

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ESCUELA DE POSTGRADO

DOCTORADO EN ODONTOLOGÍA



**“EFECTO IN VITRO DE LA UNCARIA TOMENTOSA, DEL MTA
Y DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA VIABILIDAD
CELULAR, MORFOLOGÍA NUCLEAR Y INTEGRIDAD DEL
ADN EN PULPA DENTAL DE PIEZAS DENTARIAS EXTRAIDAS,
CLÍNICA ODONTOLÓGICA PARTICULAR. AREQUIPA, 2011”**

Tesis presentada por el Magíster:

GIOVANNI LOPEZ HUAMAN

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN ODONTOLOGÍA

AREQUIPA –PERÚ

2013



A Dios por darme la vida, el entusiasmo, el tiempo, mi familia y mis grandes amigos.

A mis padres Leonor y Rodolfo, por su gran amor, su cariño, su comprensión, por inculcarme el deseo de seguir adelante en el camino de adquirir conocimientos.

A mis hermanos por su apoyo y comprensión en cada momento.

A Said, Adriano y Ninosca quienes son la alegría y felicidad de la familia.

A mis amigos que estuvieron apoyando e impulsando el desarrollo del presente trabajo.



“Es tan vana la esperanza de que se llegará sin trabajo y sin molestia a la posesión del saber y la experiencia, cuya unión produce la sabiduría, como contar con una cosecha donde no se ha sembrado ningún grano”.

Benjamín Franklin

ÍNDICE

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN	9
CÁPITULO ÚNICO	
RESULTADOS	11
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS	
DISCUSIÓN	48
CONCLUSIONES	55
RECOMENDACIONES	57
BIBLIOGRAFÍA	58
HEMEROGRAFÍA	60
INFORMATOGRAFÍA	71
ANEXOS	
ANEXO N° 1 PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	73
ANEXO N° 2 MODELO DEL INSTRUMENTO	151
ANEXO N° 3 MATRIZ DE REGISTRO Y CONTROL	154
ANEXO N° 4 CALCULOS ESTADÍSTICOS	159
ANEXO N° 5 SECUENCIA FOTOGRÁFICA	179
ANEXO N° 6 CONSTANCIA DE INVESTIGACIÓN DE LABORATORIO	191
ANEXO N° 7 CARTA DE CONSENTIMIENTO	193

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Efecto in vitro de Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la viabilidad celular, morfología nuclear y en la integridad del ADN, en la distribución numérica y porcentual de los grupos de estudio.....	12
Tabla N° 2 Efecto in vitro de la Uncaria tomentosa en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	14
Tabla n° 3. Efecto in vitro del MTA en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	16
Tabla n° 4. Efecto in vitro del Hidróxido de calcio en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	18
Tabla n° 5. Viabilidad celular de la pulpa dental en el grupo control.....	20
Tabla n° 6. Efecto comparativo de la Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	22
Tabla n° 7. Efecto de la Uncaria tomentosa en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	25
Tabla n° 8. Efecto del MTA en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	27
Tabla n° 9. Efecto del Hidróxido de calcio en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	29
Tabla n° 10. Morfología nuclear de la pulpa dental en el grupo control.....	31
Tabla n° 11. Efecto comparativo de la Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	33
Tabla n° 12. Efecto in vitro de la Uncaria tomentosa en la integridad del ADN de la pulpa dental.....	36
Tabla n° 13. Efecto in vitro del MTA en la integridad del ADN de la pulpa dental....	38
Tabla n° 14. Efecto in vitro del Hidróxido de calcio en la integridad del ADN de la pulpa dental.....	40
Tabla n° 15. Integridad del ADN de la pulpa dental en el grupo control.....	42
Tabla n° 16. Efecto comparativo de la Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la integridad del ADN de la pulpa dental.....	44

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica n° 1. Efecto in vitro de Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de Calcio en la viabilidad celular, morfología nuclear y en la integridad del ADN en la pulpa dental, la distribución numérica y porcentual de los grupos de estudio.....	13
Gráfica n° 2. Efecto in vitro de la Uncaria tomentosa en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	15
Gráfica n° 3. Efecto in vitro del MTA en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	17
Gráfica n° 4. Efecto in vitro del Hidróxido de Calcio en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	19
Gráfica n° 5. Viabilidad celular de la pulpa dental en el grupo control.....	21
Gráfica n° 6. Efecto comparativo de la Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la viabilidad celular de la pulpa dental.....	24
Gráfica n° 7. Efecto de la Uncaria tomentosa en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	26
Gráfica n° 8. Efecto del MTA en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	28
Gráfica n° 9. Efecto del Hidróxido de calcio en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	30
Gráfica n° 10. Morfología nuclear de la pulpa dental en el grupo control.....	32
Gráfica n° 11. Efecto comparativo de la Uncaria tormentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la morfología nuclear de la pulpa dental.....	35
Gráfica n° 12. Efecto in vitro de la Uncaria tomentosa en la integridad del ADN de la pulpa dental.....	37
Gráfica n° 13. Efecto in vitro del MTA en la integridad del ADN de la pulpa dental.	39
Gráfica n° 14. Efecto in vitro del Hidróxido de calcio en la integridad del ADN de la pulpa dental.....	41
Gráfica n° 15. Integridad del ADN de la pulpa dental en el grupo control.....	43
Gráfica n° 16. Efecto comparativo de la Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la integridad del ADN de la pulpa dental.....	46

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objeto determinar efecto in vitro de la Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la viabilidad celular, morfología nuclear y en la integridad del ADN de la pulpa dental en piezas dentarias extraídas por motivos ortodóncicos, por lo cual se utilizó un diseño experimental con 3 grupos experimentales y un grupo control; donde cada grupo estuvo conformado por 36 poblaciones de células pulpares.

El estudio consistió en cultivar células pulpares obtenidas de piezas dentarias, en placas de cultivo celular, luego se les colocaron los diferentes estímulos a evaluar y se procedió a incubarlas por 24 y 48 horas respectivamente, luego del tiempo transcurrido de cultivo se procedió a homogenizar los cultivos para obtener una suspensión celular uniforme, para evaluar y determinar primeramente la viabilidad celular con el colorante Azul de Tripán; luego se evaluó la morfología nuclear para lo cual se utilizó el colorante para núcleos líquido HOECHST; y por último se evaluó la integridad del ADN en un transiluminador INVITROGEN.

Una vez terminada las evaluaciones y obtenidos los datos, se sistematizaron y se procedió a hacer el tratamiento estadístico donde se obtuvo que la Uncaria tomentosa fue más efectiva que el MTA y el Hidróxido de calcio en la Viabilidad celular ($p < 0.05$) aplicando las pruebas estadísticas de ANOVA y de Dunnett; Morfología Nuclear ($p < 0.05$) y en la Integridad del ADN ($p < 0.05$) aplicando la prueba estadística de Chi cuadrado, con lo que se demuestra que es poco probable se cumpla la hipótesis nula existiendo diferencia estadísticamente significativa entre la Uncaria tomentosa, el MTA y el Hidróxido de calcio; con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Palabras clave: Uncaria tomentosa, MTA, Hidróxido de calcio, Viabilidad Celular, Integridad del ADN, Morfología Nuclear, Pulpa Dental.

ABSTRACT

The present investigation had for object determine in vitro effect of the *Uncaria tomentosa*, of the MTA and of the Hydroxide of calcium in the cellular viability, nuclear morphology and in the integrity of the DNA of the dental flesh in pieces dentarias extracted for orthodontic reasons, for which, used an experimental design with 3 experimental groups and a group control; where every group was shaped by 36 populations of cells pulpares.

The study consisted of culturing cells obtained from tooth pulp in cell culture plates, then different stimuli were placed to evaluating and one proceeded to incubate them for 24 and 48 hours respectively, after the time passed of culture one proceeded to homogenize the cultures to obtain a cellular uniform suspension, to evaluate and to determine first cell viability with trypan blue dye, then nuclear morphology was evaluated for which we used the Hoechst dye liquid core, and finally evaluated the integrity of DNA in a transluminador INVITROGEN.

Once finished the evaluations and obtained the information, they were systematized and one proceeded to do the statistical treatment where there was obtained that the *Uncaria tomentosa* was more effective than the MTA and the Hydroxide of calcium in the cellular Viability ($p < 0.05$) applying the statistical tests of ANOVA and of Dunett; Nuclear Morphology ($p < 0.05$) and in the Integrity of the DNA ($p < 0.05$) applying the statistical test of square Chi, with what there is demonstrated that it is slightly probable the void hypothesis is fulfilled existing statistically significant difference between the *Uncaria tomentosa*, the MTA and the Hydroxide of calcium; with what the void hypothesis is rejected and the alternate hypothesis is accepted.

Keywords: *Uncaria tomentosa*, MTA, calcium hydroxide, Cell Viability, DNA Integrity, Nuclear Morphology, Dental Pulp.

INTRODUCCIÓN

Señor Presidente y Srs. Miembros del jurado:

El recubrimiento pulpar directo consiste en la aplicación de un medicamento o recubrimiento a la pulpa expuesta, en un intento por preservar la vitalidad del complejo dentino pulpar, en los últimos años se ha presentado muchos cambios en relación a la conducta clínica a seguir ante la exposición pulpar y los factores que deben ser considerados para llevar a cabo dicho procedimiento, así como también de los diferentes tipos de materiales a emplear frente a una pulpa expuesta; a cuyo principal objetivo del tratamiento es provocar una respuesta biológica favorable. Lo que se logra con el empleo de materiales de uso odontológico que sean biocompatibles, definido como aquel elemento, ordinariamente químico pero ocasionalmente de otra naturaleza, que se integra de forma armónica con los tejidos naturales del organismo sin causarles daño alguno y sin que el cuerpo humano lo rechacen, de tal manera que se establece un equilibrio de compatibilidad biológica entre ambos.

La *Uncaria tomentosa* (uña de gato) posee propiedades inmunoestimulantes; aumentando la actividad celular de macrófagos, neutrófilos, granulocitos y aumentando el número de linfocitos, así como propiedades antiinflamatorias, antimutágena, citostática. Responsables de ejercer un efecto potencializador a nivel bioquímico logrando una reducción del proceso inflamatorio lo que le confiere una capacidad antiinflamatoria y cicatrizante. Además se encargan de inhibir y/o disminuir los efectos desencadenados por los radicales libres y compuestos oxidantes, confiriéndole propiedades antioxidantes, inmunomoduladora y regenerativa.

El MTA es un material biocompatible, menos citotóxico, que estimula de manera importante la proliferación de cementoblastos y crea condiciones ideales para las células encargadas de varios procesos regenerativos, formando puentes calcificados; ya que en contacto con la dentina forma en la interface del diente/material compuestos de hidroxiapatita. Presentando una capacidad excelente de sellado pulpar para prevenir toxicidad e irritabilidad a los tejidos, así como la inducción y proliferación celular, regeneración del cemento y formación de puente dentinario.

El Hidróxido de calcio es un material biocompatible que actúa directamente sobre el tejido pulpar promoviendo necrosis superficial como consecuencia de su elevado pH, con capacidad de inducción de neoformación de tejido mineralizado para favorecer la

formación de dentina reparadora, y brindar protección pulpar contra estímulos térmicos y eléctricos; por la liberación de factores de crecimiento y otras moléculas bioactivas presentes en la dentina, estimuladas por el Hidróxido de Calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). En estudios recientes se ha demostrado que posee potencial tóxico y el empleo de este material causa pulpitis irreversible, necrosis pulpar y reabsorciones radiculares.

En base a la información e investigaciones sobre los efectos biológicos de la *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) que nos recuerdan el enorme potencial de los elementos naturales y a partir de los cuales son elaborados productos para brindar una química farmacéutica útil, es que dichas investigaciones me han permitido evaluar el uso de la *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y compararla con los productos que son comúnmente empleados en el recubrimiento pulpar directo.

La presente investigación tiene como propósito fundamental evaluar el efecto de la *Uncaria tomentosa* sobre la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear e Integridad del ADN; a través del colorante Azul de Tripán, el colorante para núcleos líquido HOECHST y por último se evaluó en un transluminador INVITROGEN respectivamente.

La tesis consta de un capítulo único relativo a los resultados de la investigación, los cuales responden estrictamente a manera de cuadros y gráficos a las exigencias de los objetivos e hipótesis, con la consecuente discusión, conclusiones y recomendaciones.

Finalmente se presenta la bibliografía, hemerografía, la consulta informatizada y los anexos correspondientes donde tiene fundamental importancia el proyecto de investigación constituido por sus dos componentes: planteamiento teórico y planteamiento operacional, acompañado del modelo del instrumento, la matriz de registro y control, secuencia fotográfica, constancia de investigación y carta de consentimiento.

AREQUIPA, ENERO DEL 2013

EL AUTOR

CAPÍTULO ÚNICO

RESULTADOS



TABLA N° 1

DISTRIBUCIÓN NUMÉRICA Y PORCENTUAL DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

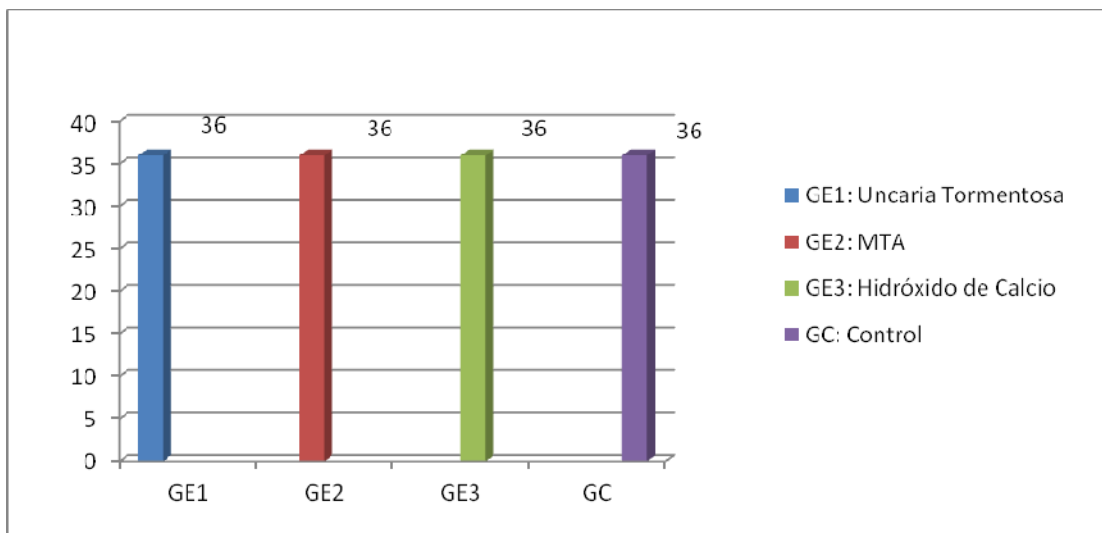
GRUPOS	N°	%
GE1 (UNCARIA TOMENTOSA)	36	100.00
GE2 (MTA)	36	100.00
GE3 (HIDRÓXIDO DE CALCIO)	36	100.00
GC (CONTROL)	36	100.00

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

Los tres grupos experimentales y el grupo control fueron igualados a 36 poblaciones de células de pulpa dental con el 100% en cada caso. Todos los grupos estudiados han sido igualados según los criterios estadísticos ($\alpha= 0.05$, $Z_{\alpha}=1.96$, $P=0.30$, $i=0.15$, $w=0.30$) establecidos en el tamaño de los grupos.

GRÁFICA N° 1

DISTRIBUCIÓN NUMÉRICA Y PORCENTUAL DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 2

**EFFECTO IN VITRO DE LA UNCARIA TOMENTOSA EN LA VIABILIDAD
CELULAR DE LA PULPA DENTAL**

GRUPO	N°	VIABILIDAD CELULAR							
		0 horas		24 horas		48 horas		$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$	$\bar{X}_2 - \bar{X}_3$
		\bar{X}_1	S ₁	\bar{X}_2	S ₂	\bar{X}_3	S ₃		
GE1 UNCARIA TOMENTOSA	36	88.84	0.84	93.43	1.11	96.59	0.82	4.59	3.16

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

Interpretación:

≥ 80%: Conservación

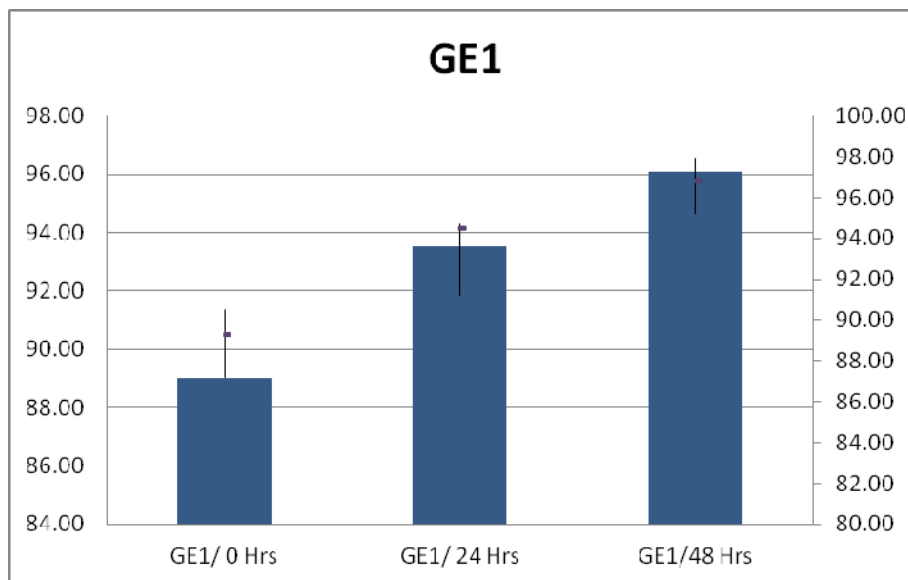
< 80%: Inhibición

El valor promedio más alto de Viabilidad Celular para la Uncaria Tomentosa es de 96.59% producido a las 48 horas. Y el menor valor promedio de Viabilidad Celular se produjo a las 0hr con el 88.84%. Cabe indicar que en los tres controles los valores encontrados corresponden a una conservación de la Viabilidad Celular. Así mismo se observa una diferencia de promedios de 4.59 entre las 0 y 24 horas, y de 3.16 entre las 24 y 48 horas; lo que indica un aumento de la viabilidad celular a mayor tiempo de control.

Importa además precisar que el menor valor de desviación estándar es de 0.82, interpretable como producto de una distribución homogénea a las 48 horas. Dicho de otro modo los valores más homogéneos se han producido a las 48 horas y los más heterogéneos a las 24 horas con un valor de 1.11.

GRÁFICA N° 2

EFECTO IN VITRO DE LA UNCARIA TOMENTOSA EN LA VIABILIDAD CELULAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 3

EFFECTO IN VITRO DEL MTA EN LA VIABILIDAD CELULAR DE LA
PULPA DENTAL

GRUPO	N°	VIABILIDAD CELULAR							
		0 horas		24 horas		48 horas		$\bar{X}_1 - \bar{X}_2$	$\bar{X}_2 - \bar{X}_3$
		\bar{X}_1	S ₁	\bar{X}_2	S ₂	\bar{X}_3	S ₃		
GE2 MTA	36	82.86	2.21	79.59	2.18	75.93	2.11	3.27	3.66

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

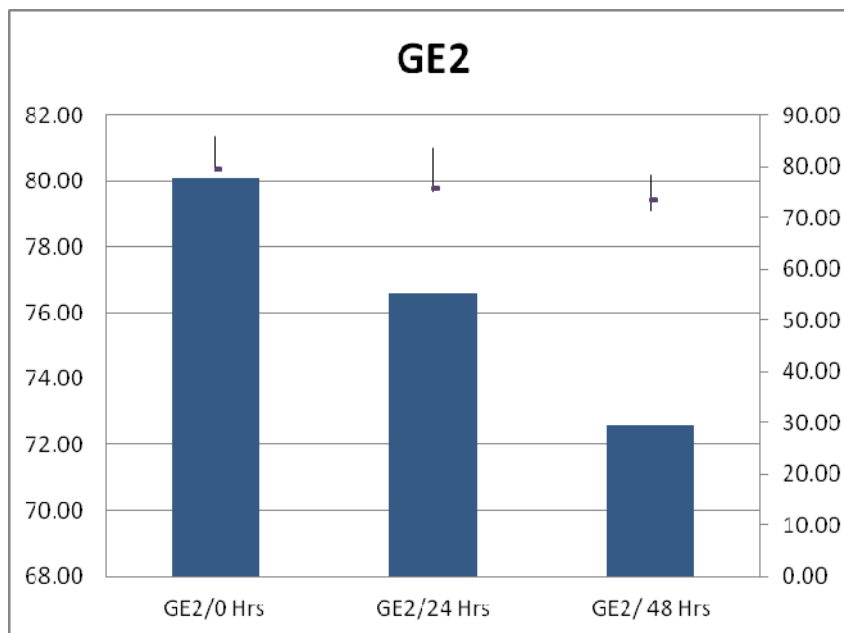
Interpretación:
≥ 80%: Conservación
< 80%: Inhibición

El valor promedio más alto de Viabilidad Celular para el MTA es de 82.86% producido a las 0 horas. Y el menor valor promedio de Viabilidad Celular se produjo a las 48 hrs con el 75.93%. Cabe indicar que en los tres controles los valores encontrados corresponden a una inhibición de la Viabilidad Celular gradualmente en los tiempos de evaluación posterior a las 0 hrs. Así mismo se observa una diferencia de promedios de 3.27 entre las 0 y 24 horas, y de 3.66 entre las 24 y 48 horas; lo que indica un aumento de inhibición de la viabilidad celular a mayor tiempo de control.

Importa además precisar que el menor valor de desviación estándar es de 2.11, lo que se interpreta como producto de una distribución homogénea a las 48 horas.

GRÁFICA N° 3

EFFECTO IN VITRO DEL MTA EN LA VIABILIDAD CELULAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 4

**EFFECTO IN VITRO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA VIABILIDAD
CELULAR DE LA PULPA DENTAL**

GRUPO	N°	VIABILIDAD CELULAR							
		0 horas		24 horas		48 horas		$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	$\bar{x}_2 - \bar{x}_3$
		\bar{x}_1	S ₁	\bar{x}_2	S ₂	\bar{x}_3	S ₃		
GE3 HIDRÓXIDO DE CALCIO	36	81.84	1.60	77.9	2.23	62.02	1.06	3.94	15.88

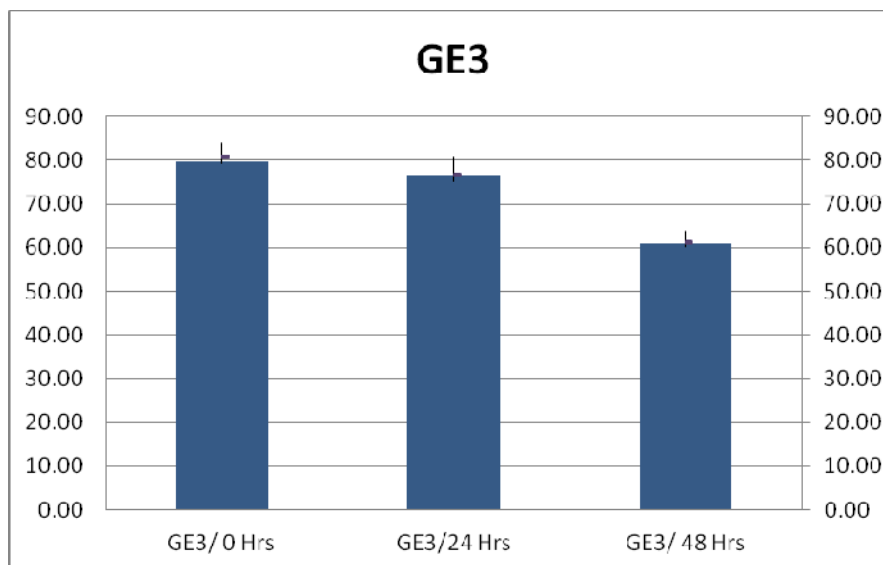
Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

Interpretación:
≥ 80%: Conservación
< 80%: Inhibición

El valor promedio más alto de Viabilidad Celular para el Hidróxido de calcio es de 81.84% producido a las 0 horas. Y el menor valor promedio de Viabilidad Celular se produjo a las 48 hrs con el 62.02%. Cabe indicar que en los tres controles los valores encontrados corresponden a una inhibición de la Viabilidad Celular gradualmente en los tiempos de evaluación posterior a las 0 hrs. Así mismo se observa una diferencia de promedios de 3.94 entre las 0 y 24 horas, y de 15.88 entre las 24 y 48 horas; lo que indica un aumento de inhibición de la viabilidad celular a mayor tiempo de control.

GRÁFICA N° 4

EFFECTO IN VITRO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA VIABILIDAD CELULAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 5

VIABILIDAD CELULAR DE LA PULPA DENTAL EN EL GRUPO CONTROL

GRUPO	N°	VIABILIDAD CELULAR							
		0 horas		24 horas		48 horas		$\bar{x}_1 - \bar{x}_2$	$\bar{x}_2 - \bar{x}_3$
		\bar{x}_1	S ₁	\bar{x}_2	S ₂	\bar{x}_3	S ₃		
GC CONTROL	36	87.68	1.02	82.69	1.42	80.25	1.33	4.99	2.44

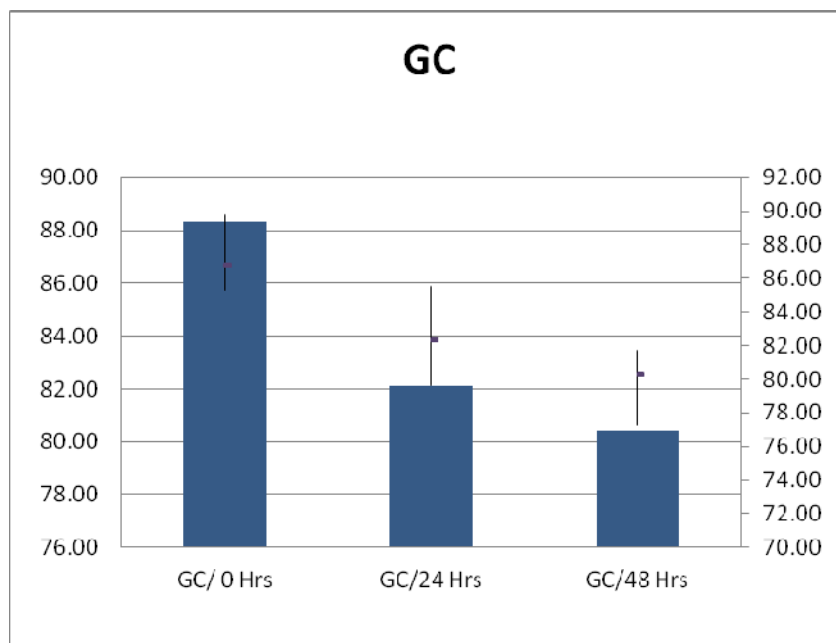
Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

Interpretación:
≥ 80%: Conservación
< 80%: Inhibición

El valor promedio más alto de Viabilidad Celular para el grupo control es de 87.68% producido a las 0 horas. Y el menor valor promedio de Viabilidad Celular se produjo a las 48 hrs con el 80.25%. Cabe indicar que en los tres controles los valores encontrados corresponden a conservación de la Viabilidad Celular pese a la disminución gradual en los tiempos de evaluación posterior a las 0 hrs. Así mismo se observa una diferencia de promedios de 4.99 entre las 0 y 24 horas, y de 2.44 entre las 24 y 48 horas; lo que indica la disminución en el porcentaje en conservación de la viabilidad celular a mayor tiempo de control.

GRÁFICA N° 5

VIABILIDAD CELULAR DE LA PULPA DENTAL EN EL GRUPO CONTROL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control);

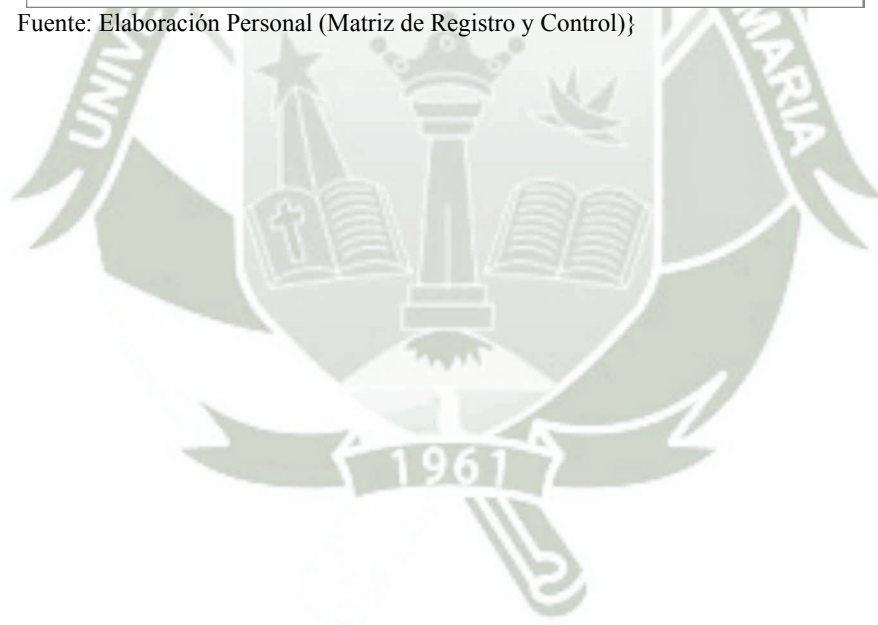


TABLA N° 6

EFFECTO COMPARATIVO DE LA UNCARIA TOMENTOSA, DEL MTA Y DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LAVIABILIDAD CELULAR DE LA PULPA DENTAL

GRUPO	VIABILIDAD CELULAR						
	0 horas		24 horas		48 horas		
	\bar{X}_1	S ₁	\bar{X}_2	S ₂	\bar{X}_3	S ₃	
GE1 (a) UNCARIA TOMENTOSA	88.84	0.84	93.43	1.11	96.59	0.82	
GE2 (b) MTA	82.86	2.21	79.59	2.18	75.93	2.11	
GE3 (c) HIDRÓXIDO DE CALCIO	81.84	1.60	77.9	2.23	62.02	1.06	
GC (d) CONTROL	87.68	1.02	82.69	1.42	80.25	1.33	
$X_{1a} - X_{1b}$		5.98		13.84		20.66	
$X_{1a} - X_{1c}$		7.00		15.53		34.57	
$X_{1a} - X_{1d}$		5.27		10.74		16.34	
$X_{1b} - X_{1c}$		1.02		1.69		13.91	
$X_{1b} - X_{1d}$		4.82		3.10		4.32	
$X_{1c} - X_{1d}$		5.84		4.79		18.23	
Significación ANOVA		F(188.45) > VC(3.22) p < 0.05		F(540.26) > VC(3.22) p < 0.05		F(3650.04) > VC(3.22) p < 0.05	
Significación DUNETT	a-b	(5.98) > VC(0.93) p < 0.05		(13.84) > VC(0.62) p < 0.05		(20.66) > VC(0.85) p < 0.05	
	a-c	(7.00) > VC(0.93) p < 0.05		(15.53) > VC(0.62) p < 0.05		(34.57) > VC(0.85) p < 0.05	
	a-d	(5.27) > VC(0.93) p < 0.05		(10.74) > VC(0.62) p < 0.05		(16.34) > VC(0.85) p < 0.05	
	b-c	(1.02) > VC(0.93) p < 0.05		(1.69) > VC(0.62) p < 0.05		(13.91) > VC(0.85) p < 0.05	
	b-d	(4.82) > VC(0.93) p < 0.05		(3.10) > VC(0.62) p < 0.05		(4.32) > VC(0.85) p < 0.05	
	c-d	(5.84) > VC(0.93) p < 0.05		(4.79) > VC(0.62) p < 0.05		(18.23) > VC(0.85) p < 0.05	

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

La Uncaria Tomentosa mantuvo la Viabilidad Celular en todos sus controles. El MTA produjo inhibición de la Viabilidad a las 24 y 48 horas. Similar tendencia se observa

con el Hidróxido de Calcio pero con una inhibición mayor a las 48 horas. En el Grupo Control se produjo conservación de la viabilidad en sus 3 controles.

El mayor valor de Viabilidad Celular a las 0 horas es para la Uncaria Tormentosa con 88.84% y el menor valor corresponde al Hidróxido de Calcio con 81.84%.

A las 24 horas el mayor valor fue también para el Grupo Experimental 1 (Uncaria tomentosa) con 93.43% y el menor valor fue de 77.9% para el Grupo Experimental 3 (Hidróxido de Calcio).

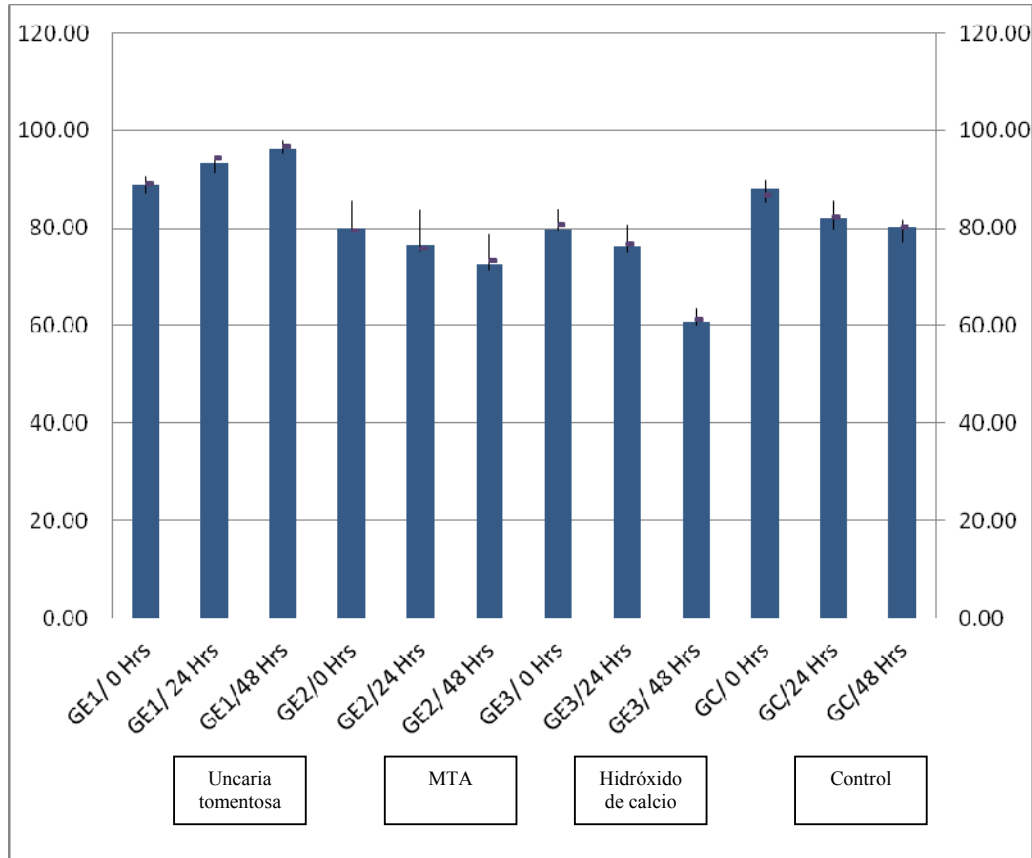
A las 48 horas se observó similar tendencia que en los controles anteriores con un mayor valor para Grupo Experimental 1 (Uncaria Tormentosa) con 96.59% y un menor valor promedio de viabilidad de 62.02% para el Hidróxido de Calcio, indicando una inhibición de la Viabilidad Celular.

En base al estadístico ANOVA a las 0, 24 y 48 horas se observa una diferencia estadísticamente significativa en los promedios de Viabilidad Celular en los 4 grupos, dado que el valor de F es mayor que el Valor Crítico en los 3 controles. Siendo de 386.69 para las 0 horas, de 1716.12 a las 24 horas y de 10149.5 a las 48 horas.

En base a la prueba de especificidad de Dunett también podemos apreciar que existe diferencia estadísticamente significativa en todos los controles.

GRÁFICA N° 6

EFFECTO COMPARATIVO DE LA UNCARIA TORMENTOSA, DEL MTA Y DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LAVIABILIDAD CELULAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

TABLA N° 7

**EFFECTO DE LA UNCARIA TOMENTOSA EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR
DE LA PULPA DENTAL**

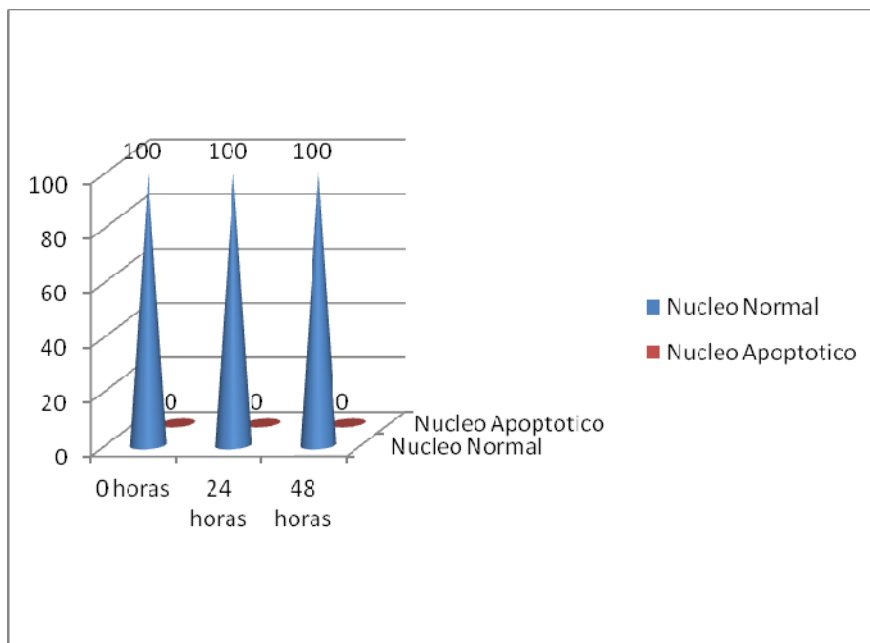
GRUPO	N°	MORFOLOGÍA NUCLEAR											
		0 HORAS				24 HORAS				48 HORAS			
		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE1 UNCARIA TOMENTOSA	36	36	100	0	0	36	100	0	0	36	100	0	0

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

El efecto de la Uncaria TomENTOSA en la Morfología Nuclear, donde se observa que tanto a las 0, 24 y 48 horas se presentaron los núcleos normales al 100% en cada caso, no presentándose núcleos apoptóticos.

GRÁFICA N° 7

EFFECTO DE LA UNCARIA TOMENTOSA EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

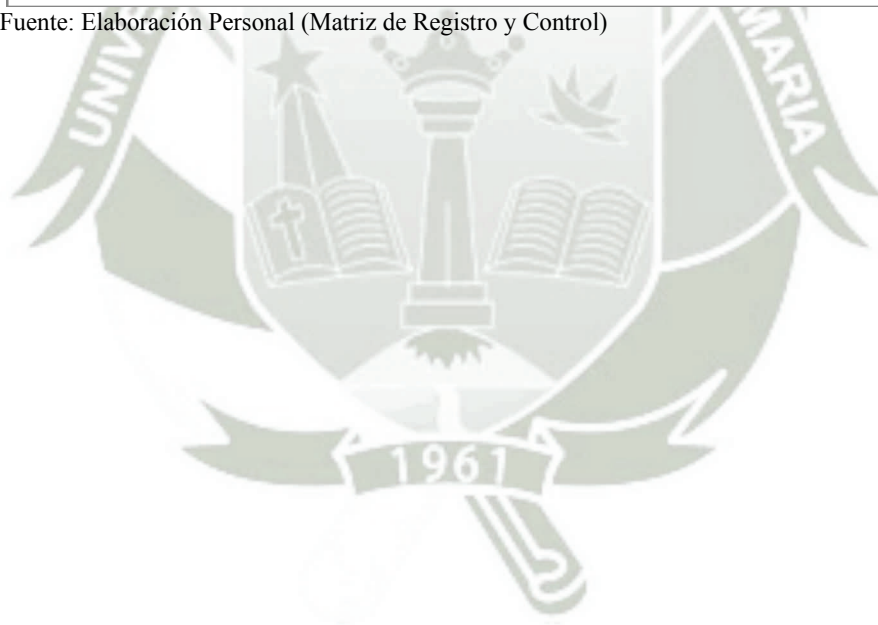


TABLA N° 8

EFECTO DEL MTA EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL

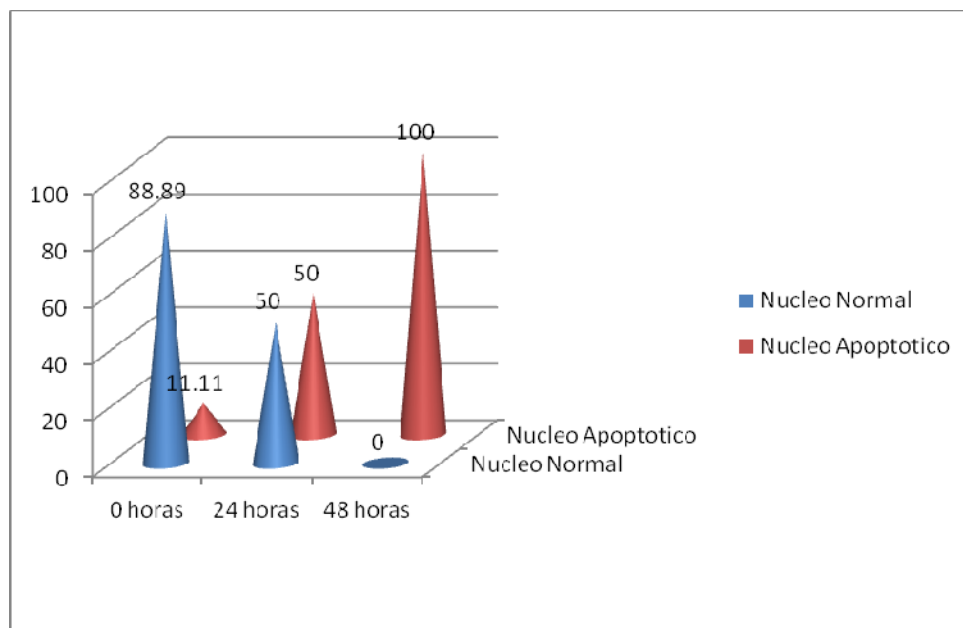
GRUPO	N°	MORFOLOGÍA NUCLEAR											
		0 HORAS				24 HORAS				48 HORAS			
		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE2 MTA	36	32	88.89	4	11.11	18	50	18	50	0	0	36	100

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

En el MTA se presentaron mayormente núcleos normales con el 88.89% a las 0 horas, a las 24 horas se observa que el porcentaje de núcleos normales es igual al de núcleos apoptóticos con un 50% para cada uno. A las 48 horas ya no existen núcleos normales y el porcentaje de núcleos apoptóticos aumenta y es de 100%.

