



República Bolivariana de Venezuela.

Universidad de Carabobo.

Facultad de Odontología.

Departamento de Formación Integral del Hombre.

Informe de Investigación.

ODONTOLOGIA



La Facultad para la Región.

CAPACIDAD, IN VITRO, DE LOS MATERIALES DENTALES DE BASE RESINOSA DE INDUCIR ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS A NIVEL DE ESTRUCTURA CELULAR O CINÉTICA EN CÉLULAS DE ALLIUM SATIVUM.

Autores:

Colmenares, Daisy.

Domínguez, Elizabeth.

Tutor de Contenido:

Prof. Alba Bolaños.

Tutor Metodológico:

Prof. María E. Labrador.

Valencia, Marzo 2005.

Este trabajo fue Subvencionado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH- UC), según oficio Nro. cdch.1013 del 2004.



ODONTOLOGIA



La facultad para la Región

República Bolivariana de Venezuela.
Universidad de Carabobo.
Facultad de Odontología.
Departamento de Formación Integral del Hombre.
Informe de Investigación.

CARTA DE APROBACIÓN

En carácter de tutores del trabajo final de Investigación Titulado Capacidad, in vitro, de los materiales dentales de base resinosa de inducir anomalías cromosómicas a nivel de estructura celular o cinética en células de allium sativum presentado por las bachilleres: Daisy Colmenares y Elizabeth Domínguez, considero que dicho trabajo de Investigación reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a presentación pública y evaluación.

En la ciudad de Valencia, a los 11 días del mes de Marzo de 2005.

TUTOR DE CONTENIDO

TUTOR METODOLÓGICO

INDICE

	pp.
DEDICATORIA.....	i
RECONOCIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPITULO	
I EL PROBLEMA.....	3
Planteamiento del Problema.....	3
Objetivos.....	8
Objetivo General.....	8
Objetivos Específicos.....	8
Justificación de la Investigación.....	8
II MARCO TEÓRICO.....	10
Antecedentes de la Investigación.....	10
Bases Teóricas.....	15
Definición de Términos Básicos.....	40
Sistema de Hipótesis.....	40
Operacionalización de Hipótesis.....	41
III MARCO METODOLÓGICO.....	43
Tipo de Investigación.....	43
Diseño de Investigación.....	43
Población.....	43
Muestra.....	44
Instrumento de Recolección de Datos.....	44
Validez y Confiabilidad.....	44

	pp.
Procedimiento.....	45
IV RESULTADOS.....	47
Presentación y Análisis de Resultados.....	47
CONCLUSIONES.....	63
RECOMENDACIONES.....	65
BIBLIOGRAFÍA.....	66
ANEXOS.....	68

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen; a nuestros padres Jesús, Daisy, Alvaro y Estela; a nuestros hermanos Gabriel, Jesús, Estela y Alvaro; a Luis y a Andrea; a nuestras abuelas Alcira, Carmen y Nena; a nuestros tíos y primos; a nuestras tutoras Alba y Maria Elena; a nuestros amigos y compañeros especialmente a Marle, Susan, Gaby, Robert, Jose, Ivan, Lisette, Bárbara, Annie, Aimara, Nora, Samuel, Nohemi, Susana, Andrea y Marialcira. Y por último pero no menos importante a las Profesoras Barthyde, Caterina y Aracelys.

Cada uno de ellos ocupa un lugar importante en nuestras vidas y representan el motivo de lucha en todas las acciones que emprendemos dirigidas al alcance de nuestros sueños. Son ustedes quienes alimentan nuestro espíritu y nos incentivan para ser cada día mejores. Queremos retribuir de esta manera una parte de todo el cariño y apoyo incondicional que siempre nos han brindado.

Por todo esto dedicamos este trabajo de grado, producto de nuestro esfuerzo a ustedes.

**Los Queremos
Daisy y Elizabeth.**

RECONOCIMIENTOS

A Dios y a la Virgen, por guiarnos e iluminarnos el camino de nuestra vida, permitiéndonos convertir nuestros sueños en realidades.

A nuestros padres, Daisy, Jesús, Estela y Alvaro, por su apoyo afectivo, moral y económico; que de manera incondicional nos lo brindaron siempre, convirtiéndonos de esta manera en seres humanos íntegros.

A Luis por la paciencia, comprensión y cariño, que tanto me brindaste a lo largo de mi carrera.

A nuestros tutores, Profesora Alba Bolaños y Profesora Maria Elena Labrador, por sus valiosos conocimientos y tiempo prestado durante la ejecución de nuestro trabajo de grado. Además, por sus palabras de aliento cuando más las necesitamos y el apoyo incondicional que siempre nos brindaron para hacer de esta, una experiencia enriquecedora desde el punto de vista académico y humano.

A la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, representada en sus profesores, quienes a lo largo de nuestra carrera nos han nutrido íntegramente con sus conocimientos.

Al personal de UNIMPA, Rubén, Carlos, Imelda y Agueda; gracias por estar dispuestos siempre a colaborar con el éxito de nuestra meta.

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH- UC), por apoyar a los investigadores novel en el desarrollo de nuevos conocimientos científicos.

A la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Carabobo por facilitarnos de manera desinteresada los solventes necesarios para el desarrollo de la investigación.

Gracias...

Daisy y Elizabeth.

Universidad de Carabobo.
Facultad de Odontología.
Informe de Investigación.

CAPACIDAD, IN VITRO, DE LOS MATERIALES DENTALES DE BASE RESINOSA DE INDUCIR ANOMALÍAS CROMOSÓMICAS A NIVEL DE ESTRUCTURA CELULAR O CINÉTICA EN CÉLULAS DE ALLIUM SATIVUM .

Autores:

Colmenares, Daisy.
Domínguez, Elizabeth.

Tutor de Contenido:

Prof. Alba Bolaños.

Tutor Metodológico:

Prof. María E. Labrador.
Marzo 2005.

RESUMEN

Los materiales dentales resinosos ampliamente usados en la Odontología, poseen componentes derivados de monómeros potencialmente dañinos, que entran en contacto directo con las células pulpares y periapicales, de allí la importancia de conocer las propiedades biológicas que lo caracterizan. El propósito de esta investigación fue determinar la capacidad, in vitro, de los materiales dentales de base resinosa de inducir anomalías cromosómicas a nivel de estructura celular o cinética en células de *Allium sativum* (ajo). Para ello se realizó una investigación de tipo experimental en la Unidad de Investigaciones Morfopatológicas, utilizando extractos de cuatro materiales resinosos: One coat bond (sistema adhesivo), Brilliant (composite), Parapost (cemento resinoso) y Top seal (sellador endodóntico), mediante la aplicación del test *Allium*, en una muestra conformada por 1000 células meristemáticas del *Allium sativum* (ajo) y 3 a 7 raíces del bulbo de ajo, que representan el total de la población. Los datos necesarios para el desarrollo del estudio fueron recogidos a través de la observación directa de la longitud de las raíces y de la observación de las células al microscopio a las 24, 48 y 72 horas. Una vez cumplidas las 72 horas, el procedimiento se repitió exponiendo el bulbo afectado al medio de crecimiento, con el fin de evaluar la reversibilidad de los efectos. Los resultados obtenidos evidenciaron que el sistema adhesivo, el cemento resinoso y el sellador endodóntico, presentan un leve efecto citotóxico, que llegó a ser reversible y sólo el cemento resinoso produjo alteración del índice mitótico y anomalías cromosómicas.

Palabras Claves: Citotoxicidad, Materiales dentales de base resinosa, Anomalías cromosómicas, Test *Allium*.

Carabobo University.
Dentistry School.
Investigation Report.

IN VITRO CAPACITY OF RESIN-BASED DENTAL RESTORATIVE MATERIALS TO INDUCE CHROMOSOME'S ANOMALIES AT LEVEL OF KINETIC OR CELLULAR STRUCTURE IN CELLS OF ALLIUM SATIVUM.

Authors:

Colmenares, Daisy.
Domínguez, Elizabeth.

Content Tutor:

Prof. Alba Bolaños.

Methodology Tutor :

Prof. María E. Labrador.

March 2005

ABSTRACT

Resin-based dental restorative materials widely are used in dentistry, they have components derived from monomers potentially hazardous, that once placed in mouth enter direct bonding with pulpal and perapical tissues, so the importance of knowing the biological properties that characterize. The purpose of this investigation was to determine the in vitro capacity of resin-based dental restorative materials to induce chromosome's anomalies at level of kinetic or cellular structure in *Allium sativum* cells (garlic), in view of the little investigations that have been made on the matter it was realize an experimental investigation at Morfophatological Investigation Unit, using extracts of four resinous materials: One coat bond, Brilliant, Parapost and Top Seal. By means the application of the *Allium* test in a sample conformed per 1000 *Allium sativum* cells and 3 to 7 garlic roots for each study group, that represents the total of the population. The necessary data for the development of the study were collected by direct observation of the root's length and the microscopic examination for three different time's intervals (24, 48 and 72 hours), once turned the 72 hours the procedure was repeat exposing themselves the bulb affected to growth's medium. The adhesive system, resinous cement and root sealer launched a light citotoxicity on *Allium sativum* cells, it was reversible once the extracts were change over of growth'medium. Only resinous cement showed a mitotic index alteration and chromosomie's anomalies.

Keywords: Citotoxicity, Resin-based dental materials, chromosome's anomalies, Allium test.

INTRODUCCIÓN

Desde que aparecieron en la Odontología los materiales dentales de base resinosa, los investigadores se dedicaron más a evaluar sus propiedades físico- mecánicas que las biológicas, las cuales solo recientemente han sido consideradas, a pesar de que este tipo de materiales entra en contacto directo con el complejo dentino- pulpar una vez colocados en boca. Debido a lo reciente de las investigaciones, ha existido una discongruencia de criterios sobre los efectos de estos materiales en los tejidos y órganos, que no ha permitido determinar de manera definitiva, si existe o no biocompatibilidad celular, aspecto preocupante, ya que el auge de estos materiales en la Odontología se debió, entre otras cosas, a que representan una alternativa ante los efectos tóxicos del mercurio por la colocación de amalgamas en boca.

Al respecto, Caughman W. y cols (1990) reportaron que “la citotoxicidad de las resinas que contienen BIS-GMA se debe a nuevos productos tóxicos que precipitan después de la inserción del material, o a productos tóxicos residuales de una reacción de polimerización incompleta”, esto ha conllevado a pensar que la compatibilidad biológica de los materiales dentales de base resinosa depende de su matriz orgánica, es decir, de los monómeros y aditivos constituyentes. Sin embargo Bascones A (1998) afirmó que “los resultados de biocompatibilidad, in vivo, demuestran que no existe irritación pulpar o ésta es prácticamente nula, independientemente del grado de polimerización de la resina compuesta, a no ser que exista un inadecuado sellado de los márgenes que permita la penetración de bacterias.”

Con el fin de aportar datos que contribuyan a aclarar la disparidad de criterios respecto a la biocompatibilidad de los materiales dentales de base resinosa, se llevó a cabo una investigación de tipo experimental, mediante la aplicación del test Allium en una muestra conformada por 1000 células meristemáticas de *Allium sativum* (ajo) y tres a siete raíces del bulbo por grupo de estudio, que representan el total de la población. Los datos necesarios para el desarrollo del estudio fueron recogidos a través de la observación directa de la longitud de las raíces y de la observación al microscopio con un objetivo de 100x.

Los resultados obtenidos en el estudio fueron evaluados mediante un análisis estadístico de tipo descriptivo e inferencial, los cuales evidenciaron que el sistema adhesivo, el cemento resinoso y el sellador endodóntico, presentan un leve efecto citotóxico, que llegó a ser reversible una vez que dejaron de estar en contacto con el material en estudio. Sólo el cemento resinoso produjo alteración del índice mitótico y aberraciones cromosómicas.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Las últimas generaciones, a nivel mundial, han venido experimentando cambios conductuales hacia la apariencia física, producto de exigencias impuestas por la sociedad que en los últimos tiempos ha valorado el aspecto agradable del cuerpo como una herramienta hacia el éxito, estas exigencias no escapan del campo odontológico, por lo que, desde la década de los 50 la Odontología se vio en la necesidad de obtener materiales alternativos para la amalgama, que fuesen menos tóxicos, al evitar los efectos adversos del mercurio que ésta contiene, y más estéticos, intentando satisfacer así las demandas del consumidor.

Como consecuencia de estos cambios aparecen en el mercado los materiales de base resinosa, los cuales no se limitan a ser utilizados en la Odontología restauradora como cementos, adhesivos y composites, sino que su uso se ha ido diversificando hasta alcanzar en la actualidad el campo de la endodoncia, donde se utilizan como cementos para obturación.

Son escasas las investigaciones científicas que avalan la biocompatibilidad de estos materiales, pues desde su aparición los investigadores se han enfocado más a estudiar sus propiedades químico-mecánicas, que su compatibilidad biológica, a pesar, de la mayor importancia de esta última, pues dichos materiales estarán en contacto directo con el complejo dentino pulpar y con los tejidos periapicales adyacentes por un tiempo prolongado, pudiendo ser capaces de producir diferentes tipos de reacciones tanto locales como sistémicas. Otro de los efectos quizás de mayor relevancia que no ha sido tomado en cuenta por los investigadores y que pueden comprometer la vida del paciente expuesto a este tipo de materiales dentales cuya compatibilidad genética a nivel sistémico no ha sido evaluada, son las

mutaciones, definida en el diccionario médico Océano Mosby como alteraciones causadas en el material genético o cromosómico ocurrido de forma espontánea o por inducción que modifica la expresión original del gen, pudiendo producir a nivel de las células somáticas o sexuales del individuo portador del material, pérdida o variación de alguna función bioquímica de las células que afecta su capacidad de crecimiento, asimismo, podría modificar las características morfológicas o comprometer la supervivencia del individuo, lo que acarrearía síndromes y aberraciones que inclusive podrían ser transferidas a la descendencia del individuo en el caso de que se vieran afectadas las células sexuales o germinativas .

Los materiales dentales de base resinosa al ser colocados en boca se encuentran íntimamente en contacto con el tejido dentino-pulpar, por ello, sería ideal que no llegaran a producir daños en los tejidos y en su lugar indujeran procesos de reparación tisular que actúen como mecanismos de defensa ante los agentes irritantes que constantemente afectan el complejo dentino-pulpar.

Es preocupante saber que algunos componentes de estos materiales como los monómeros aromáticos, entre ellos el Bisfenil A diglicidylmethacrilato (Bis-GMA), derivado del Bisfenil A (BPA) un policarbonato proveniente del ácido carbónico, sustancia químicamente inofensiva, es potencialmente dañino, y , los monómeros alifáticos como el dimetacrilato de uretano (UDMA), el dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA) y el hidroxietil metacrilato (HEMA), producen toxicidad celular, predominantemente aguda , pudiendo llegar a ser mutagénicas, aunque al respecto existe controversia, pues mientras que unos investigadores apoyan dichas afirmaciones otros la refutan, lo que evidencia la necesidad de definir fidedignamente si los materiales resinosos son biocompatibles o no, debido al incremento de este tipo de materiales en el ejercicio de la Odontología.

De hecho, algunos estudios afirman que los monómeros alifáticos constituyentes son más dañinos que el mercurio componente de las amalgamas dentales, sobre todo si son altamente hidrosolubles como el HEMA, pues tienen mayor capacidad para difundir a través de los túbulos dentinarios y entrar en contacto directo con las células pulpares y periapicales.

Sin embargo, Craig, R. (1998), refiere, según algunos estudios sobre los efectos biológicos, que “el HEMA es como mínimo 100 veces menos citotóxico que el Bis-GMA y que estos efectos son aún menores cuando existe una barrera de dentina, sin embargo la combinación de HEMA con otras resinas pueden actuar sinérgicamente, produciendo citotoxicidad in vitro” .

Esto evidencia, contrario a lo que se podría pensar, si se toma en cuenta que los materiales resinosos fueron desarrollados, entre otras cosas, para evitar los efectos adversos del mercurio por la colocación de amalgamas en boca, una mayor probabilidad de que los materiales resinosos produzcan patologías pulpares y periapicales en comparación con los materiales de restauración convencionales (amalgamas); sin embargo, las investigaciones científicas sobre la toxicidad de las resinas dentales son escasas en comparación con los datos aportados por investigaciones realizadas sobre la amalgama.

Son múltiples los factores que pueden incrementar los riesgos de citotoxicidad de estos materiales. Es probable que el potencial tóxico de los materiales resinosos se vea incrementado por la polimerización incompleta del material, sobre todo en caso de materiales fotocurados, o por la inhibición del proceso por parte del oxígeno. Por una parte, las capas de material no curado sirven de almacenamiento de monómeros residuales que como se había expuesto anteriormente, tienen mayor capacidad de difundirse a través del tejido dentinario y al ser liberados constantemente de forma lenta, son responsables, presuntamente de la irritación tisular; además, en algunos materiales resinosos compuestos por formaldehído, en la capa superficial inhibida por el oxígeno puede quedar una cantidad considerable de dicha sustancia fuertemente citotóxica.

La contaminación con humedad durante la colocación del material también incrementa el riesgo de que se presenten reacciones adversas locales, pues, tal contaminación inhibe la polimerización de las cadenas de monómeros, disminuyendo el grado de conversión de monómeros a polímeros que en condiciones adecuadas es de un 75% , lo que a su vez conlleva a un aumento de la solubilidad de los materiales

y por ende, su irritabilidad; esto induce a pensar como refiere Anusavice (1998), que “los compuestos polimerizados adecuadamente son relativamente biocompatibles porque muestran solubilidad mínima”. Por su parte Bouilleaguet (2002), afirma que “los efectos más tóxicos de las resinas ocurren durante las primeras 24 horas que después de las 8 semanas” y se correlaciona con la temprana liberación de monómeros residuales.

En tal sentido, las investigaciones in vitro, han demostrado que los materiales dentales a base de resina, independientemente del tipo, producen citotoxicidad moderada en una mezcla recién polimerizada o no curada. Sin embargo, in vivo, el comportamiento podría ser distinto, pues, tal irritabilidad celular sería anulada o no por el sistema inmunitario del organismo.

Por otra parte, Matasa, C.(2002), afirma que “la citotoxicidad de los materiales resinosos decrece en el siguiente orden, proporcional con el contenido de relleno inorgánico: sellante >los sistemas líquido -sólido>que los sistemas líquido- pastas> que los sistemas pasta- pasta” .

En vista de los elevados efectos citotóxicos que han presentado desde su desarrollo, los materiales dentales a base de resina, se ha aprovechado el avance de la tecnología para modificar la composición de dichos materiales, incrementando las cantidades de relleno inorgánico por encima de un 80%, para lograr disminuir así, la cantidad de componentes poliésteres alifáticos y aromáticos, lo que se ha traducido en una relativa disminución de los efectos tóxicos, sin embargo, aún se mantiene un grado relativo de toxicidad celular, que se manifiesta como reacciones pulpares y periapicales, y que en muchos casos es responsabilidad de la mala manipulación del material por parte del Odontólogo, pues ciertos investigadores como Gotfried, S. (1998), refieren que “las reacciones locales de la pulpa no se producen con los materiales a base de resina si no hay exposición pulpar y la penetración bacteriana es evitada”. Esta afirmación es sustentada por otras investigaciones realizadas, en las que se demostró que el 100% de los materiales de base resinosa evaluados causó baja toxicidad.

En este sentido, el potencial dañino que pudieran presentar los materiales a base de resina se puede incrementar por la mala manipulación de dichos materiales por parte de la mayoría de los estudiantes de los últimos años de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, como consecuencia del proceso de aprendizaje que se está llevando a cabo y la falta de preparación por parte de cada estudiante, que muchas veces se olvida de su responsabilidad sobre la salud del paciente, y las consecuencias de sus acciones, que pudieran producirse a largo plazo.

Debido a la disparidad de criterios y a la incongruencia entre unas investigaciones y otras, vale la pena preguntarse si los materiales dentales de base resinosa tienen la capacidad de inducir anomalías cromosómicas *in vitro*, a nivel de estructura celular o cinética en células de *Allium sativum*.

