

Universidad de Valparaíso
Facultad de Odontología
Cátedra de Operatoria Dental

MARC
68468

REG. 19039

T
CPZZ
1998

Universidad de Chile
Facultad de Odontología
Depto. de Cs. Físicas y Químicas
Unidad de Bioestructura

EVALUACIÓN DE LA BIOCOMPATIBILIDAD DE MATERIALES A BASE DE VIDRIO IONÓMERO A NIVEL PERIODONTAL.

Integrantes:

Joanna Cuneo LAPORTE
Karem Saavedra ARANDA
Rodrigo Salas MIFÓ
Mauricio Vivanco BARAHONA

Trabajo de Investigación
Requisito para optar al Título de
Cirujano – Dentista.

Profesor Guía:

Dr. Jaime Sarmiento CORNEJO.

Profesor Asociado:

Dr. Alejandro Oyarzún D.

DEDICATORIAS

*Dedicado al esfuerzo y amor de mis Padres,
a mis Hermanos que siempre me entregaron su apoyo
y a mi amado Cristóbal, por acompañarme durante este largo recorrido.
Joanna.*

*Dedicado con cariño a mi Madre, quien ha sido guía y fortaleza
y ha moldeado a la mujer que hoy soy, a mi hermana por su alegre compañía,
a Jaime por haberme entregado todo su amor, y a mi Padre quien desde el cielo ilumina
estos, mis últimos pasos.
Karem.*

*Dedicado a mi Padre por haber sido un ejemplo de esfuerzo, perseverancia y dedicación,
a mi Madre por los cuidados e infinitas muestras de amor y preocupación entregadas
y a mi amada Bernardita por su cariño, apoyo y comprensión.
Rodrigo.*

*Con mi amor, a quienes les debo todo:
A Dios, a mi Madre, a mi Padre y a mis abuelitos Roberto y Elba.
Y a todos aquellos que con su cariño han hecho de mí la feliz persona que soy.
Mauricio*

AGRADECIMIENTOS

Queremos en estas líneas expresar nuestros más sinceros agradecimientos a todos aquellos que en forma desinteresada hicieron posible la realización de nuestra tesis:

Dr. Jaime Sarmiento C., por haber sido un guía, pero por sobre todo, un amigo,

Dr. Alejandro Oyarzún D., por su invaluable ayuda en aquellas largas tardes de microscopía y entrega de conocimientos,

Sra. Edith Cornejo, por permitirnos abusar de su hospitalidad, acogiéndonos con cariño en su hogar,

Dr. Carlos Bahamondes B., por ayudarnos a perfeccionar y ampliar nuestros conocimientos periodontales,

Sra. Inés Guerrero, por ayudarnos a aclarar nuestras dudas estadísticas,

Sr. Patricio Carmona D., por facilitarnos gentilmente su cámara fotográfica,

Sra. Mónica Undurraga, por su colaboración en la entrega de materiales dentales,

Sra. Paola Cuneo L., por sus horas de ayuda y compañía, a Giorgio por abrirnos al mundo de la computación y prestarnos su pieza (centro de operaciones), a Gian por facilitarnos su computador y a toda la familia Cuneo Laporte por su hospitalidad,

"Tata" Roberto Vivanco y abuelita Elba por su generosidad y hospitalidad,

Sra. Angelina Aranda por acogernos y brindarnos su valiosa cooperación,

Sr. Jaime Jamett y familia por habernos recibido en su hogar en aquel día de apuros en Santiago,

Y especialmente a Boby y Pelu.

A todos ellos muchas gracias.

ÍNDICE

	Pág.
Introducción	1
Aspectos teóricos	
Biomateriales	2
Biocompatibilidad	11
Reparación periodontal	18
Objetivos	
Generales	33
Específicos	33
Materiales y métodos	34
Resultados	38
Discusión	43
Conclusión	52
Sugerencias	53
Resumen	54
Bibliografía	55
Anexo 1	59
Anexo 2	61
Anexo 3	62
Anexo 4	67

INTRODUCCIÓN

En los últimos años una nueva filosofía ha venido a reinar en el quehacer odontológico, "Rehabilitación Integral", frase que lleva intrínseca un sin número de conceptos que involucran lo material, lo biológico y lo humano. Esta realidad ha llevado a ampliar los horizontes clínicos de las especialidades; cada vez es mayor el porcentaje de interrelación entre los tratamientos destinados a cumplir con el fin último de devolver al paciente su eufunción.

El afán de investigación clínica y experimental ha ido dejando de lado el concepto físico-mecánico de los materiales restauradores, centrándose en descubrir la implicancia biológica de su utilización.

El término de biocompatibilidad, referido a la respuesta del organismo vivo a un material inerte, ha sido investigado desde hace años en relación con el complejo dentino pulpar, en especial con el advenimiento de la Odontología adhesiva, en la cual se establece una relación íntima entre el material y estructura dentaria, sin embargo, éste no es el único tejido vivo en relación con las restauraciones; el análisis de la biocompatibilidad también debe considerar a los tejidos circundantes, es decir, al periodonto.

Estos conceptos adquieren real importancia cuando el odontólogo realiza procedimientos operatorios que invaden el espacio biológico periodontal, ya que, el hecho no es sólo interponer un elemento extraño, sino que sus propiedades intrínsecas pueden afectar la biología del tejido.

Considerando que este campo ha sido muy poco estudiado, el objetivo de la presente investigación es conocer cuáles son los efectos de la utilización de materiales vidrio ionómero convencionales, resino modificados y composites poliácido modificados, sobre las poblaciones celulares después de realizar restauraciones odontológicas dentro de una cirugía periodontal.

Este estudio pretende ser una guía para el entendimiento de este problema. El tratar de resolverlo sería importante, pues contribuiría al conocimiento general de la biocompatibilidad, pudiendo ser un aporte para la problemática clínica cotidiana del tratamiento de caries radiculares, restauraciones clase V paragingivales, restauraciones intraquirúrgicas, etc.

ASPECTOS TEÓRICOS

Biomateriales

Por muchos años la profesión dental ha intentado desarrollar el material artificial ideal para reemplazar el tejido dental. Aunque no existe un material que cumpla con todos los requisitos, recientemente se han realizado grandes avances en materiales restauradores. El campo es extenso, con una amplia variedad de ellos y de técnicas de manipulación. Estos avances han estimulado al odontólogo a desarrollar nuevas técnicas e introducir materiales mejorados. La mayor parte de estos materiales contactan o interactúan con fluidos y tejidos corporales, por lo que la selección de ellos debe considerar no sólo sus propiedades mecánicas y físicas, sino también su compatibilidad biológica.

Es importante, como primer paso, tener un acuerdo general en la definición de biocompatibilidad. El término ha sido definido como "la habilidad de un material de producir una respuesta apropiada del hospedero en una aplicación específica" (Williams, 1986).

Desde que se introdujo a la profesión dental por Kent y Wilson en 1972, el cemento ionómero de vidrio ha demostrado biocompatibilidad siendo considerado como uno de los cementos menos irritantes. Además, posee otras propiedades favorables como adherencia química a esmalte, a dentina y liberación de flúor, lo que inhibe la desmineralización, contribuye a la remineralización de la dentina adyacente (Williams, 1986; Linch y cols, 1990) y tiene un efecto antimicrobiano (Barrancos, 1988; Baratieri, 1993; Kan y cols, 1997). Sin embargo, la fórmula original era frágil (Goldman, 1985), con una fuerza adhesiva relativamente baja (4,0 Mpa a esmalte y 2,9 Mpa a dentina. Steenbecker, 1997), demostró microinfiltración, caries en las paredes de la interfase diente-restauración y sensibilidad postoperatoria atribuida a su bajo pH (Dragoo, 1996).

Para resolver estos problemas asociados al CVI, la fórmula original basada en un polvo de cristales calcio flúoraluminosilicato (FAS) ($\text{SiO}_2\text{-AlO}_3\text{-CaF}_3\text{-Na}_3\text{AlF}_6\text{-AlPO}_4$) combinada con ácido poliacrílico (50%) (Sasanaluckit, 1993) más agua fue modificada, y recientemente han sido introducidos nuevos tipos de materiales que contienen CVI y resina compuesta. De acuerdo con Motzfeld (1998), los materiales que contienen ambos componentes se clasifican de la siguiente manera:

1. Vidrio ionómero resino modificados o híbridos (introducidos en 1992): material compuesto por ácido policarboxílico metacrilato + cristales de FAS + agua.
2. Composites poliácido modificados o compómeros (introducidos en 1994): material compuesto por resina metacrilato carboxilada + cristales de FAS.

Estos nuevos materiales poseen las siguientes características y ventajas: 1. Menor solubilidad en los fluidos orales; 2. Mayor adhesión a las estructuras dentales (que fluctúan entre 14,5 Mpa a esmalte, 3,5 Mpa a dentina y 2,8 Mpa a esmalte, 6,9 Mpa a dentina para Dyract® y Vitremer® respectivamente); 3. Capacidad de curado dual; 4. Baja contracción al endurecer; 5. Bajo coeficiente de expansión térmica; 6. Radiopacidad; 7. Liberación de flúor, por lixiviación de él (Kan y cols, 1997) y 8. Biocompatibilidad (Dragoo, 1996).

Cemento de Vidrio Ionómero (CVI).

Los cementos ionómero de vidrio fueron diseñados como un híbrido de otros dos materiales, los cementos silicatos y policarboxilatos.

Composición.

A. El polvo consiste esencialmente en un vidrio de aluminosilicato con un alto contenido de flúor. Posee un alto porcentaje de óxido de aluminio, óxido de silicio y fosfato de aluminio (Cuneo, 1989; Baratieri, 1993) y otros elementos que le otorgan radiopacidad (lantano, estroncio, bario u óxido de zinc).

B. El líquido, actualmente, consiste en una solución acuosa de un copolímero de ácido itacónico/ácido acrílico o de un copolímero de ácido maleico/ácido acrílico (estos ácidos son hidrosolubles y polielectrolitos)(Cho y col, 1995).

C. El ácido itacónico reduce la viscosidad y aumenta la reactividad del ácido poliacrílico con la partícula vítrea (Uribe, 1993). También disminuye la tendencia a la gelificación (Wilson, 1978).

