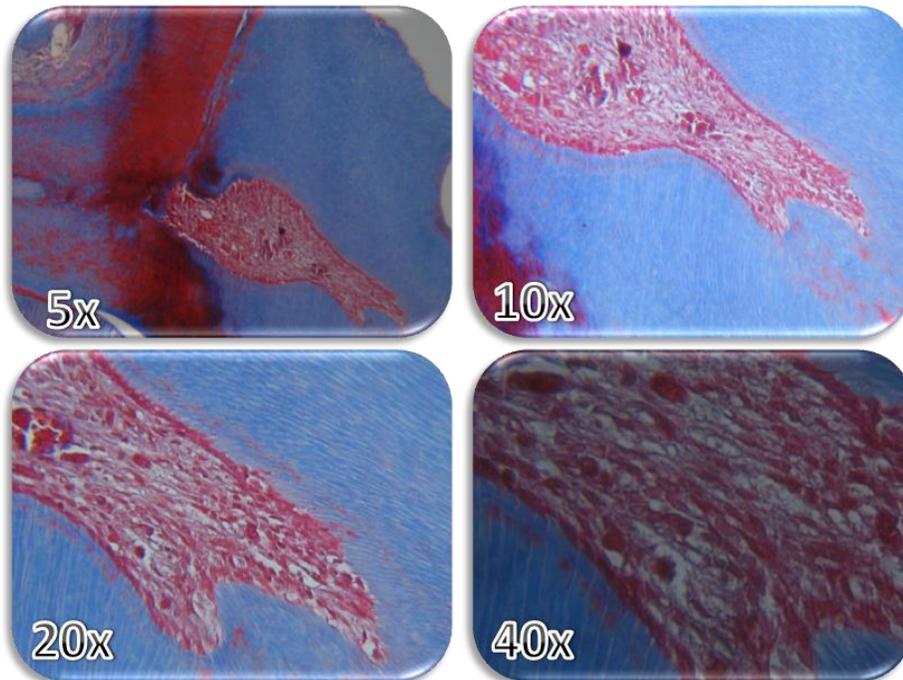


Fig. 14. El infiltrado inflamatorio es moderado, con lisis de fibras colágenas (5X y 10X), vacuolización, pérdida de la organización de la capa odontoblástica, congestión vascular (20X), daño en el citoplasma de la prolongación odontoblástica (40X) quedando atrapado en el túbulo dentinario.

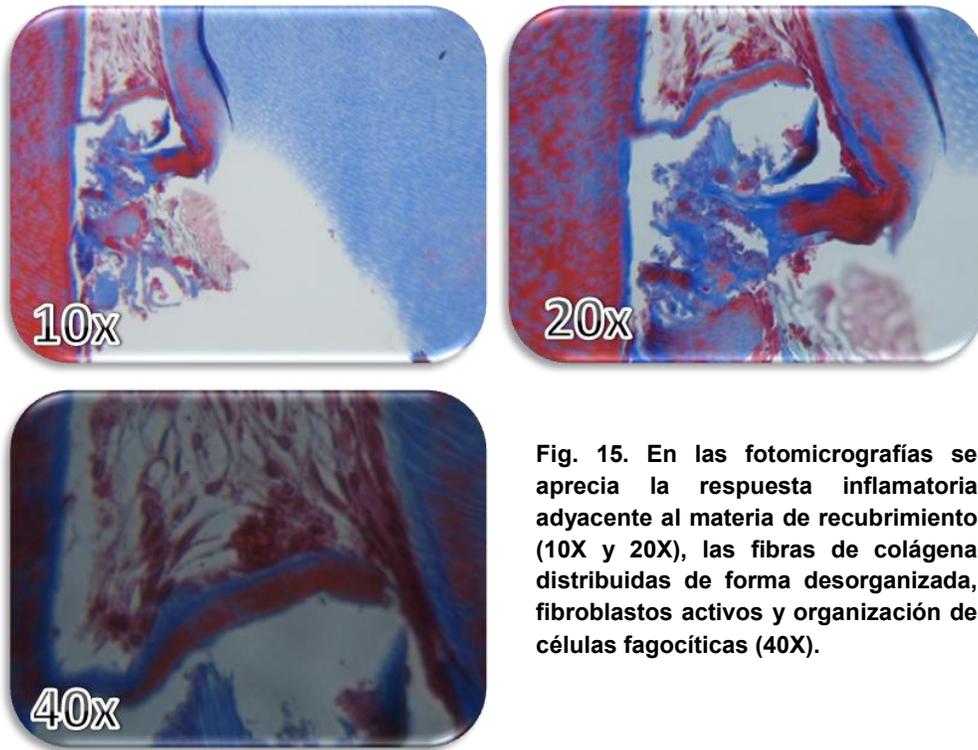


Fig. 15. En las fotomicrografías se aprecia la respuesta inflamatoria adyacente al materia de recubrimiento (10X y 20X), las fibras de colágena distribuidas de forma desorganizada, fibroblastos activos y organización de células fagocíticas (40X).

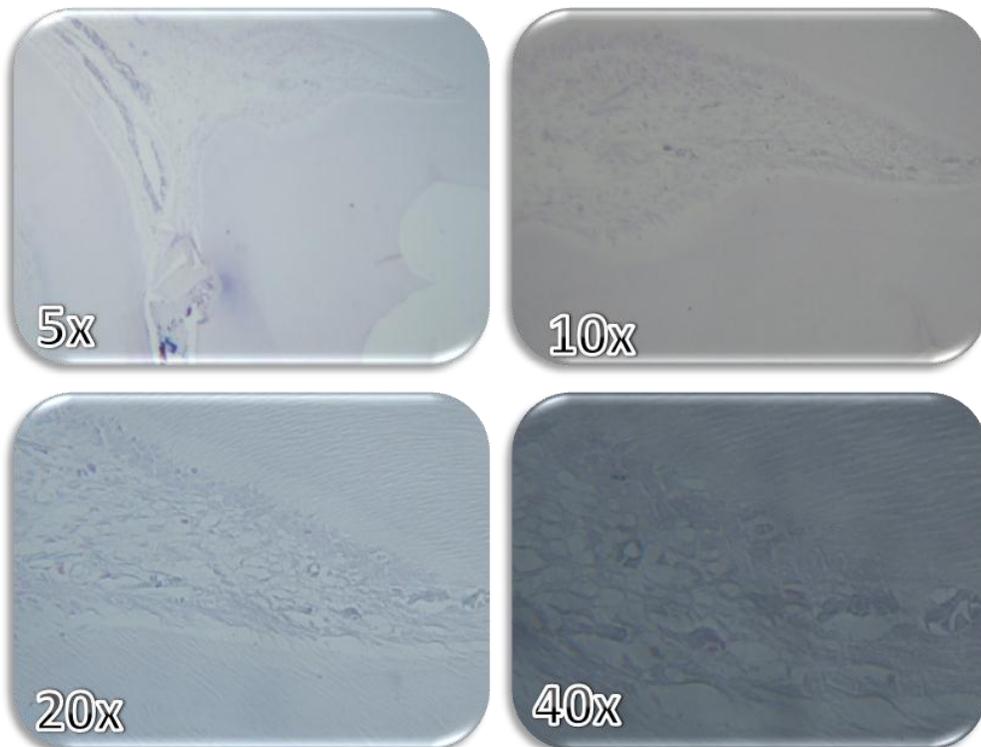


Fig. 16. Con Brown y Brenn, la presencia de microorganismos es de escasa a negativa, en la pulpa distal.

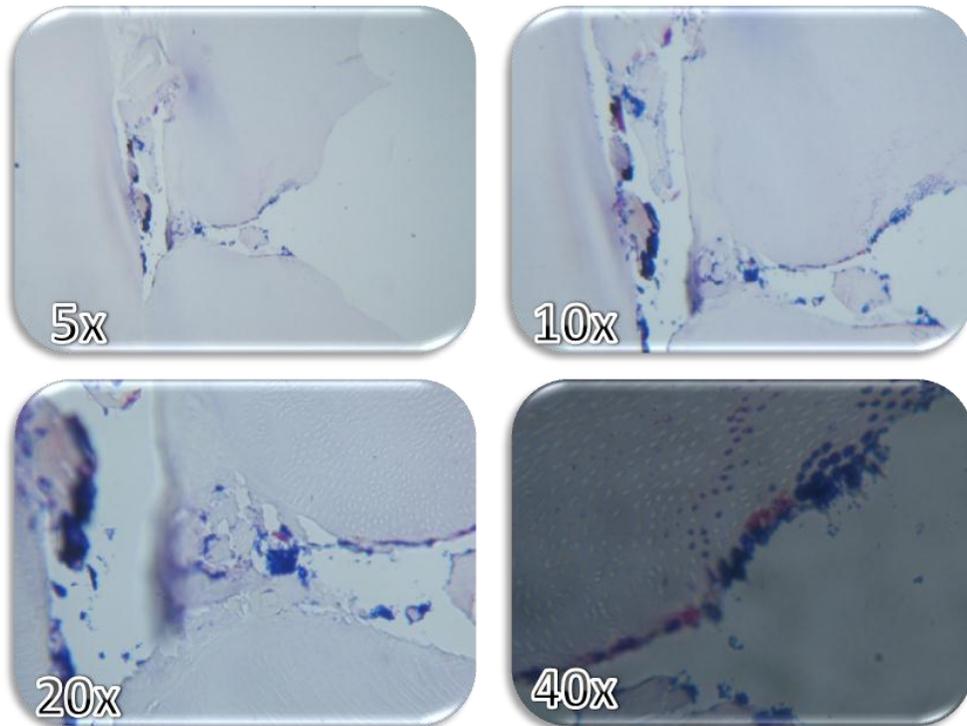


Fig. 17. En tanto que en estas fotomicrografías es moderada la presencia de bacterias sobre la superficie dentinaria y sobre el material de recubrimiento (5X y 10X), localizado en el tejido pulpar que está más cerca del sitio de la perforación del techo pulpar (20X y 40x)

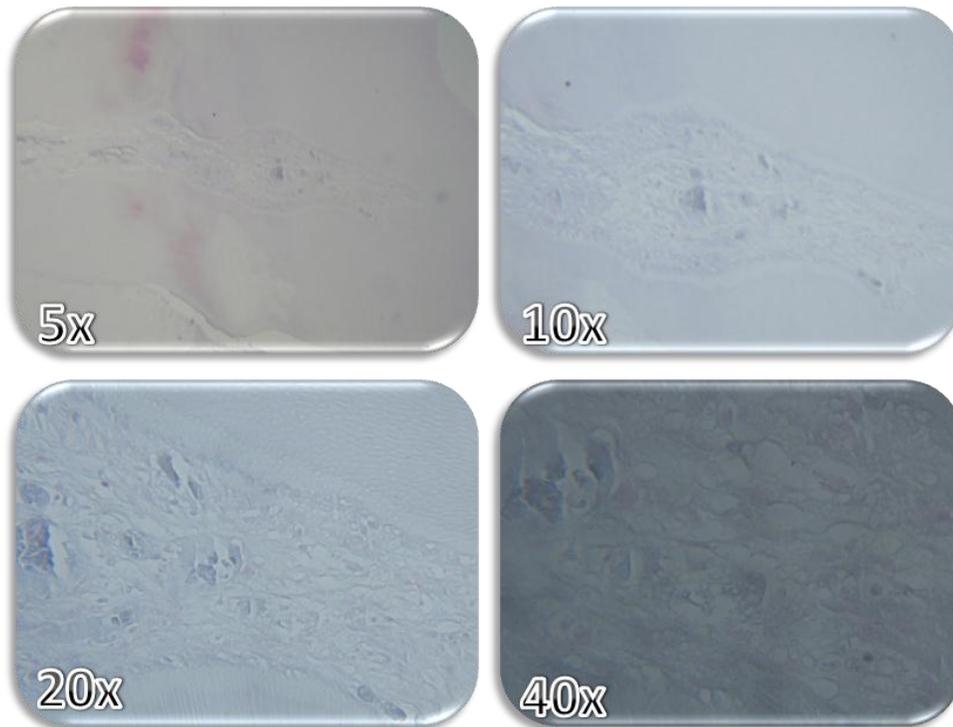


Fig. 18. En otro corte del tejido pulpar no existió la presencia de bacterias, visto a diferentes aumentos con la tinción de Brown y Brenn.

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad.

2. Parcial con pequeña comunicación del material de recubrimiento con la pulpa dental.

Morfología.

1. Dentina de reparación o dentina de reparación y tejido duro irregular.

Grosor.

3. De 1 a 149 μm .

Localización.

2. Puente invadiendo el espacio pulpar a un lado de la pared dentinal opuesta.

Pulpa dental.

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

3. Moderada: número promedio de 10-25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

4. Severa: toda la pulpa cameral se encuentra infiltrada o necrosada.

Estado general de la pulpa

2. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

3. Moderado

Presencia de microorganismos

1. Ausencia.

GRUPO CONTROL 2B (GC2B)

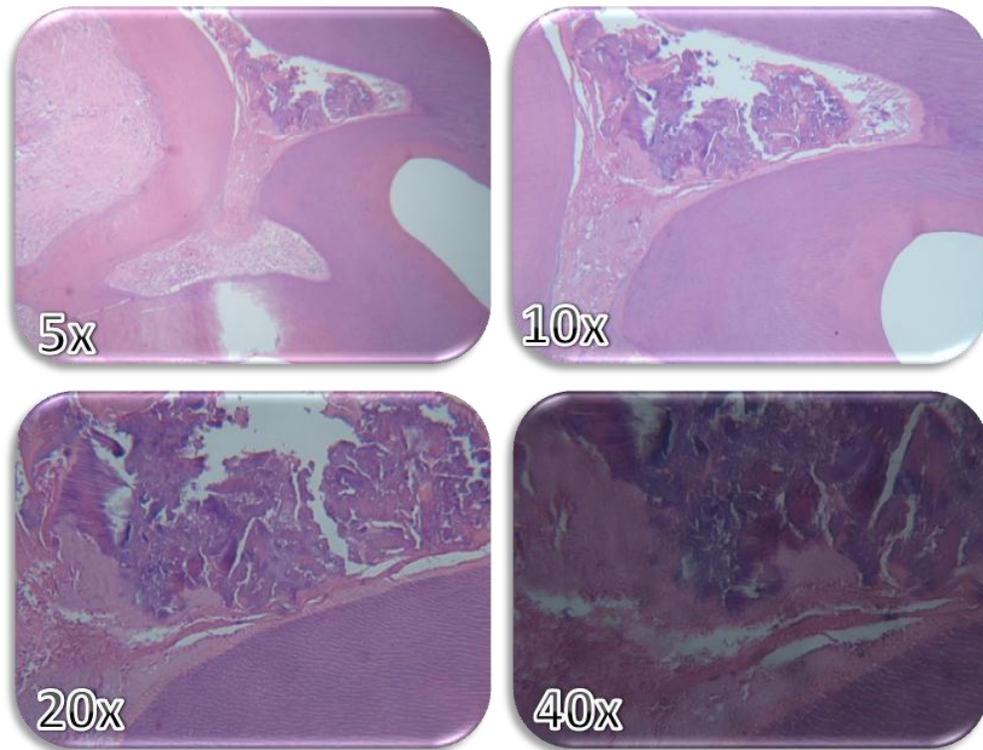


Fig. 19. Estas fotomicrografías de corte dental teñido con HyE, a 5X se aprecia el material de recubrimiento a base de quitosán (5X, 10X), en donde se ve la pérdida de la conformación del material y contaminación del mismo (40X)