GRÁFICA N° 8

EFECTO DEL MTA EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

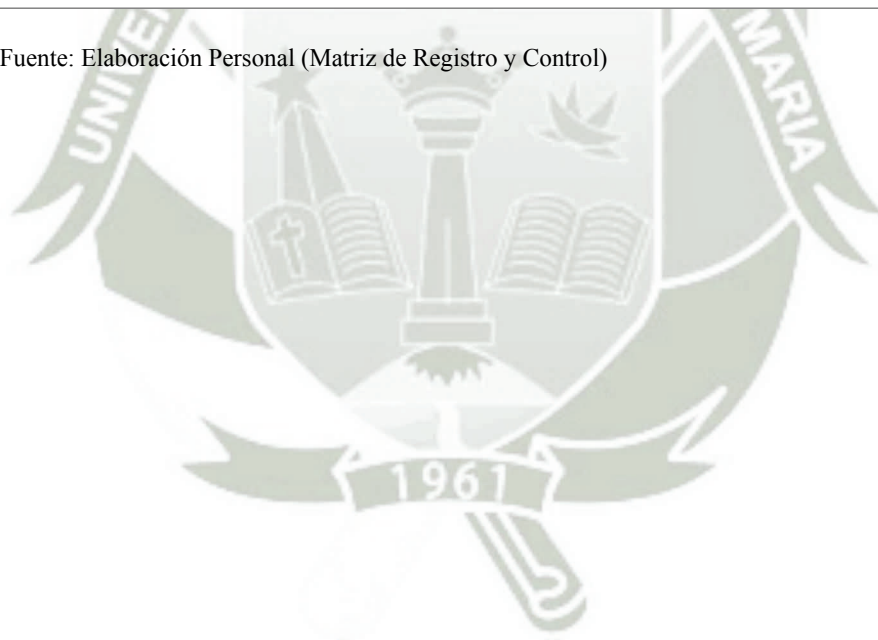


TABLA N° 9

**EFFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR
DE LA PULPA DENTAL**

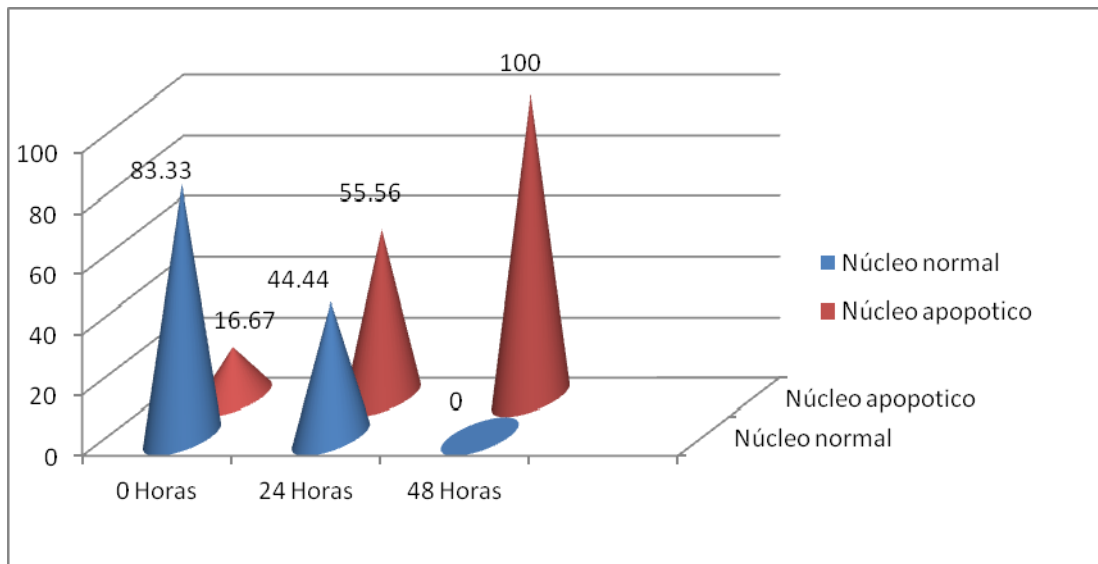
GRUPO	N°	MORFOLOGÍA NUCLEAR											
		0 HORAS				24 HORAS				48 HORAS			
		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE3 HIDRÓXIDO DE CALCIO	36	30	83.33	6	16.67	16	44.44	20	55.56	0	0	36	100

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

Se indica que con el Hidróxido de Calcio se presentaron mayormente núcleos normales con el 83.33% a las 0 horas, a las 24 horas se observa que el porcentaje de núcleos apoptóticos se incrementa con un 55.56% . A las 48 horas ya no existen núcleos normales y el porcentaje de núcleos apoptóticos aumenta y es de 100%.

GRÁFICA N° 9

EFFECTO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 10

MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL EN EL GRUPO CONTROL

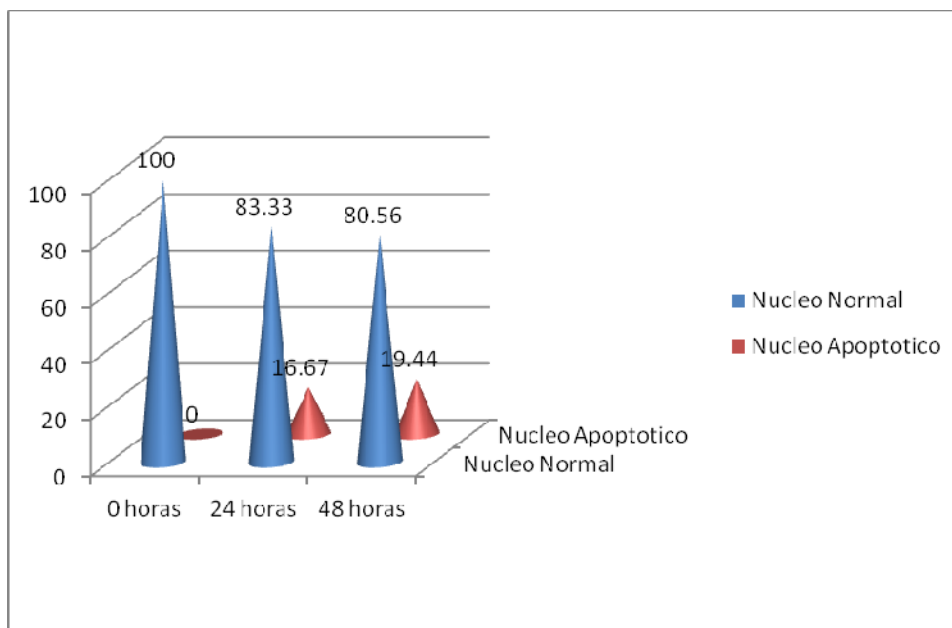
GRUPO	N°	MORFOLOGÍA NUCLEAR											
		0 HORAS				24 HORAS				48 HORAS			
		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GC CONTROL	36	36	100	0	0	30	83.33	6	16.67	29	80.56	7	19.44

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

Se observa que en el grupo control presentaron en su totalidad núcleos normales con el 100% a las 0 horas, a las 24 horas se observa que el porcentaje de núcleos normales se reduce a un 83.33%, así como a las 48 horas el porcentaje de núcleos normales se reduce a un 80.56%; estos últimos respecto del de las 0 horas.

GRÁFICA N° 10

MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL EN EL GRUPO CONTROL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 11

EFFECTO COMPARATIVO DE LA UNCARIA TOMENTOSA, DEL MTA Y DELHIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL

GRUPO	N°	MORFOLOGÍA NUCLEAR											
		0 HORAS				24 HORAS				48 HORAS			
		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico		Núcleo Normal		Núcleo Apoptótico	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE1 UNCARIA TOMENTOSA	36	36	100	0	0	36	100	0	0	36	100	0	0
GE2 MTA	36	32	88.89	4	11.11	18	50	18	50	0	0	36	100
GE3 HIDRÓXIDO DE CALCIO	36	30	83.33	6	16.67	16	44.44	20	55.56	0	0	36	100
GC CONTROL	36	36	100	0	0	30	83.33	6	16.67	29	80.56	7	19.44
Significación CHI CUADRADO	$X^2 (11.62) > VC (7.82)$ $p < 0.05$				$X^2 (36.12) > VC (7.82)$ $p < 0.05$				$X^2 (121.22) > VC (7.82)$ $p < 0.05$				

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

A las 0 horas se presenta un mayor valor de núcleos normales en todos los grupos, siendo el mayor valor de 100% tanto para el GE1(Uncaria tomentosa) como para el GC (control) y el menor valor de 83.33% en el GE3 (Hidróxido de calcio).

A las 24 horas se aprecia el mismo valor de 100% para el GE1(Uncaria tomentosa) de núcleos normales, y se observa una disminución de núcleos normales a un 83.33% en el GC(control). Siendo el menor valor de núcleos normales para el GE3(Hidróxido de calcio) con 44.44%. Así mismo se observa una mayor tendencia para los núcleos

apoptóticos en el GE3 (Hidróxido de calcio) con un 55.56%, así como en el GE2(MTA) en un 50 %.

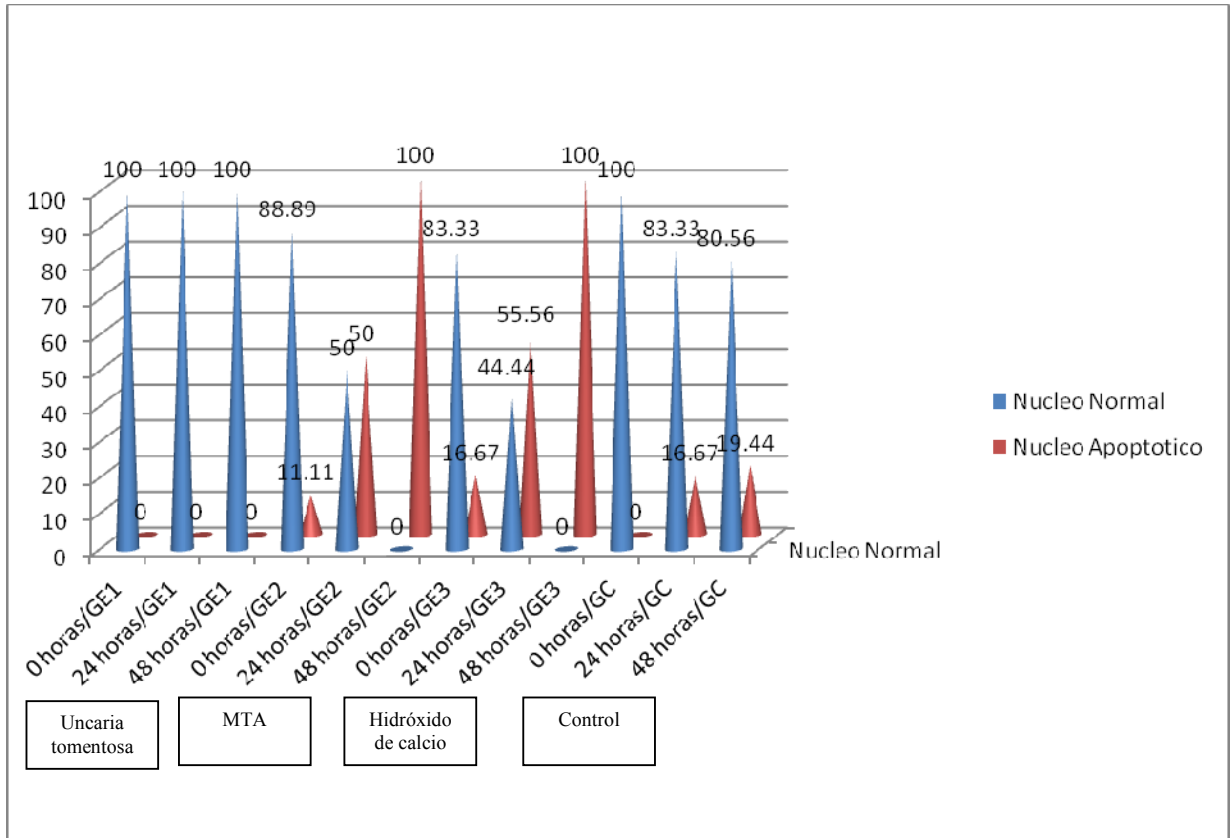
A las 48 horas se mantiene el valor de 100% en cuanto a la presencia de los núcleos normales para el GE1 (Uncaria tomentosa), y aumenta la frecuencia de los núcleos apoptóticos en un 100% tanto para el GE2 (MTA) Y GE3(Hidróxido de calcio).

En cuanto a la aplicación de la Prueba Estadística Chi Cuadrado se observa diferencia estadísticamente significativa en los 3 controles, apreciándose que la Uncaria Tomentosa es más eficaz para la Morfología Nuclear que el MTA y el Hidróxido de Calcio, en tanto que preserva mejor su estructura.



GRÁFICA N° 11

EFFECTO COMPARATIVO DE LA UNCARIA TOMENTOSA, DEL MTA Y DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA MORFOLOGÍA NUCLEAR DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

TABLA N° 12

**EFFECTO IN VITRO DE LA UNCARIA TOMENTOSA EN LA INTEGRIDAD
DEL ADN DE LA PULPA DENTAL**

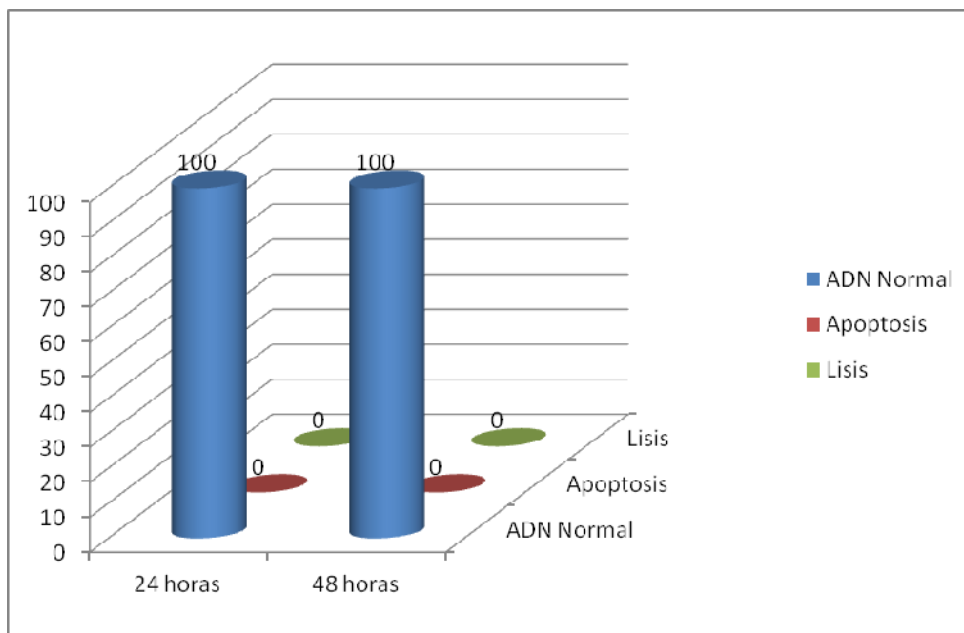
GRUPO	N°	ADN											
		24 horas						48 horas					
		ADN Normal		Apoptosis		Lisis		ADN Normal		Apoptosis		Lisis	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE1 UNCARIA TOMENTOSA	36	36	100	0	0	0	0	36	100	0	0	0	0

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

La Uncaria TomENTOSA se observa un ADN normal en cuanto a su integridad en el 100% de sus casos tanto a las 24 como a las 48 horas.

GRÁFICA N° 12

EFFECTO IN VITRO DE LA UNCARIA TOMENTOSA EN LA INTEGRIDAD
DEL ADN DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 13

**EFFECTO IN VITRO DEL MTA EN LA INTEGRIDAD DEL ADN DE LA
PULPA DENTAL**

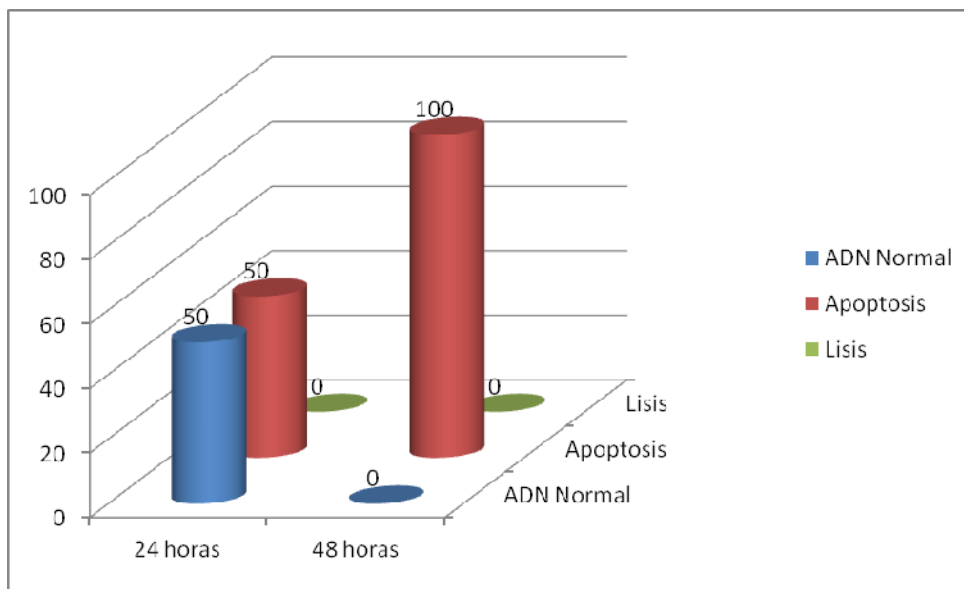
GRUPO	N°	ADN											
		24 horas						48 horas					
		ADN Normal		Apoptosis		Lisis		ADN Normal		Apoptosis		Lisis	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE2 MTA	36	18	50	18	50	0	0	0	0	36	100	0	0

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

A las 24 horas se observó una frecuencia de 50% tanto para el ADN Normal y Apoptosis, no observándose valores de lisis del ADN. A las 48 horas se presentó el total de muestras con apoptosis con un valor de 100%.

GRÁFICA N° 13

EFFECTO IN VITRO DEL MTA EN LA INTEGRIDAD DEL ADN DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 14

**EFFECTO IN VITRO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA INTEGRIDAD
DEL ADN DE LA PULPA DENTAL**

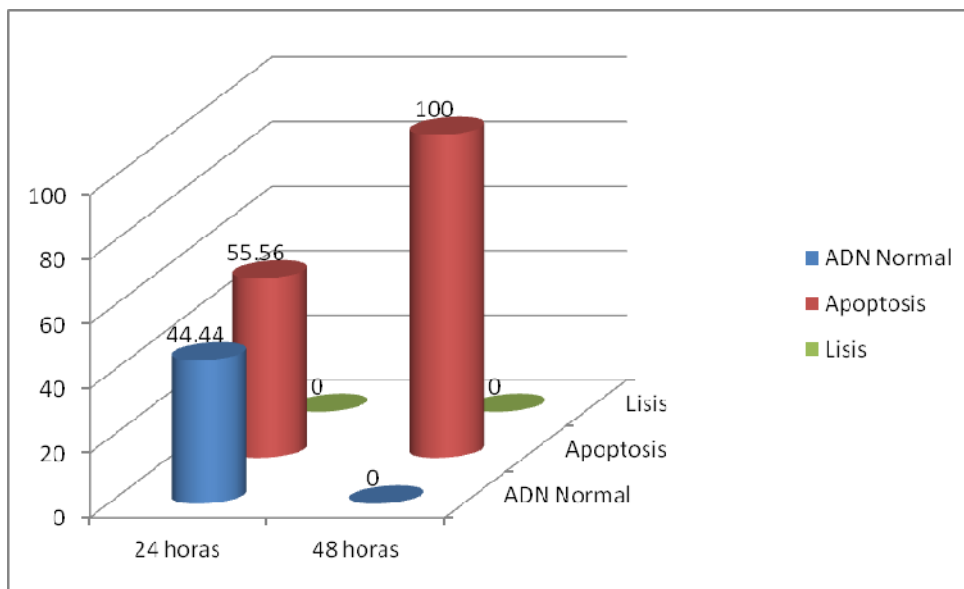
GRUPO	N°	ADN											
		24 horas						48 horas					
		ADN Normal		Apoptosis		Lisis		ADN Normal		Apoptosis		Lisis	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE3 HIDRÓXIDO DE CALCIO	36	16	44.44	20	55.56	0	0	0	0	36	100	0	0

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

A las 24 horas se observó un porcentaje de 55.56% con apoptosis, no observándose valores de lisis del ADN. A las 48 horas se presentó el total de muestras con apoptosis con un valor de 100%.

GRÁFICA N° 14

**EFFECTO IN VITRO DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA INTEGRIDAD
DEL ADN DE LA PULPA DENTAL**



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 15

INTEGRIDAD DEL ADN DE LA PULPA DENTAL EN EL GRUPO CONTROL

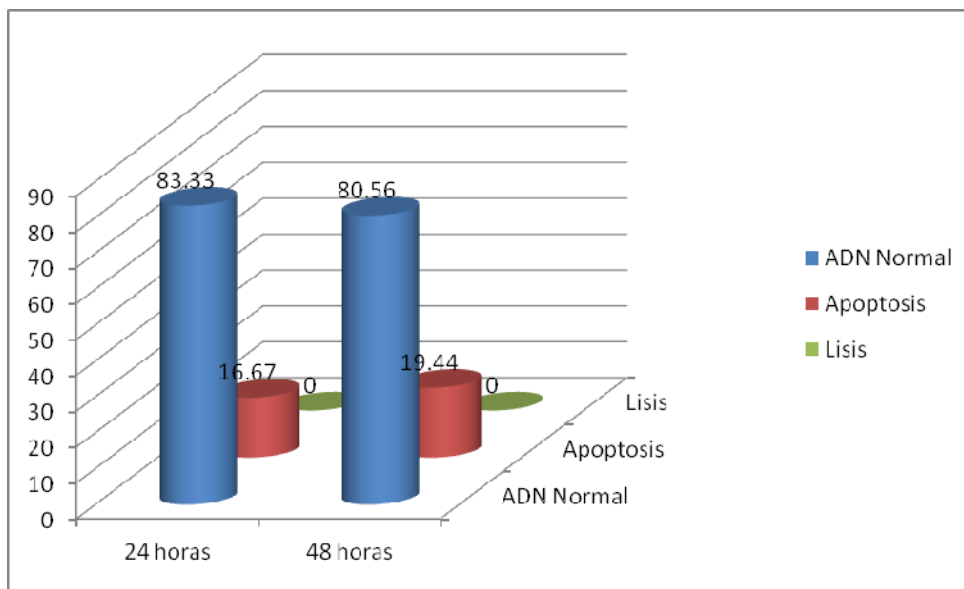
GRUPO	N°	ADN											
		24 horas						48 horas					
		ADN Normal		Apoptosis		Lisis		ADN Normal		Apoptosis		Lisis	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GC CONTROL	36	30	83.33	6	16.67	0	0	29	80.56	7	19.44	0	0

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

El grupo control a las 24 horas se observó el ADN normal en un porcentaje de 83.33%. A las 48 horas se presentó el ADN normal en un 80.56%, y el ADN con apoptosis en un 19.44% del total de las muestras.

GRÁFICA N° 15

INTEGRIDAD DEL ADN DE LA PULPA DENTAL EN EL GRUPO CONTROL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



TABLA N° 16

EFFECTO COMPARATIVO DE LA UNCARIA TOMENTOSA, DEL MTA Y DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA INTEGRIDAD DEL ADN DE LA PULPA DENTAL

GRUPO	N°	ADN											
		24 horas						48 horas					
		ADN Normal		Apoptosis		Lisis		ADN Normal		Apoptosis		Lisis	
		N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
GE1 UNCARIA TOMENTOSA	36	36	100	0	0	0	0	36	100	0	0	0	0
GE2 MTA	36	18	50	18	50	0	0	0	0	36	100	0	0
GE3 HIDRÓXIDO DE CALCIO	36	16	44.44	20	55.56	0	0	0	0	36	100	0	0
GC CONTROL	36	30	83.33	6	16.67	0	0	29	80.56	7	19.44	0	0
Significación CHI CUADRADO		$X^2 (36.12) > VC (12.59)$ $p < 0.05$						$X^2 (123.57) > VC (12.59)$ $p < 0.05$					

Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)

A las 24 horas el mayor valor de ADN normal fue para el GE1(Uncaria tomentosa) con un 100% y el menor valor fue de 44.44% para el GE3(Hidróxido de calcio); en cuanto a la apoptosis el mayor valor fue para el GE3 (Hidróxido de calcio) con un 55.56% y el menor valor fue de 16.67% que corresponde al GC(control). No observándose datos de lisis en ningún grupo de estudio.

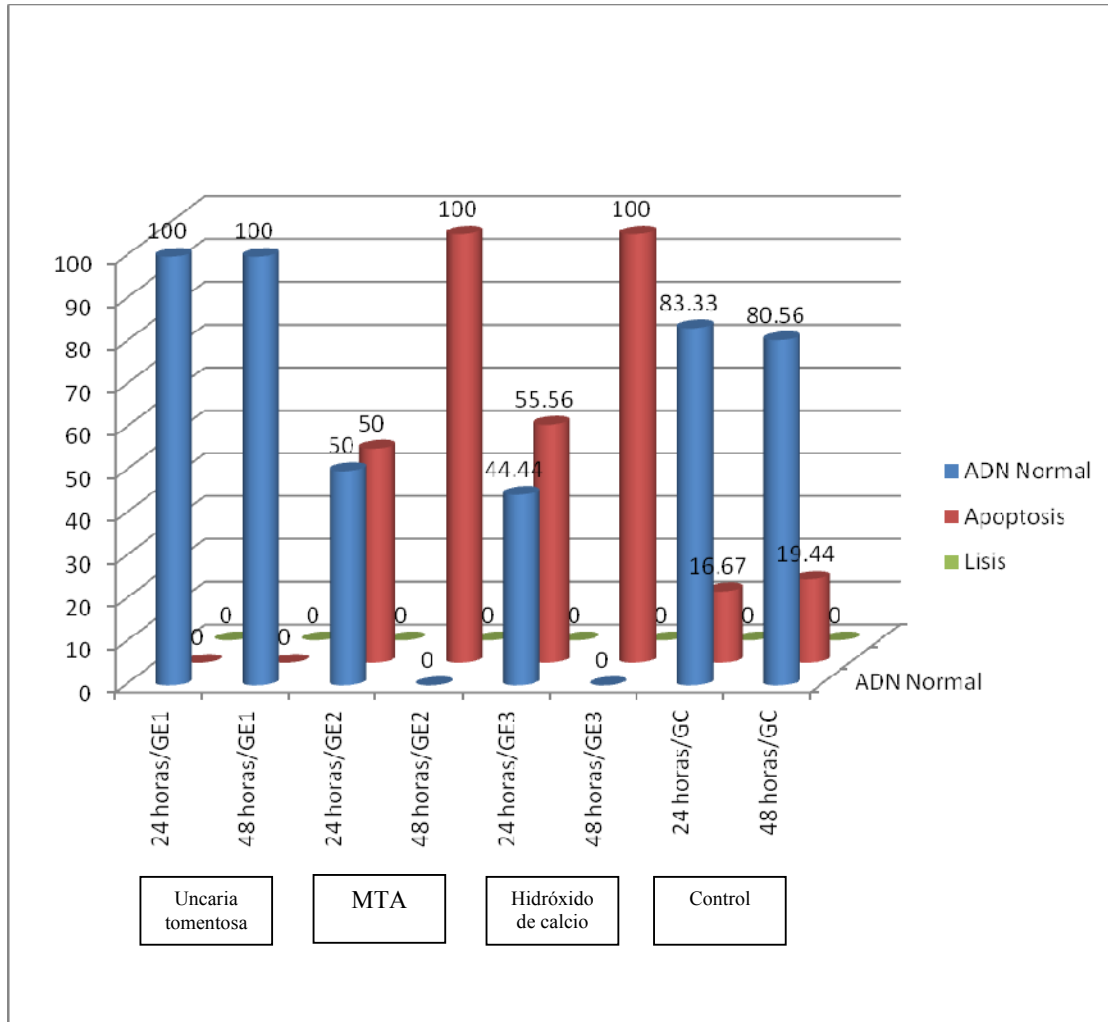
A las 48 horas el GE1(Uncaria tomentosa) se observó la misma tendencia que a las 24 horas con un 100% para el ADN normal; los valores de apoptosis aumentaron en un 100% tanto para el GE2 (MTA) como para el GE3 (Hidróxido de calcio); no se observaron valores de lisis en el GE1 (Uncaria tomentosa), GE2 (MTA) y GE3(Hidróxido de calcio).

Aplicando la Prueba Estadística Chi Cuadrado para la Integridad del ADN se observa diferencia estadísticamente significativa dado que el valor F (34.49 a las 24 horas y 163.97 a las 48 horas) es mayor que el valor crítico (12.59); por lo que podemos afirmar que la Uncaria Tormentosa preserva mejor la Integridad del ADN que el MTA y el Hidróxido de Calcio.



GRÁFICA N° 16

EFFECTO COMPARATIVO DE LA UNCARIA TOMENTOSA, DEL MTA Y DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA INTEGRIDAD DEL ADN DE LA PULPA DENTAL



Fuente: Elaboración Personal (Matriz de Registro y Control)



**DISCUSIÓN
Y
CONCLUSIONES**

DISCUSIÓN

LOZADA. Al evaluar el efecto inmunomodulador de UNCARIA TOMENTOSA sobre la inducción de la apoptosis de células mononucleares de sangre periférica humana demostró a nivel biológico su capacidad para la inhibición de procesos inflamatorios, inhibición en la producción de TNF α ; en tanto que en el presente estudio también se demostró que la UNCARIA TOMENTOSA no ocasionaba apoptosis en el transcurso de las evaluaciones, en cambio se producía un incremento en el porcentaje de número de células viables, y en la morfología nuclear se mantenían normales hacia las 48 hrs. Y el ADN se mantuvo normal a 48 hrs.

AGUILAR Y COL. Al evaluar el efecto antiinflamatorio de 2 tipos de UNCARIA TOMENTOSA demostraron la inhibición de mecanismos intracelulares vía el efecto de transcripción NF- κ B; a diferencia del presente estudio en el que no se evaluó molecularmente su efecto a nivel intracelular pero se observó la morfología nuclear en la que a diferencia de los otros materiales evaluados en el presente estudio no causó alteración alguna en la morfología nuclear de la célula de pulpa dental.

LÓPEZ (2006) Menciona respecto de la UNCARIA TOMENTOSA, posee propiedades antitumorales por un mecanismo de inducción selectiva de la apoptosis, lo que sería corroborado por el presente estudio en el sentido que, se observó al 3° control menor porcentaje de células con apoptosis ya que no tenían células diferentes para inducir la apoptosis selectivamente en el presente estudio in Vitro.

LÓPEZ (2006) Menciona también respecto de la UNCARIA TOMENTOSA el efecto inhibitorio en la proliferación celular anormal por acción directa sobre las polimerasas ADN; en el presente estudio al evaluar la viabilidad celular se evidenció un efecto multiplicador de la proliferación celular normal, al control 0, 24, 48 hrs. Por lo que se podría deducir el efecto multiplicador de la UNCARIA TOMENTOSA en las células normales de pulpa dental.

LÓPEZ (2006) Menciona al evaluar el efecto de seis tipos de alcaloides oxindólicos de la UNCARIA TOMENTOSA sobre la proliferación de células leucémicas, que la acción fue selectiva en cuanto que inhibieron selectivamente el crecimiento de células leucémicas y no así a las células progenitoras extraídas

de medula ósea, lo que sería corroborado en el presente estudio al evaluar la viabilidad celular de la UNCARIA TOMENTOSA al evidenciar la proliferación de células en aumento hacia el 3° control (48 hrs.).

SEINCHI Y COL (2002) Al evaluar las propiedades entre MTA y HIDRÓXIDO DE CALCIO como recubrimiento pulpar en dientes humanos donde evidencio que el MTA ofrecía mejores propiedades biológicas que el HIDRÓXIDO DE CALCIO, esto fue corroborado en el presente estudio en cuanto a la viabilidad celular, morfología celular é integridad del ADN presentaron mejores resultados que el HIDRÓXIDO DE CALCIO, y mejores efectos biológicos que el HIDRÓXIDO DE CALCIO se mostró con la UNCARIA TOMENTOSA

TINGEY Y COL (2008) Analizaron el MTA en presencia de suero bovino fetal y en agua, donde concluyeron que no había diferencias en sus características físicas y químicas de ambos cementos al fraguar; en el presente estudio se empleo el suero bovino fetal para la incubación de las células pulpares a las 0 hrs; 24 hrs.y 48 hrs., donde se aplicaron los estímulos para la evaluación, y el MTA no altero el medio de cultivo, permitiendo la evaluación celular.

KEISER (2000) Evalúa la citotoxicidad del MTA en fibroblastos del ligamento periodontal, donde con pruebas electrónicas determinaron que los iones Ca y P se hallaban presentes en el MTA y a esta presencia se debía la biocompatibilidad con los tejidos y células, en el presente estudio se observo que esta biocompatibilidad a través de la viabilidad celular, donde de un primer control a 0 hrs su porcentaje fue disminuyendo hacia el tercer control, esto no fue muy notorio con márgenes marcados; pero que en cierta forma demostró una citotoxicidad celular a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que incrementaba su porcentaje celular.

BODEM (2004) Evaluó el MTA como material de recubrimiento pulpar directo en muelas temporarias donde demostró que el MTA es un material biocompatible, siendo mejor que la amalgama y Oxido de Zinc y Eugenol, en cambio en el presente trabajo se observo la biocompatibilidad a través de la viabilidad celular , morfología nuclear y alteración de ADN, y también se evaluaron la UNCARIA TOMENTOSA y HIDRÓXIDO DE CALCIO como estímulos que también son materiales empleados para recubrimiento pulpar directo en piezas dentarias permanentes.

TORABINEJAD Y COL (1995) Evalúa las características físicas y químicas en la obturación de conductos con el MTA, concluyendo que a la estabilización del pH en 12.5 induce la formación de tejidos duros, en el presente estudio no se evaluó las características físicas y químicas; en cambio se evaluara características biológicas celulares; brindando mejor efectividad la UNCARIA TOMENTOSA

FORD Y COL Demostraron que el MTA en estudio bacteriológico es un material biocompatible, indicándolo como material de recubrimiento pulpar directo por sus propiedades físicas; en el presente estudio se demostró la biocompatibilidad a nivel celular pero comparado con la UNCARIA TOMENTOSA y el HIDRÓXIDO DE CALCIO, donde la UNCARIA TOMENTOSA fue más efectiva que el MTA y HIDRÓXIDO DE CALCIO.

MAROTO (2004) Considera al MTA como material altamente biocompatible y de haber superado positivamente las pruebas de citotoxicidad in Vitro, lo que se corroboró en el presente estudio y evidenciando que tiene mejores propiedades biocompatibles que el MTA a la UNCARIA TOMENTOSA in Vitro.

SILVEIRA (2009) Demostró al MTA un potencial para la inducción de la cementogenesis y osteogenesis y biocompatibilidad, en el presente estudio se demostró que mejores propiedades que el MTA las tiene la UNCARIA TOMENTOSA por su aumento en la biocompatibilidad al incrementar el número de células en los controles, lo que evidenciaría su propiedad de inducción celular.

SELDEN (2002) Menciona que el MTA crea interacción en la regeneración de tejido y demuestra que la toxicidad que se presenta en el endurecimiento del MTA no produce cambios en la estructura y funcionamiento de las células en las que esta en contacto, y no produce daño irreversible; en contraste con el presente trabajo que se observo que a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA el MTA produce daño celular y alteración del ADN con la consiguiente muerte celular después de aplicado el estímulo del MTA para los controles posteriores.

ABEDI (1997) PITT FORD (1996) Emplearon el MTA como recubrimiento pulpar directo donde se evidencio la formación de un puente calcificado mayor y menor inflamación, en comparación con el HIDRÓXIDO DE CALCIO; lo que seria corroborado por el presente estudio ya que mejores resultados se observo para el MTA que con el HIDRÓXIDO DE CALCIO; más no así entre la

UNCARIA TOMENTOSA y el MTA que fue menor y mas dañino para las células de la pulpa dental.

GORDUYSUS Y COL (2000) Estudiaron el grado de citotoxicidad en fibroblastos del ligamento periodontal humano, comparado con amalgama de plata y super EBA a las 24 hrs donde el MTA fue menos cototóxico, lo que fue corroborado en el presente estudio; más no así comparado con la UNCARIA TOMENTOSA que comparado con el MTA, este resultado ser más citotóxico.

REZENDE Y COL (2007) mostró que el MTA presenta excelentes resultados respecto de la viabilidad de los macrófagos, lo que concuerda con el presente estudio que el MTA las mantiene viables a las células, pero esta viabilidad se ve disminuida hacia el 3° control. A diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que las células se ven aumentadas en porcentaje hacia el 3° control.

THOMSON Y COL (2007) Demostraron que el MTA es más inerte que otros materiales dentales, lo que permite la capacidad natural del cuerpo para curar, lo que se corrobora en el presente estudio al ser comparado con el HIDRÓXIDO DE CALCIO; al ser evaluado en la viabilidad celular, morfología nuclear y alteración del ADN. Pero siendo diferente en comparación con la UNCARIA TOMENTOSA que presenta mejores resultados.

TANI ISHII Y COLS (2007) Observaron que el MTA es menos toxico para los osteoblastos que otros materiales y permite el crecimiento celular, resultando ideal para reparar perforaciones y resorciones radiculares; a diferencia del presente estudio donde se observa que el MTA no permitía el crecimiento celular, al ser evaluada la viabilidad celular se observa la disminución de células hacia el 3° control, en tanto que la UNCARIA TOMENTOSA presento el incremento de células viables.

YOSHIMINE Y COL. (2007) Mostraron que el MTA proporciona proliferación celular y formación de matriz mineral, en el presente estudio se evidencio la disminución en el número de células hacia el 3° control a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que si mostro proliferación celular en aumento hacia el 3° control.

TOMSON Y COL (2007) Concluyeron que el MTA potencia los mecanismos celulares para la reparación y regeneración de dentina In vitro e In vivo, en cambio en el presente estudio se pudo observar In vitro que el MTA no potenciaba estos mecanismos en vista que conforme avanzaban los controles el

número de células disminuían, a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que se incrementaba el número de células conforme se evaluaban los controles.

HOLLAND Y COL. (2007) Mostraron que al utilizar MTA sobre pulpas expuestas; las pulpas continuaron vitales sin reacción inflamatoria observando una nueva capa de odontoblastos con un número variable de células, lo que se contradice con el presente estudio porque se observó la disminución en el número de células a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que proliferaban las células hacia el 3° control.

PEREIRA Y COL. (2004) Menciona la biocompatibilidad del HIDRÓXIDO DE CALCIO como protector pulpar, a diferencia del presente estudio en el que comparado con MTA y UNCARIA TOMENTOSA se observa que esta biocompatibilidad se ve alterada ya que al evaluar la viabilidad celular su número se ve reducido, mostrando mejores resultados con la UNCARIA TOMENTOSA.

UNEMORI Y COL (2007) Menciona la capacidad de inducción de neoformación de tejido mineralizado debido al pH alcalino del HIDRÓXIDO DE CALCIO, lo que sería contradictorio con el presente estudio ya que para que haya inducción de neoformación de tejido tendría que haber proliferación celular, lo que en el presente estudio no fue corroborado en vista que se presenta disminución en el número de células y alteración en su morfología y estructura del ADN. A diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que no alteraron las células.

STANLEY Y LUNDY (2002) Menciona que el HIDRÓXIDO DE CALCIO actúa directamente sobre el tejido pulpar promoviendo necrosis superficial como consecuencia de un elevado pH; lo que fue corroborado en el presente estudio al evaluar la viabilidad celular donde el número de células disminuyeron hacia el 3° control; hubo alteración en la morfología celular y por consiguiente alteración en la integridad del ADN, a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que no altera las células.