Los copolímeros de ácido acrílico/ácido itacónico mejoran la solubilidad en agua, mientras que los copolímeros de ácido maleico mejoran el intercambio iónico (Cho y col, 1995).

El líquido puede ser liofilizado, preparando el ácido poliacrílico, concentrándolo y deshidratándolo al vacío.

El agua del líquido es el componente más importante puesto que es el medio de reacción. Un exceso de ella debilita el cemento y un déficit dificulta la reacción e hidratación.

El líquido presenta la propiedad de quelar los iones calcio del diente resultando en una unión química entre el diente y el cemento, produciendo la retención (Barrancos, 1981).

Reacción de Polimerización.

Cuando el polvo de vidrio es mezclado con el ácido poliacrílico o con el agua, según la presentación del producto, se produce una reacción química compleja (reacción ácido-base y quelación), en la cual las partículas de vidrio de fluor aluminosilicato (base) son atacadas por el ácido ionizado, y como resultado

* Se sugiere que su adhesión parece ser más causada por los componentes de la resina que por los componentes ionómicos, siendo el resultado de interacciones micromecánicas en lugar de químicas al esmalte (Attin y col, 1996).

del contacto de los protones hidratados (H^+) se produce la liberación de los iones Al^{3+} , Ca^{2+} . En el medio líquido forman puentes de sal entre las partículas de polvo un hidrogel de ácido silícico. Por otra parte, el ion carboxílico ($COOH$) del ácido poliacrílico forma, más el Ca^{2+} y el Al^{3+} liberados, una matriz de policarboxilato de calcio y aluminio, matriz que reacciona a su vez con el hidrogel de ácido silícico. La polimerización inicial está dada por la reacción de los iones Ca^{2+} con el líquido formando puentes de sal entre los grupos carboxílicos (Cuneo, 1989). Los iones de aluminio, forman puentes de sal más lentamente y son responsables del mayor endurecimiento y polimerización final. Como resultado se observa en el cemento polimerizado una aglomeración de partículas vítreas sin reaccionar rodeadas de un gel de sílica en una matriz amorfa de polisales hidratadas de calcio y aluminio (Phillips, 1993) adoptando una estructura de tipo nucleada (Barrancos, 1991). El flúor que no participa en la reacción es liberado durante y después de ésta, permitiendo la propiedad de cariostático.

Interacciones del CIV.

Mientras ocurre el endurecimiento, el ionómero puede interactuar a nivel molecular con calcio del tejido dentario (al cual se une por quelación), produciendo uniones adhesivas químicas de tipo iónico.

Por otro lado, en los primeros cinco minutos de reacción ácido-base, se forma gel de policarboxilato de calcio permitiendo la adhesión inicial a la estructura dental, sin embargo, en esta etapa los cementos de ionómero son muy susceptibles a la absorción de agua. Si absorbe agua, la matriz quedará porosa, pudiendo erosionarse fácilmente y alterar el color del cemento.

Ionofil® Voco®.

Es un cemento polyalkenato (ionómero de vidrio) para obturaciones con adhesión química a esmalte y dentina.

Presentación.

Se presenta como un polvo y un líquido (ácido poliacrílico al 10%), cuyos componentes y reacción de polimerización son los mismos de la composición de los CIV en general.

Instrucciones de Uso.

El polvo y el líquido se depositan en una loseta en proporción 1:1 (mezcla de 4.75 grs de polvo: 1 gr de líquido); el polvo se adiciona al líquido, primero en cantidades pequeñas y luego mayores.

La mezcla debe ser hecha con una espátula de plástico en un tiempo no mayor a un minuto. El tiempo de trabajo, después de la mezcla es de unos 2 minutos (con una temperatura de 15° a 20° C) y el tiempo de fraguado, luego de la aplicación, asciende a unos 2,5 minutos.

El campo debe mantenerse bien seco durante el tiempo que dure la técnica restaurativa. Después de la aplicación de Ionofil® se debe cubrir inmediatamente la obturación con una tira o una matriz.

Durante la fase de fraguado el material es sensible a la humedad por lo que se requiere que después de retirar la fina se curan o se curan con un barniz al que se le debe mantener todo por la humedad.

Una vez fraguado el Ionofil® (después de 4-6 minutos desde la aplicación) se podrán eliminar los excesos con un instrumento afilado.

Indicaciones.

Ionofil® es indicado por el fabricante para corregir cuñas y erosiones del esmalte, del cuello dentario, así como también obturaciones de clase V entre otros usos (Folleto Ionofil® VOCO®).

CIV Resino Modificados.

En vista de los problemas asociados a los CVI, y para mejorar sus propiedades, se hizo una modificación en la fórmula original en la cual se reemplazó algo del contenido de agua por un sistema de monómero soluble en agua que contiene hidroximetil metacrilato (HEMA)* capaz de polimerizar con los radicales libres del ambiente (McKinney y Antonucci, 1986; Mathis y Ferrecarre, 1989; Wilson, 1990).

Presentación.

- a. Polvo, el cual se compone principalmente de fluor aluminio y un fotoiniciador.
- b. Líquido, que es una solución acuosa de copolímeros del ácido poliacrílico con grupos metacrilatos, HEMA y un fotoiniciador (Dragoo, 1996).

Reacción de Polimerización.

Estos materiales endurecen por la misma reacción que los CVI convencionales, es decir, la reacción ácido-base del ácido poliacrílico con el vidrio (base) y también por entrecruzamiento de cadenas ocasionado por la funcionalidad del metacrilato. (Dragoo, 1996).

La reacción ácido-base es más lenta en un medio que contiene una mezcla de agua y HEMA que en un medio acuoso. La segunda reacción es la polimerización del HEMA a poliHEMA. De esta manera se forman dos matrices: una sal metálica de polialquenoato y un polímero.

La falta de agua como consecuencia del reemplazo de cierta cantidad por HEMA, retarda la reacción ácido-base, por lo tanto, el endurecimiento inicial que presentan estos cementos se produce por la polimerización del HEMA y no por la reacción ácido-base, la cual sólo sirve para endurecer y reforzar la matriz polimérica que se ha formado.

Los CVI resino modificados de triple curado como el restaurador/reconstructor de muñones Vitremer® 3M®, poseen fraguado químico y también polimerizan por

* La estructura del HEMA es metacrilato, que contiene un grupo carboxilo que lo hace soluble en agua (Cho y col, 1995).

exposición a la luz visible por acción de grupos metacrilatos fotosensibles, además de ser el copolimerizante principal del sistema de polímeros y del HEMA. Esta última reacción es relativamente rápida iniciada por un sistema micro encapsulado de ácido ascórbico hidrosoluble y un sistema reductor catalizador de persulfato de potasio (Mitra y Mitra, 1992), proporcionando al material un endurecimiento relativamente rápido, incluso donde la luz visible no llega, permitiendo su colocación en bloque.

Vitremer® 3M®.

Es un CVI de polimerización por triple vía descrito para la reconstrucción de muñones y restauraciones. Proporciona biocompatibilidad, liberación de flúor producto de la reacción ácido-base que sufre y adhesión a la estructura dentaria (Folleto 3M® Vitremer®). Consta de varios colores de polvo, líquido, acondicionador y brillo de acabado.

Presentación.

- a. El polvo es un cristal de FAS radiopaco sensible a la humedad.
- b. El líquido es una solución ácida de ácido poliacrílico modificado con HEMA, sensible a la luz.
- c. El acondicionador contiene HEMA, alcohol y sustancias fotosensibles. Polimeriza por luz visible y su función es preparar las superficies de unión para facilitar la adhesión del material.
- d. El brillo de acabado es una resina sin relleno, fotopolimerizable que contiene Bis-GMA y TEGDMA.

Instrucciones de Uso.

La superficie debe ser tratada, primero, utilizando el acondicionador que se aplica por 30 segundos en esmalte y dentina, luego se seca por 15 segundos obteniéndose una apariencia brillante y se fotopolimeriza por 20 segundos.

El polvo y el líquido se dispensan en proporción 2,5:1 y deben ser mezclados durante 45 segundos (el tiempo de trabajo es de 3 minutos desde el comienzo de la mezcla a temperatura ambiente).

La aplicación de la mezcla debe hacerse en un campo seco, polimerizándola durante 40 segundos.

El acabado se puede hacer inmediatamente después del fraguado utilizando instrumentos rotatorios, discos Sof-lex usados en humedad y tiras.

Finalmente, para aumentar la estética se puede lavar y secar la restauración y aplicar el brillo de acabado polimerizándolo por 20 segundos.

Indicaciones.

Según el fabricante, Vitremer® está indicado para restauraciones de clase III y V, erosiones/abrasiones cervicales y caries de cuello, entre otros usos.

Composites Poliácido Modificados, Compómeros

Los materiales compuestos poliácido modificados y compómeros, que combinan los aspectos de los dos tipos de materiales dentales. Los productos restauradores con compómeros consisten esencialmente en una pasta o jeringa que contiene resina metacrilato carboxilada mezcladas con cristales de fluoraluminosilicato.

Reacción de Polimerización.

La reacción de endurecimiento inicial ocurre, como en un composite, por la luz que inicia la polimerización del monómero por medio de sus grupos metacrilatos. También ocurre una reacción ácido-base del vidrio ionómero en presencia de agua, por medio de la cual se libera flúor ocurriendo, además, un mayor entrecruzamiento de polímero.

Dyract[®] Caulk Dentsply[®].

Dyract[®] es una resina compuesta poliácido modificada la cual se encuentra en cápsulas de diferentes tonos de material radiopaco capaz de liberar flúor.

Se recomienda el uso con Prime & Bond[®], un primer sellador y adhesivo de esmalte y dentina monobotella curado con luz visible (Folleto Dyract[®] Dentsply[®]).

Composición Dyract[®].

- Resina de Uretano Dimetacrilato (UDMA).
- Acido tetracarboxil butano.
- Estroncio, fluorosilicato de vidrio.
- Iniciador, estabilizador, acetona (Kohen, 1998).

El material de relleno contiene dos resinas formando la matriz de la pasta final; el monómero UDMA (acreditado como componente en materiales dentales y tisularmente compatible) y un componente innovador denominado resina TCB*.