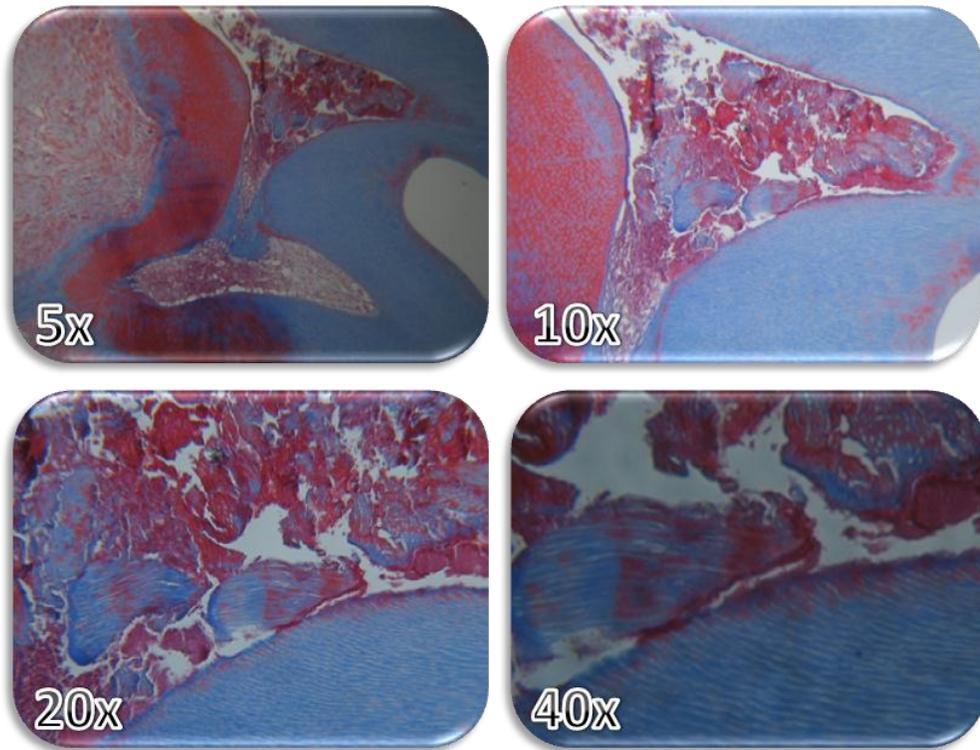


Fig. 20. Con tricrómica de Masson se aprecia el material mezclado con material orgánico propio del tejido pulpar (5X), aparentemente no se aprecia el sellado del material a las paredes de la dentina (10X y 20X), es posible que dicho producto sufriera un colapso y con ello la mezcla de la materia orgánica. (40X), aparente engrosamiento de las prolongaciones odontoblasticas que están atrapadas en los túbulos dentinarios.

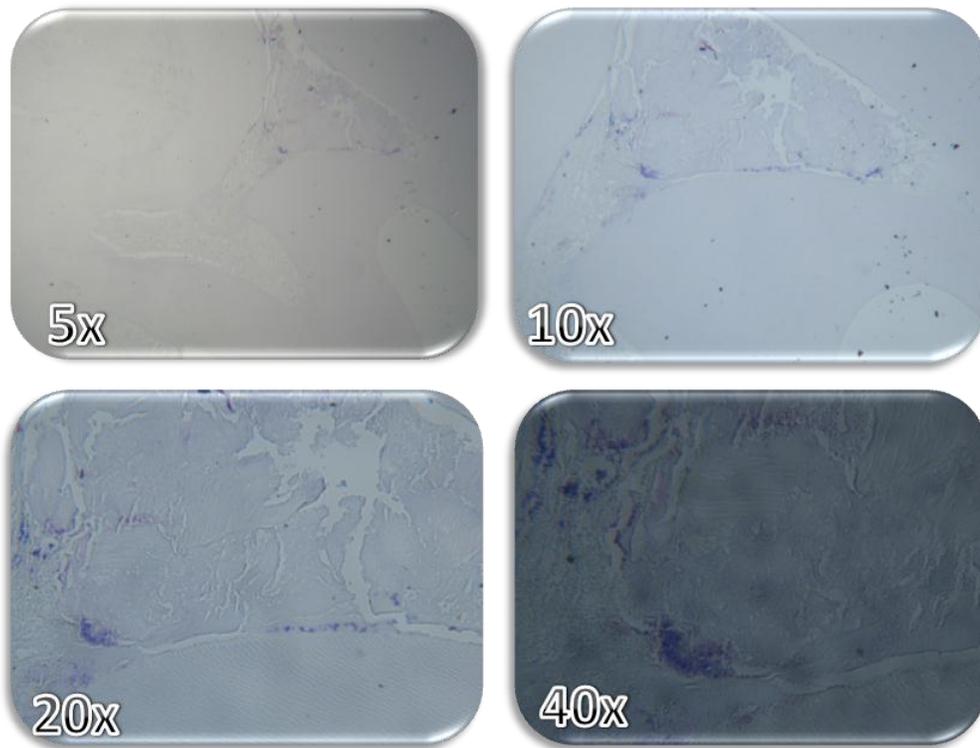


Fig. 21. Con la tinción de Brown y Brenn se aprecian colonias bacterianas dispersas en el tejido pulpar adyacente al sitio de la comunicación pulpar.

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

1. Completo.

Morfología

1. Dentina de reparación o dentina de reparación y tejido duro irregular.

Grosor

3. De 1 a 149 μm .

Localización

2. Puente invadiendo el espacio pulpar a un lado de la pared dentinal opuesta.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

3. Moderada: número promedio de 10-25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

4. Severa: toda la pulpa cameral se encuentra infiltrada o necrosada.

Estado general de la pulpa

2. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

3. Moderado

Presencia de microorganismos

2. Presencia.

GRUPO CONTROL 3A (GC3A)

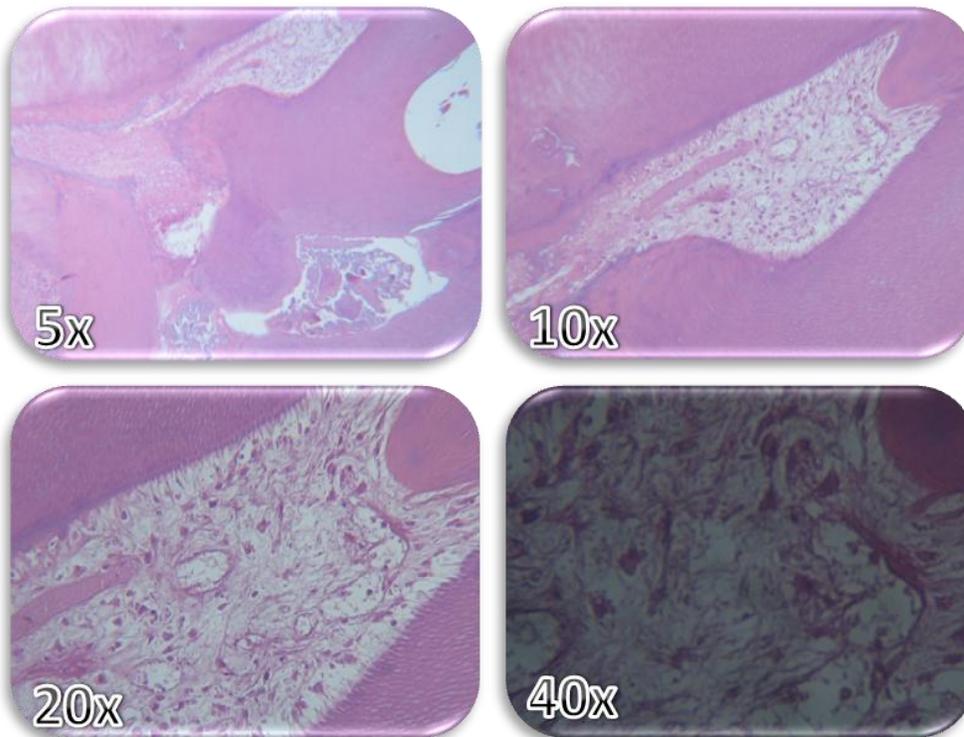


Fig. 22. A 5X se aprecia el material de recubrimiento a base de Ca(OH)_2 , la desorganización del estroma del tejido pulpar, A 10X se ve el incremento de vasos sanguíneos y congestión. A 20X el tejido pulpar tiene fibroblastos con núcleos picnóticos, edema, vacuolización del citoplasma del odontoblasto y pérdida de su organización. A 40X los odontoblastos muestran citoplasma eosinófilo claro, núcleo picnótico y sin contorno citoplasmático.

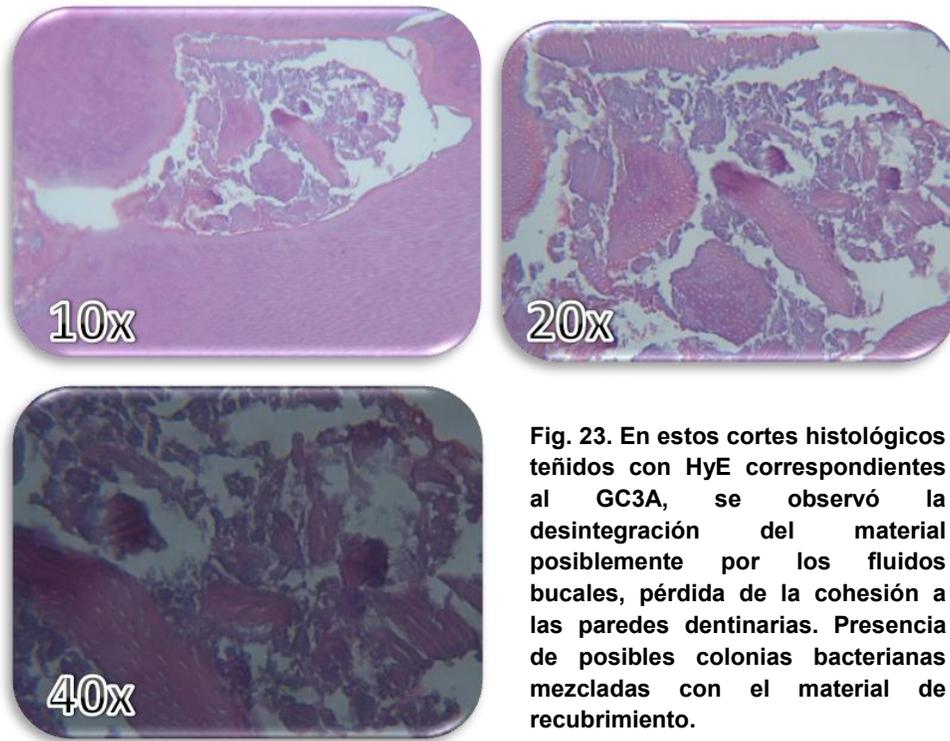


Fig. 23. En estos cortes histológicos teñidos con HyE correspondientes al GC3A, se observó la desintegración del material posiblemente por los fluidos bucales, pérdida de la cohesión a las paredes dentinarias. Presencia de posibles colonias bacterianas mezcladas con el material de recubrimiento.

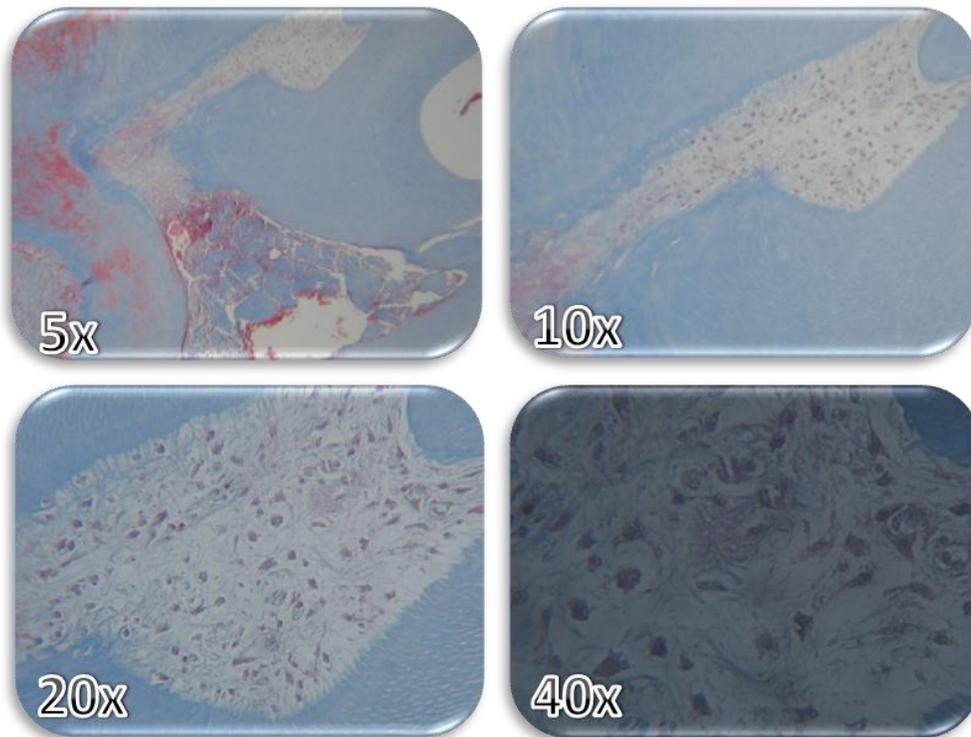


Fig. 24. En estos cortes teñidos con tricrómica de Masson se corrobora lo observado con HyE.