TZIARAS Y COLS (2005) Menciona al HIDRÓXIDO DE CALCIO que la necrosis por coagulación sirve como superficie de soporte para las células odontoblastoides, lo que no sería así en vista que al permanecer en contacto directo con las células continúa generando daño celular, no ofreciendo así superficie de soporte para las células odontoblastoides, en cambio la UNCARIA

TOMENTOSA mostro proliferación celular, no altero la morfología celular y la integridad del ADN hacia el 3° control.

PEREIRA Y COL. (2009) Menciona que el HIDRÓXIDO DE CALCIO provoca una capa necrótica reduciendo el volumen del tejido pulpar, resultando en perdida significativa de tejido biológicamente activo (células), lo que fue corroborado en el presente estudio al observarse la disminución en el número de células con el HIDRÓXIDO DE CALCIO; a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que mostro proliferación celular hacia el 3° control.

BORTULUZZI Y COLS. (2008) Menciona que el hidroxilo liberado por el HIDRÓXIDO DE CALCIO produce una desnaturalización proteica, en contacto directo con el tejido; lo que fue corroborado en el presente estudio al observarse la muerte celular, alteración de morfología e integridad del ADN, a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que no mostro alteración alguna a nivel celular.

OLSSON Y COLS. (2006) Menciona que a pesar de la heterogeneidad de diseños y protocolos para recubrimiento pulpar directo, al uso de materiales a base de calcio para la formación de barrera mineralizada; pero no menciona el daño celular que se observo en el presente estudio; a diferencia de la U. T. que mostro buenos y mejores resultados en las evaluaciones y controles.

SAWICKI Y COLS (2008) Menciona la HIDRÓXIDO DE CALCIO como material de elección para protección pulpar, lo que seria contradecido por los resultados obtenidos en el presente estudio en vista al daño celular que produce el HIDRÓXIDO DE CALCIO, asi como la alteración de la integridad del ADN y la morfología celular, a diferencia de la UNCARIA TOMENTOSA que mostró mejores resultados que el HIDRÓXIDO DE CALCIO y el MTA.

AGAMY (2004) Al comparar los efectos del MTA y del Formocresol como recubrimiento pulpar, no encontraron diferencias estadísticas significativas al evaluarse clínicamente y radiográficamente, así también observaron que MTA indujo mayor formación de puente dentinario que el Formocresol, lo que seria diferente al presente estudio en el cual la UNCARIA TOMENTOSA al ser evaluada y comparada con el MTA y HIDRÓXIDO DE CALCIO mostró mejores resultados al ser evaluada en la viabilidad celular, morfología nuclear e integridad del ADN.

ROMERO (2009) Evaluó la viabilidad celular y el ADN comparando la UNCARIA TOMENTOSA y HIDRÓXIDO DE CALCIO, dando como

resultado la integridad del ADN con UNCARIA TOMENTOSA a diferencia del HIDRÓXIDO DE CALCIO que presenta las células hidrolisadas, lo que fue corroborado en el presente estudio al evaluar la viabilidad celular, morfología celular e integridad del ADN donde la UNCARIA TOMENTOSA mostró mejores resultados que el MTA y el HIDRÓXIDO DE CALCIO.

OZDEMIR (2009) Al evaluar la citotoxicidad del HIDRÓXIDO DE CALCIO y fosfato tricalcico, observo cambios morfológicos en las células con grados de toxicidad, mayor con el fosfato tricalcico que con el HIDRÓXIDO DE CALCIO, así como mejor biocompatibilidad; a diferencia del presente estudio donde se corrobora que el HIDRÓXIDO DE CALCIO era menos biocompatible y más citotóxico con las células de pulpa dental en comparación con la UNCARIA TOMENTOSA y el MTA

NUÑEZ Y LOZADA (2008) Evaluaron la capacidad de la UNCARIA TOMENTOSA sobre la población de células dendríticas y su expresión de moléculas, observando disminución en el porcentaje de células dendríticas mieloides y aumento de células plasmocitoides lo que sería corroborado en el presente estudio por la proliferación celular que indujo la UNCARIA TOMENTOSA.

GUTIERREZ (2008) Evaluó la biocompatibilidad de un cemento a base de UNCARIA TOMENTOSA asociado con HIDRÓXIDO DE CALCIO, evaluando la reacción tisular fibroblástica, donde el cemento a base de UNCARIA TOMENTOSA mostro menor grado de inflamación dando a conocer su poder reparativo y regenerativo celular, lo que fue corroborado en el presente estudio, al observarse la proliferación celular en aumento hacia el 3° control

LUMINOSA Y COL (2006) Evaluaron el uso de UNCARIA TOMENTOSA como recubrimiento pulpar directo, donde obtuvieron como resultado características favorables para su aplicación clínica, en tanto que en el presente estudio se evaluaron las propiedades de la UNCARIA TOMENTOSA a través de técnicas biomoleculares y comparándolos con MTA e HIDRÓXIDO DE CALCIO, que son materiales empleados como protector pulpar directo.

CONCLUSIONES

PRIMERA: El efecto de la *Uncaria tomentosa* en la Viabilidad Celular según la prueba ANOVA y la prueba de especificidad de DUNETT, fue estadísticamente significativa.

Respecto de la Morfología Nuclear, según la prueba Chi cuadrado la *Uncaria Tomentosa* tuvo efecto benéfico.

Respecto de la integridad del ADN, según la prueba Chi cuadrado con *Uncaria Tomentosa* se observó la estructura del ADN conservado o normal.

SEGUNDA: El efecto del MTA en la Viabilidad Celular según la prueba ANOVA y la prueba de especificidad de DUNETT, fue estadísticamente significativa.

Respecto de la Morfología Nuclear, según la prueba Chi cuadrado el MTA tuvo efecto negativo observándose los núcleos apoptóticos.

Respecto de la integridad del ADN, según la prueba Chi cuadrado con MTA se observó la estructura del ADN fragmentada en escalera, al alterar la integridad del ADN.

TERCERA: El efecto del Hidróxido de Calcio en la Viabilidad Celular según la prueba ANOVA y la prueba de especificidad de DUNETT, fue estadísticamente significativa.

Respecto de la Morfología Nuclear, según la prueba Chi cuadrado el Hidróxido de Calcio tuvo efecto negativo.

Respecto de la integridad del ADN, según la prueba Chi cuadrado con Hidróxido de Calcio se observó la estructura del ADN fragmentado en escalera.

CUARTA: Por consiguiente de los tres productos evaluados la *Uncaria tomentosa* influye más en la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y Integridad del ADN, no tanto así el MTA y el Hidróxido de Calcio por crear

inhibición celular, apoptosis nuclear y alteración en la integridad del ADN.

QUINTA: Consecuentemente se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna o de investigación, con un nivel de significancia de 0.05



RECOMENDACIONES

PRIMERA .-En vista que la Uncaria tomentosa mostró mayor eficacia desde el primer control, recomiendo a tesis de Postgrado continuar haciendo investigación sobre la Uncaria tomentosa, para determinar su efecto a nivel molecular; así mismo convendría investigar la influencia de la Uncaria tomentosa asociada con algún otro elemento natural de nuestra flora nacional para potenciar su poder inmunoestimulador y neoformador celular.

SEGUNDA .-Se recomienda a graduandos de Pre y Postgrado se efectúe la investigación in vitro para determinar en qué medida la Uncaria tomentosa podría influir en la preservación o inhibición de la quimiotaxis del neutrófilo y fibroblasto pulpar, en el proceso inflamatorio.

TERCERA .- Se propone a la Universidad Católica de Santa María a través de sus centros de investigación brindar apoyo y recursos para la ejecución de los trabajos de investigación que puedan brindar gran aporte científico para reconocimiento, como ente investigador a la universidad.

BIBLIOGRAFIA

1. ABUL, K. *Inmunología celular y molecular*. Editorial Mc-Graw Hill. 2º Edición. Madrid-España.1995.
2. ÁLVAREZ VALLS L. *Endodoncia*. Ed. Pueblo y Educación. La Habana. 1977.
3. BARBERIA, Elena. *Odontopediatría*. Editorial MASSON, 2ºEdición, Barcelona, 2001.
4. BHASKAR, S.S. *Histología y embriología bucal de Orban*, Ed Librería Acuario, 11ª ed. 1994
5. BASRANI, Enrique. *Endodoncia Integrada*. Actualidades Médico Odontológica Latinoamericana, Colombia, 1999.
6. BORYSENKO MYRIN ET AL, *Histología Funcional*. Editorial Limusa. Mexico.2007.
7. CANALDA, Carlos y BRAU, Esteban. *Endodoncia Técnicas Clínicas y Bases Científicas*. Editorial Masson. Barcelona. 2001.
8. ESCOBAR, Fernando. *Odontología Pediátrica*. Editorial Amolca. 2º Edición. Madrid-España. 2004.
9. FINN GENESSER. *Histología sobre Bases Moleculares*. Editorial Médica Panamericana. Tercera Edición. España. 2003.
10. GÓMEZ DE FERRARIS, María y CAMPOS MUÑOZ, Antonio. *Histología y Embriología Bucodental*. Editorial Médica Panamericana. Segunda Edición. Buenos Aires. 1998.
11. GUEDES PINTO, Antonio y colaboradores. *Rehabilitacion bucal en odontopediatria*. Editorial Harcourt. Edicion 2003.
12. KARP, Gerald. *Biología Celular y Molecular*. Editorial Mc-Graw Hill. Madrid-España.1995.
13. LEONARDO, Marco y LEAL, Jaime. *Endodoncia. Tratamiento de Conductos Radiculares*. Editorial Médica Panamericana. Segunda Edición. Buenos Aires. 1998.

14. ORBAN. *Histopatología y Embriología bucales*. La Habana. Ed. Pueblo y Educación; 1980.
15. PROVENZA VINCENTD. *Histología y Embriología Odontológicas*. Editorial Interamericana. Madrid. 2008.
16. SAGE PRESS INC. *Technical data report for Cat's Claw*. 2002
17. THE DOCTORS' PRESCRIPTIONS FOR HEALTHY LIVING. *The Powerful Cat's Claw for Healthy Immune Function*. Freedom Press. 2004.
18. THE DOCTORS' PRESCRIPTIONS FOR HEALTHY LIVING. *The Powerful Cat's Claw for Healthy Immune Function*. Freedom Press. 2006.
19. VILLENA MARTINEZ, Hernán. *Tratamiento endodóntico en diente inmaduro. Endodoncia pediátrica*. Perú- 1era Edición. 2009. Editor UPCH 183-187
20. WALTON Richard. *Endodoncia, Principios y Práctica Clínica*. Editorial Interamericana. México. 2010.
21. WELSH, Ulrich, SOBOTTA, Johannes. *Histología*. Editorial Médica Panamericana. 2º Edición. Madrid, 2006.



HEMEROGRAFÍA

1. ABEDI, H. R.; TORABINEJAD, M.; MCMILLAN, P. *The effect of demineralization of resected root ends on cementogenesis*. Abstrac N° 37. J. Endod., 1997. 23(4):258. 1997
2. ACCORINTE ML, LOGUERCIO AD, REIS A, CARNERIO E, GRANDE RH, MURATA SS, HOLLAND R. *Response of human dental pulp capped with MTA and calcium hydroxide powder*. Oper Dent. 2008;33(5):488-95.
3. AEINEHCHI, M.; ESLAMI, B.; GHANBARIHA, M.; SAFFAR, A. S. *Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp capping agents in human teeth: a preliminary report*. Int Endod J, 2002; 36: 225-231.
4. AEINEHCHI, M.; ESLAMI, B.; GHANBARIHA, M.; SAFFAR, A. S. *Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp capping agents in human teeth: a preliminary report*. Int Endod J, 2007; 36: 225-231.
5. AGAMY HA, BAKRY NS, MOUNIR MM, AVERY DR. *Comparison of mineral trioxide aggregate and formocresol as pulp-capping agents in pulpotomized primary teeth*. Pediatr Dent 2004;26(4):302-9.
6. AGUILAR J, ROJAS P, MARCELO A, PLAZA A, BAUER R, REININGER E, CRISTOPH A K, MERFORT I. *Anti-inflammatory activity of two different extracts of Uncaria tomentosa (Rubiaceae)*. J Ethnopharmacol 2002; 81:271-276.
7. AL-HEZAIMI, K.; NAGHSHBANDI, J.; OGLESBY, S.; SIMON, J. H. S.; ROTSTEIN, I. *Antibacterial effect of two mineral trioxide aggregate (MTA) preparations against Enterococcus faecalis and Streptococcus sanguis in vitro*. Abstract N° 53. American Association of Endodontists. Annual Session. April 25 – 28, 2007. J Endod, 2007; 33: 342.
8. ANDELIN, W. E.; SHABANANG, S.; WRIGHT, K.; TORABINEJAD, M. *Identification of hard tissue after experimental pulp capping using dentin sialoprotein (DSP) as a marker*. J Endod, 2003; 29: 646-650.
9. ARAUJO FERNÁNDEZ, Pablo Cesar. *Estudio Histológico de los Componentes de la Pulpa Dental en Relación a la Edad, realizados en Piezas Sanas Permanentes en Pacientes de 8-20. 30-50 y 60-80 años del distrito de Arequipa.1999.*

10. ASGARY, S.; PARIROKH, M.; EGHBAL, M. J.; BRINK, F. *Chemical differences between white and grey mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2005; 31: 101-103.
11. BERNABÉ PFE, HOLLAND R. *MTA e cimento Portland: considerações sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas*. In: CARDOSO RJA, MACHADO MEL. *Odontologia arte e conhecimento*. São Paulo: Artes Médicas; 2003. p. 225-64.
12. BERTH, M; MOSER, F; KOLBE, M. *The state of the art in the analysis of two-dimensional gel electrophoresis images*. Appl Microbiol Biotechnol.2007;76(S):1223-43.
13. BODEM O, BLUMENSHINE S, ZEH D, KOCH MJ. *Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate in a primary molar: a Case report*. Int J Paediatr Dent 2004;14(5):376-9.
14. BODEM, O.; BLUMENSHINE, S.; ZEH, D.; KOCH, M. J. *Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate in a primary molar: a case report*. Int J Paed Dent; 2004; 14: 376-379.
15. BORTOLUZZI, E. A.; JUÁREZ, N.; BRAMANTE, C. M.; CONSOLARO, A.; GARCIA, R. B.; GOMES, I.; NORBERTO, B. *Mineral trioxide aggregate with or without calcium chloride in pulpotomy*. J Endod, 2008; 34: 172-175.
16. BORTOLUZZI, E. A.; SIVIERI, G.; GUERREIRO, J. M.; TANOMARU-FILHO, M. *Marginal gingival discoloration by grey MTA: a case report*. J Endod, 2007a; 33: 325-327
17. BOZEMAN, T. B.; LEMON, R. R.; ELEAZER, P. D. *Elemental analysis of crystal precipitate from grey and white MTA*. J Endod, 2006; 32: 425-428.
18. CAMILLERI, J. *Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2008b; 41: 408-417.
19. CAMILLERI, J. *The physical properties of accelerated Portland cement for endodontic use*. Int Endod J, 2008; 41: 151-157.
20. CLARK, P. D.; LIEWEHR, F. R.; HAHN, C. L.; MOON, P. C. *An in vitro leakage and viscosity analysis of root-end filling materials*. Abstract N° 14.

- American Association of Endodontists. Annual Session. April 25 – 28, 2007a. J Endod, 2007; 33: 332
21. COOMARASWAMY, K. S.; LUMLEY, P. J.; HOFMANN, M. P. *Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system.* J Endod, 2007; 33: 295-298.
 22. CUMMINGS, G. R.; TORABINEJAD, M. *Mineral trioxide aggregate (MTA) as an isolating barrier for internal bleaching.* Abstract N° 53. American Association of Endodontists. 52nd Annual Session. May, 10-14, 1995. J Endod, 1995; 21: 228.
 23. DE DEUS, G.; REIS, C.; BRANDÃO, C.; FIDEL, S.; FIDEL, R. A. *The ability of Portland cement, MTA, and MTA Bio to prevent through and through fluid movement in repaired furcal perforations.* J Endod, 2007; 33: 1374-1377.
 24. DUARTE, M. A. H.; DEMARCHI, A. C. C.; YAMASHITA, J. C.; KUGA, M. C.; FRAGA, S. *Arsenic release provided by MTA and Portland cement.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Oral Endod, 2005; 99: 648-650.
 25. EIDELMAN E, HOLAN G, FUKS AB. *Mineral trioxide aggregate Vs formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report.* Pediatr Dent 2001;23(1):15-8.
 26. EL-ARABY A, AL-JABAB A. *The influence of some dentin primers on calcium hydroxide lining cement.* J Contemp Dent Pract. 2005;6(2):1-9
 27. FALKIEWICZ, B. ÜUKASIAK, J. VILCACORA *Uncaria Tomentosa DC. Y Uncaria guianensis (Aublet) una revisión de la documentación científica publicada.* www.jarnen.to.com.ec 2001.
 28. FALKIEWICZ, B. ÜUKASIAK, J. VILCACORA *Uncaria tomentosa (Willd.) DC. y linearía guianensis (Aublet) Gmell una revisión de la documentación científica publicada.* www.samento.com.ee. 2003.
 29. FISCHER E, ARENS D. *Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with Zinc-free amalgam, intermediate restorative material and super EBA as a root-end filling material.* J. Endod, Indiana School of Dentistry 1998 24(3):176-9.

30. FORD TR, TORABINEJAD M, ABEDI HR, BAKLAND LK, KARIYAWASAM SP. *Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material.* J Am Dent Assoc 1996;127(10):1491-4.
31. FUENTES, J.; CORSINI, G; HERRERA, J.; ZARZAR, A & PONCE, A. *Utilización del compuesto MTA en fracturas radiculares verticales producidas por traumatismos sin intervención quirúrgica.* Int. J. Odontostomat., 2008. 2(2):203-206,.
32. FUNTEAS UR, WALLACE JA, FOCHTMAN EW. *A comparative analysis of MTA and Portland cement.* J Endod 2002;28:259.
33. GARCÍA BARBERO E, VERA GONZÁLEZ V, VELÁZQUEZ CANO J, BALDONEDO RODRÍGUEZ JL, RODRÍGUEZ MUÑOZ A, GONZÁLEZ LOSADA C. *Nuevas Posibilidades terapéuticas en Endodoncia.* Revista Europea de Odontología y Estomatología 2000;21(7):325-30.
34. GHOSH, A; BANSAL, M. *A glossary of DNA structures from. A to Z.* Acta Crystallogr O Biol Crystallogr 59 (Pt 4): pp. 620-6.
35. GORACCI G, MORI G. *Scanning electron microscopic evaluation of resin-dentin and calcium hydroxide-dentin interface with resin composite restorations.* Quintessence Int. 2006;27(2):129-35.
36. GORDUYSUS, M.; AVEU, N.; GORDUYSUS, O.; PEKEL, A.; BARAN, Y.; AVCU, F.; URAL, A. U. *Cytotoxic effects of four different endodontic materials in human periodontal ligament fibroblasts.* J Endod, 2007; 33: 1450-1454.
37. GRAHAM L, COOPER PR, CASSIDY N, NÖR JE, SLOAN AJ, SMITH AJ. *The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components.* Biomaterials. 2006;27(14):2865-73.
38. HAMAD, H. A.; TORDIK, P. A.; MCCLANAHAN, S. B. *Furcation perforation repair comparing grey and white MTA: A dye extraction study.* J Endod, 2006; 32: 337-340.
39. HAYASHI, M.; SHIMIZU, A.; EBISU, S. *MTA for obturation of mandibular central incisors with open apices: case report.* J Endod, 2004; 30: 120-122.

40. HERNÁNDEZ, E. P.; BOTERO, T. M.; MANTELLINI, M. G.; MCDONALD, N. J.; NÖR, J. E. *Effect of Proroot MTA mixed with chlorhexidine on apoptosis and cell cycle of fibroblasts and macrophages in vitro*. Int Endod J, 2005; 38: 137-143.
41. HOLLAND, R.; BISCO, L.; DE SOUZA, V.; OTOBONI, J. A.; MURATA, S. S.; DEZAN, E. JR. *Reaction of the lateral periodontium of dogs' teeth to contaminated and noncontaminated perforations filled with mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2007; 33: 1192-1197.
42. HOLT, D. M.; WATTS, J. D.; BEESON, T. J.; KIRKPATRICK, T. C.; RUTLEDGE, R. E. *The antimicrobial effect against E. faecalis and the compressive strength of two types of MTA mixed with sterile water or 2% chlorhexidine liquid*. Abstract N° 5. American Association of Endodontists. Annual Session. April 25 – 28, 2007. J Endod, 2007a; 33: 330.
43. ISLAM, I.; CHNG, H. K.; YAP, A. U. J. *Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement*. J Endod, 2006a; 32: 193-197.
44. KEISER, K.; JOHNSON, C. C. & TIPTON, D. A. *Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts*. J. Endod., 26(5):288-91, 2000.
45. KEISER, K.; JOHNSON, C. C.; TIPTON, D. A. *Citotoxicidad del agregado de trióxido mineral empleando fibroblastos del ligamento periodontal humano*. Endodoncia, 2000; 4: 215-220.
46. KEPLINGER, K. LAUS, G. WURM, MCIERICH, M TEPPNER, H. *Uncaria tomentosa (Willd) DC. El uso Etnomedicinal y los Nuevos Resultados Farmacológicos, Toxicológicos y Botánicos*. Journal de Ethnopharmacology. 1999. Pp. 23-34.
47. KITASAKO Y, SHIBATA S, COX CF, TAGAMI J. *Location, arrangement and possible function of interodontoblastic collagen fibres in association with calcium hydroxide-induced hard tissue bridges*. Int Endod J. 2008;35(12):996-1004.

48. KOMABAYASHI, T.; SPÅNGBERG, L. S. W. *Particle size and shape analysis of MTA finer fractions using Portland cement*. J Endod, 2008b; 34: 709-711
49. LAI, C.-C.; HUANG, F.-M.; CHAN, Y.; YANG, H.-W.; HUANG, M.-S.; CHOU, M.-Y.; CHANG, Y.-C. *Antibacterial effects of resinous retrograde root filling materials*. J Endod, 2003; 29: 118-120.
50. LEE SJ, MONSEF M, TORABINEJAD M. *Sealing ability of a Mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations*. J Endod 1993;19(11):541-4.
51. LEE SJ, TORABINEJAD M. *Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations*. J Endod. 2000;19(12): 541-4.
52. LEMAIRE I, ASSINEWE V, CANO P, AWANG D V C and ARNASON J T. *Stimulation of interleukin-1 and -6 production in alveolar macrophages by the neotropical liana, Uncaria tomentosa (Uña de Gato)*. J Ethnopharmacol 1999; 64:109-115.
53. LÓPEZ LUENGO M. *Tránsito. Ámbito Farmacéutico. Uña de Gato Características y perfil terapéutico*. Vol 25 Núm. 10 2006.Pág.104.
54. LOZADA-REQUENA I. *Efecto inmunomodulador de capsaicina y Uncaria tomentosa (uña de gato) sobre la producción del factor de necrosis tumoral de tipo alfa e interleuquina 10 y sobre la inducción de apoptosis en células mononucleares de sangre periférica humanas*. Lima-Perú: Biblioteca Central, Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2006.
55. LUKINMA AND VALEN A. ED . *A Región - Containing Isoform of Cellular Fibronectin is Presente in Dentín Matriz in Dentínogenesis Imperfecta Associate with Osteogénesis Imperfecta*, J. Dental Research.1998; 73(6) 1187-1196, Junio.
56. MAHMOUD, O.; WHITWORTH, J.; MCCABE, J. *Chemical analysis of MTA before and after hydration with water and water/serum mixture*. European Society of Endodontology. 13th Biennial Congress. Istanbul, Turkey. 6-8 September 2007. R 3.69. Int Endod J, 2007b; 40: 1000.
57. MAROTO, M., BARBERÍA, E., Y PLANELLS, P. *Clinical study of mineral trioxide aggregate in pulpotomy procedures on primary molars: a 15 months pilot study*. RCOE, vol.9, (1). 2004. p.23-30. ISSN 1138-123X.

58. MAROTO-EDO M, BARBERÍA-LEACHE E, PLANELLS DEL POZO P. *Estudio clínico del agregado trióxido mineral en pulpotomías de molares temporales: estudio piloto a 15 meses*. RCOE 2004;9(1):23-30.
59. MEHMET, P., HAKAN, O. *Reactions of tejido connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam*. Journal of Endodontic. 2004. 30(2), 95-99.
60. OLSSON H, PETERSSON K, ROHLIN M. *Formation of a hard tissue barrier after pulp capping in humans. A systematic review*. Int Endod J. 2006;39(6):429-42.
61. OLSSON, H.; PETERSSON, K.; ROHLIN, M. *Formation of a hard tissue barrier after pulp cappings in humans. A systematic review*. Int Endod J, 2006; 39: 429-442.
62. PATEL, R.; COHENCA, N. *Maturogenesis of a cariously exposed immature permanent tooth using MTA for direct pulp capping: a case report*. Dent Traumatol, 2006; 22: 328-333.
63. PAZ PUMPIDO F. *Biocompatibilidad de adhesivos dentinarios*. Av. Odontoestomatol 2005; 21-1: 339-345
64. PERALTA PÉREZ, Magnolia y col. *Evaluación in vitro de la citotoxicidad de tres selladores endodóncicos sobre fibroblastos de ratón de la línea celular L929*. Revista Odontológica Mexicana. Vol. 10, Núm. 2 Junio 2006. Pp.63-68.
65. PEREIRA J.C., STANLEY H.R.: *Pulp capping: influence of the exposure site on pulp healing histologic and radiographic study in dogs' pulp*. J Endod. 2007;7(5):213-23.
66. PEREIRA JC, BRAMANTE CM, BERBERT A, MONDELLI J. *Effect of calcium hydroxide in powder or in paste form on pulp-capping procedures: histopathologic and radiographic analysis in dog's pulp*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2009;50(2):176-86.
67. PEREIRA JC, SEGALA AD, COSTA CA. *Human pulpal response to direct pulp capping with an adhesive system*. Am J Dent. 2006;13(3):139-47.

68. PEREIRA JC, SENE F, HANNAS AR, COSTA LC. *Tratamentos conservadores da vitalidade pulpar: Princípios biológicos e clínicos*. Biodonto. 2004;2(3):8-70.
69. PITT FORD, T. R.; BAKLAND, L. *The use of mineral trioxide aggregate cement (MTA) as a direct pulp capping agent*. Abstrac N° 44.J. Endod. 1996. 22:199.
70. PITT FORD, T.; MANNOCCI, F.; WOOLFORD, M. *Survey on the teaching and use of mineral trioxide aggregate in UK dental schools*. Eur J Dent Educ, 2007; 11: 155-159.
71. REZENDE, T. M. B.; VIEIRA, L. Q.; CARDOSO, F. P.; OLIVEIRA, R. R.; OLIVEIRA, L. Q. *The effect of mineral trioxide aggregate on phagocytic activity and production of reactive oxygen, nitrogen species and arginase activity by M1 and M2 macrophages*. Int Endod J, 2007; 40: 603-611.
72. ROBERTS HW, TOTH JM, BERZINS DW, CHARLTON DG. *Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature*. Dent Mater. 2008 Feb;24(2):149-64.
73. SAGE PRESS INC. *Technical data report for Cat's Claw*. 2002.
74. SANDOVAL CHACÓN, M. THOMPSON J. XIAO-JINH Z. XIAOPING L LIU, X. MANNICK EE. SADOWSKA- KROWICKA, H. CHARBONNET, RM. CLARK, DA. MILLER MARK, JS. *Acciones Antiinflamatorias de la uña de gato Uncaria Tomentosa (Willd.) DC rol del NF-kB*. www.samento.com.ee.
75. SANDOVAL-CHACÓN M, CHARBONNET RM, OKUHAMA NN, ROBERTS J, KRENOVA Z, TRENTACOSTI AM, AND MILLER MJS. *Cat's claw inhibits TNF α production and scavenges free radicals: role in cytoprotection*. Free Radical Biology & Medicine.2000. 29(1): 71-78.
76. SANDOVAL-CHACÓN M, THOMPSON JH, ZHANG X-J, LIU X, MANNICK EE, SADOWSKA-KROWISCKA H, CHARBONNET RM, CLARK DA, AND MILLER MJS (1998) *Anti-inflammatory actions of cat's claw: the role of NF- κ B*. Aliment Pharmacol Ther. 1998 12: 1279-1289.
77. SAWICKI L, PAMEIJER CH, EMERICH K, ADAMOWICZ-KLEPALSKA B. *Histological evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide in*

- direct pulp capping of human immature permanent teeth.* Am J Dent. 2008;21(4):262-6.
78. SCHMITT D, LEE J, BOGEN G. *Multifaceted use of ProRoot MTA root canal repair material.* Pediatr Dent 2001;23(4):326-330.
79. SELDEN, H. *Root Perforation: An interesting case.* J. Endodon., 28:44-5, 2002.
80. SHABAHANG, S. *State of the art and science of endodontics.* J Am Dent Assoc, 2005; 136: 41- 52.
81. SHAHI, S.; RAHIMI, S. *A comparative histologic study of furcal perforation repair with white and gray mineral trioxide aggregate in dogs.* Abstract OR 22. American Association of Endodontists. Annual Session. April 9 – 12, 2008. J Endod, 2008; 34: 346.
82. SILVEIRA FF, NUNES E, SOARES JA, FERREIRA CL, ROTSTEIN I. *Double 'pink tooth' associated with extensive internal root resorption after orthodontic treatment: a case report.* Dent Traumatol. 2009 Jun;25(3):e43-7.
83. SONG JS, MANTE FK, ROMANOW WJ, KIM S. *Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA Angelus.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Dec;102(6):809-15.
84. STANLEY HR, LUNDY T. *Dycal therapy for pulp exposures.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2002;34(5):818-27.
85. STANLEY HR, LUNDY T. *Dycal therapy for pulp exposures.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2005;34(5):615-27.
86. TANI-ISHII, N.; HAMADA, N.; WATANABE, K.; TUJIMOTO, Y.; TERANAKA, T.; UMEMOTO, T. *Expression of bone extracellular matrix proteins on osteoblast cells in the presence of mineral trioxide.* J Endod, 2007; 33: 836-839.
87. TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; RUEGGERBERG, F. A.; LOUSHINE, R. J.; WELLER, R. N. *Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the Portland cement component of white mineral trioxide aggregate with phosphate-containing fluid.* J Endod, 2009; 23: 1274-1277.

88. THE DOCTORS PRESCRIPTIONS FOR HEALTHY LIVING. *The Powerful Cat's Claw for Healthy Immune Function*. Freedom Press. 2002.
89. THE DOCTORS' PRESCRIPTIONS FOR HEALTHY LIVING. *The Powerful Cat's Claw for Healthy Immune Function*. Freedom Press. 2000.
90. TINGEY, M. C.; BUSH, P.; LEVINE, M. S. *Analysis of mineral trioxide aggregate surface when set in the presence of fetal bovine serum*. J Endod, 2008; 34: 45-49.
91. TJÄDERHANE L. *The mechanism of pulpal wound healing*. Aust Endod J. 2002;28(2):68-74.
92. TOMÉ, L.; ZMENER, O. *Posibilidad del MTA como material de sellado para la obturación retrógrada en la cirugía endodóncica*. Endodoncia, 2003; 21: 159-166.
93. TOMSON, P. L.; GROVER, L. M.; LUMLEY, P. J.; SLOAN, A. J.; SMITH, A. J.; COOPER, P. R. *Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate*. J Dent, 2007a; 35: 636-642.
94. TOMSON, P. L.; GROVER, L. M.; LUMLEY, P. J.; SLOAN, A. J.; SMITH, A. J.; COOPER, P. R. *Comparison of dentine matrix components extracted by the soluble products of white and grey MTA*. European Society of Endodontology. 13th Biennial Congress. Istanbul, Turkey. 6-8 September 2007. R 1.6. Int Endod J, 2007b; 40: 981.
95. TORABINEJAD M, HONG. *Physical and chemical properties of a new root end filling material*. J. Endod., Loma Linda University . 1995. 21(7):349-53.
96. TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. *Clinical applications of mineral trioxide aggregate*. J. Endod. 1999 25(3):197-05.
97. TUNA, D.; ÖLMEZ, A. *Clinical long-term evaluation of MTA as direct pulp capping material in primary teeth*. Int Endod J, 2008; 41: 273-278.
98. TZIAFAS D, SMITH AJ, LESOT H. *Designing new treatment strategies in vital pulp therapy*. J Dent. 2005;Feb;28(2):77-92.

99. UNEMORI M, MATSUYA Y, AKASHI A, GOTO Y, AKAMINE A.
Composite resin restoration and postoperative sensitivity: clinical follow-up in an undergraduate program. J Dent. 2007;29(1):7-13.
100. YOSHIMINE, Y.; ONO, M.; AKAMINE, A. *In vitro comparison of the biocompatibility of mineral trioxide aggregate, 4Meta/MMA-TBB resin and intermediate restorative material as root end filling materials.* J Endod, 2007; 33: 1066-1069.
101. ZABALEGUI, B.; TABERNERO, I. *Uso del MTA para la reparación de la perforación de furca con pérdida del hueso alveolar.* Endodoncia, 2005; 23: 33-38.



INFORMATOGRAFÍA

1. <http://www.Prodiversitas.bioética.or.e/uñagato.htm> (acceso 30/06/2011)
2. <http://www.geocities.com/quinoa2002/hierbas3.html>. (acceso 25/07/2011)
3. http://www.alimentación_sana.com.ar/informaciones/novedades/una.htm (acceso 25/09/2011)
4. <http://www.alimentacion-sana.com.ar/portal%20nuevo/compresano/plantiilas/una01.htm> (acceso 30/06/2011)
5. <http://www.botanical-online.com/medicinalsunadegato.html>(acceso 25/09/2011)
6. <http://odontologia-online.com/estudiantes/trabajos/lu/lv01>(acceso 25/07/2011)
7. <http://www.iztacalaunam.mx/-irivas/histologia4.html>(acceso 25/07/2011)
8. <http://www.buenastareas.com/ensayos/Viabilidad-De-Una-Celula/1761733.html> (acceso 12/10/2011)
9. http://bcelular.fcien.edu.uy/index_archivos/estudiante_2011_A.pdf (acceso 25/06/2011)
10. http://www2.uah.es/tejedor_bio/bioquimica_ambiental/guion-citotoxicidad.pdf(acceso 15/06/2011)
11. <http://www.aurea-dt.com/documentos/PruebaCS.pdf>(acceso 30/06/2011)
12. <http://www.brand.de/fil3adniiin/usef/imaq9s/products/ClinicalLab/Countinq/Chambers/counting-s.pdf>(acceso 25/09/2011)
13. <http://es.scribd.com/doc/3587499/conteo-celular-camara-neubauer-y-densidad-potica>(acceso 30/06/2011)
14. http://bcelular.fcien.edu.uy/index_archivos/estudiante_2011_A.pdf(acceso 25/07/2011)
15. http://inmunologiaenlinea.es/index.php?option=com_conten&d=107:citometria-de-flujo&catid=49:tetrosos&Itemid=126 (acceso 30/06/2011)
16. <http://aportes.educ.ar/bioloqia/nucleo-teorico/estado-del-arte/el-libro-de-la-vida-el-adn/estructura-del.adn.php> (acceso 25/09/2011)



ANEXOS



**ANEXO N°1
PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN**

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ESCUELA DE POSTGRADO

DOCTORADO EN ODONTOLOGÍA



“EFECTO IN VITRO DE UNCARIA TOMENTOSA, DEL MTA Y DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO EN LA VIABILIDAD CELULAR, MORFOLOGÍA NUCLEAR Y EN LA INTEGRIDAD DEL ADN EN PULPA DENTAL DE PIEZAS DENTARIAS EXTRAIDAS, CLÍNICA ODONTOLÓGICA PARTICULAR. AREQUIPA, 2011”

Proyecto de Tesis presentado por el Magíster:

GIOVANNI LOPEZ HUAMAN

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN ODONTOLOGÍA

AREQUIPA – PERÚ

2011

I. PREÁMBULO

El tratamiento restaurador de una pieza dentaria tiene por finalidad el mantener y conservar el tejido pulpar vital así como la consiguiente reparación y formación de tejido mineralizado; para lo cual se necesita un material de obturación que sea inocuo para la pulpa dental y que garantice su biocompatibilidad con sus estructuras circundantes.

La preservación de la vitalidad pulpar es un requisito indispensable en cualquier procedimiento en odontología restauradora. En la actualidad se afirma que, una vez sobrepasada la unión amelo-dentinaria, se entra a la pulpa, ya que embriológica, anatómica y fisiológicamente son un mismo tejido, por esta razón, es denominado complejo dentino-pulpar; para la utilización adecuada de los sistemas adhesivos es necesario el conocimiento estructural y funcional de dicho órgano.

La respuesta a nivel histológico a la preparación dentaria con pieza de mano de alta velocidad, incluye desorganización de los organelas celulares, y un cambio de posición de núcleo hacia el interior de los túbulos dentinarios por calor y disecación. Ocasiona así una alteración en el funcionamiento de la dentina afectada, y un movimiento del líquido intersticial. A continuación se produce una respuesta inflamatoria y una formación de dentina reparativa circundante a los túbulos afectados.

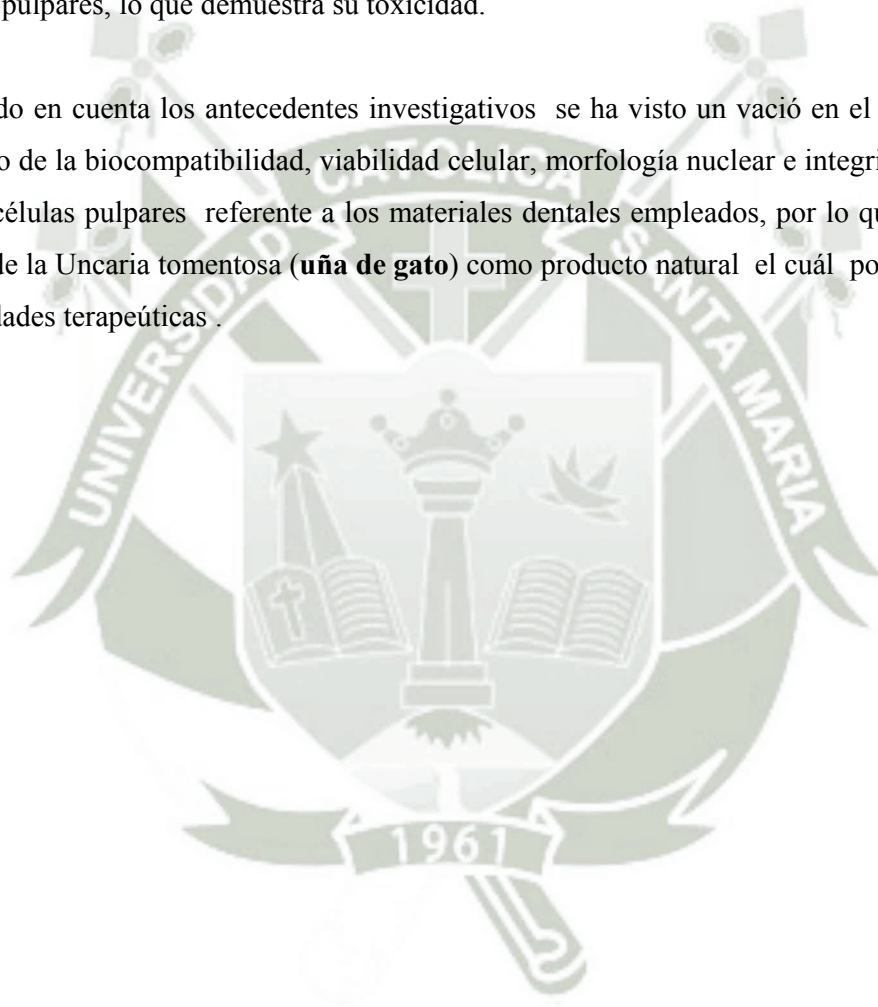
Cualquier sustancia aplicada a los túbulos recién cortados produce algún tipo de reacción; si la lesión es leve, se produce un aumento de la permeabilidad tubular, si por el contrario, la lesión es más severa, puede producir vacuolización y atrofia de la capa odontoblástica. Los efectos pueden extenderse a la capa subodontoblástica y pueden generar: migración de células de defensa, cambios en la sustancia fundamental, trombosis y hemorragias. Por esto, es indispensable el uso de materiales biológicamente apropiados.

El grado de respuesta pulpar a los procedimientos restaurativos depende principalmente de dos factores: la preparación cavitaria y los materiales de obturación empleados, siendo así, existe una variedad de materiales dentales que se utilizan con este fin y a juzgar por los antecedentes investigativos no se ha creado un material idóneo para la mejor protección del

complejo dentino pulpar. Por esta razón, es muy importante que al realizar una preparación cavitaria se intente conservar la mayor cantidad de dentina sana

Dichas investigaciones demuestran que existe un grado de toxicidad de estos materiales sobre los tejidos dentales. Según Agami, observo que el MTA indujo la formación de un puente de dentina en el sitio de amputación, mientras que el formocresol indujo una capa delgada de dentina pobremente calcificada.. Así mismo Magdalena Romero en su estudio sobre el efecto del hidróxido de calcio en la pulpa dental demostró que existe una hidrólisis del ADN de las células pulpares, lo que demuestra su toxicidad.