Dicha toxicidad celular será estudiada en el meristema del *Allium sativum* (ajo), a través, del desarrollo de un ensayo experimental que permitirá revelar, o no, la viabilidad celular y las anomalías cromosómicas a nivel de cinética que pudieran presentarse en las células cultivadas, al estar expuestas a los materiales dentales de base resinosa que serán evaluados, mediante la observación al microscopio del número de células cultivadas que se encuentran en el proceso de división celular mitótica y del número de fases mitóticas, lo que permitirá llevar a cabo un estudio porcentual con respecto a un grupo control.

De esta interrogante surge el siguiente sistema de preguntas:

¿Cuál es el efecto de la no polimerización de los materiales dentales de base resinosa sobre la viabilidad celular del *Allium sativum*?

¿De qué manera los efectos citotóxicos de los materiales dentales de base resinosa afectan la reversibilidad?

¿Qué efecto covariante tiene el tiempo en los efectos de los materiales de base resinosa sobre la viabilidad celular del *Allium sativum*?

¿Cuál es el efecto de la interacción de los materiales dentales de base resinosa sobre la toxicidad celular?

Sobre la base de esta interrogante la mayoría de las investigaciones realizadas no estudian la citotoxicidad a nivel genético, sino a nivel histológico, en términos de

corto plazo, siempre estableciendo comparaciones entre materiales de diferentes casas comerciales, y utilizando diferentes pruebas de compatibilidad biológica, por lo cual estudios sobre la materia serían de interés para el campo de la Odontología y la población en general.

Objetivos.

Objetivo General:

Determinar la capacidad, in vitro, de los materiales dentales de base resinosa de inducir anomalías cromosómicas a nivel de estructura celular o cinética en células de *Allium sativum* (ajo).

Objetivos Específicos:

- Determinar el efecto de los materiales dentales de base resinosa sin polimerizar, sobre la viabilidad de las células de *Allium sativum*.
- Estudiar la reversibilidad de los efectos citotóxicos que ejercen los materiales dentales de base resinosa sobre las células de *Allium sativum*.
- Evaluar la variabilidad en el tiempo del efecto tóxico de los materiales de base resinosa sobre células de *Allium sativum*.
- Estudiar los efectos citotóxicos interactivos que podrían producirse al combinar sistemas adhesivos dentales y resinas compuestas sobre células de *Allium sativum*.

Justificación de la Investigación.

Las investigadoras se vieron motivadas a estudiar la capacidad de los materiales dentales de base resinosa de producir anomalías cromosómicas (in vitro) a nivel de cinética en células de *Allium sativum*; en vista de que el uso de los materiales dentales a base de resina ha aumentado considerablemente en los últimos años como consecuencia de las exigencias estéticas de los pacientes y de la aparición en el mercado de una diversidad de productos innovadores a base de resina; y la existencia, por un lado, de muy pocos aportes teóricos sobre la citotoxicidad de estos materiales en las bibliografías, y por el otro lado, discongruencia de criterios revelada en las

publicaciones de investigaciones científicas que se han realizado a nivel mundial, que merma en la capacitación académica del estudiante de Odontología, futuro profesional que comienza a ejercer actividades clínicas careciendo del conocimiento sobre los posibles aspectos adversos de los materiales dentales a base de resina, esta carencia se refleja en su actitud indiscriminada al momento de la manipulación de estos materiales, lo que lamentablemente se proyecta a lo largo de su carrera profesional.

Con esta investigación, se busca llenar el vacío de conocimientos existente sobre la citotoxicidad de los materiales dentales de base resinosa y dar aportes con base experimental, que contribuyan a crear un criterio científico en cuanto a si los materiales de base resinosas poseen efectos citotóxicos o no, esperando que en un futuro se aclaren las incongruencias que existen al respecto.

Por consiguiente, este estudio beneficia no solo a estudiantes de la Facultad de Odontología, sino también al cuerpo de profesores y a la comunidad científica en general, ya que aporta conocimientos teóricos sobre los posibles efectos tóxicos de los materiales en estudio y las condiciones ambientales que influyen en la aparición de patologías del complejo dentino-pulpar y periapicales, lo que a su vez permitirá que tomen conciencia al respecto, de tal manera que se modifiquen los hábitos perjudiciales para la salud bucal del paciente y se le confiera al aislamiento absoluto y a las recomendaciones del fabricante la importancia que merecen durante la utilización de estos materiales.

Además, servirá como fuente bibliográfica a investigaciones futuras llevadas a cabo en la Facultad de Odontología que busquen extender el objeto de estudio a nivel de células animal y humana.

Crearé un precedente para que futuros estudiantes aspirantes a un título de Odontólogo, no se limiten a realizar investigaciones de tipo descriptivas, sino, que se encaminen hacia el estudio experimental de otros tipos de materiales, medicamentos o cualquier otro aspecto relacionado con el campo de la Odontología que diariamente ofrezcan aportes científicos que contribuyan con el avance de la Investigación Odontológica en Venezuela.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Antecedentes de la Investigación.

En primer lugar se encuentra el trabajo de Gottfried, S.(1998) titulado **Germany non- amalgam dental filling materials**. El autor establece como objetivo general **Demostrar la toxicidad de las sustancias liberadas por los materiales de relleno alternativos en exámenes de citotoxicidad y estudios de implantación**, y por ello seleccionó y desarrolló como tipo de investigación la Experimental. Después de haber desarrollado el abordaje investigacional, llego a la conclusión de que **no se encontró ningún riesgo inaceptable para la salud general del paciente. Hubo limitaciones en los exámenes, métodos y materiales utilizados.**

En segundo lugar está el trabajo de Yoshimine, Y., Yamamoto, M., Ogasawara, T., Koishi, Y., Tanabe, K., Hashiguchi, I., Akamine, A. (2003) titulado **Evaluación in vitro de la histocompatibilidad de un cemento sellador de Ionómero de Vidrio**, su objetivo, **Comparar morfológicamente la histocompatibilidad de un cemento experimental de ionómero de vidrio con uno común de óxido de zinc eugenol, usando un cultivo celular de ligamento periodontal humano**, para este estudio el autor seleccionó el tipo de investigación Experimental y en sus conclusiones pudo **demostrar que el cultivo celular que se utilizó para el grupo ZOE (óxido de zinc-eugenol) mostró algunos cambios degenerativos predominantemente al primer día, mientras que el cultivo celular que se utilizó para el grupo GIV (ionómero de vidrio) siempre mostró la morfología normal.**

Por otro lado, el trabajo **Efecto citotóxico de los cementos selladores utilizados en Endodoncia sobre el tejido periapical**, tiene por autor a Topaliank, M. (2002), cuyo objetivo general era **Realizar una revisión bibliográfica sobre la citotoxicidad de los cementos selladores utilizados en Endodoncia disponibles**

actualmente, y para ello seleccionó como tipo de investigación, la Descriptiva, y así concluyó **que según Estudios realizados tanto in vitro como in vivo, se han aportado evidencias de que la mayoría de los materiales de uso común, destinados a sellar los conductos radiculares, causan efectos citotóxicos sobre el tejido periapical.**

Luego se cuenta con el trabajo de Bouillaguet, S., Shaw, L., González, L., Wataha, J.C., Krejci, I.(2002) titulado **Citotoxicidad a largo plazo de los materiales dentales restauradores de base resinosa**, el autor realizó una investigación de tipo Experimental con el objetivo de **Investigar el efecto a largo plazo (8 semanas) de los materiales dentales restauradores de base resinosa y determinar el efecto de curado posterior sobre su citotoxicidad**, así concluyó que **El envejecimiento influye significativamente sobre la citotoxicidad de los materiales. En general, los materiales se vuelven menos tóxicos con el envejecimiento. Los materiales fueron más citotóxicos después de 24 horas que después de 8 semanas.**

En otro estudio realizado por Huang, F.M., Tai, K.W., Chou, M.Y., Chang, Y.C. (2002) titulado **Citotoxicidad de las resinas, óxido de zinc- eugenol y cementos selladores de conductos radiculares a base de hidróxido de calcio, sobre células del ligamento periodontal y células permanentes V79**, el autor seleccionó como tipo de investigación la Experimental con el objetivo de **Determinar la citotoxicidad de tres tipos diferentes de cementos selladores de conductos radiculares sobre células del ligamento periodontal y una célula de hámster (V79)**, concluyendo que **Los cementos selladores tanto el hidróxido de calcio como el de óxido de zinc-eugenol y los de base resinosa fueron citotóxicos para los cultivos primarios de PDL (células del ligamento periodontal) como para células V79. Se confirmó que del conducto radicular y permanecieron períodos extensos, causaron de moderadas a severas reacciones tóxicas en los cultivos celulares.**

En un trabajo realizado por Matasa, C. (2002) titulado **Plásticos, Polímeros, Resinas: un daño necesario**, cuyo propósito general era **Aportar resultados sobre el estudio de los plásticos, polímeros y resinas**, éste seleccionó como tipo de

investigación la Descriptiva y concluyó que **Los plásticos y los ingredientes usados en ortodoncia aunque no son muy usados son muy tóxicos en diferentes grados.**

También se cuenta con el estudio realizado por Ríos, M., Cepero, J., Davidenko, N., Krael, R., González, A., Pérez, K., y Bello, J. (2001) titulado **Evaluación toxicológica *in vitro* de materiales poliméricos de restauración dental compuestos por BIS-GMA**, cuyo objetivo general era **Evaluar la toxicidad de 2 resinas dentales tipo Bis-GMA: el obtudent fotocurado y el cubrident autocurado**, para ello los autores llevaron a cabo una investigación de tipo Experimental, en la que se concluyó que **Ambos composites resultaron citotóxicos para la línea de fibroblastos L-929.**

En otro trabajo realizado por Cohen, B., Pagnillo, M., Musikant, B., y Deutsch, A. (2000) titulado **Estudio *in vitro* de la citotoxicidad de dos selladores de canales radiculares**, el autor establece como objetivo general **Determinar la citotoxicidad de dos materiales selladores de conductos radiculares (AH26 y el AHPlus)**, para tal fin seleccionó como tipo de investigación la Experimental y luego de abordar dicho estudio llegó a la conclusión de que **Después de un período de observación de 48 horas, los cultivos celulares expuestos a los test tanto con los selladores de AH26 como con los de AH Plus se exhibió severa reactividad.**

Otro estudio realizado por Geurtsen, W. (1998), que tituló **Citotoxicidad de cuatro selladores de canales radiculares en células permanentes 3T3 y cultivos de fibroblastos del ligamento periodontal humano** en esta investigación de tipo Experimental, el objetivo fue **Determinar la histocompatibilidad de cuatro selladores endodónticos y gutapercha usando varios extractos y comparar los daños celulares resultantes de esos materiales en fibroblastos del ligamento periodontal humano**, luego del desarrollo de este estudio, el autor llegó a la conclusión de que **varios selladores de canales radiculares segregan constantes sustancias luego de ser expuestos por períodos extensos, causando posiblemente reacciones de citotoxicidad de moderada a severa.**

Se cuenta también con el trabajo realizado por Ersev, H. y Gottfried S. (1999), titulado **Potencial de Citotoxicidad y Mutagenicidad de varios materiales**

selladores de canales radiculares en células eucariotas y procariotas in vitro. En este tipo de investigación experimental el autor tenía como objetivo **Determinar in vitro los efectos de citotoxicidad y mutagenicidad de varios cementos selladores de canales radiculares de diferente composición química.** Luego de haber sido realizado este estudio se llega a la conclusión de **que la base resinosa AH 26 puede causar reacciones severas de toxicidad inmediatamente después de agregarlos en estudios in vitro de cultivos celulares.**

Otro trabajo realizado por Gerosa, R., Menegazzi, G., Borin M., y Cavalleri G. (1995) titulado **Evaluación Citotóxica de seis selladores de conductos radiculares,** el autor establece como objetivo **Evaluar la toxicidad de los seis selladores endodónticos diferentes más usados en nuestra práctica clínica (AH 26, Pulp Canal Sealer, Ronocanal-R2, Ronocanal-R3, Bioseal y Endomethasona)** para alcanzarlo, desarrolló como tipo de investigación la Experimental, para así concluir que **no hubo correlación positiva entre el eugenol liberado y la citotoxicidad de la película del material del conducto radicular.**

Un estudio Experimental realizado por Hanks, C.T., Strawn, S.E., Wataha, J.C., y Craig, R.G. (1991), titulado **Efectos citotóxicos de los componentes resinosos sobre cultivos de fibroblastos de mamíferos** tuvo como objetivo **Determinar las concentraciones citotóxicas de 11 componentes de resinas sobre monocapas de cultivos de fibroblastos para estudiar los efectos inhibitorios de dichos componentes sobre la síntesis del ADN, el contenido total de la proteína y la síntesis de proteína,** luego de desarrollado este estudio se concluyó que **los componentes de resina poseen efectos sobre las membranas biológicas y de sus componentes, los mas citotóxicos son el oligomero Bis-GMA, ya que actúa irreversiblemente sobre la síntesis del ADN.**

Por otro lado se encuentra el trabajo titulado **Respuesta de la pulpa a la resina insertada en cavidades profundas con o sin sellador superficial,** realizado por Fuks, A., Funnell. B., y Cleaton- Jones, P. (1990), cuyo objetivo principal para ser alcanzado por esta investigación Experimental era **Observar las respuestas de la pulpa al material resinoso colocado en cavidades profundas cubierto con o sin**

zinquenol, y luego de observar los test realizados se observó que **la mayoría de los dientes excepto 4 estaban vitales, un diente evidenció necrosis parcial de los que contenía composite y zinquenol, y de los que tenían solo material composite uno evidenció necrosis parcial después de 5 días y luego de 90 días, aquellos que tenían resina composite + Zoe fueron completamente neuróticos.**

Se encuentra el trabajo realizado por Ratanasathien, S., Wataha, J.C, Hanks, C.T, y Dennison, J.B. (1995), titulado **Efectos citotóxicos interactivos de algunos componentes de cementos dentinarios sobre fibroblastos de rata**, cuyo objetivo principal fue **Investigar la citotoxicidad de cuatro componentes de cementos dentinarios (HEMA, Bis-GMA, TEGDMA, UDMA) y los efectos interactivos de tres combinaciones binarias (HEMA y Bis-GMA, Bis-GMA y TEGDMA y TEGDMA y UDMA) y la conclusión a la que se llegó fue que el Bis-GMA fue el más tóxico, > UDMA > TEGDMA >>> HEMA que fue el menos tóxico. Hubo tres tipos de interacciones (sinergismo, adición y antagonismo).**

Seguidamente, el trabajo de Caughman, W., Caughman, F., Wilburn,B. (1990), titulado **Efectos sobre células orales del Ionómero de vidrio y los cementos resinosos** en el cual el autor establece como objetivo **Evaluar el potencial citotóxico de los agentes resinosos sobre cultivos de fibroblastos gingivales y células del epitelio oral**, luego de realizada la evaluación se llegó a la conclusión de que **el cemento de monómero de vidrio no demostró daño morfológico pero exhibió inhibición de la síntesis de los fibroblastos gingivales, a diferencia de los materiales resinosos con inadecuada polimerización, los cuales causaron visibles efectos de toxicidad severa .**

Por último se cuenta con el trabajo realizado por Guerra de González, L. (1986) titulado **Evaluación de la actividad mutagénica de 11 sicodrogas** con el objetivo de **Canalizar una investigación para evaluar la actividad mutagénica de 11 sicodrogas en 3 sistemas biológicos: microorganismos, plantas y mamíferos** para ello realizó una investigación de tipo Experimental y llegó a la conclusión de **que en la evaluación por el ensayo Alium, el alcohol etílico, la anfetamina, el barbital, la escopolamina y la fenotiazina inducen aberraciones cromosómicas. Este hallazgo**

fue confirmado por el ensayo de micronúcleos, resultando positivos para el alcohol etílico y la anfetamina.

Bases Teóricas.

Desarrollo histórico de los materiales dentales de base resinosa.

Como un intento por mejorar las cualidades estéticas de los materiales restauradores existentes hasta el momento, aparecen a finales del siglo XXI, los materiales restauradores estéticos.

Los **silicatos**, antecesores de las resinas acrílicas y de los composites, fueron los primeros productos desarrollados de este tipo, aparecen en 1871, y estaban compuestos, según Craig, R. (1998) “por una base de polvo de vidrios de silicato y un líquido de ácido fosfórico” que al mezclarse formaban una matriz gelatinosa de sílice con partículas de vidrio sin reaccionar. Este producto era altamente soluble en los líquidos orales y carecía de propiedades mecánicas adecuadas, lo que traía como consecuencia la aparición de grietas superficiales, pérdida de translucidez, que originaba una elevada incidencia de fracasos clínicos precoces. A esto se le adicionaba una respuesta biológica poco favorable de tipo inflamatoria que obligaba a proteger al órgano dentino pulpar.

Las deficientes propiedades físicas y biológicas que presentaban los silicatos condujeron a desarrollar a finales de la década de 1940 y principios de 1950, sistemas de resinas acrílicas sin relleno a base de metacrilato de polimetilo (PMMA), conocidos como **resinas acrílicas**. Estas eran menos solubles en los líquidos orales y reunían parcialmente los requisitos para ser considerados materiales estéticos, por lo que fueron utilizados para realizar restauraciones en anteriores. Sin embargo, presentaban dos grandes fallas: sufrían una excesiva contracción de polimerización y carecían de resistencia a la compresión y a la tracción para poder soportar las fuerzas de la masticación. A raíz de esto, fue muy difícil reemplazar a nivel clínico los silicatos por las resinas acrílicas, por lo que los primeros seguían manteniendo su hegemonía.

En un intento por resolver las fallas existentes en las resinas acrílicas, se agregaron partículas de relleno a las resinas para reducir el volumen de matriz resinosa. Hinostroza, G. (2003) refiere que “la idea precursora se le adjudica a Knock y Glen, quienes en 1951, con fines odontológicos propusieron incorporar partículas cerámicas de relleno a las resinas”.

Los primeros intentos fracasaron porque como no había enlace entre las partículas de relleno y la matriz de resina, ésta se decoloraba, tenía baja resistencia mecánica y era más susceptible al desgaste.

Pero el cambio decisivo se produce a partir de 1962, cuando Rafael Bowen, basándose en la propuesta de Knock y Glen, patentó la fórmula de Bowen. (Hinostroza, G. 2003). En ésta, el metacrilato de polimetilo (PMMA) es sustituido por el Bis-GMA (Bisfenil A glicidilmetacrilato), un dimetacrilato al que se le agregó silano, capaz de cubrir las partículas de relleno para lograr el enlace químico con la resina.

El resultado fue un material de restauración con propiedades muy superiores a las resinas acrílicas conocido como **resinas compuestas o composites**, que dio lugar a la extinción de aquellas a partir de los años '70.

Es así como la fórmula de Bowen permitió que se comenzaran a desarrollar en forma paralela nuevos materiales dentales en base a ella, con el fin de mejorar los ya existentes.

De allí, que surgieran nuevas aplicaciones odontológicas para los materiales dentales de base resinosa:

- Sistemas adhesivos poliméricos.
- Sellantes de fosas y fisuras.
- Cementos selladores endodónticos, cuyo primer representante fue AH26, el cual fue desarrollado por Schroeder en 1954.
- Cementos para fijar restauraciones protésicas, a bases de resinas acrílicas, que se vienen utilizando desde 1952 cuando estaban en auge, pero que fueron sustituidas a partir de los años '70 por cementos a base de resinas compuestas por sus mejores propiedades.

Las primeras resinas compuestas, desarrolladas en los años '70, fueron llamadas *resinas de macrorelleno*, poseían partículas de relleno que tenían un diámetro de 10 a 20 micras, presentaban excelentes propiedades mecánicas pero una superficie muy irregular; para tratar de mejorar tal textura fueron desarrollados composites con partículas de relleno que tenían un diámetro inferior (0,01 a 0,1 micra), a las que designaron *resinas de microrelleno*, este tamaño de partículas permitía incorporar un volumen de resina mucho mayor, por tanto, aunque se logró obtener una superficie homogénea, presentaba los mismos problemas que las resinas acrílicas, una elevada contracción de polimerización; a raíz de estas fallas físicas surgieron las *resinas compuestas de minirelleno*, cuyas partículas de relleno tenían un diámetro inferior a los composites de macrorelleno pero superior a los de microrelleno (0,1 a 1 micra) con esto se lograba obtener una superficie lisa y propiedades mecánicas superiores pero no adecuadas; por lo que comenzaron a aparecer *composites híbridos* que mezclaban diferentes tamaños de partículas para aumentar aún más la cantidad de relleno y mejorar así las propiedades mecánicas de los composites, pero sin sacrificar el acabado liso. En la actualidad, generalmente se están utilizando tamaños de partículas de 0,1 a 1 micra en los nuevos materiales.