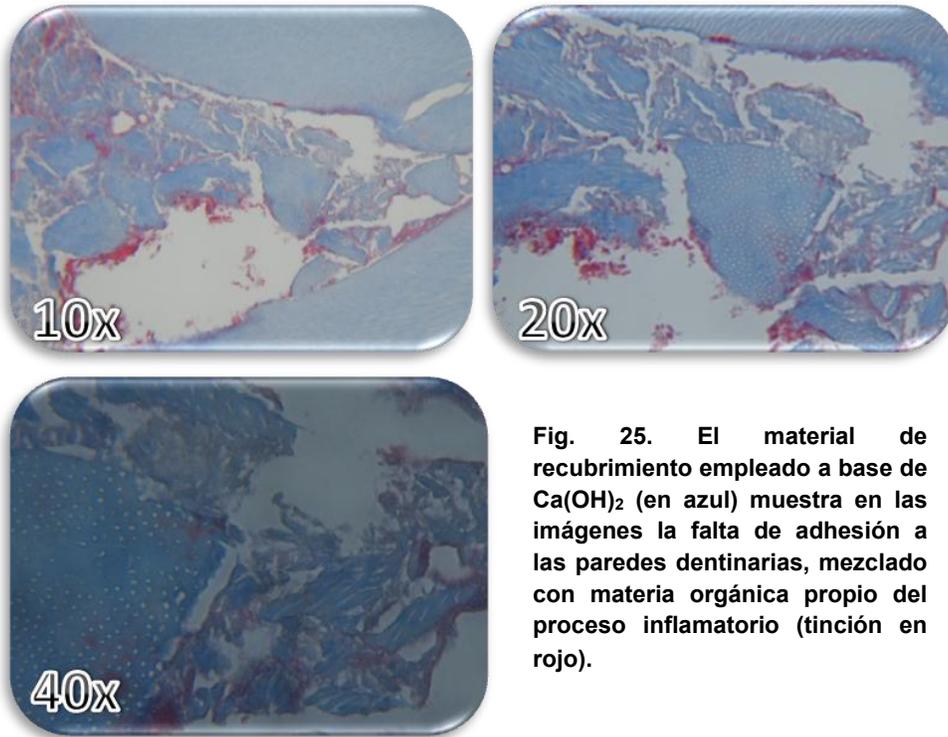


Fig. 25. El material de recubrimiento empleado a base de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (en azul) muestra en las imágenes la falta de adhesión a las paredes dentinarias, mezclado con materia orgánica propio del proceso inflamatorio (tinción en rojo).

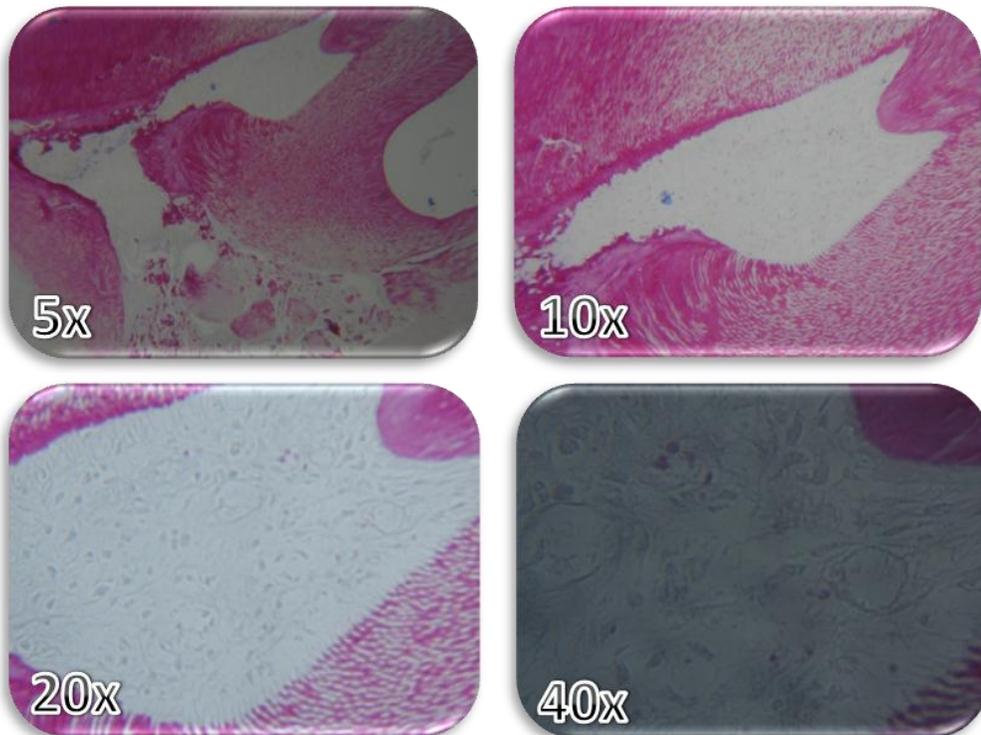


Fig. 26. La tinción de Brown y Brenn muestra reacción positiva intensa en las paredes de los túbulos dentinarios y muy leve o escaso en el tejido pulpar.

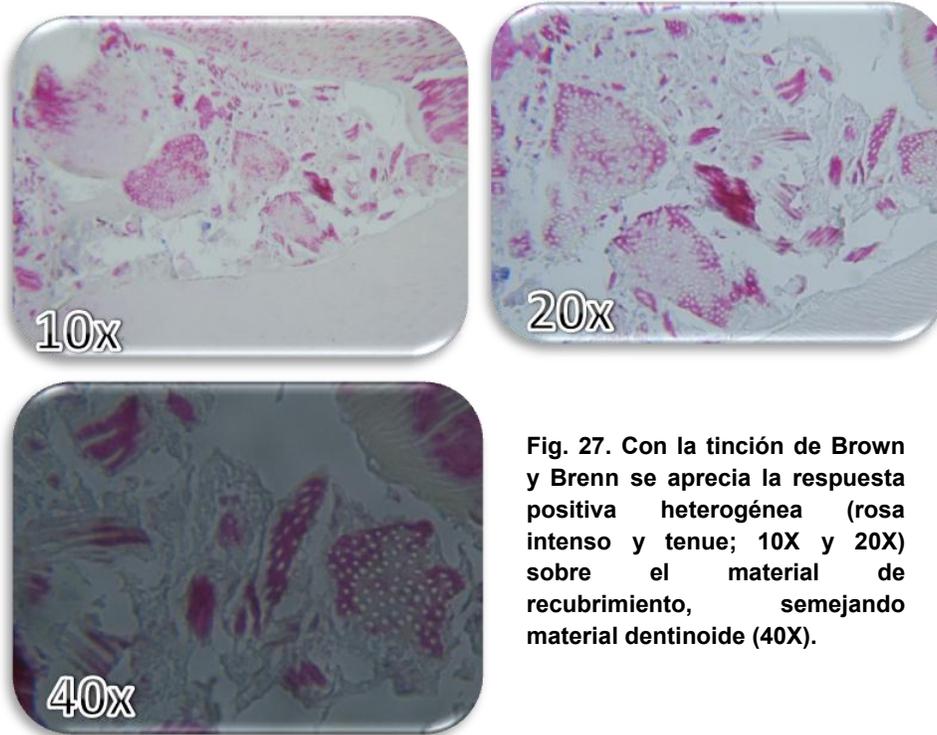


Fig. 27. Con la tinción de Brown y Brenn se aprecia la respuesta positiva heterogénea (rosa intenso y tenue; 10X y 20X) sobre el material de recubrimiento, semejando material dentinoide (40X).

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

2. Parcial con pequeña comunicación del material de recubrimiento con la pulpa dental.

Morfología

2. Únicamente deposición de tejido duro irregular.

Grosor

3. De 1 a 149 μm .

Localización

4. Sin puente o únicamente deposición de tejido duro en las paredes del sitio expuesto.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

4. Severa: número promedio mayor a 25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

4. Severa: toda la pulpa cameral se encuentra infiltrada o necrosada.

Estado general de la pulpa

4. Necrosis.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

4. Gran número o necrosis pulpar.

Presencia de microorganismos

1. Ausencia.

GRUPO CONTROL 3B (GC3B)

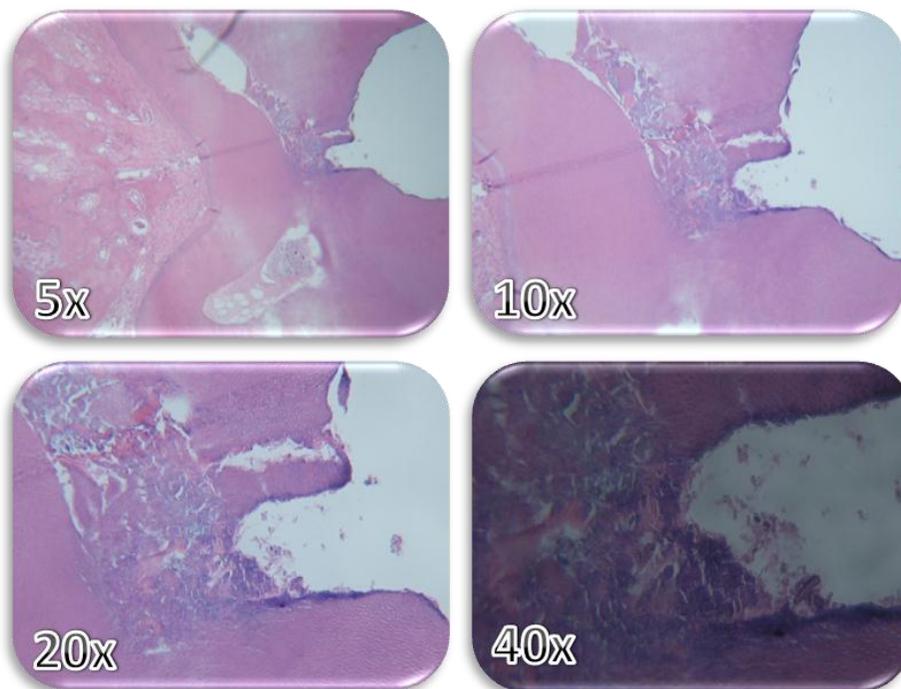


Fig. 28. En las fotomicrografías se aprecia la adhesión del material a base de quitosán a las paredes dentinarias a los 60 días.

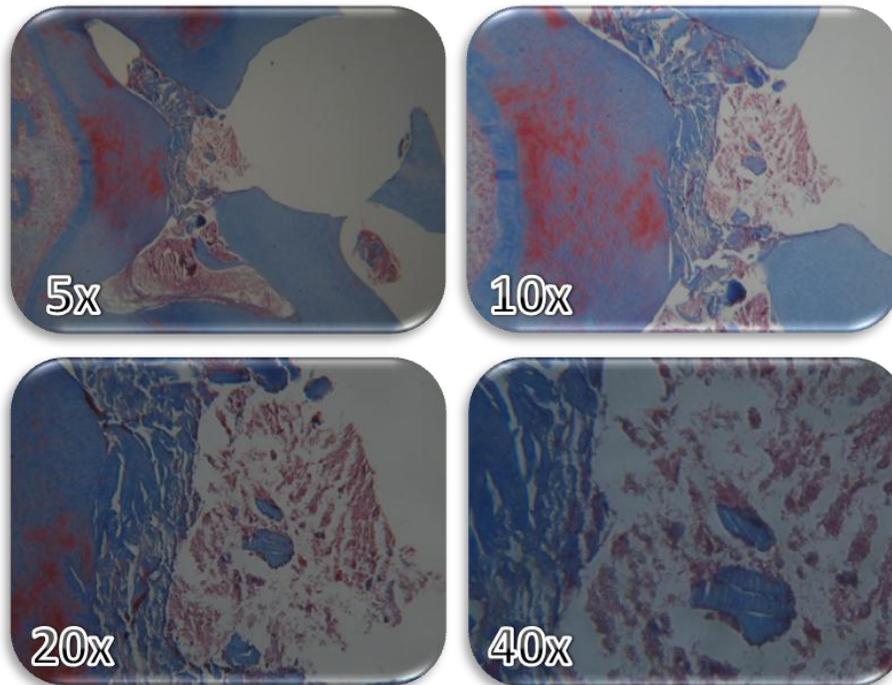


Fig. 29. En estos cortes teñidos con Tricrómica de Masson se nota la adhesión del material de quitosán a las paredes dentinaria y la presencia de materia orgánica como resultado del proceso inflamatorio, en menor proporción que con el Ca(OH)_2 .

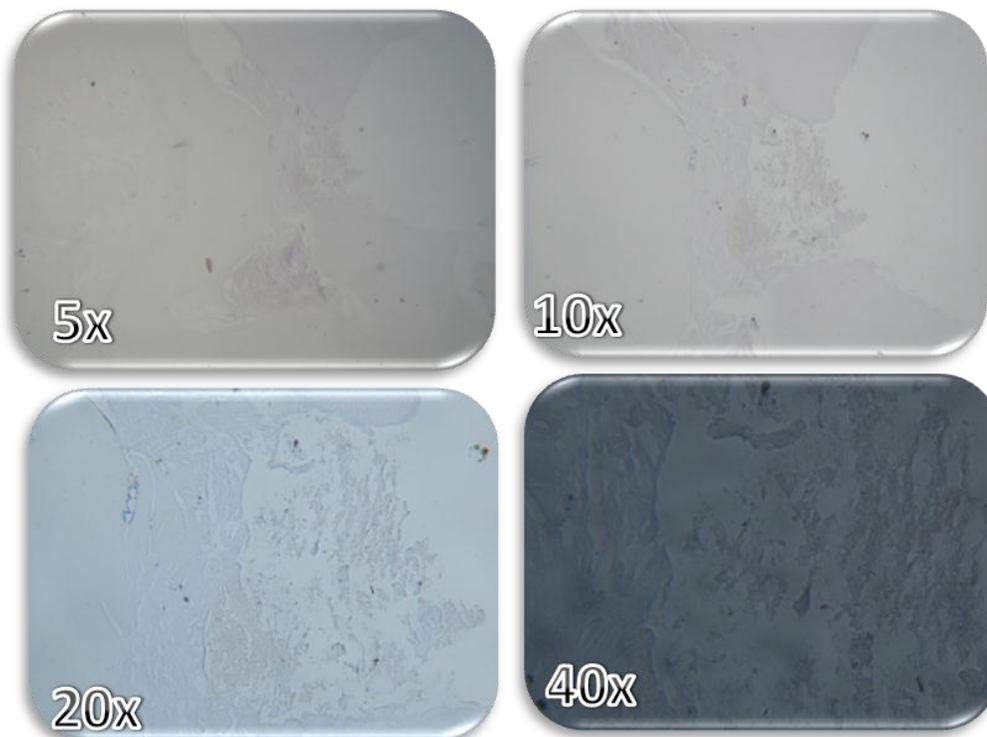


Fig. 30. Con la tinción de Brown y Brenn la respuesta a la presencia de microorganismos es escasa o nula, lo que permite comprender el efecto bactericida de él (60 días).

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

2. Parcial con pequeña comunicación del material de recubrimiento con la pulpa dental.

Morfología

2. Únicamente deposición de tejido duro irregular.

Grosor

1. Más de 250 μm .

Localización

3. Puente que alcanza la pared dentinal opuesta.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

2. Leve: número promedio menor a 10 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

3. Moderada: se observan células inflamatorias en parte de la pulpa cameral.

Estado general de la pulpa

2. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

4. Gran número o necrosis pulpar.

Presencia de microorganismos

1. Ausencia.

GRUPOS EXPERIMENTALES.