Teniendo en cuenta los antecedentes investigativos se ha visto un vacío en el conocimiento respecto de la biocompatibilidad, viabilidad celular, morfología nuclear e integridad del ADN de las células pulpares referente a los materiales dentales empleados, por lo que se propone el uso de la *Uncaria tomentosa* (**uña de gato**) como producto natural el cuál posee diferentes propiedades terapéuticas .



II. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Enunciado

“Efecto in Vitro de Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental en piezas dentarias extraídas, Clínica Odontológica Particular, Arequipa 2011”

1.2. Descripción del Problema

a) Área del conocimiento:

- a.1. Área General: Ciencias de la Salud
- a.2. Área específica: Odontología
- a.3. Especialidad: Cariología
- a.4. Línea o tópico: Materiales Dentales , Biología Molecular

b) Operacionalización de Variables

VARIABLES	INDICADOR	SUBINDICADOR
VE1: Uña de Gato	Extracto al 20%	0.2% (10ul)
VE2: MTA	10ul	
VE2: Hidróxido de calcio	10ul	
VR1: Viabilidad Celular	Inhibición < 80 %	
	Conservación \geq 80%	
VR2: Morfología Nuclear	Núcleo normal (esférico)	
	Núcleo apoptótico (vesiculoso)	
VR3: Integridad del ADN	Normal (banda única)	
	Apoptosis (banda en escalera)	
	Lisis (sin banda)	

c) Interrogantes Básicas

- c.1.** ¿Cuál es el efecto in vitro del *Uncaria tomentosa* en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental?
- c.2.** ¿Cuál es el efecto in vitro del MTA en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental?
- c.3.** ¿Cuál es el efecto in vitro del Hidróxido de calcio en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental?
- c.4.** ¿Cuál de los 3 productos influye más en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental?

d) Tipo de Investigación

Se trata de una investigación laboratorial.

e) Nivel de Investigación

Corresponde a una investigación experimental multifactorial.

1.3. JUSTIFICACIÓN

La investigación posee una novedad específica en función a los antecedentes investigativos, dado que dichos antecedentes tienen enfoques diferentes; por lo que se propone el estudio de *Uncaria tomentosa* como material de obturación para este fin porque existe poca información de dicho producto en relación al efecto que produce a nivel molecular y genético.

Posee relevancia científica por los nuevos conocimientos que se presentan en torno al problema.

Relevancia práctica que está referida al aporte concreto de la *Uncaria tomentosa* como una solución para mejorar la viabilidad celular, la morfología nuclear y la integridad de la estructura del ADN de la pulpa dental.

Es factible por contar con la disponibilidad de las muestras de análisis y la accesibilidad a los mismos. Así mismo se cuenta con los recursos apropiados, el presupuesto, la utilización de indicadores verificados y del conocimiento del método para orientar la investigación.

De interés personal por ser fundamental para obtener el grado académico de Doctor.

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1. Uncaria Tomentosa (Uña de Gato)

2.1.1 Antecedentes Históricos

Los indígenas de la selva peruana, sobre todo la tribu de Ashaninka, han usado la uña de gato por siglos como medicina. No atrajo la atención de investigadores hasta los años setenta.¹

Aunque la Uncaria Tomentosa (comúnmente llamada uña de gato) es empleada desde hace siglos, por diversas tribus amazónicas, los primeros estudios de corte científico y su aplicación curativa contra las dolencias del sistema inmunológico y las inflamaciones graves, se deben a un pionero alemán, esposo padre y abuelo de peruanos, que durante medio siglo se aposentó en la selvática región de Chanchamayo.

Actualmente existen innumerables estudios científicos que comprueban sus bondades. Se ha identificado una serie de alcaloides, glicósidos del ácido

¹ www.Prodiversitas.bioética.or.e/uñagato.htm(acceso 30/06/2011)

quinóvico, terpenos, esteroides, entre otros compuestos fitoquímicos que generan efectos terapéuticos.²

Se ha utilizado para tratar el asma, recuperación del parto y la cicatrización de heridas. También se ha utilizado la uña de gato para tratar en cáncer del tracto urinario, inflamaciones, cirrosis, gonorrea y diarrea.

Hoy en día se utiliza para los dolores musculares y de las articulaciones, irregularidades en el ciclo menstrual, acné, hongos, cicatrización de heridas y dolor nervioso. También se utiliza para tratar cáncer, trastornos inmunológicos, úlceras pépticas, colitis gastritis, hemorroides, parásitos y síndrome de intestino con escape. Ha sido utilizada con zidobudina (AZT) para tratar el VIH. Continúan los estudios con uña de gato para determinar su eficacia contra infecciones virales³.

En la selva del Perú existen solo dos especies:

- Uncaria tomentosa Willd'DC.
- Uncaria guianensis Aubl.

Hábitat originaria de Perú. Crece desde Panamá hasta el sur del Perú, abarcando zonas de Colombia, Venezuela, Ecuador y casi todo Centro América.

2.1.2. Clasificación Botánica

Reyno:	Vegetal
División:	Spermatofhita
Subdivisión:	Angiospermae
Clase:	Dicotyledoneae
Sub clase:	Lamiidae
Orden:	Rubiales
Familia:	Rubiaceae
Género:	Uncaria schreb
Especie:	Uncaria Tomentosa

² www.geocities.com/quinua2002/hierbas3.html. (acceso 25/07/2011)

³ www.alimentación sana.com.ar/informaciones/novedades/una.htm(acceso 25/09/2011)

2.1.3. Composición Química

Se ha demostrado que los alcaloides oxindoles pentacíclicos son los que tienen el efecto medicinal, estimulando al sistema inmunológico. Presentado los tetracíclicos una acción sedante sobre el sistema nervioso central.⁴

Dos grupos de alcaloides destacan en la planta: los alcaloides indólicos (gambirtanina, dihidrogambirtanina, hirsutina) y los alcaloides oxindoles, que se dividen en tetracíclicos (rinchofilina, osorinchofilina) y pentacíclicos (mitrafilina, isomitrafilina, isopterpodina, pteropodina, uncarinas).

Además de alcaloides, en esta planta se han aislado heterósidos triterpénicos, derivados del ácido quinóvico, fitosteroles y compuestos polifenólicos (flavonoides y taninos catéquicos).⁵

2.1.4. Propiedades Farmacológicas

Efecto Antiinflamatorio: Por una parte se ha comprobado su actividad antiinflamatoria en estudios tanto in vivo como in vitro. Esta actividad ha sido atribuida, al menos en parte, a los glucósidos del ácido quinóvico. Pero también se ha visto que este efecto es menor si se utilizan los heterósidos del ácido quinóvico aislados que si se emplean extractos del fármaco, por lo que es muy probable que esta actividad biológica se potencie por otros compuestos que actúen sinérgicamente. Por ello, es preferible utilizar el fármaco completo.⁶ Recientemente, han demostrado que la corteza de *U. tomentosa* degrada directamente al oxidante peroxinitrito y previene la activación del factor transcripcional NF-kB, inhibiendo la expresión de genes asociados con la inflamación como el TNF α .⁷ Recientemente se ha

⁴ FALKIEWICZ, B. ÜUKASIAK, J. VILCACORA *Uncaria Tomentosa* DC. Y *Uncaria guianensis* (Aublet) una revisión de la documentación científica publicada. www.jarnen.to.com.ec 2001

⁵ LÓPEZ LUENGO M. *Tránsito. Ámbito Farmacéutico. Uña de Gato Características y perfil terapéutico.* Vol 25 Núm. 10 2006. Pág.104

⁶ SANDOVAL-CHACÓN M, THOMPSON JH, ZHANG X-J, LIU X, MANNICK EE, SADOWSKA-KROWISCKA H, CHARBONNET RM, CLARK DA, AND MILLER MJS (1998) *Anti-inflammatory actions of cat's claw: the role of NF- κ B.* *Aliment Pharmacol Ther.* 1998 12: 1279-1289.

⁷ SANDOVAL-CHACÓN M, CHARBONNET RM, OKUHAMA NN, ROBERTS J, KRENOVA Z, TRENTACOSTI AM, AND MILLER MJS. *Cat's claw inhibits TNF α production and scavenges free radicals: role in cytoprotection.* *Free Radical Biology & Medicine.* 2000. 29(1): 71-78.

descrito efectos inmunomoduladores de extractos estandarizados de *Uncaria tomentosa* (Uña de gato, UG), demostrándose a nivel biológico su capacidad para la inhibición de procesos inflamatorios en animales de laboratorio, así como a nivel celular la inhibición en la producción de TNF- α en células animales o humanas en cultivo o la inhibición de la expresión de ICAM-1, una molécula de adhesión crítica en la quimio-atracción de las células inflamatorias hacia el tejido inflamado.⁸ Así como a nivel molecular, varios autores han demostrado la inhibición de mecanismos intracelulares vía el factor de transcripción NF- κ B.⁹ Otros autores también han mostrado actividad de extractos de UG en la inhibición de otras citoquinas claves en el proceso inflamatorio como IL-1, IL-6.¹⁰

Efecto antimutágeno y citostático: En este sentido, las evidencias científicas aún son pocas, pero apuntan hacia el uso de *Uncaria tomentosa* en la prevención y tratamiento del cáncer, ya que revelan una acción benéfica en las diversas fases de la enfermedad.

En algunos de los estudios más significativos acerca del efecto citostático y antimutágeno de la uña de gato, se ha demostrado que ésta aumenta la tasa de inmunoglobulina en pacientes con cáncer, así como que su extracto acuoso debe algunas de sus propiedades antitumorales a un mecanismo de inducción selectiva de la apoptosis.

Asimismo, se ha demostrado que los extractos del fármaco exhiben actividad citostática en tumores homopoyéticos humanos. Otros estudios evidencian un efecto inhibitorio en la proliferación celular anormal debido a una acción directa sobre polimerasas ADN.

⁸ LOZADA-REQUENA I. *Efecto inmunomodulador de capsaicina y Uncaria tomentosa (uña de gato) sobre la producción del factor de necrosis tumoral de tipo alfa e interleuquina 10 y sobre la inducción de apoptosis en células mononucleares de sangre periférica humanas*. Lima-Perú: Biblioteca Central, Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2006.

⁹ AGUILAR J, ROJAS P, MARCELO A, PLAZA A, BAUER R, REININGER E, CRISTOPH A K, MERFORT I. *Anti-inflammatory activity of two different extracts of Uncaria tomentosa (Rubiaceae)*. *J Ethnopharmacol* 2002; 81:271-276.

¹⁰ LEMAIRE I, ASSINEWE V, CANO P, AWANG D V C and ARNASON J T. *Stimulation of interleukin-1 and -6 production in alveolar macrophages by the neotropical liana, Uncaria tomentosa (Uña de Gato)*. *J Ethnopharmacol* 1999; 64:109-115.

Por otro lado, en un estudio se investigó el efecto de seis alcaloides oxindólicos de *Uncaria tomentosa* sobre la proliferación de células leucémicas HL 60 y U-937.

Cinco de ellos inhibieron significativamente su crecimiento, y la acción fue selectiva pues no inhibieron a células progenitoras extraídas de médula ósea. La acción antitumoral de los alcaloides activos podría explicarse por su demostrada activación de los macrófagos y linfocitos T.

De todos modos, no hay que olvidar que entre los componentes no alcaloides de *Uncaria tomentosa* hay compuestos polifenólicos, como la epicatequina y cuatro procianidinas, respecto a las que otros autores han demostrado acciones antineoplásicas.

Efecto inmunoestimulante

Igualmente se ha demostrado que *Uncaria tomentosa* posee una fuerte actividad inmunoestimulante, y los extractos totales de la planta son más eficaces que los componentes aislados. Ensayos recientes realizados con extractos del fármaco con un contenido aproximado de 6 mg/g de oxindoles totales (cuantificados mediante HPLC), indican que la *Uncaria tomentosa* estimula la producción de interleucinas 1 y 6 (IL-1, IL-6) por parte de los macrófagos alveolares en rata, en una relación dosis-dependiente.

También se ha probado que la uña de gato aumenta la actividad fagocítica de los granulocitos neutrófilos y macrófagos y aumenta el número de monocitos en fases activas de la circulación periférica. No hay alteración en la proliferación de los linfocitos T en condiciones normales, pero sí hay un aumento en presencia de antígenos. Los alcaloides oxindólicos pentacíclicos (sobre todo isomitrafalina y pteropodina) inducen la liberación del factor regulador de la proliferación de linfocitos en células endoteliales humanas, propiedad no atribuible a los alcaloides oxindólicos tetracíclicos, sino todo lo contrario, pues parecen reducir la actividad de los pentacíclicos de forma dosis-dependiente en estas células. Parece ser que los alcaloides oxindólicos tetracíclicos actúan sobre el sistema nervioso central, mientras que los pentacíclicos lo hacen sobre el sistema inmunitario, y que ambos grupos de

compuestos se encuentran en dos quimiotipos distintos de la planta. En vista de que el mecanismo de acción de los alcaloides oxindólicos tetracíclicos y pentacíclicos puede ser antagónico entre sí, es de gran importancia la determinación del quimiotipo mediante el análisis y la adecuada estandarización de la planta.

Efecto antiviral

Algunos componentes de la uña de gato (derivados del ácido quinóvico y heterósidos triterpenos), son agentes antivirales, predominantemente con acción contra los ARN-virus encapsulados, acción asociada también a un efecto antiinflamatorio.

Efecto antirradicalar

Se ha comprobado que ciertos extractos de *Uncaria tomentosa* presentan actividad antioxidante in vitro, siendo capaz de capturar radicales libres y, por tanto, de proteger contra el estrés oxidativo.¹¹

Desintoxicante y resolutive del tracto digestivo: es muy útil cuando fallan los tratamientos convencionales en la enfermedad de Crohn, diverticulitis, colitis, hemorroides, fístulas, gastritis, úlceras, parásitos intestinales, alteraciones de la flora intestinal, goteo anal.

Antialérgica: Útil en neurobronquitis, lupus.

Desintoxicante de toxinas ambientales: eficaz en fatiga crónica, depresión orgánica, acné.

Antiagregante plaquetaria: debido a la rincofilina. Previene apoplejía, ataques cardíacos, hipertensión, arteriosclerosis, trombosis, tromboflebitis, etc.

¹¹ LÓPEZ LUENGO M.TRÁNSITO. Ob. Cit. Pág.105, 106

Protectora de eritrocitos frente a tóxicos.

La Uncaria Tomentosa, planta medicinal conocida como uña de gato ha sido utilizada para tratar distintos malestares debido a sus propiedades. En Estomatología se registran actualmente estudios donde es utilizada como material para recubrimiento pulpar directo, presentando ventajas en comparación con el Hidróxido de Calcio. Sin embargo, sus propiedades físicas parecen no ser suficientes. Se procedió a elaborar un material de recubrimiento pulpar a base de Uncaria Tomentosa, sometido a diversas pruebas de laboratorio tales como: determinación de pH, fraguado y solubilidad o degradación, se obtuvo como resultado una muestra definitiva de consistencia homogénea, de fácil manipulación, con un tiempo de fraguado final de nueve minutos, pH alcalino, y poco soluble en medio acuoso, características favorables para su aplicación clínica y exitosa dentro del campo de la Estomatología.¹²

2.1.5. Dosis Para la inmunidad general y beneficiosa para la salud, los médicos recomiendan de 500 mg a 1 gr en tabletas o cápsulas. Reportándose dosis terapéuticas de 10 gr diarios.¹³

2.1.6. TOXICIDAD Y CONTRAINDICACIONES

Toxicidad

Pruebas en ratones no demostraron efectos tóxicos del extracto acuoso de Uncaria tomentosa administrado en dosis altas, considerándose mortal dosis mayor que 16-g/kg por peso del cuerpo.¹⁴

Su administración en dosis de 10 mg/kg por 4 semanas o 10-80 mg/kg por 8 semanas no causó síntomas tóxicos crónicos o agudos o lesión orgánica en

¹² [http://www.alimentacion-sana.com.ar/portal%20nuevo/compresano/plantiilas/una01 .htm](http://www.alimentacion-sana.com.ar/portal%20nuevo/compresano/plantiilas/una01.htm)(acceso 30/06/2011)

¹³ SAGE PRESS INC. *Technical data report for Cat's Claw*. 2002

¹⁴ KEPLINGER, K. LAUS, G. WURM, MCIERICH, M TEPPNER, H. *Uncaria tomentosa (Willd) DC. El uso Etnomedicinal y los Nuevos Resultados Farmacológicos, Toxicológicos y Botánicos*. Journal de Ethnopharmacology. 1999. Pp. 23-34

estos animales. El extracto acuoso de *Uncaria tomentosa* administrado a ratas por 4 semanas sólo causó linfocitosis moderada. La documentación relacionada a la patente contiene los resultados de estudios sobre toxicidad aguda del extracto acuoso de *Uncaria tomentosa*, el cual administrado a ratones en dosis de hasta 5 g de masa seca por kg de peso del cuerpo no causó ningún efecto tóxico.¹⁵ En exámenes llevados a cabo en voluntarios saludables, el extracto acuoso de *Uncaria tomentosa* C-MED-100TM administrado por 6 semanas en una dosis de 5 mg/kg de peso del cuerpo no causó síntomas de toxicidad, induciendo al mismo tiempo un aumento significativamente estadístico de leucocitosis. Tampoco se evidenció ningún síntoma tóxico en otros voluntarios que tomaron extractos de *Uncaria tomentosa*.

Contraindicaciones

No consumir durante el período de gestación; el uso de esta planta en animales induce a contracciones uterinas y es capaz de producir abortos. De hecho en muchas regiones del Perú, se utiliza con ésta finalidad. Tampoco se aconseja su uso con lactantes.

No debe utilizarse en esta planta con pacientes que han sufrido transplantes de órganos o injertos de piel. Su uso es contraproducente en aquellas personas que están tomando medicamentos que inhiben el sistema inmunológico, es decir, aquellos que se recetan para evitar los rechazos en transplantes.¹⁶

Dosis demasiado elevadas pueden producir diarrea. Por su contenido en taninos, el uso de la planta fresca puede producir irritación intestinal o diarrea en personas sensibles. Sin embargo, un uso continuado de la hierba tiende a regularizar las deposiciones.¹⁷

¹⁵ FALKIEWICZ, B. ÜUKASIAK, J. VILCACORA [*Uncaria tomentosa* (Willd.) DC. y *linearía guianensis* (Aublet) Gmell.]-una revisión de la documentación científica publicada. www.samento.com.ve. 2001

¹⁶ www.botanical-online.com/medicinalsunadegato.html(acceso 25/09/2011)

¹⁷ Ibid.

2.1.7. EFECTOS

En la inmunidad no específica, aumenta la fagocitosis de los macrófagos y granulocitos y estimula a que los macrófagos produzcan interleucina 1 y 2, que actúan como agentes de comunicación entre diferentes tipos de glóbulos blancos. Participa en la defensa del cuerpo promoviendo el crecimiento y activación de varios tipos de estas células. En la inmunidad específica, regula la proliferación de linfocitos T y B. Promueve la liberación de ciertas citoquinas, sustancias que dan un balance a la respuesta inmunitaria. Aumenta la disponibilidad de células productoras de anticuerpos, acelerando la producción de linfocitos B a linfoblastos y mejora la producción de anticuerpos IgM. Al ser mejorada la función de los macrófagos, la comunicación con los linfocitos T se mejora (particularmente con CD4). Una vez que los linfocitos T son alertados hacen que el cuerpo produzca interferón (proteína), que es producida por las células infectadas por virus y que inhibe la reproducción del virus y ayuda a la resistencia contra futuras invasiones¹⁸.

Nuevos fitoquímicos llamados glicósidos del ácido quinovico, han sido documentados como los componentes de la planta con la acción antiinflamatoria más potente. Estudios indican que la Uña de Gato pudo inhibir la inflamación de un 46% hasta un 89%, en estudios in vivo e in vitro. Las propiedades antiinflamatorias de la uña de gato, sus efectos protectores antimutagénicos también han sido demostrados in vitro contra la fotomutagénesis. La Uña de Gato protege contra el estrés oxidativo y negó la activación del factor de transcripción NF-kB. Estos estudios proveen una evidencia mecanística a la creencia ampliamente mantenida que la uña de gato es un efectivo agente antiinflamatorio¹⁹. La literatura refiere enorme éxito cuando es administrado a pacientes con: parkinson, cáncer, asma, hepatitis, artritis reumatoidea,

¹⁸ THE DOCTORS' PRESCRIPTIONS FOR HEALTHY LIVING. *The Powerful Cat's Claw for Healthy Immune Function*. Freedom Press. 2000.

¹⁹ SANDOVAL CHACÓN, M. THOMPSON J. XIAO-JINH Z. XIAOPING L LIU, X. MANNICK EE. SADOWSKA- KROWICKA, H. CHARBONNET, RM. CLARK, DA. MILLER MARK, JS. *Acciones Antiinflamatorias de la uña de gato Uncaria Tomentosa (Willd.) DC rol del NF-kB*. www.sarmento.com.ve

clamidiosis, VIH, esclerosis múltiple, fatiga crónica, enfermedad de Lyme, gastritis, artritis reumatoidea, hipertensión arterial²⁰

2.2. MTA

El agregado de trióxido mineral (MTA) fue descrito por primera vez por Lee, *et al.* en 1993.²¹ MTA es como se conoce ya popularmente a un agregado de trióxidos o conglomerado de partículas de aspecto mineral que se presenta en forma de polvo fino que solidifica en presencia de agua en un gel coloidal en aproximadamente 4 horas y que apareció como un nuevo material para utilizar en diferentes campos de la endodoncia como son el recubrimiento pulpar,²² y las pulpotomías, la obturación apical en dientes con ápice abierto²³, el sellado de la cámara pulpar en tratamientos de blanqueamiento interno²⁴, la reparación de perforaciones radiculares²⁵ y la obturación apical retrógrada²⁶, ya que por sus propiedades biológicas y químicas ha sido presentado como un material de obturación ideal²⁷. Por sus ventajas y aplicaciones clínicas merece estar incorporado en la enseñanza universitaria de pregrado y postgrado y en la práctica clínica diaria²⁸. Es un polvo fino, inicialmente de color gris y actualmente también de color blanco, formado por partículas hidrofílicas que fraguan en presencia de humedad. La hidratación del polvo genera un gel coloidal que tarda algo menos de cuatro horas

²⁰ THE DOCTORS PRESCRIPTIONS FOR HEALTHY LIVING. *The Powerful Cat's Claw for Healthy Immune Function*. Freedom Press. 2002.

²¹ LEE SJ, MONSEF M, TORABINEJAD M. *Sealing ability of a Mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations*. J Endod 1993;19(11):541-4.

²² AEINEHCHI, M.; ESLAMI, B.; GHANBARIHA, M.; SAFFAR, A. S. *Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp capping agents in human teeth: a preliminary report*. Int Endod J, 2002; 36: 225-231.

²³ HAYASHI, M.; SHIMIZU, A.; EBISU, S. *MTA for obturation of mandibular central incisors with open apices: case report*. J Endod, 2004; 30: 120-122.

²⁴ CUMMINGS, G. R.; TORABINEJAD, M. *Mineral trioxide aggregate (MTA) as an isolating barrier for internal bleaching*. Abstract N° 53. American Association of Endodontists. 52nd Annual Session. May, 10-14, 1995. J Endod, 1995; 21: 228.

²⁵ ZABALEGUI, B.; TABERNERO, I. *Uso del MTA para la reparación de la perforación de furca con pérdida del hueso alveolar*. Endodoncia, 2005; 23: 33-38.

²⁶ TOMÉ, L.; ZMENER, O. *Posibilidad del MTA como material de sellado para la obturación retrógrada en la cirugía endodóncica*. Endodoncia, 2003; 21: 159-166.

²⁷ SHABAHANG, S. *State of the art and science of endodontics*. J Am Dent Assoc, 2005; 136: 41- 52.

²⁸ PITT FORD, T.; MANNOCCI, F.; WOOLFORD, M. *Survey on the teaching and use of mineral trioxide aggregate in UK dental schools*. Eur J Dent Educ, 2007; 11: 155-159.

en solidificarse. Es un cemento dental cuyo nombre comercial actual es ProRoot-MTA (Dentsply/Tulsa Dental; Tulsa, OK, USA). La Administración Americana de Alimentos y Drogas (FDA), aprobó en 1998 el MTA como un material endodóntico terapéutico para humanos.²⁹

Desde Marzo de 2002 existe una presentación de MTA en color blanco con el objetivo de asemejarlo al color del diente y evitar problemas de discoloración dentaria y gingival³⁰. Asgary y cols. realizaron un estudio para comparar el MTA blanco con el gris y ver cuáles eran los componentes que los diferenciaban, Ambos presentan dos fases una vez fraguados: una cristalina y otra amorfa. El de color blanco presenta las partículas de la fase cristalina más finas. En ambos, los componentes predominantes son:

Cal (CaO), Sílice (SiO₂), Óxido de Bismuto (B₂O₃)

Las mayores diferencias las encontraron en las concentraciones de los siguientes elementos:

Óxido de aluminio (Al₂O₃) 122% MTA gris

Óxido de magnesio (MgO) 130% MTA gris

Óxido férrico (FeO) 1000% MTA gris (causante de su color)³¹

Tingey y cols. compararon el MTA blanco y gris fraguados en contacto con agua y en contacto con suero bovino fetal y concluyeron que no existen diferencias en las características físicas y químicas de ambos cementos cuando fraguan en la misma solución.³²

En cuanto a su composición, el MTA se basa en el cemento de Portland; los principales componentes del MTA de color gris, según el fabricante son, silicato tricálcico, óxido de bismuto, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, aluminoferrita tetracálcica y sulfato de calcio deshidratado; la fórmula de color

²⁹ EIDELMAN E, HOLAN G, FUKS AB. *Mineral trioxide aggregate Vs formocresol in pulpotomized primary molars: a preliminary report.* *Pediatr Dent* 2001;23(1):15-8.

³⁰ BORTOLUZZI, E. A.; SIVIERI, G.; GUERREIRO, J. M.; TANOMARU-FILHO, M. *Marginal gingival discoloration by grey MTA: a case report.* *J Endod*, 2007a; 33: 325-327

³¹ ASGARY, S.; PARIROKH, M.; EGHBAL, M. J.; BRINK, F. *Chemical differences between white and grey mineral trioxide aggregate.* *J Endod*, 2005; 31: 101-103.

³² TINGEY, M. C.; BUSH, P.; LEVINE, M. S. *Analysis of mineral trioxide aggregate surface when set in the presence of fetal bovine serum.* *J Endod*, 2008; 34: 45-49.

blanco carece de la Aluminoferrita tetracálcica. Ambas fórmulas son de 75% de cemento Portland, el 20% de óxido de bismuto y 5% yeso por peso.³³

Está compuesto principalmente por partículas de silicato tricálcico, aluminato tricálcico, silicato dicálcico y aluminato férrico tetracálcico. El polvo también incorpora óxido de bismuto que le da una radiopacidad ligeramente superior a la de la dentina, y sulfato de calcio dihidratado.³⁴

En investigaciones recientes se ha visto que esta composición es similar a la del cemento Portland.³⁵

La composición de MTA es 75% cemento Portland, 20% óxido de bismuto y 5% sulfato de calcio (yeso) como modificador de fraguado. Cuando el cemento Portland se mezcla con agua, el sulfato de calcio, que se le añade en la última etapa de su elaboración para retardar el tiempo de fraguado, forma un gel coloidal, principalmente silicato tricálcico hidratado, que endurece hasta formar un cemento sólido entre 4-6 horas hasta completar su total fraguado después de varios días. Los autores realizaron un estudio cuyo objetivo fue investigar el efecto del óxido de bismuto sobre las propiedades del cemento Portland comparándolo con el MTA. Conforme aumentaba la concentración de óxido de bismuto se produjo una disminución gradual de la fuerza de compresión, que fue similar a la del MTA cuando la concentración de óxido de bismuto fue del 20%. Se produjo un incremento de la porosidad del material fraguado, pero al 20% la porosidad fue inferior a la que presenta el MTA. Los autores opinan que el cemento Portland es muy similar en composición al MTA comercial y puede utilizarse como modelo para estudiar el efecto de radioopacificadores alternativos y modificadores de fraguado.³⁶

Camilleri y cols. compararon la composición química de los siguientes materiales: MTA blanco, MTA gris, Cemento Portland blanco, Cemento

³³ SONG JS, MANTE FK, ROMANOW WJ, KIM S. *Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA Angelus*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2006 Dec;102(6):809-15.

³⁴ GARCÍA BARBERO E, VERA GONZÁLEZ V, VELÁZQUEZ CANO J, BALDONEDO RODRÍGUEZ JL, RODRÍGUEZ MUÑOZ A, GONZÁLEZ LOSADA C. *Nuevas Posibilidades terapéuticas en Endodoncia*. Revista Europea de Odontología y Estomatología 2000;21(7):325-30.

³⁵ FUNTEAS UR, WALLACE JA, FOCHTMAN EW. *A comparative analysis of MTA and Portland cement*. J Endod 2002;28:259.

³⁶ COOMARASWAMY, K. S.; LUMLEY, P. J.; HOFMANN, M. P. *Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system*. J Endod, 2007; 33: 295-298.

Portland gris, Proto A14 (cemento Portland acelerado (sin yeso), que disminuye el tiempo de fraguado), Proto B15 (cemento Portland acelerado (sin yeso) y con óxido de bismuto, el cual afecta a los mecanismos de hidratación del MTA, aumentando la absorción de agua, incrementando el tiempo de fraguado y disminuyendo la fuerza de compresión)

En los resultados obtenidos se observa que todos presentan los mismos elementos, siendo los compuestos principales silicato tricálcico y silicato dicálcico. Las diferencias aparecen entre MTA blanco y gris, ya que el blanco no presenta hierro en su composición, y entre cemento Portland y MTA, puesto que el primero no contiene óxido de bismuto.³⁷

Pruebas electrónicas realizadas al MTA muestran que el fósforo y el calcio son los iones presentes en este material, de igual forma, estos iones son los principales componentes de los tejidos duros del diente, es por ello que el MTA es biocompatible cuando esta en contacto con los tejidos y células.³⁸

Las características del MTA dependen del tamaño de sus partículas, de la proporción polvo-agua que incorporemos, de la temperatura, de la existencia de aire atrapado y de su manipulación.³⁹

Según Hamad Dentsply ha modificado desde 2003 el tamaño de los cristales del polvo tanto de MTA blanco como gris a un tamaño inferior a 10 μm , lo cual afecta directamente a las propiedades físicas de los cementos, puesto que partículas más pequeñas producen un aumento de la superficie disponible para hidratarse, lo cual acelera el endurecimiento del cemento.⁴⁰ El que el polvo sea más o menos fino tiene influencia en la tasa de hidratación y, consecuentemente, en las características de fuerza y fraguado.⁴¹

³⁷ CAMILLERI, J. *The physical properties of accelerated Portland cement for endodontic use*. Int Endod J, 2008; 41: 151-157.

³⁸ KEISER, K.; JOHNSON, C. C. & TIPTON, D. A. *Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblasts*. J. Endod., 26(5):288-91, 2000.

³⁹ SCHMITT D, LEE J, BOGEN G. *Multifaceted use of ProRoot MTA root canal repair material*. Pediatr Dent 2001;23(4):326-330.

⁴⁰ HAMAD, H. A.; TORDIK, P. A.; MCCLANAHAN, S. B. *Furcation perforation repair comparing grey and white MTA: A dye extraction study*. J Endod, 2006; 32: 337-340.

⁴¹ ISLAM, I.; CHNG, H. K.; YAP, A. U. J. *Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland cement*. J Endod, 2006a; 32: 193-197.

Komabayashi y cols. determinaron que el porcentaje de partículas que tienen un tamaño entre 0,5 y 10 μm es de un 88%, lo cual permite al MTA introducirse en los túbulos dentinarios, que presentan un diámetro de 2 a 5 μm .

Los autores estudiaron las partículas de ProRoot MTA y MTA Angelus y determinaron que :

- 1- ProRoot MTA contiene menos cantidad de partículas grandes que MTA Angelus
- 2- El MTA blanco contiene partículas más pequeñas que el MTA gris
- 3- MTA Angelus es menos homogéneo que ProRoot MTA.⁴²

El MTA es un material biocompatible y habilita el sellado, característica que favorece el proceso de curación pulpar, la reducción de infección bacteriana y la formación de dentina reparativa, siendo mejor que la amalgama o el óxido de zinc-eugenol.⁴³

Es un polvo que se usa en presencia de humedad, tiene un pH básico 12,5 de media, su tiempo de fraguado es de 4 horas y resiste una fuerza de 70 MPA.⁴⁴

El pH obtenido por el MTA después de mezclado es de 10,2 y a las 3 horas, se estabiliza en 12,5. Esta lectura se realizó a través de un pH-metro, en vista que el MTA presenta, un pH similar al cemento de hidróxido de calcio, luego de aplicar esta sustancia como material de obturación apical, probablemente, este pH pueda inducir la formación de tejido duro.⁴⁵

El MTA tiene otras propiedades como su radiopacidad, que permite un buen control radiográfico, un nivel de resistencia a la compresión suficiente para ser material de relleno de la cámara pulpar, siempre que ésta sea sellada además con otro material y una baja solubilidad, lo que permite su permanencia en el tiempo de forma estable en la cámara pulpar.⁴⁶

⁴² KOMABAYASHI, T.; SPÅNGBERG, L. S. W. *Particle size and shape analysis of MTA finer fractions using Portland cement*. J Endod, 2008b; 34: 709-711

⁴³ BODEM O, BLUMENSHINE S, ZEH D, KOCH MJ. *Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate in a primary molar: a Case report*. Int J Paediatr Dent 2004;14(5):376-9.

⁴⁴ AGAMY HA, BAKRY NS, MOUNIR MM, AVERY DR. *Comparison of mineral trioxide aggregate and formocresol as pulp-capping agents in pulpotomized primary teeth*. Pediatr Dent 2004;26(4):302-9.

⁴⁵ TORABINEJAD M, HONG. *Physical and chemical properties of a new root end filling material*. J. Endod., Loma Linda University . 1995. 21(7):349-53.

⁴⁶ MAROTO-EDO M, BARBERÍA-LEACHE E, PLANELLS DEL POZO P. *Estudio clínico del agregado trióxido mineral en pulpotomías de molares temporales: estudio piloto a 15 meses*. RCOE 2004;9(1):23-30.

El agregado trióxido mineral es un polvo que contiene partículas hidrofílicas, que se puede mezclar con agua estéril en una relación de 3:1 polvo – líquido, este material forma un gel coloidal que solidifica en una estructura dura en aproximadamente de 3 a 4 horas con la humedad del medio circundante, tiene un pH inicial de 10.2 el cual se eleva a 12.5, 3 horas después de la mezcla; la fuerza compresiva del MTA es reportada por el incremento en la presencia de humedad de hasta 21 días.⁴⁷

Torabinejad y col., realizaron una investigación donde comparan la cantidad de filtración del colorante en presencia y ausencia de sangre, un aspecto crítico desde el punto de vista clínico; ya que la presencia de humedad y sangre son factores que pueden contaminar la preparación y los materiales de obturación. Los resultados determinan que la filtración en el MTA es significativamente menor que en otros materiales; tanto en presencia como en ausencia de sangre. Cuando un material de obturación no permite el paso de moléculas pequeñas tales como las partículas de colorante, tiene el potencial de prevenir la filtración bacteriana que tienen un tamaño molecular mayor.⁴⁸

Actualmente el MTA está indicado como recubrimiento pulpar directo. Se ha demostrado en estudios bacteriológicos que es un material biocompatible, ya que su capacidad de sellado es superior a la amalgama, al óxido de zinc eugenol y al Super-EBA.⁴⁹

Este material fue señalado inicialmente como material de relleno retrógrado de su uso en cirugía endodóntica y los casos de perforaciones intrarradicular y Furcal.⁵⁰

El MTA es hidrofílico y endurece en presencia de humedad, además de una alta biocompatibilidad. Asimismo, se considera que este material ha superado

⁴⁷ ROBERTS HW, TOOTH JM, BERZINS DW, CHARLTON DG. *Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: a review of the literature*. Dent Mater. 2008 Feb;24(2):149-64.

⁴⁸ TORABINEJAD, M.; CHIVIAN, N. *Clinical applications of mineral trioxide aggregate*. J. Endod. 1999 25(3):197-05.

⁴⁹ FORD TR, TORABINEJAD M, ABEDI HR, BAKLAND LK, KARIYAWASAM SP. *Using mineral trioxide aggregate as a pulp-capping material*. J Am Dent Assoc 1996;127(10):1491-4.

⁵⁰ LEE SJ, MONSEF M, TORABINEJAD M. *Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations*. J Endod. 1993;19(12): 541-4.

positivamente las pruebas de citotoxicidad in vitro, de implantación en animales y los pruebas in vivo.⁵¹

Se ha utilizado en diferentes situaciones clínicas, como la comunicación interna y reabsorciones externas, como material de recubrimiento en las pulpas expuestas mecánicamente, como barrera intracoronal durante blanqueamiento interno de los dientes tratados con endodoncia, y como tapón apical en caso de dificultad para bloquear el maestro de gutapercha del cono.⁵²

El MTA está formado primariamente por silicato tricálcico y silicato dicálcico, cuya hidratación produce hidróxido de calcio y silicato de calcio hidratado y, como consecuencia, libera al medio una alta tasa de iones calcio a partir de ambos compuestos, la cual disminuye con el tiempo.⁵³

En la última década el MTA gana mucha popularidad debido a su habilidad selladora superior, su potencial para la inducción de la cementogénesis y osteogénesis y su increíble biocompatibilidad, ya que el MTA es el material menos citotóxico, en comparación con otros que hay en el mercado. Otra gran ventaja que nos proporciona el MTA es que puede ser usado en ambientes húmedos, lo que favorece su uso en cavidades resortivas que son muy difíciles de mantener completamente secas después de ser irrigadas.⁵⁴

Se realizó el estudio para comparar la viscosidad, tamaño de partícula y filtración de ProRoot MTA, MTA Angelus y MTA Angelus fluido (con plastificadores añadidos a la fórmula para mejorar la manipulación del cemento) y comprobar si existía alguna relación entre estas propiedades. El hecho de desarrollar un cemento de MTA de menor viscosidad supone que éste va a presentar mejores características de manipulación y va a permitir una mejor adaptación dentinaria y una menor filtración. En sus resultados finales constataron la menor viscosidad del MTA Angelus fluido y su mejor

⁵¹ MAROTO, M., BARBERÍA, E., Y PLANELLS, P. *Clinical study of mineral trioxide aggregate in pulpotomy procedures on primary molars: a 15 months pilot study*. RCOE, vol.9, (1). 2004. p.23-30. ISSN 1138-123X

⁵² BERNABÉ PFE, HOLLAND R. *MTA e cimento Portland: considerações sobre as propriedades físicas, químicas e biológicas*. In: CARDOSO RJA, MACHADO MEL. *Odontologia arte e conhecimento*. São Paulo: Artes Médicas; 2003. p. 225-64.

⁵³ CAMILLERI, J. *Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate*. Int Endod J, 2008b; 41: 408-417.

⁵⁴ SILVEIRA FF, NUNES E, SOARES JA, FERREIRA CL, ROTSTEIN I. *Double 'pink tooth' associated with extensive internal root resorption after orthodontic treatment: a case report*. Dent Traumatol. 2009 Jun;25(3):e43-7.

manipulación, pero no observaron ninguna diferencia en cuanto a filtración o tamaño y forma de las partículas entre los 3 cementos.⁵⁵

Tanto el MTA como el cemento Pórtland, se proponen como dos materiales muy semejantes por compartir sus principales componentes: fosfato, calcio y silicio, además el análisis macroscópico, microscópico y de difracción de rayos X, muestra que ambos materiales son casi idénticos. Así mismo, en cuanto a su manipulación ambos son mezclados con agua, que al evaporarse quedan dentro de la fase sólida.⁵⁶

Se ha sugerido el hecho de que el cemento Portland pueda contener sustancias tóxicas para el ser humano, concretamente arsénico, y para disipar esta duda, para lo cual se realizó un estudio para determinar la liberación de arsénico de dos tipos de MTA (ProRoot MTA y MTA Angelus) y dos tipos de cemento Portland gris y un tipo de cemento Portland blanco. Los resultados obtenidos revelaron que para todos los materiales los niveles de arsénico liberados fueron muy bajos. Los análisis estadísticos mostraron que no existió una diferencia significativa entre todos los materiales estudiados en la liberación de arsénico después de 3 a 168 horas. Por tanto, en lo que se refiere a la presencia de este elemento, los autores concluyen que tanto los cementos de MTA como los Portland están indicados en la práctica clínica.⁵⁷

Se sabe que el MTA estimula de manera importante la proliferación de cementoblastos y crea condiciones ideales para las células encargadas de varios procesos regenerativos. Esta interacción tan íntimamente relacionada a la regeneración de tejido, demuestra que la toxicidad que se muestra durante el endurecimiento del MTA no produce cambios en la estructura y función de las células con las que esta en contacto, y de ser así tales interacciones no producen un daño irreversible.⁵⁸

⁵⁵ CLARK, P. D.; LIEWEHR, F. R.; HAHN, C. L.; MOON, P. C. *An in vitro leakage and viscosity analysis of root-end filling materials*. Abstract N° 14. American Association of Endodontists. Annual Session. April 25 – 28, 2007a. J Endod, 2007; 33: 332

⁵⁶ FISCHER E, ARENS D. *Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with Zinc-free amalgam, intermediate restorative material and super EBA as a root-end filling material*. J. Endod, Indiana School of Dentistry 1998 24(3):176-9.