Cada molécula resultante contiene dos grupos metacrilatos y dos grupos carboxílicos, de esta manera el monómero (UDMA) limita la cadena por un lado y el otro termina en algún grupo carboxílico (Steenbecker, 1994).

Reacción de Polimerización.

Dyract[®] endurece a través de fotopolimerización en idéntica forma que los composites.

Las moléculas polimerizables de resina UDMA y TCB están interconectadas, resultando una malla tridimensional reforzada por medio de partículas de relleno encerradas. Hasta aquí, los grupos carboxílicos sobre las moléculas TCB aún permanecen inactivos puesto que esta formulación es anhidra y este ión (H+) impide las reacciones de intercambio a ocurrir. Sin embargo, los grupos ácidos

* Resina TCB: Ácido tetracarboxil butano + hidroxietilmetacrilato.

El mecanismo de curado contrasta con la reacción de base asociada a los CVI tradicionales, pues proporciona inmediata fuerza y resistencia a las condiciones de la cavidad oral.

Dyract® posee además una segunda reacción, donde la masa polimerizada comienza a absorber agua.

Las condiciones ácidas, en virtud de los grupos carboxílicos sobre las moléculas TCB, dan lugar a que sean liberados cationes metálicos desde el vidrio silicato reactivo, el cual, eventualmente, guía la formación de hidrogeles en la resina estructural del compómero.

El tipo de reacción adicional resulta en entrecruzamientos adicionales en toda la matriz. Sin embargo, Dyract® es un material de fotocurado y la reacción ácido-base propia no es suficiente para polimerizar la masa interna no polimerizada. La formación de la estructura iónica adicional sirve para construir las bases para el mecanismo de difusión de iones. Esto último es vital para el largo periodo de liberación de fluoruros que caracteriza a este material (Steenbecker, 1997).

Instrucciones de Uso.

La limpieza cavitaria es primordial para el desarrollo de la adhesión. El esmalte y dentina recién cortados se deben lavar y secar.*

Una vez aplicado y polimerizado el agente adhesivo, la cápsula de Dyract® se debe poner en la jeringa y dispensar el material directamente en la cavidad, polimerizándolo durante 40 segundos al menos.

La terminación puede efectuarse inmediatamente después del curado, eliminando los excesos con piedras o fresas de terminación y con discos y huinchas para pulir.

Indicaciones.

Indicado en restauraciones clase V, abrasiones y erosiones cervicales entre otros.

Sistemas Adhesivos.

Los sistemas adhesivos son materiales odontológicos comúnmente utilizados en la clínica diaria, cuyas finalidades principales son: distribución del estrés del material restaurador, reducción de la filtración en la interfase diente-restauración y aumento en la resistencia adhesiva de la restauración (de Souza, 1997).

Cada vez que fresamos la dentina se debe tener presente que se está dejando una capa de barro dentinario que no está adherida y que interferiría no sólo con la adhesión sino también con el sellado efectivo de los tubulos dentinarios. Por lo

* El grabado ácido del esmalte es opcional para restauraciones clase V. (Manual de instrucciones Dyract® Dentsply®).

Los sistemas adhesivos tienen básicamente tres componentes:

1. Un ácido grabador de esmalte y/o dentina. Por lo general es ácido fosfórico. Su objetivo es grabar el esmalte, produciendo en él micro rugosidades llamadas tags en las cuales puede penetrar un adhesivo y al endurecer en ellas, trabarse micromecánicamente. En la dentina, saca o modifica el barro dentinario, provoca su grabado y actúa como limpiador químico para disminuir la tensión superficial y aumentar la energía.

2. Un primer que acondiciona la superficie dentinaria. Tiene por objeto modificar químicamente el barro dentinario si no ha sido retirado, desinfectar y fundamentalmente humectar la dentina y con ello facilitar la unión química del adhesivo con ella. Por lo general se usa una solución de HEMA y glutaraldehído en etanol o acetona. Dependiendo de la marca, puede estar presente el ácido maleico.

3. Un adhesivo, normalmente fotopolimerizable o dual. Por lo general es un metacrilato polifuncional como el éster fosfórico del Bis-GMA, el MPP (Metacriloxietil fenil fosfato), el 4 Meta (4-Metacriloxietiltrimetilico) o el NPG-GMA (N fenil glicidina glicidil metacrilato), que se trabará por una parte, mecánicamente al esmalte grabado y por otra, químicamente a la dentina tratada y a la resina compuesta que sobre él se aplique (Steenbecker, 1997).

Los sistemas de adhesión a dentina actualmente comercializados se basan en el principio de la formación de una zona de interdifusión o capa híbrida. La teoría de la capa híbrida está basada en la desmineralización superficial de la dentina, dejando expuestas al exterior fibras de colágeno, las que son "empapadas" por una resina hidrofílica del adhesivo, dando lugar al fraguar a un entramado sólido que proporciona una unión muy resistente, que en estudios *in vitro* se encuentra por encima de los 20 Mpa (Cayón y col, 1997).

Actualmente, existen adhesivos de quinta generación que presentan primer y resina adhesiva en un frasco único (como Prime & Bond[®] 2.0 y 2.1, Dentsply[®] y Single Bond[®], 3M[®]) o aquellos en que los materiales poseen ácido incorporado al primer que no necesitan del acondicionamiento ácido de la dentina previamente a su aplicación (de Souza, 1997).

En los sistemas de frasco único, los componentes de éste incluyen el acondicionador y la resina adhesiva. Comprenden una mezcla de monómeros en solución que contienen grupos hidrófilos para humectar y penetrar dentro de la trama de colágeno de la dentina expuesta. El polímero se entremezcla con la trama de colágeno y forma una red bien polimerizada gracias a la disolución que permite el solvente (etanol, acetona) mediante el intercambio del agua contenida en la trama de colágeno por el monómero. La eliminación del agua que producen los solventes permite una mejor penetración de la resina en las irregularidades de la superficie grabada y mayor untamiento del esmalte con resina (Cayón y col, 1997).

Prime & Bond® 2.1 Dentsply® DeTrey®

curado con luz visible y sellador (Folleto Dyract™ Dentsply™), que se combina con una técnica de grabado ácido.

Prime & Bond 2.1® ha sido recomendado para su uso con materiales de resina compuesta y compómero (Manual técnico Prime & Bond® 2.1 Dentsply® DeTrey®).

Composición.

- Resina elastomérica dimetacrilato.
- PENTA (Dipentaeritritol pentacrílico monofosfato, un éster del ácido fosfórico metacrilato. Forma unión con el calcio iónico de la dentina (Gary, 1993), ayuda a humectar y al entrecruzamiento).
- TEGDMA (tri-etilen-glicol-dimetacrilato).
- Hidrofluoruro cetilamina (Fuente de flúor).
- Fotoiniciador, estabilizadores.
- Acetona (captador de agua y transporte del monómero).

Instrucciones de Uso.

Se debe aplicar una cantidad de Prime & Bond® a la superficie cavitaria que moje completamente el esmalte y la dentina.

Se deja así por 15–30 segundos, luego se remueve el exceso de solvente soplando con aire y se fotopolimeriza por 10 segundos.

Se recomienda una segunda capa para optimizar los resultados, removiendo los excesos de solvente al soplar con aire y fotopolimerizar luego por 10 segundos. Inmediatamente sobre el Prime & Bond® polimerizado poner la restauración.

Single Bond® 3M®

El sistema adhesivo Single Bond® 3M® está compuesto de un gel grabador Scotchbond® 3M® y del adhesivo Single Bond® que viene en un solo frasco. Brinda adhesión al esmalte y a la dentina. Este sistema comprende una técnica de adhesión que incorpora un procedimiento tradicional de grabado con ácido fosfórico y puede utilizarse para adherir compómeros y composite (Folleto Single Bond® 3M®).

Composición.

- Dimetacrilato.
- HEMA, Bis-GMA.
- Copolímeros de dimetacrilato.
- Fotoiniciador, etanol, agua (Kohen, 1998).

Instrucciones de Uso

Primero se debe limpiar el grabado con el primer tipo de agua de jabón Scotchbond® al esmalte y dentina. Se esperan 15 segundos, se enjuaga por 10 segundos, removiendo el exceso de agua con una torunda de algodón húmeda.

Utilizando un pincel bien saturado para cada capa, se aplican dos capas consecutivas de Single Bond® al esmalte y dentina grabados. Se seca suavemente por 2-5 segundos y se fotopolimeriza por 10 segundos, quedando así la superficie lista para recibir al material restaurador.

La aplicación clínica de los materiales dentales dentro de un medio biológico trae consigo interacciones e interferencias en el equilibrio normal de los tejidos. Se espera, por parte de los fabricantes, investigadores y clínicos que estas alteraciones sean mínimas o no se produzcan; por esto, se hace imperativo conocer acerca de su biocompatibilidad y así poder inferir los posibles efectos que estos puedan generar a nivel tisular.

Biocompatibilidad

Definición: "Unión química o covalente fisiológicamente normal de moléculas de la matriz extracelular o de la membrana plasmática celular con la superficie del biomaterial, sin la intervención de una capa fibroinflamatoria inmunocompetente".

(Gristina y col, 1994. Clinical Orthopedics and Related Research, 1994)

La biocompatibilidad es un requisito a cumplir por cualquier material de restauración odontológica. La necesidad de biocompatibilidad es tan importante como los requisitos químicos o los requisitos mecánicos. Es por esto, que se ha buscado siempre el material ideal que cumpla con los requerimientos necesarios. En líneas generales la biocompatibilidad trata de buscar una respuesta favorable del hospedero frente a la aplicación específica de un material (Williams, 1986).

Estudios sobre biocompatibilidad

Existen diferentes maneras para medir biocompatibilidad de materiales. Se ha querido establecer normas para igualar los criterios y las técnicas de medición, por esto, en 1972 el Instituto Estándar Nacional Americano/ADA, en su documento n°41 recomendó prácticas estandarizadas para la evaluación biológica de los materiales dentales. Sin embargo, las pautas dadas por entes como la Sociedad Americana de Trabajo de Materiales (ASTM), Instituto de Estándar británico (BSI) n°5736, US Pharmacopoleia (USP) y la administración de comidas y drogas de US (FDA), no incorporan procedimientos de test

material por examen microscópico amplia del tejido, confiando en la experiencia del observador en identificar células morfológicamente alteradas. Por ejemplo la toxicidad puede ser identificada usando microscopía de luz comparando la morfología celular con las células de control, permitiendo una estimación de la toxicidad del material analizado.