GRUPO EXPERIMENTAL 1A (GE1A)

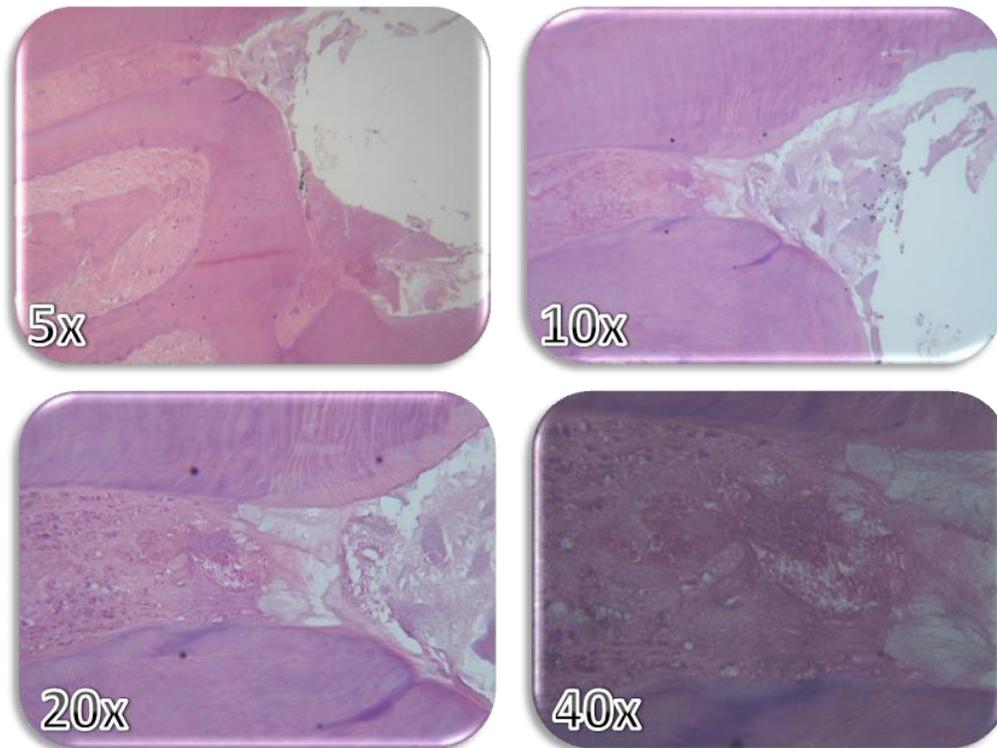


Fig. 31. Corte histológico teñido con HyE, con material de Ca(OH)_2 , se observa la respuesta inflamatoria, moderada, aguda, a los 8 días de haberlo colocado, se puede ver la disolución del material, la pobre adhesión a las paredes.

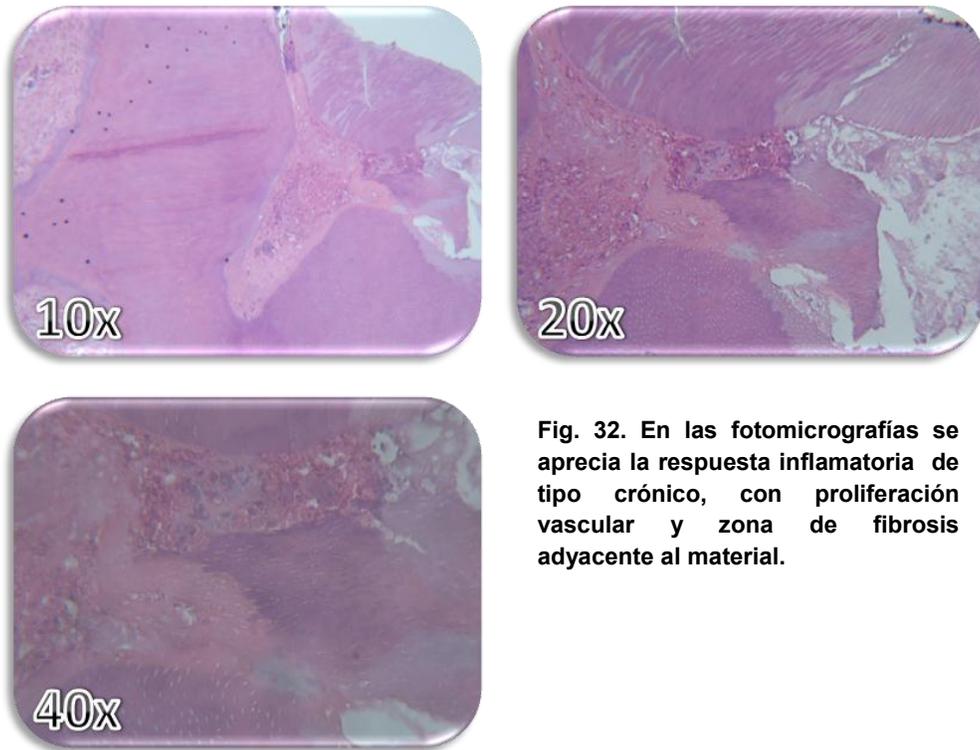


Fig. 32. En las fotomicrografías se aprecia la respuesta inflamatoria de tipo crónico, con proliferación vascular y zona de fibrosis adyacente al material.

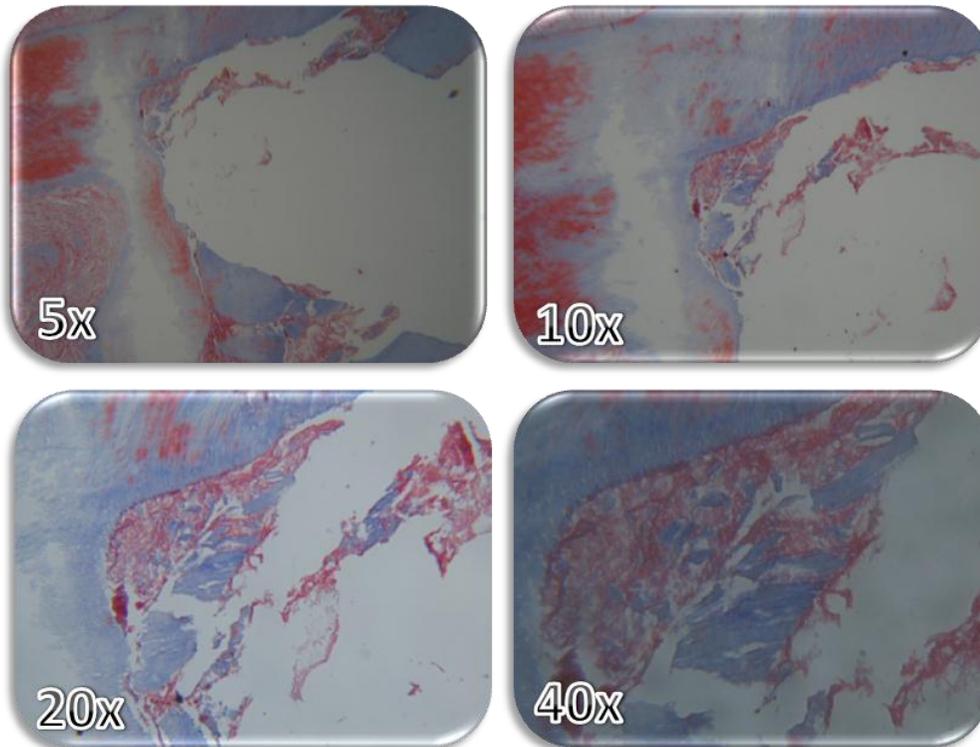


Fig. 33. Con tricrómica de Masson es evidente la falta de adhesión a las paredes (azul) y la mezcla del hidróxido de calcio con materia orgánica (rojo), la desorganización y pérdida de la capa odontoblástica.

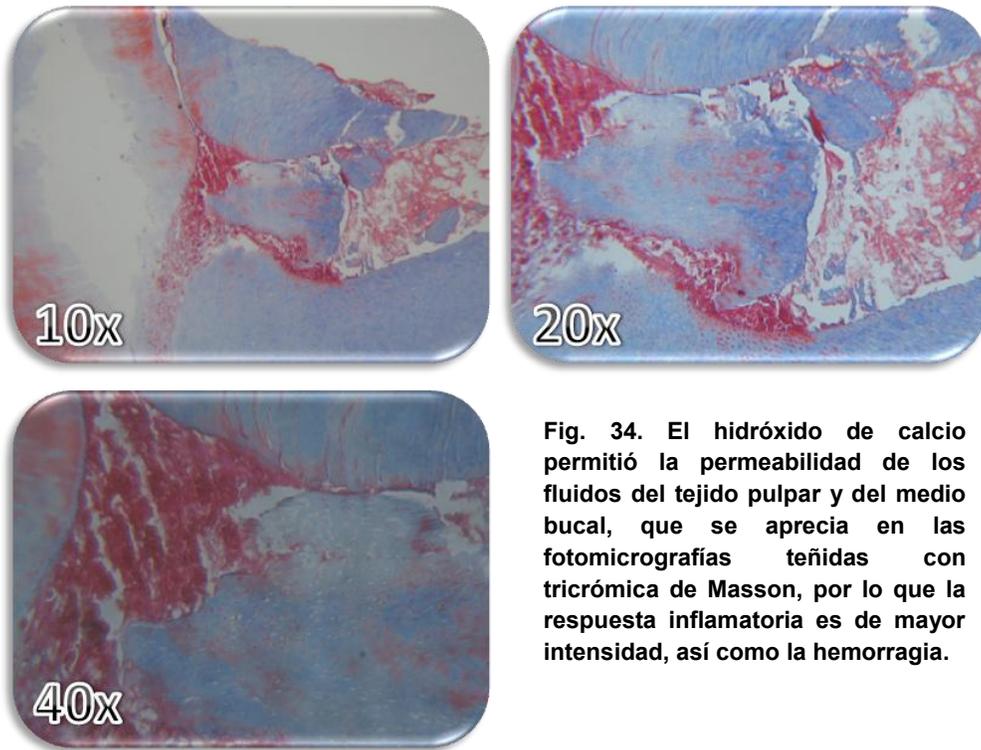


Fig. 34. El hidróxido de calcio permitió la permeabilidad de los fluidos del tejido pulpar y del medio bucal, que se aprecia en las fotomicrografías teñidas con tricrómica de Masson, por lo que la respuesta inflamatoria es de mayor intensidad, así como la hemorragia.

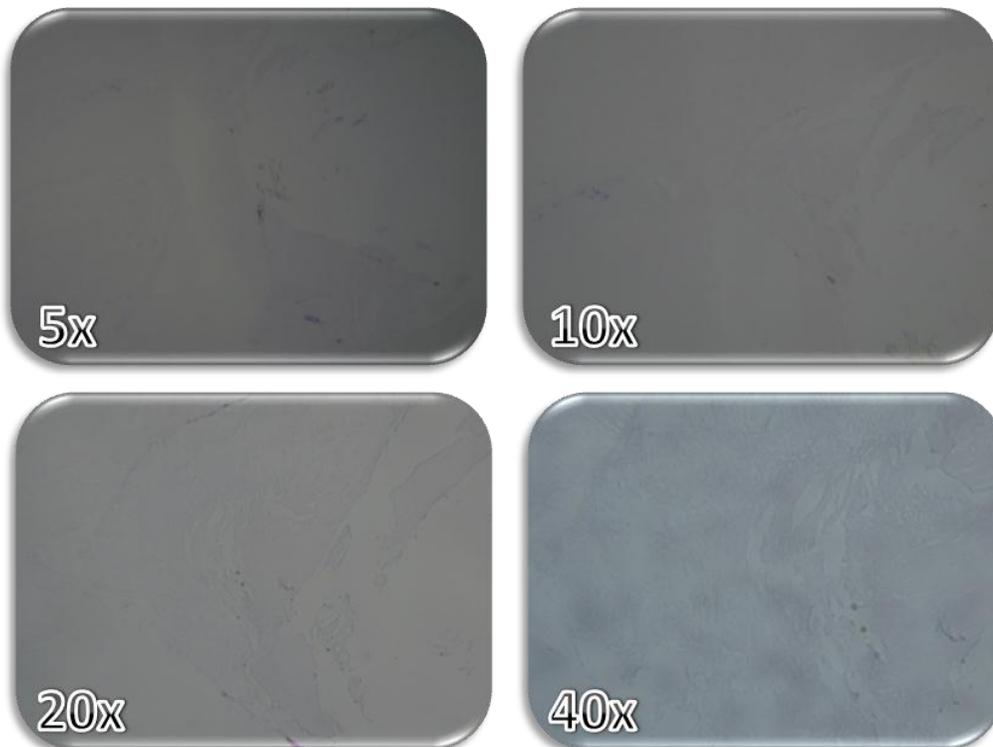


Fig. 35. Con la tinción de Brown y Brenn en la zona sin respuesta inflamatoria abundante, la presencia de bacterias es escasa.

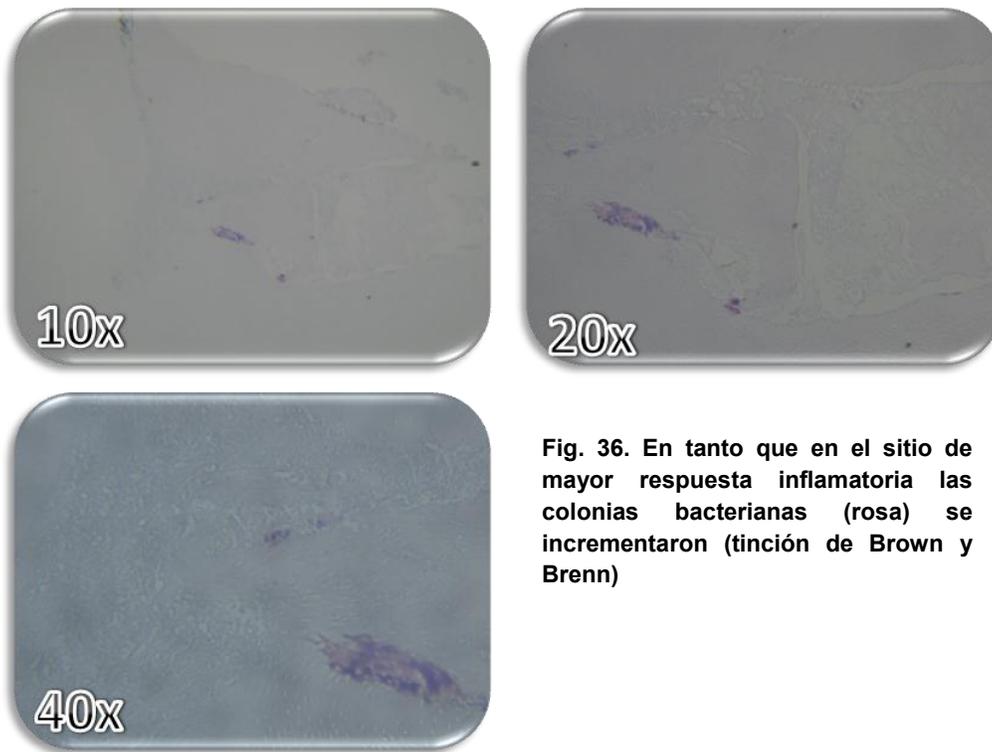


Fig. 36. En tanto que en el sitio de mayor respuesta inflamatoria las colonias bacterianas (rosa) se incrementaron (tinción de Brown y Brenn)

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

3. Parcial únicamente deposición lateral de tejido duro en las paredes de la cavidad del sitio expuesto.

Morfología

2. Únicamente deposición de tejido duro irregular.