⁵⁷ DUARTE, M. A. H.; DEMARCHI, A. C. C.; YAMASHITA, J. C.; KUGA, M. C.; FRAGA, S. *Arsenic release provided by MTA and Portland cement*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2005; 99: 648-650.

⁵⁸ SELDEN, H. *Root Perforation: An interesting case*. J. Endodon., 28:44-5, 2002.

El sellado del compuesto MTA se produce por la estimulación del depósito de osteocemento, lo que entrega un hermético cierre en un accidente endodóntico, pero a continuación deseamos compartir un común accidente no endodóntico, donde el tratamiento elegido fue la colocación del agregado de trióxido mineral intracanal, logrando resultados muy alentadores que nos incentivan a seguir investigando al respecto.⁵⁹

El MTA se ha propuesto como material de recubrimiento pulpar directo, y se ha demostrado y sustentado por estudios bacteriológicos que es un material biocompatible, que su capacidad de sellado es superior a la amalgama, al óxido de zinc eugenol y al Super EBA. Otro estudio que constata al MTA como material de recubrimiento pulpar directo, se evidenció la formación de un puente calcificado significativamente mayor y menor inflamación en el grupo con MTA, en comparación con el hidróxido de calcio. Basado en estos resultados, el MTA, se presenta como un material que puede ser utilizado como un agente de recubrimiento pulpar directo.⁶⁰

Realizaron un estudio para comparar la capacidad del MTA y el hidróxido de calcio, como materiales de recubrimiento pulpar directo; el MTA demostró inducir una respuesta más favorable sobre el tejido pulpar remanente. Histomorfométricamente se evidencia menos inflamación en el grupo con MTA con respecto al grupo con hidróxido de calcio. Además, se observó un puente dentinario continuo con algunas irregularidades en las pulpas con MTA, se evidencian túbulos dentinarios en dicho puente. En tanto que se reportó la presencia de túneles y/o defectos en los puentes de las pulpas cubiertas con hidróxido de calcio.⁶¹

El uso de materiales dentales como apósitos pulpares en el tratamiento de pulpotomía de dientes primarios, es un tema de gran relevancia debido a que la

⁵⁹ FUENTES, J.; CORSINI, G; HERRERA, J.; ZARZAR, A & PONCE, A. *Utilización del compuesto MTA en fracturas radiculares verticales producidas por traumatismos sin intervención quirúrgica*. Int. J. Odontostomat., 2(2):203-206, 2008.

⁶⁰ ABEDI, H. R.; TORABINEJAD, M.; MCMILLAN, P. *The effect of demineralization of resected root ends on cementogenesis*. Abstrac N° 37. J. Endod.,. 1997. 23(4):258. 1997

⁶¹ PITT FORD, T. R.; BAKLAND, L. *The use of mineral trioxide aggregate cement (MTA) as a direct pulp capping agent*. Abstrac N° 44. J. Endod. 1996. 22:199.

biocompatibilidad y la calidad de todo material empleado en contacto con el tejido pulpar representan el éxito o fracaso de nuestros tratamientos.⁶²

El efecto antibacteriano de los materiales de retroobtención debe ser el factor esencial para prevenir el crecimiento de las bacterias en el sistema de conductos radiculares, donde las bacterias que suelen estar presentes son las anaerobias puesto que están bien adaptadas a sobrevivir en la toxicidad de la pulpa necrótica y en los túbulos dentinarios cuando el suplemento de sangre o de oxígeno es limitado o no existe.⁶³

Se demostró que la sustitución de agua estéril por clorhexidina en la mezcla de MTA blanco produce un aumento en su capacidad antimicrobiana que se acompaña de un modesto pero significativo incremento de su citotoxicidad, aunque también añaden que la manifestación de estos efectos citotóxicos *in vivo* no han sido determinados.⁶⁴, y también se demostró que al mezclar MTA gris y blanco con clorhexidina al 2% se incrementa el efecto antimicrobiano de los mismos contra *Enterococcus faecalis*, aunque también se produce una disminución en la fuerza de compresión de los cementos.⁶⁵ Al-Hezaimi y cols. compararon la actividad antimicrobiana del MTA blanco y gris contra *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis* y *Streptococcus durans* y observaron que el MTA gris necesita menor concentración que el MTA blanco para tener el mismo efecto antibacteriano.⁶⁶

Para estudiar el grado de citotoxicidad del MTA, realizaron un estudio en el cual emplearon fibroblastos del ligamento periodontal humano y compararon éste con amalgama de plata y SuperEBA tras una exposición de 24 horas a

⁶² MEHMET, P., HAKAN, O. *Reactions of tejido connective tissue to mineral trioxide aggregate and amalgam*. Journal of Endodontic. 2004. 30(2), 95-99.

⁶³ LAI, C.-C.; HUANG, F.-M.; CHAN, Y.; YANG, H.-W.; HUANG, M.-S.; CHOU, M.-Y.; CHANG, Y.-C. *Antibacterial effects of resinous retrograde root filling materials*. J Endod, 2003; 29: 118-120.

⁶⁴ HERNÁNDEZ, E. P.; BOTERO, T. M.; MANTELLINI, M. G.; MCDONALD, N. J.; NÖR, J. E. *Effect of Proroot MTA mixed with chlorhexidine on apoptosis and cell cycle of fibroblasts and macrophages in vitro*. Int Endod J, 2005; 38: 137-143.

⁶⁵ HOLT, D. M.; WATTS, J. D.; BEESON, T. J.; KIRKPATRICK, T. C.; RUTLEDGE, R. E. *The antimicrobial effect against E. faecalis and the compressive strength of two types of MTA mixed with sterile water or 2% chlorhexidine liquid*. Abstract N° 5. American Association of Endodontists. Annual Session. April 25 – 28, 2007. J Endod, 2007a; 33: 330.

⁶⁶ AL-HEZAIMI, K.; NAGHSHBANDI, J.; OGLESBY, S.; SIMON, J. H. S.; ROTSTEIN, I. *Antibacterial effect of two mineral trioxide aggregate (MTA) preparations against Enterococcus faecalis and Streptococcus sanguis in vitro*. Abstract N° 53. American Association of Endodontists. Annual Session. April 25 – 28, 2007. J Endod, 2007; 33: 342.

extractos de diversas concentraciones. Los resultados obtenidos después de realizar los cultivos necesarios y de analizar los datos fueron los siguientes:

citotoxicidad materiales recién mezclados:

mta < supereba < amalgama

citotoxicidad materiales fraguados (baja concentración):

mta = amalgama < supereba

citotoxicidad materiales fraguados (mayor concentración)

mta < amalgama < supereba

En sus conclusiones finales apoyan el uso de MTA en el área apical.⁶⁷ También Gorduysus y cols. concluyeron que el MTA es un material muy biocompatible en su estudio sobre células del ligamento periodontal humano.⁶⁸

Rezende y cols. mostraron que MTA presenta excelentes resultados respecto a la viabilidad de los macrófagos y que no interfiere en la fagocitosis ni en la producción de citoquinas.⁶⁹ Thomson y cols., quienes estudiaron el efecto de varios materiales sobre el crecimiento de los cementoblastos y la producción de osteocalcina en el cultivo celular y observaron que sobre el MTA aparecieron numerosas células con morfología normal. Éste permitió la adhesión de los cementoblastos y su crecimiento (cementoconductor), así como la producción de osteocalcina por los cementoblastos en una matriz extracelular, lo que sugiere que el proceso de mineralización estaba ocurriendo. Con este estudio demostraron que el MTA es más inerte que otros materiales dentales, lo que significa que cuanto menos ofensivo es un material, más permite la capacidad natural del cuerpo para curar.⁷⁰ Tani-Ishii y cols. observaron que el MTA es menos tóxico para los osteoblastos que cualquier otro material y permite, además, el crecimiento celular y la expresión de las proteínas que participan en la mineralización, por lo que resulta ideal para reparar perforaciones y

⁶⁷ KEISER, K.; JOHNSON, C. C.; TIPTON, D. A. *Citotoxicidad del agregado de trióxido mineral empleando fibroblastos del ligamento periodontal humano*. Endodoncia, 2000; 4: 215-220.

⁶⁸ GORDUYSUS, M.; AVEU, N.; GORDUYSUS, O.; PEKEL, A.; BARAN, Y.; AVCU, F.; URAL, A. U. *Cytotoxic effects of four different endodontic materials in human periodontal ligament fibroblasts*. J Endod, 2007; 33: 1450-1454.

⁶⁹ REZENDE, T. M. B.; VIEIRA, L. Q.; CARDOSO, F. P.; OLIVEIRA, R. R.; OLIVEIRA, L. Q. *The effect of mineral trioxide aggregate on phagocytic activity and production of reactive oxygen, nitrogen species and arginase activity by M1 and M2 macrophages*. Int Endod J, 2007; 40: 603-611.

⁷⁰ TOMSON, P. L.; GROVER, L. M.; LUMLEY, P. J.; SLOAN, A. J.; SMITH, A. J.; COOPER, P. R. *Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate*. J Dent, 2007a; 35: 636-642.

resorciones radiculares.⁷¹ También Yoshimine y cols. quienes mostraron que MTA proporciona un sustrato adecuado para la adhesión y proliferación de los osteoblastos celulares, así como para la formación de una matriz mineral.⁷²

Tomson y cols. concluyeron en su estudio que cuando el MTA se coloca clínicamente se produce la liberación de componentes solubles, presentes tanto en el MTA que está fraguando como en el MTA fraguado, que pueden liberar componentes de la matriz dentinaria que potencian los mecanismos celulares para la reparación y regeneración de la dentina. Además de los ensayos *in vitro*, el comportamiento del MTA también ha sido estudiado *in vivo*.⁷³

Mahmoud y cols. hallaron hidróxido de calcio en la composición del MTA fraguado.⁷⁴ El tejido duro observado en los estudios anteriores es el mismo que se produjo al utilizar el MTA para recubrimientos pulpares directos, puesto que al colocar MTA sobre las pulpas expuestas se formaron puentes completos de tejido duro, tubulares y continuos con las paredes laterales de la dentina. Las pulpas continuaron vitales sin reacción inflamatoria y pudo observarse una nueva capa de odontoblastos con un número variable de células. En este estudio se utilizó MTA y cemento Portland y el resultado con ambos materiales fue similar, por lo que se dedujo que el óxido de bismuto presente en el MTA no influye en su mecanismo de acción.⁷⁵

La bioactividad del MTA se ha atribuido a su capacidad para producir hidroxiapatita en un medio fosfatado fluido. Tay y cols. analizaron la bioactividad del cemento Portland blanco introduciendo los bloques fraguados del cemento en un medio fosfatado con un pH de 7,3. Observaron que,

⁷¹ TANI-ISHII, N.; HAMADA, N.; WATANABE, K.; TUJIMOTO, Y.; TERANAKA, T.; UMEMOTO, T. *Expression of bone extracellular matrix proteins on osteoblast cells in the presence of mineral trioxide*. J Endod, 2007; 33: 836-839.

⁷² YOSHIMINE, Y.; ONO, M.; AKAMINE, A. *In vitro comparison of the biocompatibility of mineral trioxide aggregate, 4Meta/MMA-TBB resin and intermediate restorative material as root end filling materials*. J Endod, 2007; 33: 1066-1069.

⁷³ TOMSON, P. L.; GROVER, L. M.; LUMLEY, P. J.; SLOAN, A. J.; SMITH, A. J.; COOPER, P. R. *Comparison of dentine matrix components extracted by the soluble products of white and grey MTA*. European Society of Endodontology. 13th Biennial Congress. Istanbul, Turkey. 6-8 September 2007. R 1.6. Int Endod J, 2007b; 40: 981.

⁷⁴ MAHMOUD, O.; WHITWORTH, J.; MCCABE, J. *Chemical analysis of MTA before and after hydration with water and water/serum mixture*. European Society of Endodontology. 13th Biennial Congress. Istanbul, Turkey. 6-8 September 2007. R 3.69. Int Endod J, 2007b; 40: 1000.

⁷⁵ HOLLAND, R.; BISCO, L.; DE SOUZA, V.; OTOBONI, J. A.; MURATA, S. S.; DEZAN, E. JR. *Reaction of the lateral periodontium of dogs' teeth to contaminated and noncontaminated perforations filled with mineral trioxide aggregate*. J Endod, 2007; 33: 1192-1197.

inicialmente, se formó una fase de fosfato cálcico amorfo que se transformó en apatita. Así que el fosfato de calcio amorfo parece ser la llave intermedia que precede la formación de apatita en la calcificación del esqueleto. Por tanto, la bioactividad producida por el MTA se debe en parte a la capacidad de inducción de la mineralización de su componente de cemento Portland.⁷⁶

Bozeman y cols. estudiaron la capacidad del MTA blanco y gris para formar cristales de hidroxiapatita (HAP). Ambos tipos de MTA tienen la capacidad de liberar iones calcio, por lo que si su bioactividad es debida a dicha liberación y a la posterior formación de HAP, los dos pueden usarse para cualquiera de las aplicaciones clínicas de MTA.⁷⁷ Shahi y cols. estudiaron la respuesta histológica del MTA blanco y gris después de reparar perforaciones de furca en perros y no se observó diferencia en la cicatrización con ambos cementos.⁷⁸ De Deus y cols. utilizaron 3 mm de cemento MTA blanco como material para crear un plug apical en un diente definitivo inmaduro con ápice abierto y radiolucidez apical. Los resultados mostraron una completa curación del diente 1 año después, el cual presentaba una adecuada función clínica y ausencia de síntomas clínicos y rarefacción periapical.⁷⁹

2.3. Hidróxido de calcio

Los productos a base de hidróxido de calcio $[Ca(OH)_2]$ son utilizados, desde 1920, a su comprobada capacidad para favorecer la formación de dentina reparadora, biocompatibilidad, protección pulpar contra estímulos térmicos y eléctricos, además de presentar propiedades antimicrobianas.⁸⁰

⁷⁶ TAY, F. R.; PASHLEY, D. H.; RUEGGERBERG, F. A.; LOUSHINE, R. J.; WELLER, R. N. *Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the Portland cement component of white mineral trioxide aggregate with phosphate-containing fluid*. J Endod, 2009; 23: 1274-1277.

⁷⁷ BOZEMAN, T. B.; LEMON, R. R.; ELEAZER, P. D. *Elemental analysis of crystal precipitate from grey and white MTA*. J Endod, 2006; 32: 425-428.

⁷⁸ SHAHI, S.; RAHIMI, S. *A comparative histologic study of furcal perforation repair with white and gray mineral trioxide aggregate in dogs*. Abstract OR 22. American Association of Endodontists. Annual Session. April 9 – 12, 2008. J Endod, 2008; 34: 346.

⁷⁹ DE DEUS, G.; REIS, C.; BRANDÃO, C.; FIDEL, S.; FIDEL, R. A. *The ability of Portland cement, MTA, and MTA Bio to prevent through and through fluid movement in repaired furcal perforations*. J Endod, 2007; 33: 1374-1377.

⁸⁰ PEREIRA JC, SENE F, HANNAS AR, COSTA LC. *Tratamentos conservadores da vitalidade pulpar: Princípios biológicos e clínicos*. Biodonto. 2004;2(3):8-70.

El Hidróxido de calcio es un polvo blanco e inodoro que se obtiene por calcinación del carbonato de calcio químicamente inestable. En contacto con el aire, capta el anhídrido carbónico, carbonatándose y perdiendo su efectividad terapéutica. Es soluble en agua e insoluble en alcohol.⁸¹

La capacidad de inducción de neoformación de tejido mineralizado parece estar ligado a su pH alcalino, así como a su potencial antibacteriano. Por tal razón es el material elegido para cavidades profundas y muy profundas en la protección pulpar directa.⁸²

Por otro lado, los cementos de Ca(OH)_2 presentan alta solubilidad y baja resistencia mecánica, que se ve acentuada cuando son utilizados conjuntamente con sistemas adhesivos a base de acetona o alcohol.⁸³ Adicionalmente, los cementos de Ca(OH)_2 no son materiales adhesivos, la contracción de polimerización durante restauraciones de resina compuesta puede llevar a su dislocación, llevando a la formación de grieta en la interface con la dentina.⁸⁴ Con la intención de mejorar las propiedades físico mecánicas de los cementos de hidróxido de calcio, formulaciones fotoactivadas, vienen siendo desarrolladas; sin embargo, esas formulaciones aún carecen de comprobación científica. El Ca(OH)_2 actúa directamente sobre el tejido pulpar promoviendo necrosis superficial como consecuencia de su elevado pH.⁸⁵

Esta capa cauterizada, en cierta extensión, actúa de forma semejante a la membrana basal existente entre los ameloblastos y los odontoblastos primarios en diferenciación, en el momento de la formación del esmalte y la dentina.⁸⁶ Al producir la necrosis superficial de la pulpa, el Ca(OH)_2 se transforma en gránulos de carbonato de calcio, los cuales actúan como núcleos de calcificación distrófica, inmediatamente debajo de la zona de demarcación, a partir de la cual las células odontoblastoides se diferencian para formar el puente de dentina. A

⁸¹ VILLENA, Hernán. Endodoncia Pediátrica. Pág.206

⁸² UNEMORI M, MATSUYA Y, AKASHI A, GOTO Y, AKAMINE A. *Composite resin restoration and postoperative sensitivity: clinical follow-up in an undergraduate program*. J Dent. 2007;29(1):7-13.

⁸³ EL-ARABY A, AL-JABAB A. *The influence of some dentin primers on calcium hydroxide lining cement*. J Contemp Dent Pract. 2005;6(2):1-9

⁸⁴ GORACCI G, MORI G. *Scanning electron microscopic evaluation of resin-dentin and calcium hydroxide-dentin interface with resin composite restorations*. Quintessence Int. 2006;27(2):129-35.

⁸⁵ STANLEY HR, LUNDY T. *Dycal therapy for pulp exposures*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2002;34(5):818-27.

⁸⁶ TJÄDERHANE L. *The mechanism of pulpal wound healing*. Aust Endod J. 2002;28(2):68-74.

nivel molecular, la necrosis por coagulación sirve como superficie de soporte para la fibronectina, tenacina y factores de crecimiento que regulan la diferenciación y la adhesión de las células odontoblastoides.⁸⁷

La aparición de una barrera mineralizada es apreciada 21 días después del tratamiento, con algunos túbulos dentinarios y con una interface con el tejido subyacente bastante semejante al de una pulpa intacta.⁸⁸

Adicionalmente, las fibras colágenas interodontoblasticas inducen y soportan la formación estructural inicial de la barrera dentinaria.⁸⁹ El recubrimiento pulpar directo se utiliza el Ca(OH)₂ pro análisis (P.A.) en polvo o pasta, que es potencialmente más activo que los cementos de Ca(OH)₂, por no tener una reacción de fraguado y al mismo tiempo, por presentar un pH más elevado.⁹⁰ No obstante, provoca una capa necrótica espesa reduciendo el volumen del tejido pulpar en hasta 0,7mm, que sumado al volumen ocupado por la barrera mineralizada, puede resultar en pérdida significativa de tejido biológicamente activo.⁹¹

En el momento en que el hidróxido de calcio entra en contacto directo con el tejido, ocurre una disociación de iones hidroxilo. Ese grupo hidroxilo, por su vez producen una desnaturalización proteica dado su elevado pH. La profundidad de esa actuación varía según el tipo de hidróxido de calcio utilizado (en forma de polvo, pasta hidrosoluble o cemento) y también en función del vehículo utilizado.

En conjunto con esos iones de hidroxilo penetran los iones de calcio, que en el límite entre el tejido desnaturalizado y el tejido vivo, se precipitan en la forma de carbonato de calcio (reacción de los iones d calcio con el dióxido de carbono del

⁸⁷ TZIAFAS D, SMITH AJ, LESOT H. *Designing new treatment strategies in vital pulp therapy*. J Dent. 2005;Feb;28(2):77-92.

⁸⁸ PEREIRA J.C., STANLEY H.R.: *Pulp capping: influence of the exposure site on pulp healing histologic and radiographic study in dogs' pulp*. J Endod. 2007;7(5):213-23.

⁸⁹ KITASAKO Y, SHIBATA S, COX CF, TAGAMI J. *Location, arrangement and possible function of interodontoblastic collagen fibres in association with calcium hydroxide-induced hard tissue bridges*. Int Endod J. 2008;35(12):996-1004.

⁹⁰ ACCORINTE ML, LOGUERCIO AD, REIS A, CARNERIO E, GRANDE RH, MURATA SS, HOLLAND R. *Response of human dental pulp capped with MTA and calcium hydroxide powder*. Oper Dent. 2008;33(5):488-95.

⁹¹ PEREIRA JC, BRAMANTE CM, BERBERT A, MONDELLI J. *Effect of calcium hydroxide in powder or in paste form on pulp-capping procedures: histopathologic and radiographic analysis in dog's pulp*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2009;50(2):176-86.

tejido), responsables por las granulaciones de carbonato de calcio, birrefringente a la luz polarizada. Esas granulaciones de carbonato y calcio, bajo la forma de calcita, pueden ser detectadas dos horas después del contacto del hidróxido de calcio con el tejido. Se observa también complejos calcio proteínas bajo esas granulaciones de sales de calcio, amorfas caracterizando un área de calcificación distrófica. Se puede caracterizar cinco zonas como resultado del contacto del hidróxido de calcio con el tejido pulpar.⁹²

- Zona de necrosis de coagulación (correspondiente al área de desnaturalización proteica del tejido pulpar).
- Zona granulosa superficial (constituida por granulaciones groseras de carbonato de calcio).
- Zona granulosa profunda (exhibe finas granulaciones de sales de calcio y representa un área de calcificación distrófica).
- Zona de proliferación celular.
- Zona de pulpa normal.

Contrariamente, las formulaciones con pH más bajo como son los cementos de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ prácticamente no presentan la capa de necrosis por coagulación y la pérdida de tejido es apenas aquella correspondiente a la formación de barrera mineralizada. Al mismo tiempo, constituyen una protección con mayor resistencia mecánica, mayor aislamiento térmico y eléctrico con menor solubilidad. Aún así, la formación de barrera mineralizada es más lenta.⁹³

Por otro lado, debido al edema resultante del trauma de exposición, su aplicación directamente sobre el tejido pulpar expuesto puede dificultar su aplicación. Además, la presión del exudado pulpar puede causar la dislocación del material perjudicando el sellado del piso cavitario, teniendo como posibles consecuencias la inflamación crónica de la pulpa o la formación de barrera defectuosa.⁹⁴

A pesar de la heterogeneidad de los diseños experimentales y protocolos clínicos para el recubrimiento pulpar directo, la formación de barrera mineralizada ha

⁹² BORTOLUZZI, E. A.; JUÁREZ, N.; BRAMANTE, C. M.; CONSOLARO, A.; GARCIA, R. B.; GOMES, I.; NORBERTO, B. *Mineral trioxide aggregate with or without calcium chloride in pulpotomy*. J Endod, 2008; 34: 172-175.

⁹³ STANLEY HR, LUNDY T. *Dycal therapy for pulp exposures*. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 2005;34(5):818-27.

⁹⁴ PEREIRA JC, SEGALA AD, COSTA CA. *Human pulpal response to direct pulp capping with an adhesive system*. Am J Dent. 2006;13(3):139-47.

sido observada cuando se utilizan materiales a base de calcio.⁹⁵ Se cree que la formación de barrera de dentina mineralizada puede ser mediada por la liberación de factores de crecimiento y otras moléculas bioactivas presentes en la dentina, estimuladas por el $\text{Ca}(\text{OH})_2$.⁹⁶ Por lo que el hidróxido de calcio en forma de cemento es el material de elección para protección pulpar en cavidades profundas o con exposición pulpar.⁹⁷

2.4. Complejo dentino pulpar

La pulpa dentaria forma parte del complejo dentino pulpar, usualmente la dentina y la pulpa son desarrolladas por separado, principalmente porque la dentina es un tejido conectivo duro y la pulpa un tejido conectivo blando, pero ambos son embriológica, histológica y funcionalmente el mismo tejido y tienen su origen embrionario en el ectomesénquima. La pulpa es un tejido conectivo laxo y blando que nutre a la dentina y ocupa la parte central del diente, cada órgano pulpar conserva la forma del diente respectivo.

La pulpa a nivel coronario, se aloja en una cámara pulpar rodeada por dentina que contiene extensiones o prolongaciones periféricas de las células que le dieron origen, a nivel radicular la pulpa está contenida dentro de los conductos radiculares e igualmente rodeada por dentina, por lo tanto cada órgano pulpar está compuesto por una pulpa coronaria localizada centralmente en las coronas y por una pulpa radicular localizada centralmente en las raíces de los dientes.

Anatómicamente la pulpa dental a nivel coronario presenta cuernos pulpares, que son prolongaciones que se extienden hacia las cúspides de cada corona, el número de cuernos pulpares va depender del número de cúspides que presenta el diente. La región cervical del órgano pulpar se estrecha como lo hace el contorno de la corona y en esta zona la pulpa coronaria se une a la pulpa radicular, la cual se extiende hasta el ápice de la raíz.

⁹⁵ OLSSON H, PETERSSON K, ROHLIN M. *Formation of a hard tissue barrier after pulp capping in humans. A systematic review.* Int Endod J. 2006;39(6):429-42.

⁹⁶ GRAHAM L, COOPER PR, CASSIDY N, NÖR JE, SLOAN AJ, SMITH AJ. *The effect of calcium hydroxide on solubilisation of bio-active dentine matrix components.* Biomaterials. 2006;27(14):2865-73.

⁹⁷ SAWICKI L, PAMEIJER CH, EMERICH K, ADAMOWICZ-KLEPALSKA B. *Histological evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide in direct pulp capping of human immature permanent teeth.* Am J Dent. 2008;21(4):262-6.

En dientes uniradiculares, los órganos pulpaes son únicos y en dientes multiradiculares siguen la forma anatómica respectiva, no siempre rectos, su tamaño, forma y número es variable. Las porciones radiculares de los órganos pulpaes se continúan con el tejido conectivo periapical a través del foramen o foramina apical, cuya localización y forma pueden experimentar cambios como consecuencia de influencias funcionales sobre los dientes. La pulpa en un individuo joven posee un 25% de sustancia orgánica constituida por células, matriz extracelular representada por fibras y sustancia fundamental, lo restante está constituido en un 75% por agua, estas proporciones varían con la edad disminuyendo el porcentaje de agua y aumentando la cantidad de fibras.

Finalmente no olvidemos que la pulpa dental está rodeada totalmente por tejidos calcificados, lo que le otorga características muy particulares especialmente cuando experimenta una reacción inflamatoria. Se ha denominado a este conjunto con el nombre de «complejo pulpodentinario» por la íntima relación existente entre dentina y pulpa.⁹⁸

La pulpa dentaria es un tejido conectivo de tipo gelatinoso, ricamente vascularizado. Es uno de los tejidos conectivos blandos más primitivos del cuerpo ocupando la parte central del diente.⁹⁹

En el ciclo vital de la pieza temporal se distinguen tres fases: formación radicular, completación radicular y reabsorción. Durante la formación de la raíz, la pulpa es altamente vascularizada y celular; en la medida que la raíz se completa, hay menos células y más fibras. Los vasos, organizados en una red subodontoblástica en pulpa joven, presentan un proceso degenerativo con la edad, aunque se mantienen hasta la exfoliación de la pieza. Los nervios, por otra parte, se organizan gradualmente formando un plexo infraodontoblástico cuando la pieza está en oclusión; hay degeneración de fibras con el progreso de la reabsorción, haciendo al diente insensible al momento de su caída normal.¹⁰⁰

⁹⁸ BASRANI, E. *Endodoncia Integrada*. Pág. 57

⁹⁹ VILLENA, Hernán. *Ob cit.* Pág. 12

¹⁰⁰ ESCOBAR, Fernando. *Odontología Pediátrica*. Pág. 62

A diferencia del ameloblasto, que en su periodo secretor se traslada centrífugamente para desorganizarse, y eventualmente desaparecer de la superficie del esmalte, el odontoblasto, en la medida que avanza, centrípetamente, formando dentina, va dejando tras de sí parte de su estructura celular en la forma de una prolongación odontoblástica que ocupa finalmente dimensiones variables del espesor dentinario.¹⁰¹

a. Desarrollo embrionario de la pulpa

La embriología ha demostrado que la pulpa deriva de la cresta neural cefálica. Sus células se originan en el ectodermo, a lo largo de los bordes laterales de la placa neural y migran ampliamente por la parte lateral de la cabeza hacia el maxilar superior y la mandíbula. Estas células contribuyen a la formación de los gérmenes dentales, específicamente la *papila dental* o futura pulpa.¹⁰²

Durante el desarrollo de la pulpa, posiblemente se producen factores angiógenos, moléculas glucoprotéicas que provocan la invasión de vasos sanguíneos en desarrollo dentro de este tejido, como en otros. El resultado de esta angiogénesis es una rica vascularización pulpar con patrón de organización regular.¹⁰³

b. Citología Pulpar

Las células de la pulpa dentaria conservan la estructura común a todas ellas, están conformadas por un núcleo rodeado de citoplasma que contiene organelas e inclusiones y delimitadas por una membrana.

b.1. Núcleos

Ubicado generalmente en el centro de la célula, muestra cromatina organizada en forma laxa compuesta por el ácido desoxirribonucleico (DNA), este material controla el comportamiento genético y metabólico de la célula.

¹⁰¹ Ibid. Pág. 239

¹⁰² BASRANI, Enrique. *Ob cit.* Pág. 57

¹⁰³ BASRANI, Enrique. *Ob cit.* Pág. 57

El núcleo está compuesto en su mayor parte por ácido ribonucleico (RNA), que es más abundante en células jóvenes, contiene además uno o varios elementos redondeados llamados nucléolos, que participan en la producción de proteínas y en el metabolismo del ácido nucleico. La cromatina y el núcleo están suspendidos en la sustancia fundamental llamada cariolinfa y limitadas, por una membrana elástica que es la membrana nuclear.¹⁰⁴

b.2. Citoplasma

Rodea al núcleo y está limitado por la membrana plasmática o plasmalema, que es semipermeable y controla osmóticamente los cambios entre la célula y el medio circundante. En condiciones normales la membrana forma un límite ininterrumpido para la célula. En circunstancias adversas puede haber rupturas locales de la membrana por lesiones, éstas se reparan para evitar la pérdida excesiva del citoplasma.¹⁰⁵

La mayoría de procesos metabólicos tienen lugar en el citoplasma, pero siempre están dirigidos por el núcleo.¹⁰⁶

c. Elementos Estructurales de la Pulpa Dental:

La pulpa dental está conformada por cuatro zonas: odontoblástica, acelular o de Weil, celular y central.

c.1. Zona Odontoblástica

El estrato externo constituido por células en pulpa sana es la capa de odontoblastos, se encuentra localizada inmediatamente por debajo de la preentina. Debido a que las prolongaciones o extensiones de los odontoblastos se ubican en el interior de los túbulos dentinarios de la dentina, la capa de odontoblastos está compuesta predominantemente por los cuerpos o somas de los odontoblastos, dispuestos en forma de empalizada y conectados entre sí por diferentes complejos de unión, que mantienen la integridad de la capa.¹⁰⁷

¹⁰⁴ PROVENZA VINCENTD. *Histología y Embriología Odontológicas*. Pág.4

¹⁰⁵ BORYSENKO MYRIN ET AL, *Histología Funcional*. Pág.26

¹⁰⁶ FINN GENESSER, *Histología sobre Bases Moleculares*.Pág.33

¹⁰⁷ ARAUJO FERNÁNDEZ, Pablo Cesar. *Estudio Histológico de los Componentes de la Pulpa Dental en Relación a la Edad, realizados en Piezas Sanas Permanentes en Pacientes de 8-20. 30-50 y 60-80 años del distrito de Arequipa*.

Los odontoblastos son células específicas o típicas del tejido pulpar, alcanzan la cifra aproximada de 45,000 por mm³ y disminuyen sensiblemente en la zona radicular. Su tamaño es mayor en la corona, semejando a células de un epitelio cilíndrico pseudoestratificado y menor en la raíz, semejando a células de un epitelio cilíndrico simple. Los odontoblastos son células cilíndricas altas (40 micras), con núcleos grandes de localización basal durante su máxima actividad secretora. El citoplasma es intensamente basófilo por su alto contenido en ácido ribonucleico (RNA); empleando microscopía electrónica analítica se han detectado importantes niveles de calcio, fósforo y azufre durante su fase secretora.¹⁰⁸

Estudios recientes detectaron la presencia de proteína S-100 en el odontoblasto humano, vinculado con la actividad funcional y biológica intracelular del calcio. Los odontoblastos ultraestructuralmente poseen un retículo endoplásmico rugoso y extenso, que ocupa gran parte del citoplasma.

Tienen un complejo de Golgi de localización supranuclear muy desarrollado, con gránulos de contenido filamentosos ordenados a manera de cuentas, el citoplasma posee también abundantes mitocondrias. En un odontoblasto joven (activo), la prolongación odontoblástica posee gránulos maduros y escasas organelas.

El odontoblasto y su prolongación con pequeñas ramificaciones laterales son los responsables de transportar y liberar a través de un mecanismo de exocitosis los gránulos maduros hacia el espacio extracelular, que contienen glucosaminoglucanos, glucoproteínas y precursores del colágeno, que son componentes básicos de la matriz orgánica de la dentina. La prolongación citoplasmática del odontoblasto en el interior del túbulo dentinario varía de 0.3mm a 0.7 mm, pero en ocasiones puede llegar a la unión amelodentinaria, situación asociada con el estado de maduración del diente.^{109,110}

¹⁰⁸ GÓMEZ DE FERRARIS, María y CAMPOS MUÑOZ, Antonio. *Histología y Embriología Bucodental*. Pág. 7

¹⁰⁹ WALTON Richard. *Endodoncia, Principios y Práctica Clínica*. Pág.34

¹¹⁰ CANALDA, Carlos y BRAU, Esteban. *Endodoncia Técnicas Clínicas y Bases Científicas*. Pág. 23

El odontoblasto maduro es una célula que contiene todos los elementos ultraestructurales altamente diferenciados, pero que ha perdido la capacidad de dividirse. Los nuevos odontoblastos que se forman en los procesos reparativos de la dentina como respuesta al proceso de inflamación tienen su origen en células ectomesenquimales que provienen de la sangre, aunque existe la teoría que los nuevos odontoblastos podrían derivar de los fibroblastos pulpares. En este proceso juega un papel muy importante. La fibronectina; como medidor en la diferenciación de las células ectomesenquimales.

La fibronectina es una matriz de glucoproteína implicada en una variedad de actividades biológicas, como la mediación de adhesión de las células a la matriz extracelular, la migración celular, diferenciación y morfogénesis, particularmente gobernadas por interacciones epitelio mesenquimales, durante la formación de los dientes.¹¹¹

c.2. Zona acelular, zona de Weil o Capa basal de Weil

Ubicada inmediatamente por debajo de la capa de odontoblastos, se observa en la pulpa coronaria una zona estrecha de aproximadamente 40 Amstrong de espesor que está relativamente libre de células.

La zona de Weil es atravesada por capilares sanguíneos, fibras nerviosas amielínicas y los delgados procesos citoplasmáticos de los fibroblastos. La presencia o ausencia de la zona acelular depende del estado funcional de la pulpa, esta zona no es muy evidente en pulpas jóvenes que poseen la ventaja de forman dentina rápidamente.^{112,113}

c.3. Zona Celular

Está conformada por células ectomesenquimales y por fibroblastos que originan las fibras de Von Korff. La zona celular es más notable en la pulpa coronaria que en la pulpa radicular, presentando mayor densidad celular las pulpas jóvenes en relación a las pulpas envejecidas. La zona celular está

¹¹¹ LUKINMA AND VALEN A. ED . *A Región - Containing Isoform of Cellular Fibronectin is Presente in Dentín Matriz in Dentínogenesis Imperfecta Associate with Osteogénesis Imperfecta*, J. Dental Research.1998; 73(6) 1187-1196, Junio.

¹¹² GÓMEZ DE FERRARIS, María y CAMPOS MUÑOZ, Antonio. Ob cit. Pág. 8

¹¹³ <http://odontologia-online.com/estudiantes/trabajos/lu/lv01>(acceso 25/07/2011)

formada por fibroblastos, células ectomesenquimales, macrófagos, linfocitos, mastocitos y células de reserva.

- **Fibroblastos** son activos, poseen un contorno fusiforme y un citoplasma basófilo, con gran desarrollo de organelas que intervienen en la síntesis de proteína, el núcleo es elíptico con uno o dos nucléolos evidentes.

Los fibroblastos son las células principales y más abundantes del tejido conectivo pulpar, especialmente en la corona, secretan los precursores de las fibras colágenas, reticulares y elásticas, así como la sustancia fundamental de la pulpa.

En pulpas jóvenes los fibroblastos poseen largas y delgadas prolongaciones citoplasmáticas, conectadas a través de complejos de unión a otros fibroblastos, conformando un sincicio morfológico, pero no funcional. En la pulpa adulta se transforman en fibrocitos, adquiriendo forma ovalada, con núcleo que tiene cromatina más densa y citoplasma escaso con organoides también escasos.

Durante procesos de reparación o por reacción inflamatoria del tejido conectivo, los fibroblastos pueden variar en forma, y en número, desarrollando organelas. Así, los fibrocitos pueden diferenciarse nuevamente en fibroblastos frente a dichos estímulos, pero la mayoría de autores sostienen que los fibroblastos adultos derivan de otras células.¹¹⁴

Los fibroblastos por lo general se ubican entre las fibras colágenas, tienen por función formar, mantener y regular el recambio de la matriz extracelular fibrilar y amorfa. Son células multifuncionales que tienen también capacidad para degradar colágeno, en respuesta a estímulos fisiológicos del medio interno.^{115,116}

- **Células Ectomesenquimales** derivan del ectodermo de la cresta neural, conforman la reserva pulpar por su capacidad de diferenciarse en nuevos odontoblastos o fibroblastos, según el estímulo que actúe. Su número disminuye con la edad, que está directamente relacionado con la

¹¹⁴ GÓMEZ DE FERRARIS, María y CAMPOS MUÑOZ, Antonio. *Ob cit.* Pág. 8

¹¹⁵ WALTON, Richard., *Ob Cit.* Pág.19

¹¹⁶ LEONARDO, Marco y LEAL, Jaime. *Ob. cit.* Pág.34

reducción en la capacidad de autodefensa de la pulpa. Las células ectomesenquimales se ubican en la región subodontoblástica o en la proximidad de los capilares sanguíneos, por lo que se denomina células perivasculares p “pericitos”. Son difíciles de diferenciar de los fibroblastos, se describen como células de menor tamaño y de aspecto estrellado.

- **Macrófagos:** cambian de forma según donde se encuentren, pueden estar fijos en el tejido conectivo llamados histocitos, con aspecto irregular porque tienen prolongaciones citoplasmáticas; pueden estar libres en el mismo tejido, los cuales tienen forma redondeada con pequeños repliegues citoplasmáticos en su superficie, esta variedad de forma se relaciona con su función de fagocitosis.

Los macrófagos tienen un núcleo escotado y ligeramente excéntricos, citoplasma poco visible, pero con el complejo de Golgi y el retículo endoplásmico bien desarrollados, tiene también mitocondrias, abundantes vacuolas y lisosomas.

Los macrófagos participan en el mecanismo de defensa y pertenecen al sistema fagocítico mononuclear, tienen su origen en los monocitos de la sangre.

Durante procesos inflamatorios los histocitos se transforman en macrófagos libres, tienen como función digerir microorganismos, remover bacterias y eliminar células muertas, presentan las partículas extrañas a los linfocitos, interviniendo en la respuesta inmunológica de la pulpa, porque tienen antígenos clase n en la superficie celular.¹¹⁷

- **Linfocitos:** la pulpa sana solamente posee linfocitos de tipo T, los linfocitos B normalmente están ausentes. Los linfocitos T participan en la respuesta inmunológica inicial ante la presencia de antígenos provenientes de una caries, liberando linfoquinas que provocan dilatación pulpar, este mecanismo permite la migración de linfocitos B desde la circulación sanguínea hasta el tejido pulpar, diferenciándose en

¹¹⁷ CANALDA, Carlos y BRAU, Esteban. *Ob Cit.* Pág. 9

células plasmáticas, que elaboran anticuerpos específicos para los antígenos que desencadenaron la respuesta inflamatoria.¹¹⁸

- **Mastocitos:** son de tamaño, número variable y de distribución perivascular, son células redondeadas con abundante gránulos citoplasmáticos, que poseen histamina, heparina y anticoagulante. En los mastocitos el retículo endoplásmico está poco desarrollado, tienen un aparato de Golgi extenso y las mitocondrias son escasas. Suelen encontrarse en tejidos con inflamación crónica, pero también se observan en pulpas normales.
- **Células de reserva:** se encuentran a lo largo de los capilares y en la zona celular, son células primitivas indiferenciadas que conforman un reservorio de células pluripotenciales, que pueden diferenciarse en células específicas según las necesidades.

