

UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTA MARÍA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

SEGUNDA ESPECIALIDAD EN PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA



**“EFECTO IN VITRO DE SALIVA HUMANA, SUERO FISIOLÓGICO, RPMI 1640
Y LECHE EVAPORADA EN LA CONSERVACIÓN DE LA VIABILIDAD
CELULAR DEL LIGAMENTO PERIODONTAL EN DIENTES DE RATAS
ALVINAS. UCSM. AREQUIPA 2011”**

Tesis presentada por el Cirujano Dentista:

CHRISTIAN O. GUTIÉRREZ CARBAJAL

Para optar el Título de Especialista en:

PERIODONCIA E IMPLANTOLOGÍA

AREQUIPA-PERÚ

2013



“Me interesa el futuro, porque en él voy a pasar el resto de mi vida”

Charles F. Kettering



DEDICATORIA

A mis padres nunca terminaré de agradecerles.

A Karito mi esposa por su apoyo y complicidad.

A mis hermanos, mis mejores amigos.

ÍNDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT	7
INTRODUCCIÓN	8

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	10
1.1 DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA	10
1.2 ENUNCIADO	10
1.3 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA	11
a. Área del Conocimiento	11
b. Análisis u Operacionalización De Variables	11
c. Interrogantes Básicas	11
d. Tipo De Investigación	12
e. Nivel De Investigación	12
1.4 JUSTIFICACIÓN	13
2. OBJETIVOS	14
3. MARCO TEÓRICO	14
3.1 Marco Conceptual	14
A) Saliva	14
a.1. Concepto:	14
a.2. Introducción	15
a.3. Histología	16
a.4. Composición de la saliva	17
a.5. Mecanismos de la secreción de la saliva	18
B) Suero Fisiológico	20
C) Leche Evaporada	22
c.1. Proceso de elaboración	22
c.2. Diversidad y tipos	23
c.3. Valor nutritivo	24
c.4. Tabla de composición nutritiva (por 100 mL)	25
c.5. Criterios de calidad en la compra y en la conservación	25
D) Viabilidad Celular	26
d.1. Concepto	26
d.2. Determinación de la Concentración Y Viabilidad Celular	26
F) Ligamento Periodontal	31
f.1. Generalidades	31
f.2. Ubicación	31

f.4. Dimensiones:	32
f.6. Ancho	32
f.7. Origen Y Desarrollo	33
f.9 Fibras	38
f.10. Funciones del ligamento:	40
f.11. Vascularización e inervación	41
3.2 Análisis de Antecedentes Investigativos	42
4. HIPÓTESIS	46

CAPITULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICA, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN	48
1.1 TÉCNICA.....	48
1.2 INSTRUMENTOS.....	49
2. CAMPOS DE VERIFICACIÓN	50
2.1 UBICACIÓN ESPACIAL	50
2.2 UBICACIÓN TEMPORAL	50
2.3 UNIDADES DE ESTUDIO.....	50
3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN	52
3.1 ORGANIZACIÓN.	52
3.2 RECURSOS.....	52
4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR RESULTADOS	53
4.1 A NIVEL DE PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.....	53
4.2 A NIVEL DE ESTUDIO DE LOS DATOS	54
4.3 A NIVEL DE CONCLUSIONES.....	54
4.4 A NIVEL DE RECOMENDACIONES.....	54

CAPÍTULO III

RESULTADOS	55
DISCUSIÓN	74
CONCLUSIONES	77
RECOMENDACIONES	78
BIBLIOGRAFÍA	79
HEMEROGRAFÍA	80
DOCUMENTOS INFORMÁTICOS.....	81
ANEXOS	82

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar efecto in vitro de saliva humana, suero fisiológico, RPMI 1640 y leche evaporada en la conservación de la viabilidad celular del ligamento periodontal en dientes de ratas alvinas; taxonómicamente la investigación es un estudio de tipo prospectivo, longitudinal, experimental y comparativo; para lo cual se utilizaron 39 muestras en saliva humana, 39 en suero fisiológico, 39 en leche evaporada y 39 en medio de conservación RPMI 1640, en todos los medios se midió la viabilidad celular según los objetivos científicos y finalmente se comparara dichas medidas.

Con tal objeto se conformaron 5 grupos de estudio de 39 piezas cada uno: con diferentes medios de conservación. La información fue obtenida a través de la observación microscópica, la misma que luego fue procesada y analizada estadísticamente empleando las pruebas de Anova y tukey

Dicho análisis condujo a resultados importantes como el hecho de que Los medios de conservación mas efectivos que mantuvieron la mayor cantidad de células vivas fueron la saliva y el suero.

Las pruebas estadísticas mencionadas expresan que el tiempo influye significativamente en la viabilidad celular de manera variable en los distintos medios de conservación ($P > 0.05$)

Palabras clave: Viabilidad Celular, medios de conservación.

ABSTRACT

The present study aimed to determine in vitro effect of human saliva, saline, RPMI 1640 and evaporated milk in the conservation of periodontal ligament cell viability in rats alvine teeth, taxonomically research study is a prospective, longitudinal, experimental and comparative, for which we used 39 human saliva samples, 39 in saline, 39 in evaporated milk, and 39 preservation medium RPMI 1640, in all media cell viability was measured according to the scientific objectives and finally comparing these measures.

For this purpose were formed five study groups of 39 pieces each: with different means of preservation. The information was obtained through microscopic observation, the same which was then processed and statistically analyzed using the ANOVA and TUKEY tests.

This analysis led to important results such as the fact that conservation means more effective than kept as many live cells were saliva and saline.

The statistical mentioned tests express that the time influences significantly the cellular viability of a variable way the different means of conservation ($P > 0.05$)

Keywords: Cell viability, preservation media

INTRODUCCIÓN

Aunque hoy en día los traumatismos dentales son más frecuentes en la consulta diaria y son la segunda causa de atención odontopediátrica tras la caries, en un futuro muy cercano, la incidencia de las lesiones traumatismos constituirán la principal demanda de atención.

Para obtener buenos resultados terapéuticos se necesita un enfoque multidisciplinario, con la participación de todas las especialidades de la odontología. Igualmente dentro de un programa dinámico de la actividad deportiva y la agudización notable de la violencia en los medios urbanos.

El tratamiento de la avulsión que es la completa salida del diente de su alvéolo, es el reimplante, pero el porcentaje de éxito a largo plazo varía entre el 4-70%, ya que va a depender de las condiciones clínicas específicas de cada caso en particular.

Cuanto mayor es el tiempo transcurrido del diente fuera de la boca, menor la posibilidad de conservación del diente reimplantado, pero también es muy importante llevar el diente 'extraído' por el golpe en un medio de conservación adecuado.

Entonces el éxito de estos tratamientos será en conseguir los medios de conservación que tengan las siguientes características: pH y osmolalidad fisiológica, contengan nutrientes, sean líquidos estériles y estén disponibles en el lugar del accidente.



CAPITULO I

PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 DETERMINACIÓN DEL PROBLEMA

Los datos acumulados por las estadísticas indican cifras preocupantes acerca de la incidencia y prevalencia de los traumatismos, por lo tanto es importante un adecuado tratamiento y que este sea efectuado lo más pronto posible después del accidente.

Es de suma importancia escoger el medio adecuado para almacenar los dientes avulsionados. En esta investigación se trata de determinar la capacidad que tiene cada uno de los medios experimentales para mantener la viabilidad celular y la integridad de las fibras colágenas del ligamento periodontal.

A partir de una amplia revisión bibliográfica, una lectura cuestionante y reflexiva así como la consulta a especialistas me ha posibilitado el hallazgo de esta área problemática.

1.2 ENUNCIADO

“EFECTO IN VITRO DE SALIVA HUMANA, SUERO FISIOLÓGICO, RPMI 1640 Y LECHE EVAPORADA EN LA CONSERVACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR DEL LIGAMENTO PERIODONTAL EN DIENTES DE RATAS ALVINAS. UCSM. AREQUIPA 2011 ”

1.3 DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

a. Área del Conocimiento

- **Campo** : Ciencias de la Salud
- **Área Específica** : Odontología
- **Especialidades** : Periodoncia – Microbiología
- **Línea** : Terapeutica Periodontal

b. Análisis u Operacionalización De Variables

VARIABLES		INDICADORES	SUB INDICADORES
VE1	Suero Fisiológico	• PH	<ul style="list-style-type: none"> • Desechable • Temperatura ambiente
VE2	Saliva Humana	• Osmolaridad	
VE3	Leche Evaporada	• Nutrientes • Esterilidad	
VE4	RPMI 1640	• Disponibilidad	
VR	Viabilidad Celular	• Viable • No Viable	

c. Interrogantes Básicas.

c.1 ¿Cuál es el efecto del suero fisiológico en la viabilidad celular del ligamento periodontal?

c.2 ¿Cuál es el efecto de la saliva en la viabilidad celular del ligamento periodontal?

c.3 ¿Cuál es el efecto de la leche evaporada en la viabilidad celular del ligamento periodontal?

c.4 ¿Cuál es el efecto del RPMI 1640 en la viabilidad celular del ligamento periodontal?

c.5 ¿Cuál tendrá mejor efecto sobre la viabilidad celular del ligamento periodontal?

d. Tipo De Investigación.

ABORDAJE	TIPO DE ESTUDIO					DISEÑO	NIVEL
	Por la técnica de recolección	Por el tipo de dato	Por el N de mediciones de la variable	Por el numero N de muestras o poblaciones	Por el ámbito de recolección		
Cuantitativo	Observacional	Prospectivo	Longitudinal	Comparativa	Laboratorial	Comparativo prospectivo	Experimental

e. Nivel De Investigación

Se trata de una investigación experimental, ya que el problema tiene una variable respuesta y cuatro variables estímulo, por lo tanto hay una relación de causa efecto.

1.4 JUSTIFICACIÓN

a) Originalidad.

El rasgo inédito del estudio estriba básicamente en determinar el efecto de saliva humana, suero fisiológico y leche evaporada en la conservación de la viabilidad celular.

b) Relevancia Científica.

Esta investigación tiene relevancia científica ya que aporta nuevos conocimientos.

c) Factibilidad

La investigación se considera factible, por cuanto se ha previsto la disponibilidad de los sujetos de estudio, la aplicabilidad del instrumento, la disponibilidad del tiempo, recursos y presupuesto, así como el conocimiento metodológico y del respeto de las restricciones éticas.

d) Interés Personal

Este criterio está basado en la motivación individual para realizar la investigación y optar el título de especialista en Periodoncia e Implantología.

2. OBJETIVOS

- 2.1 Determinar el efecto del suero fisiológico en la viabilidad celular del ligamento periodontal
- 2.2 Determinar el efecto de la saliva en la viabilidad celular del ligamento periodontal
- 2.3 Determinar el efecto de la leche evaporada en la viabilidad celular del ligamento periodontal
- 2.3 Determinar el efecto del RPMI 1640 en la viabilidad celular del ligamento periodontal
- 2.5 Determinar tendrá mejor efecto sobre la viabilidad celular del ligamento periodontal

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Marco Conceptual

A) Saliva

a.1. Concepto:

La saliva es una sustancia involucrada en parte de la digestión, se encuentra en la cavidad bucal, producido por las glándulas salivales, compuesto principalmente por agua, sales minerales y algunas proteínas que tienen funciones enzimáticas. Líquido transparente y de viscosidad variable, la cual se atribuye al ácido sialico¹.

¹ BARRY M. ELEY, "Periodoncia". Pág. 25

Se estima que la boca está humedecida por la producción de entre 1 y 1.5 litros de saliva al día, durante la vida de una persona se generan unos 34.000 litros. Esta cantidad de saliva es variable ya que va disminuyendo conforme avanzan los años y debido a diferentes tratamientos. La producción de saliva está relacionada con el ciclo circadiano, de tal manera que por la noche se segrega una mínima cantidad de saliva; además, su composición varía en función de los estímulos (como el olor o la visión de la comida) aumentando -por ejemplo- el pH ante estos estímulos (cuando en condiciones normales es de 4 a 5.5). Es segregada por las glándulas salivares mayores (parótida, sublingual y submaxilar) y menores. La disminución de saliva se llama *hiposalivación*, mientras que la sensación de sequedad bucal se denomina xerostomía, la producción excesiva sialorrea².

a.2. Introducción

La saliva es producida por un grupo de glándulas exocrinas, las glándulas salivares, situadas en la cavidad bucal. Las más importantes son:

- Glándulas parótidas: se sitúan a nivel de las mejillas y vierten la saliva en la boca a través del conducto de Stenon
- Glándulas submaxilares a ambos lados del suelo de la boca, que vierten la saliva a través del conducto de Wharton
- Glándulas sublinguales, se sitúan en la parte anterior y central del suelo de boca. Vierten la saliva por los conductos de Rivinus y Bartholin

² LINDHE “Periodontología Clínica e Implantología Odontológica”. Pág. 11

Otras glándulas que también segregan saliva son las glándulas palatinas, situadas en el paladar blando, así como otras glándulas más pequeñas situadas en la lengua y en las mucosas de la boca³.

a.3. Histología

La unidad básica de las glándulas salivares es el salivón, que está formada por ácinos, conductos intercalares, conductos estriados y el conducto excretor. Los ácinos son sacos formados por células serosas y mucosas que segregan respectivamente, enzimas y mucina. La principales enzimas excretadas por las células serosas son la ptialina o amilasa salival. La mucina está formada por glicoproteínas de diversos pesos moleculares y confieren a la saliva propiedades lubricantes⁴.

Las células acinares, tanto las serosas como las mucosas, almacenan las secreciones proteicas en los gránulos de zimógeno que son modificados por el aparato de Golgi, siendo finalmente excretados por exocitosis. Los conductos intercalares están revestidos por pequeñas células cuboides cuya función no está clara. Los conductos estriados están revestidos de células columnares que modifican la composición de la saliva. Finalmente, los conductos excretores, también están revestidos de células columnares que sintetizan varias proteínas como la ribonucleasa, el EGF (factor de crecimiento epidérmico), la α -amilasa y varias proteasas⁵.

³ BARRY M. Eley, Ob. Cit. Pág. 27

⁴ <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/2312/231220955005.pdf>

⁵ Idem.

a.4. Composición de la saliva

La composición de la saliva es parecida a la del plasma, aunque hay menos Na^+ y más K^+ y menos Cl^- y más HCO_3^- . Tanto la osmolaridad como la composición electrolítica depende de la velocidad de secreción, aproximándose a la del plasma cuando la velocidad de secreción es alta y siendo menor a velocidades bajas debido a que entonces las células del epitelio ductal tienen más tiempo para modificar la composición iónica⁶.

Las dos proteínas más importantes de la saliva son la amilasa y la mucina. La amilasa es producida predominantemente por las glándulas parótidas y la mucina por las glándulas sublinguales y submandibulares. La mucina es la responsable de la viscosidad de la saliva. Otras proteínas presentes son la muramidasa o lisozima que ataca el ácido murámico de algunas bacterias, la lipasa lingual, un enzima importante para la digestión de la leche, la lactoferrina, una proteína que liga al hierro, el factor de crecimiento epidérmico que estimula el crecimiento de las células de la mucosa gástrica, inmunoglobulinas (IgA) y sustancias del sistema sanguíneo.

El pH de la saliva es casi neutro y debido a su contenido de HCO_3^- tiene propiedades neutralizantes de los ácidos, de manera que juega un importante papel en la higiene de la boca. Además, la saliva desempeña otros papeles importantes⁷:

- Por su contenido en muramidasa, posee propiedades antibacterianas

⁶ NAVARRO VILA CARLO, "Cirugía oral", Pág. 25

⁷ BARRY M. Eley, Ob. Cit. Pág. 32

- La lactoferrina se une fuertemente al hierro, privando de este elemento a muchos microorganismos para los que es vital
- Lubrica la cavidad bucal reduciendo la fricción de las partes rugosas de la comida
- Aglutina y humedece las porciones de comida para facilitar su deglución
- Disuelve las sustancias que pueden estimular las papilas gustatorias de la lengua
- Cuando su secreción disminuye provoca la sensación de sed, apremiando al sujeto para que beba agua
- La α -amilasa salivar inicia la digestión de los hidratos de carbono
- La lipasa lingual salivar, segregada por las glándulas de von Ebner localizadas en el dorso de la lengua, actúa sobre los triglicéridos de cadena media como los presentes en la leche y su función parece ser importante en el recién nacido⁸.

a.5. Mecanismos de la secreción de la saliva

a.5.1. Mecanismos neuronales de la secreción de saliva

La secreción de la saliva se encuentra, en su mayor parte, bajo el control del sistema nervioso autónomo. En condiciones basales, la secreción es de 0.5 ml/min, pero puede aumentar

⁸ GÓMEZ DE FERRARIS MARÍA ELSA, "Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental", Pág. 23

hasta 6-7 ml/min. Las glándulas submandibulares segregan un 60% y las parótidas un 25%.