A pesar de la gran cantidad de datos obtenidos hoy en día, la mayoría de los estudios abordan principalmente las variables cualitativas que incluyen morfología celular (Kawahara y col, 1979; Hanks y col, 1981; Muller y col, 1990), adhesión celular (Muller y col, 1990) y tasa de crecimiento celular (Kawahara y col, 1979; Meryon y col, 1983; Muller y col, 1990). Sin embargo, Caughman y col (1990), afirmaron que para determinar la biocompatibilidad de los materiales dentales es importante, además de las evaluaciones morfológicas, examinar las alteraciones celulares por medio del metabolismo celular.

Biocompatibilidad y CVI.

La biocompatibilidad de estos materiales ha sido estudiada *in vivo* (Klotzer, 1977; Paterson y Watts, 1981; Plant y col, 1984; Uçok, 1986; Dahl y Tronstad, 1976; Kawahara y col, 1979; Pameijer y Richardson, 1981; Blakman y col, 1989; Van Dijken y Sjöstrom, 1991) e *in vitro* (Kawahara y col, 1979, Meryon y col, 1983; Hanks y col, 1981; Muller y col, 1990; Hume y Mount, 1988). Sin embargo hay poca información publicada sobre el comportamiento biológico (Leyhausen y col, 1998) y las sustancias liberadas de los CVI, excepto la liberación de flúor (Geurtsen, 1998).

La literatura de los CVI muestra que estos materiales tienen buena biocompatibilidad con la estructura dental (esmalte y dentina) y hueso (aplicaciones ortopédicas). Otros estudios han encontrado desarrollo de tejido conectivo, incluyendo fibras colágenas, células mesenquimáticas e incluso áreas de mineralización, en íntimo contacto con la superficie de CVI, lo que respalda su biocompatibilidad en relación a los tejidos blandos (Dazert y Muss, 1995).

Según Leyhausen y col. (1998), los CVI convencionales y de fotocurado deberían ser clasificados como materiales con contacto permanente con los tejidos vivos, por ejemplo, encía y ligamento periodontal.

Factores que afectan la biocompatibilidad de los materiales Vidrio Ionómeros.

Según algunos autores existen varios factores que pueden afectar la biocompatibilidad de los CVI:

- Calor emitido. Durante los primeros pasos de la colocación del CVI el calor es considerado importante, ya que puede dañar aplicaciones dentales u ortopédicas. (Nicholson y col, 1981; Jonck y col, 1989).

Quinn y col, 1987; Hatton y col, 1992). Hatton y col, 1992, estudió el efecto de la sílica en la síntesis proteica en fibroblastos gingivales humanos, sin embargo, encontraron que éste no era el único factor inhibidor.

- Sustancias lixiviadas desde el cemento. Son especies inorgánicas que pudieran entregar biocompatibilidad: silicio, aluminio, calcio, fosfato, estroncio, sodio y flúor (Nicholson y col, 1981; Jonck y col, 1989; Sasanaluckit y col, 1993; Ferracane, 1994).

El microanálisis de la estructura de los CVI indica que los iones originados de las partículas de vidrio se mueven a través de la matriz del cemento, sugiriendo que esta movilidad es importante para determinar la biocompatibilidad y las propiedades adhesivas del CVI (Hatton y col, 1992).

La sílica siempre lixivia desde los CVI; su rol en humanos ha sido difícil de establecer debido a su presencia en comidas naturales, agua y polvo ambiental, sin embargo, ella pareciera tener algunos roles beneficiosos (Sasanaluckit y col, 1993).

El ión Al^{+3} se espera ocupe vacantes apropiadas en la superficie ósea. Es así, que estudios *in vitro* sobre biocompatibilidad de CVI en aplicación ósea, han encontrado altas concentraciones de Si y Al en tejido periostal, además de la colonización de osteoblastos y osteoclastos sobre la superficie del CVI, sin presentar, aparentemente, signos de toxicidad, encontrando el ión Al en altas concentraciones intracelulares (Meyer y col, 1996). Se sugiere, que la contaminación prematura de los CVI con agua, da como resultado una considerable liberación de aluminio de la matriz.

El Ca^{+2} , altamente móvil en el cuerpo, es descargado en pequeñas cantidades siendo fisiológicamente útil, pues es el constituyente inorgánico principal de huesos y dientes, conformando hidroxapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$).

Es sabido que los CVI liberan flúor (Tabla I); es así, como varios factores influyen en la velocidad de su descarga, por ejemplo, es acelerada bajo condiciones ácidas (Crisp y col, 1980; Cranfield y col, 1982) y a una temperatura alta ($37^{\circ}C$) (Jones y col, 1987), además se debe considerar que también puede ser alterada por la condición de endurecimiento (0% a 100% de humedad relativa del medio) (Friedl y col, 1997; Schmalz y Schweikl, 1990). El flúor puede ser descargado desde un CVI de una manera sostenida sobre un periodo de por lo menos 18 meses (Sasanaluckit y col, 1993) y parece ser tomado por el diente adyacente para formar fluorapatita. Hay alguna evidencia de que el flúor induce el crecimiento del tejido óseo (Sasanaluckit y col, 1993), aumentando la densidad del hueso trabecular, por estimulación directa de los osteoblastos.

Se ha investigado la citotoxicidad y la liberación de flúor, encontrando que no hay correlación entre estos dos factores (Kan y col, 1997). Sin embargo Consiglio y col (1998) consideraron al flúor, en su investigación, como el responsable de una parte significativa de la inhibición de síntesis proteica en fibroblastos humanos (estudio *in vitro*).

Otra característica del CVI, Paralelo es que sería como endógeno. Tiene un pH ácido y, a través de los iones H^+ y Ca^{2+} que libera durante la restauración. Entre 10 ppm el ion actúa como antimetabólico alterando las enzimas bacterianas, entre 250 y 1000 ppm posee una acción bacteriostática alterando el desarrollo de colonias y sobre 1000 ppm actúa como bactericida (Gómez, 1995).

Basado en la hipótesis de la lixiviación, se ha vuelto cada vez más popular, que los químicos tóxicos puedan alterar el proceso metabólico normal de las células. La toxicidad de los CVI ha sido estudiada in vitro usando fibroblastos de ratón (Muller, Bruckner y cols, 1990; Muller, Horz y col, 1990) y células Hela (Dahl y Tronstat, 1976). Se observó que la mayoría de los cementos preparados recientemente, muestran alguna evidencia de toxicidad, pero disminuye con el tiempo de endurecimiento. En experimentos con células con un tiempo de contacto prolongado (en los cuales los especímenes han sido contactados por 24 hrs.) el material parece no ser tóxico (Dahl y Tronstat, 1976).

Las características mencionadas son propias de los CVI, pero como vimos anteriormente, este material ha evolucionado durante los últimos tiempos, modificándose grandemente su composición, con el objetivo de mejorar sus propiedades físicas y fortalecer sus características, lo que altera por ende sus efectos en relación a la biocompatibilidad.

Biocompatibilidad y materiales resino ionómeros

La biocompatibilidad, debido a la composición de estos materiales, es similar a la de los CVI, sin embargo ellos adicionan diferentes tipos de resina a su estructura, cuyos componentes individuales han mostrado ser, en algunos casos, citotóxicos (Hanks y col, 1991; Ratanasathien y col, 1995; Bruce y col, 1993).

Al estudiar efectos de CVI y de resinas compuestas en células orales, Caughman y col, (1990) analizaron el potencial citotóxico de los agentes adhesivos de las resinas en cultivos de fibroblastos gingivales y células del epitelio oral, evaluando microscópicamente: morbilidad celular, disminución en la adherencia e inhibición en la síntesis de macromoléculas. Se encontró que el CVI indujo alteraciones morfológicas mínimas en contacto directo con la célula (observándose adhesión celular al material), pero inhibió significativamente la síntesis de RNA y de proteínas. Por el contrario, una severa toxicidad celular se observó en relación a las resinas debido a una inadecuada polimerización, sin encontrar evidencia de células adheridas. Según Hanks la toxicidad de las resinas de Bis-GMA es debida a tóxicos precipitados durante la polimerización o productos residuales de una polimerización incompleta (Hanks y cols, 1981).

Existen dos mecanismos de liberación de sustancias de las matrices de resina:

1. Liberación de monómero sin unir y/o aditivos (iniciadores, coiniciadores, inhibidores, fotoestabilizadores).
2. Lixiviación de componentes debido a la degradación o erosión de los materiales.

Al degradarse estos compuestos se obtienen diferentes sustancias no tóxicas, pero el proceso de degradación libera flúor y, además, se libera un 2% de la masa original (Ferracane, 1994).

Los fluidos orales según Ferracane (1994), actúan como potentes solventes de la matriz resinosa, degradándola y expandiendo las cadenas de polímeros. La mayoría de los aditivos del composite pueden ser extraídos en pequeñas cantidades por solventes orgánicos (Spahl y col, 1998), de los cuales la carfonquina ha demostrado ser citotóxica (Hanks y col, 1991).

Estudios que relacionan solubilidad y grado de polimerización, muestran que un mayor grado de polimerización disminuye la solubilidad significativamente (Pearson y Longman, 1989), por lo que las sustancias degradadas también disminuyen repercutiendo positivamente en menor citotoxicidad. Es así como Tanaka y col (1991), al investigar los monómeros residuales: TEG-DMA y Bis-GMA, encontraron que un incremento en la polimerización, de 30 a 50 seg., resulta en una disminución del contenido de monómero liberado.

En estudios de sustancias liberadas desde los CVI modificados, al igual que en los CVI convencionales, se ha considerado al flúor como el posible responsable de algunas de las alteraciones celulares encontradas (Consiglio y col, 1998; Kan y col, 1997). Al evaluar clínicamente los ionómeros convencionales y materiales resino ionómeros, Van Dijken (1996), observó que los ionómeros modificados con resina liberaron más flúor que los convencionales y que los compómeros (tabla I), sin embargo, estas diferencias no se han podido correlacionar con los grados de citotoxicidad de cada material.