Grosor

4. Puente ausente o parcial.

Localización

4. Sin puente o únicamente deposición de tejido duro en las paredes del sitio expuesto.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

3. Moderada: número promedio de 10-25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

3. Moderada: se observan células inflamatorias en parte de la pulpa cameral.

Estado general de la pulpa

2. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

3. Moderado

Presencia de microorganismos

2. Presencia.

GRUPO EXPERIMENTAL 1B (GE1B)

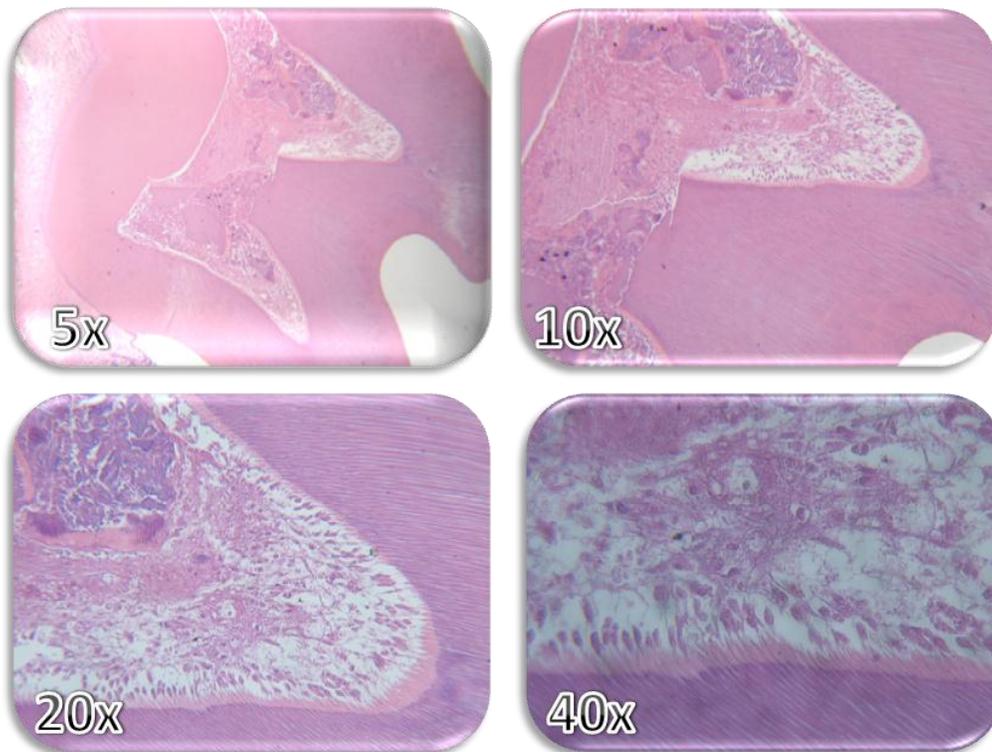


Fig. 37. A los 8 días de haber colocado el material a base de quitosán, la respuesta inflamatoria fue leve (5X y 10X) con fibroblastos activos, áreas de necrosis (20X) la capa odontoblastica se encontró desorganizada pero con los odontoblastos cilíndricos y sus prolongaciones dentro de los túbulos dentinarios (40X; tinción HyE).

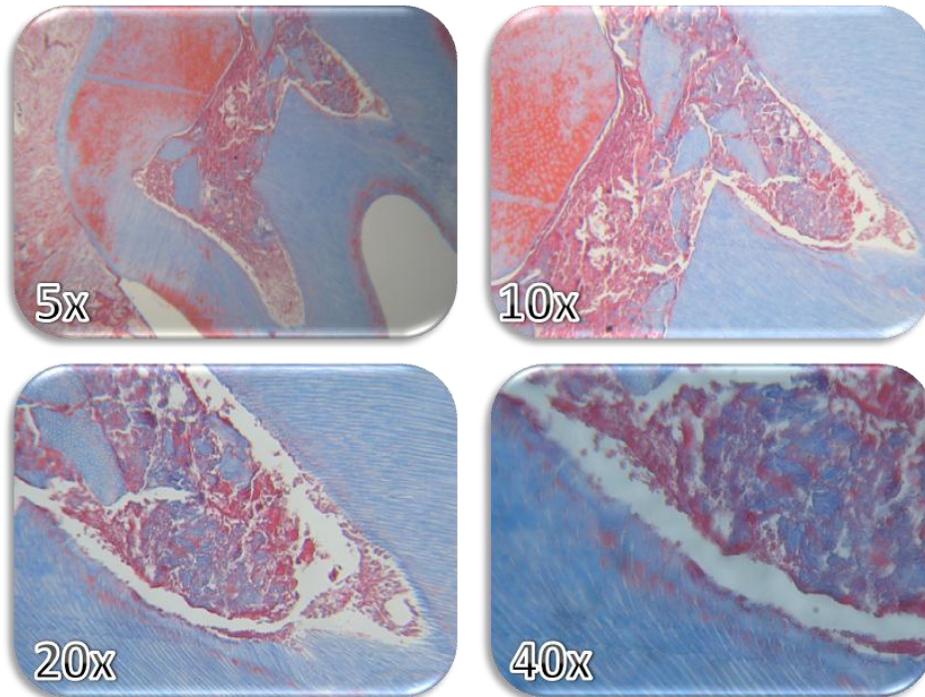


Fig. 38. La tinción de tricrómica de Masson permite ver la adhesión del material de quitosán a las paredes dentinarias (5X y 10X), la respuesta inflamatoria moderada, la mezcla de materia orgánica (rojo) con el quitosán (azul; 20X y 40X).

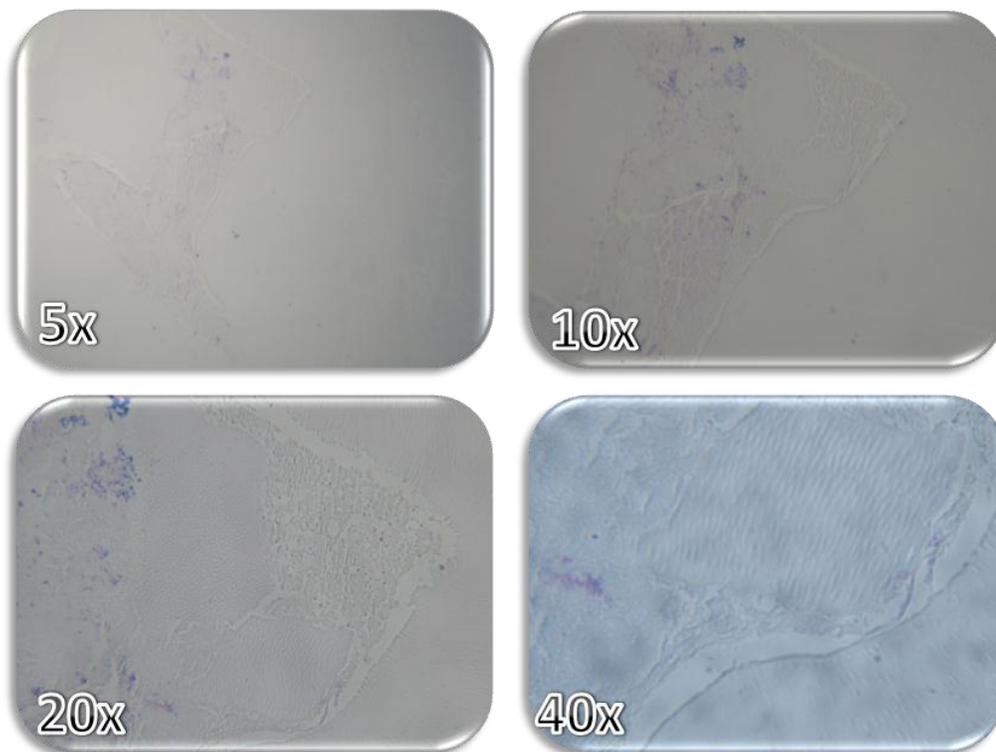


Fig. 39. Con tinción de Brown y Brenn se observó desarrollo bacteriano escaso.

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

1. Completo.

Morfología

1. Dentina de reparación o dentina de reparación y tejido duro irregular.

Grosor

2. De 150 a 249 μm .

Localización

1. Cierre del sitio expuesto sin invasión del espacio pulpar.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

3. Moderada: número promedio de 10-25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

3. Moderada: se observan células inflamatorias en parte de la pulpa cameral.

Estado general de la pulpa

2. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

3. Moderado

Presencia de microorganismos

2. Presencia.

GRUPO EXPERIMENTAL 2A (GE2A)

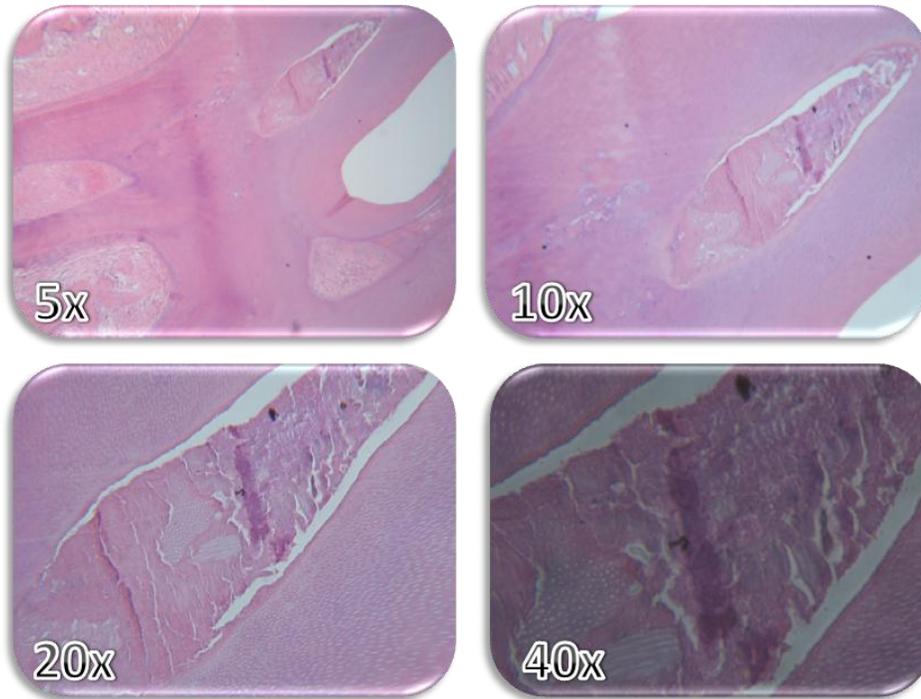


Fig. 40. En esta tinción de HyE se observan fragmentos de material de Ca(OH)₂ y una respuesta inflamatoria moderada(10X y 20X). También se observa material de Ca(OH)₂ de aspecto dentinoide (40X).

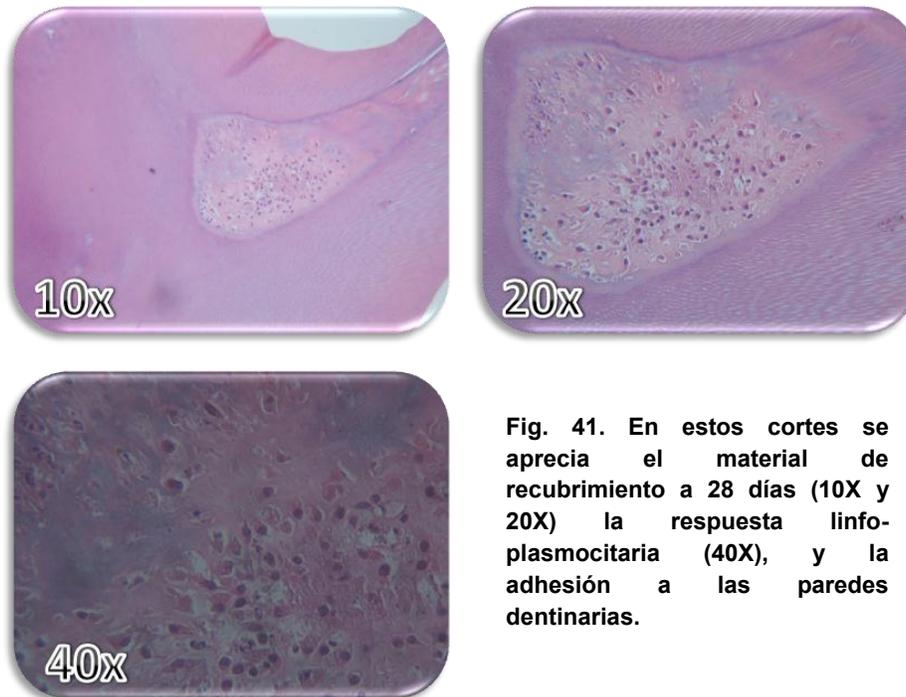


Fig. 41. En estos cortes se aprecia el material de recubrimiento a 28 días (10X y 20X) la respuesta linfoplasmocitaria (40X), y la adhesión a las paredes dentinarias.

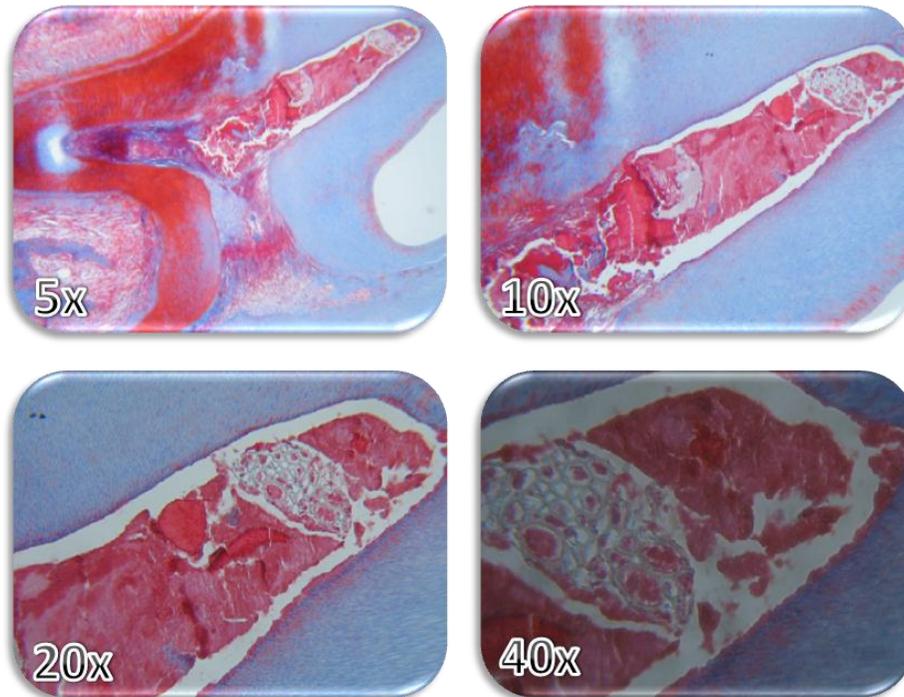


Fig. 42. El tejido pulpar muestra una respuesta inflamatoria severa con áreas de necrosis visto con tricrómica de Masson, la adhesión a las paredes dentinarias del material de recubrimiento (10X y 20X), en zona central se aprecia una zona de cristales rodeados por fibras de colágena, neoformación vascular (20X y 40X).