Paralelamente al desarrollo de las resinas compuestas aparecieron materiales dentales capaces de adherirse al esmalte, con la finalidad de mejorar la retención de los composites.

Hinostroza, G. (2003), señala a “Oscar Hagger, químico suizo, como el primero en patentar en su país (1949) un producto basado en el dimetacrilato del ácido glicerofosfórico, que intentaba lograr la adhesión de la resina acrílica con el tejido dentario”.

Sin embargo, es a Michael Buonocore al que se le reconoce como el pionero de la adhesión a la estructura dentaria, quien en 1955 propuso el tratamiento del esmalte con ácido fosfórico al 85% para acondicionar el esmalte y facilitar la adhesividad adamantina.

Pero no es sino hasta después de la aparición de las resinas compuestas, cuando nace el primer adhesivo dental.

Hinostroza, G. (2003), refiere que “en 1966, Newman y Sharpe, modificaron la consistencia del material de Bowen, al eliminar parcialmente su relleno cerámico, con la finalidad de producir una resina de muy baja viscosidad, la cual fue la primera en adherirse al esmalte”.

En 1980, Fusayama T. propuso extender el grabado ácido del esmalte a la dentina, con la finalidad de eliminar el barrillo dentinario resultante de la preparación cavitaria, para facilitar así la penetración de los adhesivos al interior de los túbulos dentinarios.

Los adhesivos poliméricos han ido evolucionando a una velocidad impresionante, a tal punto, que no le permite al clínico terminar de adaptarse a un sistema adhesivo cuando ya está apareciendo en el mercado uno novedoso. De hecho, a partir de 1970, los fabricantes adoptaron la tendencia de llamar a sus nuevos productos como de última generación, lo que indujo a la aparición de varias generaciones de adhesivos.

La segunda generación, representada por Scotch Bond (3M) y Prisma Universal Bond (Dentsply), apareció en un intento por lograr adhesión química a la dentina y al barrillo dentinario, que no estaba presente en los de primera generación, pues solo poseían capacidad para adherirse al esmalte, sin embargo, sólo se obtenían, según Leinfelder (1993), citado por Hinostroza, G.(2003), “4 ó 5 Mpa de adhesión a la dentina”.

Por tanto, surge en la primera mitad de los '80 la segunda generación de adhesivos, representada por Scotch Bond 2, Prisma Universal 2, etc; la cual poseía monómeros hidrófilos, como el HEMA, que les aportó niveles de adhesión superiores.

Con el fin de mejorar aún más los sistemas adhesivos, aparece en 1990, la cuarta generación (Optibond Fl (Kerr), Pro Bond (Dentsply), Scotch Bond Multipropósito Plus (3M), etc; que a diferencia de la generación anterior posee un tercer compuesto adicional al acondicionador y al adhesivo: el primer.

Hasta este momento, solo se aceptaba el grabado ácido del esmalte, pero a partir de mediados de los '90, 10 años después de haber sido propuesto por Fusayama, se comenzó a extender el grabado ácido hacia la dentina, aplicándose tanto con los

sistemas adhesivos que ya habían sido desarrollados como con los que serían creados en el futuro.

A finales de 1990, surgieron los sistemas adhesivos de quinta generación, representados por Prime and Bond 2,2.1 y NT; Optibond Solo Plus (Kerr), etc., que solo se diferencia de su predecesor, en que no posee tres frascos sino solamente dos: en un frasco están contenidos el primer y el adhesivo (Bond), y en otro, el acondicionador.

A partir de 1999, aparecen los de sexta generación (Adper prompt L pop (3M Espe), One touch bond (Kuraray), XENO III (Dentsply), que se caracterizan por presentar “virtualmente” los tres compuestos en uno solo: acondicionador, primer y adhesivo; aunque en realidad esa unión se produce en el momento de su aplicación, puesto que se presentan bien sea en un frasco, dividido en dos cámaras, o en dos frascos.

Esta generación y la siguiente se basan, de acuerdo con Hinostroza, G. (2003), en la tendencia denominada auto acondicionamiento que propone no realizar el grabado con ácido fosfórico como paso previo a la aplicación del adhesivo (técnica con la cual se ha descubierto que se obtiene una nanofiltración por debajo de la capa híbrida que se forma entre el adhesivo y la dentina), sino más bien en conjunto con el primer en cuyo caso se les denomina primer autoacondicionador o auto grabador. (Pp.18)

A finales del 2002, surge la séptima generación, representada por el Bond (Kulzer), considerada como una variante de la sexta generación, pues ésta si logra mezclar los tres componentes en un solo frasco.

Generalidades de los materiales dentales de base resinosa.

Los materiales dentales de base resinosa tienen múltiples aplicaciones en la Odontología, esto debido a sus propiedades adhesivas y al beneficio estético que estos proveen. Estos materiales tienen una composición básica parecida, aunque difieren en la cantidad de relleno inorgánico.

Los materiales dentales de base resinosa, se clasifican en Composites, Adhesivos, Cementos Resinosos, Selladores de puntos y fisuras y Selladores Endodonticos de base Resinosa.

Generalmente estos materiales están compuestos por una matriz orgánica y una matriz inorgánica. La matriz orgánica consta principalmente de Bisfenol A- glicidil metacrilato (Bis-GMA); el cual es un monómero de alto peso molecular y muy viscoso. Otro monómero que constituye la matriz orgánica es el Dimetacrilato de Uretano (UDMA) que es una molécula muy parecida al Bis-GMA pero con menor peso molecular y posee menor viscosidad. Algunos de los materiales de base resinosa contienen Hidroxietil Metacrilato (HEMA) y algunos de estos componentes pueden encontrarse disueltos en Trietilenglicol Metacrilato (TEGDMA) que presenta menor viscosidad que los mencionados anteriormente (Anusavice, 1998). El otro componente de estos materiales, las partículas inorgánicas de relleno, generalmente son materiales inorgánicos como cuarzo, vidrio, etc. Algunos también poseen una interfase de silano que permite la unión entre la fase orgánica e inorgánica.

La matriz orgánica de los materiales resinosos presenta ciertas propiedades que han desfavorecido la reacción de polimerización y con esta, sus propiedades mecánicas y biológicas.

Los monómeros Bis- GMA y los Diacrilatos de Uretano sufren contracción de polimerización, la cual puede variar según el grado de polimerización que alcanzan, según el tipo de relleno y la concentración de éste. Uno de los grandes inconvenientes de los materiales resinosos es la presencia de resina sin polimerizar en las restauraciones, esto empeora las propiedades mecánicas de los materiales y a su vez incrementa la pulpotoxicidad de estos materiales. (Bascones, 1998).

Así mismo, la polimerización de los materiales resinosos se puede ver afectada por la presencia de oxígeno, Rueggeberg, F.A. (1990), afirma que “el oxígeno actúa como un inhibidor de la polimerización, siendo responsable de la formación de una zona inhibida en la superficie de la resina que está en contacto con el aire”.

El grosor de esta capa inhibida depende del tipo de monómero que componga el material y del sistema de activación. Los materiales de baja viscosidad como los adhesivos y sellantes presentan capas de resina sin polimerizar (inhibida por el oxígeno) de mayor espesor que los materiales de alta viscosidad como los composites, debido a su mayor composición de TEGMA, una resina diluyente.

Los componentes de esta capa inhibida son similares en composición a los materiales resinosos sin curar, excepto que el complejo activador-iniciador de la polimerización ha sido consumido y sustituido por la formación de un radical peróxido inefectivo como iniciador de la polimerización de las resinas.

Composites: Las resinas compuestas utilizadas en Odontología, surgen de la combinación de materiales de distinta naturaleza química, la *matriz orgánica* de los composites esta constituida por una resina polimérica que generalmente presenta entre sus componentes monómeros Bis-GMA, UDMA diluidos en TEGDMA, la *partícula inorgánica de relleno* generalmente se producen por trituración de diferentes materiales inorgánicos como cuarzo, vidrio de borosilicato, sílice, etc. Se presenta también una *interfase* que permite la unión entre la fase orgánica y la inorgánica, ya que las partículas inorgánicas de relleno no mejoraran las propiedades de la matriz si no logran unirse a ella, de lo contrario producirán un debilitamiento del material., está interfase, está constituida por agentes acopladores de silano como el γ -metacriloxipropiltrimetoxisilano, estos acopladores se utilizan para lograr la unión entre los diferentes componentes de los composites. Además de estas tres fases importantes que presentan los composites, se requieren de otros componentes para lograr la efectividad y durabilidad del material. Es necesario un *agente iniciador – activador* para polimerizar la resina, ya sea esta fotopolimerizable o autopolimerizable. Pequeñas cantidades de otros aditivos proporcionan estabilidad de color al absorber la luz ultravioleta y contienen además algunos pigmentos que activan color aceptable a la estructura del diente, estos pigmentos a menudo consisten en óxidos metálicos que se agregan en cantidades pequeñas y también contienen opacificadores que promueven la mejora del color del material, esto se logra al adicionarle al compuesto dióxido de titanio y oxido de aluminio.

Los Composites se pueden clasificar, según Bascones. (1998), de acuerdo a varios aspectos; por una parte según la cantidad de componentes que presentan en: Bis-GMA y UDMA, por otra según la cantidad de relleno que presentan en: Megarelleno, Macrorelleno, Relleno medio, Minirelleno, Microrelleno y Nanorelleno y finalmente, de acuerdo al tamaño de sus partículas de relleno en: Macrorelleno o convencional,

Microrelleno Homogéneo, Microrelleno Heterogéneo, Composite Híbrido, Composite de relleno medio.

Las propiedades de las resinas compuestas van a depender del porcentaje de relleno y de la unión que se produce entre las fases orgánicas e inorgánicas. Mientras menos sea el relleno, menor es el grado de elasticidad del material, siendo así frecuente a fracturas y desadaptación. El desgaste del material será menor a medida que se aumenta el porcentaje de relleno.

La reacción de polimerización del composite se produce cuando los monómeros que lo componen forman enlaces entre ellos y se logra una reacción química que transforma a los monómeros en polímero. El grado de conversión varía de 52% a un 75% y depende de la composición de las resinas, pero la manipulación de variables, como la fotopolimerización puede modificar dicha conversión. La polimerización de esta resina se puede efectuar al activarse químicamente o con la incidencia de luz ultravioleta, esto se logra por la presencia de iniciadores fotosensibles que componen la reacción de este tipo de resina activada por luz.

- Resina Activada Químicamente: Se presentan como dos pastas, una con el iniciador (Peroxido de Benzoilo) y la otra un activador amina terciaria (N,N – dimetil - ρ - toluidina). Cuando se mezclan, la amina reacciona con el peróxido de benzoilo y forma radicales libres iniciando así la polimerización.

- Resina Fotoactivada: Se proporciona como pasta simple, contenida en una jeringa. La iniciación de los radicales libres consiste en la foto iniciación de las moléculas y un activador de amina contenido en dicha pasta.

La resina compuesta Brilliant (Coltene) es una resina híbrida fina, con un porcentaje elevado de relleno (77%), fotopolimerizable compuesta por Bisfenol A diglicidil metacrilato, Bisfenol A dietoxi metacrilato, Trietilenoglicol dimetacrilato, Vidrio de Bario Silanizado y Ácido silícico amorfo hidrofobizado.

Sistemas adhesivos poliméricos: son materiales o agentes que se van a encargar de articular la estructura dentaria (esmalte y dentina) con el material de restauración

Los adhesivos deben proporcionar suficiente fuerza adhesiva para evitar que se desprendan del diente los materiales de restauración debido a la contracción por la

polimerización de la resina, a las variaciones de tamaño de la restauración por la acción térmica y al desgaste de la restauración.

Los sistemas adhesivos actuales aunque están diseñados para unirse específicamente a la dentina, la cual se caracteriza por ser hidrófila, tener menor cantidad de tejido mineralizado en comparación con el esmalte y estar incluido en una trama de fibras colágenas, también tienen la capacidad de adherirse al esmalte, aunque mediante mecanismos de adhesión diferentes.

A raíz de esto los sistemas adhesivos actuales deben poseer monómeros con grupos bifuncionales; por un lado, deben poseer grupos hidrofílicos para desplazar los fluidos dentinarios y humedecer la superficie, lo que permite penetrar en los poros creados por el acondicionamiento de la dentina, y por último reaccionar con los componentes orgánicos o inorgánicos, lo que da lugar a una unión química. Y con grupos hidrófobos, por otro lado, para poder tener afinidad química con las resinas compuestas cuyos polímeros constitutivos son hidrófobos, de tal manera que pueda ser capaz de impregnar bien el composite, entremezclarse y poder unirse químicamente.

Por tanto, los sistemas adhesivos, poseen tres componentes:

- *Acondicionador*: está constituido por una sustancia de naturaleza ácida, que es capaz, a nivel de esmalte, de eliminar aproximadamente 1,0 μ m de su superficie y disolver las terminaciones del esmalte restante, con la finalidad de producir una superficie porosa, en donde pueda penetrar el agente adhesivo “Bond” para producir retención mecánica. Y a nivel de dentina, de eliminar el barrillo dentinario y de descalcificar la dentina intertubular dejando la matriz de colágeno expuesta con la que interactuará el “primer”.

En general, el ácido es un gel de ácido fosfórico en concentraciones entre 30 y 37%, aunque en algunos sistemas puede ser sustituido por ácido maleico al 10%, oxalato férrico, ácido 4-metacriloxietil-trimelítico anhidro (4-META).

- *Imprimador o “Primer”*: se aplica sobre la dentina acondicionada; está formado por monómeros hidrófilos como el 2-hidroxietilmetacrilato (2-HEMA o HEMA) que se va a encargar de interactuar con la superficie de dentina que pueda

contener alguna humedad, lo que permite que el primer se introduzca entre el colágeno desmineralizado, con el que formará una capa híbrida, una vez polimerizado el primer. Este monómero a su vez, posee un grupo funcional hidrófobo, a través del cual reacciona con el Bond.

- *Bond*: es una mezcla de monómeros acrílicos líquidos como el Bis-GMA y el TEGDMA sin relleno, que se aplica, en el caso del esmalte, sobre la superficie acondicionada con ácido y en el caso de la dentina, sobre la superficie preparada con acondicionador y primer.

El primer o primer/ bond contiene solventes hidrofílicos como acetona, alcohol etílico o agua (Craig, R. 2003.), necesarios para disolver los monómeros hidrófilos del primer, facilitando así, su difusión al interior húmedo de los túbulos dentinarios.

De los tres solventes, el alcohol etílico resulta el más favorable, pues no es tan volátil como la acetona y es menos susceptible a la falta de humedad dentinaria, por consiguiente los adhesivos a base de alcohol se comporta excelentemente en dentina seca o húmeda; a diferencia, la acetona puede evaporarse aún antes de aplicarse sobre el diente, debido a su elevada volatilidad, lo que hace más susceptible a la falta de humedad, la difusión en la dentina de los monómeros de los adhesivos a base de acetona; aunque su comportamiento clínico es muy bueno en dentina húmeda.

El agua se utiliza en los adhesivos autoacondicionadores, debido, por una parte, a su actuación como vehículo de los monómeros transportándolos hacia los espacios creados en la trama colágena, y por otra, a que mejora la capacidad autoacondicionadora de los monómeros ácidos, ya que facilita la ionización.

La tendencia actual es preferir los adhesivos que contienen alcohol como solvente del “primer”.

Actualmente existen múltiples clasificaciones de los Sistemas Adhesivos Poliméricos, una de ellas se basa en la composición química (CRAIG, R. 1998), en la que se encuentran: - *Poliuretanos (PU)*: es capaz de reaccionar con los grupos Hidroxilo (OH) o Amonio (NH₂) del mineral o los componentes orgánicos de la dentina, una vez que el poliuretano ha reaccionado con la dentina es capaz de interactuar con el composite. - *Fosfonatos Orgánicos (FO)*: en un extremo tiene un

grupo fosfato capaz de reaccionar con el calcio del cristal de hidroxiapatita y en el otro extremo, tiene un doble enlace carbono-carbono que reacciona con el composite.

- *Anhidros metílicos más metacrilato de metilo (4-META)*: el adhesivo de anhidro metílico se disuelve en metacrilato de metilo, formando el monómero ácido 4 metacriloxietil-trimelítico anhidro (4-META). Por un lado, el anhidro se hidroliza con grupos OH de la superficie dentinaria formando un diácido que funciona como un ácido acrílico; y por el otro, el doble enlace carbono-carbono reacciona con el composite.

- *Hidroxiethylmetacrilato más Glutaraldehído (HEMA + GA)*: el glutaraldehído reacciona con un grupo amino de la parte orgánica de la dentina y también con el HEMA, que a su vez reacciona con el composite a través del doble enlace carbono-carbono.

- *Oxalato férrico + NPG-GMA (Producto de la reacción de N-fenil o tolil glicina con glicidilmetacrilato) + PMDM (Producto de la reacción de dianhidrido piromelítico y 2-hidroxiethylmetacrilato)*: en este sistema adhesivo el oxalato férrico que puede ser sustituido por ácido fosfórico o ácido nítrico diluido, elimina el barrillo dentinario de la superficie dentinaria y actúa como mordiente; mientras que el NTG-GMA se une a la dentina por un extremo y por el otro al composite, a través, del doble enlace carbono-carbono.

- *HEMA/BIS-GMA + Ácido Maleico*: en este sistema la superficie dentinaria se acondiciona con una solución ácida acuosa de HEMA y ácido maléico, sobre la cual va a polimerizar el HEMA/BIS-GMA, de tal manera que se forme una capa de transición entre la dentina hidrófila y el composite hidrófobo, lo que exige que la dentina no este completamente seca para poder lograr adhesión, y por último, el *Bisfenil dimetacrilato (BPDM)*: este adhesivo es parecido al PMDM, además de poseer BPDM contiene grupos carboxílicos que le permiten adherirse al composite.

También pueden ser clasificados, según HINOSTROZA, G. (2003), de acuerdo al acondicionamiento ácido, en: *Los que emplean un acondicionador ácido previo*: la mayoría de los adhesivos actuales pertenecen a este grupo, pues sus resultados son homogéneos y previsibles. Su único inconveniente es que el ácido y el adhesivo se aplican en etapas diferentes, por lo que se puede producir una desmineralización cuya profundidad puede llegar más allá de la zona de difusión e impregnación del

adhesivo, evidenciándose la nanofiltración discutida anteriormente; y *Los autoacondicionadores*: surgieron en respuesta a la nanofiltración observada con los sistemas adhesivos en donde el ácido y el primer se aplican en pasos diferentes. Estos sistemas se basan en agentes que no se lavan y son capaces de actuar simultáneamente como *acondicionadores* del esmalte y la dentina y además como *primers*; evitando así la posibilidad de una capa desmineralizada que no pueda ser infiltrada por el adhesivo, ya que la desmineralización de la dentina y su penetración por el adhesivo ocurre al mismo tiempo. Como no hay una fase de lavado, tanto el barrillo dentinario como la hidroxiapatita disuelta por la acción del adhesivo autoacondicionador quedan incorporados en el mismo; y adicionalmente se simplifica la técnica de utilización.

Por último, tomando en cuenta el sistema de activación de los Sistemas Adhesivos Poliméricos, Hinostroza, G. (2003), los clasifica en: *Fotoactivados*: la polimerización se inicia cuando el clínico lo necesite, pues requiere de que la lámpara de fotocurado sea aplicada para poder comenzar a reaccionar. Además, son más estables cromáticamente, ya que no hay formación de compuestos químicos que puedan decolorarse con el tiempo. Estos sistemas adhesivos deben aplicarse debajo de resinas compuestas fotopolimerizadas porque son incompatibles con composites autoactivados. *Activados Químicamente*: Actualmente están casi en desuso, han sido sustituidos por los de fotopolimerización y los de curado dual; y *De Doble Activación*: en estos sistemas, la activación química inducida por el peróxido-amina es lenta y proporciona extenso tiempo de trabajo hasta que el adhesivo se exponga a la luz y se polimerice, solidificándose rápidamente. La polimerización activada químicamente continúa por un largo período aumentando la resistencia de los adhesivos.