Tabla I: Cuadro comparativo de liberación de flúor de materiales a base de vidrio ionómero.

	CVI convencionales ¹	CVI resino modificados ²	Composites poliácidos modificados ³
Liberación primeras 24 horas (p.p.m.)	15 - 21	15 - 33	6.2 - 7.4
Liberación promedio (p.p.m.)	18	24	6.8

¹ Hörsted-Bindslev P. y Larsen M., 1990

² Hörsted-Bindslev P. y Larsen M., 1991

³ Friedl K y cols., 1997

Al estudiar la biocompatibilidad del CVI en cultivos de osteoblastos primarios humanos (Oliva y cols, 1996) se encontró que los cementos de CVI son biocompatibles, mostrando al igual que estudios anteriormente nombrados, células adheridas, proliferación y expresión de marcadores bioquímicos de fenotipo osteoblástico. En cuanto a un CVI híbrido (Vitremar[®], 3M[®]), presentó gran toxicidad celular. La reacción adversa de este CVI se atribuye a la liberación mínima de 2 componentes de la polifase, evidenciada por análisis de resonancia magnética protónica (PMR):

1. HEMA (hidroxietilmetacrilato)
2. Especies de ácido sin identificar.

Al analizar el hidrogel de polv-HEMA como biomaterial no se encontró adhesión celular ni crecimiento de las células (Sasanaluckit y cols, 1996). Incluso en cultivos con HEMA puro, se produjo muerte de las células osteoblásticas (Oliva y col, 1996). Vitrebond[®], un CVI de fotocurado que contiene 10% su peso de monómero HEMA, es citotóxico produciendo muerte celular de cultivo de fibroblastos (Sasanaluckit y col, 1993), por lo tanto es válido analizar la posibilidad de que los productos que componen los materiales de restauración afecten de tal manera que produzcan citotoxicidad. Esto es más probable si se analizan las reacciones de endurecimiento de cada material.

Al estudiar los CVI en su reacción de gelificación de ácido base observamos la formación de un gel de silicio cubriendo las partículas de vidrio en una matriz de policarboxilato, quedando partículas de vidrio aún sin reaccionar e iones metálicos en movimiento en la matriz. Pero al analizar los compómeros, se observa una pobre reacción de endurecimiento ácido/base, lo que se traduce en que grupos ácido carboxilo y fosfórico dentro de la matriz del cemento, sufran la formación de puentes, quedando sumamente hidrofílicos. La penetración de agua a la superficie del cemento y la resultante degradación hidrolítica puede conducir a una disminución de sus propiedades físicas (White y Yu, 1993) y en el caso de un curado en un medio obscuro exhibir polimerización incompleta (Variglass[®], Caulk-Dentsply[®]; Dyract[®], Dentsply[®]) (Kuby y cols, 1997; Dragoo, 1996).

En los CVI híbridos también es importante el grado de polimerización, influyendo en esto, el grosor de las capas a aplicar; capas de más de 3mm, pueden resultar en la polimerización incompleta, monómero libre y poliácido dentro de las porciones más profundas del material, lo que llevará a fallas en la restauración así como irritación tisular (Stanley y col, 1972). Además, como los composites, la capa superficial es inhibida en su polimerización por el oxígeno o por fluidos, permaneciendo monómero superficial no polimerizado que es probadamente citotóxico (de Souza, 1998).

Superficie.

Los CVI y sus modificaciones posteriores pueden tener diferentes variables que afectan su biocompatibilidad, variables que están generalmente interconectadas. Un ejemplo de esto es el efecto de la terminación y pulido de los materiales, pues la rugosidad superficial es una consideración importante dentro del proceso restaurativo. Esto es especialmente válido en las restauraciones cervicales, pues las rugosidades favorecen la retención de placa bacteriana, donde terminaciones pobres pueden conducir a problemas periodontales e incluso caries recurrente (Tate y col, 1996).

Un estudio de CVI convencional modificado con plata (Cermet[®], Ketac silver[®], Premier[®] dental products) mostró, bajo microscopía de transmisión de electrones, extensas grietas y una distribución bimodal de poros; poros de aproximadamente 10µm dispersos en todo el material y otros mayores de 50 a 100µm pero menos numerosos, diseminados intermitentemente; a mayor resolución se observó pequeñas partículas, relativamente simétricas encajadas y regularmente concentradas en una matriz homogénea (Swift y cols, 1990). Examinación de

prolongada reacción de polimerización de los CVI híbridos. Debido a la hidratación (Macent y Makinson, 1982) y a la deshidratación, es que su terminación no puede ser realizada en el mismo momento operatorio (McLeary y Wilson, 1977), corriéndose el riesgo de que se hidrate prematuramente, pudiéndose producir grietas superficiales, disminuir su resistencia física y alterar su color (Steenbecker, 1995).

Un estudio de rugosidad superficial entre composite y CVI híbridos demostró que se logran superficies más lisas, en ambos tipos de materiales, con el sistema de terminación Sof-lex pop on[®], encontrando en los CVI híbridos (Vitremar[®], 3M[®]) la superficie más lisa, la que se logra con los sistemas de pulido Enhance[®] y/o Sof-lex[®] (Tate y col, 1996).

Adhesivos.

Es de mencionar también, el efecto de los adhesivos dentales en la biocompatibilidad. Algunas opiniones varían entre las reacciones inflamatorias asociadas a agentes adhesivos de resina compuesta, relacionando, la inflamación, al material per se o al crecimiento bacteriano dentro de la interfase diente/restauración, o una combinación de factores (Dawood y Wennberg, 1993).

El tiempo de curado de los adhesivos de resina de fotopolimerización es fundamental en el efecto citotóxico, pues al comparar resina de curado químico y de fotocurado, se encontró una toxicidad equivalente en la resina de microrrelleno completamente polimerizada y una resina de autocurado (Saygili y cols, 1992).

En estudios de adhesivos de 4^o generación, se encontró que estos causaron inflamación cuando se usaron como materiales restauradores para caries subgingivales en perros (Redlich y cols, 1996). Autores han analizado los efectos citotóxicos de los componentes de adhesivos dentinarios en fibroblastos de ratas, encontrando, de mayor a menor, diferentes rangos de toxicidad después de 24 a 72 horas: BIS-GMA, UDMA, TEG-DMA, HEMA (teniendo este último los menores efectos) (Ratanasathicu y cols, 1995).

El comonomero TEG-DMA fue identificado como el principal componente liberado de las resinas compuestas polimerizadas dentro de un medio acuoso (Geurtsen, 1998).

Se infiere como una implicancia clínica que es necesaria una limpieza intensiva de los surcos después del uso de adhesivos dentales, pues los restos son probablemente retenidos subgingivalmente (Redlich y cols, 1996), debiendo ser removidos los excesos antes y después de su polimerización, ya que éstos no sólo pueden favorecer la retención de placa, sino que también pueden interferir en la respuesta tisular debido a su componente resinoso.

Para estudiar la biocompatibilidad de los materiales dentales a nivel periodontal, es necesario conocer la morfología de estos tejidos y la manera como ellos reaccionan ante estímulos externos para poder lograr una adecuada reparación.

El tejido periodontal representa un ejemplo único de interfase entre un tejido mineralizado envuelto por tejido conectivo y epitelial. Bajo condiciones fisiológicas la homeostasis celular del tejido periodontal es bien organizada, resultando de un reemplazo de células muertas (McCulloch, 1985) y remodelación de la matriz extracelular. La regeneración tisular es aquella que restaura los variados componentes del periodonto en sus localizaciones adecuadas, cantidades y relaciones de cada uno de los elementos. En teoría varios eventos biológicos y estructurales deben ocurrir durante la regeneración del tejido periodontal, esto incluye el establecimiento del epitelio de unión a la región coronaria, la formación de nuevo cemento y hueso alveolar, y la formación de fibras orientadas (ligamento periodontal) conectando la superficie radicular al hueso alveolar, y dado que estos sucesos deben ocurrir a una cierta secuencia y proporción específica, es que el proceso se hace tan complejo para su estudio y entendimiento.

Histología de la unión dento-gingival.

La unión de los tejidos orales blandos alrededor del cuello dentario por sobre la cresta ósea marginal se denomina unión dento-gingival o ancho biológico periodontal; considerada una unidad morfofuncional compuesta por dos sistemas, el epitelio de unión y la inserción conjuntiva supracrestal (Barrios, 1991).

- Epitelio de unión.

El epitelio de unión, forma una estructura unificadora entre el tejido conectivo gingival y la superficie dentaria, describiéndose como un collar epitelial de 0.25 a 1.35 mm de diámetro en sentido corono-apical. Es una constante presente en todos los dientes y su dimensión varía de diente a diente y en las superficies de un mismo diente. Según estudios histológicos realizados por Gargiulo, su longitud varía entre 0.08 y 3.52 mm con un promedio de 0.97 y disminuye a medida que aumenta la edad (Gargiulo y cols, 1961; Barrios, 1991).

Es uno de los tres epitelios posibles de encontrar en el periodonto de protección y consiste en una banda de epitelio plano pluriestratificado no queratinizado que se extiende desde la base del surco gingival hasta el límite amelocementario. Posee una forma triangular cuyo vértice se localiza apicalmente y está representado por unas pocas capas celulares, y en algunos casos por una sola, en cambio su base presenta de 15 a 30 capas de células (Barrios, 1991).

Dentro de su composición se pueden distinguir un estrato basal o germinativo, un estrato parabasal de células más grandes y de células directamente adheridas al diente (células DAT)(Marks, 1994). La primera consta de células cuboidales con capacidad proliferativa, que se relacionan directamente con una lámina basal que

La capa del tejido conectivo. Las células del estrato suprabasal son alargadas y se adhieren al tejido conectivo. En el estrato suprabasal se encuentran las células DAT. En condiciones normales, es posible detectar números variables de granulocitos neutrófilos (Barrios, 1991; Genco, 1993).

Las células DAT difieren en su morfología, levemente de las células suprabasales. Estas desarrollan hemidesmosomas a lo largo de sus membranas celulares y sintetizan una lámina basal que une el epitelio a la superficie dentaria adyacente.