Pueden convertirse en fibroblastos o en células productoras de dentina (dentinoblastos), en la inflamación pueden diferenciarse en macrófagos o en células de reabsorción (dentinoclastos), su número disminuye con la edad, lo que origina una reducción en la capacidad de autodefensa de la pulpa

c.4. Zona Central

Es la masa central de la pulpa propiamente dicha, esta masa o estroma pulpar contiene vasos sanguíneos, fibras nerviosas y componentes celulares como fibroblastos, células ectomesenquimales, macrófagos de localización perivascular, ya descritos. La zona central proporcionalmente tiene menor cantidad de células por unidad de superficie, en comparación con la zona rica en células.¹¹⁹

d. Elementos Extracelulares de la Pulpa Dental:

Básicamente constituido por:

d.1. Fibras Colágenas:

Su distribución y proporción difiere según la región, son escasas y dispuestas en forma irregular en la pulpa coronaria, en la zona radicular

¹¹⁸ Ibid. Pág. 9

¹¹⁹ <http://www.iztacalaunam.mx/~irivas/histologia4.html> (acceso 25/07/2011)

adquieren disposición paralela y se encuentran en mayor concentración. La densidad y diámetro de las fibras aumenta con la edad. La matriz extracelular pulpar contiene colágeno y fibronectina.¹²⁰

d.2. Fibras Reticulares:

Formadas por delgadas fibrillas de colágeno y fibronectina, se disponen al azar en la pulpa, excepto en la zona odontoblástica, donde se entrelazan con las células y forman el plexo de Von Korff, formadas por fibras más gruesas y espiraladas, igualmente aumentan con la edad.

d.3. Fibras Elásticas:

Son escasas y ubicadas exclusivamente en las paredes de los vasos sanguíneos aferentes, su principal componente es la elastina.

d.4. Fibras Oxitalánicas:

Son fibrillas onduladas, consideradas como fibras elásticas inmaduras, de función aún desconocida.

e. Funciones de la pulpa

La pulpa dentaria tiene gran actividad biológica, siendo la parte del diente que tiene más funciones y que perduran durante toda la vida del diente, si éste no es lesionado. Sus funciones son:

- Función formadora de dentina durante toda la vida del diente.
- Función nutritiva a partir de los nutrientes contenidos en el líquido tisular y que difundirán a la dentina por los odontoblastos y sus prolongaciones.
- Función sensorial por sus abundantes fibras nerviosas.
- Función defensiva, por formación de dentina reparadora cuando la intensidad del estímulo es pequeña o, si éste es mayor, la respuesta no procederá de los odontoblastos, sino de las células defensivas, dando lugar a inflamación de la pulpa.

Por la respuesta biológica de la pulpa que no se modifica a lo largo de los años, así como por las valiosas funciones que dependen de ella y cuya pérdida condicionaría seriamente la integridad dentaria, las terapéuticas realizadas en los dientes de los niños son mucho más conservadoras. Generalmente se intenta

¹²⁰ GÓMEZ DE FERRARIS, María y CAMPOS MUÑOZ, Antonio. Ob cit. Pág. 8

la conservación total o parcial de la pulpa para mantener las funciones de ésta.¹²¹

La pulpa está formada por células, fibras, vasos, nervios y además en su seno se producen enzimas; una de ellas es la fosfatasa alcalina, que tiene un pH de alrededor de 9, es capaz de hidrolizar muchos ésteres del ácido fosfórico que existen naturalmente o en forma sintética. La función de la fosfatasa alcalina ha sido implicada en la síntesis de las proteínas fibrosas y también en el paso de metabolitos a través de las membranas celulares; tiene una acción muy manifiesta en las formaciones cálcicas.¹²²

f. Envejecimiento de la pulpa

A diferencia de los dientes permanentes, las piezas temporales experimentan un proceso normal de reabsorción radicular, que va acompañado de envejecimiento del tejido pulpar, lo cual significa disminución del número de células, aumento del número de fibras, pérdida de fibras nerviosas y algunos cambios vasculares degenerativos.¹²³

Se considera que la pulpa disminuye su capacidad defensiva después de los 30 años; a partir de entonces comienza involucionar.¹²⁴

2.5.- RECUBRIMIENTO PULPAR DIRECTO

El recubrimiento pulpar se define como la colocación de un material sobre la pulpa, expuesta o casi expuesta, para promover la formación de dentina en el lugar donde se ha producido la injuria y mantener la vitalidad pulpar.¹²⁵

Se define al recubrimiento pulpar directo como la protección o recubrimiento de una herida o exposición pulpar mediante pastas o sustancias especiales, con la finalidad de cicatrizar la lesión y preservar la vitalidad de la pulpa y refiere que por pulpa expuesta o herida se entiende la solución de continuidad de la dentina

¹²¹ BARBERIA, Elena. *Odontopediatría*. Pág.256

¹²² ORBAN. *Histopatología y Embriología bucales*. La Habana: Ed. Pueblo y Educación; 1973. p. 126-360.

¹²³ ESCOBAR, Fernando. *Ob cit.* Pág. 240

¹²⁴ ÁLVAREZ VALLS L. *Endodoncia*. La Habana: Ed. Pueblo y Educación; 1977. p. 295.

¹²⁵ OLSSON, H.; PETERSSON, K.; ROHLIN, M. *Formation of a hard tissue barrier after pulp cappings in humans. A systematic review*. Int Endod J, 2006; 39: 429-442.

profunda, con comunicación de la pulpa con la cavidad de caries o superficie traumática, que se produce generalmente durante la preparación de cavidades y en las fracturas coronarias.¹²⁶

El recubrimiento pulpar directo se basa en la colocación de un agente biocompatible en el tejido pulpar saludable que inadvertidamente quedó expuesto durante la excavación de una caries o por una lesión traumática.¹²⁷

El recubrimiento de una exposición pulpar está indicado cuando se produce una lesión pulpar reversible después de un trauma físico o mecánico en dientes permanentes maduros o en desarrollo, favoreciendo en este caso la madurogénesis, es decir, el cierre apical completo y desarrollo fisiológico radicular, que incluye deposición de dentina a lo largo de la raíz, lo que proporciona a ésta mayor fuerza y resistencia a la fractura.¹²⁸

Hasta el momento, existía la creencia de que en dientes temporales las células indiferenciadas mesenquimales podían diferenciarse en odontoclastos como respuesta a este tratamiento, lo que conduciría a un proceso de resorción interna. Bodem y cols. realizaron un recubrimiento pulpar directo con MTA en un primer molar temporal de un niño de 7 años y, tras 18 meses, el molar continuó vital y asintomático.¹²⁹ También Tuna y cols. evaluaron la efectividad del MTA y del hidróxido de calcio (Dycal) en recubrimientos pulpares directos en molares temporales y con ambos materiales se obtuvieron los mismos resultados favorables clínicos y radiológicos a los 24 meses. Consideraron que los buenos resultados obtenidos con el hidróxido de calcio pudieron estar relacionados con el hecho de colocar una obturación de óxido de cinc-eugenol tras el recubrimiento, lo que permitió un sellado contra las bacterias y compensó la posible disolución del mismo.¹³⁰

¹²⁶ VILLENAL MARTINEZ, Hernán. *Tratamiento endodóntico en diente inmaduro. Endodoncia pediátrica*. Perú- 2005. Editor UPCH. p. 183-187

¹²⁷ GUEDES PINTO, Antonio y colaboradores. *Rehabilitación bucal en odontopediatría*. Editorial Harcourt. Edición 2003.p.223

¹²⁸ PATEL, R.; COHENCA, N. *Maturogenesis of a cariously exposed immature permanent tooth using MTA for direct pulp capping: a case report*. Dent Traumatol, 2006; 22: 328-333.

¹²⁹ BODEM, O.; BLUMENSHINE, S.; ZEH, D.; KOCH, M. J. *Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate in a primary molar: a case report*. Int J Paed Dent; 2004; 14: 376-379.

¹³⁰ TUNA, D.; ÖLMEZ, A. *Clinical long-term evaluation of MTA as direct pulp capping material in primary teeth*. Int Endod J, 2008; 41: 273-278.

El éxito de un tratamiento de recubrimiento pulpar se ve afectado por una serie de factores :

- a. Edad del paciente
- b. Estado periodontal del diente afectado
- c. Desarrollo radicular
- d. Tamaño de la exposición
- e. Naturaleza de la misma (traumática, mecánica o cariosa)
- f. Contaminación bacteriana¹³¹

Por lo que es importante eliminar los irritantes, controlar la infección y utilizar un material biocompatible. En cualquier caso, el principal factor para que el tratamiento sea un éxito depende de la capacidad de curación del diente afectado puesto que, si al diente se le proporciona un medio adecuado libre de gérmenes, él mismo presenta la capacidad de sobreponerse al daño y formar dentina sobre la pulpa expuesta mecánicamente sin necesidad de la colocación de ningún material.¹³²

2.6.- VIABILIDAD CELULAR

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 viables.¹³³

¹³¹AEINEHCHI, M.; ESLAMI, B.; GHANBARIHA, M.; SAFFAR, A. S. *Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp capping agents in human teeth: a preliminary report*. Int Endod J, 2007; 36: 225-231

¹³² ANDELIN, W. E.; SHABANANG, S.; WRIGHT, K.; TORABINEJAD, M. *Identification of hard tissue after experimental pulp capping using dentin sialoprotein (DSP) as a marker*. J Endod, 2003; 29: 646-650.

¹³³ <http://www.buenastareas.com/ensayos/Viabilidad-De-Una-Celula/1761733.html>(acceso 12/10/2011)

El test de viabilidad celular, permite evaluar la supervivencia celular en el momento del ensayo, ya que ofrecen información instantánea mediante métodos colorimétricos o contajes de radioactividad. Son particularmente útiles para valorar el efecto del material ensayado sobre la integridad de la membrana celular.¹³⁴

La determinación de la viabilidad celular es el conteo de las células vivas (sanas) o muertas en una muestra. Generalmente los métodos de determinación de la viabilidad se basan en el análisis de dos parámetros: actividad metabólica de la célula o integridad de membrana plasmática. Los métodos más comunes para evaluar la integridad de membrana y así determinar el índice de células viables en una suspensión celular son los test de exclusión de colorantes vitales (ej.: Azul Tripán). Las células vivas, cuyas membranas celulares estén íntegras, excluyen a estos colorantes en forma activa. El método del Azul de Tripán o Tripano pone en evidencia el funcionamiento de un mecanismo de transporte activo a través de la membrana plasmática. Por este procedimiento se visualizan las células mediante un microscopio y se cuentan las células muertas (azules) en el total de la muestra. Este método es utilizado por ejemplo previo a iniciar un cultivo, para determinar cuántas células vivas existen, permitiendo optimizar las condiciones de cultivo. Además puede emplearse para determinar la eficacia de agentes terapéuticos en la búsqueda de drogas, o en test toxicológicos.¹³⁵

Un método ampliamente empleado para discernir entre una célula viva y una muerta es la denominada prueba de exclusión del azul trípano. El azul trípano es un colorante supravital que se incorpora a las células muertas.¹³⁶ El azul de tripano es un colorante utilizado para el recuento de células íntegras por exclusión de dicho colorante. Este método está basado en que las células vivas (viables) no captan el azul de tripan mientras que las células muertas (no viables)

¹³⁴ PAZ PUMPIDO F. *Biocompatibilidad de adhesivos dentinarios*. Av. *Odontoestomatol* 2005; 21-1: 339-345

¹³⁵ http://bcelular.fcien.edu.uy/index_archivos/estudiante_2011_A.pdf(acceso 25/06/2011)

¹³⁶ PERALTA PÉREZ, Magnolia y col. *Evaluación in vitro de la citotoxicidad de tres selladores endodóncicos sobre fibroblastos de ratón de la línea celular L929*. *Revista Odontológica Mexicana*. Vol. 10, Núm. 2 Junio 2006. Pp.63-68

si lo hacen. Se cuentan como muertas las células teñidas de azul y como vivas las refringentes.¹³⁷

Uno de los métodos para determinar la viabilidad celular empleado en muchos laboratorios es con un Hematocitometro o cámara Neubauer y un microscopio. Una cámara de conteo celular es un dispositivo en el que se coloca una muestra de la suspensión a medir, el cual presenta señales que determinan un volumen conocido, por lo que al contar bajo el microscopio el número de partículas presentes en ese volumen se puede determinar la densidad de partículas en la suspensión de origen. La cámara de Neubauer es un portaobjetos de conteo para su uso en el microscopio óptico, con una depresión en el centro en el fondo de la cual se ha marcado con la ayuda de un diamante una retícula micrométrica. Es un cuadrado de 3 mm x 3 mm, con una separación entre dos líneas consecutivas de 0.25 mm. Así pues el área sombreada corresponde a 1 milímetro cuadrado. La depresión central del cubreobjetos está hundida 0.1 mm respecto a la superficie, de forma que cuando se cubre con un cubreobjetos éste dista de la superficie marcada 0.1 mm, y el volumen comprendido entre por el área una de las áreas sombreadas de la retícula y el cubreobjetos es de 0.1 milímetro cúbico, es decir 0.1 litro.¹³⁸

Una cámara de contaje celular es un dispositivo en el que se coloca una muestra de la suspensión a medir. El dispositivo presenta unas señales que determinan un volumen conocido (x microlitros). Al contar bajo el microscopio el número, de partículas presentes en ese volumen se puede determinar el porcentaje de Viabilidad Celular en la suspensión de origen.¹³⁹ La cámara de Neubauer es una cámara de contaje adaptada al microscopio de campo claro o al de contraste de fases. Se trata de un portaobjetos con una depresión en el centro, en el fondo de la cual se ha marcado con la ayuda de un diamante una cuadrícula con líneas perpendiculares. Es un cuadrado de 3 x 3 mm, con una separación entre dos líneas consecutivas de 0.25mm. Así pues el área sombreada y marcada le correspondería a 1 mm cuadrado. La depresión central del cubreobjetos está

¹³⁷ http://www2.uah.es/tejedor_bio/bioquimica_ambiental/guion-citotoxicidad.pdf acceso 15/06/2011)

¹³⁸ <http://www.aurea-dt.com/documentos/PruebaCS.pdf>(acceso 30/06/2011)

¹³⁹ [http://www.brand.de/fil3adniiin/usef/imaq9s/products/Clinical Lab/Countinq_.Chambers/counting-s.pdf](http://www.brand.de/fil3adniiin/usef/imaq9s/products/Clinical%20Lab/Countinq_.Chambers/counting-s.pdf) (acceso 25/09/2011)

hundida 0.1 mm respecto a la superficie, de forma que cuando se cubre con un cubreobjetos éste dista de la superficie marcada 0.1 milímetro, y el volumen comprendido entre la superficie L y el cubreobjetos es de 0.1 milímetro cúbico, es decir 0.1 microlitro.¹⁴⁰

Para hacer el conteo se toman los datos de 4 campos de la cámara de Neubauer, de cada campo se contabiliza el número de células viables y el número de células no viables (muertas). Las células teñidas de azul corresponden a las células muertas. Luego se saca la media o el promedio, y se multiplica el resultado por 160 000.

2.7.- MORFOLOGÍA NUCLEAR

El núcleo es el organelo celular donde se localiza el ADN. Su forma varía dependiendo del tipo celular, puede ser esférico, ovoide o multilobulado. Su tamaño oscila entre 3 a 15 μm y su posición depende del tipo celular. Está delimitado por una envoltura nuclear constituida por dos membranas celulares (dos bicapas lipídicas) separadas por una cisterna perinuclear. Esta envoltura se continúa en el citoplasma con el retículo endoplásmico rugoso, y por lo tanto su cara externa presenta ribosomas asociados.

En la cara interna de la envoltura se localiza una red de filamentos intermedios denominada lámina nuclear, constituida por las proteínas denominadas laminas. Tanto la lámina nuclear como la envoltura se ven interrumpidas en regiones denominadas poros nucleares, destinados al transporte de moléculas desde y hacia el citosol.

En el interior del núcleo el ADN que constituye los cromosomas se empaqueta con proteínas denominadas histonas. El conjunto del ADN, las histonas, y proteínas cromosómicas no histonas, se denomina cromatina. La unidad fundamental de empaquetado recibe el nombre de nucleosoma y está constituido por un octámero de histonas rodeado por dos vueltas de ADN.

¹⁴⁰ <http://es.scribd.com/doc/3587499/conteo-celular-camara-neubauer-y-densidad-potica>(acceso 30/06/2011)

La cromatina posee diversos grados de compactación dentro del núcleo, y pueden existir variaciones durante el ciclo celular. En su estado más laxo o descondensado la cromatina se denomina eucromatina y se aprecia en microscopía electrónica de transmisión como regiones electrón-lúcidas (ver figura). Esta cromatina es transcripcionalmente activa ya que permite el acceso de factores de transcripción y toda la maquinaria enzimática necesaria para la transcripción. La cromatina condensada se denomina heterocromatina y se observa en microscopía electrónica de transmisión como regiones electrón-densas, generalmente asociadas a la envoltura nuclear. Esta cromatina se asocia con estados transcripcionalmente inactivos ya que dificulta el acceso de factores de transcripción al ADN. Es importante recordar que la compactación y descompactación de la cromatina son fenómenos reversibles. Podemos encontrar diferentes niveles de compactación del ADN que van desde la fibra de 2 nanómetros (doble hélice de ADN), pasando por la fibra de 11nm que corresponde al “collar de cuentas” que incluye los nucleosomas (complejo de histonas rodeadas de dos vueltas del ADN), la fibra de 30nm, la de 300nm, la de 700nm hasta el cromosoma mitótico.

El nucléolo es una región dentro del núcleo, no delimitada por membrana, donde ocurre la transcripción del ARNr y ensamblado de las subunidades ribosomales por separado. Allí se localizan *loops* de ADN de distintos cromosomas, que contienen *clusters* de genes de ARNr. Cada uno de estos *clusters* se denomina Región Organizadora Nucleolar (NOR). En una micrografía electrónica de transmisión pueden distinguirse tres regiones en el nucleolo:

- (1) una región pálida denominada componente fibrilar o centro fibrilar que contiene ADN que no está siendo transcrito,
- (2) un componente fibrilar denso que contiene moléculas de ARNr que están siendo sintetizadas, y
- (3) componente granular que contiene partículas precursoras ribosomales en maduración.

El tamaño del nucleolo refleja su actividad por lo que varía en distintos tipos celulares y puede variar también dentro de una misma célula.¹⁴¹

¹⁴¹ http://bcelular.fcien.edu.uy/index_archivos/estudiante_2011_A.pdf(acceso 25/07/2011)

El núcleo de la célula es la estructura más llamativa, lo característico es que cada célula posea un núcleo: en los eritrocitos diferenciados este se pierde secundariamente. Con poca frecuencia las células son multinucleadas (por ejemplo osteoclastos y células musculares esqueléticas). El núcleo ocupa alrededor del 15% del volumen celular.¹⁴²

La forma y la estructura del núcleo son características de cada tipo celular y es por esa razón que con mucha frecuencia la morfología nuclear posibilita el diagnóstico de un tipo celular. También pueden verse correctamente las fases funcionales del núcleo. Los componentes principales del núcleo son:

- La envoltura nuclear.
- La cromatina, un complejo de DNA (en el cual se almacena la información para la síntesis de todas las proteínas del organismo) y proteínas que durante la mitosis aparece en la forma de cromosomas.
- El nucléolo.
- El nucleoesqueleto.¹⁴³

2.7.1. Morfología de la Célula de la Pulpa Dental

Las células de la pulpa dentaria conservan la estructura común a todas ellas, están conformadas por un núcleo rodeado de citoplasma que contiene organelas e inclusiones y delimitadas por una membrana.

❖ Núcleos

Ubicado generalmente en el centro de la célula, muestra cromatina organizada en forma laxa compuesta por el ácido desoxirribonucleico (DNA), este material controla el comportamiento genético y metabólico de la célula. El núcleo está compuesto en su mayor parte por ácido ribonucleico (RNA), que es más abundante en células jóvenes, contiene además uno o

¹⁴² WELSH, Ulrich, SOBOTTA, Johannes. *Histología*. Pag. 36.

¹⁴³ WELSH, Ulrich, SOBOTTA, *Ob cit.* Pag. 36.

varios elementos redondeados llamados nucléolos, que participan en la producción de proteínas y en el metabolismo del ácido nucleico. La cromatina y el núcleo están suspendidos en la sustancia fundamental llamada cariolinfa y limitadas, por una membrana elástica que es la membrana nuclear.¹⁴⁴

❖ Citoplasma

Rodea al núcleo y está limitado por la membrana plasmática o plasmalema, que es semipermeable y controla osmóticamente los cambios entre la célula y el medio circundante. En condiciones normales la membrana forma un límite ininterrumpido para la célula. En circunstancias adversas puede haber rupturas locales de la membrana por lesiones, éstas se reparan para evitar la pérdida excesiva del citoplasma.¹⁴⁵

La mayoría de procesos metabólicos tienen lugar en el citoplasma, pero siempre están dirigidos por el núcleo.¹⁴⁶

2.7.2. Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia es una técnica de inmunomarcación que hace uso de anticuerpos unidos químicamente a una sustancia fluorescente para demostrar la presencia de una determinada molécula. Es una técnica que tiene variantes cualitativas y cuantitativas, por ejemplo FPIA dentro de las cuantitativas y la inmunotinción de células para su observación por microscopía fluorescente dentro de las cualitativas.¹⁴⁷

La inmunofluorescencia, como todos los inmunoensayos, aprovecha la capacidad que tienen los anticuerpos para unirse con alta especificidad a una determinada molécula blanco; pero se diferencia de otras técnicas inmunoquímicas en que aquí la marca unida al anticuerpo es una molécula fluorescente tal como por ejemplo, el isotiocianato de fluoresceína. El anticuerpo

¹⁴⁴ PROVENÍA, Vincentd. Histología y Embriología Odontológicas. Pág.4

¹⁴⁵ BORYSENKO, Myrin, Histología Funcional. Pág.26

¹⁴⁶ FINN, Genesser, Histología sobre Bases Moleculares. Pág.33

¹⁴⁷ ABUL, K. Inmunología celular y molecular. Pag. 99

marcado se hace reaccionar contra un preparado biológico y luego se expone la muestra así tratada a una fuente de luz de onda corta (ultravioleta o azul) seleccionada por medio de un monocromador. Esta luz de onda corta genera un fenómeno de fluorescencia en la molécula marcadora que a su vez emite luz a una longitud de onda más larga (verde, amarillo o naranja). Esta luz emitida puede ser cuantificada con facilidad por fotometría o en el caso de tratarse de preparados histológicos, puede ser observada por medio de un microscopio de fluorescencia. En el caso de la utilización de la inmunofluorescencia como método de tinción para microscopía óptica, el fluorescente revela la localización a nivel celular o subcelular de la molécula diana.¹⁴⁸

La inmunofluorescencia, como técnica de tinción, puede ser utilizada en cortes de tejidos, líneas celulares cultivadas, células individuales y secreciones que contengan células en suspensión (por ejemplo esputo) con la finalidad de analizar la presencia y distribución de proteínas, glúcidos y moléculas pequeñas tanto de origen biológico como no. La inmunofluorescencia como técnica inmunoquímica de cuantificación se puede utilizar tanto en muestras de origen biológico como en muestras no biológicas, siempre que se encuentren en un medio favorable para la unión de los anticuerpos. En general se utiliza una solución PBS (Buffer fosfato salino) como medio de reacción.¹⁴⁹

2.8.- ESTRUCTURA DEL ADN

La información con la que se fabrican las moléculas necesarias para el mantenimiento de las funciones celulares está guardada en una molécula de ácido nucleico llamada ácido desoxirribonucleico (ADN).¹⁵⁰

En la década de los cincuenta, el campo de la biología fue convulsionado por el desarrollo del modelo de la estructura del ADN. James Watson y Francis Crick

¹⁴⁸ ABUL.K. Ob cit. Pag. 99

¹⁴⁹ http://inmunologiaenlinea.es/index.php?option=com_content&id=107:citometria-de-flujo&catid=49:tetodos&Itemid=126 (acceso 30/06/2011)

¹⁵⁰ GHOSH, A; BANSAL, M. *A glossary of DNA structures from A to Z*. Acta Crystallogr O Biol Crystallogr 59 (Pt 4): pp. 620-6.

en 1953 demostraron que consiste en una doble hélice formada por dos cadenas.¹⁵¹

El ADN es un ácido nucleico formado por nucleótidos. Cada nucleótido consta de tres elementos:

- Un azúcar: desoxirribosa en este caso (en el caso de ARN o ácido ribonucleico, el azúcar que lo forma es una ribosa),
- Un grupo fosfato y
- Una base nitrogenada¹⁵²

Si la molécula tiene sólo el azúcar unido a la base nitrogenada entonces se denomina nucleósido.

Las bases nitrogenadas que constituyen parte del ADN son: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). Estas forman puentes de hidrógeno entre ellas, respetando una estricta complementariedad: A sólo se aparea con T (y viceversa) mediante dos puentes de hidrógeno, y G sólo con C (y viceversa) mediante 3 puentes de hidrógeno.

Los extremos de cada una de las hebras del ADN son denominados 5'-P (fosfato) y 3'-OH (hidroxilo) en la desoxirribosa. Las dos cadenas se alinean en forma paralela, pero en direcciones inversas (una en sentido 5' → 3' y la complementaria en el sentido inverso), pues la interacción entre las dos cadenas está determinada por los puentes de hidrógeno entre sus bases nitrogenadas. Se dice, entonces, que las cadenas son antiparalelas.

2.8.1.- Replicación del ADN

Una de las características más notables del ADN es su capacidad de replicarse. Vale decir que el ADN es capaz de formar copias de sí mismo. El proceso de

¹⁵¹ <http://aportes.educ.ar/biologia/nucleo-teorico/estado-del-arte/el-libro-de-la-vida-el-adn/estructura-del.adn.php> (acceso 25/09/2011)

¹⁵² Ibid. sp

autoduplicación del ADN se lleva a cabo en el período S del ciclo celular. Esta etapa es un paso previo obligado para realizar la división celular en la etapa M de mencionado ciclo. Los genes deben poseer tres funciones principales, como portadores del material hereditario:

- Deben ser capaces, por medio de una replicación fiel, de transmitir la información genética de generación en generación.
- Deben contener la información necesaria para sintetizar todas las proteínas fundamentales para permitir el normal desarrollo de la célula.
- Deben aceptar cambios ocasionales como forma de evolución, es decir, deber aceptar la capacidad de mutar.¹⁵³

La replicación permite que el ADN sea capaz de cumplir con las funciones anteriormente mencionadas. La réplica del material hereditario es un producto directo de este proceso; la información para la síntesis de las proteínas está asegurada por medio de la replicación y los errores en la replicación posibilitan y generan cambios que pueden llevar a la evolución.

La replicación del ADN es Semiconservativa, puesto que las dos cadenas del ADN sirven de patrón para la síntesis de las nuevas cadenas. Cada doble hélice hija, producto del proceso de autoduplicación, tendrá una cadena recién sintetizada (nueva) y otra cadena que, con anterioridad, formaba parte de la molécula parental.

La replicación se llevará a cabo en el núcleo de la célula eucariota, e intervendrán una dotación de enzimas que se encargarán de abrir la doble hélice, incorporar los nucleótidos y disminuir la tensión que se genere por delante de ella.

¹⁵³ <http://www.tarion.com.ar/archivos/duplicacion.pdf>.(acceso: 01-Jul-2011)

2.8.2.- Electroforesis en gel

La electroforesis es el movimiento de partículas eléctricamente cargadas a través de un gel de agarosa como resultado de un campo eléctrico formado entre unos electrodos sumergidos en el medio, este procedimiento permite la separación de moléculas como consecuencia de su diferente movilidad en un campo eléctrico.¹⁵⁴

La electroforesis en gel es un grupo de técnicas empleadas por los científicos para separar moléculas basándose en propiedades como el tamaño, la forma o el punto isoelectrónico. La electroforesis en gel se utiliza generalmente con propósitos analíticos, pero puede ser una técnica preparativa para purificar moléculas parcialmente antes de aplicar espectrometría de masas, PCR, clonación o secuenciación de ADN.

La electroforesis en gel es una técnica sencilla empleada de forma rutinaria en laboratorio para separar moléculas biológicas especialmente ADN, ARN y proteínas.

La electroforesis es una técnica habitual en el laboratorio clínico. Permite separar especies químicas (ácidos nucleicos o proteínas) a lo largo de un campo eléctrico en función de su tamaño y de su carga eléctrica. Los ácidos nucleicos, ADN y ARN, tienen por naturaleza carga negativa. Si ponemos fragmentos del ADN extraído de una muestra biológica sobre un soporte poroso (gel) y aplicamos un campo eléctrico, se producirá la migración diferencial de los fragmentos a través de los poros de la matriz. La tinción del gel con bromuro de etidio, que es una sustancia fluorescente que se intercala en la molécula de ADN, y la exposición con luz ultravioleta, permite observar el resultado de esta migración.¹⁵⁵ El tamaño de los fragmentos de ADN se puede estimar comparándolos con el patrón de bandas que se obtiene de marcadores comerciales de peso molecular conocido. La electroforesis de ADN es útil para comparar patrones de bandas de diferentes muestras biológicas. Así por

¹⁵⁴ KARP, Gerald. *Biología Celular y Molecular*. Pag. 727.

¹⁵⁵ KARP, Gerald. Ob.cit. Pag. 727.

ejemplo se puede usar para comparar muestras de individuo sano frente a individuo enfermo, para la identificación de ácidos nucleicos de agentes infecciosos o para la obtención de un fragmento determinado de ADN que, una vez localizado en el gel, puede ser extraído para análisis posteriores¹⁵⁶

3. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

3.1 “ Comparison of Mineral Trioxide Aggregate and Formocresol as pulp capping Agents in Pulpotomized Primary Teeth”.

HADDER, AGAMY.

Pediatric Dentistry, 26(4), 302-309. 2004

Resumen: En un estudio realizado comparando al MTA y el Formocresol como agentes de recubrimiento pulpar en pulpotomías de dientes primarios, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, entre estos grupos, en evaluaciones clínicas y radiográficas después de 1, 3, 6, y 12 meses. Además, también observaron que el MTA indujo la formación de un puente de dentina en el sitio de amputación, mientras que el Formocresol indujo una capa delgada de dentina pobremente calcificada.

Análisis de enfoque: Dicho antecedente difiere del presente estudio en cuanto a las variables estímulo, que son la Uncaria Tomentosa (Uña de Gato); y el MTA y el Hidróxido de Calcio, respectivamente. Así como en las unidades de estudio ya que el presente evalúa las pulpas dentaria de piezas dentarias permanentes. Otro aspecto en el que diferencian es la población evaluada del presente será de 9 a 20 años de edad, y el estudio será a través de técnicas de biología molecular a diferencia del antecedente que se hizo a través de evaluaciones radiográficas y clínicas, así como los tiempos de evaluación que serán a las 0. 24 y 48 horas respectivamente y en el antecedente a los 1, 3, 6 y 12 meses.

¹⁵⁶ BERTH, M; MOSER, F; KOLBE, M. *The state of the art in the analysis of two-dimensional gel electrophoresis images*. Appl Microbiol Biotechnol.2007;76(S):1223-43

3.2. “Efecto in vitro del Hidróxido de calcio y la Uncaria Tomentosa (Uña de Gato) en la Respuesta de las Células de la Pulpa Dental en pacientes de 3 a 5 años CIRCA-MAS. Arequipa 2009.”

ROMERO RIVERA MAGDALENA

Arequipa, 2009

Fuente: Biblioteca de Ciencias de la Salud de la UCSM

Resumen: En el presente estudio se evaluó la viabilidad celular y el ADN de la Uncaria Tomentosa (Uña de Gato) y el Hidróxido de Calcio a las 24 y 48 horas en células extraídas de la pulpa dental. Se realizaron 26 muestras para cada grupo de estudio aplicándoles es estímulo a las 24 y 48 horas.

Los resultados finales mostraron que la Uncaria Tomentosa (Uña de Gato) en la dosis de 5ul al 20 % hay ADN integro, esto indica que no hay toxicidad Mientras que el Hidróxido de Calcio al 0.2% dosis utilizada se observó que hay hidrólisis.

Análisis de enfoque: Dicho antecedente difiere del presente estudio en cuanto a las variables estímulo, que son la Uncaria Tomentosa (Uña de Gato); y el Propóleo, respectivamente. Y tienen una variable en común que es el Hidróxido de Calcio. Otro aspecto en el que diferencian es la población que es de 3 a 5 años en el antecedente, y de 9 a 14 años en el presente estudio.

3.3. “Comparación de la citotoxicidad del Hidróxido de Calcio y del Fosfato tricálcico en endodoncias”

OZDEMIR JALE.

Turkia, 2009.

Fuente: Scimago Journal & Country Rank.

Resumen: Este estudio se realizó en cultivos de células in vitro de animales de experimentación (riñones de monos). Se observaron cambios morfológicos en las células con grados de toxicidad. Se observó una toxicidad menor en concentraciones puras de hidróxido de calcio en comparación con el fosfato tricalcico. Así mismo se apreció una mejor biocompatibilidad del hidróxido de calcio en relación al fosfato tricalcico.

Análisis de enfoque: Dicho antecedente difiere del presente estudio en cuanto a la población de estudio, siendo células de riñones de monos en el antecedente investigativo y células de pulpa dental humana en el presente estudio. En ambos casos se evalúan viabilidad celular y la toxicidad de las células. También ambos estudian al Hidróxido de Calcio.

3.4. “Efecto de *Uncaria tomentosa*(Uña de gato)sobre la población y activación de células dendríticas en sangre periférica de pacientes con artritis reumatoidea.”

CÉSAR NÚÑEZ PONCE, IVÁN LOZADA-REQUENA

Lima, 2008

Fuente: Acta Med Per 25(3) 2008

Resumen: En este estudio se ensayó la capacidad de *Uncaria tomentosa* (Uña de Gato), una planta peruana con propiedades inmunomoduladoras, sobre la población de células dendríticas circulantes y sobre la expresión de sus moléculas de maduración y coestimulación. Cuyo Objetivo fue evaluar la variación en la expresión de moléculas HLA-DR y CD86 en ambas subpoblaciones celulares expuestas a diferentes concentraciones de un extracto hidroalcohólico de UG con 5% de alcaloides oxindólicos pentacíclicos (UG-POA). Se evaluaron DC a partir de muestras de sangre periférica de pacientes con AR y adultos controles sanos, enfrentadas a diferentes concentraciones de UG. Las muestras fueron marcadas con anticuerpos monoclonales específicos, evaluadas por citometría de flujo y analizadas con el software Summit 4.3. Se observó, de manera dosis dependiente, una disminución en el porcentaje de DC mieloides (DCm) ($p < 0,05$) y una tendencia a incrementar el porcentaje de DC plasmacitoides (DCp).

Análisis de enfoque: Dicho antecedente se hace la evaluación de la *Uncaria tomentosa* respecto de las propiedades inmunomoduladoras, sobre la población de células dendríticas circulantes y sobre la expresión de sus moléculas de maduración y coestimulación en sangre periférica a diferentes concentraciones de *Uncaria tomentosa* a través de citometria de flujo y de anticuerpos monoclonales; a diferencia del presente estudio en el que se evaluará la acción de la *Uncaria Tomentosa* (Uña de Gato); y el MTA y el Hidróxido de Calcio a

través de diferentes técnicas de biología molecular, donde se evalúa la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental cultivadas en laboratorio para su evaluación, de pacientes clínicamente sanos a diferencia del antecedente que los pacientes presentan artritis reumatoidea.

3.5. “Estudio de la respuesta tisular a una asociación experimental versus cemento convencional.”

JUAN PABLO GUTIERREZ LARA

Lima, 2008

Fuente: TESIS DIGITALES UNMSM

Resumen: El presente estudio evaluó la biocompatibilidad de un cemento a base de la asociación *Uncaria tomentosa* willd D.C. e hidróxido de calcio, así como de un cemento tipo Grossman–Endofil. Utilizaron 37 ratas albinas raza Holdzman, masculinos de tres meses de edad, de 300 gr de peso aprox., un animal fue sacrificado sin colocarle ningún implante para evaluar la anatomía normal de las ratas. Las demás fueron divididas en 3 grupos: A o control, con implante vacío; B con el cemento asociación; C con el cemento tipo Grossman. A cada animal se le colocaron 2 implantes con el material a evaluar, uno a cada lado del lomo. Los animales fueron sacrificados luego de periodos de 1,3,7 y 21 días. Se demostró que en los dos primeros periodos los cementos produjeron una inflamación de tipo aguda, y en los últimos periodos una inflamación tipo crónica. Sin embargo el grupo B mostro menos niveles de inflamación y en el último periodo se observaron muestras de reacción tisular fibroblástica notoria. Produciéndose así una respuesta histológica favorable.

Análisis de enfoque: En el antecedente se evaluó la reacción tisular fibroblástica, teniendo como parámetros los diferentes grados de inflamación del tejido en contacto con los implantes de la asociación *Uncaria tomentosa* willd D.C. e hidróxido de calcio, así como de un cemento tipo Grossman–Endofil, donde el cemento a base de *Uncaria tomentosa* mostro menor grado de inflamación y al término de la evaluación una reacción tisular notoria lo que da a conocer su poder reparativo y regenerativo celular, en el presente estudio

también se evalúa y se compara sus propiedades frente a MTA y Hidróxido de calcio, q son materiales empleados en recubrimientos pukpares directos; todo esto a través diferentes técnicas de biología molecular después de haber realizado el cultivo de células de la pulpa dental, que a diferencia del antecedente se realizó en ratas albinas raza Holdzman.

3.6. “Desarrollo de la Uncaria tomentosa como material dental. Determinación de pH y degradación.”

ESTHER LUMINOSA SOBERANES DE LA FUENTE, GUADALUPE
CEREZO MELLANO.

Primavera, 2006

Fuente: Revista ORAL año 7, número 21, pg. 321-325.

Resumen: El presente estudio evaluó su uso de la UT como material de recubrimiento pulpar directo, para lo cuál se procedió a elaborar un material de recubrimiento pulpar a base de Uncaria tometnosa; sometido a diversas pruebas de laboratorio tales como: determinación de pH, fraguado y solubilidad o degradación, se obtuvo como resultado una muestra definitiva de consistencia homogénea, de fácil manipulación, con un tiempo de fraguado final de 9 minutos, pH alcalino y poco soluble en medio acuoso, características favorables para su aplicación clínica y exitosa dentro del campo de la estomatología.

Análisis de enfoque: El presente antecedente evaluó las propiedades de la Uncaria tomentosa como recubrimiento pulpar directo en el pH, , fraguado y solubilidad o degradación del material cementante a base de Uncaria tomentosa, donde se obtuvo buenos resultados a los 9 minutos de aplicado al material a aves de Uncaria tomentosa, en tanto que en el presente estudio se evaluará el efecto de la Uncaria tomentosa sobre las células de la pulpa dental a través de técnicas biolmoleculares para analizar dichos efectos; y a la vez comparándolos con materiales que se emplean como protectores pulpares directos.

4. OBJETIVOS

4.1. Determinar el efecto in vitro Uncaria tomentosa (uña de gato) en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental.

- 4.2. Evaluar el efecto in vitro del MTA en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental.
- 4.3. Indicar el efecto in vitro del Hidróxido de calcio en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental.
- 4.4. Precisar cuál de los 3 productos influye más en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental.

5. HIPÓTESIS

Dado que la *Uncaria tomentosa* (uña de gato) posee propiedades inmunoestimulantes; aumentando la actividad celular de macrófagos, neutrofilos, granulocitos y aumentando el número de linfocitos, así como propiedades antiinflamatorias, antimutágena, citostática. Responsables de ejercer un efecto potencializador a nivel bioquímico logrando una reducción del proceso inflamatorio lo que le confiere una capacidad antiinflamatoria y cicatrizante. Además se encargan de inhibir y/o disminuir los efectos desencadenados por los radicales libres y compuestos oxidantes confiriéndole propiedades antioxidantes, inmunomoduladora y regenerativa.

Y dado que el MTA es un material biocompatible, menos citotóxico, que estimula de manera importante la proliferación de cementoblastos y crea condiciones ideales para las células encargadas de varios procesos regenerativos, formando puentes calcificados; así como el Hidróxido de calcio es un material biocompatible que actúa directamente sobre el tejido pulpar promoviendo necrosis superficial como consecuencia de su elevado pH, con capacidad de inducción de neoformación de tejido mineralizado para favorecer la formación de dentina reparadora, y brindar protección pulpar contra estímulos térmicos y eléctricos, además de presentar propiedades antimicrobianas, y ambos empleados como agente de recubrimiento pulpar directo.

Es probable que la *Uncaria tomentosa* (uña de gato) sea más efectiva que el MTA y el Hidróxido de calcio en la Viabilidad celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental

III. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

1. TÉCNICAS, INSTRUMENTOS Y MATERIALES DE VERIFICACIÓN

1.1. Técnica

Se empleará dos técnicas: la observación experimental citológica y genética para recoger información de las variables Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y Integridad del ADN, respectivamente; conforme se esquematiza a continuación:

VARIABLES INVESTIGATIVAS	TECNICA	INSTRUMENTO
Viabilidad celular	Observación experimental Citológica	Documental (Ficha de observación experimental)
Morfología Nuclear	Observación experimental Citológica	
Integridad del ADN	Observación experimental Molecular	

El procedimiento para efectivizar la técnica consistirá en lo siguiente:

a) Obtención del Extracto de *Uncaria tomentosa* (uña de gato)

a.1. Extracto de *Uncaria tomentosa* al 20%

- Se tomó 20 gr de la materia vegetal pulverizada *Uncaria tomentosa* (uña de gato) y se llevó a un equipo de extracción a reflujo, donde se

agregó 100ml de etanol a 70° GL y se llevó a 60°C durante 4 horas, sin que incidiera la luz en el extracto.