La estimulación de los nervios simpáticos y parasimpáticos aumenta la secreción salivar, siendo mucho más importante la parasimpática, de tal forma que se interrumpe la inervación parasimpática se produce una atrofia de la glándula.

Las fibras simpáticas que inervan las glándulas salivares provienen del ganglio cervical superior. Los centros nerviosos parasimpáticos están localizados en el bulbo y envían sus estímulos a los dos núcleos salivares, el superior y el inferior. En reposo, las glándulas salivares reciben un flujo de sangre de 50 ml/100 g de tejido: en respuesta a la estimulación parasimpática, las células acinares liberan una proteasa, la kalicreína que actúa sobre una proteína plasmática, el kininógeno, liberándose la lisilbradikinina un potente vasodilatador⁹.

a.5.2. Mecanismos celulares de la secreción de la saliva

- Células ductales: las células de los conductos de las glándulas salivares responden a los agonistas colinérgicos y adrenérgicos aumentando la secreción de K^+ y HCO_3^- ¹⁰
- Células acinares: la acetilcolina, la norepinefrina, la sustancia P y el VIP son liberadas en las glándulas salivares por terminaciones nerviosas específicas. La norepinefrina

⁹ SEGARRA EDGAR, "Fisiología de los aparatos y sistemas". Pág. 55

¹⁰ Ibid. Pág. 58

actúa sobre los receptores b y el VIP eleva los niveles de AMP-cíclico de las células acinares. La acetilcolina, la sustancia P y la activación de los receptores a, aumenta los niveles de Ca^{++} intracelular. Así, la atropina, un anticolinérgico es un potente inhibidor de la secreción salivar, mientras que la pilocarpina (un inhibidor de la acetilcolinesterasa, que por lo tanto aumenta los niveles de acetilcolina) aumenta la secreción salivar¹¹.

a.5.3. Control hormonal de la secreción de saliva

La administración de mineralcorticoides reduce la concentración de Na^{+} con el consiguiente aumento del K^{+} . La hormona antidiurética reduce igualmente la concentración de sodio por reabsorción del mismo en los conductos estriados y excretorios¹².

B) Suero Fisiológico

La solución salina al 0.9 % también denominada Suero Fisiológico, es la sustancia cristaloides estándar, es levemente hipertónica respecto al líquido extracelular y tiene un pH ácido. La relación de concentración de sodio (Na^{+}) y de cloro (Cl^{-}) que es 1/1 en el suero fisiológico, es favorable para el sodio respecto al cloro (3/2) en el líquido extracelular ($Na^{+} > Cl^{-}$). Contiene 9 gramos de $ClNa$ o 154 mEq de Cl^{-} y 154 mEq de Na^{+} en 1 litro de H_2O , con una osmolaridad de 308 mOsm/L.

¹¹ SEGARRA EDGAR, Ob. Cit. Pág. 58

¹² NAVARRO VILA CARLO, "Cirugía oral", Pág. 121

La normalización del déficit de la volemia es posible con la solución salina normal , aceptando la necesidad de grandes cantidades, debido a la libre difusión entre el espacio vascular e intersticial de esta solución después de la infusión de 1 litro de suero salino sólo un 20-30 % del líquido infundido permanecerá en el espacio vascular después de 2 horas. Como norma general es aceptado que se necesitan administrar entre 3 y 4 veces el volumen perdido para lograr la reposición de los parámetros hemodinámicos deseados.

Estas soluciones cristaloides no producen una dilución excesiva de factores de coagulación, plaquetas y proteínas, pero en déficits severos se puede producir hipoalbuminemia, con el consecuente descenso de la presión coloidosmótica capilar (pc) y la posibilidad de inducir edema. Este descenso de la pc, con su repercusión en gradiente transcapilar, atribuido a la administración excesiva de soluciones cristaloides, ha sido considerada como favorecedor de la formación de edemas.

Si son perfundidas cantidades no controladas de solución de ClNa , el excedente de Cl del líquido extracelular desplaza los bicarbonatos dando una acidosis hiperclorémica. Es, por ello, una solución indicada en la alcalosis hipoclorémica e hipocloremias en general como las causadas por shock y quemaduras extensas. También se administra para corregir los volúmenes extracelulares y provoca la retención de sal y agua en el líquido extracelular¹³.

¹³ SEGARRA EDGAR, Ob. Cit. 59-60

C) Leche Evaporada

La leche evaporada se obtiene por una deshidratación parcial de la leche entera, semidesnatada o desnatada, cuya conservación se asegura mediante la esterilización, un tratamiento térmico que combina altas temperaturas con un tiempo determinado. Este tratamiento de conservación asegura la destrucción total de los microorganismos patógenos presentes en la leche y de sus esporas (formas de resistencia de los microorganismos), dando lugar a un producto estable y con un largo período de conservación¹⁴.

c.1. Proceso de elaboración

La deshidratación parcial de la leche consiste en eliminar parte del agua de constitución de la misma para aumentar de este modo su vida útil. Debido al descenso del contenido en agua que se produce en el alimento, se inhibe el crecimiento microbiano y la actividad enzimática. Además, disminuye el peso y el volumen del producto nuevo respecto al original, de modo que se reducen los gastos de transporte y almacenamiento.

En la industria láctea, la reducción parcial del agua de constitución se lleva a cabo mediante un proceso de concentración por evaporación y así se obtiene la leche concentrada. Sin embargo, este producto no tiene una larga conservación, ya que la reducción de humedad que experimenta no es suficiente para impedir el desarrollo de microorganismos. Por ello, para su comercialización es necesario aplicarle a la leche concentrada un

¹⁴ ARANCETA BARTRINA JAVIER, "Leche, Lácteos y Salud", Pág. 15

tratamiento de conservación adicional, que es la esterilización, y puede ser la clásica o UHT. De esta manera, se obtiene la leche evaporada.

La esterilización clásica consiste en someter a la leche a temperaturas del orden de 115°C durante unos 15 minutos. Tiene el inconveniente de que disminuye notablemente el contenido vitamínico respecto a la leche de origen.

Con la esterilización U.H.T. (Ultra High Temperature), la leche alcanza temperaturas de 140-150°C, durante 2 a 16 segundos, con la ventaja de que mantiene prácticamente todo el valor nutricional respecto a la leche de origen.

En ambos casos, el resultado es un producto líquido y homogéneo, de suave aroma, color amarillento y cuyo volumen es aproximadamente la mitad del de la leche de partida. Una vez reconstituida mediante la adición de agua, se obtiene un producto con las mismas características que la leche líquida con el porcentaje graso correspondiente¹⁵.

c.2. Diversidad y tipos

En función de su contenido graso encontramos en el mercado la leche evaporada rica en grasa, entera, semidesnatada y desnatada. Aunque menos frecuente, también se puede encontrar la leche evaporada aromatizada, con aromas y colorantes autorizados añadidos para proporcionar aroma y sabor al producto¹⁶.

¹⁵ ARANCETA BARTRINA JAVIER, Ob. Cit., Pág. 16-1

¹⁶ Ibid. Pág. 18

c.3. Valor nutritivo

La leche evaporada es una leche concentrada, por lo que es un producto con una densidad nutritiva elevada, ya que los sólidos de la leche de partida se encuentran disueltos en una cantidad menor de agua (por tanto, a igual volumen mayor concentración de nutrientes).

A pesar de que, una vez reconstituida, debería resultar similar en cuanto a composición nutritiva a la leche de partida, durante el proceso de obtención se pueden producir pérdidas nutritivas, según el método de esterilización aplicado.

Con la esterilización clásica se produce una pérdida de vitaminas hidrosolubles como B1, B2 y B3, así como de algunos aminoácidos (componentes básicos de las proteínas). Sin embargo, si se emplea la esterilización U.H.T., prácticamente no se pierden nutrientes, ya que la leche está muy poco tiempo en contacto con las altas temperaturas. No obstante, se produce una pérdida nutritiva como consecuencia del proceso de evaporación propiamente dicho, aunque se puede considerar mínima. Además, en diversos países es frecuente la adición de algunas vitaminas a la leche evaporada, principalmente A y D¹⁷.

¹⁷ GIL HERNÁNDEZ ANGEL, "Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos", Pág. 20

c.4. Tabla de composición nutritiva (por 100 mL)

Energía (Kcal)	Proteínas (g)	Grasas (g)	Hidratos de carbono (g)	Calcio (mg)	Vit. B2 (mg)	Vit. B12 (mcg)
149,2	8,2	9,1	9,2	255	0,41	0,1
Vit. A (mcg)	Vit. D (mcg)	AGS (g)	AGM (g)	AGP (g)	Colesterol (mg)	
102	0,08	5,9	2,52	0,22	34	

AGS: ácidos grasos saturados, **AGP:** ácidos grasos poliinsaturados y **AGM:** ácidos grasos monoinsaturados¹⁸.

c.5. Criterios de calidad en la compra y en la conservación

En el mercado, la leche evaporada se comercializa en envases Tetrarex, similares al brick pero de formato más alargado y estrecho, aunque en ocasiones también se presenta en latas o tubos¹⁹.

Una vez abierto el envase, la leche evaporada presenta un aroma suave, un color amarillento y una consistencia homogénea y totalmente líquida.

La leche evaporada no es un producto perecedero por lo que se mantiene en buenas condiciones durante varios meses. Cuando aún no se ha abierto el envase resulta suficiente con guardarla en un lugar fresco y protegido de la luz. Sin embargo, una vez abierta se puede contaminar fácilmente, por lo que se debe guardar en el frigorífico y consumir en un plazo de aproximadamente 3-4 días²⁰.

¹⁸ GIL HERNÁNDEZ ANGEL, Ob. Cit. Pág. 20

¹⁹ ARANCETA BARTRINA JAVIER, Ob. Cit. Pág. 20

²⁰ Ibid. Pág. 22

D) Viabilidad Celular

d.1. Concepto

El conjunto de cambios en la molécula de ADN que conducen a alteraciones en la replicación y transcripción.

La viabilidad celular es un parámetro de control de calidad muy útil y necesario al realizar cultivos celulares in vitro, ya sea para fines de investigación o en el mantenimiento de las mismas en bancos de células (bancos de células madre, bancos de esperma, etc.). Esta técnica nos permite monitorear el estado que guardan las células a través del tiempo, después de someterlas a diferentes tratamientos, etc. Existen varias técnicas para cuantificar la viabilidad celular, las cuales difieren en complejidad y costos de los reactivos y equipos necesarios para ella. El método de viabilidad por azul de tripano es uno de los más sencillos y económicos, se basa en la tinción de las células no viables²¹.

d.2. Determinación de la Concentración Y Viabilidad Celular

El azul tripán tiñe a las células que presentan daño en la membrana plasmática, fue utilizado para diferenciar entre células viables y no viables teñidas con azul tripán. Se usa la cámara de Neubauer para contar e inferir el número de células viables, como concentración celular, expresadas en células por mililitro. El volumen celular en el cual se han contado las células resulta de multiplicar la profundidad de la cámara por el factor de dilución, la superficie de los cuadrados y el número de cuadrados contados.

²¹ GIL-LOYZAGA PEDRO, "Cultivo de Células Animales Y Humanas, Aplicaciones en Medicina Regenerativa", Pág. 50

La cámara de Neubauer o hemacitómetro (Figura 1), es utilizada generalmente para la cuenta de células sanguíneas como son los eritrocitos (glóbulos rojos) y linfocitos (glóbulos blancos), pero también puede ser utilizada para el conteo de otros tipos celulares. Las áreas grandes indicadas con los números 1, 2, 3 y 4 en la Figura 1 son utilizadas para contar los glóbulos blancos y el área con el número 5 es para contar los glóbulos rojos y plaquetas. Esta cámara de conteo se adapta al microscopio óptico. La cámara consta de un cubreobjetos de cuarzo, con una depresión en el centro, y con una cuadrícula marcada. Y con portaobjetos de un grosor mayor a los de uso común. En la parte superior del portaobjetos se encuentran cuatro canales longitudinales y uno transversal central. En la parte superior e inferior del canal transversal están grabadas dos rejillas, las cuales están a su vez subdivididas. El volumen celular en el cual se han contado las células resulta de multiplicar la profundidad de la cámara por el factor de dilución, la superficie de los cuadrados y el número de cuadrados contados.

Para determinar la viabilidad celular se emplea el método de tinción con azul tripán. El azul tripán es un colorante vital que se introduce en el interior de las células que presentan ruptura o daño en la membrana plasmática. Las células que aparecen en el microscopio, de color azul, son consideradas no viables²².

²² GIL-LOYZAGA PEDRO, Ob. Cit. Pág. 52

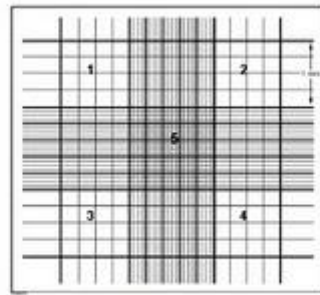


Figura 1. Representación de los ejes de flujo en la cámara de flujo.

E) RPMI 1640

e.1. Definición: es una mezcla de sales enriquecida con aminoácidos y otros componentes esenciales para el crecimiento celular.

e.2. Acción : Actúa como una solución nutritiva en cultivo celular.

e.3. Indicación: se destina al cultivo de células humanas y de otros animales. Este medio es distribuido deshidratado, en polvo o como líquido. La presentación en polvo tiene la ventaja de mantenerse estable por más de 24 meses cuando conservado bien cerrado y refrigerado. Otra gran ventaja de este medio es la constancia de resultados cuando se programan cultivos celulares a largo plazo, utilizando en ese caso un mismo lote. El MEDIO RPMI 1640, por no tener timidina en su composición, es muy utilizado para obtener la sincronización de la división celular²³.

e.4. Ventajas: Probado en por lo menos tres linajes celulares diferentes, siendo siempre determinados su pH y osmolaridad. Cada lote es liberado

²³http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=69776&id_seccion=2368&id_ejemplar=6976&id_revista=144

solo si está dentro de los límites adecuados, además de promover un óptimo crecimiento celular.

e.5. Características Físicoquímicas:

- Aspecto : Polvo rosáceo y homogéneo
- Tamaño de las Partículas : aproximadamente 20 micrones
- Solubilidad : solución límpida en la concentración de uso 1X
- pH a 25oC (Sin NaHCO₃) : 8,0 + 0,5
- pH a 25oC (Con NaHCO₃) : 8,1 + 0,5
- Osmolaridad (sin NaHCO₃) : 246 + 5%
- Osmolaridad (con NaHCO₃) : 290 + 5

e.6. Conservación: almacenar el medio en polvo o preparado líquido entre 2 y 6oC. Si esas condiciones no son mantenidas, podrán ser observadas las siguientes alteraciones:

1. Cambios de color
2. Granulaciones
3. Insolubilidad
4. Alteración de pH
5. Incapacidad de mantener la integridad celular bajo condiciones normales.²⁴

e.7. Preparación: El medio RPMI 1640 en polvo es extremadamente higroscópico y debe ser protegido del medio ambiente. No se

• ²⁴ http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2007_n2/pdf/a08.pdf

recomiendan preparaciones de concentraciones mayores a las especificadas, debido a la gran posibilidad de formación de precipitados.