El sistema adhesivo One Coat Bond (Coltene) es un agente de adhesión multifuncional, monocomponente que pertenece a los de quinta generación, posee poca cantidad de relleno (25%), su activación se produce por luz ultravioleta, y está compuesto por: *Primer/Bond*: Hidroxietilmetacrilato (HEMA), Hidroxipropilmetacritato (HPMA), Dimetacrilato de Glicerina, Polialquenoato

metacrilizado, Uretanodimetacrilato (UDMA), Ácido silícico amorfo. *Acondicionador:* Agua, Ácido fosfórico al 15%, Ácido fosfórico al 35% y Gelificantes.

Cementos de base resinosa: Se utilizan en Odontología cementos a base de resinas acrílicas o de composites para cementar coronas, puentes fijos, así como fijadores de restauraciones estéticas de cerámica.

Los cementos resinosos que se utilizaban antiguamente estaban compuestos fundamentalmente por polvo de poli (metacrilato de metilo) con diferentes rellenos inorgánicos y por un líquido de metacrilato de metilo. Se usaba un peróxido iniciador y una amina aceleradora para lograr la polimerización (Craig, R. 1998).

Los cementos de composite están constituidos por composites híbridos de microrelleno o de partículas pequeñas y contienen fundamentalmente BIS-GMA o resinas de dimetacrilato de uretano y un relleno de vidrio o sílice ahumada (20 – 75% de su peso).

Existen cementos de composite autopolimerizables y otros de curado dual.

Los *autopolimerizables* están constituidos por un polvo y un líquido o por dos pastas. Estos tipos de cementos presentan en su composición un oligómero de Diacrilato diluido con monómeros de Dimetacrilato de menor peso molecular como componente orgánico y en su parte inorgánica contiene vidrio o sílice silanizado. Sistema de Peróxido- Amina presente como proceso Iniciador – Acelerador. Los cementos de resina adhesiva, son igualmente autopolimerizables y constituidos por un polvo y un líquido. Presenta en su composición Fosfato de Metacriloxietil – Fenilo o 4 Metacriloxietil – Trimelítico Anhidro (4- META) que también contiene un Monómero de Metacrilato de Metilo y un relleno de resina acrílica y como catalizador utiliza Tri- butil-borano.

El cemento Parapost (Coltene) es un sistema de adhesión pasta-pasta, a base de resina autopolimerizable que posee elevada cantidad de relleno (59.5 %) pero menor que los composites, se encuentra compuesto por una Base: Bisfenol A diglicidilmetacrilato (BisGMA), Bisfenil A dietoximetacrilato (BisEMA), Trietilenglicolmetacrilato (TEGDMA), Vidrio de Bario Silanizado y Sílice amorfo, y

por un Catalizador: Bisfenol A diglicidimetacrilato (BisGMA), Bisfenil A dietoximetacrilato (BisEMA), Trietilenglicolmetacrilato (TEGDMA), Vidrio de Bario Silanizado, Sílice amorfo y Peróxido de Benzoilo.

Cementos selladores a base de resina: En Endodoncia, al momento de efectuar el sellado de los conductos, la gutapercha sola es incapaz de producir obliteración completa de los mismos, de esta manera surgen los materiales en estado plástico para rellenar las irregularidades internas que se pudieran presentar en dichos conductos; los selladores y las pastas son los materiales utilizados para este fin, la diferencia de ellos se presenta ya que los selladores a diferencia de las pastas interaccionan entre sí para producir fraguado y estabilidad. De los cementos selladores a base de resina el más utilizado es el AH26, fue el primer cemento introducido en los Estados Unidos, en 1957. Este ha variado recientemente su formula a fin de suprimir la liberación de formaldehído durante el fraguado y es ahora conocido como AHPlus. También se encuentra en el mercado el Topseal un cemento análogo al AHPlus.

El formaldehído es un subproducto de los cementos selladores, cuando el formaldehído es ingerido el cuerpo lo rompe fácilmente convirtiéndolo en ácido fórmico. Que es rápidamente eliminado del cuerpo. Estos cementos, en general presentan propiedades de adhesión a la estructura dentaria que le provee su consistencia plástica, están formados por complejos de sustancias inorgánicas y plásticas. Los selladores endodónticos, se pueden presentar en sistema polvo- líquido que al ser mezclado forman un sellador adhesivo. Este sistema presenta la ventaja de poderse escoger la viscosidad del material.

El AH26 es una resina epóxica que consiste en un polvo y un líquido, posee plata como agente radiopaco primario y una resina Bisfenol A como el líquido o gel, endurece a temperatura corporal, y a medida que fragua va liberando residuos de formaldehído de manera temporal; esto es beneficioso al compararlo con la liberación a largo plazo de los selladores convencionales que contienen este componente. Además presenta buenas propiedades físico mecánicas, de radiopacidad, adhesividad, baja contracción, solubilidad y eficacia selladora.

El AH Plus es comercializado como un cemento sellador endodóntico libre de formaldehído, viene en un sistema de dos pastas. La pasta A contiene una resina epóxica y óxido férrico, y la pasta B contiene aminos y aceite de siliconas. Ambas pastas A y B contienen tungstato de calcio, óxido de zirconio y aerosil.

El AHPlus fue desarrollado con la finalidad de mejorar la manipulación clínica y las características citotóxicas del cemento sellador endodóntico AH 26.

El Topseal es otro representante de los cementos selladores endodónticos, su composición es igual a la del AHPlus. Está compuesto por un sistema pasta-pasta. La pasta A contiene resina epoxica, tungstenato de calcio, óxido de zirconio, aerosol y óxido de hierro. La pasta B contiene Amina adamantina, N-N- dibencil-5-oxanonano-diamina 1,9, TCD-diamino, tungstenato de calcio, óxido de zirconio, aerosol y aceite de silicona.

¿Biocompatibilidad de los materiales dentales de base resinosa?

Los materiales dentales de base resinosa poseen componentes derivados del Bisfenol A, un policarbonato cuyos derivados son utilizados en la fabricación no solo de resinas, sino también de equipamientos eléctricos, automóviles, equipos deportivos y médicos, contenedores para comida y bebida, recubrimiento de latas, tapones de botellas, fungicidas, etc. Este es potencialmente cancerígeno con actividad genotóxica y de transformación celular sobre el sistema endocrino, pudiendo ser capaz de generar trastornos del desarrollo y del sistema reproductor, tales como pubertad prematura en niñas, alteraciones en la fertilidad masculina e incluso cáncer (Matasa, C. 2002).

Tomando en consideración lo anterior, sería demasiado ingenuo pensar que los materiales dentales de base resinosa son sustancias inertes; por el contrario, existen evidencias, las cuales serán expuestas más adelante, de que los materiales dentales de base resinosa pueden ser capaces de producir tanto toxicidad a nivel celular como mutagenicidad, conllevando a efectos locales e incluso sistémicos, tales efectos son evaluados a través de diversas pruebas de biocompatibilidad que para poder ser comprendidas es necesario conocer qué ocurre en la división celular.

Basándose en el principio (*Omnis cellula e cellula*) se puede decir que todas las células se forman por división de células preexistentes (Finngeneser, 1993). Es el proceso de división celular el que permite la continuación de la especie, siendo esta para los protozoos la base para la continuidad de la vida. La división celular puede ocurrir por dos procesos, la Meiosis y la Mitosis.

La Meiosis: Es el nombre que reciben las divisiones nucleares de algunas células especiales destinadas a producir los gametos. En los seres humanos y otros animales, la meiosis se produce en las gónadas y los productos de la meiosis son gametos (espermatozoide y óvulos)

La Mitosis: Es la división nuclear asociada a la división de las células somáticas, este proceso asegura que cada nueva célula hija tendrá el mismo número y clase de cromosomas que la célula madre original; la cual generara un gran número de células idénticas a ella. Cada mitosis está asociada generalmente a una única división celular que produce dos células hijas genéticamente idénticas (Griffiths, A. 1993). Durante este proceso la cromatina se condensa y se separan los cromosomas de cada par, al formarse las dos células hijas; produciendo así que cada cromosoma nuclear forme una copia a lo largo de sí mismo y que luego esta estructura se divida para convertirse en dos cromosomas hijos, cada uno de los cuales se dirige a un núcleo descendiente diferente. Esto da como resultado la aparición de dos núcleos idénticos entre sí y al núcleo del que fueron formados. Este proceso de división celular, se observa principalmente en las células somáticas de organismos multicelulares; los cromosomas de especies diferentes, pueden variar en longitud, tamaño, número y otras características, sin embargo la mitosis es muy similar en las células animales y vegetales y fue observado por primera vez en el año de 1882, por Flemming en la salamandra *Triturus maculosa*. Este proceso es ordenado estrictamente y transcurre continuamente, a fines prácticos se puede dividir en cuatro fases.

Etapas de la Mitosis

- **Profase:** En esta fase se produce la condensación de la cromatina. Esto se forma cuando los cromosomas van formando espirales o enrollamientos sobre sí mismo que produce estructuras que pueden desplazarse con más facilidad. Es en esta primera

fase cuando los cromosomas comienzan a ser visibles, los cromosomas individuales se observan como filamentos, los cuales se hacen más cortos y gruesos. Los cromosomas permanecen agrupados durante la mayor parte de esta fase, la membrana nuclear se empieza a fragmentar, es aquí cuando comienza a disminuir el tamaño del nucleolo para al fin desaparecer, se duplican los centriolos y los dos pares de centriolos migran hacia los polos opuestos de la célula. Se forma lo que se conoce como Huso Mitótico (conjunto de fibras que salen de los centriolos pilares) por su lado el nucleoplasma y el citoplasma se vuelven uno solo, esto ocurre en los últimos minutos de la profase.

- **Metafase:** Los cromosomas se ordenan en el plano del ecuador celular. Se produce una condensación total de la cromatina, por ello los cromosomas se observan como estructuras fuertemente coloreadas. Se hace visible el huso nuclear (estructura con apariencia de jaula de pájaro que aparece en la zona nuclear) la cual está formada por una serie de fibras que apuntan a los dos polos de la célula. El centrómero, es una zona no coloreada en el interior de un arrollamiento que tiene cada cromosoma y este es el encargado de unir las dos cromátidas humanas. Al final de la metafase, se divide el centrómero, y cada una de las cromátidas se considera un cromosoma hijo.

- **Anafase:** Es en esta fase donde comienza la separación de las dos cromátidas humanas. Se produce a migración de los cromosomas desde la placa ecuatorial hacia el polo celular, y se observan una serie de estructuras en forma de V, con sus vértices dirigidos a los polos. Esta migración pudiera ser producto de la presencia del filamento de actina en el huso mitótico. La finalización de la anafase se caracteriza por la agrupación de los dos juegos de cromosomas hijos en su respectivo polo celular.

- **Telofase:** Se inicia la finalización de la división nuclear, y se lleva a cabo la formación de los dos núcleos hijos, los cromosomas empiezan a expandirse y extenderse logrando reunirse en los dos polos de la célula que será producto de división y se vuelve a formar la envoltura nuclear que aísla a las sustancias que componen al núcleo, se desenrollan los cromosomas, reaparecen los nucleolos; el

complemento cromosómico de cada célula hija resultante es idéntico al de la célula madre.

Múltiples pruebas han sido desarrolladas con el fin de evaluar la biocompatibilidad de los materiales dentales de base resinosa ampliamente utilizados en la Odontología restauradora y en la Endodoncia.

Pruebas para evaluación de biocompatibilidad

El propósito de las pruebas de biocompatibilidad a nivel odontológico, es eliminar cualquier probable producto o componente de un producto que pueda causar daño al tejido bucal o peribucal (Anusavice, K. 1998). De tal manera, que los Odontólogos apliquen en la boca de sus pacientes solo materiales que contengan ingredientes que sean considerados seguros para el ser humano.

Según Anusavice, K (1998), las pruebas se clasifican en tres niveles, en el primer grupo se encuentran las **pruebas primarias**, en las que el material es evaluado utilizando un ensayo de citotoxicidad o genotoxicidad in vitro. En los ensayos de citotoxicidad los materiales dentales, en estado fresco o curado, se colocan directo en las células de cultivo de tejidos vegetales, animales o humanos, que reaccionan a los efectos de los componentes o productos que se filtran por las barreras. Por su parte, las pruebas de genotoxicidad se llevan a cabo en sistemas biológicos de mamíferos, microorganismos y plantas para establecer si los materiales y extractos de materiales que se desean evaluar son capaces de producir mutaciones genéticas, cambios en la estructura cromosómica u otras modificaciones genéticas o del Ácido desoxirribonucleico.

Si se prueba que el material no es citotóxico o genotóxico in vitro, se procede a aplicar el segundo grupo de pruebas, que son conocidas como **pruebas secundarias**, éstas se aplican para determinar si el material evaluado es capaz de originar toxicidad sistémica, por inhalación, irritación o sensibilización de la piel y por respuestas de implantación. En estas, el material evaluado es implantado en el tejido subcutáneo o intra óseo una vez que se ha comprobado la compatibilidad biológica del material evaluado mediante las pruebas secundarias, se somete a **pruebas para uso**

preclínico, las cuales pertenecen al tercer grupo, para evaluar la reacción in vivo del tejido frente al material estudiado sobre sujetos humanos o animales

Las pruebas del grupo I (primarias y genéticas) son los estudios in vitro usados más comúnmente para determinar la biocompatibilidad de un material, por su simplicidad, rapidez y bajo costo, aunque no siempre los resultados obtenidos *in vitro* reflejan lo que puede ocurrir *in vivo* porque las condiciones entre uno y otro son diferentes.

Uno de los métodos para evaluar la citotoxicidad de un material es el ensayo Allium, debido a que el tejido meristemático de esta especie vegetal se encuentra en división mitótica permanentemente y puede durar entre 1 y 3 horas. Mediante este ensayo se evalúa la acción de proteínas microtubulares afectando así el aparato mitótico de Allium provocando alteraciones en la división celular que pueden manifestarse como aberraciones cromosómicas o pueden influir en la división celular, inhibiendo o acelerando el índice mitótico.

Guerra, L. (1986) refiere que mediante la observación al microscopio de las células en mitosis a las que se les aplicó el ensayo, se pueden determinar cuatro tipos de efectos: *Mitorepresivo*, se observa inhibición de la mitosis, como consecuencia de un efecto citotóxico. *Mitoclásico*, se observa defectos en la división del citoplasma, provocando células poliploides (evidenciadas en Metafase) o células polinucleadas (visualizadas en Interfase). *Cromatoclásica*, provoca fragmentación, inversión, desarreglo y/o migración anormal de los cromosomas, los cuales pueden ser visualizados en Anafase, Metafase y Telofase; estos efectos y los mitoclásicos pueden ser considerados como aberraciones cromosómicas propiamente dichas. *Mitoactivador*, activan la velocidad de división de la célula, incrementando el índice mitótico.

Efectos tóxicos de los materiales dentales de base resinosa

La compatibilidad biológica de los materiales dentales de base resinosa depende de su matriz orgánica, es decir, de los monómeros y aditivos constituyentes, ya que las partículas inorgánicas de relleno suelen ser químicamente inertes.

Por ende, Matasa, C. (2002), afirma que “el efecto tóxico de los materiales resinosos es proporcional con el contenido de relleno inerte y decrece en el siguiente orden: sellantes> sistemas líquido-sólido>sistemas líquido-pasta> sistemas pasta-pasta”.

Los materiales resinosos pueden liberar sustancias derivadas de la matriz de resina que no llega a polimerizar, las cuales han demostrado ser tóxicas en los exámenes de citotoxicidad y estudios de implantes; la cantidad de monómeros que llegan a ser liberados depende tanto del peso molecular como de la capacidad intrínseca de difusión de la sustancia. Por tanto, cuando entran en contacto con células cultivadas o tejido pulpar, los componentes resinosos presentan citotoxicidad reportada.

Sin embargo, el mecanismo por medio del cual estas sustancias ejercen tales efectos no está muy claro, aunque, como señala Fujisawa y col, 1998, citado por Hinojosa, G. (2003), existen evidencias de que “los monómeros resinosos (especialmente metacrilatos) pueden ser incorporados en la bi- capa lipídica de la membrana celular, la cual es solubilizada por los propios monómeros. Este fenómeno puede causar serios daños a las células y derivar en su muerte”. Por otra parte, Hinojosa, G. (2003); cita a Soheili y col, (2003) quien señala que “el mecanismo de citotoxicidad de estos materiales puede darse como resultado de un estrés oxidativo”.

Como se mencionó anteriormente, los materiales resinosos pueden ser capaces de producir efectos sistémicos, efectos locales y efectos mutagénicos.

Efectos Sistémicos

Gotfried, S. (1998), refiere según estudios experimentales in vitro que “se ha demostrado que estos efectos tienden a ser escasos y no indican riesgos inaceptables para la salud general del paciente. Asimismo refiere mayores evidencias de toxicidad sistémica aguda que de toxicidad crónica”.

Según Matasa, C. (2002); “el trietilenglicol dimetacrilato (TEGDMA) y el 2-hidroxi – etilmetacrilato (HEMA) pueden generar efectos sistémicos adversos en pacientes y de hecho han mostrado ser más tóxicos en células de pulmón que algunos componentes del mercurio”.

Ambos monómeros son conocidos por producir reacciones alérgicas en Odontólogos e higienistas dentales.

En el mismo orden de ideas, el HEMA, por ser hidrosoluble puede causar efectos mayores en comparación con los otros monómeros; este es capaz de suprimir la actividad mitocondrial de los macrófagos, pudiendo generar reacciones inflamatorias en el tejido conectivo.

Por otro lado en estudios experimentales en ratas, se ha confirmado que el Bis-GMA, al igual que su agente, es un estrogénico débil, pues es capaz de influir en el crecimiento de las glándulas mamarias. Sin embargo, al respecto existe controversia, pues algunos estudios han concluido que los materiales resinosos no representan una fuente significativa de Bisfenol – A.

Efectos Locales

Los materiales dentales de base resinosa son capaces de causar cambios patológicos en el tejido pulpar. Sin embargo, ciertos investigadores no apoyan esta afirmación, y por el contrario ellos aseguran que la filtración bacteriana a través de los márgenes de la restauración es la única responsable de las reacciones pulpares.

Al respecto, Gotfried, S (1998) refiere que “no llegan a ocurrir reacciones locales de la pulpa si no hay exposición pulpar y si la penetración bacteriana es evitada”.

Asimismo, Bascones, A. (1998) afirma que

los resultados de biocompatibilidad in vivo demuestran que no existe irritación pulpar, o esta es prácticamente nula, independientemente del grado de polimerización de la resina compuesta, a no ser que exista un inadecuado sellado de los márgenes que permita la penetración de bacterias (pág. 2581)

No obstante; estudios recientes han confirmado; que la pulpotoxicidad, es consecuencia por una parte de la penetración bacteriana, como resultado de la micro filtración marginal, debido a una adaptación deficiente del material de restauración a la estructura dentaria; o a cambios químicos o físicos que puede sufrir el material después de su inserción y, por otra de la toxicidad del material resinosa en sí.

Adicionalmente a los efectos tóxicos sobre la pulpa se han demostrado por un lado, los efectos tóxicos de los composites sobre el periodonto, cuando se realizan restauraciones, con márgenes subgingivales que permiten un íntimo contacto entre el

tejido periodontal y los componentes solubles de los composites. Y por el otro, los efectos tóxicos de los cementos selladores endodónticos sobre el tejido periapical. .