- Posteriormente se enfrió y se filtró el extracto.
- Luego se llevó a fiola de 100ml y se enrazó a este volumen con alcohol de 70°GL.
- Finalmente se envasó en frasco de vidrio ámbar con tapa hermética para su uso.

a.2. Extracto de *Uncaria tomentosa* al 20% (concentrado)

- Se coloca en un tubo eppendorf 1ml del extracto al 20% y se coloca el tubo en la máquina Temp-block module Heater para poder concentrar la dosis, mediante evaporación del contenido de etanol, hasta llegar a la mitad del volumen colocado ósea a 0.5ml.

b) Preparación de las soluciones y medios de cultivo

- 1. Tripsina:** se prepara una tripsina al 2.5%, se mezcla 0.25gr de tripsina en 10ml de agua bidestilada en un tubo de ensayo.
- 2. Medio de cultivo RPMI 1640:** (Rosswel Park Memorial Institute), se coloca el contenido total del sobre de RPMI suplementado con 1lt de agua bidestilada y con antibiótico: gentamicina (40ml)
- 3. Medio de cultivo con suero bovino:** se coloca en un frasco de cultivo celular 40ml de RPMI y 10ml de suero bovino.

c) Toma de las muestras

- Una vez extraída la pieza dentaria, se procede a realizar la apertura en el diente con la ayuda de la pieza de mano y con bastante irrigación, y se extirpa la pulpa dental con un tiranervios.
- Después se coloca en un frasco estéril con suero fisiológico y Gentamicina, (a una dosis de 8ml para 1 Litro de suero fisiológico), esto con el fin de evitar y prevenir la contaminación del tejido pulpar.

c.1. Traslado de la muestra al laboratorio

- Luego esta muestra se traslada al laboratorio para su cultivo con diferentes estímulos.

c.2. Tratamiento de las muestras

- Cada muestra recibirá el influjo de diferentes estímulos.

d) Obtención de células de la pulpa dental

- Se trabaja en una cámara especial de flujo laminar.
- Primero se corta la muestra de la pulpa dental con una tijera estéril para obtener pedazos más pequeños y así poder obtener las células.
- Los pedazos de muestra de pulpa dental se colocan en tubos eppendorf junto con 2ml de Triple Express (Gibco) y se lleva a incubación en la cámara de CO₂ al 5% a 37° C por 5 minutos.
- Luego colocamos el tubo eppendorf en el Vortex Mixer por 15 segundos para desprender las células, esté se centrifuga a alta velocidad por 10 segundos.
- Luego retirar el sobrenadante hasta quedarnos solo con el pellet (precipitado).
- Se agrega al tubo eppendorf con el pellet 1 ml del medio RPMI y se pipetea para homogenizar la muestra, repitiendo dicho procedimiento hasta obtener 4 ml de suspensión celular (turbio).
- Posteriormente se hace el recuento celular con azul de tripan.

e) Incubación de las células de la pulpa dental con los diferentes estímulos

- Se procede a preparar el medio de cultivo, se coloca en un tubo de ensayo 20 ml de medio, 5 ml de suero bovino, 25 ul de gentamicina, 25 ml de ampicilina y los 4 ml de suspensión celular.
- Se procede a sembrar en las placas de cultivo celular, se coloca en cada pozo 350ul de la suspensión celular, utilizando pozos diferentes para cada tiempo de evaluación 4 para las 24 hrs., y 4 para las 48 hrs., luego de 4-6 hrs. se colocarán los estímulos en cada pozo.
- En cada pozo se coloca un estímulo diferente:
 - ✓ En el pozo N°1: se coloca 350ul de suspensión celular, 10ul de extracto de *Uncaria tomentosa* al 20%.
 - ✓ En el pozo N°2: se coloca 350ul de suspensión celular, 10ul MTA.
 - ✓ En el pozo N°3: se coloca 350ul de suspensión celular, 10ul Hidróxido de calcio.
 - ✓ En el pozo N°4: se coloca 350ul de suspensión celular y no se coloca ningún estímulo (Grupo Control).
- Hacemos el primer recuento celular correspondiente a las 0 horas.
- Luego se procede a incubar la placa en la cámara de CO₂ al 5% a 37° C, por 24 y 48 horas.
- Después se procede a evaluar la viabilidad celular al microscopio inverso de todos los tratamientos en diversos tiempos a las 24 y 48 horas, luego de observado se procede al pipeteo de cada pozo para homogenizar la muestra, y se coloca el contenido en un tubo de ensayo independiente para cada pozo.
- Se centrifugan los tubos de ensayo a 1800 rpm por 5 minutos, se retira el sobrenadante y nos quedamos con 1 ml, se pipetea bien y el contenido lo pasamos a un tubo Ependorf.

f) Determinación de la Viabilidad Celular

- Se homogeniza la suspensión mediante pipeteo de la suspensión celular (turbio).
- Se coloca 20 ul de suspensión y 20 ul de azul de tripan en un tubo Eppendorf, pipeteamos para homogenizar la mezcla, y se carga 20 ul en la cámara de Neubauer, para el recuento en el microscopio (40x)
- Para hacer el conteo se toman los datos de 4 campos de la cámara de Neubauer de cada campo se contabiliza el número de células viables y el número de células no viables (muertas). Las células teñidas de azul corresponden a las células muertas.
- Luego se saca la media o el promedio, y se multiplica el resultado por 160 000.

g) Evaluación de la Morfología Nuclear.

- Del mismo tubo Eppendorf de la suspensión se coloca 50 ul en cada pozo de la lámina de fijación, y se deja que fije por 20 minutos.
- Luego se retira el líquido de cada pozo, y se coloca 50 ul de formaldehído al 4 % con PBS (Buffer fosfato salino), y se coloca la lámina en cámara húmeda y se guarda en refrigeración.
- Cuando tenemos todas las láminas de fijación de 0, 24 y 48 horas se retiran de refrigeración y se retira absorbiendo el formaldehído de cada pozo, luego se lava con PBS en dos tiempos de 5 minutos cada uno.
- En la cámara húmeda se coloca 10 ul de colorante para núcleos (líquido HOECHST) y se deja por 10 minutos, luego se lava con PBS en dos tiempos de 5 minutos cada uno.
- Luego se coloca 10 ul de medio de montaje, y se coloca encima un cubre objetos y se seca el excedente, después se sellan los bordes del cubre objetos con esmalte, se coloca una gota de aceite de

inmersión en cada pozo para observar en el microscopio de inmunofluorescencia (100X).

h) Evaluación de la Integridad del ADN de las células de la pulpa dental

- El excedente del tubo Eppendorf se centrifuga a alta velocidad por 30 segundos, luego se retira el sobrenadante hasta quedarnos con el pellet.
- Después se coloca proteinasa 2 ul, para disolver las proteínas y se incuba en el Temp Block Heater a 65° C. Centrifugar a 5000 RPM por 5 minutos.
- Luego colocar los tubos en el Vortex Mixer para homogenizar la solución por 5 segundos.
- Luego se coloca en cada tubo Eppendorf 300 ul de Buffer de lisis y se pipetea para desprender y resuspender las células.
- Luego se colocan 2 ul de RNAsa a cada tubo Eppendorf esto con el fin de que no dañe el ADN, colocamos después en el Vortex Mixer 5 segundos, y luego centrifugamos por 5 minutos.
- Luego retiramos el sobrenadante, luego echamos DNAsa para homogenizar la suspensión celular, colocar en el Vortex Mixer por 5 segundos, y colocar los tubos Eppendorf en la maquina Blood Analyzer por 30 minutos a 38 °C, ya q a esta temperatura actúa el DNAsa.
- Colocar en cada tubo Eppendorf 500 ul de Isopropanol, el cual tiene que estar a temperatura baja, es decir frio, para que así pueda precipitar el ADN, y dejar por 30 minutos en la incubadora (Blood Analyzer), pasado el tiempo retiramos el Isopranoal y colocar en el refrigerador por 3 minutos.
- Luego sacar las muestras dela refrigeradora y colocar 150 ul de reactivo precipitador de proteínas y restos celulares. Colocar en el Vortex Mixer por 5 segundos.
- Luego se centrifuga por 5 minutos a 5000 RPM. En el sobrenadante se encuentra el ADN, y el pellet contiene restos celulares. después echar el

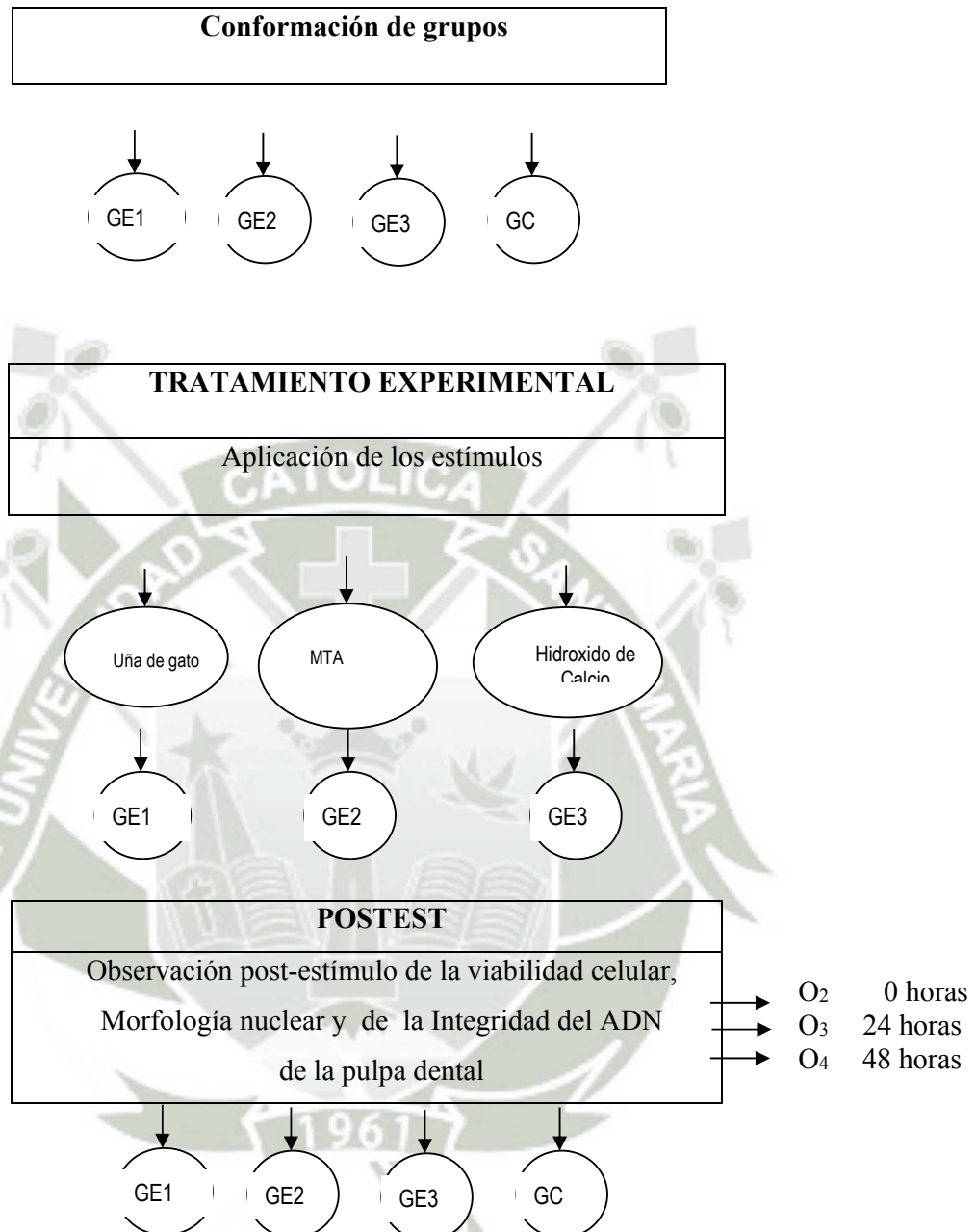
sobrenadante en otro tubo Eppendorf, y centrifugar por 5 minutos a 5000 RPM.

- Luego lavar con 1 ml de etanol al 75%, para sacar los residuos de Isopropanol, y que nos quede solo el ADN, luego centrifugar por 5 minutos a 5000RPM y retirar el sobrenadante.
- Colocar los tubos en la maquina Blood Analyzer a 37° C para que se evapore el resto del etanol, los tubos van con las tapas abiertas por 3 minutos.
- El ADN que queda se disuelve en 50ul de agua estéril, ya que el ADN es soluble en agua; luego eliminar el sobrenadante para finalmente quedarnos con el pellet. luego colocarlos en la maquina Blood Analyzer por 15 minutos, luego resuspender el pellet.
- Colocar en un papel biofilm 1 ul de buffer carga, por cada muestra, esto con el fin de que el ADN tenga peso y no flote en la cámara.
- Luego mezclarlo con 4 ul de la suspensión, se pipetea para homogenizar la mezcla y se carga los 5 ul en un carril de gel de agarosa al 1.5 %, y así sucesivamente para cada muestra:
 - Carril 1: marcador 3ul
 - Carril 2: control 5 ul
 - Carril 3: Uncaria tomentosa (uña de gato) 5ul
 - Carril 4: MTA 5ul
 - Carril 5: Hidróxido de calcio 5ul
- Dejar correr las muestras por 30 minutos.
- Luego se procede a visualizar los resultados en un transiluminador INVITROGEN

El diseño investigativo consiste en un diseño cuasi experimental multifactorial aleatorizado con Grupo Control sin Pretest, conforme al siguiente esquema básico:

GE ₁	X	O ₂	O ₃	O ₄
GE ₂	Y	O ₂	O ₃	O ₄
GE ₃	Z	O ₂	O ₃	O ₄
GC	-	O ₂	O ₃	O ₄

La diagramación operativa consiste:



COMPARACIONES

GRUPOS		GE1	GE2	GE3	GC
OBSERVACIONES					
POSTEST	0 hr	↔	↔	↔	↔
	24 hr	↔	↔	↔	↔
	48 hr	↔	↔	↔	↔

1.2. Instrumentos

a. Instrumento documental

Se utilizará un instrumento documental:

- Ficha de observación experimental.

Cuya estructura es la siguiente:

Mediciones	Tiempos	Variables	Items	Indicadores	Subitems
POSTEST	0 horas	Viabilidad celular	1	Inhibición	1.1
	24 horas			< 80 %	
	48 horas			Conservación ≥ 80%	1.2
	0 horas	Morfología Nuclear	2	Núcleo normal (esférico)	2.1
	24 horas			Núcleo apoptótico (vesiculoso)	2.2
	48 horas				
	0 horas	Integridad del ADN	3	Normal (banda única)	3.1
	24 horas			Apoptosis (banda en escalera)	3.2
	48 horas			Lisis (sin banda)	3.3

El modelo del instrumento figurará en los anexos del proyecto.

b. Instrumentos Mecánicos

- Unidad dental.
- Esterilizadora.
- Espejo bucal.
- Pinza para algodón.
- Tijera.
- Carpule.

- Elevadores.
- Forceps.
- Pieza de mano dental.
- Microscopio.
- Equipo de electroforesis.
- Cámara de Fuljo laminar
- Cámara de Neubauer
- Centrifugadora.
- Incubadora de CO₂.
- Vortex Mixer
- Máquina de Blood Analyzer.
- Máquina de electroforesis.
- Pipetas.
- Autoclave.
- Refrigeradora.
- Congeladora.
- Computadora.
- Calculadora.
- Cámara fotográfica.

1.3. Materiales

- Tubos eppendeford 1.5ml
- Frascos estériles
- Tubos de ensayo 13 x 60 mm
- Láminas portaobjetos
- Lámina cubreobjetos
- Placas de cultivo celular
- Azul de tripan
- Solución RPMI 1640
- Suero bovino
- Triple express GIBCO

- Agua bidestilada
- PBS (Bufer Fosfato Salino)
- Paraformaldehido al 4 % con PBS
- Botellas de cultivo celular.
- Tubos Falcon 15 ml
- Tubos Falcon 50 ml
- Cloruro de sodio.
- Alcohol comercial.
- Micropipetas o tips.
- Buffer de lisis.
- Proteinasa.
- RNAsa
- ADNasa
- Isopropanol
- Reactivo precipitador de proteínas.
- Colorante para nucleos.
- Aceite de inmersión.
- Medio de montaje.
- Etanol al 75%.
- Buffer de carga.
- Marcador de peso molecular.
- Extracto de Uncaria tomentosa (uña de gato) 20%.
- MTA
- Hidróxido de calcio
- Gel de agarosa.
- Filtros.
- Guantes.
- Barbijo.
- Lejía.
- Utilería de escritorio.

2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

2.1. Ubicación espacial

La investigación será realizada en 2 ámbitos específicos:

- a. **Ámbito clínico:** Clínica Odontológica particular para recoger las muestras microbiológicas.
- b. **Ámbito Laboratorial:** Laboratorio Biomol (Instituto Peruano de Biología Molecular) para analizar las muestras microbiológicas.

2.2. Ubicación temporal

a. Cronología

La investigación será realizada el semestre par del 2011.

b. Visión temporal

Se trata de una investigación prospectiva, porque la viabilidad celular, morfología nuclear y la estructura del ADN de la pulpa dental serán estudiadas del presente al futuro.

c. Corte temporal

Corresponde a una investigación longitudinal.

2.3. Unidades de estudio

- a. **Unidades de Estudio:** pulpa dental de piezas dentarias extraídas por motivos ortodóncicos.
- b. **Unidades de Análisis:** población de células de la pulpa dental
- c. **Opción:** Grupos
- d. **Manejo metodológico de las unidades de análisis**

d.1. Identificación de los grupos

Se trabajará con 3 grupos experimentales y un grupo control.

1. Grupo experimental 1 (GE₁): Recibirá el influjo de Uncaria tomentosa (uña de gato).
2. Grupo experimental 2(GE₂): Recibirá el influjo del MTA.

3. Grupo experimental 3(GE₃): Recibirá el influjo del Hidróxido de calcio.

4. Grupo Control (GC)

d.2. Control o igualación de los grupos

1. Criterios de inclusión

- Pulpas dentales sanas de dientes extraídos de pacientes de ambos sexos.
- Pulpas dentales de dientes extraídos de pacientes de 9 a 20 años.
- Pulpas dentales de dientes extraídos por razones ortodóncicas o quirúrgicas.
- Pulpas dentales de dientes extraídos de pacientes con consentimiento escrito.

2. Criterios de exclusión

- Pulpas dentales de dientes extraídos con afecciones hiperémicas, inflamatorias, infecciosas o necróticas.
- Pulpas dentales de dientes extraídos por otras razones: pulpitis, necrosis pulpar.
- Pulpas dentales de dientes extraídos de pacientes que están fuera del rango etáreo expresado
- Pulpas dentales sanas de dientes extraídos de pacientes sin consentimiento escrito.

d.3. Asignación de grupos

Se realizará una asignación aleatoria de las unidades de estudio a cada grupo experimental.

d.4. Tamaño de los grupos

$$n = \frac{Z^2_{\alpha} \cdot P (1-P)}{i^2}$$

α : 0.05% = 5%

Z_{α} : 1.96

P: 0.30 (tomado de los antecedentes investigativos)
Proporción esperada para las variables respuestas.

i: $\frac{W}{2} = 0.15$

W: 0.30 (tomado de los antecedentes investigativos)
Amplitud total del intervalo de confianza.

Muestra:

n = 36

GE1: 36 poblaciones de células de la pulpa dental

GE2: 36 poblaciones de células de la pulpa dental

GE3: 36 poblaciones de células de la pulpa dental

GC: 36 poblaciones de células de la pulpa dental

3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN

3.1. Organización

Antes de aplicar la ficha de observación experimental, se realizarán las siguientes actividades:

- Autorización del Director de la Clínica Odontológica particular.
- Coordinación con los Profesionales para su colaboración con el estudio.
- Formalización de los grupos.
- Prueba piloto.

3.2. Recursos

a. Recursos Humanos

Investigador: Mg. Giovanni López Huamán.

Colaboradores: Ph.D. Julio César Bernabé Ortiz

Dra. Jani Pacheco Aranibar

b. Recursos Físicos

Representados por las disponibilidades ambientales e infraestructurales de Clínica Odontológica particular y del Laboratorio BIOMOL (Instituto Peruano de Biología Molecular).

c. Recursos económicos

El presupuesto para la recolección y otras tareas investigativas será ofertado por el investigador.

d. Recurso Institucional

Clínica Odontológica particular.

Laboratorio BIOMOL.

3.3. Prueba Piloto

- a. **Tipo de prueba:** incluyente
- b. **Muestra piloto:** 5% de cada grupo
- c. **Recolección piloto:** Administración preliminar de los instrumentos a las unidades piloto.

4. ESTRATEGIA PARA MANEJAR LOS RESULTADOS

4.1. Plan de procesamiento o sistematización

Se empleará un procesamiento manual y computarizado, conforme a las siguientes operaciones:

a. Clasificación

La información obtenida a través de la ficha de observación será ordenada en una matriz de registro y control, que figurará en los anexos de la tesis.

b. Recuento

El conteo será básicamente por paloteo apelando a matrices de conteo.

c. Tabulación

Se utilizarán tablas para satisfacer el requerimiento de la fase posttest de los grupos (GE₁, GE₂, GE₃, GC).

d. Graficación

Se confeccionarán gráficas de barras dobles en base a la naturaleza de los datos expuestos en las tablas.

4.2. Plan de análisis

a. Tratamiento estadístico

Se utilizará un análisis cuantitativo, cuyo tratamiento estadístico se presenta a continuación:

VARIABLES RESPUESTA	CARÁCTER ESTADISTICO	ESCALA DE MEDICION	ESTADISTICA DESCRIPTIVA	PRUEBAS ESTADISTICAS
Viabilidad celular	Cuantitativa	De Razón	Medidas de tendencia central	ANOVA Dunett
Morfología Nuclear	Cualitativa	Nominal	Frecuencias absolutas y porcentuales	Chi cuadrado.
Integridad del ADN	Cualitativa	Nominal		

b. Metodología interpretativa

Las tablas serán interpretados jerarquizando los datos, comparándolos entre si y apreciándolos críticamente.

c. Modalidades interpretativas

Se utilizará una interpretación subsecuente a cada tabla y una discusión en una sección aparte.

d. Niveles interpretativos

Se utilizarán niveles exclusivamente explicativos.

e. Operaciones interpretativas.

Se apelará al análisis con la síntesis, la deducción y la inducción.

IV. CRONOGRAMA DE TRABAJO

TIEMPO ACTIVIDADES		2011															
		JULIO - OCTUBRE				NOVIEMBRE				DICIEMBRE							
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4				
RECOLECCION DE DATOS		X	X	X	X												
ESTRUCTURACION DE RESULTADOS	Procesamiento					X	X	X									
	Análisis																
INFORME FINAL								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X



**ANEXO N°2
MODELO DEL
INSTRUMENTO**

FICHA DE OBSERVACIÓN EXPERIMENTAL

N°.....

1. VIABILIDAD CELULAR

GRUPO	VIABILIDAD CELULAR					
	0 HR		24 HR		48 HR	
	< 80%	≥ 80%	< 80%	≥ 80%	< 80%	≥ 80%
GE1 <i>Uncaria tomentosa</i>						
GE2 MTA						
GE3 Hidróxido de calcio						
GC						

Valores obtenidos		
Viabilidad celular	Ausencia	< 80% de viabilidad celular
	Presencia	≥ 80% de viabilidad celular

2.- MORFOLOGÍA NUCLEAR

GRUPO	MORFOLOGÍA NUCLEAR					
	0 HR		24 HR		48 HR	
	esférico	vesiculososo	esférico	vesiculosos	esférico	vesiculososo
GE1 <i>Uncaria tomentosa</i>						
GE2 MTA						
GE3 Hidróxido de calcio						
GC						

Valores obtenidos		
Morfología nuclear	esférico	Núcleo normal
	vesiculososo	Núcleo apoptótico

3.- INTEGRIDAD DEL ADN

GRUPO	INTEGRIDAD DEL ADN					
	24 HR			48 HR		
	Conservación	Fragmentación	Hidrolisis	Conservación	Fragmentación	Hidrólisis
GE1 <i>Uncaria tomentosa</i>						
GE2 MTA						
GE3 Hidróxido de calcio						
GC						

Valores obtenidos		
Integridad del ADN	Normal Conservación	banda única
	Apoptosis Fragmentación	banda en escalera
	lisis	sin banda



**ANEXO N°3
MATRIZ DE REGISTRO
Y CONTROL**

MATRIZ DE REGISTRO Y CONTROL

“Efecto in Vitro de Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental en piezas dentarias extraídas, Clínica Odontológica Particular, dentarias extraídas, Clínica Odontológica Particular, Arequipa 2011”

GRUPO	viabilidad celular											
	GE1			GE2			GE3			GC		
UE	GE1/ 0 Hrs	GE1/ 24 Hrs	GE1/48 Hrs	GE2/0 Hrs	GE2/24 Hrs	GE2/ 48 Hrs	GE3/ 0 Hrs	GE3/24 Hrs	GE3/ 48 Hrs	GC/ 0 Hrs	GC/24 Hrs	GC/48 Hrs
1	89.00	93.50	96.10	80.10	76.60	72.60	79.60	76.40	60.80	88.30	82.10	80.40
2	89.60	92.70	97.90	79.20	75.30	71.40	80.20	75.40	61.50	88.40	83.40	80.50
3	87.50	91.30	95.50	80.50	76.40	72.60	79.40	75.30	62.40	86.50	79.60	77.90
4	89.30	94.50	96.80	79.60	75.80	73.40	80.70	76.70	61.20	86.80	82.30	80.30
5	89.60	94.70	97.20	85.50	81.40	78.20	83.60	80.30	62.40	88.70	83.40	80.90
6	88.30	94.60	96.80	84.30	80.60	77.50	83.90	80.10	63.50	88.40	83.80	80.00
7	89.20	94.70	97.50	80.80	76.50	73.60	80.70	76.30	60.60	88.60	83.70	81.40
8	89.10	93.40	95.70	84.30	80.60	77.60	83.90	80.60	62.20	88.10	83.90	81.60
9	89.70	94.20	97.30	83.30	79.80	76.30	82.10	76.60	63.70	87.90	82.50	80.50
10	88.00	91.20	95.80	80.60	79.40	75.40	79.80	76.40	60.40	86.60	79.60	77.30
11	90.50	91.50	96.50	84.60	80.50	76.50	83.40	80.60	62.50	88.40	83.50	81.50
12	88.70	93.60	96.80	81.50	78.60	76.90	83.60	80.20	61.00	87.70	82.90	80.40
13	88.30	91.80	95.90	84.90	81.50	76.80	82.70	78.60	62.60	88.30	83.30	81.50
14	88.40	93.40	96.60	84.80	80.60	77.10	83.00	80.60	62.40	86.80	83.20	80.50
15	89.60	94.50	97.20	80.60	77.20	73.80	80.60	76.20	61.80	86.70	83.40	80.90
16	88.80	94.70	97.90	85.60	81.70	78.50	83.00	80.00	63.50	87.30	82.60	80.30
17	88.30	93.60	96.40	82.20	78.80	73.90	80.00	75.30	63.70	87.50	83.40	80.70
18	89.90	93.80	95.80	85.10	83.60	78.60	83.10	80.50	63.30	86.20	82.80	80.50
19	89.10	94.70	96.80	83.30	80.60	76.80	82.70	80.10	62.50	88.40	83.60	80.30
20	87.50	91.70	95.20	85.70	81.40	77.80	83.70	80.00	60.70	88.10	83.70	81.20
21	89.30	93.30	95.30	82.40	79.90	76.20	80.30	75.30	61.90	86.70	79.80	77.50
22	88.40	94.20	96.40	80.50	76.90	73.20	81.40	75.00	60.10	89.80	85.50	80.40
23	87.80	92.70	96.80	84.70	81.90	78.40	82.60	75.40	61.80	88.50	83.60	80.30
24	89.30	93.70	97.70	79.40	76.80	72.80	83.70	75.60	62.50	87.40	83.20	80.80
25	87.40	92.50	96.80	83.40	80.50	76.50	80.10	76.00	60.40	88.60	83.10	81.60
26	88.60	92.90	96.70	85.60	81.60	77.30	82.80	80.10	62.30	86.40	82.90	80.70
27	88.90	94.50	96.40	84.70	80.80	76.20	79.90	75.30	61.20	88.30	83.60	78.90
28	90.50	93.30	97.90	82.10	79.50	76.30	79.60	76.10	62.50	88.70	83.50	81.60
29	88.10	94.20	97.10	84.80	81.60	78.50	82.70	80.30	62.70	89.30	83.00	81.60
30	87.20	91.70	95.30	82.60	79.70	76.90	80.10	75.70	63.50	87.80	83.50	81.70
31	88.30	92.80	95.20	80.30	77.80	74.10	83.50	80.20	60.30	86.60	79.80	77.90
32	88.70	94.40	97.50	85.20	82.30	78.30	83.10	80.50	61.80	88.20	82.50	81.60
33	89.60	92.30	96.50	81.30	78.60	74.30	79.30	76.00	63.30	86.70	83.40	80.50
34	89.90	93.80	95.60	85.70	82.50	78.30	83.70	80.00	62.40	85.30	80.30	77.60
35	88.30	94.70	96.40	79.30	76.80	73.40	81.30	76.60	62.40	86.20	79.90	77.50
36	89.40	94.50	97.90	84.40	81.20	77.60	82.60	80.00	60.90	88.40	82.60	80.30

Leyenda:

GE1 = Uncaria tomentosa	GE2 = MTA	GE3 = Hidroxido de calcio	GC = Grupo Control
-------------------------	-----------	---------------------------	--------------------

MATRIZ DE REGISTRO Y CONTROL

"Efecto in Vitro de Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental en piezas dentarias extraídas, Clínica Odontológica Particular, Arequipa 2011"

GRUPO	MORFOLOGIA NUCLEAR																							
	GE1						GE2						GE3						GC					
	0 Hrs		24 Hrs		48 Hrs		0 Hrs		24 Hrs		48 Hrs		0 Hrs		24 Hrs		48 Hrs		0 Hrs		24 Hrs		48 Hrs	
UE	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico	Normal	Apoptotico		
1	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
2	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
3	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
4	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
5	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
6	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
7	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
8	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
9	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
10	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
11	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
12	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
13	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
14	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
15	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
16	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
17	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
18	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
19	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
20	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
21	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
22	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
23	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
24	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
25	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
26	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
27	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
28	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
29	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
30	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
31	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
32	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
33	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
34	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
35	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			
36	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X			

Legenda:

GE1 = Uncaria tomentosa

GE2 = MTA

GE3 = Hidroxido de calcio

GC = Grupo Control



MATRIZ DE REGISTRO Y CONTROL
 "Efecto in Vitro de Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental en piezas dentarias extraídas, Clínica Odontológica Particular, Arequipa 2011"

GRUPO	ESTRUCTURA DEL ADN																								
	GE1						GE2						GE3						GC						
	24 hrs			48 hrs.			24 hrs			48 hrs.			24 hrs			48 hrs.			24 hrs			48 hrs.			
UE	Normal	Apoptotico	Lisis	Normal	Apoptotico	Lisis	Normal	Apoptotico	Lisis	Normal	Apoptotico	Lisis	Normal	Apoptotico	Lisis	Normal	Apoptotico	Lisis	Normal	Apoptotico	Lisis	Normal	Apoptotico	Lisis	
1	X			X				X						X				X				X			
2	X			X				X						X				X				X			
3	X			X				X						X				X				X			
4	X			X				X						X				X				X			
5	X			X				X						X				X				X			
6	X			X				X						X				X				X			
7	X			X				X						X				X				X			
8	X			X				X						X				X				X			
9	X			X				X						X				X				X			
10	X			X				X						X				X				X			
11	X			X				X						X				X				X			
12	X			X				X						X				X				X			
13	X			X				X						X				X				X			
14	X			X				X						X				X				X			
15	X			X				X						X				X				X			
16	X			X				X						X				X				X			
17	X			X				X						X				X				X			
18	X			X				X						X				X				X			
19	X			X				X						X				X				X			
20	X			X				X						X				X				X			
21	X			X				X						X				X				X			
22	X			X				X						X				X				X			
23	X			X				X						X				X				X			
24	X			X				X						X				X				X			
25	X			X				X						X				X				X			
26	X			X				X						X				X				X			
27	X			X				X						X				X				X			
28	X			X				X						X				X				X			
29	X			X				X						X				X				X			
30	X			X				X						X				X				X			
31	X			X				X						X				X				X			
32	X			X				X						X				X				X			
33	X			X				X						X				X				X			
34	X			X				X						X				X				X			
35	X			X				X						X				X				X			
36	X			X				X						X				X				X			

Leyenda:

GE1 = Uncaria tomentosa	GE2 = MTA	GE3 = Hidroxido de calcio	GC = Grupo Control
-------------------------	-----------	---------------------------	--------------------





**ANEXO N°4
CÁLCULOS
ESTADÍSTICOS**

PRUEBA ANOVA VIABILIDAD CELULAR

1. 0 HORAS

1.1. Hipótesis Estadísticas

Unilateral $H_0: \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \bar{X}_4$

$H_1: \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2 \neq \bar{X}_3 \neq \bar{X}_4$

1.2. Cálculo de la Gran media

$$\bar{X} = \frac{n_1(\bar{x}_1) + n_2(\bar{x}_2) + n_3(\bar{x}_3) + n_4(\bar{x}_4)}{n_1 + n_2 + n_3 + n_4}$$

$$\bar{X} = \frac{36(88.84) + 36(82.86) + 36(81.84) + 36(87.68)}{36 + 36 + 36 + 36} = 85.31$$

1.3. Cuadrado de la Media entre grupos: MSA

$$MSA = \frac{\sum n_j (\bar{x}_j - \bar{x})^2}{j - 1}$$

$$MSA = \frac{36(88.84 - 85.31)^2 + 36(82.86 - 85.31)^2 + 36(81.84 - 85.31)^2 + 36(87.68 - 85.31)^2}{4 - 1} = 433.44$$

1.4. Cuadrado del Error de la Media: MSE

$$MSE = \frac{\sum (n_j - 1) S^2}{\sum (n_j - 1)} = \frac{35(0.84)^2 + 35(2.21)^2 + 35(1.60)^2 + 35(1.02)^2}{140} = 2.30$$

1.5. Razón de F

$$F = \frac{MSA}{MSE} = \frac{433.44}{2.30} = 188.45$$

1.6. Grados de Libertad

$$G1 = \frac{j - 1}{n(j - 1)}$$

$$G1 = \frac{3}{140}$$

1.7. $\alpha: 0.05$

1.8. Valor Crítico

$$VC = \frac{2.60}{3.84}$$

$$\text{Valor crítico interpolado} = \frac{2.60 + 3.84}{2} = 3.22$$

1.9. Conclusión

$$F(188.45) > VC(3.22) \quad \Rightarrow \quad \begin{array}{l} H_0 \text{ Se rechaza} \\ H_1 \text{ Se acepta} \\ H_1: \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2 \neq \bar{X}_3 \neq \bar{X}_4 \end{array}$$

$p < 0.05$

2. 24 HORAS

2.1. Hipótesis Estadísticas

$$\text{Unilateral } H_0: \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \bar{X}_4$$

$$H_1: \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2 \neq \bar{X}_3 \neq \bar{X}_4$$

2.2. Cálculo de la Gran media

$$\bar{X} = \frac{n_1(\bar{x}_1) + n_2(\bar{x}_2) + n_3(\bar{x}_3) + n_4(\bar{x}_4)}{n_1 + n_2 + n_3 + n_4}$$

$$\bar{X} = \frac{36(93.43) + 36(79.59) + 36(77.9) + 36(82.69)}{36 + 36 + 36 + 36} = 83.40$$

2.3. Cuadrado de la Media entre grupos: MSA

$$MSA = \frac{\sum n_j(\bar{x}_j - \bar{x})^2}{j - 1}$$

$$MSA = \frac{36(93.43 - 83.40)^2 + 36(79.59 - 83.40)^2 + 36(77.90 - 83.40)^2 + 36(82.69 - 83.40)^2}{4 - 1} = 1750.44$$

2.4. Cuadrado del Error de la Media: MSE

$$MSE = \frac{\sum (n_j - 1) S^2}{\sum (n_j - 1)} = \frac{35(1.11)^2 + 35(2.18)^2 + 35(2.23)^2 + 35(1.42)^2}{140} = 3.24$$

2.5. Razón de F

$$F = \frac{MSA}{MSE} = \frac{1750.44}{3.24} = 540.26$$

2.6. Grados de Libertad

$$GI = \frac{j - 1}{n(j - 1)}$$

$$GI = \frac{3}{140}$$

2.7. α : 0.05

2.8. Valor Crítico

$$VC = \frac{2.60}{3.84}$$

$$\text{Valor crítico interpolado} = \frac{2.60 + 3.84}{2} = 3.22$$

2.9. Conclusión

$$F(540.26) > VC(3.22)$$

$$p < 0.05$$



Ho Se rechaza

H₁ Se acepta

H₁: $\bar{x}_1 \neq \bar{x}_2 \neq \bar{x}_3 \neq \bar{x}_4$

3. 48 HORAS

3.1. Hipótesis Estadísticas

$$\text{Unilateral } H_0: \bar{X}_1 = \bar{X}_2 = \bar{X}_3 = \bar{X}_4$$

$$H_1: \bar{X}_1 \neq \bar{X}_2 \neq \bar{X}_3 \neq \bar{X}_4$$

3.2. Cálculo de la Gran media

$$\bar{X} = \frac{n_1(\bar{x}_1) + n_2(\bar{x}_2) + n_3(\bar{x}_3) + n_4(\bar{x}_4)}{n_1 + n_2 + n_3 + n_4}$$

$$\bar{X} = \frac{36(96.59) + 36(75.93) + 36(62.02) + 36(80.25)}{36 + 36 + 36 + 36} = 78.70$$

3.3. Cuadrado de la Media entre grupos: MSA

$$MSA = \frac{\sum n_j(\bar{x}_j - \bar{x})^2}{j - 1}$$

$$MSA = \frac{36(96.59 - 78.70)^2 + 36(75.93 - 78.70)^2 + 36(62.02 - 78.70)^2 + 36(80.25 - 78.70)^2}{4 - 1} = 7300.08$$

3.4. Cuadrado del Error de la Media: MSE

$$MSE = \frac{\sum (n_j - 1) S^2}{\sum (n_j - 1)} = \frac{35(0.82)^2 + 35(2.11)^2 + 35(1.06)^2 + 35(1.33)^2}{140} = 2.00$$

3.5. Razón de F

$$F = \frac{MSA}{MSE} = \frac{7300.08}{2.00} = 3650.04$$

3.6. Grados de Libertad

$$GI = \frac{j - 1}{n(j - 1)}$$

$$GI = \frac{3}{140}$$

3.7. α : 0.05

3.8. Valor Crítico

$$VC = \frac{2.60}{3.84}$$

$$\text{Valor crítico interpolado} = \frac{2.60 + 3.84}{2} = 3.22$$

3.9. Conclusión

$$F(3650.04) > VC(3.22)$$

$$p < 0.05$$



Ho Se rechaza

H₁ Se acepta

H₁: $\bar{X}_1 \neq \bar{X}_2 \neq \bar{X}_3 \neq \bar{X}_4$

PRUEBA DE ESPECIFICIDAD DE DUNETT VIABILIDAD CELULAR

1. 0 HORAS

1.1. Desviación estándar de los promedios

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2 (MSE)}{R}}$$

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2 (2.30)}{36}}$$

$$S_{\bar{x}} = 0.36$$

1.2. Cálculo de las amplitudes estudiantizadas significativas

AES:	2.58
α :	0.05
N° de tratamiento:	4 con grupo control

1.3. Cálculo de las amplitudes límites de significancia

$$ALS = AES * S_{\bar{x}} = 2.58 * 0.36$$

$$ALS = 0.93$$

1.4. Ordenamiento de promedios

Tratamiento	\bar{x}
GE1 (a)	88.84
GC (d)	87.68
GE2 (b)	82.86
GE3 (c)	81.84

1.5. Conformación de pares

a-b	5.58	>	0.93 = SS
a-c	7.00	>	0.93 = SS
a-d	5.27	>	0.93 = SS
b-c	1.02	>	0.93 = SS
b-d	4.82	>	0.93 = SS
c-d	5.84	>	0.93 = SS

2. 24 HORAS

2.1. Desviación estándar de los promedios

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2 \text{ (MSE)}}{R}}$$

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2 \text{ (3.24)}}{36}}$$

$$S_{\bar{x}} = 0.42$$

2.2. Cálculo de las amplitudes estudiantizadas significativas

AES: 2.58
 α : 0.05
 N° de tratamiento: 4 con grupo control

2.3. Cálculo de las amplitudes límites de significancia

$$ALS = AES * S_{\bar{x}} = 2.58 * 0.42$$

$$ALS = 1.08$$

2.4. Ordenamiento de promedios

Tratamiento	\bar{x}
GE1 (a)	93.43
GC (d)	82.69
GE2 (b)	79.59
GE3 (c)	77.9

2.5. Conformación de pares

a-b	13.84	>	1.08 = SS
a-c	15.53	>	1.08 = SS
a-d	10.74	>	1.08 = SS
b-c	1.69	>	1.08 = SS
b-d	3.10	>	1.08 = SS
c-d	4.79	>	1.08 = SS