1. Medir aproximadamente 90% del volumen a ser preparado de agua tridestilada (15 - 20oC).
2. Adicionar lentamente el polvo agitando constantemente. NO CALIENTE EL AGUA
3. Después que el polvo este disuelto, agregue 2,0g de bicarbonato de sodio al 5,6% por litro.
4. Agregue antibióticos u otras sustancias que crea que sean necesarias
5. Pude obtenerse el pH de acuerdo a lo deseado, utilizando HCl 1N o NaOH 0,1N o gasificando con CO₂.
6. Completar el volumen con agua tridestilada y esterilizar por filtración en membranas de 0,22m, utilizando presión positiva.

e.8. Composición Medio Rpmi 1640

SALES INORGÁNICAS	mg/L	L-triptofano	5,00
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	100,00	L-prolina	20,00
KCL	400,00	L-tirosina	28,33
MgSO ₄ .7H ₂ O	100,00	L-serina	30,00
NaCl	6.000,00	L-valina	20,00
NaHCO ₃	2.000,00	L-treonina	20,00
Na ₂ HPO ₄	800,00		
AMINOÁCIDOS	mg/L	VITAMINAS	mg/L
L-arginina.HCL	200,00	biotina	0,200
L-asparigina.H ₂ O	50,00	pantotenato de calcio	0,250
L-ácido aspártico	20,00	cloruro de colina	3,000
L-cistina	65,20	ácido fólico	1,000
L-ácidoglutâmico	20,00	inositol	35,000
		nicotinamida	1,000

L-glutamina	300,00	ácido p-aminobenzóico	1,000
glicina	10,00	piridoxina.HCL	1,000
L-histidina.HCL.H2O	15,00	riboflavina	0,200
hidroxiprolina	20,00	tiamina.HCL	1,000
L-isoleucina	50,00	vitaminaB12	0,005
L-leucina	50,00		
L-lisina.HCL	40,00	OTROS COMPONENTES	mg/L
L-metionina	15,00	glucosa	2.000,00
L-fenilalanina	15,00	glutaciona	1,00
		rojo de fenol	5,00

F) Ligamento Periodontal

f.1. Generalidades

El ligamento periodontal es una delgada capa de tejido conectivo fibroso, que por medio de sus fibras une el elemento dentario al hueso alveolar que lo aloja. Sus fibras principales se insertan por un lado en el cemento y por el otro en la placa cribosa del hueso alveolar. El ligamento periodontal tiene diferentes denominaciones, entre las que tenemos: periodonto, gonfosis, membrana periodontal, ligamento alveolo dental y desmodonto²⁵.

f.2. Ubicación

Se encuentra ubicado en el espacio periodontal, que está localizado entre la porción radicular del elemento dentario y la compacta periodóntica del hueso alveolar²⁶.

²⁵ WOLF HERBERT F. "Periodoncia", Pág. 62

²⁶ Ibid. Pág. 63

f.3. Límites:

A nivel del ápice dentario el conectivo periodontal se pone en contacto con el conectivo pulpar, mientras que en la parte superior se relaciona con el corion gingival²⁷.

f.4. Dimensiones:

Varía notablemente de un individuo a otro, entre los distintos elementos dentarios, y aun en las diferentes zonas de un mismo diente. En general, se acepta que su espesor oscila entre los 0,10 y 0,38 mm. El espesor del ligamento periodontal disminuye con la edad (tiene un ancho promedio de unos 0,20mm en individuos jóvenes y de 0,15mm en personas mayores de cincuenta años), y aumenta con la función masticatoria (es más ancho en dientes funcionales y más delgado en dientes infuncionales o retenidos). Estudios realizados sobre el espesor del ligamento periodontal en un mismo diente determinaron que existe una zona más angosta, que a causa de su poder de fijación actúa como eje de movimiento respecto a las zonas más anchas. Esta zona más angosta que actuaría como zona de apoyo o palanca de los movimientos laterales se llama "fulcrum" y se ubica hacia la mitad de la raíz clínica, por lo general más cerca del ápice; en concreto en la unión del tercio medio con el tercio apical²⁸.

f.6. Ancho

Es un dato importante de recordar desde el punto de vista radiográfico, ya que lo normales: mayor anchura en el extremo apical y cervical y más

²⁷ RASPALL GUILLERMO, "Cirugía Oral e Implantología". Pág. 202

²⁸ WOLF HERBERT F. Ob. Cit. Pág. 65

angosto en la parte central. Si lo anteriormente expuesto esta alterado, se debe seguramente a la presencia de alguna patología periodontal²⁹.

f.7. Origen Y Desarrollo

Con el desarrollo de la raíz del diente se inicia la formación del ligamento. La estructura definitiva se adquiere una vez que el elemento dentario ocluye con su antagonista. El saco dentario provee el tejido mesenquimático, este formará el ligamento periodontal. Al principio se observa un tejido laxo (areolar) que se transforma más tarde en un tejido conectivo fibroso (denso) por un aumento de las fibras colágenas y una disminución de las células y vasos sanguíneos. Cuando el elemento dentario entra en oclusión las fibras de la membrana periodontal forman grupos bien definidos (llamados fibras principales), motivo por el cual esta estructura pasa a llamarse ligamento periodontal. Este se adapta al nuevo estado funcional con sus haces colágenos correctamente organizados: adquiere entonces una forma arquitectónica definitiva, aunque es objeto de continua remodelación. Las células mesenquimáticas de la capa interna del saco dentario darán origen:

A los cementoblastos, que depositarán cemento sobre la dentina radicular del diente en desarrollo. A los fibroblastos, que se verán comprometidos por su función en la formación del ligamento. A los osteoblastos que sintetizarán la matriz del hueso alveolar, también en desarrollo³⁰.

f.8. Células

El ligamento periodontal, si bien es un tejido conjuntivo fibrilar, presenta una alta densidad celular, dentro de las cuales predominan los

²⁹ RASPALL GUILLERMO, Ob. Cit. Pág. 205

³⁰ WOLF HERBERT F. Ob. Cit. Pág. 68

fibroblastos que representan el 20% del total. Desde el punto de vista funcional dividimos a las células de la siguiente manera³¹:

a) Células formadoras:

- Fibroblastos: Célula que produce la sustancia que conforma el tejido conectivo, incluyendo el colágeno, los proteoglicanos y la elastina. Dentro de su importancia encontramos su alto grado de recambio, pues los haces de colágeno que lo conforman son remodelados, removidos y reemplazados de modo constante. Dentro del ligamento son los denominados fibroblasto o fibroclasto, según el momento funcional en que se encuentren, el único tipo celular que realice la síntesis y la degradación del colágeno. La síntesis implica la participación del RER y el complejo de Golgi en la producción y liberación de moléculas de tropocolágeno, las cuales se polimerizan extracelularmente para formar las microfibrillas y luego las fibras de colágeno. Según algunos autores el fibroblasto participaría en la configuración extracelular de las fibras de colágeno. La degradación involucra dos fases:

1. La síntesis y posterior liberación de la colagenasa.
2. La fagocitosis por parte de los fibroblastos por medio de sus lisosomas.

Se ha comprobado que existe un equilibrio fisiológico entre la elaboración y degradación de los componentes para conservar la estructura normal del ligamento.

³¹ GIL-LOYZAGA PEDRO, Ob. Cit. Pág. 70

- Ultraestructuralmente un fibroblasto contiene en el citoplasma: RER, aparato de Golgi, mitocondrias, vesículas secretoras, microtúbulos y microfilamentos muy desarrollados. Su núcleo sería algo grande y elíptico, presentando cromatina laxa y nucleolos. Webb ha descrito en los fibroblastos del ligamento periodontal la coexpresión de vimentina y citoqueratina durante la fase de erupción. Después de la erupción desaparece la expresión de citoqueratina. Los fibroblastos se disponen paralelos a los haces de fibras y en apariencia las envolverían. Su adherencia a las fibras sería por la presencia de la fibronectina, quien guía el desplazamiento celular fibroblástico durante la erupción. Los fibroblastos del ligamento periodontal presentan, dos receptores: el EGF y la IL-1. El incremento de IL-1 estimula la actividad sintética del fibroblasto que entre otros productos produce colagenasa e IL-6. Esta relación entre la producción de IL-1 e IL-6 puede ser importante en la respuesta del tejidos a las cargas ortodóncicas. Estudios recientes indican que los fibroblastos del ligamento periodontal elaboran y segregan *in vivo* e *in vitro* la proteína fijadora del calcio S100-A4. Dicha proteína es una de los responsables de inhibir la mineralización en el espacio extracelular del ligamento periodontal. El ciclo de renovación del fibroblasto periodontal es de 45 días, y la tasa promedio que se renuevan por día es de 2%³².

³² BARRERA LÓPEZ Reyna Araceli. 2012. Tesis de diplomado para Formación de Coordinadores Hospitalarios de Donación de Órganos y Tejidos con Fines de Trasplante: Estandarización de un método de análisis de viabilidad celular para aloinjertos humanos de piel preservados con fines de trasplante. Pág. 55

- **Osteoblastos:** Son células que se encuentran en el ligamento, cubriendo la superficie periodontal del hueso alveolar. Funcionalmente existen dos tipos de osteoblastos, los activos que sintetizan laminillas óseas y los inactivos o de reserva que serían activados por las fuerzas tensionales ortodóncicas.
- **Cementoblastos:** Son células que distribuyen en el cemento, en especial en la zona cementógena³³.

b) Células resortivas:

- **Osteoclastos:** Su presencia en el tejido normal se debe a que permanentemente hay procesos de resorción y aposición.
- **Cementoclastos:** Células que solo aparecen en ciertos procesos patológicos o durante la rizoclasia fisiológica de los dientes temporales³⁴.

c) Células defensivas:

- **Macrófagos:** Son células provistas de abundantes lisosomas, que por su capacidad de ingerir, destruir y digerir, desempeñan una función de desintoxicación y defensa del huésped. Representan el 4% del ligamento periodontal, su distribución en el ligamento es heterogéneo.
- **Mastocitos:** Células que se hallan cerca de los vasos sanguíneos, contienen gránulos densos de heparina, histamina y enzimas proteolíticas.

³³ WOLF HERBERT F. Ob. Cit. Pág. 70

³⁴ Ibid. Pág. 71

- **Eosinófilos:** Es un leucocito de tipo granulocito pequeño derivado de la médula ósea, que tiene una vida media en la circulación sanguínea de 3 a 4 días antes de migrar a los tejidos en donde permanecen durante varios días. Su desarrollo en la médula ósea es estimulado por diversas interleucinas, como la IL-5, la IL-3 y el factor estimulante de colonias granulocito-macrófago. Es característico su núcleo bilobulado, al igual que sus distintivos gránulos citoplásmicos. Estas proteínas granulares son responsables de muchas funciones proinflamatorias, principalmente en la patogénesis de las enfermedades alérgicas, como célula efectora de hipersensibilidad inmediata, así como en la muerte de parásitos. Una de las enzimas más importantes que contienen sus gránulos es la histaminasa, que se encarga de hidrolizar la histamina, regulando así la respuesta alérgica³⁵

d) Células epiteliales de Malassez:

Son frecuentes en ligamento, en la superficie cementaria. Estas células son restos desorganizados de las vainas epiteliales de Hertwig. Su frecuencia y distribución cambian con la edad, por ejemplo: son más frecuentes en niños, y hasta la segunda década de la vida se encuentran en la región apical, con posterioridad se localizan en la proximidad gingival. Son células no funcionales que generalmente desaparecen, si persisten indicaría que no son totalmente inactivas: Al ser activas pueden proliferar y producir quistes, tumores o acúmulos calcificados. Estas

³⁵ VICO ÁVALOS Manuel. 2009. Tesis doctoral: Evaluación de la Viabilidad y caracterización génica de células endoteliales transdiferenciadas a partir de células madre de la gelatina de Wharton. Pág. 75

células pueden ser escamosas o cilíndricas con un núcleo prominente de cromatina densa³⁶.

e) Células madres ectomesenquimáticas:

Se encuentra en gran cantidad en el tejido conectivo periodontal. Son células pluripotenciales que se sitúan alrededor de los vasos sanguíneos. Tras la división de estas células, una célula hija permanece en la zona periodontal vascular y otra se diferencia hacia fibroblasto, cementoblasto u osteoblasto³⁷.

f.9 Fibras

El ligamento periodontal se encuentran distintos tipos de fibras: colágenas, reticulares, elásticas, oxitalánicas y de elaunina.

1. Fibras colágenas: Representan la mayor parte del componente fibrilar. Las fibras están constituidas por colágeno tipo I, III y V. Permiten un cierto grado de movimiento al diente, a la vez, pone resistencia a la tensión, se opone a fuerzas de mayor intensidad. A las fibras con dirección definida se les denomina fibras principales. A las que se encuentran desordenadamente entre las principales, se les ha denominado fibras secundarias.

a) Fibras Principales: soportan las fuerzas masticatorias transformando estas fuerzas en tensión sobre el hueso alveolar.

Se dividen en los siguientes grupos:

- Grupo crestalveolar (u oblicuas ascendentes):

³⁶ WOLF HERBERT F. Ob. Cit. Pág. 72

³⁷ Ibid. Pág. 73

- Se extienden desde la cresta alveolar hasta debajo de la unión cemento adamantina.
- Función: evita principalmente los movimientos de extrusión.
- Grupo horizontal o de transición:
 - Va en ángulo recto, desde el cemento al hueso por debajo del grupo anterior.
 - Función: resistir las fuerzas laterales y horizontales con respecto al diente.
- Grupo oblicuo descendente:
 - Es el más numeroso. Va en dirección descendente desde el hueso hacia el cemento.-Son las más potentes y responsables de mantener al diente en su alveolo.
 - Función: soporta el grueso de las fuerzas masticatorias y evita los movimientos de intrusión.
- Grupo apical:
 - Irradian desde la zona del cemento que rodea al foramen apical hacia el fondo del alveolo.
 - Función: evitan los movimientos de lateralidad y extrusión; y amortiguan los movimientos de intrusión.

- Grupo rradicular
 - Se los encuentra en los elementos dentarios con más de una raíz.
 - Va desde la cresta del tabique interradicular hacia el cemento en forma de abanico.
 - Función: evitar los movimientos de lateralidad y rotación³⁸

f.10. Funciones del ligamento:

Las funciones del ligamento periodontal son de tipo físico, formativo y de remodelación, nutricionales y sensitivas

a. Funciones físicas:

Proveer un revestimiento de tejido blando para proteger los vasos y nervios de lesiones por fuerzas mecánicas.

2. Transmisión de las fuerzas oclusales al hueso.

3. Inserción del diente al hueso.

4. Conservar los tejidos gingivales en relación adecuada con los dientes.

5. Resistencia contra el impacto de las fuerzas oclusales(amortiguamiento).

b. Función Formativa:

Las células del ligamento intervienen en la formación y resorción de cemento y hueso, que ocurre en el movimiento dental fisiológico, en el acomodamiento del periodonto ante fuerzas oclusales y en reparación de lesiones.

³⁸ WOLF HERBERT F. Ob. Cit. Pág. 75

c. Función De Remodelación

El ligamento periodontal experimenta remodelación constante, donde las células y fibras viejas se descomponen y son sustituidas por otras nuevas.

d. Función Sensitiva Y Nutricional

El ligamento periodontal aporta nutrientes al cemento, hueso y la encía por medio de los vasos sanguíneos además de proveer drenaje linfático. Se encuentra muy inervado por fibras nerviosas sensitivas con capacidad de transmitir sensaciones táctiles, presión y dolor por las vías³⁹.

f.11. Vascularización e inervación

Está ricamente inervado e irrigado con un aporte linfático abundante. Sus estructuras vasculares y nerviosas se encuentran contenidas en el tejido intersticial, que está compuesto por tejido conectivo laxo. Dentro del ligamento se forma una rica red de arteriolas, capilares, anastomosis arterio venosas y estructuras glomerulares. El plexo vascular es evidente en las proximidades del hueso y presenta mayor desarrollo en el tercio apical y cervical. Las venas drenan la sangre por vasos de dirección axial en la zona peri apical (principalmente).