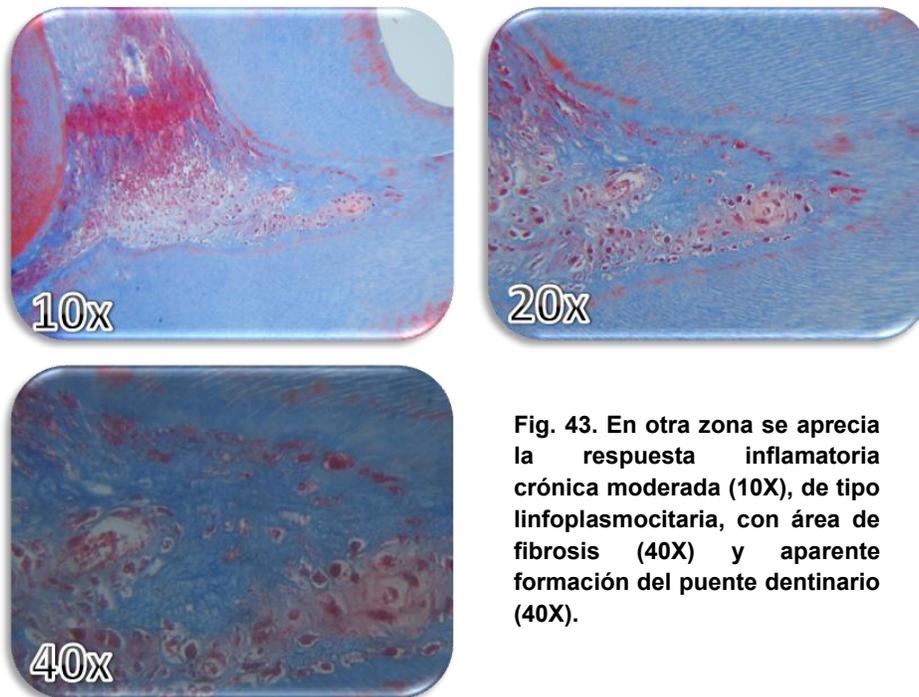


Fig. 43. En otra zona se aprecia la respuesta inflamatoria crónica moderada (10X), de tipo linfoplasmocitaria, con área de fibrosis (40X) y aparente formación del puente dentinario (40X).

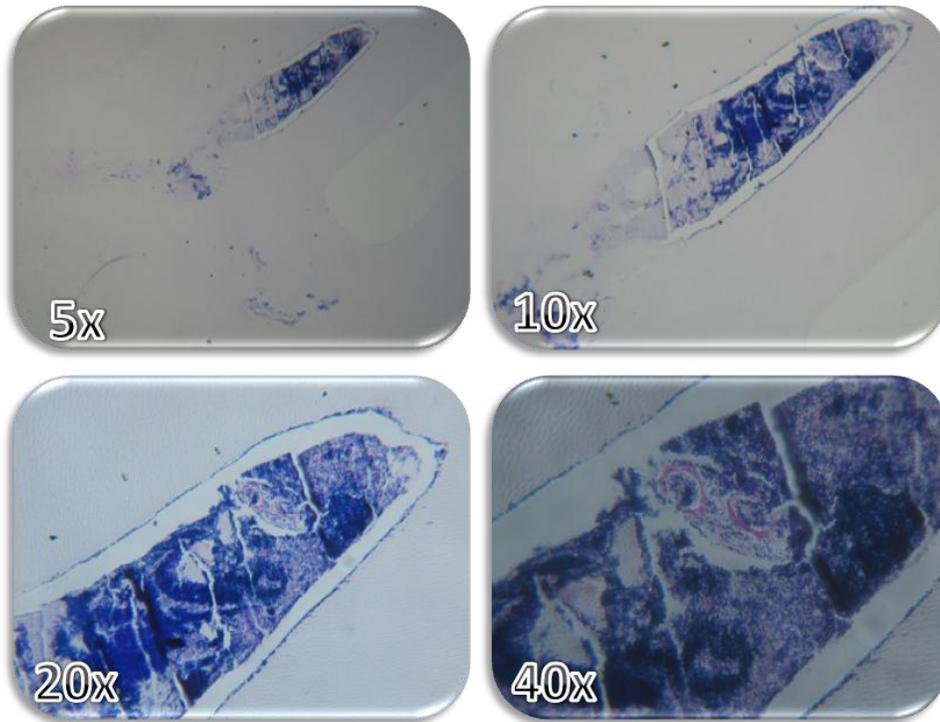


Fig. 44. Con la tinción de Brown y Breen las colonias bacterianas son abundantes localizadas sobre el material de revestimiento y el tejido pulpar.

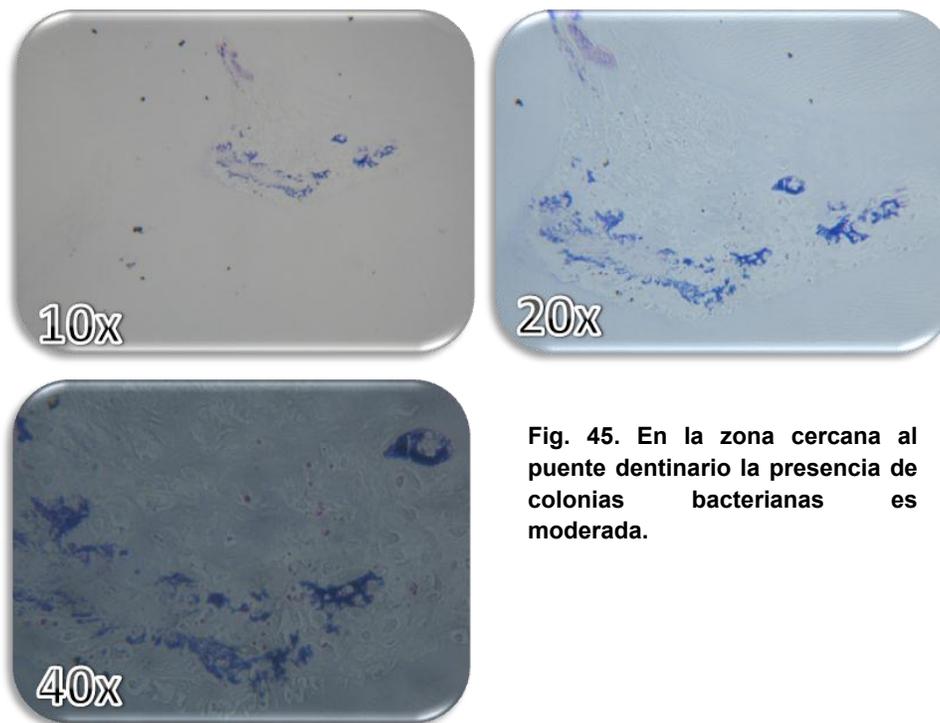


Fig. 45. En la zona cercana al puente dentinario la presencia de colonias bacterianas es moderada.

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

1. Completo.

Morfología

1. Dentina de reparación o dentina de reparación y tejido duro irregular.

Grosor

1. Más de 250 μm .

Localización

1. Cierre del sitio expuesto sin invasión del espacio pulpar.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

4. Severa: número promedio mayor a 25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

4. Severa: toda la pulpa cameral se encuentra infiltrada o necrosada.

Estado general de la pulpa

2. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

3. Moderado

Presencia de microorganismos

2. Presencia.

GRUPO EXPERIMENTAL 2B (GE2B)

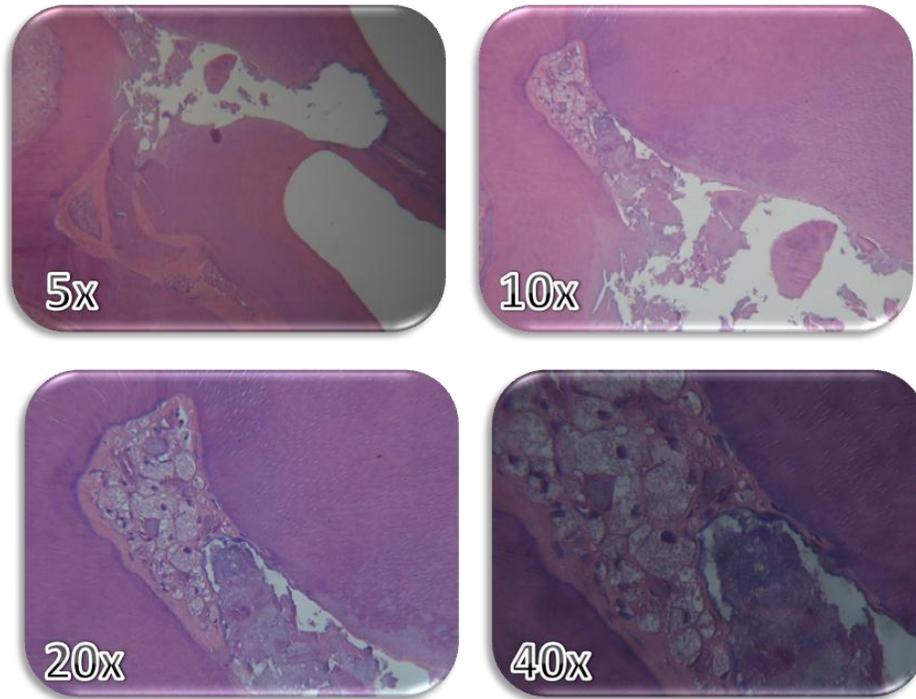


Fig. 46. En el corte histológico se aprecia la zona de la perforación (5X, 10X), a mayor aumento se aprecian macrófagos fagocitando el material de recubrimiento empleado, así como la cristalización del quitosán (20X y 40X).

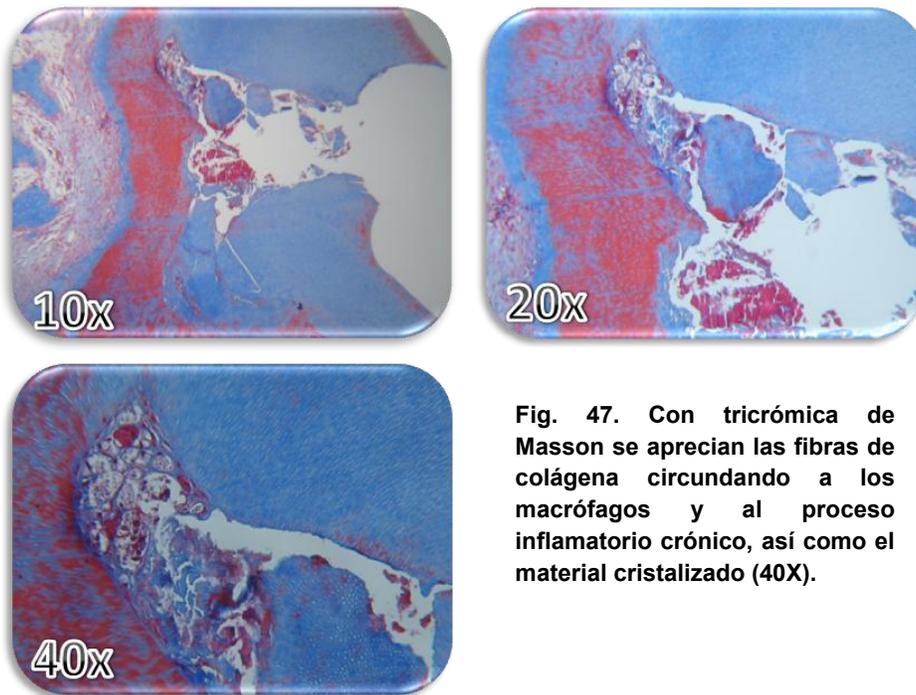


Fig. 47. Con tricrómica de Masson se aprecian las fibras de colágena circundando a los macrófagos y al proceso inflamatorio crónico, así como el material cristalizado (40X).

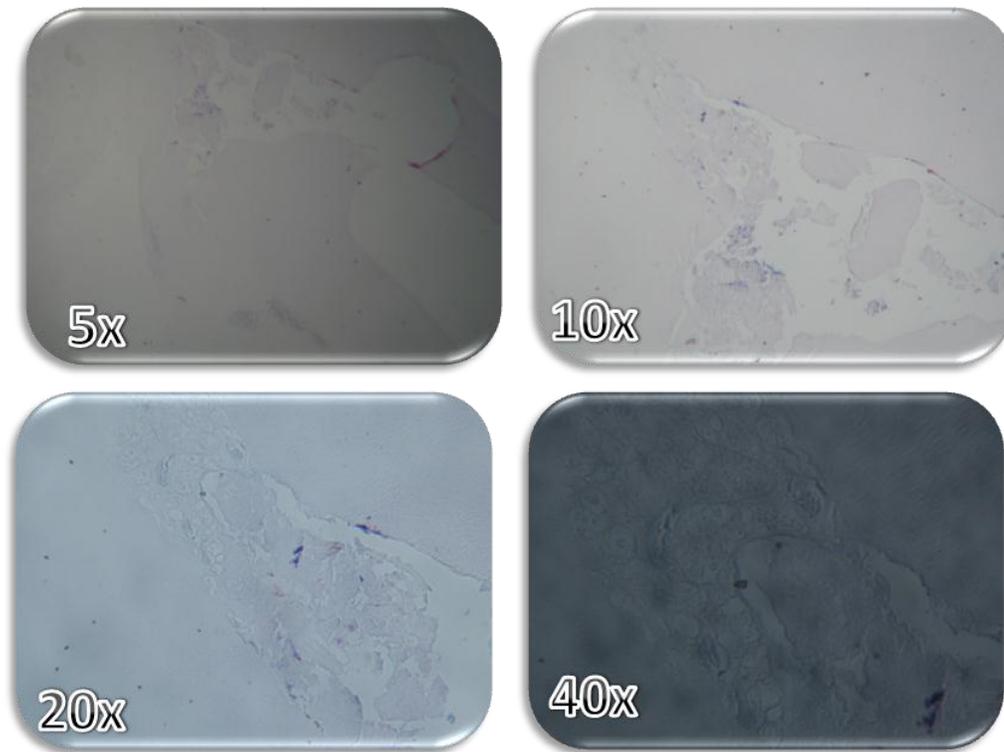


Fig. 48. Con Brown y Brenn se aprecian escasas colonias bacterianas (rosa).