La agresión química a dichos tejidos por parte de los materiales resinosos es posible si los componentes se difunden a través de los materiales y posteriormente alcanzan la pulpa, el periodonto y el periápice. Parece que el ácido grabador abre los túbulos dentinarios y, aparentemente no es dañino per se; permite una mayor penetración del adhesivo de baja viscosidad, que contienen monómeros de bajo peso molecular potencialmente irritantes. Los componentes que más pueden penetrar a la pulpa son los dimetacrilatos

De acuerdo con estudios previos, las resinas compuestas (composites) están relacionadas con reacciones pulpares por lo general de grado moderado y generalmente reversibles como dilatación y congestión de los vasos sanguíneos, respuestas inflamatorias, producción de dentina irregular, así como desplazamiento de los odontoblastos, o con sensibilidad post- operatoria. (Ratanasathien, S y cols. 1995). Por su parte Hanks y cols (1991) refiere “que los composites están asociados con necrosis e irritación pulpar”.

Tales reacciones están relacionadas con la presencia del monómero Bis-GMA y TEGDMA. Caughman, W y cols (1990) afirman que “la citotoxicidad de las resinas que contienen Bis-GMA se debe a nuevos productos tóxicos que precipitan después de la inserción del material o a productos tóxicos residuales de una reacción de polimerización incompleta” .

Hanks y cols (1988) al realizar un estudio en el que extrajeron con solventes como etanol, cloroformo o tolueno los componentes residuales de 4 composites polimerizados, demostraron que la extracción con estos solventes de los componentes sin reaccionar, redujo los efectos citotóxicos de los composites en un 90%. El principal componente sin reaccionar fue identificado como Bis-GMA, además de benzofenona (un estabilizador de rayos UV) y el ester de ácido benzoico.

Los sistemas adhesivos poliméricos son colocados antes de la inserción de los composites, por tanto al estar en contacto directo con la dentina es muy probable que sean capaces de suprimir la actividad mitocondrial de macrófagos y generar así, las

reacciones pulpares desfavorables que le son atribuidos a los composites, debido a que los “monómeros residuales pueden difundir a través de los túbulos dentinarios y alcanzar el tejido pulpar, inclusive contra la presión intrapulpar del fluido dentinario” (Hinostroza, G. 2003).

Sin embargo, Anusavice (1998), afirma que “los materiales resinosos adecuadamente polimerizados son relativamente biocompatibles porque muestran solubilidad mínima”.

Como se describió anteriormente, los materiales dentales de base resinosa están constituidos por múltiples componentes, por tanto es posible que los efectos tóxicos confirmados resulten de la interacción de los mismos.

Al respecto, Ratanasathien y cols (1995) estudiaron la citotoxicidad de cuatro componentes de los sistemas adhesivos. HEMA, Bis-GMA, TEGDMA y UDMA y el efecto de la interacción de tres combinaciones binarias: HEMA y Bis-GMA, Bis-GMA y TEGDMA, y TEGDMA y UDMA. Como resultado, los autores reportaron que existe sinergismo y antagonismo entre los diferentes componentes de los sistemas adhesivos dentinarios, dependiendo de la concentración del monómero y del tiempo de exposición.

Por lo general, el antagonismo fue dominante a las 24 h, mientras que el sinergismo llegó a ser la interacción dominante a las 72 h de exposición, lo que se traduce en que los agentes adhesivos tienen el potencial de causar toxicidad pulpar a concentraciones menores que las que causarían por si solas.

La citotoxicidad fue reportada en el siguiente orden decreciente: Bis-GMA > UDMA > TEGDMA >>> HEMA.

Asimismo Craig, R.(1998), refiere, que “el HEMA es como mínimo 100 veces menos citotóxico que el Bis-GMA y que estos efectos son aun menores cuando existe una barrera de dentina; sin embargo, la combinación de HEMA con otras resinas pueden actuar sinérgicamente, produciendo citotoxicidad in vitro” .

Por otra parte, aunque Maeglin (1960) citado por Lasala, A. (1992) considera “que el AH26 no es nada irritante para los tejidos periapicales y es hasta “implantable”, y favorece en todo momento el proceso de reparación”. Estudios recientes reportan lo

contrario y exponen que los cementos selladores a base de resina (AH26 y AHPlus) son capaces de producir reacciones tóxicas severas. (Cohen, B. y cols (2001); Handan, E. y cols (1999), Huang, F.M. (2002). Geurtsen, W. (1998), Gerusa, R. (1995)).

La toxicidad del AH26, parece estar relacionada con diferentes componentes como la amina (Hexametilenetetramina) que en un ambiente ácido se descompone a amonio y formaldehído; la liberación de formaldehído, cuya mutagenicidad ha sido probada y a la resina líquida Bisfenol –A- diglicidileter. Mientras que la toxicidad del AH Plus, se debe principalmente, a la presencia del Bisfenol –A- diglicidileter, pues la cantidad de formaldehído que posee es escasa.

Efectos Mutagénicos

Se ha demostrado que el glutaraldehído que contienen ciertos sistemas adhesivos ejercen efectos mutagénicos sobre ciertas cepas bacterianas utilizadas en el test de mutagenicidad AMES y sobre células de mamíferos.

Asimismo, el N- butil boran – óxido demostró ser mutagénico a nivel bacteriano y el Dimetil- paratoluidina (DMPT) indujo alteraciones cromosómicas numéricas (Gotfried, S. 1998)

Por otra parte, Hanks, C.T y cols (1991), demostraron que el BIS-GMA, UDMA y TEGDMA son capaces de reducir la síntesis de ADN y de proteínas, inhibiendo de esta manera la función metabólica de la célula, lo que conllevaría a una toxicidad crónica, reflejada en una mayor vulnerabilidad de la célula o tejido a agresiones provenientes de otras fuentes; o inclusive, conllevarían a la muerte o irreversibilidad del proceso citotóxico.

También se han observado efectos mutagénicos en los cementos selladores endodónticos. Ersev y cols (1999), afirman por una parte que “la mutagenicidad del AH26 puede deberse al componente líquido Bisfenol A diglicidil eter y por otra a la liberación de formaldehído, cuya concentración se incrementa a partir de los 2 días en más de 200 veces con respecto a la concentración que existe en el cemento AH26 recién mezclado”.

Es importante destacar que los materiales dentales de base resinosa han demostrado ser más citotóxicos en estado fresco o no curado, es decir, poco tiempo después de la colocación del material, que a largo plazo, este fenómeno parece estar relacionado con la temprana liberación de componentes residuales de la matriz orgánica que no intervinieron en la reacción de polimerización.

Al respecto, Bouillaguet, S. y cols (2002) confirmaron que “los composites fueron más citotóxicos a las 24 h de envejecimiento que a las 8 semanas” .

Múltiples factores pueden incrementar los riesgos de citotoxicidad de estos materiales.

Por una parte, la polimerización incompleta del material, bien sea por un tiempo de fotopolimerización inadecuado, en el caso de resinas fotocuradas, o por la inhibición del proceso por parte del oxígeno. Según Quilan, C.A y cols (1999), “las resinas compuestas son potencialmente tóxicas, particularmente si el grado de fotocurado es inadecuado”.

Los materiales resinosos mal polimerizados o sin polimerizar, son mas solubles, por tanto mas capaces de difundirse a través del tejido dentinario, lo que explica el alto grado de reacciones iniciales, pero también sirven de reservorio de los componentes residuales que pueden inducir reacciones tisulares adversas, a largo plazo; además, en la capa superficial inhibida por el oxígeno puede quedar una cantidad de formaldehído, que como se ha descrito anteriormente es fuertemente citotóxica.

Por otra parte, la contaminación con humedad durante la colocación del material, también incrementa el riesgo de que se presenten reacciones adversas luego de completada la colocación, pues, tal contaminación inhibe la polimerización de las cadenas de monómeros, aumentando la solubilidad de los materiales y por ende, su irritabilidad.

Definición de Términos Básicos.

Biocompatibilidad: Grado en el cual el sistema inmunitario del organismo tolera la presencia de materias extrañas, sin una reacción de rechazo.

Citotoxicidad: Nocivo o destructivo para las células.

Genotóxico: Sustancia que daña al ADN y en consecuencia puede causar mutaciones o cáncer.

Índice Mitótico: N° de células en mitosis en relación a 1000 células totales.

Monómero: Molécula que se repite a si misma para formar un polímero.

Mutagenicidad: Propiedad de causar mutación genética

Polímero: Compuesto químico, natural o sintético, formado por polimerización y que consiste esencialmente en unidades estructurales repetidas.

Sistema de Hipótesis.

Hipótesis 1: La no polimerización de los materiales dentales de base resinosa producen efectos citotóxicos sobre células de *Allium sativum*.

Hipótesis 2: Los materiales dentales de base resinosa ejercen efectos citotóxicos irreversibles.

Hipótesis 3: Los materiales dentales de base resinosa son capaces de inducir efectos tóxicos severos a las pocas horas de colocado el material; sin embargo, tales efectos disminuyen con el paso del tiempo.

Hipótesis 4: La combinación de los sistemas adhesivos con los composites trae como consecuencia, mayor inducción de efectos tóxicos que los que producirían por sí solos.

Operacionalización de Hipótesis

HIPOTESIS	VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSION	INDICADORES
La polimerización incompleta de los materiales dentales de base resinosa produce efectos citotóxicos sobre células de <i>Allium sativum</i> .	- Polimerización incompleta	Proceso de unión química de monómeros para obtener moléculas de peso molecular elevado, en el cual quedan unidades monoméricas sin interactuar	-Inhibición del crecimiento. -Efecto sobre la velocidad de división celular.	-Resinas fotocuradas -Tiempo insuficiente de exposición a la lámpara de fotocurado -Inhibición del proceso por parte del oxígeno atmosférico -Presencia de monómeros residuales
	- Efecto citotóxico	Efecto nocivo o destructivo para la célula	- Aberraciones cromosómicas.	
Los materiales dentales de base resinosa ejercen efectos citotóxicos irreversibles	-Materiales dentales de base resinosa	Son materiales de aplicación Odontológica que contienen por una parte, una matriz orgánica compuesta por poliésteres alifáticos (TEGDMA, HEMA, UDMA) y poliestéres aromáticos (Bis-GMA) y por la otra, una matriz inorgánica de relleno	-Inhibición de la división celular. -Estimulación de la división celular. -Alteraciones morfológicas. - Aberraciones cromosómicas. -Muerte celular.	-Alteración del aparato mitótico. - Mutación cromosómica.
	- Efecto citotóxico			

HIPOTESIS	VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	DIMENSION	INDICADORES
Los materiales dentales de base resinosa son capaces de inducir efectos citotóxicos severos a las pocas horas de colocado, sin embargo, tales efectos disminuyen con el paso del tiempo	-Materiales dentales de base resinosa		-A corto plazo: mayor citotoxicidad	-Efecto a las 24 horas
	-Efectos citotóxicos			-Efecto a las 48 horas
	-Tiempo	Duración de un determinado fenómeno	-A mediano plazo: menor o nula citotoxicidad	-Efecto a las 72 horas
La combinación de los sistemas adhesivos con los composites trae como consecuencia mayor inducción de efectos citotóxicos que los que producirían por sí solos	-Combinación binaria de los materiales dentales	Aplicación de dos materiales simultáneamente	-La aparición de efectos sinérgicos depende del tipo de combinación -El tipo de efecto depende del tiempo de interacción	- Composite + Sistema Adhesivo
	-Efectos citotóxicos			

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

Tipo de Investigación.

Para el estudio de la citotoxicidad de los materiales dentales de base resinosa (cementos selladores endodónticos, composites, adhesivos y cementos resinosos), se realizará una investigación de tipo Experimental; la cual es definida por Hernández S, R. (1996) como “Un estudio de investigación en el que se manipulan deliberadamente una o más variables independientes (supuestas causas) para analizar las consecuencias de esa manipulación sobre una o más variables dependientes (supuestos efectos), dentro de una situación de control para el investigador”.

Diseño de Investigación.

Es un diseño de tipo Experimental, definido por Hurtado, I y otros (1997) como “aquellos diseños en los cuales el investigador introduce una o varias variables independientes para observar los efectos que ocasionan en las variables dependientes pudiendo manipular las primeras y ejercer cierto grado de control sobre las variables extrañas”.

Específicamente se aplicará un diseño experimental “puro” o verdadero, el cual es definido por Hurtado, I y otros (1997) como “aquellos que reúnen los requisitos necesarios para lograr el control de las variables y la validez interna, como lo son: grupos de comparación para medir los resultados de las variables independientes y equivalencia de los grupos. Pueden realizarse en el laboratorio o en el campo”.

Población.

Según Hurtado I y otro. (1997), la población o universo se refiere “al conjunto para el cual serán válidas las conclusiones que se obtengan, a los elementos o unidades (personas, instituciones o cosas) que se van a estudiar”.

Este estudio se desarrollará tomando como población para las variables crecimiento y longitud, entre 4 y 7 raíces; y para la variable índice mitótico, se tomarán en cuenta 1000 células de *Allium sativum* por cada grupo de estudio.

Muestra.

Es definida por Hurtado I y otro. (1997) como “el conjunto de elementos representativos de una población, con los cuales se trabajará realmente en el proceso de la investigación, a ellos se observará y se aplicaran los cuestionarios y demás instrumentos, tomaremos sus datos y luego los analizaremos y generalizaremos los resultados a toda la población”.

En este estudio la muestra será representada por el total de la población, es decir, para las variables crecimiento y longitud, entre 4 y 7 raíces; y para la variable índice mitótico, se tomarán en cuenta 1000 células de *Allium sativum* por cada grupo de estudio.

Instrumento de Recolección de Datos.

Hernández S, R. (1996) lo define como “aquel que registra los datos pertinentes sobre las variables involucradas en la investigación. Sin el no hay observaciones clasificadas”.

Los investigadores se valdrán de la observación macroscópica (visión directa) y de la observación al microscopio con un objetivo 100x para la recolección de los datos necesarios para el desarrollo del estudio.

Validez y Confiabilidad.

La validez “es una condición necesaria de todo diseño de investigación y significa que dicho diseño permite detectar la relación real que pretendemos analizar, es decir, que sus resultados deben contestar las preguntas formuladas y no otro asunto” (Hurtado, I y otro. 1997).

La confiabilidad “es uno de los requisitos de la investigación cuantitativa y se fundamenta en el grado de uniformidad con que los instrumentos de medición cumplen su finalidad” (Hurtado, I y otro. 1997).

En este estudio no fue necesario llevar a cabo validez y confiabilidad, porque se está aplicando el ensayo Allium, el cual ha sido empleado para ejecutar una gran cantidad de estudios, por lo que ya está estandarizado.

Procedimiento.

El diseño será aplicado, a través, del desarrollo del Test Allium.

Este es un ensayo basado en el estudio a nivel de las células meristemáticas del bulbo de ajo, *Allium sativum*, por tener estas células vegetales características ultraestructurales muy próximas a las animales y mantenerse en constante división celular.

Se sumerge el ajo desprovisto de la cutícula en un recipiente que contiene el líquido de Knop o de cultivo diluido 1:20 a pH de 5. Se deja germinar en oscuridad a temperatura ambiente por 72 horas.

Se preparan las concentraciones de las sustancias químicas a ensayar en estado fresco con solución de knop 1:20 a pH 5, se colocan los bulbos de ajo germinados, después de 24, 48 y 72 horas se procede a cortar los meristemas y se colorean con 10 ml de orceína acética y 0,1 ml de HCl 1N, se calientan a 60°C y se dejan bajo la acción del colorante por 24 horas; luego los meristemas coloreados se colocan en un portaobjeto, se les agrega una gota de colorante y se presiona con un cubreobjeto, por último se coloca bálsamo de Canadá a fin de fijar la preparación para ser observada en microscopio con objetivo de inmersión. De esta manera se establece la toxicidad aguda a las 24 horas y la toxicidad a mediano plazo a las 72 horas al evidenciar si hay cambio en la organización de los cromosomas y así precisar la citotoxicidad según los siguientes parámetros:

- Inhibición de crecimiento.
- Aberraciones cromosómicas.
- Efecto sobre la velocidad de división celular (índice mitótico).

Para llevar a cabo la investigación se sumergirán las raíces germinadas de *Allium sativum* (ajo) en 8 tubos de ensayo que contendrán soluciones a una concentración de 5 μmol previamente preparadas, en el líquido de Knop al 1:20 en un pH de 5, de los 4 tipos de materiales resinosos mencionados anteriormente, dichos tubos constituirán los grupos de trabajo y serán distribuidos de la siguiente manera:

Tubo n° 1: Solución de sistema adhesivo (One coat Bond-Coltene).

Tubo n° 2: Solución de composite (Brilliant-Coltene).

Tubo n° 3: Solución de cemento resinoso (Parapost-Coltene).

Tubo n° 4: Solución de cemento sellador endodóntico (Top seal- Dentsply).

Tubo n° 5: Solución de sistema adhesivo más composite.

Tubo n° 6: Solución de colchicina al 0,02% (Control positivo).

Tubo n° 7: Solución de líquido de Knop (Control negativo).

Tubo n° 8: Solución de dimetilsulfóxido (Control negativo del solvente).

Una vez sumergida las raíces se realizará una medición inicial de la longitud, a las 24, 48 y 72 horas se repite la medición para observar la nueva longitud de los meristemas. Se extraen algunos meristemas de cada uno de los tubos y se colorean con orceína acética por 24 horas, luego se disocian sobre una lámina cubreobjeto, para finalmente ser observados en el microscopio con objetivo de inmersión y calcular el índice mitótico (n° de células en mitosis en relación a 1000 células totales) y la fórmula mitótica (n° de fases mitóticas en 100 células totales). Adicionalmente, para comprobar los resultados se realizará toda la metodología con dos cultivos control negativo, uno contentivo del medio de crecimiento y otro contentivo del solvente y con un cultivo control positivo contentivo de solución de colchicina al 0,02%.

Luego de observar el efecto de los materiales en el meristema en un lapso de 72 horas, se sustituye en cada uno de los tubos la solución en estudio por el líquido de Knop al 1:20 y pH 5, con la finalidad de evaluar la reversibilidad del efecto.

CAPITULO IV

RESULTADOS

Presentación y Análisis de Resultados.

Datos

Cuadro 1.

Resumen de los promedios del crecimiento celular, de la longitud de la raíz y del IM por condición de materiales dentales de base resinosa no polimerizados a las 24, 48 y 72 horas en el experimento y en la reversibilidad.

Exp-Rev	G.E	C24	C48	C72	L24	L48	L72	IM24	IM48	IM72
1	1	13.25	13.00	11.75	43.00	67.75	80.75	.218	.243	.237
1	2	10.50	4.80	9.50	25.63	20.29	36.67	.189	.194	.231
1	3	8.00	8.67	8.50	40.14	48.67	56.00	.162	.107	.117
1	4	9.29	9.71	9.67	46.43	56.14	65.00	.210	.220	.218
1	5	10.17	6.80	5.60	43.50	52.60	58.20	.228	.161	.158
1	6	5.17	.14	.43	13.14	13.29	13.71	.185	.171	.131
1	7	7.38	7.50	7.14	16.25	18.14	25.28	.221	.262	.228
1	8	6.89	8.75	4.40	20.75	26.40	30.60	.173	.232	.222
0	1	3.00	6.75	4.67	83.75	90.50	92.33	.241	.225	.262
0	2	11.00	9.40	21.50	21.75	61.50	83.00	.254	.20	.243
0	3	4.50	4.67	3.33	56.50	57.33	60.67	.123	.157	.170
0	4	3.00	4.00	2.50	67.00	71.00	72.50	.212	.210	.221
0	5	4.60	3.40	2.20	62.80	66.20	68.40	.268	.29	.271
0	6	4.50	.00	1.17	31.67	31.67	32.83	.066	.038	.040
0	7	13.33	12.80	10.20	34.17	46.40	56.60	.286	.286	.249
0	8	9.40	4.80	8.40	40.00	44.80	53.20	.219	.019	.196

Fuente: Matriz de datos original procesada con SPSS. 10.0.