El aporte sanguíneo periodontal es mayor en la región de molares y a nivel de las superficies mesial y distal. Los vasos linfáticos llevan la linfa desde el ligamento hacia el hueso alveolar, y, esta es drenada hacia los ganglios linfáticos de la cabeza y cuello.

³⁹ http://www.medicoenlared.com/medicoenlared/imagenes/temas/enfermedad_periodontal.pdf

Más del 50% del volumen vascular, reside en el tercio apical y disminuye progresivamente hacia coronal 50.4% en la zona apical; 30.9% en la zona media y 18.7% en la zona coronaria. El tercio medio es el de mayor volumen vascular (78%); el tercio interno, 9%; y el tercio, externo ,13%.La inervación sensorial proviene de los nervios maxilar superior o dentario inferior. Hay nervios que se ramifican desde la región peri apical hacia gingival y otros penetran a través de los forámenes de los tabiques del hueso alveolar⁴⁰.

3.2 Análisis de Antecedentes Investigativos

a. TITULO: “Glicoproteínas y viabilidad celular en campylobacter jejuni. relación del proceso de glicosilacion con el proceso de supervivencia”

AUTOR: Girbau Iturralde, Cecilia

RESULTADOS: Campylobacter jejuni está considerado como una de las principales causas de gastroenteritis en humanos. Bajo condiciones ambientales adversas como la limitación nutricional o las bajas temperatura, es capaz de entrar en el estado viable no cultivable. (VNC) como estrategia de supervivencia. Bajo este estado carece de capacidad de división pero mantiene actividad metabólica detectable. Además del interés científico intrínseco, el estudio del estado VNC cobra interés a la hora de valorar sus repercusiones en salud pública. Actualmente la existencia de glicoproteínas procariotas es un hecho firmemente establecido. El sistema de glicosilación general (n-glicosilación) de C.jejuni es dependiente del locus genético pgl, siendo la proteína PglB el enzima clave del locus. Entre los métodos existentes para el estudio de

⁴⁰ <http://es.scribd.com/doc/526256/LIGAMENTO-PERIODONTAL>

las glicoproteínas de *C. jejuni* destaca la lectina SBA por su afinidad por el azúcar (N-acetilgalactosamina) que las compone. El principal objetivo de esta Tesis ha sido estudiar la relación existente entre la N-glicosilación y la supervivencia en *C. jejuni*. Para ello se construyó una cepa con el gen *pglB* inactivado por inserción de un casete de resistencia a kanamicina. La capacidad de supervivencia de la cepa mutante, claramente reducida frente a la de la cepa salvaje, puso de manifiesto la implicación de la N-glicosilación en la supervivencia. Por otra parte, se estudiaron los perfiles de glicoproteínas reactivas frente a la lectina SBA de la cepa mutante y de la cepa salvaje tanto en estado cultivable como VNC. La cepa mutante presentó una clara disminución de la capacidad de glicosilar proteínas, confirmando el papel clave del gen *pglB* en el proceso de glicosilación. La ausencia de glicosilación de ciertas proteínas (serin -proteasa, *SucD* o *PEB3*) en la cepa mutante, podría justificar su menor capacidad de supervivencia. Un último objetivo fue la identificación de glicoproteínas de ambas cepas y estados. La identificación de las proteínas *ADK*, *DnaK*, *CheW*, *PEB4*, *Ycel*, riboflavina cintaza, serin-proteasa y *SucD*, identificadas por primera vez como glicoproteínas de *C. jejuni* en este trabajo, contribuye a ampliar el conocimiento de su glicoproteoma manifestando a su vez la necesidad de ahondar en su estudio.

b. TÍTULO: “SEÑALES CITOSOLICAS DE CALCIO QUE PROMUEVEN LA VIABILIDAD CELULAR”

AUTOR: Orozco Sanabria Camilo Alberto.

RESULTADOS:

En esta tesis doctoral se ha estudiado el efecto de la elevación citosólica de calcio generada por distintos estímulos despolarizantes, sobre la capacidad para inducir respuestas celulares capaces de prevenir la muerte celular y su posible aplicación para el desarrollo de nuevos fármacos neuroprotectores.

c. TITULO: Odontología aplicada al deporte, una especialidad que permite elevar el rendimiento académico y calidad de vida en los atletas.

AUTOR: Rubén Edel Navarro.

RESULTADOS: Surge como una necesidad para la salud integral de los atletas de alta competencia, sobre todo en los deportes de contacto, que brinda herramientas al Odontólogo para prevenir, evaluar y tratar las lesiones orofaciales ocurridas en la actividad deportiva, contribuyendo al mejoramiento del rendimiento deportivo y calidad de vida de los deportistas. Presentar el rol del odontólogo en un equipo de salud deportiva.

d. TITULO: “Estudio celular y molecular en cultivos de fibroblastos tratados con fármacos inductores de agrandamiento gingival”.

AUTOR: Albert Ramírez Ramiz.

RESULTADOS Los fibroblastos gingivales de cultivos primarios son sensibles a fármacos inductores de Agrandamiento gingival, estos no provocan hiperplasia gingival secundaria a la proliferación celular de fibroblastos, además de provocar un incremento significativo de la transcripción del TGF β , colágeno y colagenasa.

e. TÍTULO: “Histomorphometric And Microscopic Evaluation Of Human Teeths Periodontal Ligament, Contained In Different Storage Media”

AUTOR: Ricardo J. Cabrales Salgado

RESULTADOS De acuerdo a los parámetros utilizados histomorfológicamente, los diferentes grupos mostraron las siguientes características:

-Grupo I (control) los especímenes presentaron fibras longitudinales dispuestas en vigas y organizada. Las características de células también fueron normales, y es posible apreciar la presencia de fibroblastos maduros. Estos aspectos han caracterizado en gran medida la preservación de estas estructuras.

-Grupo II (solución salina) mostró, tanto en relación con las fibras, como en las características celulares, propiedades similares a las observadas en el grupo control (Grupo I).

-Grupo III (leche tipo C) mostraron características normales de células, como los grupos I y II. En relación con el colágeno, cabe señalar que éste, a pesar de tener algún grado de degeneración, aún conservaba una disposición en forma de paquetes.

-Grupo IV (leche de tipo B) se consideró como un medio regular, a pesar de presentar las células dentro de los límites normales (fibroblastos maduros), la disposición de las fibras de colágeno no se caracterizan por la formación de bloques organizados como los que se observan en los grupos (I, II y III), y muestra en vez de éste, un aspecto homogéneo, y con menor intensidad de tinción.

-Grupo V (conservación "en seco") se presentó el mayor compromiso de los componentes del ligamento periodontal, tanto en relación a las células y fibras, por lo que clasifica como un medio pobre. Los núcleos fueron los más intensamente teñidos, y algunos picnóticos. Con respecto a las fibras, puede observar las zonas más extensas de hialinización, privando a la organización de cursos de agua, en contraste con la del grupo control (Grupo I).

En la comparación por parejas, el grupo control vs solución fisiológica nos muestra resultados significativos ($P=0.05$), considerándose estas dos sustancias muy similares como medios de conservación. Al igual que la leche tipo B vs seco, estas arrojaron resultados significativos ($P=0.05$), los cuales también presentan similitud en sus características como medios de conservación. En las siguientes comparaciones control vs Leche C, Control vs Leche B, Control vs en Seco, Sol. Fisiológica vs Leche C, Sol. Fisiológica vs Leche B, Sol. Fisiológica VS en Seco, Leche C vs Leche B arrojaron resultados no significativos.

4. HIPÓTESIS

Dado que la leche descremada tiene osmolaridad fisiológica, pH balanceado, es estéril, provee de nutrientes a los fibroblastos del ligamento periodontal y es de fácil disponibilidad:

Es probable que la leche sea más efectiva en la conservación de la viabilidad celular del ligamento periodontal, que la saliva, medio ambiente y el suero.

CAPITULO II

PLANTEAMIENTO OPERACIONAL



1. TÉCNICA, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1 TÉCNICA

a) Identificación de las técnicas.

Se empleó la técnica de observación laboratorial microbiológica para recoger información de la variable respuesta (viabilidad celular), después de la aplicación de leche, suero fisiológico y leche evaporada.

La aseveración expuesta puede esquematizarse y completarse así:

VARIABLE INVESTIGATIVA	INDICADORES	PROCEDIMIENTOS ESPECÍFICOS	TÉCNICA
Viabilidad Celular del Ligamento Periodontal	Viable No viable	Cámara de contaje celular (Neubauer)	Observación laboratorial

Es posible determinar la densidad celular empleando la cámara de contaje celular (la cámara de Neubauer), que es un dispositivo en el que se coloca una muestra de suspensión a medir. El dispositivo presenta unas señales que determinan un volumen conocido (x milímetros). Al contar bajo el microscopio el número de partículas presentes en este volumen se puede determinar la densidad de partículas en la suspensión de origen.

Para tal motivo las piezas dentales fueron colocadas en saliva humana recolectada en el momento de la extracción, para el suero fisiológico y la leche evaporada se utilizaron frascos nuevos para cada recolección y el RPMI 1640 fue preparado minutos antes de las extracciones de las piezas dentales

1.2 INSTRUMENTOS

a) Instrumento Documental

Se utilizó la ficha e Observación Experimental elaborada en base a los indicadores de la variable respuesta y de acuerdo a las fases del experimento.

La estructura del instrumento es:

VARIABLE INVESTIGATIVA	INDICADORES	ITEMS
Viabilidad celular	Viable	1
	No viable	2

El modelo del instrumento figurara en Anexos del Proyecto.

b. Instrumentos mecánicos

- Autoclave
- Lupa
- Camara fotográfica
- Forceps
- Elevadores
- Portaguñas
- Microscopio óptico
- Pipetas
- Tubos de ensayo
- Papel absorbente
- Camara de Neubauer

2. CAMPOS DE VERIFICACIÓN

2.1 UBICACIÓN ESPACIAL

La investigación se realizó en el ámbito general del Campus de la Universidad Católica Santa María, en el ámbito específico de los laboratorios de microbiología.

2.2 UBICACIÓN TEMPORAL

La investigación se realizó en el semestre par del año 2011, tratándose por lo tanto de una investigación prospectiva y longitudinal.

2.3 UNIDADES DE ESTUDIO

a) **Opción:** Grupos

b) **Manejo Metodológico:**

b.1. Identificación de los Grupos:

Se trabajó con cuatro grupos:

- Grupo experimental 1, el cual recibió el influjo de la saliva
- Grupo experimental 2, el cual recibió el influjo del suero
- Grupo experimental 3, el cual recibió el influjo de la leche evaporada
- Grupo experimental 4, el cual recibió el influjo del medio RPMI 1640
- Grupo control, el cual se conservó al medio ambiente

b.2. Igualación de los Grupos:

a) Criterios de Inclusión.

Las unidades de estudio deberán mostrar las siguientes características clínicas.

- Piezas sin enfermedad periodontal
- No presentar ningún tipo de caries
- No haber recibido anestesia intracrevicular
- Piezas de Ratas de la misma camada
- Extracciones sin complicaciones quirúrgicas
- Dientes con la raíz completa

b) Criterios de exclusión.

- Dientes fracturados
- Dientes con enfermedad periodontal
- Dientes contaminados durante la manipulación

c) Criterios de eliminación

- Ratas muertas durante la sedación

b.3. Tamaño de los grupos

número de grupos	potencia	magnitud		
		pequeña $\omega^2 = .01$ f = .10	moderada $\omega^2 = .06$ f = .25	grande $\omega^2 = .14$ f = .40
3	.70	258	42	17
	.80	322	52	21
4	.70	221	36	15
	.80	274	45	18
5	.70	195	32	13
	.80	240	39	16
6	.70	175	29	12
	.80	215	35	14

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN

3.1 ORGANIZACIÓN.

Antes de aplicar la ficha de Observación se realizaran las siguientes actividades previas.

- Autorización del Director de los laboratorios de la UCSM.
- Coordinación con los encargados de cada laboratorio.
- Preparación de las unidades de Estudio
- Supervisión de las Unidades e estudio
- Prueba piloto

3.2 RECURSOS.

a. Recursos Humanos.

a.1 Investigador.

Christian Omar Gutierrez Carbajal

a.2. Asesor.

Dr. Alberto Alvarado Aco

b. Recursos Físicos.

Representados por la infraestructura de los laboratorios de Biotecnología de la UCSM

c. Recursos Económicos.

El presupuesto para la recolección fue ofertada por el investigador

d. Recursos Institucionales.

UCSM

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR RESULTADOS

4.1 A NIVEL DE PROCESAMIENTO DE LOS DATOS.

El procesamiento fue de tipo manual y computarizado, acorde a las siguientes operaciones:

a. Clasificación:

La información obtenida a través de la aplicación de la Ficha de Observación fue ordenada en una Matriz de sistematización.

b. Recuento.

Se utilizó el recuento manual por paloteo, empleando para este procedimiento diferentes matrices de conteo en número y configuración similares a los futuros cuadros

c. Análisis.

Se recurrió a un análisis cuantitativo cuyo manejo estadístico será el siguiente:

Variable Investigativa	Indicadores	Tipo	Escala	Estadística Descriptiva	Prueba Estadística
Suero Fisiológico	PH				
Saliva Humana	Osmolaridad				
Leche Evaporada	Nutrientes				
RPMI 1640	Esterilidad				
	Disponibilidad				
Viabilidad Celular	Viable No Viable	Cuantitativa	Nominal	<ul style="list-style-type: none"> Distribución de frecuencias 	Tukey

d. Tabulación.

Se realizó cuadros de doble entrada

e. Graficación.

Se utilizó gráficas de polígonos de frecuencias.

4.2 A NIVEL DE ESTUDIO DE LOS DATOS

a. Metodología para Interpretar los Datos.

Los cuadros fueron interpretados jerarquizando los datos, comparándolos entre sí y apreciándolos críticamente.

b. Formas de Interpretación.

Se realizó una interpretación después de cada cuadro y una discusión final.

c. Nivel Interpretativo.

Relacional.

d. Operaciones Interpretativas.

Se empleó el análisis, la síntesis, la inducción y la deducción.

4.3 A NIVEL DE CONCLUSIONES.

Estas fueron formuladas en respuesta a los objetivos e hipótesis.

4.4 A NIVEL DE RECOMENDACIONES.

Estas asumieron la forma de sugerencias destinadas fundamentalmente y complementar la investigación con otros estudios.



CAPÍTULO III

RESULTADOS

TABLA N° 1
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS SIN MEDIO DE CONSERVACIÓN POR
TIEMPO

Sin Medio de Conservación	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
30 minutos (a)	42.87	2.85	2572500	171026.31
60 minutos (b)	37.62	3.33	2257500	200124.96
90 minutos (c)	27.00	3.16	1620000	189736.65
120 minutos (d)	23.75	1.75	1425000	105152.94
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	a > b > c = d a > d		a > b > c = d a > d	

Fuente: Elaboración Propia

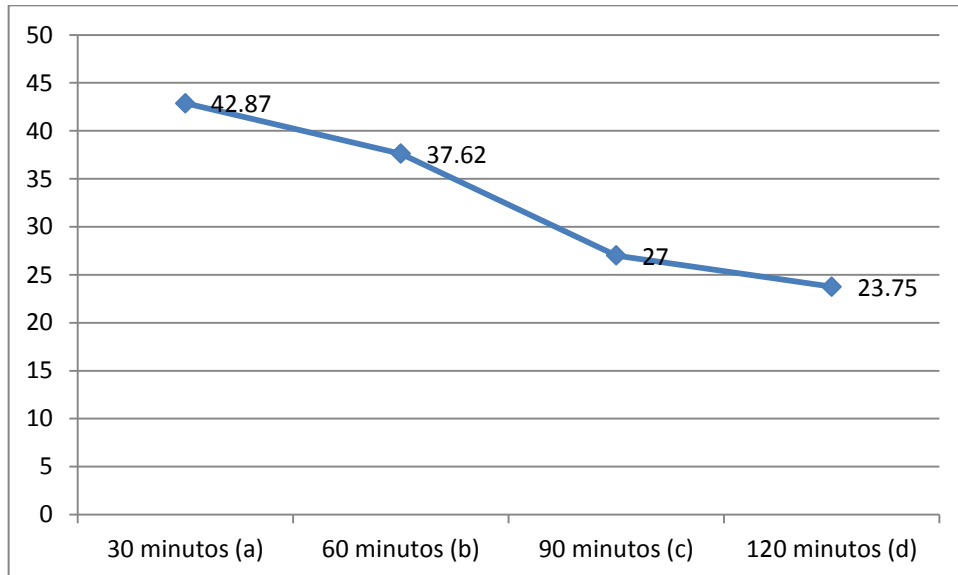
p = 0.000 (p ≥ 0.05) S.S.