3. 48 HORAS

3.1. Desviación estándar de los promedios

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2 \text{ (MSE)}}{R}}$$

$$S_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{2 \text{ (2.00)}}{36}}$$

$$S_{\bar{x}} = 0.33$$

3.2. Cálculo de las amplitudes estudiantizadas significativas

AES: 2.58
 α : 0.05
 N° de tratamiento: 4 con grupo control

3.3. Cálculo de las amplitudes límites de significancia

$$ALS = AES * S_{\bar{x}} = 2.58 * 0.33$$

$$ALS = 0.85$$

3.4. Ordenamiento de promedios

Tratamiento	\bar{x}
GE1 (a)	96.59
GC (d)	80.25
GE2 (b)	75.93
GE3 (c)	62.02

3.5. Conformación de pares

a-b	20.66	>	0.85 = SS
a-c	34.57	>	0.85 = SS
a-d	16.34	>	0.85 = SS
b-c	13.91	>	0.85 = SS
b-d	4.32	>	0.85 = SS
c-d	18.23	>	0.85 = SS

PRUEBA CHI CUADRADO MORFOLOGÍA NUCLEAR

1. 0 HORAS

1.1. Hipótesis Estadísticas

Unilateral

Ho: UT < MTA

Hi: UT > MTA

UT < HC

UT > HC

1.2. Tabla de Contingencia 4x2

FACTORES	0 HR		TOTAL
	NUCLEO NORMAL (NN)	NUCLEO APOPTOTICO (NA)	
UNCARIA TOMENTOSA	36	0	36
MTA	32	4	36
HIDRÓXIDO DE CALCIO	30	6	36
CONTROL	36	0	36
TOTAL	134	10	144

1.3. Categorías y Calculo de la Prueba Chi Cuadrado

Categoría	O	E	(O-E)	(O-E) ²	$\frac{X^2 = \sum(O-E)^2}{E}$
Uncaria Tomentosa + NN	36	33.5	2.5	6.25	0.19
Uncaria Tomentosa + NA	0	2.5	-2.5	6.25	2.5
MTA + NN	32	33.5	-1.5	2.25	0.07
MTA + NA	4	2.5	1.5	2.25	0.9
Hidróxido de Calcio + NN	30	33.5	-3.5	12.25	0.37
Hidróxido de Calcio + NA	6	2.5	3.5	12.25	4.9
Control + NN	36	33.5	2.5	6.25	0.19
Control + NA	0	2.5	-2.5	6.25	2.5
TOTAL	144		0		X ² = 11.62

1.4. Nivel de Significancia

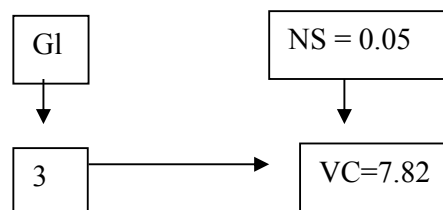
NS = 0.05

1.5. Grados de Libertad

Gl = (c-1) (f-1)

Gl = 3

1.6. Valor Crítico



1.7. Norma

$X^2 \geq VC$ Se rechaza H_0
 Se acepta H_1 (UT > MTA)
 (UT > HC)

$X^2 < VC$ Se acepta H_0 (UT > MTA)
 (UT > HC)

1.8. Conclusión

$$X^2(11.62) > VC(7.82)$$

$$p < 0.05$$

Entonces: Se acepta H_1
 Se rechaza H_0

2. 24 HORAS

2.1. Hipótesis Estadísticas

Unilateral

Ho: UT < MTA

Hi: UT > MTA

UT < HC

UT > HC

2.2. Tabla de Contingencia 4x2

FACTORES	0 HR		TOTAL
	NUCLEO NORMAL (NN)	NUCLEO APOPTOTICO (NA)	
UNCARIA TOMENTOSA	36	0	36
MTA	18	18	36
HIDRÓXIDO DE CALCIO	16	20	36
CONTROL	30	6	36
TOTAL	100	44	144

2.3. Categorías y Calculo de la Prueba Chi Cuadrado

Categoría	O	E	(O-E)	(O-E) ²	$\frac{X^2 = \sum(O-E)^2}{E}$
Uncaria TomENTOSA + NN	36	25	11	121	4.84
Uncaria TomENTOSA + NA	0	11	-11	121	11
MTA + NN	18	25	-7	49	1.96
MTA + NA	18	11	7	49	4.45
HidrÓxido de Calcio + NN	16	25	-9	81	3.24
HidrÓxido de Calcio + NA	20	11	9	81	7.36
Control + NN	30	25	5	25	1
Control + NA	6	11	-5	25	2.27
TOTAL	144	0			$X^2 = 36.12$

2.4. Nivel de Significancia

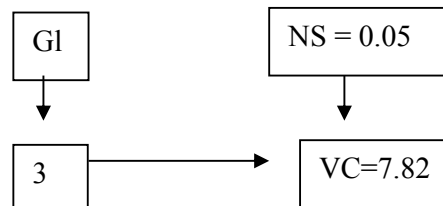
NS = 0.05

2.5. Grados de Libertad

$Gl = (c-1) (f-1)$

Gl = 3

2.6. Valor Crítico



2.7. Norma

$X^2 \geq VC$ Se rechaza H_0
 Se acepta H_1 ($UT > MTA$)
 ($UT > HC$)
 $X^2 < VC$ Se acepta H_0 ($UT > MTA$)
 ($UT > HC$)

2.8. Conclusión

$$X^2(36.12) > VC(7.82)$$

$$p < 0.05$$

Entonces: Se acepta H_1
 Se rechaza H_0

3. 48 HORAS

3.1. Hipótesis Estadísticas

Unilateral

Ho: UT < MTA

Hi: UT > MTA

UT < HC

UT > HC

3.2. Tabla de Contingencia 4x2

FACTORES	0 HR		TOTAL
	NUCLEO NORMAL (NN)	NUCLEO APOPTOTICO (NA)	
UNCARIA TOMENTOSA	36	0	36
MTA	0	36	36
HIDRÓXIDO DE CALCIO	0	36	36
CONTROL	29	7	36
TOTAL	65	79	144

3.3. Categorías y Calculo de la Prueba Chi Cuadrado

Categoría	O	E	(O-E)	(O-E) ²	$\frac{X^2 = \sum(O-E)^2}{E}$
Uncaria TomENTOSA + NN	36	16.25	19.75	390.06	24.00
Uncaria TomENTOSA + NA	0	19.75	-19.75	390.06	19.75
MTA + NN	0	16.25	-16.25	264.06	16.25
MTA + NA	36	19.75	16.25	264.06	13.37
Hidróxido de Calcio + NN	0	16.25	-16.25	264.06	16.25
Hidróxido de Calcio + NA	36	19.75	16.25	264.06	13.37
Control + NN	29	16.25	12.75	162.56	10.00
Control + NE	7	19.75	-12.75	162.56	8.23
TOTAL	144		0		X ² = 121.22

3.4. Nivel de Significancia

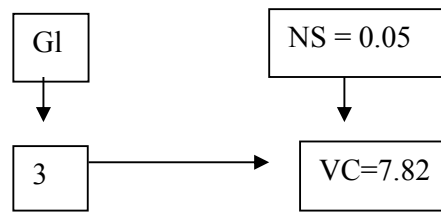
NS = 0.05

3.5. Grados de Libertad

$$Gl = (c-1) (f-1)$$

$$Gl = 3$$

3.6. Valor Crítico



3.7. Norma

$X^2 \geq VC$ Se rechaza H_0
 Se acepta H_1 (UT > MTA)
 (UT > HC)

$X^2 < VC$ Se acepta H_0 (UT > MTA F)
 (UT > HC)

3.8. Conclusión

$$X^2(121.22) > VC(7.82)$$

$$p < 0.05$$

Entonces: Se acepta H_1
 Se rechaza H_0

PRUEBA CHI CUADRADO INTEGRIDAD DEL ADN

1. 24 HORAS

1.1. Hipótesis Estadísticas

Unilateral

Ho: UT < MTA

Hi: UT > MTA

UT < HC

UT > HC

1.2. Tabla de Contingencia 4x2

FACTORES	0 HR			TOTAL
	NORMAL (N)	APOPTOSIS (A)	LISIS (L)	
UNCARIA TOMENTOSA	36	0	0	36
MTA	18	18	0	36
HIDRÓXIDO DE CALCIO	16	20	0	36
CONTROL	30	6	0	36
TOTAL	100	44	0	144

1.3. Categorías y Calculo de la Prueba Chi Cuadrado

Categoría	O	E	(O-E)	(O-E) ²	$\frac{X^2 = \sum(O-E)^2}{E}$
Uncaria TomENTOSA + N	36	25	11	121	4.84
Uncaria TomENTOSA + A	0	11	-11	121	11
Uncaria TomENTOSA + L	0	0	0	0	0
MTA + N	18	25	-7	49	1.96
MTA + A	18	11	7	49	4.45
MTA + L	0	0	0	0	0
Hidróxido de Calcio + N	16	25	-9	81	3.24
Hidróxido de Calcio + A	20	11	9	81	7.36
Hidróxido de Calcio + L	0	0	0	0	0
Control +NL	30	25	5	25	1
Control + A	6	11	-5	25	2.27
Control + L	0	0	0	0	0
TOTAL	144		0		X ² = 36.12

1.4. Nivel de Significancia

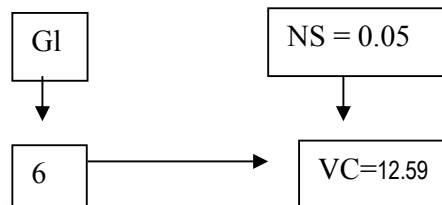
NS = 0.05

1.5. Grados de Libertad

$$Gl = (c-1) (f-1)$$

$$Gl = 6$$

1.6. Valor Crítico



1.7. Norma

$X^2 \geq VC$	Se rechaza H_0	
	Se acepta H_1	($UT > MTA$)
		($UT > HC$)
$X^2 < VC$	Se acepta H_0	($UT > MTA$)
		($UT > HC$)

1.8. Conclusión

$$X^2(36.12) > VC(12.59)$$

$$p < 0.05$$

Entonces: Se acepta H_1
Se rechaza H_0

2. 48 HORAS

2.1. Hipótesis Estadísticas

Unilateral

Ho: UT < MTA

Hi: UT > MTA

UT < HC

UT > HC

2.2. Tabla de Contingencia 4x2

FACTORES	0 HR			TOTAL
	NORMAL (N)	APOPTOSIS (A)	LISIS (L)	
UNCARIA TOMENTOSA	36	0	0	36
MTA	0	36	0	36
HIDRÓXIDO DE CALCIO	0	36	0	36
CONTROL	29	7	0	36
TOTAL	65	79	0	144

2.3. Categorías y Calculo de la Prueba Chi Cuadrado

Categoría	O	E	(O-E)	(O-E) ²	$\frac{X^2 = \sum(O-E)^2}{E}$
Uncaria TomENTOSA + N	36	16.25	19.75	390.06	24.00
Uncaria TomENTOSA + A	0	19.75	-19.75	390.06	19.75
Uncaria TomENTOSA + L	0	0	0	0	0
MTA + N	0	16.25	-16.25	264.06	16.25
MTA + A	36	19.75	16.25	264.06	13.37
MTA + L	0	0	0	0	0
Hidróxido de Calcio + N	0	16.25	-16.25	264.06	16.25
Hidróxido de Calcio + A	36	19.75	16.25	264.06	13.37
Hidróxido de Calcio + L	0	0	0	0	0
Control + NL	0	16.25	-16.25	264.06	16.25
Control + A	29	19.75	9.25	85.56	4.33
Control + L	7	0	7	49	0
TOTAL	144		0		X ² = 123.57

2.4. Nivel de Significancia

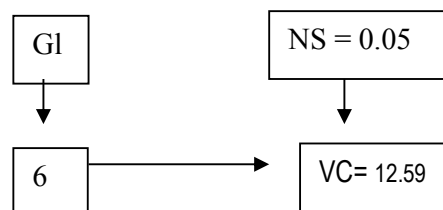
NS = 0.05

2.5. Grados de Libertad

$$G_l = (c-1) (f-1)$$

$$G_l = 6$$

2.6. Valor Crítico



2.7. Norma

$X^2 \geq VC$ Se rechaza H_0
 Se acepta H_1 (UT > MTA)
 (UT > HC)

$X^2 < VC$ Se acepta H_0 (UT > MTA)
 (UT > HC)

2.8. Conclusión

$$X^2(123.57) > VC(12.59)$$

$$p < 0.05$$

Entonces: Se acepta H_1
 Se rechaza H_0



**ANEXO N°5
SECUENCIA
FOTOGRAFICA**



Fig. 1 y 20.- Extirpacion y toma de muestra de pulpa dental



Fig. 3.- Incubación de muestras

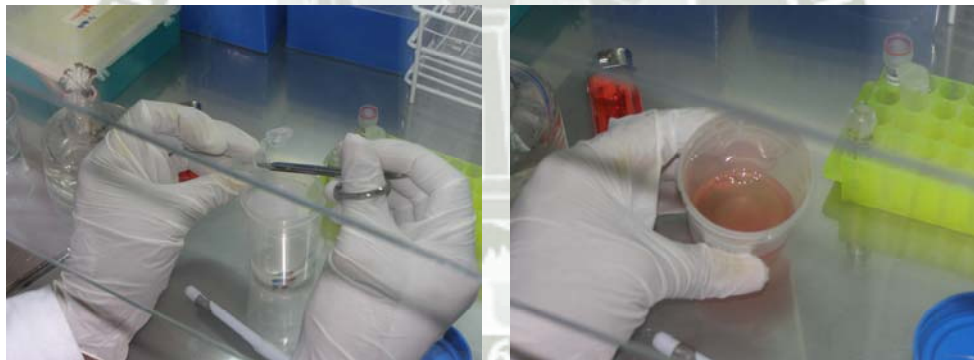


Fig. 4 y 5.- Corte y fraccionamiento de las muestras

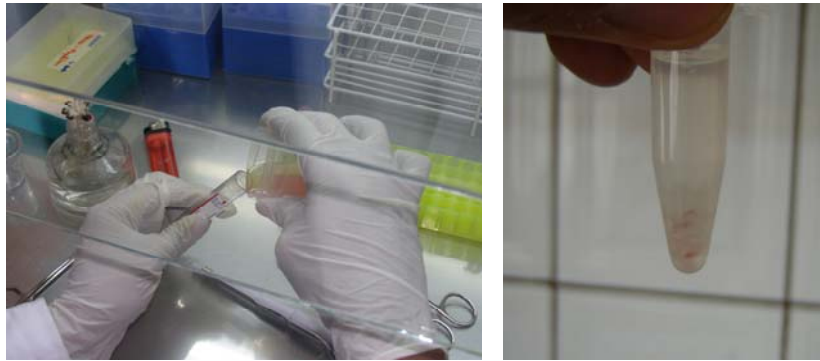


Fig. 6 y 7.- Colocado de las muestras en tubo Eppendorf.

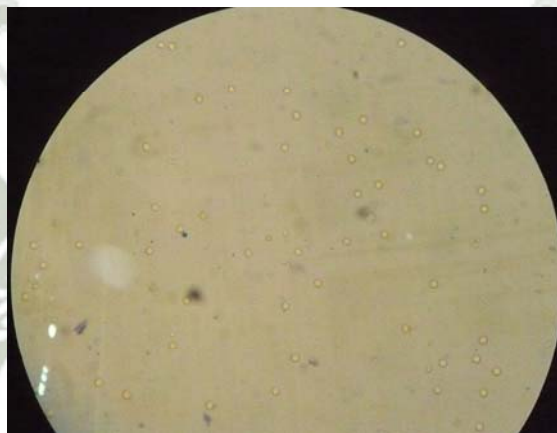


Fig. 8.- Obtención de células de pulpa dental.



Fig. 9 y 10.- Sembrado de las células de pulpa dental y aplicación de estímulos.



Fig. 11.- Incubación de las células en placas de cultivo celular.



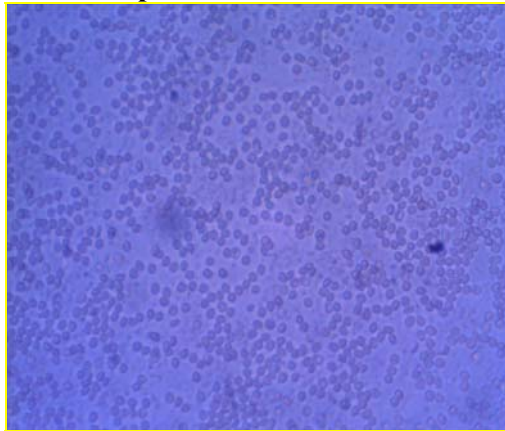
Fig. 12-17.- Determinación de Viabilidad Celular con *Uncaria tomentosa*:

Observación al microscopio invertido

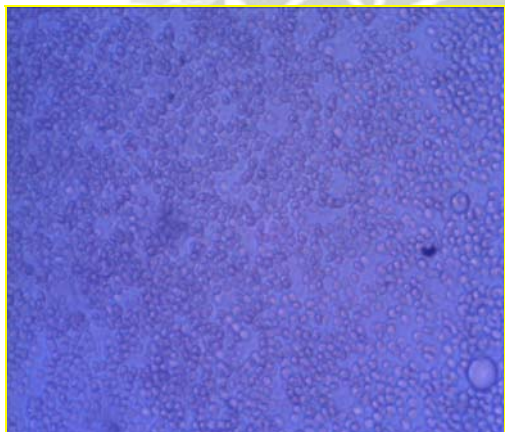
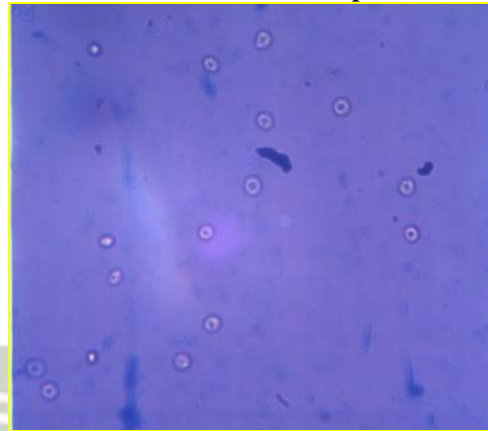
Recuento celular al microscopio

En pozos de cultivo

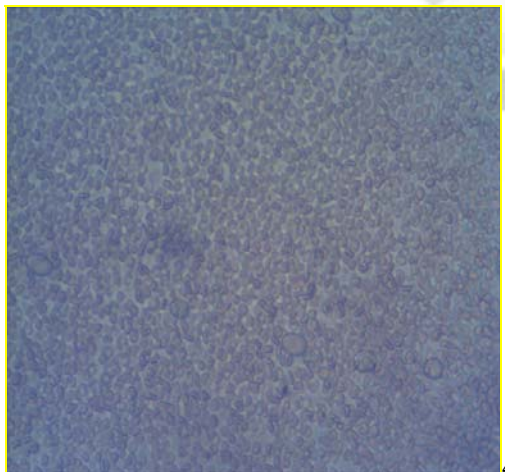
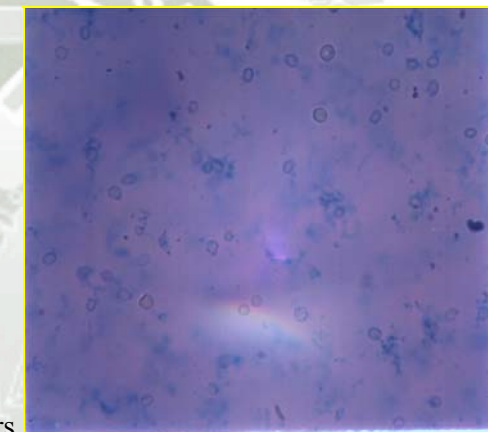
Con Azul de Tripan



0Hrs



24Hrs



48 Hrs

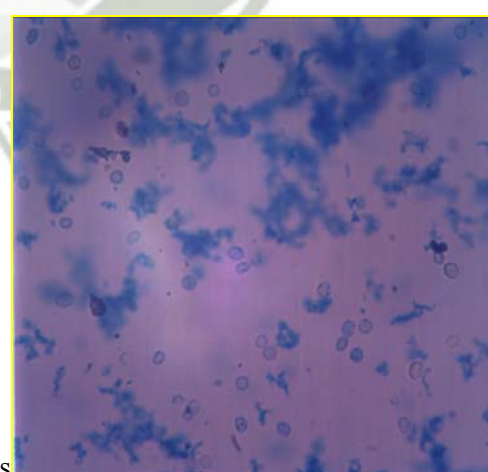


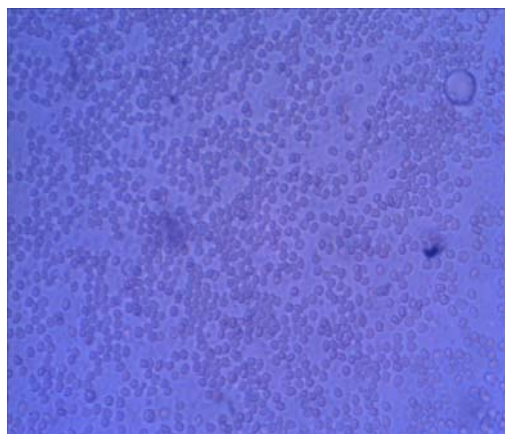
Fig. 18-23.- Determinación de Viabilidad Celular con MTA:

Observación al microscopio invertido

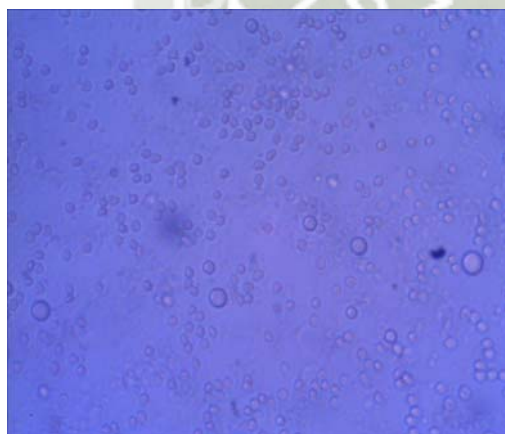
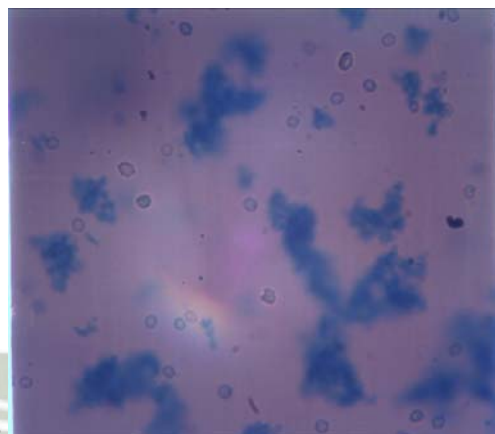
Recuento celular al microscopio

En pozos de cultivo

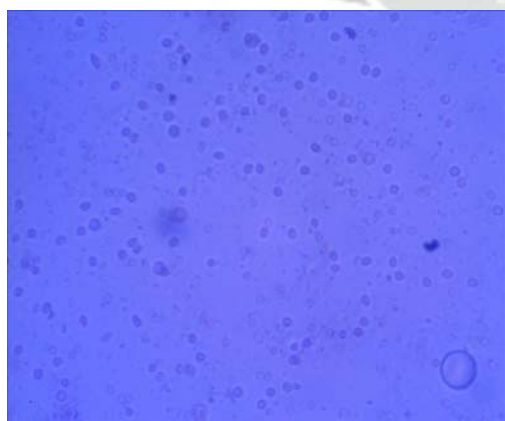
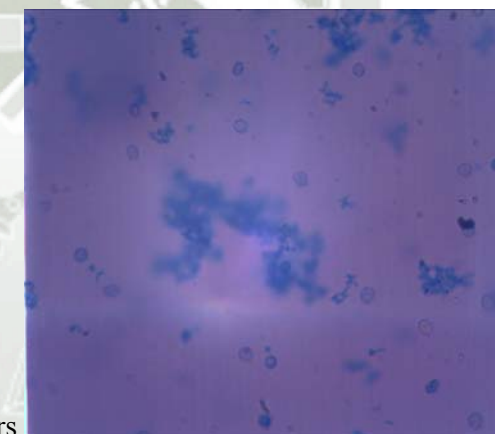
Con Azul de Tripán



0Hrs



24Hrs



48Hrs

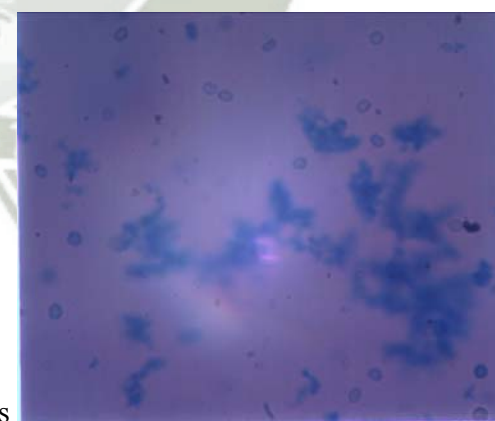


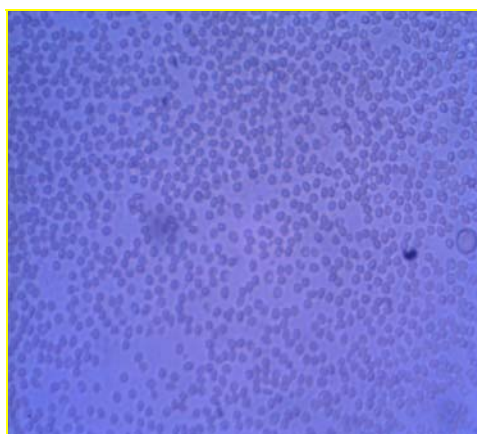
Fig. 24-29.- Determinación de Viabilidad Celular con Hidróxido de calcio:

Observación al microscopio invertido

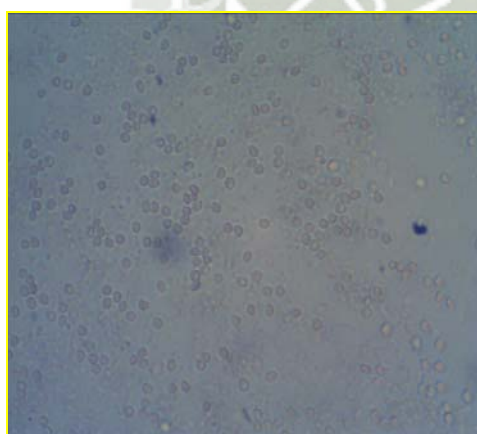
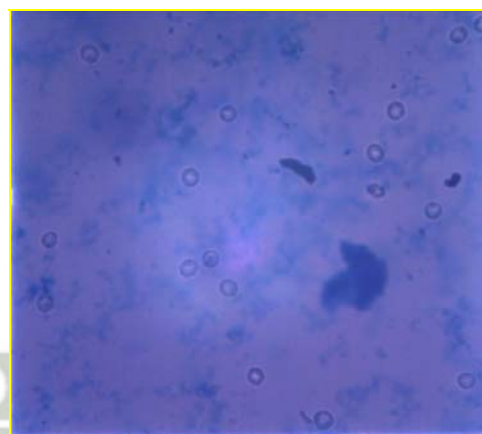
Recuento celular al microscopio

En pozos de cultivo

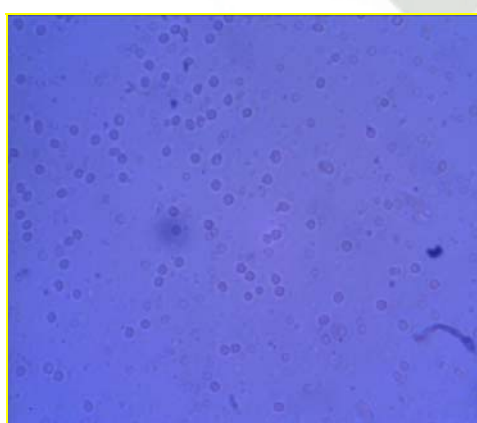
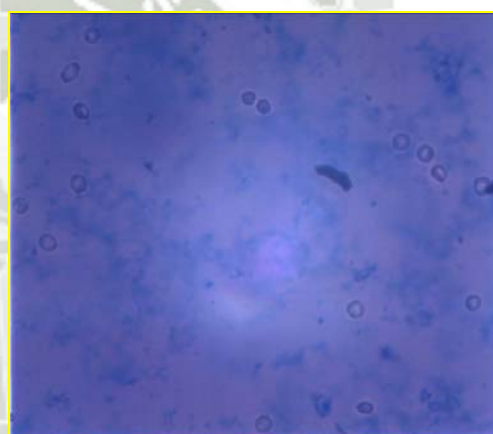
Con Azul de Tripán



0Hrs



24Hrs



48Hrs

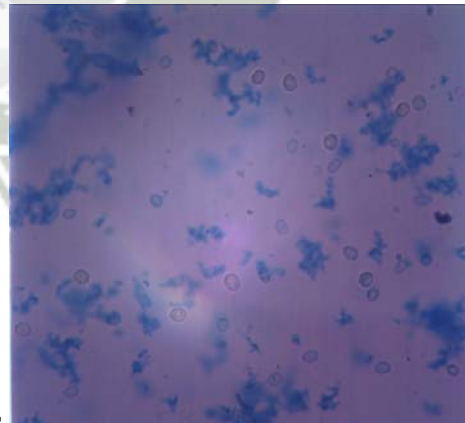


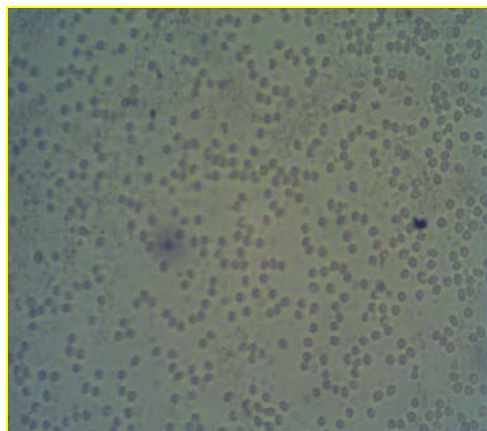
Fig. 24-29.- Determinación de Viabilidad Celular grupo control:

Observación al microscopio invertido

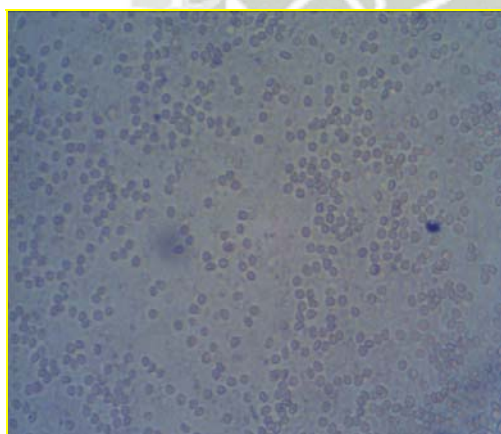
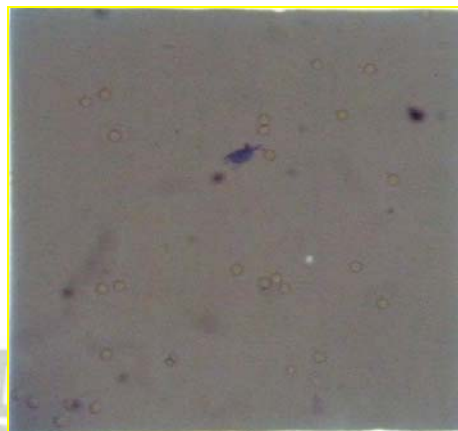
Recuento celular al microscopio

En pozos de cultivo

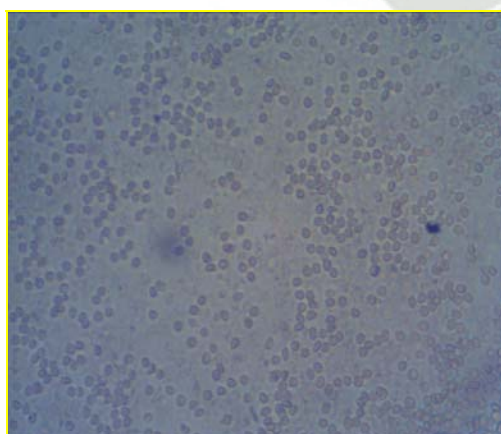
Con Azul de Tripán



0Hrs



24Hrs



48Hrs

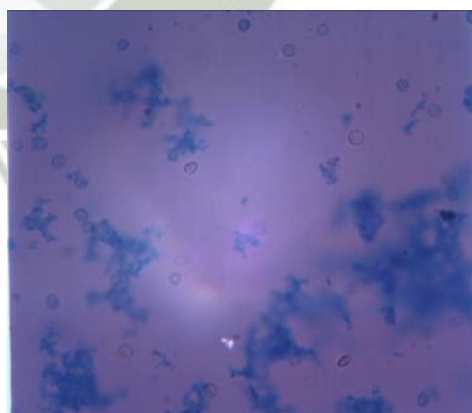


Fig. 29-38.- Evaluación de morfología nuclear:



Colocado de células en láminas de fijación en cámaras húmedas



Lavado de laminas con PBS



Colocado de 10 µl de colorante para núcleos en cada pozo.



Cubrir con cubreobjetos y sellar las láminas de fijación.

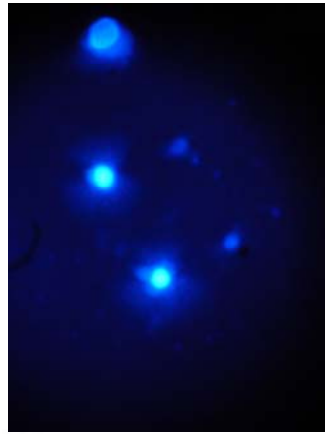
Observación de las láminas de fijación con el microscopio de inmunofluorescencia(100x):



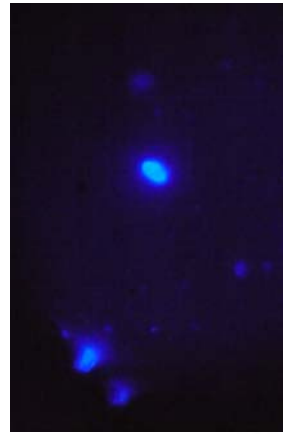
Control (núcleos normales)



Uncaria tomentosa (núcleos normales)

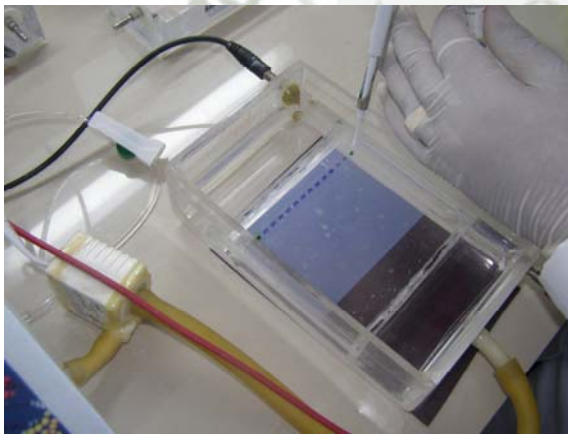


MTA(núcleos apoptóticos)
Estadios tempranos

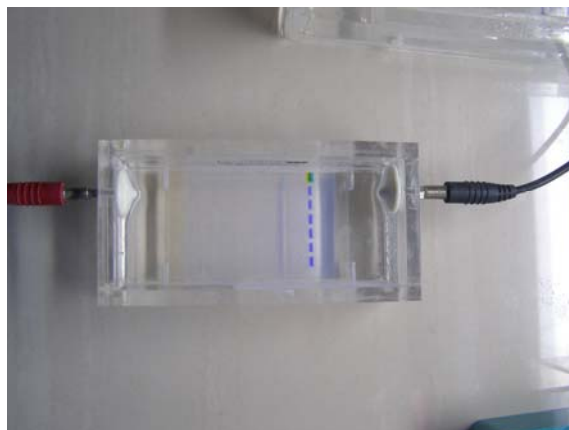


Hidróxido de calcio(núcleos apoptóticos)
Estadios avanzados

Fig. 39-43.- Evaluación de estructura del ADN:

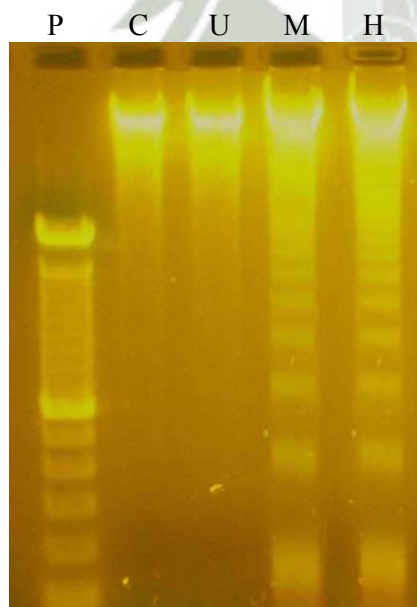


Cargado en cada carril del gel de agarosa con 5ul de suspensión



Corrido de la muestra por 30 minutos

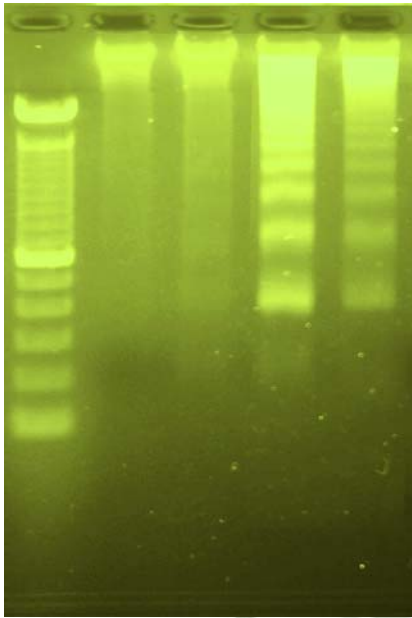
Visualización de los resultados en Transluminador INVITROGEN:



24 Horas

- P: Marcador de peso molecular.
- C: Control (ADN Normal o integro), banda única.
- U: *Uncaria tomentosa* (ADN integro), banda única.
- M: MTA (ADN Apoptótico o fragmentado), banda en escalera.
- H: Hidroxido de calcio (ADN fragmentado), banda en escalera

P C U M H



48 Horas

P: Marcador de peso molecular.

C: Control (ADN Normal o integro), banda única.

U: Uncaria tomentosa (ADN integro), banda única.

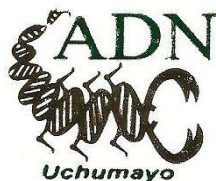
M: MTA (ADN Apoptótico o fragmentado), banda en escalera.

H: Hidroxido de calcio (ADN fragmentado), banda en escalera





ANEXO N°6
CONSTANCIA DE INVESTIGACIÓN
DEL LABORATORIO



INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA DEL ADN UCHUMAYO E.I.R.L.

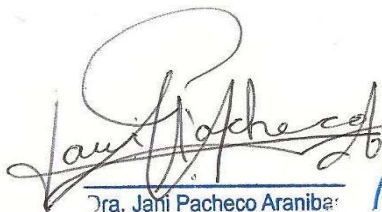
CONSTANCIA

La que suscribe, Gerente del Instituto de Biotecnología del ADN Uchumayo hace constar que él Sr:

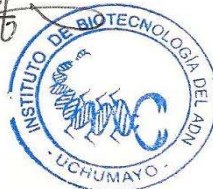
Mgter. Giovanni López Huamán

Alumno del Doctorado en Odontología, ha realizado la parte experimental de su trabajo de Investigación titulado **“Efecto in Vitro de la Uncaria Tormentosa (Uña de Gato), Agregado de Trióxido Mineral (MTA) y del Hidróxido de Calcio en la Viabilidad Celular, la Integridad del ADN y la Morfología Nuclear de la Pulpa Dental en piezas dentarias extraídas, Clínica Odontológica Particular, Arequipa 2011”**; en las instalaciones de este Laboratorio Molecular, desde el 14 de Setiembre hasta el 14 de Noviembre del 2011.

Se expide la presente constancia a solicitud de la interesado, para los fines que crea conveniente.



Dra. Jani Pacheco Aranibar
GERENTE



Arequipa, 15 de Noviembre del 2011.



ANEXO N°7
CARTA DE CONSENTIMIENTO

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACION EN
PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN CLINICA

Lugar y Fecha: _____

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado: ***“Efecto in Vitro de Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental en piezas dentarias extraídas, Clínica Odontológica Particular, Arequipa 2011”***

El objetivo del estudio es evaluar el efecto de la Uncaria tomentosa, del MTA y del Hidróxido de calcio en la Viabilidad Celular, Morfología Nuclear y en la Integridad del ADN de la pulpa dental en piezas dentarias extraídas por motivos ortodoncicos.

Se me ha explicado que mi participación consistirá en donar la pieza dentaria extraída por motivos ortodoncicos, para que de ella se puedan obtener las células de la pulpa dental para la presente investigación.

Declaro que se me ha informado sobre los posibles riesgos, inconveniente, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio. El investigador responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier pregunta y aclarar cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que se le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho a retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte mi tratamiento ortodoncico que recibo en la consulta privada. El investigador responsable me ha dado la seguridad de que no se me identificara en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

Nombre y firma del paciente, padre o apoderado: _____

Nombre, firma y COP del investigador responsable: _____

Números telefónicos a los cuales pueda comunicarse en caso de dudas o preguntas relacionada con el estudio: _____