Análisis descriptivo

La tabla 1 despliega los promedios obtenidos de la medición inicial (experimento= 1) y final (reversibilidad = 0) de las variables crecimiento celular, longitud de la raíz e índice mitótico, a las 24, 48 y 72 horas y en los ocho grupos de estudio, que incluyen los materiales dentales (Adhesivo: 1, Composite: 2, Cemento Resinoso: 3, Top Seal: 4, Adhesivo+Composite: 5) y los grupos controles (Colchicina

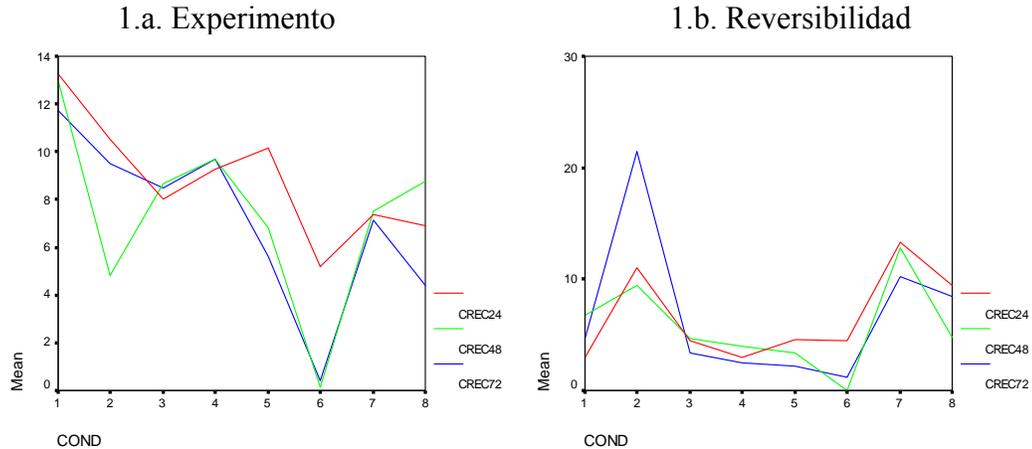
0.02% Control +: 6, Líquido de Knop Control -: 7 y DMSO Control – del solvente:8). En general se observan diferencias notables entre las mediciones iniciales del experimento y las mediciones de reversibilidad.

Comparando los promedios obtenidos por grupo de estudio durante el experimento con los promedios por grupo de estudio post experimento (reversibilidad), se puede observar descriptivamente que en la medición del crecimiento celular solo los grupos: 2 (Resina) y 7 (Líquido de Knop) mostraron tendencia a la continuación del crecimiento celular a las 24, 48 y 72 horas. Mientras que comparando las medidas de la longitud de raíz a las 24, 48 y 72 horas en condiciones iniciales con la longitud de la raíz a las 24, 48 y 72 horas en la observación de la reversibilidad, se puede notar que esta medida continuó su incremento en el medio de cultivo (líquido de Knop). En contraste el promedio del Índice Mitótico (IM) presentó un patrón de comportamiento atípico en relación a los tiempos de medición y a los materiales dentales que conforman los grupos de estudio.

Descriptivamente, los resultados parecen demostrar que hay variación evidente del crecimiento celular, crecimiento de la longitud de la raíz y el índice mitótico, entre los diferentes grupos experimentales y controles, así como entre los diferentes tiempos de medición y en ambos eventos (inicial y reversibilidad). Para visualizar estos patrones de variación se recurrió a la representación gráfica que se discute a continuación.

Gráfico 1.

Promedios de crecimiento celular por grupos de estudio a las 24, 48 y 72 horas durante el experimento y la reversibilidad.



Análisis.

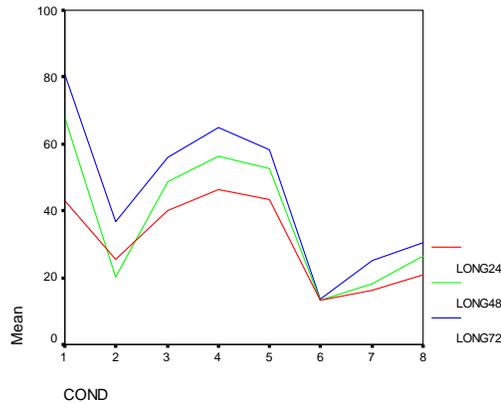
La grafica 1.a. indica algunos patrones notables del crecimiento celular por grupo de estudio obsérvese que en general hay una inhibición del crecimiento celular a las 48 horas (línea verde) en referencia a las 24 horas (línea roja) con excepción de los grupos experimentales 3 (Cemento Resinoso) y 4 (Top Seal) que muestran un leve crecimiento. Respecto al crecimiento celular a las 72 horas (línea azul) se puede observar como la inhibición del crecimiento es obvia, solo los tubos 3 y 4 muestran un leve crecimiento. El grupo control 6 (Colchicina 0.02%) luce radicalmente diferentes los otros grupos de estudio, lo cual era de esperarse puesto que éste representa al grupo control positivo. La significatividad de estas diferencias será determinada mediante análisis inferencial multivariado posterior.

La grafica 1.b. muestra la reversibilidad de las mediciones del crecimiento celular post experimento después de colocadas en su medio de cultivo. Nótese que solo el grupo experimental 2 (Composite) despliega un proceso de reversibilidad considerable en relación con el grupo control 6 (Colchicina 0.02%) que evidencia el mas bajo índice de reversibilidad.

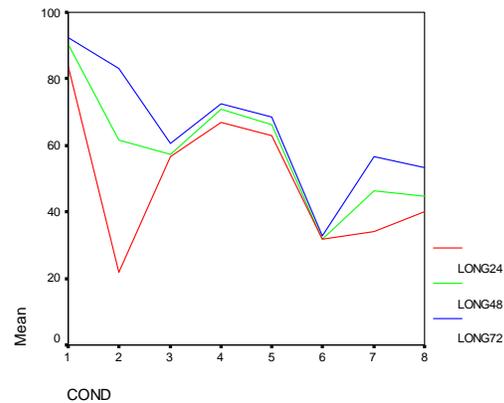
Grafico 2.

Promedios de crecimiento de la longitud de la raíz por grupos de estudio a las 24, 48 y 72 horas durante el experimento y post experimento (reversibilidad).

2.a. Experimento



2.b. Reversibilidad



Análisis.

La grafica 2.a. indica patrones uniformes y directos del crecimiento de la longitud de la raíz por grupo experimental y control, así como también por tiempo de medición, con excepción del grupo de estudio 2 (Composite) que muestra cierta atipicidad a las 48 horas recuperando el comportamiento general a las 72 horas. Obsérvese que hay un aumento de la longitud de la raíz a las 48 horas (línea verde) en referencia a las 24 horas (línea roja) y esto se mantiene a las 72 horas (línea azul) en todos los grupos, con excepción del tubo seis (colchicina al 0.02%) que muestra una total inhibición del crecimiento de la longitud de la raíz, por su condición de control positivo.

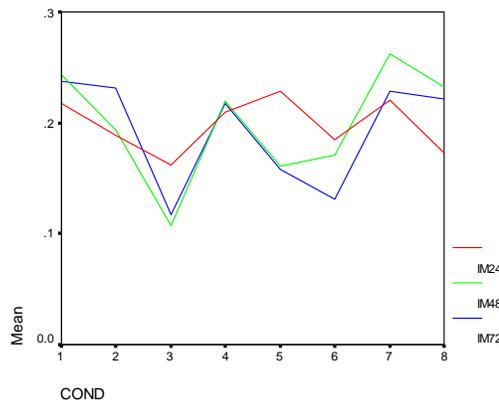
El grafico 2.b. informa respecto al tratamiento post experimento; allí se puede visualizar que no hay cambios sustanciales del comportamiento y que en general la longitud de la raíz sigue creciendo en el medio de cultivo, tal como ocurrió en los grupos experimentales. Obsérvese que hay un alto crecimiento en el grupo experimental 2 (Composite), un moderado crecimiento de la longitud de la raíz en el grupo 1 (Adhesivo), que se corresponde con los grupos control negativo: 7 (Líquido de Knop), y 8 (DMSO). También es notable un leve incremento en el grupo

experimental 3 (Cemento resinoso), 4 (Top Seal), y 5 (Adhesivo+Composite). Por otro lado se evidencia que el grupo control + 6 (Colchicina 0.02%) mantiene su inhibición de forma irreversible. Qué tan significativo resulta las diferencias observadas en la longitud de la raíz por grupos de estudio no polimerizados a través del tiempo serán determinadas mediante análisis inferencial multivariado posterior.

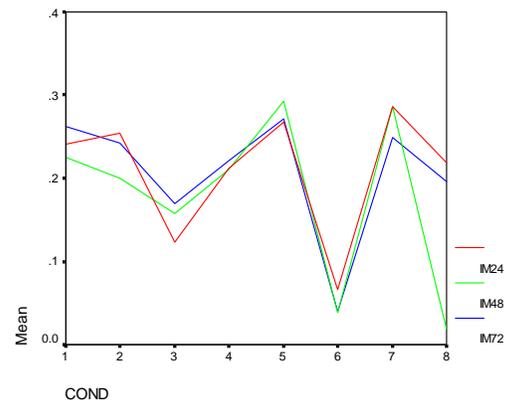
Grafico 3.

Promedios de medición del índice mitótico (IM) por grupos de estudio a las 24, 48 y 72 horas durante el experimento y el post experimento (Reversibilidad).

3.a. Experimento



3.b. Reversibilidad



Análisis.

Los patrones observados en la gráfica 3.a. dan cuenta de una tendencia incoherente de comportamiento del IM a las 48 (línea verde) y 72 horas (línea azul); en algunos tubos hubo crecimiento y en otros el comportamiento es inverso.

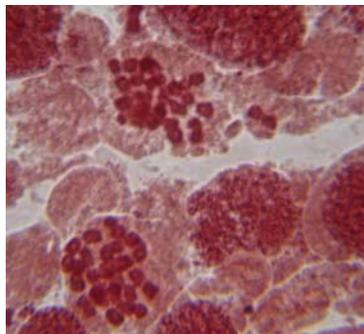
Nótese que solamente en el grupo experimental 2 (Composite) el IM es notablemente superior a las 72 horas, mientras que en el grupo experimental 3 (Cemento resinoso), 5 (Adhesivo+Composite), el IM es claramente inferior a las 72 horas (línea azul) que se corresponde con el grupo control + 6 (Colchicina 0.02%). Nótese que hay una notable inhibición de la división celular en el grupo experimental 4 (Top Seal).

Por otro lado la grafica 3.b. muestra un patrón de incremento en la división celular a las 24, 48, 72 horas en todos los grupos de trabajo con respecto a la fase

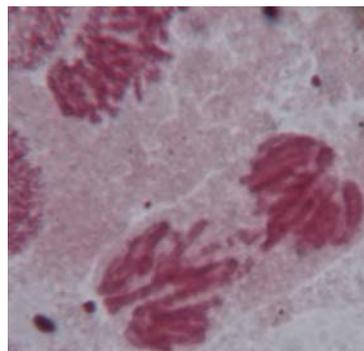
experimental. Se observa una moderada diferencia en los tubos 2 (resina), 6 (colchicina al 0,02%) y 7 (Líquido de Knop). La significatividad de estas diferencias observadas y visualizadas en el análisis estadístico descriptivo será contrastada mediante un análisis multivariado de hipótesis a realizar a continuación.

Análisis Cualitativo.

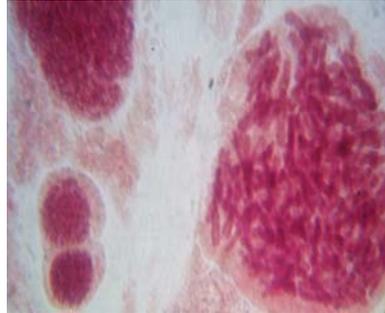
Durante la observación al microscopio, se observaron aberraciones cromosómicas de forma y de tamaño. Al momento de la observación del grupo experimental 3 (cemento resinoso) a las 72 horas, se apreció una anomalía durante la profase en forma de gránulos de mayor volumen, que se repitió con una frecuencia de 33 células en una muestra de 1000.



Por otra parte, durante la observación al microscopio del grupo experimental 5 (adhesivo + composite) a las 24 horas post experimento (reversibilidad), se apreció en 1 sola célula de 1000 observadas, la presencia de un puente cromosómico entre los dos polos durante la etapa de anafase.



Por último, el grupo control + (colchicina al 0,02%) provocó una hipertrofia celular que se evidenció durante la observación al microscopio en los tres tiempos experimentales y post experimentales evaluados.



Análisis Inferencial

A fin de establecer la significatividad de las diferencias observadas en la descripción de los datos y en su respectiva visualización gráfica, se formularon hipótesis de trabajo y se condujo a un tratamiento estadístico de la información apropiada para el análisis multivariado de los efectos principales con mediciones sucesivas tanto del crecimiento celular y de la longitud de la raíz como del Índice de Mitosis IM. Las técnicas inferenciales seleccionadas para dar respuesta a las preguntas de investigación fueron un análisis de varianza ANOVA de dos vías con 8 niveles (2X8) y un análisis multivariado con tres mediciones en el tiempo (MANOVA 2X3X8) conducidos mediante el paquete estadístico SPSS. 10.0. El procedimiento de análisis aplicado se despliega a continuación:

Hipótesis estadísticas para la diferencia de crecimiento celular, la longitud de la raíz y el IM como efecto principal del tiempo (24 horas, 48 horas, 72 horas).

- Ho1: El promedio de crecimiento celular, longitud de la raíz e índice mitótico en los grupos de estudio, es independiente del tiempo.
- H11: El promedio de crecimiento celular, longitud de la raíz e índice mitótico en los grupos de estudio, es dependiente del tiempo.

Cuadro 2.

Análisis de varianza del crecimiento celular, longitud de la raíz e índice de Mitosis a las 24, 48 y 72 horas de inclusión en 8 condiciones de polimerización incompleta.

Pairwise Comparisons

Measure	(I) TIME	(J) TIME	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval for Difference	
			Difference (I- J)			Lower Bound	Upper Bound
CREC NETO	1	2	1.174	.710	.122	-.359	2.707
		3	.814	.791	.322	-.894	2.522
	2	1	-1.174	.710	.122	-2.707	.359
		3	-.361	.973	.717	-2.462	1.741
	3	1	-.814	.791	.322	-2.522	.894
		2	.361	.973	.717	-1.741	2.462
LONG	1	2	-7.888	2.694	.012*	-13.707	-2.068
		3	-14.954	3.799	.002*	-23.162	-6.746
	2	1	7.888	2.694	.012*	2.068	13.707
		3	-7.066	1.479	.000*	-10.262	-3.871
	3	1	14.954	3.799	.002*	6.746	23.162
		2	7.066	1.479	.000*	3.871	10.262
IM	1	2	1.481E-02	.016	.360	-1.888E-02	4.850E-02
		3	3.813E-03	.009	.689	-1.631E-02	2.393E-02
	2	1	-1.481E-02	.016	.360	-4.850E-02	1.888E-02
		3	-1.100E-02	.013	.409	-3.883E-02	1.683E-02
	3	1	-3.813E-03	.009	.689	-2.393E-02	1.631E-02
		2	1.100E-02	.013	.409	-1.683E-02	3.883E-02

Based on estimated marginal means

* The mean difference is significant at the .050 level.

a Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Análisis.

El cuadro 2 señala el contraste de hipótesis para las diferencias de promedios de crecimiento celular, longitud de raíz e IM en relación al tiempo. Los asteriscos marcan cuales diferencias resultaron significativas con un índice de significancia al nivel de 0.05. No hay evidencia de diferencia significativa en los tres tiempos de medición del crecimiento celular ($p > 0.05$) ni del índice mitótico IM ($p > 0.05$) entre

un material y otro. En contraste si hay diferencias significativas en las medidas de la longitud de la raíz ($p < 0.05$). Así, se puede afirmar con un 95 % de confianza que la diferencia de longitud de la raíz entre 24 y 48 horas es significativa ($F = -7.88$ con un $p = 0.012$). También, la diferencia de longitud de la raíz entre 48 y 72 horas resultó significativa ($F = 7.066$ y $p = 0.000$). Además, es significativa la diferencia de la longitud de la raíz observada entre las 24 y 72 horas ($F = 14.95$ con $p = 0.002$).

La variación de los efectos de los materiales resinosos no polimerizados sobre el crecimiento neto e índice mitótico, resultó no ser afectado por el factor tiempo; por el contrario, el factor tiempo si afectó directa y proporcionalmente la variación de la longitud de la raíz.

Hipótesis estadísticas para la diferencia de crecimiento celular neto como efecto principal de los materiales dentales de base resinosa no polimerizados.

- H_0 : El promedio de crecimiento celular neto es independiente del tipo de material resinoso presente sin considerar el tiempo de inmersión.
- H_1 : El promedio de crecimiento celular neto es dependiente de la presencia de material resinoso no polimerizado sin considerar el tiempo de inmersión.

Cuadro 3.

Análisis de varianza de la diferencia de promedios de crecimiento celular neto en los 8 grupos de trabajo.

Measure	(I) CONDIC	(J) CONDIC	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval for Difference	
						Lower Bound	Upper Bound
CREC NETO	1	2	-2.380	3.560	.525	-10.799	6.039
		3	2.458	3.560	.512	-5.961	10.877
		4	2.375	3.560	.526	-6.044	10.794
		5	3.275	3.560	.388	-5.144	11.694
		6	6.835	3.560	.096	-1.584	15.254
		7	-.988	3.560	.789	-9.407	7.431
		8	1.630	3.560	.661	-6.789	10.049
		2	1	2.380	3.560	.525	-6.039
	3		4.838	3.560	.216	-3.581	13.257
	4		4.755	3.560	.223	-3.664	13.174
	5		5.655	3.560	.156	-2.764	14.074
	6		9.215	3.560	.036*	.796	17.634
	7		1.392	3.560	.708	-7.027	9.811
	8		4.010	3.560	.297	-4.409	12.429
	3		1	-2.458	3.560	.512	-10.877
		2	-4.838	3.560	.216	-13.257	3.581
		4	-8.333E-02	3.560	.982	-8.502	8.336
		5	.817	3.560	.825	-7.602	9.236
		6	4.377	3.560	.259	-4.042	12.796
		7	-3.447	3.560	.365	-11.866	4.972
		8	-.828	3.560	.823	-9.247	7.591
		4	1	-2.375	3.560	.526	-10.794
	2		-4.755	3.560	.223	-13.174	3.664
	3		8.333E-02	3.560	.982	-8.336	8.502
	5		.900	3.560	.808	-7.519	9.319
	6		4.460	3.560	.251	-3.959	12.879
	7		-3.363	3.560	.376	-11.782	5.056
	8		-.745	3.560	.840	-9.164	7.674
	5		1	-3.275	3.560	.388	-11.694
		2	-5.655	3.560	.156	-14.074	2.764
		3	-.817	3.560	.825	-9.236	7.602
		4	-.900	3.560	.808	-9.319	7.519
		6	3.560	3.560	.351	-4.859	11.979
		7	-4.263	3.560	.270	-12.682	4.156
		8	-1.645	3.560	.658	-10.064	6.774
		6	1	-6.835	3.560	.096	-15.254
	2		-9.215	3.560	.036*	-17.634	-.796
	3		-4.377	3.560	.259	-12.796	4.042
	4		-4.460	3.560	.251	-12.879	3.959
	5		-3.560	3.560	.351	-11.979	4.859
	7		-7.823	3.560	.064	-16.242	.596
	8		-5.205	3.560	.187	-13.624	3.214
	7		1	.988	3.560	.789	-7.431
		2	-1.392	3.560	.708	-9.811	7.027
		3	3.447	3.560	.365	-4.972	11.866
		4	3.363	3.560	.376	-5.056	11.782
		5	4.263	3.560	.270	-4.156	12.682
		6	7.823	3.560	.064	-.596	16.242
		8	2.618	3.560	.486	-5.801	11.037
		8	1	-1.630	3.560	.661	-10.049
	2		-4.010	3.560	.297	-12.429	4.409
	3		.828	3.560	.823	-7.591	9.247
	4		.745	3.560	.840	-7.674	9.164
	5		1.645	3.560	.658	-6.774	10.064
	6		5.205	3.560	.187	-3.214	13.624
	7		-2.618	3.560	.486	-11.037	5.801

Based on estimated marginal means* The mean difference is significant at the .05 level.

a Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Análisis.