La tabla N° 1 se puede observar como disminuye el número de células vivas presentes sin un medio de conservación a los 30, 60 y 90 minutos con una media de 42.87, 37.62, 27.00 respectivamente.

Mientras que a los 120 minutos hubo una media 23.75

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado menor al valor crítico.

GRÁFICA N° 1
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS SIN MEDIO DE CONSERVACIÓN POR
TIEMPO



Fuente: Elaboración Propia



CUADRO N°2

NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN UN MEDIO DE CULTIVO POR TIEMPO

Medio de Cultivo RPMI 1640	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
30 minutos (a)	44.87	1.88	2692500	113105.51
60 minutos (b)	41.87	3.18	2512500	190918.83
90 minutos (c)	38.25	2.12	2295000	127279.22
120 minutos (d)	35.25	2.71	2115000	162744.32
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	a = b > c = d a > d		a = b > c = d a > d	

Fuente: Elaboración Propia

p = 0.000 (p ≥ 0.05) S.S.

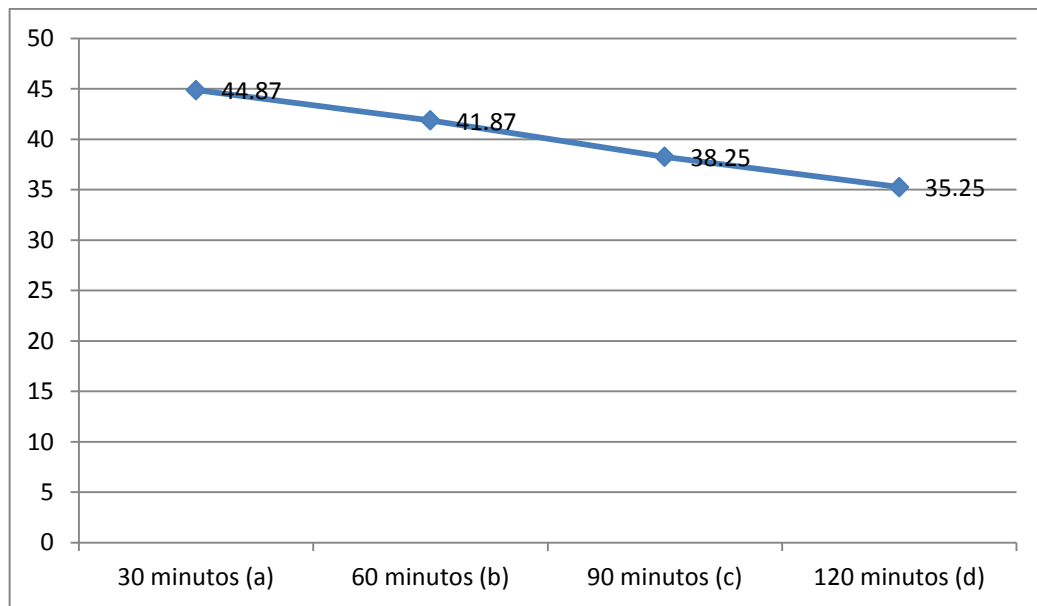
La tabla N° 2 se puede observar cómo se mantiene el número de células vivas presentes en el medio de cultivo RPMI 1640 entre los 30 y 60 minutos con una media de 44.87, 41.87 respectivamente

Mientras que a los 90 y 120 minutos hubo una media 38.25 y 35.25 respectivamente

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado menor al valor crítico.

GRÁFICA N°2

NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN UN MEDIO DE CULTIVO POR TIEMPO



Fuente: Elaboración Propia



CUADRO N° 3

NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN LECHE DESCREMADA POR TIEMPO

Leche descremada	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
30 minutos (a)	40.75	2.12	2445000	127279.22
60 minutos (b)	32.50	2.26	1950000	136067.21
90 minutos (c)	28.25	4.16	1695000	249971.42
120 minutos (d)	23.50	2.72	1410000	163532.43
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	a > b > c > d a > d		a > b > c > d a > d	

Fuente: Elaboración Propia

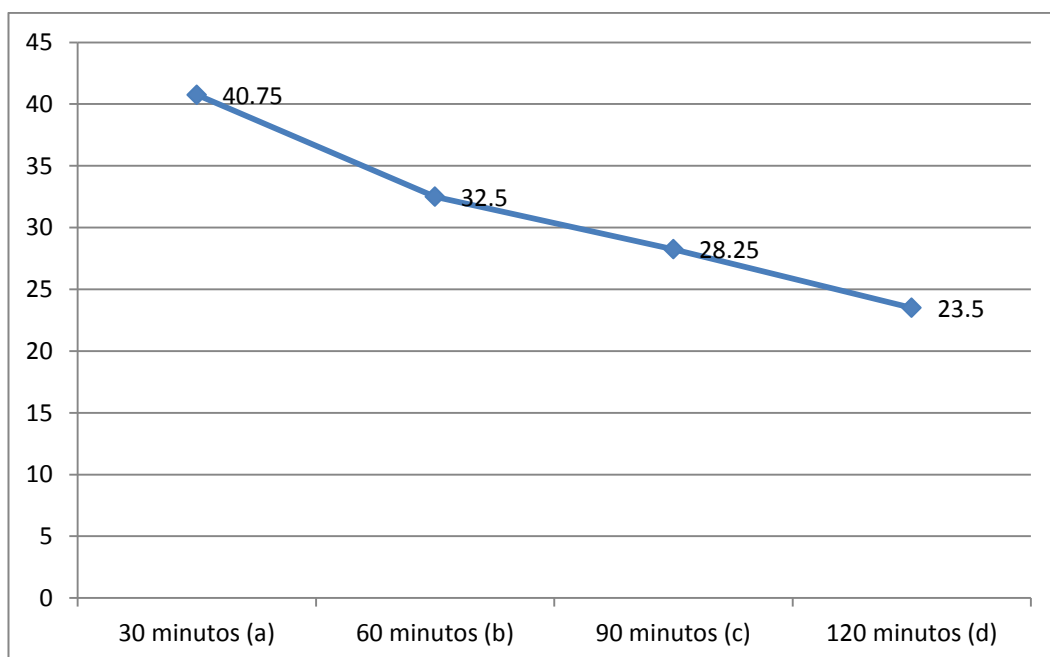
p = 0.000 (p ≥ 0.05) S.S.

La tabla N° 3 se puede observar como disminuye progresivamente el número de células vivas presentes en leche descremada entre los 30, 60, 90 y 120 minutos con una media de 40.75, 32.50, 28.25, 23.50 respectivamente.

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado menor al valor crítico.

GRÁFICA N°3

NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN LECHE DESCREMADA POR TIEMPO



Fuente: Elaboración Propia



CUADRO N°4
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN SUERO POR TIEMPO

Suero	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
30 minutos (a)	41.12	2.69	2467500	161753.78
60 minutos (b)	37.25	4.77	2235000	286406.30
90 minutos (c)	33.25	2.81	1995000	168946.31
120 minutos (d)	28.87	4.38	1732500	263371.00
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	a = b = c > d a > d		a = b = c > d a > d	

Fuente: Elaboración Propia

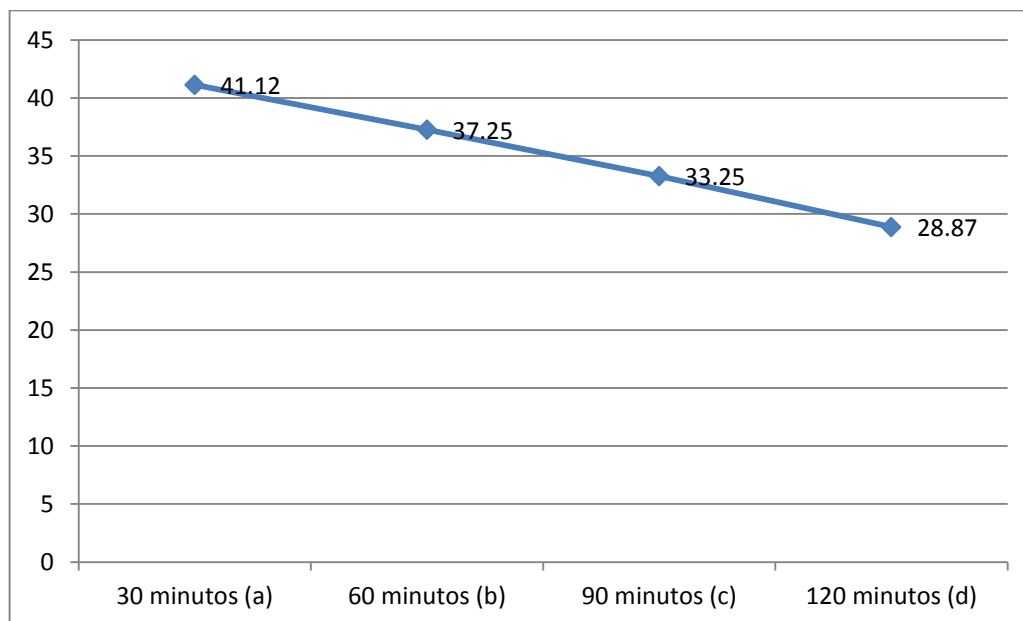
p = 0.000 (p ≥ 0.05) S.S.

La tabla N° 5 se puede observar como disminuye el número de células vivas presentes en suero a los 30, 60 y 90 minutos con una media de 41.12, 37.25, 33.25, respectivamente

Mientras que a los 120 minutos hubo una media 28.87

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado menor al valor crítico.

GRÁFICA N° 4
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN SUERO POR TIEMPO



Fuente: Elaboración Propia



CUADRO N° 5
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN SALIVA POR TIEMPO

Saliva	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
30 minutos (a)	41.62	4.20	2497500	252402.73
60 minutos (b)	37.00	4.17	2220000	250485.24
90 minutos (c)	34.75	2.49	2085000	149570.81
120 minutos (d)	31.62	3.77	1897500	226636.90
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	a = b = c = d a > d		a = b = c = d a > d	

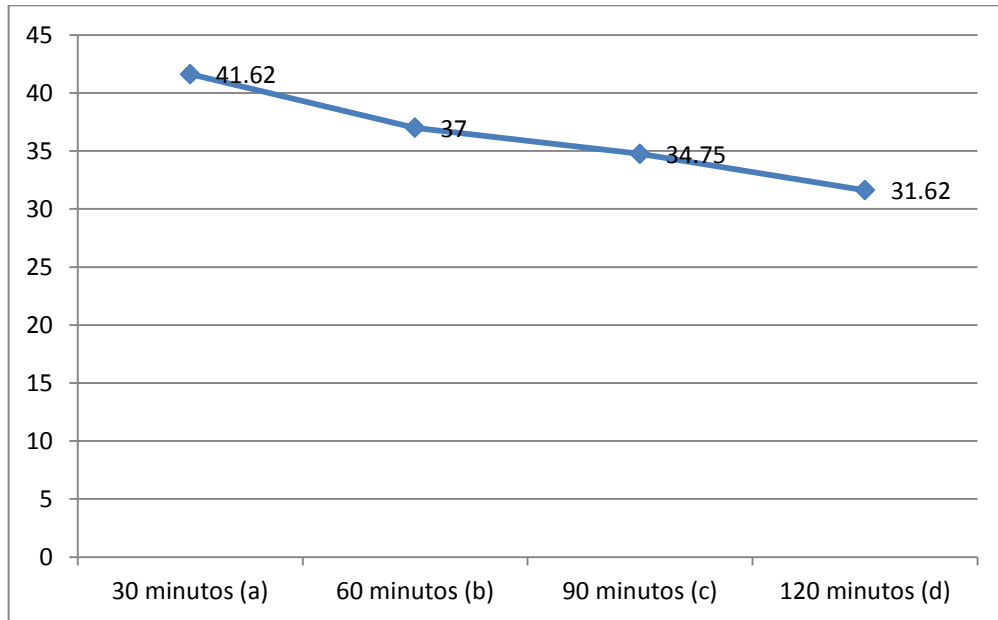
Fuente: Elaboración Propia

p = 0.000 (p ≥ 0.05) S.S.

La tabla N° 1 se puede observar como disminuye el número de células vivas presentes en saliva a los 30, 60, 90 y 120 minutos con una media 41.62, 37.00, 34.75, 31.62 respectivamente

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado menor al valor crítico.

GRÁFICA N°5
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS EN SALIVA POR TIEMPO



Fuente: Elaboración Propia



CUADRO N° 6
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 30 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN

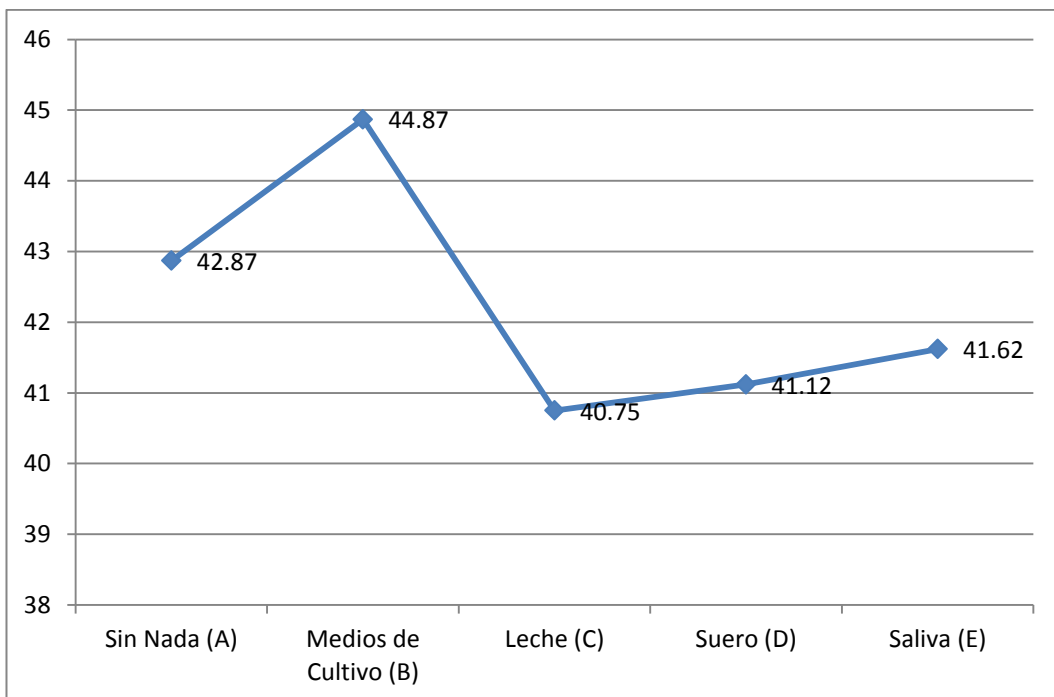
Grupo de Estudio	30 minutos			
	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
Sin Nada (A)	42.87	2.85	2572500	171026.31
RPMI 1640 (B)	44.87	1.88	2692500	113105.51
Leche (C)	40.75	2.12	2445000	127279.22
Suero (D)	41.12	2.69	2467500	161753.78
Saliva (E)	41.62	4.20	2497500	252402.73
P	0.154 (P ≥ 0.05) N.S.		0.154 (P ≥ 0.05) N.S.	
Tukey	A = B = C = D		A = B = C = D	

Fuente: Elaboración Propia p = 0.154 (p ≥ 0.05) N.S.

La tabla N° 6 se puede observar la cantidad de células vivas presentes en distintos medios de conservación a los 30 minutos, teniendo el valor más alto el medio de cultivo RPMI 1640 con una media 44.87 y el valor más bajo la leche descremada con 40.75.