Esta capa celular ha sido considerada la más importante del epitelio, ya que es la encargada de establecer la adherencia epitelial. Estudios realizados tanto *in vivo* como *in vitro*, tratan de establecer el origen de este tipo celular, sugiriendo que las células del epitelio oral cuando entran en contacto con la superficie dentaria durante la formación del epitelio de unión, cambian su fenotipo de migratorio a proliferativo, siendo los precursores de estas células (Salonen, 1994).

También se ha postulado que estas células constituyen una población distinta de células proliferativas (Overman, 1994). Cuando las células DAT necesitan ser reemplazadas, por un proceso fisiológico, las células del estrato suprabasal se diferencian y toman contacto con el diente, desarrollando uniones celulares específicas (Taylor, 1976), sin embargo cuando se producen alteraciones menores por estrés o daño mecánico (micro alteraciones por masticación), las células DAT ya maduras son capaces de proliferar y suplir las células dañadas de manera rápida sin tener que esperar la diferenciación desde estratos basales (Overman, 1994).

La lámina basal sintetizada por las células DAT, es comparable a la que une el epitelio con el tejido conectivo y se le denomina lámina basal interna para diferenciarla de la lámina basal externa que une el epitelio de unión a su conjuntivo. La interfase entre el epitelio de unión y su conectivo es lisa, sin embargo, cuando existen procesos inflamatorios *in situ*, se aprecia formación de abundantes prolongaciones epiteliales (rete pegs) (Barrios, 1991; Genco, 1994).

La lámina basal interna es una estructura amorfa producto de la secreción de las células epiteliales y está compuesta por dos subláminas, la lámina lúcida y la lámina densa. La primera, es una zona electrolúcida de 30 nm de grosor, constituida por colágeno tipo IV y glicoproteínas (fibronectina y laminina) con función de adhesión al sustrato, que participan en los procesos de migración y regeneración tisular. La lámina densa de 50 nm de espesor, está en contacto con la superficie dentaria y se constituye principalmente de colágeno tipo IV. A ella llegan y se anclan los finos filamentos de los hemidesmosomas epiteliales que atraviesan la lámina lúcida (Aguirre y cols, 1986; Genco, 1993)

A lo largo de la lámina basal interna se observa un mayor número de hemidesmosomas comparado con la lámina basal externa, sin embargo, los haces de tonofilamentos que se anclan en las células de unión por espacios. La mayoría de estos tonofilamentos están ordenados paralelamente a la superficie celular, contrastando con lo que ocurre en la lámina basal externa. Esta diferencia

casales a la lámina basal. Esta es relativamente estática, el mecanismo adhesivo existente entre el epitelio y la superficie dentaria debe permitir un continuo movimiento de las células hacia la porción coronal y, por lo tanto, se basa más en fuerzas adhesivas que en interconexiones estructurales (Ten Cate, 1985).

Algunos autores han descrito la presencia de una tercera zona de 10 a 20 nm, la lámina sublúcida, que juega un importante rol de refuerzo en la adhesión química de las células epiteliales a la superficie dentaria. Esta se ubicaría en el espacio originado por las relaciones producidas entre las cargas negativas de la superficie de las células epiteliales y la superficie del esmalte y cemento dentario (Aguirre y cols, 1986).

Entre la lámina basal interna y la superficie dentaria se aprecia con frecuencia la presencia de una cutícula de 0.5-1 μm de espesor, siendo posiblemente, el producto de las células del epitelio de unión.

En algunas ocasiones se puede observar también, un epitelio de unión adherido a una capa de cemento afibrilar por medio de hemidesmosomas y membrana basal interna (Barrios, 1991), en una extensión de más o menos 1 mm a nivel de la unión cemento-esmalte.

- Tejido conectivo supracrestal

El tejido conectivo supracrestal comprende las estructuras mesodérmicas de la encía coronales a la cresta alveolar. Gargiulo (1961) estableció que su dimensión puede variar entre 0.01 y 6.51 mm, con un promedio de 1.07mm, siendo una estructura estable, es decir no varía con la edad.

Está compuesto por fibras (60% del volumen del tejido conectivo), células (5%), vasos, nervios y matriz (35%) (Lindhe, 1992).

Las fibras predominantes son las colágenas y corresponden al componente esencial del periodonto. Son producidas fundamentalmente por los fibroblastos, pero también los cementoblastos y osteoblastos poseen la capacidad de producirlas. Existen además, fibras elásticas asociadas a vasos sanguíneos; numerosas fibras reticulares ubicadas en una zona estrecha debajo de la membrana basal y en el tejido de revestimiento de los vasos sanguíneos y fibras oxitalánicas que son llamadas así por su resistencia a los ácidos. Estas últimas se encuentran a lo largo de todo el tejido conectivo periodontal, pero su origen, composición y función son aún desconocidas (Genco, 1994).

Aunque muchas de las fibras colágenas están distribuidas irregularmente, en su mayoría tienden a disponerse en grupos de haces con una clara orientación. Es importante destacar que existen dos grupos de fibras: las fibras del ancho biológico, es decir aquellas que se encuentran sobre la cresta, pero en íntima relación con la estructura dentaria (fig.1). y las fibras gingivales, descritas por Retensonar y cols (1966) que comprenden todo el conjunto gingival: dento-gingivales (coronales, horizontales y apicales), alveolo-gingivales, interpapilares, transgingivales, circulares, semicirculares, dentoperiostales, transeptales,

- adaptar íntima y firmemente la encía contra el diente y el hueso alveolar.
- otorgar la rigidez necesaria a la encía marginal para soportar las fuerzas masticatorias.
- unir la encía marginal libre con el cemento radicular y la encía adherida (Lindhe, 1992; Barrios, 1986).

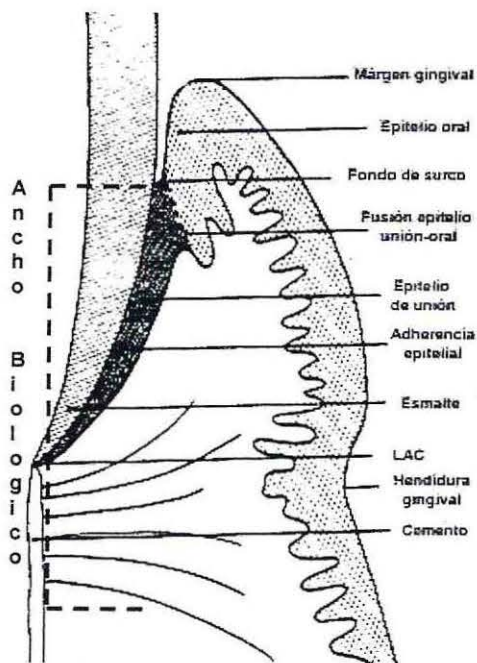


Fig. 1: Ancho biológico

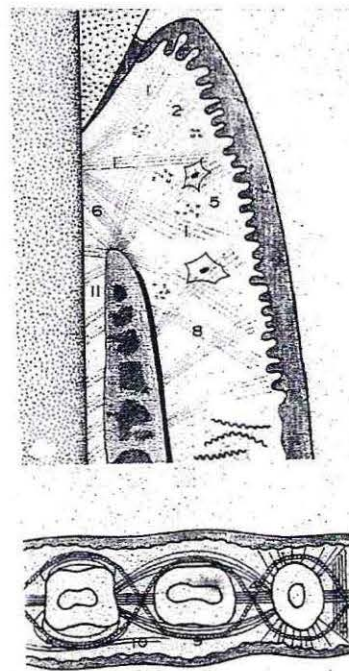


Fig. 2: Fibras gingivales.

De los elementos celulares del tejido conectivo supracrestal el fibroblasto es la célula predominante (65% de la población celular). Ella sintetiza y secreta las fibras colágenas, así como también elastina, colagenasas, glicoproteínas y glicosaminoglicanos. Los fibroblastos cumplen además la importante función de regular la cicatrización de las heridas producidas por intervenciones quirúrgicas, traumatismos o procesos patológicos. Además de ellos, existen células mesenquimatosas indiferenciadas, macrófagos, mastocitos y granulocitos neutrófilos (Lindhe, 1992; Carranza, 1993).

En una encía clínicamente normal, es posible encontrar pequeños focos de células plasmáticas y linfocitos en el tejido conectivo cercano a la base del surco. Los granulocitos neutrófilos se observan, tanto en el surco como en el tejido conectivo. Se cree que la presencia de estas células inflamatorias en una encía clínicamente sana (inflamación subclínica), está relacionada con la respuesta del organismo a la placa del surco. Este infiltrado no debería estar presente si la normalidad se observara con un interés clínico estricto, por esta razón, a pesar de presentarse frecuentemente, las células inflamatorias no son un componente normal de los tejidos gingivales (Carranza, 1992).

Principios generales de cicatrización

El proceso de cicatrización se relaciona al sistema de respuesta inmune. El primero hace relación a la regeneración de los tejidos alterados y el segundo a la cicatrización (Barrios, 1993).

Regeneración, consiste en el proceso biológico por el cual la estructura y función del órgano o tejido dañado es totalmente restaurada en calidad y cantidad. La cicatrización por el contrario, es la curación de una lesión por tejidos que no restauran la arquitectura ni la función alterada (Robins, 1990).

El proceso de cicatrización comienza con una respuesta inflamatoria inicial, que consta de un componente vascular y uno celular. La lesión de los tejidos y la destrucción de los vasos sanguíneos lleva a la activación del factor de Hageman y a la iniciación de la cascada de coagulación y agregación plaquetaria (Hunt y cols, 1985). Esto genera bradicinina, prostaglandinas y derivados del complemento, tales como C5a y C3a, sustancias que aumentan la permeabilidad de los vasos no dañados adyacentes al coágulo intersticial en el tejido circundante, junto con ser quimiotácticos de neutrófilos (PG's) (Peacock, 1984).

El aumento de la permeabilidad vascular unido a la acción de mediadores químicos (interleucina 1 y factor de necrosis tumoral), activan las células endoteliales y aumentan las propiedades de adherencia de éstas para los neutrófilos circundantes, los cuales se marginan, cruzan la pared vascular por diapedesis y entran al lugar de la herida (Bevilacqua y cols, 1987).