El cuadro 3 despliega el contraste de hipótesis para las diferencias de promedios de crecimiento celular neto por grupo de estudio. Los asteriscos marcan cuales diferencias resultaron significativas ($p < 0.05$) con un índice de significancia al nivel de 0.05. Aquí, se puede afirmar con un 95 % de confianza que solo la diferencia de crecimiento neto entre los grupos de composite y colchicina 0,02% son significativas ($F = -7.88$ con un $p = .012$); mientras que no hay diferencias significativas entre el crecimiento celular neto de los grupos experimentales y los grupos control – (Líquido de Knop y DMSO) y grupo control + (colchicina 0,02%). Asimismo, si se compara el grupo de estudio 5 (adhesivo + composite) con los grupos 1 (adhesivo) y 2 (composite) se puede determinar que no hay diferencia significativa.

Hipótesis estadísticas para la diferencia de crecimiento de la longitud de la raíz como efecto principal de la variedad de materiales de base resinosa no polimerizados.

- Ho3: El promedio de crecimiento de la longitud de la raíz celular es independiente del tipo de material dental de base resinosa presente sin considerar el tiempo de inmersión.
- H13: El promedio de crecimiento de la longitud de la raíz celular es dependiente de la presencia de material dental de base resinosa presente sin considerar el tiempo de inmersión.

Cuadro 4.

Análisis de varianza de la diferencia de promedios de crecimiento de la longitud de la raíz en los 8 grupos de estudio.

Measure	(I) CONDIC	(J) CONDIC	Mean	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval for Difference	
			Difference (I-J)			Lower Bound	Upper Bound
LONG	1	2	34.873	4.532	.000*	24.157	45.589
		3	23.128	4.532	.001*	12.412	33.844
		4	13.335	4.532	.022*	2.619	24.051
		5	17.730	4.532	.006*	7.014	28.446
		6	53.628	4.532	.000*	42.912	64.344
		7	43.540	4.532	.000*	32.824	54.256
		8	40.388	4.532	.000*	29.672	51.104
		2	1	-34.873	4.532	.000*	-45.589
	3	1	-11.745	4.532	.036*	-22.461	-1.029
	4	1	-21.538	4.532	.002*	-32.254	-10.822
	5	1	-17.143	4.532	.007*	-27.859	-6.427
	6	1	18.755	4.532	.004*	8.039	29.471
	7	1	8.667	4.532	.097	-2.049	19.383
	8	1	5.515	4.532	.263	-5.201	16.231
	1	2	-23.128	4.532	.001*	-33.844	-12.412
	2	2	11.745	4.532	.036*	1.029	22.461
	3	2	-9.793	4.532	.068	-20.509	.923
	4	2	-5.398	4.532	.272	-16.114	5.318
	5	2	30.500	4.532	.000*	19.784	41.216
	6	2	20.412	4.532	.003*	9.696	31.128
	7	2	17.260	4.532	.007	6.544	27.976
	8	2	-13.335	4.532	.022*	-24.051	-2.619
	1	3	21.538	4.532	.002*	10.822	32.254
	2	3	9.793	4.532	.068	-.923	20.509
	3	3	4.395	4.532	.364	-6.321	15.111
	4	3	40.293	4.532	.000*	29.577	51.009
	5	3	30.205	4.532	.000*	19.489	40.921
	6	3	27.053	4.532	.001*	16.337	37.769
	7	3	-17.730	4.532	.006*	-28.446	-7.014
	8	3	17.143	4.532	.007*	6.427	27.859
	1	4	5.398	4.532	.272	-5.318	16.114
	2	4	-4.395	4.532	.364	-15.111	6.321
3	4	35.898	4.532	.000*	25.182	46.614	
4	4	25.810	4.532	.001*	15.094	36.526	
5	4	22.658	4.532	.002*	11.942	33.374	
6	4	-53.628	4.532	.000*	-64.344	-42.912	
7	4	-18.755	4.532	.004*	-29.471	-8.039	
8	4	-30.500	4.532	.000*	-41.216	-19.784	
1	5	-40.293	4.532	.000*	-51.009	-29.577	
2	5	-35.898	4.532	.000*	-46.614	-25.182	
3	5	-10.088	4.532	.061	-20.804	.628	
4	5	-13.240	4.532	.022*	-23.956	-2.524	
5	5	-43.540	4.532	.000*	-54.256	-32.824	
6	5	-8.667	4.532	.097	-19.383	2.049	
7	5	-20.412	4.532	.003*	-31.128	-9.696	
8	5	-30.205	4.532	.000*	-40.921	-19.489	
1	6	-25.810	4.532	.001*	-36.526	-15.094	
2	6	10.088	4.532	.061	-.628	20.804	
3	6	-3.152	4.532	.509	-13.868	7.564	
4	6	-40.388	4.532	.000*	-51.104	-29.672	
5	6	-5.515	4.532	.263	-16.231	5.201	
6	6	-17.260	4.532	.007*	-27.976	-6.544	
7	6	-27.053	4.532	.001*	-37.769	-16.337	
8	6	-22.658	4.532	.002*	-33.374	-11.942	
1	7	13.240	4.532	.022*	2.524	23.956	
2	7	3.152	4.532	.509	-7.564	13.868	

Based on estimated marginal means* The mean difference is significant at the .05 level.
a Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Análisis.

En el cuadro 4 se muestran los resultados del contraste de hipótesis para las diferencias de promedios de crecimiento de la longitud de la raíz por grupos de estudio. Los asteriscos marcan cuales diferencias resultaron significativas con un índice de significancia al nivel de 0.05. Aquí, se puede evaluar con un 95 % de confianza que la diferencia de crecimiento de longitud de la raíz en células de *Allium sativum* inmersas en materiales resinosos no polimerizados es afectada por el nivel de toxicidad del medio. La longitud de la raíz en el grupo experimental 1 (Adhesivo) respecto a la longitud de la raíz de todas las demás condiciones resultó significativamente diferente al nivel de 0.05.

En relación con el grupo de estudio 2 (Composite) se observa en la tabla que la longitud de la raíz es estadísticamente diferente con respecto a la longitud de la raíz en los otros grupos de estudio con excepción del tubo 7 (Líquido de Knop). Análogamente, en los grupos 3 (Cemento Resinoso), 4 (Top Seal) y 5 (Adhesivo + Composite) las mediciones de la longitud de la raíz resultaron ser significativamente diferente en relación a la longitud de la raíz en los grupos 1 (Adhesivo), 2 (Composite), 6 (Colchicina 0.02%) y 7 (Líquido de Knop).

Comparando los grupos experimentales 1, 2, 3 y 4 con el 7 (grupo control -) se puede afirmar con un 95% de confiabilidad que el adhesivo, cemento resinoso y el top seal, presentan efectos citotóxicos sobre la longitud de la raíz; mientras que el grupo 2 (composite) no afecta la longitud de la raíz.

Por otra parte, comparando con el grupo control + 6 (colchicina 0,02%), los materiales 1, 2, 3 y 4 presentan diferencias significativas; es decir, que difieren en el grado de citotoxicidad con la colchicina al 0,02% en relación a los efectos sobre la longitud de la raíz.

Asimismo, si se compara el grupo de estudio 5 (adhesivo + composite) con los grupos 1 (adhesivo) y 2 (composite) se puede determinar que hay diferencia significativa.

En resumen se podría afirmar que el crecimiento de la longitud de la raíz resulta significativamente afectado por la condición de toxicidad del medio en los grupos experimentales 3 (cemento resinoso),4 (top seal) y 5 (adhesivo + composite).

Hipótesis estadísticas para la diferencia de promedio del índice mitótico (IM) como efecto principal de la variedad de materiales de base resinosa no polimerizados.

- Ho3: El promedio del Índice mitótico es independiente de la presencia de material resinoso no polimerizado sin considerar el tiempo de inmersión.
- H13: El promedio del Índice mitótico es dependiente de la presencia de material resinoso no polimerizado sin considerar el tiempo de inmersión.

Cuadro 5.

Análisis de varianza de la diferencia de promedios de Índice Mitótico (IM) en los 8 grupos de estudio.

Measure	(I) CONDIC	(J) CONDIC	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval for Difference	
						Lower Bound	Upper Bound
IM	1	2	1.917E-02	.045	.686	-8.825E-02	.127
		3	9.833E-02	.045	.067	-9.084E-03	.206
		4	2.250E-02	.045	.636	-8.492E-02	.130
		5	7.833E-03	.045	.868	-9.958E-02	.115
		6	.133	.045	.022*	2.508E-02	.240
		7	-1.767E-02	.045	.709	-.125	8.975E-02
		8	6.083E-02	.045	.222	-4.658E-02	.168
		1	-1.917E-02	.045	.686	-.127	8.825E-02
	2	3	7.917E-02	.045	.125	-2.825E-02	.187
		4	3.333E-03	.045	.944	-.104	.111
		5	-1.133E-02	.045	.810	-.119	9.608E-02
		6	.113	.045	.041*	5.916E-03	.221
		7	-3.683E-02	.045	.444	-.144	7.058E-02
		8	4.167E-02	.045	.390	-6.575E-02	.149
		1	-9.833E-02	.045	.067	-.206	9.084E-03
		2	-7.917E-02	.045	.125	-.187	2.825E-02
	3	4	-7.583E-02	.045	.139	-.183	3.158E-02
		5	-9.050E-02	.045	.087	-.198	1.692E-02
		6	3.417E-02	.045	.476	-7.325E-02	.142
		7	-.116	.045	.038*	-.223	-8.583E-03
		8	-3.750E-02	.045	.436	-.145	6.992E-02
		1	-2.250E-02	.045	.636	-.130	8.492E-02
		2	-3.333E-03	.045	.944	-.111	.104
		3	7.583E-02	.045	.139	-3.158E-02	.183
	4	5	-1.467E-02	.045	.756	-.122	9.275E-02
		6	.110	.045	.046*	2.583E-03	.217
		7	-4.017E-02	.045	.406	-.148	6.725E-02
		8	3.833E-02	.045	.427	-6.908E-02	.146
		1	-7.833E-03	.045	.868	-.115	9.958E-02
		2	1.133E-02	.045	.810	-9.608E-02	.119
		3	9.050E-02	.045	.087	-1.692E-02	.198
		4	1.467E-02	.045	.756	-9.275E-02	.122
	5	6	.125	.045	.029*	1.725E-02	.232
		7	-2.550E-02	.045	.592	-.133	8.192E-02
		8	5.300E-02	.045	.282	-5.442E-02	.160
		1	-.133	.045	.022*	-.240	-2.508E-02
		2	-.113	.045	.041*	-.221	-5.916E-03
		3	-3.417E-02	.045	.476	-.142	7.325E-02
		4	-.110	.045	.046*	-.217	-2.583E-03
		5	-.125	.045	.029*	-.232	-1.725E-02
	6	7	-1.50	.045	.013*	-.258	-4.275E-02
		8	-7.167E-02	.045	.159	-.179	3.575E-02
		1	1.767E-02	.045	.709	-8.975E-02	.125
		2	3.683E-02	.045	.444	-7.058E-02	.144
		3	.116	.045	.038*	8.583E-03	.223
		4	4.017E-02	.045	.406	-6.725E-02	.148
		5	2.550E-02	.045	.592	-8.192E-02	.133
		6	.150	.045	.013*	4.275E-02	.258
	7	8	7.850E-02	.045	.128	-2.892E-02	.186
		1	-6.083E-02	.045	.222	-.168	4.658E-02
		2	-4.167E-02	.045	.390	-.149	6.575E-02
		3	3.750E-02	.045	.436	-6.992E-02	.145
		4	-3.833E-02	.045	.427	-.146	6.908E-02
		5	-5.300E-02	.045	.282	-.160	5.442E-02
		6	7.167E-02	.045	.159	-3.575E-02	.179
		7	-7.850E-02	.045	.128	-.186	2.892E-02

Based on estimated marginal means* The mean difference is significant at the .05 level.

a Adjustment for multiple comparisons: Least Significant Difference (equivalent to no adjustments).

Análisis.

El cuadro 5 despliega el contraste de hipótesis para las diferencias de promedios del índice mitótico por grupo de estudio. Aquí, se puede examinar con un 95 % de confianza si las mediciones del índice mitótico difieren significativamente entre las condiciones del experimento. Obsérvese como los asteriscos señalan las diferencias significativas ($p < 0.05$) con un índice de significancia al nivel de 0.05..

Comparando los grupos experimentales 1, 2, y 4 con el grupo 6 (colchicina 0,02%), se puede decir que hay diferencia significativa en la medida de división celular; es decir, que estos materiales difieren en toxicidad con el control +. Por otra parte, al compararse con el tubo 7 (control -) no hay diferencia significativa con los grupos 1, 2 y 4. Esto indica que estos materiales se comportan como control – confirmando la afirmación anterior.

El IM del grupo de estudio 6 (Colchicina 0.02%) es estadísticamente diferente que el IM obtenido en los otros grupos excepto con el valor obtenido del tubo 3 (Cemento Resinoso). También el Índice mitótico en la condición 7 (Líquido de Knop) difiere significativamente con el grupo experimental 3 (Cemento Resinoso) respecto al índice mitótico observado.

Esto se puede interpretar que en las condiciones experimentales la presencia de materiales resinosos no polimerizados no es contundente, con excepción del grupo experimental 3 (cemento resinoso) el cual resultó equivalente al control + (colchicina 0,02%).

Asimismo, si se compara el grupo de estudio 5 (adhesivo + composite) con los grupos 1 (adhesivo) y 2 (composite) se puede determinar que no hay diferencia significativa.

CONCLUSIONES.

Una vez obtenidos los resultados del análisis descriptivo e inferencial se puede concluir que:

Los resultados de este experimento permiten aseverar con un 95 % de certeza que en las condiciones experimentales aplicadas hay evidencias de efectos citotóxicos en la mayoría de los materiales dentales de base resinosa evaluados, con excepción del Composite, sobre las células de *Allium sativum*, aunque esta citotoxicidad se presenta de forma leve. Específicamente, los materiales dentales de base resinosa no polimerizados afectan el crecimiento de longitud de la raíz y no ejercen una notable influencia sobre el crecimiento celular ni sobre el índice mitótico. Esto contradice los hallazgos de Caughman, W., Caughman, F., Wilburn, B. (1990); Cohen, B., Pagnillo, M., Musikant, B., y Deutsch, A. (2000); y Ríos, M., Cepero, J., Davidenko, N., Krael, R., González, A., Pérez, K., y Bello, J. (2001) quienes ya habían concluido al respecto, tal contradicción surge posiblemente por el tipo de material utilizado, concentración de los extractos evaluados y el ensayo aplicado en la presente investigación.

De los cuatro materiales evaluados sólo el cemento resinoso mostró diferencia significativa del índice mitótico al compararlo con el grupo control, que se traduce en una alteración en la división celular, esto se corroboró a través de las aberraciones cromosómicas observadas en el grupo experimental de este material.

Cuando se examinó la reversibilidad de los efectos citotóxicos de los materiales dentales de base resinosa no polimerizados, se encontró que los efectos citotóxicos de estos materiales son reversibles en las condiciones experimentales aplicadas, siendo más notables en los adhesivos que en los cementos resinosos y en la interacción de adhesivo más composite.

A pesar de que el efecto tóxico de los materiales dentales de base resinosa no polimerizados resultó, desde el punto de vista descriptivo, mayor a las 48 horas en relación a las 24 y 72 horas, esta diferencia no resultó significativa; es decir, que el tiempo de inmersión de la célula en el material no parece tener efecto en las medidas

de crecimiento celular, longitud de la raíz e índice mitótico. Esto contradice los hallazgos reportados por Bouillaguet, S., Shaw, L., González, L., Wataha, J.C., Krejci, I.(2002) quienes ya habían concluido al respecto, debido a la diferencia de composición en los materiales evaluados y a la concentración de los extractos evaluados.

Existe un efecto aditivo más no sinérgico entre el adhesivo y el composite, al menos en las condiciones experimentales utilizadas en este estudio.

RECOMENDACIONES

Se recomienda continuar esta investigación tomando en consideración una muestra mayor para cada grupo de estudio, y que la misma se mantenga constante a lo largo del ensayo, que permita evaluar los resultados a través de un diseño estadístico diferente, por medio del cual se pueda determinar cómo influye la cantidad de matriz orgánica componente de los diferentes materiales dentales de base resinosa sobre la viabilidad celular.

Continuar la investigación, pero esta vez evaluando los efectos tóxicos individuales a escala de dosis, para determinar a qué concentración se presentan y/o dejan de observarse las aberraciones cromosómicas observadas en esta investigación, así como los efectos de inhibición de crecimiento y división celular.

El efecto del factor tiempo sobre la citotoxicidad de las células de *Allium sativum* puede ser estudiado con mayor profundidad tomando en cuenta diferentes concentraciones.

Por otro lado, es aconsejable realizar el estudio a largo plazo, para determinar si los efectos tóxicos que se presentaron en los materiales dentales de base resinosa sufren variación con el envejecimiento del material.

El ensayo *Allium* puede ser utilizado para evaluar las propiedades biológicas de otros tipos de materiales dentales, gracias a su simplicidad, accesibilidad y bajo costo.

BIBLIOGRAFÍA

- Barrancos, J. (1999). **Operatoria Dental**. 3° edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina.
- Bascones, A. (1998). **Tratado de Odontología. Tomo II y III**. 2° edición. Ediciones AVANCES. Madrid.
- Bouillaguet, S., Shaw, L., González, L., Wataha, J. C., Krejci, I. (2002). **Long – term cytotoxicity of resin-based dental restorative materials**. Journal of Oral Rehabilitation, Vol. 29, Pp 7- 13.
- Cohen, B., Pagnillo, M., Musikant, B., y Deutsch, A. (2000). **An In Vitro Study of the Cytotoxicity of Two Root Canal Sealers**. Journal of Endodontics, Vol. 26, pp. 228-229.
- Craig, R. (1998). **Materiales de Odontología Restauradora**. 10° edición. Editorial HARCOURT BRACE. Madrid.
- Deysson, G. (1972). **Physiologie Cellulaire. Tomo 1 y 2**. Editorial SEDES. Paris.
- Geneser, F. (1993). **Histología**. 2° edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.
- Giese, A. (1975). **Fisiología Celular y General**. 4ta Edición. Editorial Interamericana. México.
- Griffiths, A., Miller, J., Suzuki, D., Lewontin, R., y Gelbart, W. (1993). **Genética**. 5° edición. Editorial Interamericana Mc Graw-Hill. Madrid.
- Guerra, L. (1986). **Evaluación de la actividad mutagénica de once sicodrogas**. Facultad de Medicina. UCV.
- Hinostroza, G. (2003). **Adhesión en Odontología Restauradora**. Editorial MAIO. Curitiba.
- Huang, F. M., Tai, K. W., Chou, M. Y., Chang, Y. C. (2002). **Cytotoxicity of Resin Zinc Oxide - Eugenol, and Calcium Hydroxide - based - root canal sealers on Human Periodontal Ligament cells and permanent V79 cells**. International Endodontic Journal, Vol. 35, Pp 153- 158.
- Jones, E. y otro. (1999). **Lo Esencial en Célula y Genética**. 1era edición. Editorial Harcourt. Madrid, España.
- Lasala, A. (1992). **Endodoncia**. 4° edición. Editorial MASSON-SALVAT Odontología. España.
- Lindorf, H., De Parisca, L., Rodríguez, P. (1985). **Botánica. Clasificación – Estructura – Reproducción**. Universidad Central de Venezuela. Ediciones de la Biblioteca. Caracas.
- Matasa, C. (2002). **Plastics, Polymers, Resins: A necessary evil**. Vol. 14 # 1.