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el medio de conservación a los 30 minutos tiempo no influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado mayor al valor crítico.

GRÁFICA N° 6
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 30 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN



Fuente: Elaboración Propia

TABLA N° 7
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 60 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN

Grupo de Estudio	60 minutos			
	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
Sin Nada (A)	37.62	3.33	2257500	200124.96
RPMI 1640 (B)	41.87	3.18	2512500	190918.83
Leche (C)	32.50	2.26	1950000	136067.21
Suero (D)	37.25	4.77	2235000	286406.30
Saliva (E)	37.00	4.17	2220000	250485.24
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	B = A = D = E > C		B = A = D = E > C	

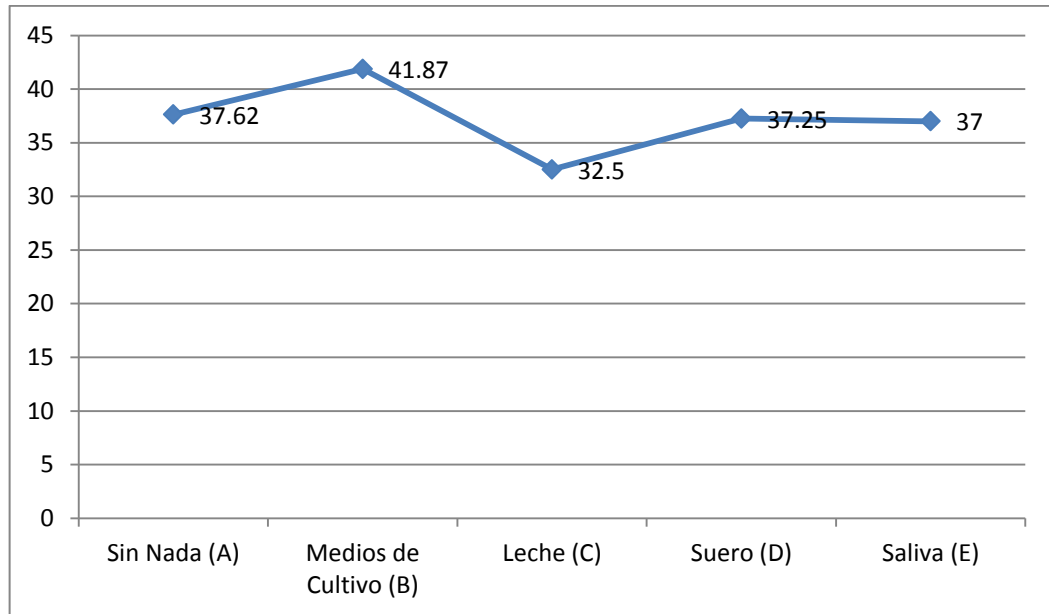
Fuente: Elaboración Propia

p = 0.00 (p ≥ 0.05) S.S.

La tabla N° 7 se puede observar la cantidad de células vivas presentes en distintos medios de conservación a los 60 minutos, teniendo el valor más alto el medio de cultivo RPMI 1640 con una media 41.87 y el valor más bajo la leche descremada con 32.50.

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el medio de conservación a los 60 minutos tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado mayor al valor crítico.

GRÁFICA N° 7
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 60 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN



Fuente: Elaboración Propia



CUADRO N° 8
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 90 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN

Grupo de Estudio	90 minutos			
	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
Sin Nada (A)	27.00	3.16	1620000	189736.65
RPMI 1640 (B)	38.25	2.12	2295000	127279.22
Leche (C)	28.25	4.16	1695000	249971.42
Suero (D)	33.25	2.81	1995000	168946.31
Saliva (E)	34.75	2.49	2085000	149570.81
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	B = E = D > C = A		B = E = D > C = A	

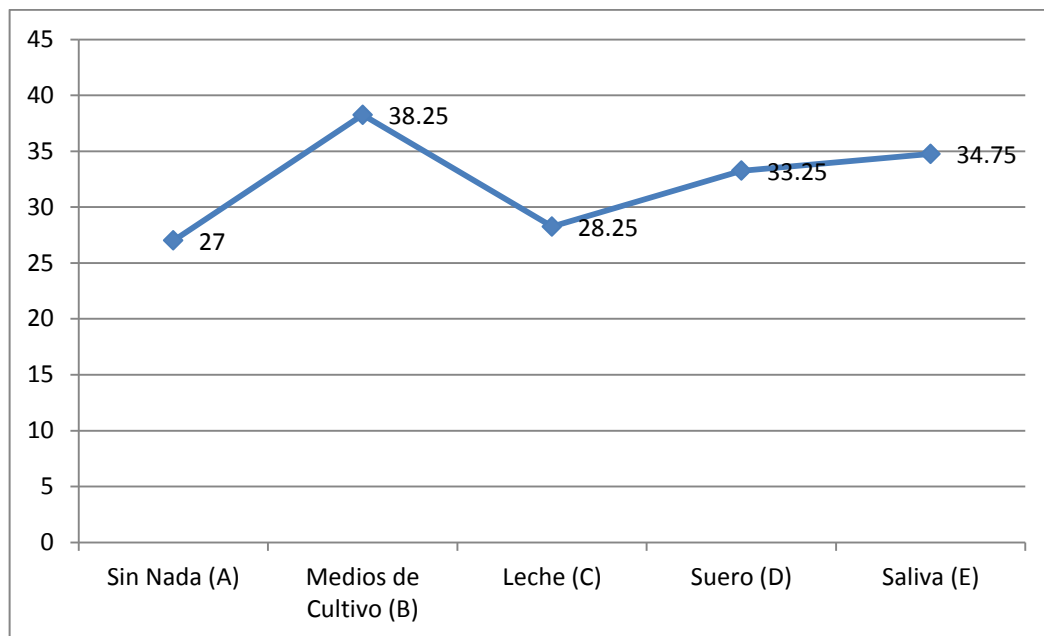
Fuente: Elaboración Propia

p = 0.00 (p ≥ 0.05) S.S.

La tabla N° 8 se puede observar la cantidad de células vivas presentes en distintos medios de conservación a los 90 minutos, teniendo el valor más alto el medio de cultivo RPMI 1640 con una media 38.25 y los valores más bajos sin medio de conservación y la leche descremada con 27.00 y 28.25 respectivamente.

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el medio de conservación a los 90 minutos tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado mayor al valor crítico.

GRÁFICO N° 8
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 90 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN



Fuente: Elaboración Propia

CUADRO N° 9
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 120 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN

Grupo de Estudio	120 minutos			
	Células por Campo		Células por 3 milímetros	
	Media	Desviación Estándar	Media	Desviación Estándar
Sin Nada (A)	23.75	1.75	1425000	105152.94
RPMI 1640 (B)	35.25	2.71	2115000	162744.32
Leche (C)	23.50	2.72	1410000	163532.43
Suero (D)	28.87	4.38	1732500	263371.00
Saliva (E)	31.62	3.77	1897500	226636.90
P	0.000 (P < 0.05) S.S.		0.000 (P < 0.05) S.S.	
Tukey	B = E = D > A = C		B = E = D > A = C	

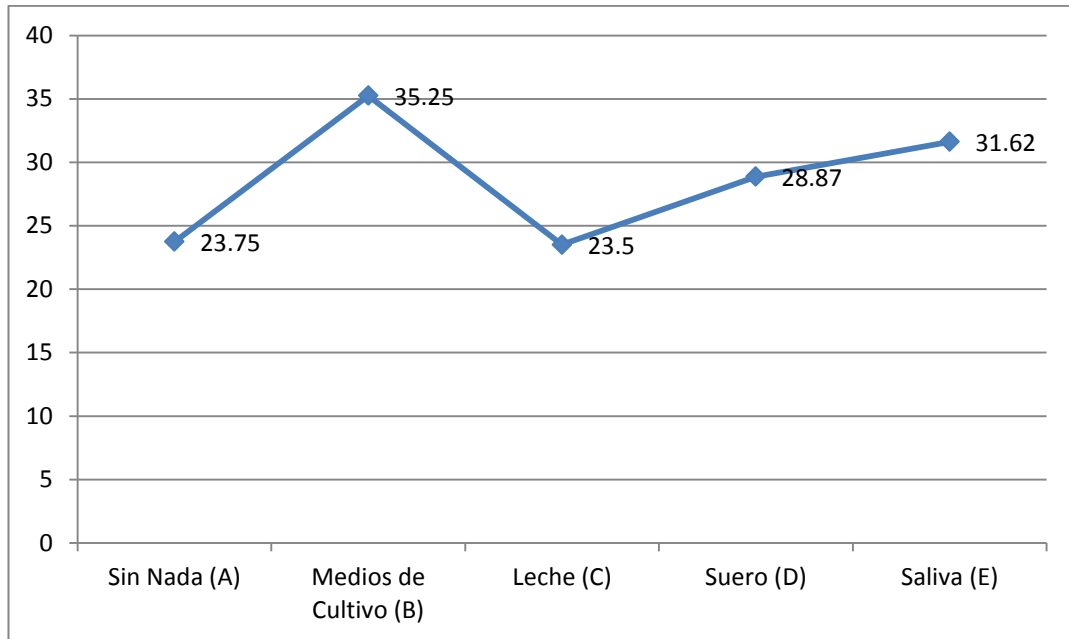
Fuente: Elaboración Propia

p = 0.00 (p ≥ 0.05) S.S.

La tabla N° 9 se puede observar la cantidad de células vivas presentes en distintos medios de conservación a los 120 minutos, teniendo el valor más alto el medio de cultivo RPMI 1640 con una media 35.25 y los valores más bajos, sin medio de conservación y la leche descremada con 23.75 y 23.50 respectivamente.

Consecuentemente aplicando la prueba estadística de Tukey se observó que el medio de conservación a los 90 minutos tiempo si influye en la viabilidad celular por haber obtenido un resultado mayor al valor crítico.

GRÁFICA N° 9
NUMERO DE CÉLULAS VIVAS A LOS 120 MINUTOS EN LOS DISTINTOS
MEDIOS DE CONSERVACIÓN



Fuente: Elaboración Propia

DISCUSIÓN

En la presente investigación, el medio de conservación tienen una ingerencia decisoria en la condición de la viabilidad celular de las células del ligamento periodontal, influyendo significativamente en el siguiente orden: el medio de cultivo, el suero y la saliva.

La literatura se ha ocupado de las cuestiones que se relacionan con traumatismos dentales, con el fin de evaluar la etiología, incidencia, presencia y predisposición. El traumatismo accidental por avulsión puede ser uno de los problemas que causan mayor preocupación para los padres y niños, especialmente cuando los dientes están implicados en la dentición permanente

Los autores son unánimes en afirmar que en caso de avulsión dental, se debe realizar reimplante en el menor tiempo posible, aunque las condiciones no fueran ideales. Sin embargo, en tales circunstancias, esta conducta debe ser vista como un intento de salvar el órgano dentario.

Hay muchas variables que pueden influir en el pronóstico de un diente reimplantado. Algunos, como el tiempo transcurrido desde la avulsión hasta el momento de la reimplantación y la conservación a través de avulsión dental extra-oral, que es de suma importancia para el éxito del reimplante, por lo general no están al alcance del odontólogo.

De acuerdo a la metodología utilizada en el presente estudio, los resultados difieren de los encontrados in vitro con respecto a la superioridad de la leche en relación con la saliva y la solución salina como medio de almacenamiento de los dientes para ser reimplantados. Autores como Andreasen JO y col y Pileggi R y col), informaron que, una vez que contiene importantes nutrientes, tales como

aminoácidos, carbohidratos y vitaminas, la leche aporta una pequeña reducción de la actividad enzimática de las células del ligamento periodontal, en comparación a lo que ocurrió en los dientes almacenados en solución salina. Además, informó de que el proceso de pasteurización es capaz de inactivar enzimas potencialmente dañinas para el ligamento periodontal.

Con respecto al análisis de viabilidad celular se reveló que la solución salina y la saliva ofrecieron excelentes resultados, fomentando un alto grado de preservación de la viabilidad celular de células del ligamento periodontal

Por lo tanto, los resultados obtenidos en el presente estudio, nos permiten afirmar que no hay duda de la superioridad de las condiciones de humedad con la seca, lo cual está de acuerdo con los informes de Andreasen , 1981; Blomlöf et al, 1983; Andreasen , 1994 y Krasner, 1994, lo que favorece el mantenimiento del ligamento periodontal, proporcionando un mejor pronóstico. A pesar del gran número de estudios que han reportado resultados a favor de la superioridad de la leche como un medio de almacenamiento, hay pocos en la literatura que han tenido en cuenta la influencia de los diferentes componentes de la leche en la preservación del ligamento periodontal de dientes extraídos. Por otra parte, en 1983, Blomlöf et al , considera que la composición de la leche puede variar en diferentes partes del mundo, y que puede ser aconsejable para estimar su composición, así como su osmolaridad, antes de ser recomendado para su uso clínico.

Frente a un análisis global de los resultados contenidos en este trabajo, hacemos hincapié en que, en caso de avulsión dental donde no es posible el reimplante de inmediato, hay que mantener el diente en condiciones de humedad, para una mejor preservación de las fibras del ligamento periodontal.

Por todo ello, y en las condiciones experimentales establecidas, parece razonable concluir que: después de 120 minutos se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y los grupos de dientes que se mantuvieron en condiciones de humedad y los que se quedaron secos. En cuanto al medio de transporte y conservación utilizado, los dientes en el solución salina tuvieron mejores resultados en cuanto a la preservación de la viabilidad celular. Saliva y la leche descremada puede considerarse como formas de conservación de los dientes avulsionados.



CONCLUSIONES

- PRIMERA:** Los medios de conservación mas efectivos que mantuvieron la mayor cantidad de células vivas fueron el RPMI 1640 y la saliva con una media 35.25 y 31.62 respectivamente con un margen de error de 0.05.
- SEGUNDA:** No se encontro diferencia en la cantidad de celulas viables entre los distintos tipos de medios de conservacion a los 30 minutos influencia que es estadísticamente no significativa.
- TERCERA:** La leche descremada como medio de conservacion pasados los 30 minutos fue la que conservaba en menor cantidad la viabilidad celular
- CUARTA:** Consecuentemente el tiempo influye significativamente en la viabilidad celular de manera variable en los distintos medios de conservacion.
- QUINTA:** La hipótesis nula ha sido aceptada; por tanto la hipótesis alterna de la investigación ha sido rechazada con un nivel de significación de 0.05.