Los neutrófilos aparecen entre las primeras 6 a 12 hrs y previenen la infección a través de la fagocitosis de microorganismos y la destrucción de tejido muerto por medio de la liberación de proteasas y enzimas lisosomales. En presencia de infección, los neutrófilos son necesarios para el proceso de curación, pero en una herida aséptica, el proceso ocurre normalmente en ausencia de ellos (Goslen, 1988).

Durante las etapas más tardías de la curación, aparecen los macrófagos, células importantes en la organización del proceso; ellos fagocitan y digieren microorganismos y tejidos de desecho (Newman y col, 1982), además liberan sustancias biológicas activas como agentes quimiotácticos, interleucina 1 y factores de crecimiento para fibroblastos y células endoteliales (Diegelman y col, 1984). Este reciclaje de materiales ingeridos es un método eficiente para proveer de sustrato útil, tal como aminoácidos y azúcar, los cuales son requeridos para la reparación. De múltiples estudios (Messadi, 1991), se hace claro el rol fundamental de los macrófagos en la transición entre la inflamación y la reparación. Junto a ellos, los linfocitos (6-7 días) a través de la liberación de linfoquinas, tales como el factor inhibidor de la migración, interleucina 2 y factor de activación de macrófagos, pueden influir directamente en la reparación al liberar factores quimiotácticos y estimular la proliferación de fibroblastos y deposición de colágeno (Goslen, 1988; Korn, 1980).

Inmediatamente después de la etapa aguda, ocurre la formación de un tejido de granulación, consistente en una densa población de macrófagos, fibroblastos y neovasculatura dentro de una matriz de fibrina residual, fibronectina,

glicoproteínas, colágeno y glicosaminoglicanos (Clark, 1985): comienza a los 3 ó

producción de colágeno, elastina, glicosaminoglicanos y proteasas, tales como las colagenasas, que juegan un papel importante en el debridamiento del tejido y en su remodelado (Van Winkle, 1967).

Para que la aposición de colágeno se produzca, es necesaria la preexistencia de una malla de fibronectina, la cual va desapareciendo a medida que se van aponiendo haces maduros de colágeno, principalmente tipo III, que es sintetizado por fibroblastos residentes, 2 ó 3 días después que la célula entra en la herida (Kurkinen y cols, 1980).

La angiogénesis, a cargo de las células endoteliales, es paralela a la migración y proliferación de fibroblastos, importante en la entrega de oxígeno y nutrientes, así como también en la excreción de desechos tóxicos y productos metabólicos (Messadi, 1991).

Al mismo tiempo que ocurren estos sucesos, las células epiteliales son estimuladas por el llamado "efecto marginal libre", en el cual la célula es inducida a diferenciarse y migrar cuando su unión a otras células es destruida. Antes que la migración comience, ocurre una alteración fenotípica en las células basales, las cuales pierden sus desmosomas intercelulares y desarrollan filamentos citoplasmáticos periféricos de actina. Estos cambios proveen de un aparato de locomoción a las células, las que no migran a través del coágulo, sino bajo él, debido a la secreción de enzimas proteolíticas que disuelven la base del coágulo y permiten la migración del epitelio. Esta migración es hecha sobre una matriz provisional de fibrina unida con enlaces cruzados a fibronectina, elastina y colágeno tipo I y III. Una vez establecida la primera capa de células epiteliales, las capas adicionales se desarrollan por división mitótica.

Mientras tanto, la formación de matriz, que comienza con el proceso de fibroplasia, depende del adecuado suministro de oxígeno y su tensión en el tejido, influye en la producción de colágeno. Se ha observado que el máximo nivel de producción está entre la primera y segunda semana y la máxima deposición de colágeno entre la tercera y cuarta semana. Una vez que el colágeno forma macromoléculas, el tejido obtiene su rigidez y resistencia tensil, la cual va variando durante el proceso de remodelado (Piela y cols, 1990).

La herida ahora experimenta un cambio de tejido de granulación celular a tejido conectivo relativamente avascular y con incremento de enlaces cruzados.

Patrones histológicos de reparación periodontal.

La reparación periodontal puede mostrar uno o más de seis patrones histológicos generales:

- Sin reparación.
- Epitelio de unión largo unido a la superficie radicular.

- Inserción de tejido conectivo a la superficie radicular.
- Hueso nuevo con reabsorción radicular y/o anquilosis.
- Nuevo aparato de inserción.

Los factores que influyen la contribución relativa de cada patrón en la reparación incluyen control de placa, estructura inicial del defecto óseo, tratamiento empleado, factores del tratamiento quirúrgico, fuente de las células de repoblación y cuidados post tratamiento (Ramfjord, 1984).

La reparación deficiente, se relaciona con el control insuficiente de la infección, limpieza inadecuada de la lesión y ausencia de mantenimiento (Ramfjord, 1984).

La cicatrización por medio de un epitelio largo, es el patrón mayormente encontrado luego de un tratamiento. Al retirar el epitelio de unión, las células del estrato basal del epitelio bucal proliferan a lo largo del defecto y producen una adherencia epitelial mantenida por estructuras cuticulares y hemidesmosomas (Takata y col, 1986). Su estructura resulta idéntica al epitelio de unión antiguo y debido a su rápida proliferación (células lábiles), impide que se establezca un contacto entre los progenitores periodontales y la raíz, requisito temprano si se desea regeneración (Björn, 1961).

La inserción de tejido conectivo a la superficie radicular se denomina reinscripción conjuntiva, en la cual las fibras colágenas se insertan en el cemento. Existen diferentes situaciones que pueden ser encuadradas en este concepto; en el segmento siguiente se analizarán con detalle.

Los últimos patrones incluyen la formación de hueso nuevo, separado o no de la superficie radicular por epitelio. Cuando en una herida periodontal las células del tejido de granulación son derivadas del tejido óseo y se ponen en contacto con la raíz, se puede iniciar un proceso de anquilosis y/o reabsorción radicular, complicaciones que se producen sólo en ocasiones (defectos infraóseos) por la gran capacidad proliferativa del epitelio (Björn, 1965).

Cuando se estudia el potencial regenerativo de los tejidos periodontales, se ve que el depósito de cemento nuevo con nuevas fibras colágenas insertas ocurre en las áreas más apicales de la herida periodontal (Cole y col, 1980; Karning y col, 1980; Nyman y col, 1981). De hecho, experimentos en animales (Melcher, 1970) han demostrado que sólo las células derivadas del ligamento periodontal poseen la capacidad de producir nuevo cemento. Para comprobarlo, Nyman y col (1982) crearon un modelo experimental que reveló que la formación de una nueva inserción se producía con inclusión de cemento recién formado, inserción de fibras y hueso alveolar de sostén, capacidad sólo manifestada cuando las células del conectivo y epitelio son impedidas de ocupar el área de la raíz en curación, pues ellas carecen de capacidad para regenerar y más aún, impiden que ésta se produzca dado su mayor potencial proliferativo (Gottlow y col, 1984).

largos los estudios que se entocan a describir el desarrollo de los procesos que permiten que esto ocurra, sin embargo, dentro del intrincado de secuencias biológicas, no se había estudiado a fondo una de las áreas de mayor relevancia para el mantenimiento de la fisiología del periodonto de inserción. Dicha área corresponde a la unión dentogingival (Gargiulo, 1961).

El conocimiento de esta unidad se hace fundamental ante la importancia que tiene en la protección biológica del periodonto de inserción y en la estrecha relación con el quehacer odontológico. El hecho de identificar los mecanismos involucrados en su regeneración, nos permite utilizar los conocimientos en pro de prevenir o acelerar su restablecimiento en caso de alteraciones, evitando así que mayores injurias ataquen el periodonto subyacente.

Regeneración del epitelio gingival.

La ultraestructura de la adherencia epitelial ha sido estudiada en humanos (Frank, 1972) y en animales (Listgarten, 1972) con el fin de conocer íntimamente cómo ésta se produce.

Como ya hemos visto, la adherencia del epitelio de unión consiste en células elongadas no queratinizadas, dispuestas paralelamente a la superficie dentaria, cuyas membranas celulares, de las más superficiales (células DAT), se encuentran cubiertas por hemidesmosomas (Frank, 1974) unidos con la capa cuticular del esmalte dental, asumiéndose que su función es la de unir el epitelio a la corona dentaria.

El proceso de recambio fisiológico para este epitelio es muy alto (4-6 días), comparado, por ejemplo, con el epitelio oral en el que dura de 6 a 12 días. Las células más superficiales degeneran y nuevas células epiteliales las reemplazan en su función de adherencia. Sin embargo, cuando ésta se ve alterada, dependerá del tipo de daño (remanencia o remoción total del epitelio), qué células y en qué tiempo restablecerán la unión.

Teniendo como base lo anteriormente dicho, podemos encontrar diferentes situaciones que requieran de la regeneración epitelial:

- Eliminación total del epitelio de unión y del surco por gingivectomía.
- Eliminación total del epitelio de unión y del surco por colgajo de bisel interno.
- Separación quirúrgica del epitelio de unión de la superficie dentaria.

Reparación post gingivectomía.

La gingivectomía implica la excisión completa del tejido gingival, siendo su propósito la eliminación de la pared blanda del saco periodontal.

Investigaciones han demostrado que luego de una gingivectomía, se forma una nueva encía, viéndose un epitelio regenerado de apariencia histológica normal e

un coágulo sobre la superficie tratada; el tejido subyacente sufre inflamación aguda con alguna necrosis y ya a las 24 hrs, se aprecia un aumento celular, especialmente de angioblastos, bajo la capa inflamatoria.

El tejido de granulación que luego se forma, crece en dirección coronal, formando el margen gingival libre y un nuevo surco. Después de 12 a 14 hrs, las células epiteliales de los márgenes de la herida comienzan a migrar sobre el tejido de granulación, separándolo de la capa superficial contaminada del coágulo. Las nuevas células epiteliales provienen de la capa basal del epitelio del borde de la herida y migran sobre una capa de fibrina que luego es reemplazada por un lecho conjuntivo.

Por lo general la epitelización termina luego de 10 a 12 días. Durante las primeras cuatro semanas, la queratinización es menor, tardando la regeneración epitelial completa alrededor de 1 mes. La restitución del conjuntivo lleva casi 7 semanas (Carranza, 1993).

Reparación post cirugía con colgajo.