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

2. Parcial con pequeña comunicación del material de recubrimiento con la pulpa dental.

Morfología

1. Dentina de reparación o dentina de reparación y tejido duro irregular.

Grosor

2. De 150 a 249 μm .

Localización

2. Puente invadiendo el espacio pulpar a un lado de la pared dentinal opuesta.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

3. Moderada: número promedio de 10-25 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

3. Moderada: se observan células inflamatorias en parte de la pulpa cameral.

Estado general de la pulpa

2. Con reacción inflamatoria.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

3. Moderado

Presencia de microorganismos

1. Ausencia.

GRUPO EXPERIMENTAL 3A (GE3A)

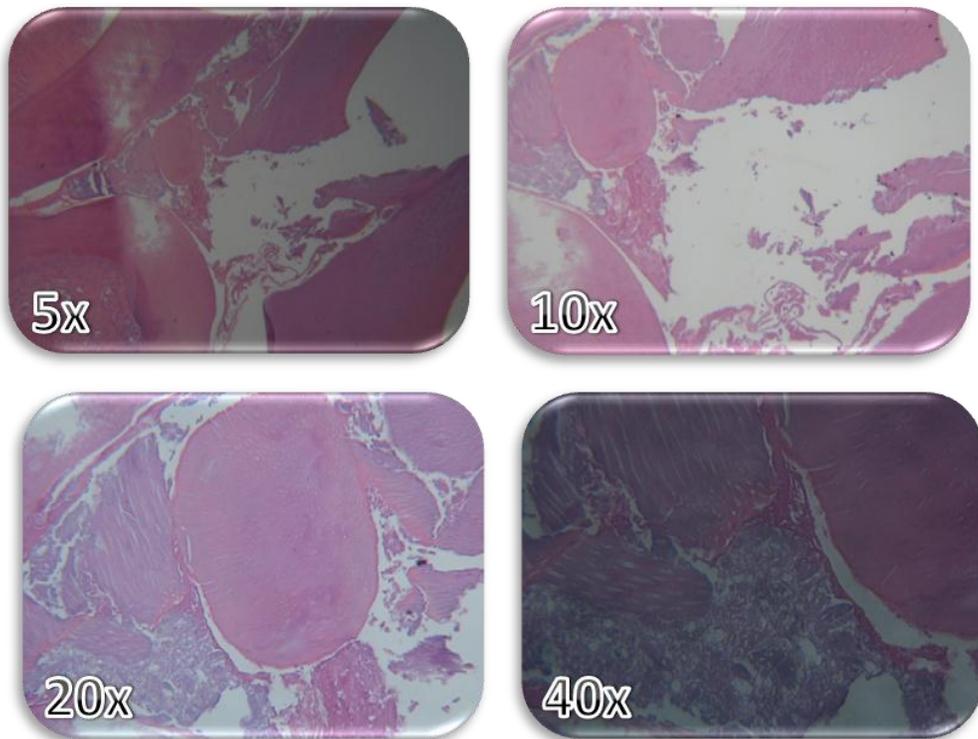


Fig. 49. A los 60 días se ve la organización del material de recubrimiento con material orgánico necrótico (10X), escaso tejido conjuntivo fibroso denso (20X), rodeando el material necrótico (40X; HyE).

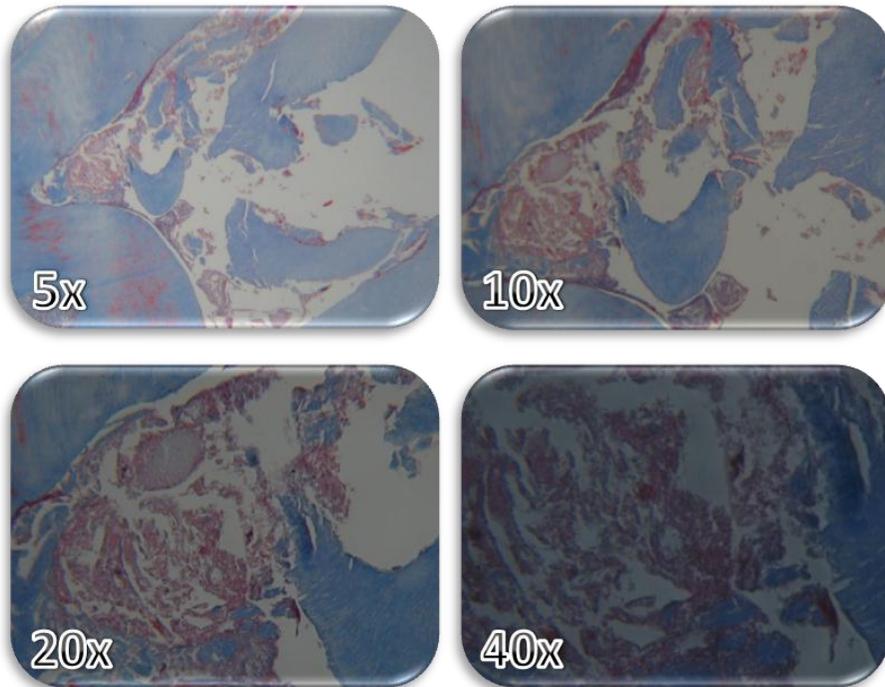


Fig. 50. A los 60 días se ve la organización del material de recubrimiento con material orgánico necrótico (10X), escaso tejido conjuntivo fibroso denso (20X; azul), rodeando el material de recubrimiento (azul: 40X; tinción con tricrómica de Masson).

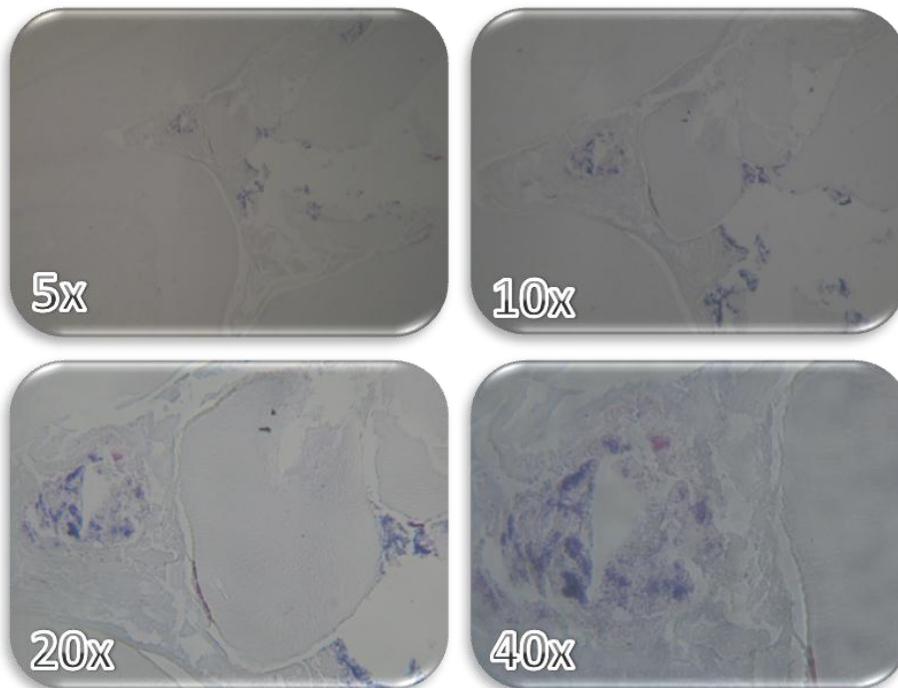


Fig. 51. Tinción de Brown y Brenn en la que se aprecian las colonias bacterianas en el material de recubrimiento (azul).

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad

4. Ausencia de puente de tejido duro y ausencia de deposición lateral de tejido duro.

Morfología

2. Únicamente deposición de tejido duro irregular.

Grosor

4. Puente ausente o parcial.

Localización

4. Sin puente o únicamente deposición de tejido duro en las paredes del sitio expuesto.

Pulpa dental

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

2. Leve: número promedio menor a 10 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

4. Severa: toda la pulpa cameral se encuentra infiltrada o necrosada.

Estado general de la pulpa

4. Necrosis.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

4. Gran número o necrosis pulpar.

Presencia de microorganismos

2. Presencia.

GRUPO EXPERIMENTAL 3B (GE3B)

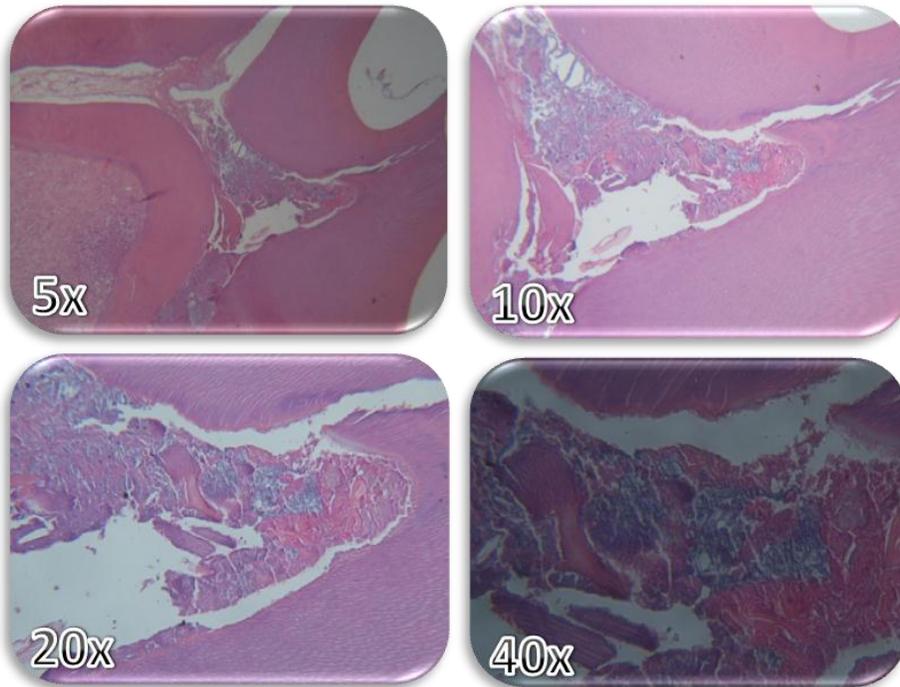


Fig. 52. En estos cortes teñidos con HyE se observa la zona de necrosis en el tejido pulpar y aparentemente la formación del puente dentinario en la zona de perforación a 60 días (10X y 40X).

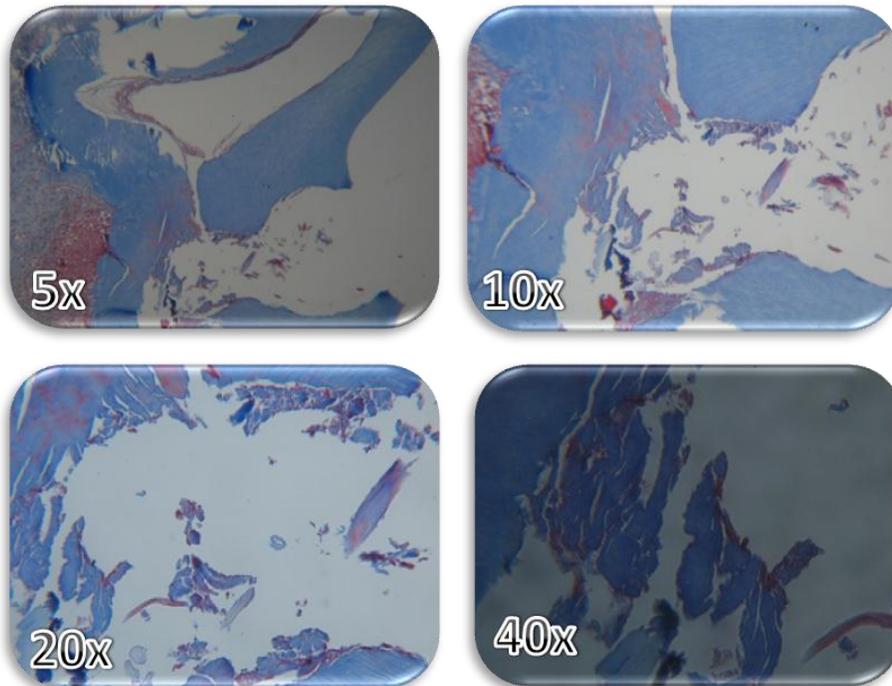


Fig. 53. En estos cortes teñidos con tricrómica de Masson se observa la zona de necrosis en el tejido pulpar y aparentemente la formación del puente dentinario (azul) en la zona de perforación a 60 días (10X a 40X).

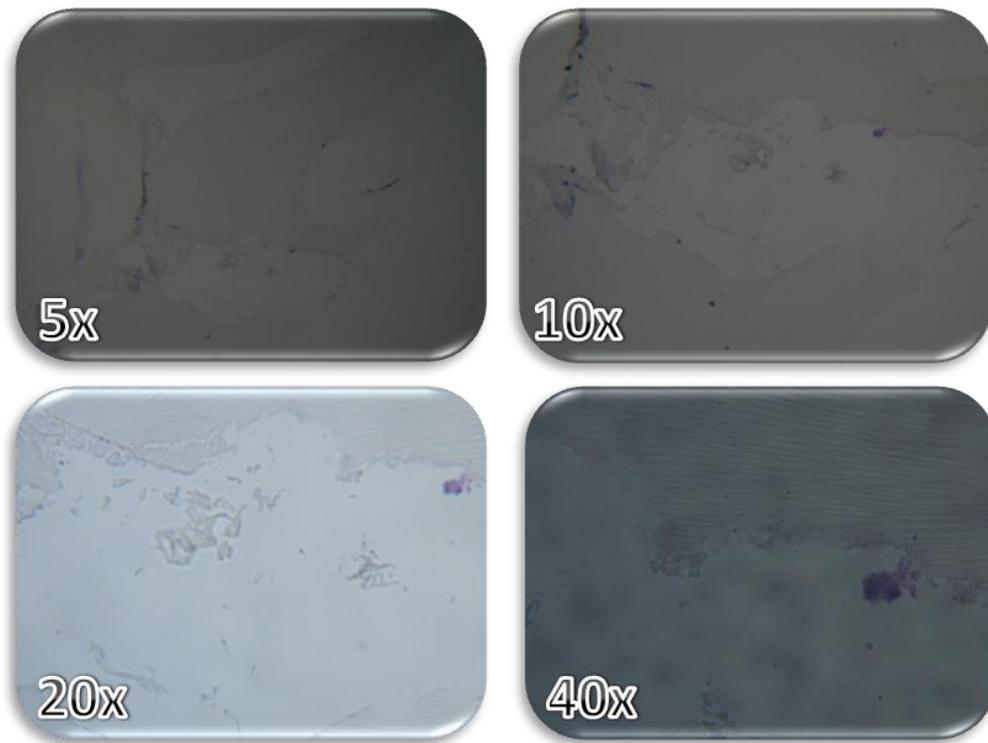


Fig. 54. Con Brown y Brenn se encontraron muy escasas las colonias bacterianas.