RECOMENDACIONES

- PRIMERA:** Dado que los traumatismos con avulsión dentaria son frecuentes en la consulta recomiendo implementar un programa de educación para la población ya que en la inmediatez de la atención y en el medio de transporte radica el éxito del tratamiento.
- SEGUNDA:** Informar a los cirujanos dentistas sobre las alternativas de almacenamiento de los dientes avulsados.
- TERCERA:** Recomiendo así mismo la comercialización de alguna solución como el RPMI 1640, Viaspan, Eurocollins, etc, en presentaciones adecuadas de venta libre
- CUARTA:** Recomiendo el estudio del efecto en la viabilidad celular de los distintos tipos de leche que existen en nuestro mercado

BIBLIOGRAFÍA

- ARANCETA BARTRINA JAVIER, “Leche, Lácteos y Salud”, 2005
- BARRANCOS MOONEY JULIO, “Operatoria dental: integración clínica“, 2006
- BARRY M. ELEY, ”Periodoncia”, Reino Unido 2011
- DUMITRESCU ALEXANDRINA L., “Etiology and Pathogenesis of Periodontal Disease”, - 2010
- GIL HERNÁNDEZ ANGEL, “Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos”, 2010
- GIL-LOYZAGA PEDRO, “Cultivo de Células Animales Y Humanas, Aplicaciones en Medicina Regenerativa”, 2008
- GÓMEZ DE FERRARIS MARÍA ELSA, “Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental”, 2009
- HUPP JAMES R., “Cirugía oral y maxilofacial contemporánea”, 5a ed. 2009
- LINDHE “Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 5a edición”, - Madrid, 2009
- LUTZ VON LAER, “Pediatric Fractures and Dislocations”, 2004
- NAVARRO VILA CARLO, “Cirugía oral”, 2008
- RASPALL GUILLERMO, “cirugía oral e implantología”, 2006
- RASPALL GUILLERMO, “Cirugía Oral e Implantología” ,2006
- SEGARRA EDGAR, “Fisiología de los aparatos y sistemas”, 2006
- WOLF HERBERT F. “Periodoncia”, 2005

HEMEROGRAFÍA

- ARENCIBIA ARREBOLA Daniel Francisco. Revista de toxicología en línea (RETEL). Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. Ciudad de La Habana, Cuba
- BARRERA LÓPEZ Reyna Araceli. 2012. Tesis de diplomado para Formación de Coordinadores Hospitalarios de Donación de Órganos y Tejidos con Fines de Trasplante: Estandarización de un método de análisis de viabilidad celular para aloinjertos humanos de piel preservados con fines de trasplante. Facultad de medicina. México D.F.
- MUÑOZ CELAYA Ana Laura. Simposio Internacional de Producción de Alcoholes y levaduras SIPAL. Determinación de la viabilidad y daño celular en esporas de trichoderma harzianum mediante citometria de flujo. Depto. Ingeniería Bioquímica. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Facultad de Farmacia
- RAMÍREZ ROMERO Patricia. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo La experiencia en México. Pág. 262.
- VICO ÁVALOS Manuel. 2009. Tesis doctoral: Evaluación de la Viabilidad y caracterización génica de células endoteliales transdiferenciadas a partir de células madre de la gelatina de Wharton. Facultad de Medicina. Universidad de Granada.

DOCUMENTOS INFORMÁTICOS

- <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2012/un124b.pdf>
- <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/2312/231220955005.pdf>
- http://www.medicoenlared.com/medicoenlared/imagenes/temas/enfermedad_periodontal.pdf
- <http://es.scribd.com/doc/526256/LIGAMENTO-PERIODONTAL>
- http://books.google.com.pe/books?id=c_Cx0X7_DNkC&pg=PA28&lpg=PA28&dq=fibras+del+ligamento+periodontal&source=bl&ots=bV9loitnBp&sig=YZuXR7TZANWuvGFf-mv2hnldsgw&hl=es&sa=X&ei=MAHIUKeLluri0QHahI GgCQ&sqi=2&ved=0CF AQ6AEwCA#v=onepage&q=fibras%20del%20ligamento%20periodontal&f=false
- <http://apoyo.usac.ws/periodontonormal.pdf>
- http://www.imbiomed.com/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=69776&id_seccion=2368&id_ejemplar=6976&id_revista=144
- http://www.fundacioncarraro.org/descarga/revista36_art6.pdf
- <http://www.buenastareas.com/ensayos/Ligamento-Periodontal/3160971.html>
- <http://ping.salk.edu/>
- <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/cell-count-error.htm>
- <http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/cell-count-error.htm>
- http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/odontologia/2007_n2/pdf/a08.pdf
- http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1138-123X2003000200005
- <http://www.gador.com/iyd/fao/fao37.pdf>



ANEXO No. 1: MODELO DE LA FICHA DE OBSERVACIÓN

**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
“EFECTO IN VITRO DE SALIVA HUMANA, SUERO FISIOLÓGICO, RPMI 1640
Y LECHE EVAPORADA EN LA CONSERVACIÓN DE LA VIABILIDAD
CELULAR DEL LIGAMENTO PERIODONTAL EN DIENTES DE RATAS
ALVINAS, UCSM, AREQUIPA 2011 ”**

FICHA No. _____

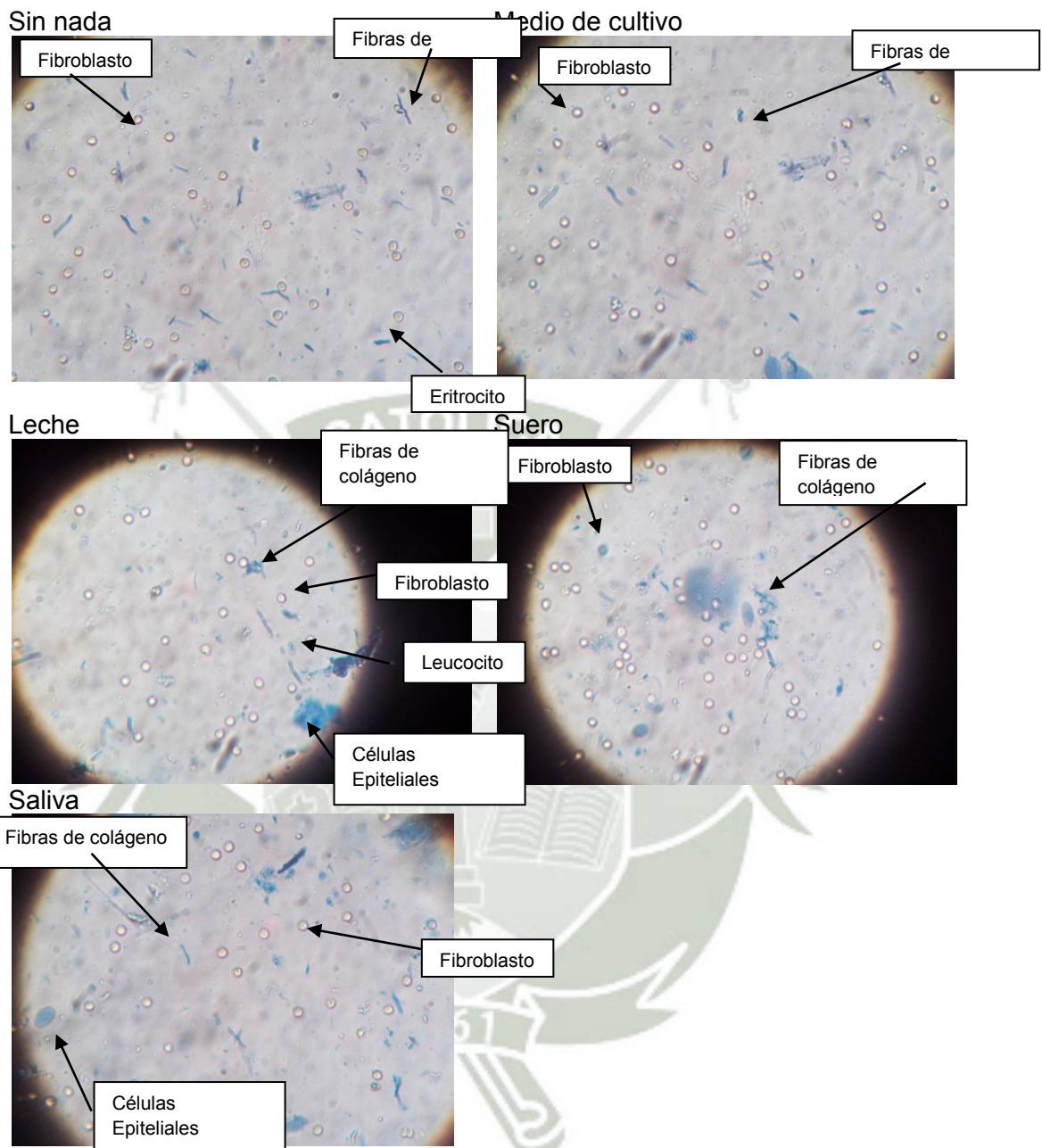
30 minutos	Células por Campo	Células por 3 milímetros
Sin Nada		
Medios de Cultivo		
Leche		
Suero		
Saliva		

60 minutos	Células por Campo	Células por 3 milímetros
Sin Nada		
Medios de Cultivo		
Leche		
Suero		
Saliva		

90 minutos	Células por Campo	Células por 3 milímetros
Sin Nada		
Medios de Cultivo		
Leche		
Suero		
Saliva		

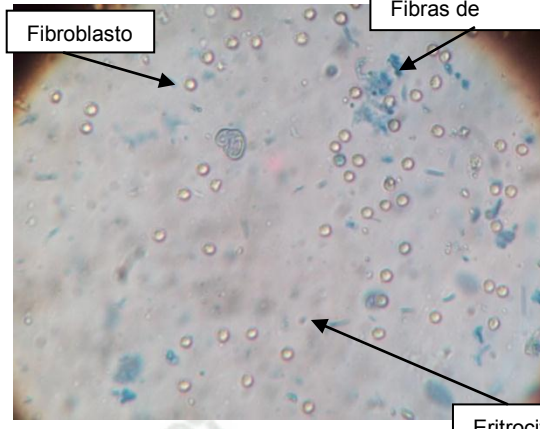
120 minutos	Células por Campo	Células por 3 milímetros
Sin Nada		
Medios de Cultivo		
Leche		
Suero		
Saliva		