- Quinlan, C. A., Zisterer, D. M., Tipton, K. F. y O'Sullivan, M. I. (2002). **In Vitro Cytotoxicity of a Composite Resin and Compomer**. International Endodontic Journal, Vol. 35 . Pp 47 – 55.
- Renato De Toledo, L., Consolaro, A., Iracilda, C., Mario, L. (2000). **Evaluation of Cell Culture Cytotoxicity of Five Root Canal Sealers**. Journal of Endodontics. Vol 26 Pp 328 – 330.
- Ríos, M., Cepero, J., Davidenko, N., Krael, R., González, A., Pérez, K., y Bello, J . (2001). **Evaluación toxicológica *in vitro* de materiales poliméricos de restauración dental compuestos por BIS-GMA**. Anuario Toxicología, Vol. 1. Pp. 65-72.
- Schmalz, G. (1998). **The Biocompatibility of Non- Amalgam Dental Filling Materials**. Eur J Oral Sci, Vol. 106 Pp. 696 -706.
- Sturdevant, C. (1995). **Operatoria Dental. Arte y Ciencia**. 3era edición. Editorial Mosby. Madrid España.
- Topaliank, M. (2002). **Efecto Citotóxico de los Cementos Selladores utilizados en Endodoncia sobre el Tejido Periapical**. UCV. Caracas – Venezuela.

ANEXOS



A. Sistema adhesivo. (Coltene)



B. Resina Compuesta. (Coltene).



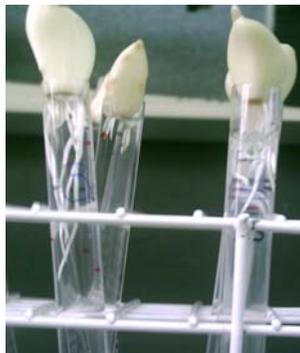
C. Cemento Resinoso. (Coltene).



D. Extractos de los materiales dentales de base resinosa utilizados (Top seal, Parapost cement, One coat bond y Brilliant)



E. Reactivos utilizados para la ejecución del ensayo.



F. Grupos experimentales. Bulbos de *Allium sativum* (ajo) inmersos en los extractos de los materiales dentales resinosos evaluados.



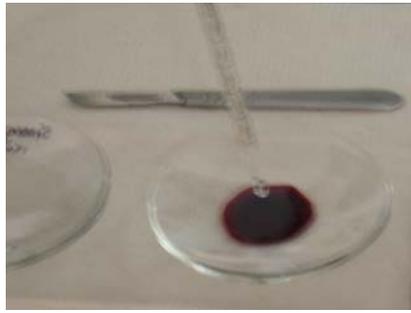
G. Medición de la longitud de las raíces.



H. Corte de los meristemas del *Allium sativum*.



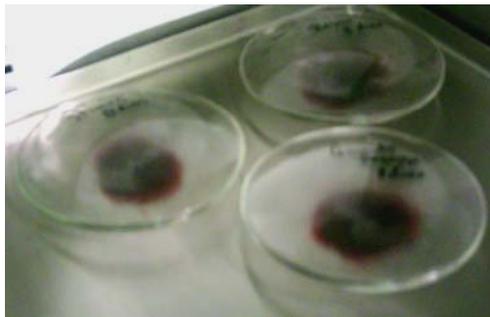
I. Coloración con orceína acética de los meristemas del *Allium sativum*.



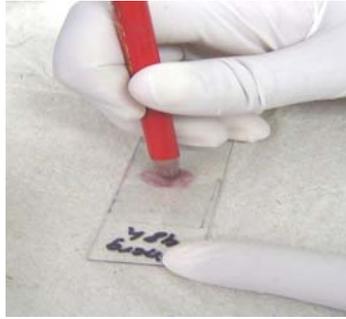
J. Colocación de ácido clorhídrico 1 N al colorante.



K. Calentamiento de la muestra a 60 °C.



L. Muestra en procesamiento durante 24 horas.



M. Montaje del meristema del *Allium sativum*.



N.



O.

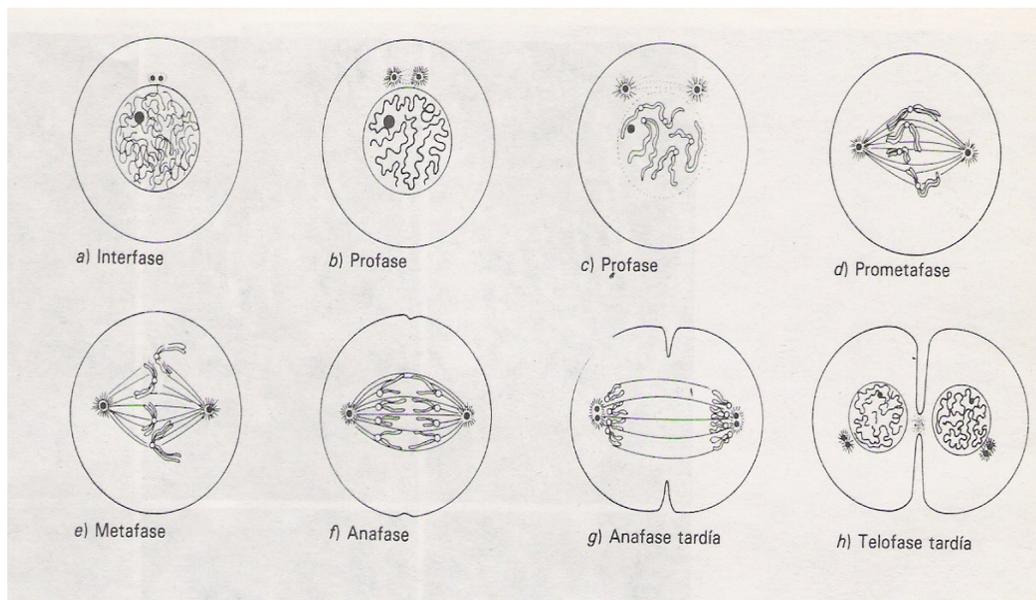
N. Instrumento de recolección de datos (Microscopio). O. Contador de células.



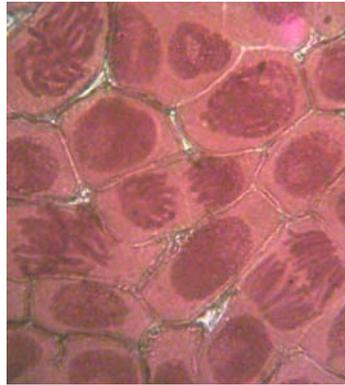
P. Observación de las muestras al microscopio.



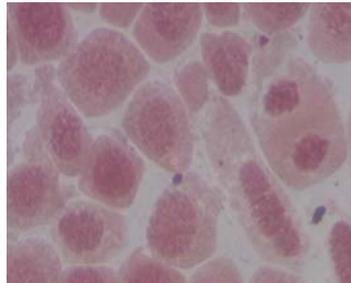
Q. Observación de las muestras al microscopio.



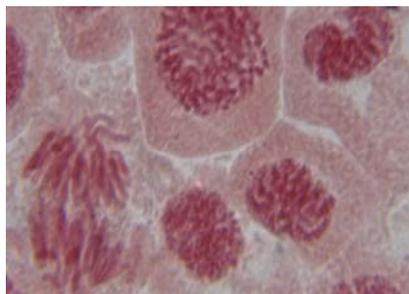
R. Diagrama ilustrativo de las fases de la Mitosis.



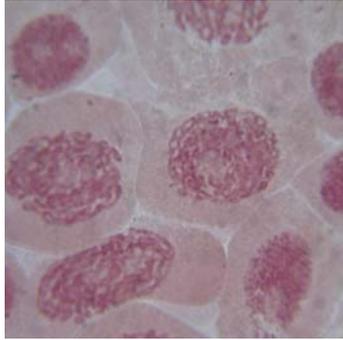
S. Células en división mitótica. Nótese profase, metafase, anafase y telofase en células del meristema de *Allium sativum*. 100x.



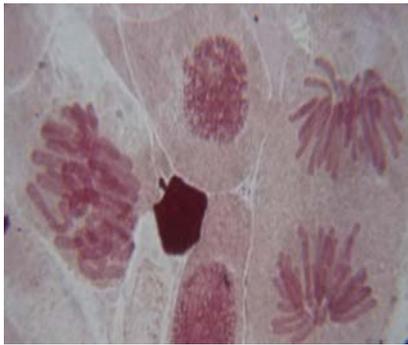
T. Células en interfase del meristema del *Allium sativum*. Nótese la célula en telofase. 100x.



U. Célula en anafase del meristema del *Allium sativum*. Puede observarse también una célula en profase y una en telofase. 100x



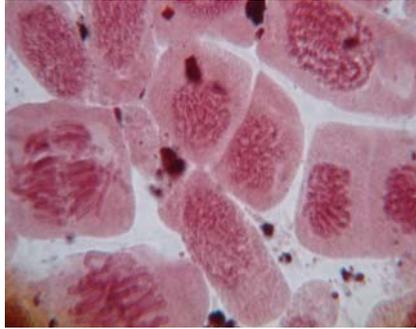
V. Células en profase del meristema del *Allium sativum*. 100x



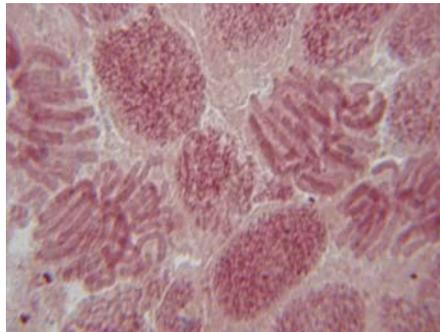
W. Célula en metafase del meristema del *Allium sativum*.
Nótese también una célula en anafase. 100x.



X. Célula en anafase del meristema del *Allium sativum*.
Las células restantes se encuentran en interfase. 100 x



Y. Se observan células en división mitótica.
Nótese la profase, metafase, anafase y telofase. 100x



Z. Células en metafase en el meristema del *Allium sativum*. 100 x.

MATRIZ DE DATOS ORIGINAL

4	3	2	1	TUBO	
				GRUPO	GRUPO
TOP SEAL	CEM. RESIN.	RESINA	ADHESIVO	0h	
40/37/30/31/38/44	32/29/42/38/44/40	13/21/23/18/20/16/4	34/37/50/45	X	
37,14	32,5	16,43	41,5	LONG. RAIZ	
42/41/43/48/53/50	39/41/52/42/29/40	33/24/22/35/32/11	35/45/50/31/48/49	X	
46,43	40,14	25,63	43	CREC. Mm	
2/4/13/17/15/6/8	7/12/10/4/5/10/8	12/6/4/22/1/7/10/12	12/10/16/15	X	
9,29	8	10,5	13,25	TOTAL CEL. OBSERV	
1000	1000	1002	1000	PROFASE	
96	87	93	103	F.M (%)	
9,60	8,70	9,28	10,30	METAFASE	
27	15	33	34	F.M (%)	
2,70	1,50	3,29	3,40	ANAFASE	
14	10	10	21	F.M (%)	
1,40	1,00	1,00	2,10	TELOFASE	
73	50	53	60	F.M (%)	
7,30	5,00	5,29	6,00	INTERFASE	
790	838	813	782	F.M (%)	
79,00	83,80	81,14	78,20	TOTAL CEL. DIV.	
210	162	189	218	I.M	
0,210	0,162	0,189	0,218	LONG. RAIZ	
57/51/53/60/62/61/59	47/57/46/40/55/47	37/20/29/19/3/5	60/58/79/74	X	
56,14	48,67	20,29	67,75	CREC. Mm	
15/10/10/2/9/11/11	8/5/4/11/15/9	4/4/1/7/8	14/11/13/14	X	
9,71	8,67	4,8	13	TOTAL CEL. OBSERV	
1000	1008	1000	1000	PROFASE	
110	54	104	124	F.M (%)	
11,00	5,36	10,40	12,40	METAFASE	
20	12	31	41	F.M (%)	
2,00	1,19	3,10	4,10	ANAFASE	
8	3	8	14	F.M (%)	
0,80	0,30	0,80	1,40	TELOFASE	
82	38	51	64	F.M (%)	
8,20	3,77	5,10	6,40	INTERFASE	
780	901	806	757	F.M (%)	
78,00	89,38	80,60	75,70	TOTAL CEL. DIV.	
220	107	194	243	I.M	
0,220	0,107	0,194	0,243		

MATRIZ DE DATOS ORIGINAL

4	3	2	1	TUBO	GRUPO
65/63/60/59/70/63	60/60/59/45	53/33/40/37/7/10	72/75/90/86	72 h	CONTROL DE CRECIMIENTO
65	56	36,67	80,75		
8/12/7/19/8/4	13/3/13/5	16/13/4/11/5/8	12/12/11/12	REVERSIBILIDAD 24 h	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
9,67	8,5	9,5	11,75		
1004	1000	1000	1000	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
108	60	124	137		
10,76	6,00	12,40	13,70	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
31	13	21	31		
3,09	1,30	2,10	3,10	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
9	3	15	7		
0,90	0,30	1,50	0,70	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
70	41	71	62		
6,97	4,10	7,10	6,20	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
786	883	769	763		
78,29	88,30	76,90	76,30	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
218	117	231	237		
0,218	0,117	0,231	0,237	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
68/67/64/77/65/67/3	52/61/45	40/54/45/68	80/88/92/75		
67	56,5	21,75	83,75	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
3/4/4/2/2	7/2	7/14/8/15	5/2/2/3		
3	4,5	11	3	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
1000	1000	1000	1000		
166	100	142	148	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
16,60	10,00	14,20	14,80		
15	1	24	30	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
1,50	0,10	2,40	3,00		
2	0	16	3	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
0,20	0,00	1,60	0,30		
29	22	72	60	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
2,90	2,20	7,20	6,00		
788	877	746	769	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
78,8	87,7	74,6	76,9		
212	123	254	241	CONTROL DE CRECIMIENTO	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
0,212	0,123	0,254	0,241		

MATRIZ DE DATOS ORIGINAL

4	TOP SEAL	3	2	1	TUBO				
					CEM. RESIN.	RESINA	ADHESIVO	GRUPO	
								REVERSIBILIDAD 48 h	REVERSIBILIDAD 72 h
7073/6975/68	57/66/49	49/66/49/82	86/90/99/87	LONG. RAIZ					
71	57,33	61,5	90,5	X					
2/6/54/3	5/5/4	5/9/5/15/13	6/2/7/12	CREC. Mm					
4	4,67	9,4	6,75	X					
1000	1000	1005	1000	TOTAL CEL. OBSERV					
111	112	115	142	PROFASE					
11,10	11,20	11,44	14,20	F.M (%)					
25	8	19	20	METAFASE					
2,50	0,80	1,89	2,00	F.M (%)					
8	4	8	15	ANAFASE					
0,80	0,40	0,80	1,50	F.M (%)					
66	33	58	48	TELOFASE					
6,60	3,30	5,77	4,80	F.M (%)					
790	843	805	775	INTERFASE					
79,00	84,30	80,10	77,50	F.M (%)					
210	157	200	225	TOTAL CEL. DIV.					
0,210	0,157	0,200	0,225	I.M					
71/76/72/71	60/70/62	77/88/75/92	90/92/95	LONG. RAIZ					
72,5	60,67	83	92,33	X					
1/3/3/3	3/4/3	28/22/26/10	04/02/08	CREC. Mm					
2,5	3,33	21,5	4,67	X					
1008	1000	1001	1005	TOTAL CEL. OBSERV					
135	118	130	125	PROFASE					
13,39	11,80	12,99	12,44	F.M (%)					
18	13	25	41	METAFASE					
1,79	1,30	2,50	4,08	F.M (%)					
12	8	6	9	ANAFASE					
1,19	0,80	0,60	0,90	F.M (%)					
56	31	82	87	TELOFASE					
5,56	3,10	8,19	8,66	F.M (%)					
787	830	758	743	INTERFASE					
78,08	83,00	75,72	73,93	F.M (%)					
221	170	243	262	TOTAL CEL. DIV.					
0,221	0,17	0,243	0,262	I.M					

MATRIZ DE DATOS ORIGINAL

8	7	6	5	TUBO	
				GRUPO	
14/13/16/10/15/6/10/13	16/5/8/5/12/10/15/2/3	10/5/12/15/4/8/5	ADH+ COMP 16/40/30/49/36/29	0h	
12,2	8,44	8,43	33,33	X	
21/20/25/26/23/19/20/12	27/16/24/17/23/7/9/7	10/15/10/14/18/19/6	24/46/41/70/48/32	LONG. RAIZ	
20,75	16,25	13,14	43,5	X	
6/6/7/8/7/7/6/8/5	11/11/14/5/8/5/1/4	5/5/6/5/6/4	8/6/11/21/12/3	CREC. Mm	
6,89	7,38	5,17	10,17	X	
1000	1005	1010	1000	TOTAL CEL. OBSERV	
95	120	101	109	PROFASE	
9,50	11,94	10,00	10,90	F.M (%)	
22	28	51	38	METAFASE	
2,20	2,79	5,05	3,80	F.M (%)	
14	14	4	12	ANAFASE	
1,40	1,39	0,40	1,20	F.M (%)	
42	59	29	69	TELOFASE	
4,20	5,87	2,87	6,90	F.M (%)	
827	784	825	772	INTERFASE	
82,70	78,01	81,68	77,20	F.M (%)	
173	221	185	228	TOTAL CEL. DIV.	
0,173	0,221	0,185	0,228	I.M	
29/35/25/14/29	41/37/13/16/5/5/10	11/15/10/14/18/19/6	33/49/56/74/51	LONG. RAIZ	
26,4	18,14	13,29	52,6	X	
10/10/5/10	14/13/1/2	0/1/0/0/0/0	9/3/15/4/3	CREC. Mm	
8,75	7,5	0,14	6,8	X	
1005	1000	1000	1000	TOTAL CEL. OBSERV	
138	139	88	71	PROFASE	
13,73	13,90	8,80	7,10	F.M (%)	
33	42	65	17	METAFASE	
3,28	4,20	6,50	1,70	F.M (%)	
16	26	4	4	ANAFASE	
1,59	2,60	0,40	0,40	F.M (%)	
45	55	14	69	TELOFASE	
4,48	5,50	1,40	6,90	F.M (%)	
773	738	829	839	INTERFASE	
76,92	73,80	82,90	83,90	F.M (%)	
232	262	171	161	TOTAL CEL. DIV.	
0,232	0,262	0,171	0,161	I.M	

MATRIZ DE DATOS ORIGINAL

8	7	6	5	TUBO	
				GRUPO	CONTROL DE CRECIMIENTO
DMSO	LIQ. DE KNOP	COLCHICINA 0,02%	ADH+ COMP	LONG. RAÍZ	OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO
31/4/19/30/32	28/12/23/13/11/50/40	11/15/13/14/18/19/6	36/51/85/84/55	X	
30,6	25,28	13,71	58,2	X	
2/6/6/5/3	12/7/10/3/6/9/3	0/0/3/0/0/0/0	3/2/9/10/4		
4,4	7,14	0,43	5,6	X	
1001	1004	1002	1002	TOTAL CEL. OBSERV	
108	127	83	93	PROFASE	
10,79	12,65	8,28	9,28	F.M (%)	
27	20	15	9	METAFASE	
2,70	1,99	1,50	0,90	F.M (%)	
17	11	0	11	ANAFASE	
1,70	1,10	0,00	1,10	F.M (%)	
70	70	43	45	TELOFASE	
6,99	6,97	4,29	4,49	F.M (%)	
779	776	871	844	INTERFASE	
77,82	77,29	86,93	84,23	F.M (%)	
222	228	131	158	TOTAL CEL. DIV.	
0,222	0,228	0,131	0,158	I.M	
36/50/47/35/32	66/44/37/18/21/19	27/20/35/41/40/27	57/41/73/53/90	LONG. RAÍZ	
40	34,17	31,67	62,8	X	
5/9/5/15/13	25/7/21/13/8/6	2/4/5/7/6/3	2/5/8/2/6	CREC. Mm	
9,4	13,33	4,5	4,6	X	
1001	1002	1000	1007	TOTAL CEL. OBSERV	
128	145	37	126	PROFASE	
12,79	14,47	3,70	12,51	F.M (%)	
19	28	13	34	METAFASE	
1,90	2,79	1,30	3,38	F.M (%)	
19	18	1	21	ANAFASE	
1,90	1,80	0,10	2,09	F.M (%)	
53	95	15	87	TELOFASE	
5,29	9,48	1,50	8,64	F.M (%)	
782	716	934	739	INTERFASE	
78,12	71,46	93,40	73,39	F.M (%)	
219	286	66	268	TOTAL CEL. DIV.	
0,219	0,286	0,066	0,268	I.M	