Parámetros de Mestrener observados en este grupo de estudio.

PUENTE DE TEJIDO DURO.

Continuidad.

2. Parcial con pequeña comunicación del material de recubrimiento con la pulpa dental.

Morfología.

2. Únicamente deposición de tejido duro irregular.

Grosor.

2. De 150 a 249 μm .

Localización.

2. Puente invadiendo el espacio pulpar a un lado de la pared dentinal opuesta.

Pulpa dental.

Intensidad de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico). (Evaluados en diferentes sitios con una magnificación de 400x)

2. Leve: número promedio menor a 10 células.

Extensión de la reacción inflamatoria (procesos agudo y crónico)

4. Severa: toda la pulpa cameral se encuentra infiltrada o necrosada.

Estado general de la pulpa

4. Necrosis.

Células gigantes y partículas de material de recubrimiento.

2. Leve

Presencia de microorganismos

1. Ausencia.

De acuerdo con los datos obtenidos mediante los criterios de Mestrener y col. arriba mencionados, se realizó el análisis cuantitativo de los datos, obteniendo de esta forma los siguientes resultados:

Grupos Control	8 días		28 Días		60 Días	
	Ca(OH) ₂	Quitosán	Ca(OH) ₂	Quitosán	Ca(OH) ₂	Quitosán
Puente						
Continuidad	1	3	2	1	2	2
Morfología	1	2	1	1	2	2
Grosor	1	4	3	3	3	1
Localización	3	4	2	2	4	3
Pulpa dental						
Inflamación						
Aguda						
Intensidad	2	1	3	3		
Extensión	3	1	4	4		
Crónica						
Intensidad					4	2
Extensión					4	3
Estado General	2	1	2	2	4	2
Células gigantes	1	1	2	1	1	1
Partículas del material de recubrimiento	3	3	2	3	4	4
Microorganismos	1	1	1	2	1	1
Puntuación media	1.8	2.1	2.2	2.2	2.9	2.1

Grupos Experimentales	8 Días		28 Días		60 Días	
	Ca(OH) ₂	Quitosán	Ca(OH) ₂	Quitosán	Ca(OH) ₂	Quitosán
Puente						
Continuidad	3	1	1	2	4	2
Morfología	2	1	1	1	2	2
Grosor	4	2	1	2	4	2
Localización	4	1	1	2	4	2
Pulpa dental						
Inflamación						
Aguda						
Intensidad						
Extensión						
Crónica						
Intensidad	3	3	4	3	2	2
Extensión	3	3	4	3	4	4
Estado General	2	2	2	2	4	4
Células gigantes	2	2	3	3	1	2
Partículas del material de recubrimiento	3	3	2	2	3	2
Microorganismos	2	2	2	1	2	1
Puntuación media	2.8	2	2.1	2.1	3	2.3

X. DISCUSIÓN

Desde la década de 1930 el hidróxido de calcio puro ha sido el material principal para el tratamiento conservador de las heridas pulpares, tanto en recubrimiento pulpar como en pulpotomía, en este experimento se corroboraron las bondades que se le atribuyen en cuanto a la predictibilidad de la cicatrización del tejido duro. Sin embargo en este estudio no se observó la formación del puente dentinario por completo como ha sido descrito por otros autores⁵ es posible que estos puentes dentinarios tengan defectos que permiten la filtración bacteriana debido a su permeabilidad⁶ y a la solubilidad del Ca(OH)_2 con los fluidos bucales. Es posible también, que estos resultados sean la consecuencia de la pobre adhesividad del material a las paredes dentinarias, lo que se observó en los cortes histológicos teñidos con tricrómica de Masson, hecho que puede ser atribuido en gran parte a su propiedad de solubilidad.

Debido al pH alcalino del hidróxido de calcio (12.5), se sabe que una de sus propiedades es cauterizar el tejido y causar necrosis superficial cuando es colocado directamente sobre una pulpa expuesta, y a pesar de que se ha insistido en que este efecto es nocivo para la pulpa en una menor proporción, en este estudio se demostró que su agresión sobre el tejido pulpar es de moderado a severo, causando reacciones inflamatorias moderadas y extensas que van en aumento a través del tiempo (7, 28 y 60 días). Con respecto al poder antimicrobial que se le ha atribuido, nos percatamos de que en un ambiente rico en bacterias como lo fueron los grupos experimentales, este carece de dicha capacidad.

Por otro lado el quitosán mostró una respuesta pulpar más favorable que la del Ca(OH)_2 , con respuesta inflamatoria leve y de menor extensión en el grupo control. Sin embargo, la respuesta esperada era aún mejor debido a las bondades que posee en el proceso de cicatrización de heridas^{37,43}, esto posiblemente se atribuye a las diferencias existentes entre el tejido pulpar y el tejido epitelial, encontrando una mejor respuesta del tejido pulpar al quitosán más no la esperada ya que se menciona que es inhibidor de la respuesta inflamatoria⁴⁴ y promotor en la neoformación de tejidos óseo⁴² y epitelial⁴³. En cuanto al poder bactericida que se le ha atribuido en diversos artículos⁴⁴ concordamos completamente ya que fue capaz de evitar por completo la contaminación bacteriana en 4 de los 6 grupos (**GC1B**, **GC3B**, **GE2B**, **GE3B**) y en los 2 grupos donde hubo presencia de bacterias (**GC2B**, **GE1B**), esta fue escasa. En cuanto a los resultados obtenidos en la formación del puente de dentina mostró resultados muy favorables, con excepción del grupo control **1B**, atribuible al gran tamaño de la perforación y el intervalo de tiempo al que pertenece (7 días). El quitosán mostró buena adhesión a las paredes dentinarias, característica deseable en un material de recubrimiento pulpar.

recubrimiento pulpar más utilizado. Este es el inicio de una búsqueda, ya que quedan muchas propiedades por mejorar, por los resultados encontrados el quitosán promete ser un buen material de recubrimiento directo, con comportamiento más noble hacia el tejido pulpar por su efecto inhibitorio hacia el proceso inflamatorio de desarrollo bacteriano.

XI. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede decir que:

QUITOSÁN:

- Es un material recomendable para ser utilizado como recubrimiento pulpar directo.
- Respuesta pulpar inflamatoria menor.
- Mejor adhesión a las paredes dentinarias.
- Inhibe el desarrollo bacteriano (efecto bactericida).
- Promotor de la formación de puente dentinario en presencia de respuesta inflamatoria.

Ca(OH)₂ :

- Tiene una alta solubilidad con los fluidos pulpaes y bucales.
- Es irritante al tejido pulpar.
- No tiene efecto bactericida.
- Poca o nula adhesión a las paredes dentinarias.
- En menor respuesta inflamatoria mejor formación de puente dentinario.

PROPUESTAS DE INVESTIGACIÓN.

Modificar la formulación del quitosán que supere todas las bondades de los resultados observados en este estudio y promueva efectivamente la formación de tejido duro.

Buscar que el material de recubrimiento pulpar directo que formulemos se encuentre encaminado a la regeneración tisular.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Takashi M, Tadashi N, Hirotoshi S, Shigeyuki E, A clinical study of direct pulp capping applied to carious-exposed pulps. *J Endod* 1996; 22(10):551-6.
2. Barthel CR, Rosenkranz B, Leuenberg A, Roulet JF, Pulp capping of carious exposures: treatment outcome after 5 and 10 years: a retrospective study. *J Endod* 2000; 26(9):525–8.
3. Baume L, Holz J, Long-term clinical assessment of direct pulp capping. *Int Dent J* 1981; 31(251).
4. Bergenholtz G, Spangberg L, Controversies in endodontics. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004; 15(2):99–114.
5. Briso A, Luiz Fraga L, Rahal V, Mestrener, Rahal S, Dezan E, Biological response of pulps submitted to different capping materials. *Braz oral res* 2006; 20(3).
6. Dammaschke T, Stratmann U, Wolff P, Sagheri D, Schäfer E, Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an immunohistologic comparison with calcium hydroxide in rodents. *J Endod* 2010; 36(5).
7. Dickens SH, Flaim GM, Schumacher GE, Eichmiller FC, Schafer DR, Rutherford RB, Preclinical effectiveness of a novel pulp capping material. *J Endod* 2010; 36(7):1222-5.
8. Faraco IM Jr, Holland R, Histomorphological response of dogs' dental pulp capped with white mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J* 2004; 15(2).
9. Sazak H, Günday M, Alatli C, Effect of calcium hydroxide and combinations of ledermix and calcium hydroxide on inflamed pulp in dog teeth. *J Endod* 1996; 22(9):447-9.
10. Komabayashi T, Zhu Q, Innovative endodontic therapy for anti-inflammatory direct pulp capping of permanent teeth with a mature apex. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109(5):e75-81.
11. Mestrener SR, Holland R, Dezan E Jr, Influence of age on the behavior of dental pulp of dog teeth after capping with an adhesive system or calcium hydroxide. *Dent Traumatol* 2003; 19(5):255-61.
12. Ngampis S, Lasfargues JJ, Goldberg M, Differential repair responses in the coronal and radicular areas of the exposed rat molar pulp induced by recombinant human bone morphogenetic protein 7 (osteogenic protein 1). *Arch Oral Biol* 2002; (47):177-187.

13. Tronstad L, Mjör IA, Capping of the inflamed pulp. *Oral Surg* 1972; (34):477.
14. Weiss MD, Bjornatn K, Pulp capping in deciduous and newly erupted permanent teeth of monkeys. *Oral Surg* 1970; 29(769).
15. Ingle John I, Bakland Leif K. *Endodoncia*. 5ª edición. México: Mc Graw-Hill; 2005.
16. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ, The effects of surgical exposures of the dental pulp in germ free and conventional laboratory rats. *Oral Surg* 1965; 20(340).
17. Gartner Leslie, Hiatt James. *Texto atlas de histología*. 2ª edición. México: McGraw-Hill; 2003.
18. Gómez de Ferraris ME, Campos Muñoz A. *Histología y embriología bucodental*. 1ª edición. México: Panamericana; 2000.
19. *Glossary of Endodontic Terms*. 7ª edición. Chicago, IL: American Association of Endodontists; 2003.
20. Dammaschke T, Stratmann U, Fischer RJ, Sagheri D, Schäfer E, A histologic investigation of direct pulp capping in rodents with dentin adhesives and calcium hydroxide. *Quintessence Int*. 2010; 41(4):62-71.
21. Trope M, McDougal R, Levin L, May KN Jr, Swift EJ Jr, Capping the inflamed pulp under different clinical conditions. *J Esth Rest Dent* 2002; 14(6):349-357.
22. Bergenholtz Gunnar, Hørsted-Bindslev Preven, Reit Claes. *Textbook of endodontology*. 1ª edición. U.S.A.: Blackwell Munksgaard; 2003.
23. Hargreaves Kenneth M., Goodis Harold E. Seltzer and Bender's *Dental Pulp*. 1ª edición. Chicago: Quintessence Books; 2002.
24. Mjor Ivan. *PulpDentin Biology in restorative dentistry*. 1ª edición. Chicago: Quintessence Books; 2002.
25. Gutmann James L. et al. *Solución de problemas en endodoncia*. 4ª edición. Madrid: Elsevier Mosby; 2007.
26. Hench Larry. *Biomaterials: a forecast for the future*. *Biomaterials* 1998; (19):1419.
27. Lynch Samuel, Genco Robert, Marx Robert. *Tissue Engineering*. 1ª edición. USA: Quintessence Books; 1999.
28. Barrientos S. *Quitosán: aplicaciones y aspectos económicos (tesis)*. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 1999.
29. *Chitin and Chitosan*. 3ª edición. USA: Technical Insights; 1998.

30. European pharmacopoeia 5.0. 5ª edición. Vol. 2. Francia; 2005.
31. Miranda P. Evaluación de la actividad antibacteriana de quitosán, caracterizado física y químicamente (tesis de maestría). México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2000.
32. Muzzarelli RAA, Mark HF, Bikales NM, Overberger CG, Menges G, Encyclopedia of Polymer Science and Engineering. 2ª edición. Vol. 3. New York; 1984.
33. Amidi M, Mastrobattista E, Jiskoot W, Hennink WE, Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. *Adv Drug deliv Rev* 2010; (62):59-82.
34. Shintaro Y, Norimasa I, Tokifumi M, Tadanao F, Tatsuya M, Kazuo H, et al. Feasibility of chitosan-based hyaluronic acid hybrid biomaterial for a novel scaffold in cartilage tissue engineering. *Biomaterials* 2005; (26):611-9
35. Ji QX, Zhong DY, Rui L, Zhang WQ, Deng J, Chen XG, In vitro evaluation of the biomedical properties of chitosan and quaternized chitosan for dental applications. *Carbohydrate Research* 2009; (344):1297-1302.
36. Mao S, Sun W, Kissel T, Chitosan-based formulations for delivery of DNA and siRNA. *Adv Drug Deliv Rev* 2010; (62):12-27.
37. Muzzarelli RAA, Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage. *Carbohydrate Polymer* 2009; (76):167-182.
38. Porporatto C, Bianco I, Correa S, Local and systemic activity of the polysaccharide chitosan at lymphoid tissues after oral administration. *J Leukoc Biol* 2005; (78):62-69.
39. Ravi MK, A review of chitin and chitosan applications.» *React Funct Polym* 2000; (46):1-27.
40. Rebea E, Badawy M, Stevens C, Smagghe G, Steurbaut W, Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules* 2003; 4(6):1457-1465.
41. Muzzarelli R, Biochemical significance of exogenous chitins and chitosans in animals and patients. *Carbohydrate polymers* 1993; (20):7-16.
42. Shi Z, Neoh KG, Kang ET, Wang W, Antibacterial and mechanical properties of bone cement impregnated with chitosan nanoparticles. *Biomaterial* 2006; (27):2440-9.
43. Hiroshi U, Takashi M, Fujinaga T, Topical formulations and wound healing applications of chitosan. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; (52):105-115.

44. Hiroshi U, Nakamura F, Masaaki M, Masahiro O, Tsuyoshi K, Fujinaga T, Evaluation effects of chitosan for the extracellular matrix production by fibroblast and the growth factors production by macrophages. *Biomaterials* 2001; (22):2125-2130.
45. Harkness John, Wagner Joseph. *Biología y clínica de conejos y roedores*. 1ª edición. España: Acribia; 1977.
46. Hrapkiewicz Karen, Medina Leticia, Holmes Donald. *Clinical laboratory animal medicine*. 2ª edición. USA: WileyBlackwell; 1998.
47. García H. *Pruebas de actividad antibacteriana de quitosán (tesis)*. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 1999.