Por 60 minutos

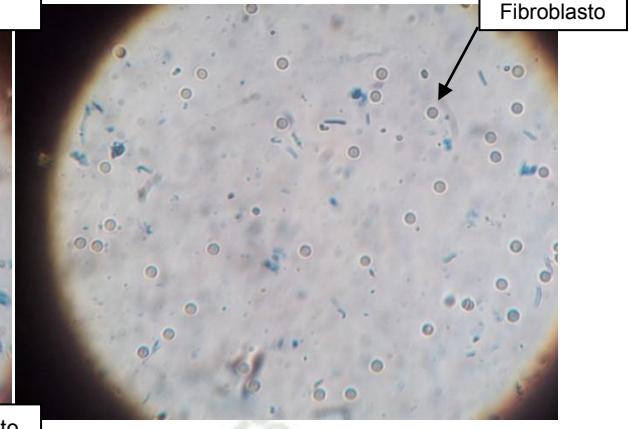


Por 30 minutos

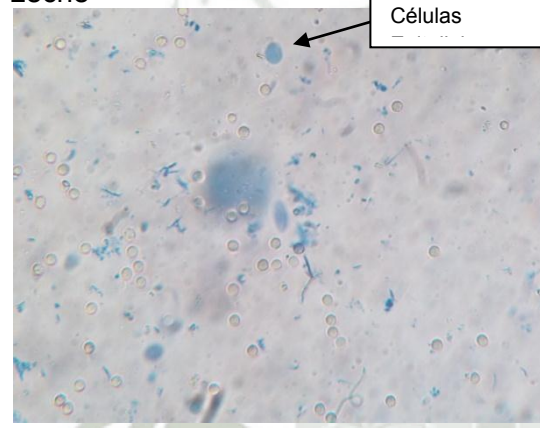
Sin nada -



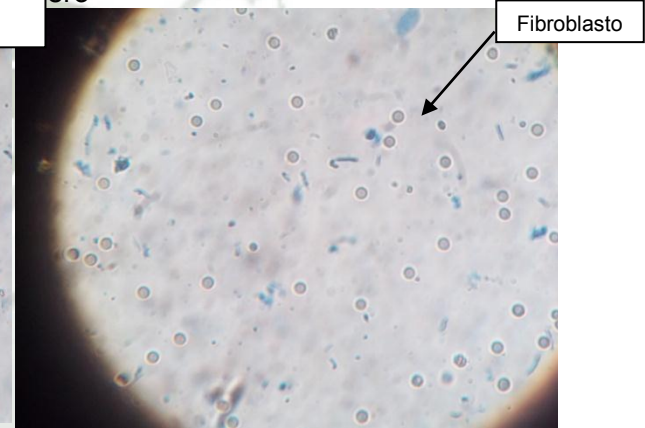
Medio de cultivo ++



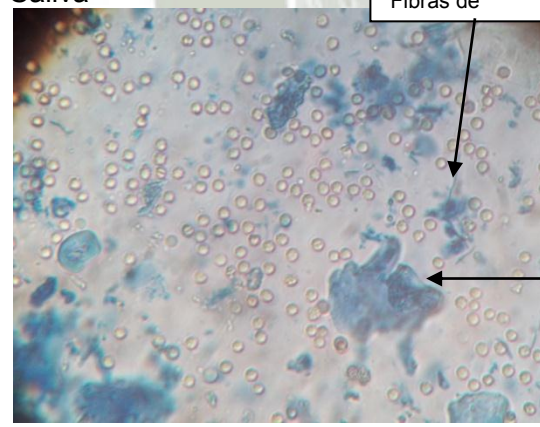
Leche --



Suero ++

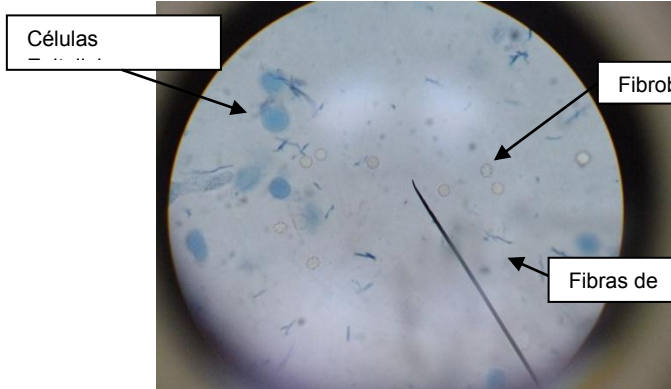


Saliva++



Por 90 minutos

Sin nada --



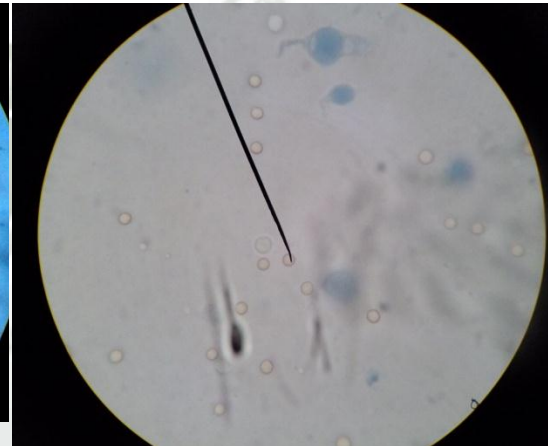
Medio de cultivo ++



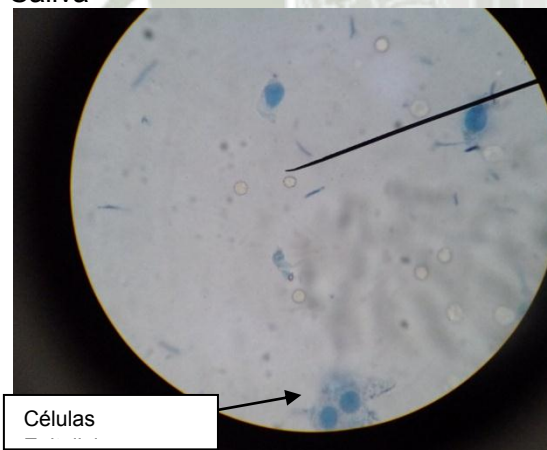
Leche --



Suero +

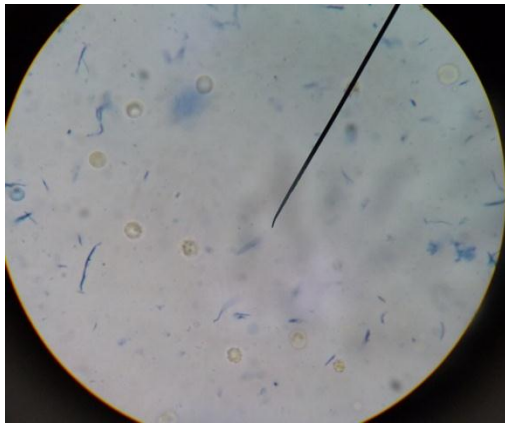


Saliva+

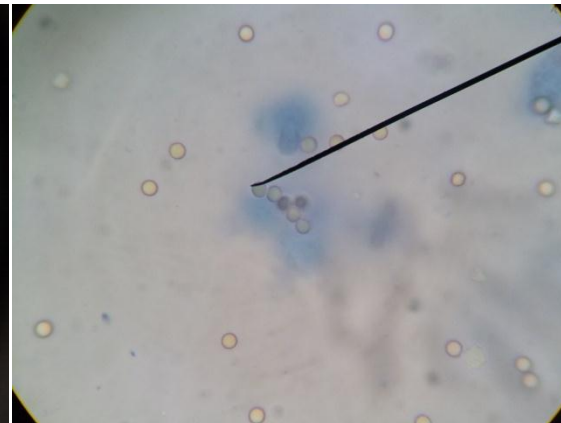


Por 120 minutos

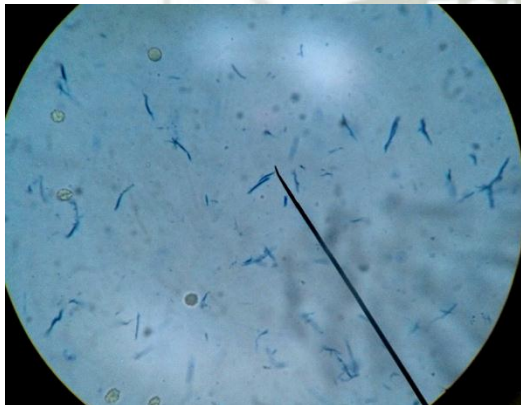
Sin nada --



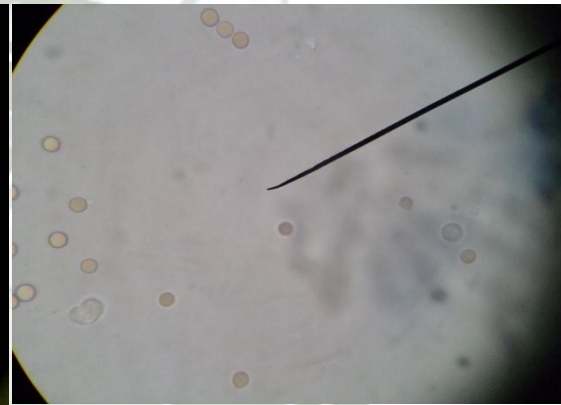
Medio de cultivo ++



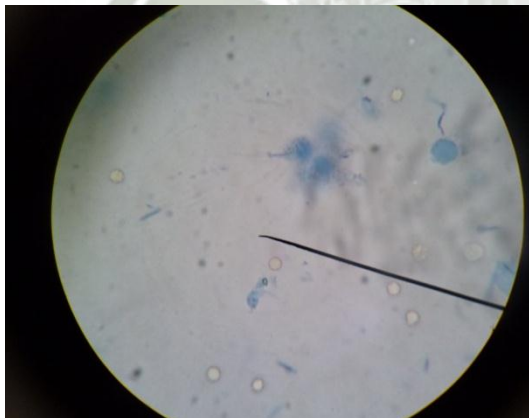
Leche --



Suero +



Saliva+



CELULAS POR CAMPO

30 minutos

	sin nada		medios de cultivo		leche		suero		saliva	
	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable
1	44	2	46	1	43	3	37	3	37	2
2	41	3	41	1	38	4	43	6	38	3
3	38	4	44	1	41	4	41	5	41	5
4	43	5	46	2	38	5	40	6	45	6
5	46	5	45	1	39	4	39	5	50	5
6	42	5	46	2	42	6	46	5	42	5
7	47	4	47	2	43	7	41	4	39	2
8	42	4	44	1	42	5	42	3	41	3
9	44	2	46	1	43	3	37	3	37	2
10	41	3	41	1	38	4	43	6	38	3
11	38	4	44	1	41	4	41	5	41	5
12	43	5	46	2	38	5	40	6	45	6
13	46	5	45	1	39	4	39	5	50	5
14	42	5	46	2	42	6	46	5	42	5
15	47	4	47	2	43	7	41	4	39	2
16	42	4	44	1	42	5	42	3	41	3
17	44	2	46	1	43	3	37	3	37	2
18	41	3	41	1	38	4	43	6	38	3
19	38	4	44	1	41	4	41	5	41	5
20	43	5	46	2	38	5	40	6	45	6
21	46	5	45	1	39	4	39	5	50	5
22	42	5	46	2	42	6	46	5	42	5
23	47	4	47	2	43	7	41	4	39	2
24	42	4	44	1	42	5	42	3	41	3
25	44	2	46	1	43	3	37	3	37	2
26	41	3	41	1	38	4	43	6	38	3
27	38	4	44	1	41	4	41	5	41	5
28	43	5	46	2	38	5	40	6	45	6
29	46	5	45	1	39	4	39	5	50	5
30	42	5	46	2	42	6	46	5	42	5
31	47	4	47	2	43	7	41	4	39	2
32	42	4	44	1	42	5	42	3	41	3
33	44	2	46	1	43	3	37	3	37	2
34	41	3	41	1	38	4	43	6	38	3
35	38	4	44	1	41	4	41	5	41	5
36	43	5	46	2	38	5	40	6	45	6
37	46	5	45	1	39	4	39	5	50	5
38	42	5	46	2	42	6	46	5	42	5
39	47	4	47	2	43	7	41	4	39	2

60 minutos

	sin nada		medios de cultivo		leche		suero		saliva	
	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable
1	35	6	41	2	32	14	42	7	40	8
2	40	7	43	4	34	8	36	8	38	5
3	37	5	38	2	37	10	31	9	41	8
4	42	8	38	3	32	17	40	10	35	5
5	34	7	43	2	30	15	43	7	33	11
6	42	8	46	4	33	13	39	9	43	10
7	34	10	40	3	30	14	30	11	35	9
8	37	8	46	2	32	16	37	10	31	7
9	35	6	41	2	32	14	42	7	40	8
10	40	7	43	4	34	8	36	8	38	5
11	37	5	38	2	37	10	31	9	41	8
12	42	8	38	3	32	17	40	10	35	5
13	34	7	43	2	30	15	43	7	33	11
14	42	8	46	4	33	13	39	9	43	10
15	34	10	40	3	30	14	30	11	35	9
16	37	8	46	2	32	16	37	10	31	7
17	35	6	41	2	32	14	42	7	40	8
18	40	7	43	4	34	8	36	8	38	5
19	37	5	38	2	37	10	31	9	41	8
20	42	8	38	3	32	17	40	10	35	5
21	34	7	43	2	30	15	43	7	33	11
22	42	8	46	4	33	13	39	9	43	10
23	34	10	40	3	30	14	30	11	35	9
24	37	8	46	2	32	16	37	10	31	7
25	35	6	41	2	32	14	42	7	40	8
26	40	7	43	4	34	8	36	8	38	5
27	37	5	38	2	37	10	31	9	41	8
28	42	8	38	3	32	17	40	10	35	5
29	34	7	43	2	30	15	43	7	33	11
30	42	8	46	4	33	13	39	9	43	10
31	34	10	40	3	30	14	30	11	35	9
32	37	8	46	2	32	16	37	10	31	7
33	35	6	41	2	32	14	42	7	40	8
34	40	7	43	4	34	8	36	8	38	5
35	37	5	38	2	37	10	31	9	41	8
36	42	8	38	3	32	17	40	10	35	5
37	34	7	43	2	30	15	43	7	33	11
38	42	8	46	4	33	13	39	9	43	10
39	34	10	40	3	30	14	30	11	35	9

90 minutos

	sin nada		medios de cultivo		leche		suero		saliva	
	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable
1	31	19	35	5	28	16	32	10	38	15
2	27	15	39	6	35	13	36	13	33	10
3	29	19	41	4	22	18	35	17	36	13
4	26	20	40	8	27	15	31	14	35	10
5	25	16	37	9	25	19	36	17	34	14
6	21	19	36	6	27	21	28	15	33	16
7	27	21	38	10	29	17	35	10	31	13
8	30	21	40	6	33	15	33	8	38	10
9	31	19	35	5	28	16	32	10	38	15
10	27	15	39	6	35	13	36	13	33	10
11	29	19	41	4	22	18	35	17	36	13
12	26	20	40	8	27	15	31	14	35	10
13	25	16	37	9	25	19	36	17	34	14
14	21	19	36	6	27	21	28	15	33	16
15	27	21	38	10	29	17	35	10	31	13
16	30	21	40	6	33	15	33	8	38	10
17	31	19	35	5	28	16	32	10	38	15
18	27	15	39	6	35	13	36	13	33	10
19	29	19	41	4	22	18	35	17	36	13
20	26	20	40	8	27	15	31	14	35	10
21	25	16	37	9	25	19	36	17	34	14
22	21	19	36	6	27	21	28	15	33	16
23	27	21	38	10	29	17	35	10	31	13
24	30	21	40	6	33	15	33	8	38	10
25	31	19	35	5	28	16	32	10	38	15
26	27	15	39	6	35	13	36	13	33	10
27	29	19	41	4	22	18	35	17	36	13
28	26	20	40	8	27	15	31	14	35	10
29	25	16	37	9	25	19	36	17	34	14
30	21	19	36	6	27	21	28	15	33	16
31	27	21	38	10	29	17	35	10	31	13
32	30	21	40	6	33	15	33	8	38	10
33	31	19	35	5	28	16	32	10	38	15
34	27	15	39	6	35	13	36	13	33	10
35	29	19	41	4	22	18	35	17	36	13
36	26	20	40	8	27	15	31	14	35	10
37	25	16	37	9	25	19	36	17	34	14
38	21	19	36	6	27	21	28	15	33	16
39	27	21	38	10	29	17	35	10	31	13

	sin nada		medios de cultivo		leche		suero		saliva	
	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable
1	23	22	38	10	24	20	31	15	33	13
2	21	24	37	9	27	21	36	18	35	14
3	22	19	32	8	21	25	33	14	31	13
4	26	21	37	9	25	24	27	17	28	17
5	24	20	35	11	23	19	23	18	31	15
6	26	23	31	10	21	22	30	19	38	16
7	24	21	38	9	27	24	25	17	26	17
8	24	23	34	13	20	18	26	18	31	15
9	23	22	38	10	24	20	31	15	33	13
10	21	24	37	9	27	21	36	18	35	14
11	22	19	32	8	21	25	33	14	31	13
12	26	21	37	9	25	24	27	17	28	17
13	24	20	35	11	23	19	23	18	31	15
14	26	23	31	10	21	22	30	19	38	16
15	24	21	38	9	27	24	25	17	26	17
16	24	23	34	13	20	18	26	18	31	15
17	23	22	38	10	24	20	31	15	33	13
18	21	24	37	9	27	21	36	18	35	14
19	22	19	32	8	21	25	33	14	31	13
20	26	21	37	9	25	24	27	17	28	17
21	24	20	35	11	23	19	23	18	31	15
22	26	23	31	10	21	22	30	19	38	16
23	24	21	38	9	27	24	25	17	26	17
24	24	23	34	13	20	18	26	18	31	15
25	23	22	38	10	24	20	31	15	33	13
26	21	24	37	9	27	21	36	18	35	14
27	22	19	32	8	21	25	33	14	31	13
28	26	21	37	9	25	24	27	17	28	17
29	24	20	35	11	23	19	23	18	31	15
30	26	23	31	10	21	22	30	19	38	16
31	24	21	38	9	27	24	25	17	26	17
32	24	23	34	13	20	18	26	18	31	15
33	23	22	38	10	24	20	31	15	33	13
34	21	24	37	9	27	21	36	18	35	14
35	22	19	32	8	21	25	33	14	31	13
36	26	21	37	9	25	24	27	17	28	17
37	24	20	35	11	23	19	23	18	31	15
38	26	23	31	10	21	22	30	19	38	16
39	24	21	38	9	27	24	25	17	26	17

CELULAS POR los 3 mililitros de los diferentes tratamientos

30 minutos

sin nada		medios de cultivo		leche		suero		saliva	
viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable	viable	no viable
2640000	120000	2760000	60000	2580000	180000	2220000	180000	2220000	120000
2460000	180000	2460000	60000	2280000	240000	2580000	360000	2280000	180000
2280000	240000	2640000	60000	2460000	240000	2460000	300000	2460000	300000
2580000	300000	2760000	120000	2280000	300000	2400000	360000	2700000	360000
2760000	300000	2700000	60000	2340000	240000	2340000	300000	3000000	300000
2520000	300000	2760000	120000	2520000	360000	2760000	300000	2520000	300000
2820000	240000	2820000	120000	2580000	420000	2460000	240000	2340000	120000
2520000	240000	2640000	60000	2520000	300000	2520000	180000	2460000	180000
2640000	120000	2760000	60000	2580000	180000	2220000	180000	2220000	120000
2460000	180000	2460000	60000	2280000	240000	2580000	360000	2280000	180000
2280000	240000	2640000	60000	2460000	240000	2460000	300000	2460000	300000
2580000	300000	2760000	120000	2280000	300000	2400000	360000	2700000	360000
2760000	300000	2700000	60000	2340000	240000	2340000	300000	3000000	300000
2520000	300000	2760000	120000	2520000	360000	2760000	300000	2520000	300000
2820000	240000	2820000	120000	2580000	420000	2460000	240000	2340000	120000
2520000	240000	2640000	60000	2520000	300000	2520000	180000	2460000	180000
2640000	120000	2760000	60000	2580000	180000	2220000	180000	2220000	120000
2460000	180000	2460000	60000	2280000	240000	2580000	360000	2280000	180000
2280000	240000	2640000	60000	2460000	240000	2460000	300000	2460000	300000
2580000	300000	2760000	120000	2280000	300000	2400000	360000	2700000	360000
2760000	300000	2700000	60000	2340000	240000	2340000	300000	3000000	300000
2520000	300000	2760000	120000	2520000	360000	2760000	300000	2520000	300000
2820000	240000	2820000	120000	2580000	420000	2460000	240000	2340000	120000
2520000	240000	2640000	60000	2520000	300000	2520000	180000	2460000	180000
2640000	120000	2760000	60000	2580000	180000	2220000	180000	2220000	120000
2460000	180000	2460000	60000	2280000	240000	2580000	360000	2280000	180000
2280000	240000	2640000	60000	2460000	240000	2460000	300000	2460000	300000
2580000	300000	2760000	120000	2280000	300000	2400000	360000	2700000	360000
2760000	300000	2700000	60000	2340000	240000	2340000	300000	3000000	300000
2520000	300000	2760000	120000	2520000	360000	2760000	300000	2520000	300000
2820000	240000	2820000	120000	2580000	420000	2460000	240000	2340000	120000
2520000	240000	2640000	60000	2520000	300000	2520000	180000	2460000	180000
2640000	120000	2760000	60000	2580000	180000	2220000	180000	2220000	120000
2460000	180000	2460000	60000	2280000	240000	2580000	360000	2280000	180000
2280000	240000	2640000	60000	2460000	240000	2460000	300000	2460000	300000
2580000	300000	2760000	120000	2280000	300000	2400000	360000	2700000	360000
2760000	300000	2700000	60000	2340000	240000	2340000	300000	3000000	300000
2520000	300000	2760000	120000	2520000	360000	2760000	300000	2520000	300000
2820000	240000	2820000	120000	2580000	420000	2460000	240000	2340000	120000



Universidad Católica de Santa María

(5154)251210 (5154)251213 uesm@uesm.edu.pe http://www.uesm.edu.pe Aptdo. 1350
AREQUIPA - PERÚ

UCSM-COORD.LAB- 43 -11

EXPEDIENTE No. 11046685

GUTIERREZ CARBAJAL, CHRISTIAN OMAR


Arequipa, 2011-12-09

Pase a los Asistentes de Laboratorio:

Sras Sofía Aycheles y
Bocio Rodríguez

Se autoriza el uso del **LABORATORIO 11-402**, para que el Sr(a)(ta)(s). CHRISTIAN OMAR GUTIERREZ CARBAJAL, alumno(a)(s) del Programa Profesional, pueda ejecutar el trabajo de investigación titulado "EFECTO IN VITRO DE SALIVA HUMANA, SUERO FISIOLÓGICO Y LECHE EVAPORADA EN LA CONSERVACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR DEL LIGAMENTO PERIODONTAL DE DIENTES AVULSIONADOS, CLÍNICA ODONTOLÓGICA UCSM AREQUIPA 2011", previa coordinación de horario.

Atentamente,

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Mgter. Gonzalo Davila del Carpio
Coordinador de Laboratorios y Gabinete