Inmediatamente luego de la cirugía, 0-24 hrs, se establece una conexión entre el colgajo y el diente o la superficie ósea por medio del coágulo sanguíneo, consistente en fibrina, abundantes leucocitos, restos de células lesionadas, transudado hístico y capilares del borde de la herida.

A los tres días el espacio entre diente y colgajo es más delgado y las células epiteliales migran sobre el borde del mismo, conectándolo en ese momento al diente.

A la semana ya se ha establecido una unión epitelial a la raíz por medio de hemidesmosomas. El tejido de granulación derivado del conectivo gingival reemplaza el coágulo. Dos semanas luego de la cirugía, comienzan a aparecer fibras colágenas paralelas al diente. La unión aún es débil, debido a la presencia de fibras inmaduras, aunque el aspecto clínico puede ser normal.

Transcurrido un mes, se presenta un surco gingival completamente epitelializado y una disposición funcional incipiente de las fibras supracrestales.

Separación quirúrgica del epitelio de unión.

Este tipo de situación difiere de las anteriormente descritas ya que en ella no se produce una pérdida total del epitelio, en este caso, la separación ha sido provocada con fines de estudio o ante situaciones que no son necesariamente debido a una infección de saco, por lo que no es necesario eliminar el tejido.

Sin embargo, la restauración de la adherencia, no es producida por las mismas células existentes antes del acto quirúrgico, esto, debido a que la injuria altera fuertemente la capacidad de "orden de reparación", dando en la microestructura,

inicia con un periodo de latencia de alrededor de un día, durante el cual ocurre una infiltración con leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, los que se presentan dentro del epitelio como también en el espacio extracelular, fagocitando bacterias y restos de las células injuriadas. Las células mientras tanto se observan en ausencia de contacto con la cutícula dental y sin presencia de hemidesmosomas.

Pasado este periodo de latencia, las células del estrato basal comienzan una proliferación y migración a través de la zona anteriormente ocupada por ellas. Esta migración se produce por medio de "saltos celulares", es decir las células se van desplazando por sobre su antecesora.

A las 48 horas, en las células ubicadas más apicalmente, se observan hemidesmosomas pobremente diferenciados, siendo mejor definidos como condensaciones citoplasmáticas marginales con material extracelular condensado en el espacio adyacente. En las áreas más superficiales, la separación aún es franca y las células se presentan planas, con pocos organelos y rellenas con un citoplasma granular y fibroso, no evidenciando procesos de unión al cemento.

A los tres días se ven claramente las uniones de células epiteliales a la cutícula del esmalte, éstas contienen tonofibrillas que cruzan su citoplasma y terminan en desmosomas o hemidesmosomas que abarcan dos tercios del camino original.

Entre los cinco y siete días*, se observa una unión madura por hemidesmosomas uniformemente distribuidos a lo largo del contacto de superficie, con una lámina basal interna de 800 Å que los separa de la cutícula dental (Taylor y Campbell, 1972), constituyéndose así, una capa de células DAT totalmente madura.

Como vemos, la "readherencia epitelial" comienza primeramente cerca de la unión cemento-esmalte, en el lugar donde ocurre la proliferación (primer día). Las células del estrato basal una vez en el sitio a regenerar, se diferencian al estrato suprabasal. A medida que maduran van apareciendo las uniones específicas, también en progresión de apical a coronal y se va generando la unión por un reemplazo total con células epiteliales nuevas, es decir regeneración.

Reinserción Conjuntiva.

La inserción de tejido conjuntivo a la superficie radicular, apicalmente al epitelio de unión, se denomina reinserción. Se postulan 2 formas de este patrón de cicatrización. La primera es la inserción de fibras colágenas en el cemento en zonas de la superficie radicular no infectadas por periodontitis, y la segunda es la interdigitación de las fibras gingivales con fibras colágenas de la superficie radicular que han sido expuesta a desmineralización por ácido cítrico (Genco, 1993).

* Nótese que este tiempo corresponde al empleado por las células en regenerar en caso de haber sólo una desunión del epitelio y no una pérdida como sucede en la gingivectomía, donde el tiempo de regeneración es más largo (12 a 14 días), a cargo de las células del epitelio oral.

Actualmente, el término re inserción en periodoncia hace referencia al nuevo empalme de las fibras colágenas del colgajo. Es decir, se habla de re inserción cuando el paciente ha recibido un procedimiento quirúrgico consistente en levantar un colgajo, que se coloca de nuevo sobre el diente, lográndose el empalme de las fibras periodontales remanentes de la superficie dentaria con las fibras colágenas del colgajo (Frank, 1964). Para obtener este resultado es muy importante no pulir la superficie radicular en el área de inserción conjuntiva, es decir a lo menos 1mm desde la cresta ósea, ya que esta zona no está infectada por la enfermedad periodontal sino sólo afectada por sus metabolitos y en plena capacidad de generar una re inserción (Bahamondez, 1997).

Estudios ultraestructurales de la unión fibrilar entre el tejido conectivo y la superficie radicular han mostrado que pueden ocurrir de dos formas. La primera consiste en una interdigitación entre las nuevas fibras colágenas con el cemento o la matriz fibrilar de dentina, mientras que la segunda involucra un anclaje directo a nivel fibrilar entre la matriz de fibras y el nuevo colágeno secretado por los fibroblastos (Schüpbach P, 1993)

El potencial biológico para la inserción de nuevo tejido conectivo a superficies radiculares expuestas patológica o quirúrgicamente a sido estudiado tanto en humanos como en animales experimentales (Polson, 1983; Selvig, 1988; Frank, 1974; Hiatt, 1968). La presencia de nuevo cemento con fibras colágenas dentogingivales insertadas en él, puede ser considerada evidencia de regeneración en una superficie radicular instrumentada. Se ha encontrado generalmente, que no se forma nuevo cemento sino hasta después de la tercera semana del proceso de reparación periodontal tanto en humanos, perros y monos (Schüpbach, 1993). Este dato es particularmente importante si consideramos que el fracaso en la re inserción de los tejidos conectivos ha sido tradicionalmente atribuido a la rápida migración apical del epitelio de unión, 7 a 10 días, que impediría que células del tejido conectivo gingival o periodontal entraran en contacto con la superficie radicular (Stahl, 1977; Aukhil, 1991). Los resultados de Caton y col. (1980) y Caton y Nyman (1980) demostraron que la re inserción era inhibida por la migración apical del epitelio dentogingival. Esto llevó a los investigadores a especular que la nueva inserción del tejido conectivo solo sería posible si se excluía el tejido epitelial o se retardaba su migración apical (Melcher, 1976), ya que se consideró como requisito primordial para una re inserción conjuntiva, el contacto temprano entre el tejido conectivo gingival y la raíz (Hiatt W y col., 1968). (Lindhe, 1992). Sin embargo, Nyman y col. (1980) demostraron que la re inserción conjuntiva no era promovida por la mera exclusión del epitelio. El experimento reveló que el tejido de granulación derivado del tejido conjuntivo gingival carece de la capacidad para establecer una nueva inserción de tejido conjuntivo, debido a que en contacto con la superficie radicular inició un proceso de reabsorción. Sobre esta base parece sorprendente que la reabsorción radicular no sea una complicación común consecutiva a la cirugía periodontal a colgajo, cuando después de la limpieza radicular apropiada se re pone el colgajo de tejido blando normalmente con su tejido conjuntivo en estrecho contacto con la superficie radicular cureteada. La razón por la cual esta complicación no se

produce o sólo sea ocasionalmente, es evidentemente la capacidad de las células epiteliales de migrar desde el epitelio marginal del colgajo (Wilderman y Thomson, 1963; Wilderman y Wentz, 1965; Frank y col., 1974; Frank y col., 1983) y Karring y col. (1983), quienes confirmaron que el epitelio migrante funciona como barrera protectora contra la reabsorción radicular. De esto se deduce que los esfuerzos dirigidos a evitar el crecimiento apical del epitelio de unión a lo largo de la superficie con el fin de permitir una reinserción pueden conducir en vez a una reabsorción radicular (Lindhe, 1992).

A pesar de la migración apical del epitelio y del establecimiento de un epitelio de unión largo, existe evidencia de una nueva inserción conjuntiva bajo él (Wilderman, 1965; Sugarman, 1969; Frank, 1974 y 1983; Stahl, 1977 y 1982). Morris y Thomson (1963) estudiaron la reparación periodontal en humanos a nivel de dos muescas realizadas en la raíz dentaria. Ellos observaron la aposición de cemento después de una reabsorción inicial a lo largo de las muescas. Un estudio ultraestructural (Frank y col., 1974) mostró que el paso inicial para una nueva inserción conjuntiva era la destrucción superficial de los cristales de apatita de la superficie dentinaria. Esta desmineralización superficial era seguida por la unión del colágeno denudado con las nuevas fibrillas colágenas secretadas por los fibroblastos y por su posterior mineralización. Esta desmineralización superficial de la dentina fue confirmada por Nalbandian y Frank (1980) en un estudio de microscopía electrónica de la regeneración de cemento y de la inserción de tejido conectivo periodontal en gatos (Frank y col., 1983).

Wilderman y Wentz (1965) describieron las etapas de la reparación de defectos dentogingivales con colgajos pediculados. Estas etapas eran:

La etapa de adaptación (0 horas – 4º día): Inicialmente se observó en el tejido conjuntivo del colgajo cercano al diente una degeneración de los haces de fibras colágenas y la presencia de finas fibras colágenas. Una pocas células inflamatorias estaban presentes alrededor de los vasos sanguíneos. Un delgado coágulo compuesto de finas fibras, estaba paralelo a la superficie radicular.

Al 2º y 4º día los leucocitos polimorfonucleares eran evidentes en el coágulo de fibrina y en el tejido conjuntivo de la encía marginal del colgajo. Un aumento en el número de células inflamatorias alrededor de los vasos sanguíneos del colgajo indicaba un aumento del proceso inflamatorio. También se observa una capa de dos células epiteliales que migra desde el epitelio marginal del colgajo.

La etapa de proliferación (4º día – 21º día): Al 6º día un tejido de granulación, compuesto por capilares, fibroblastos, linfocitos y leucocitos PMN, invade el coágulo de fibrina. Sin embargo, en el área marginal, el coágulo de fibrina con células inflamatorias persiste sobre el diente.

Al 10º día una capa de fibroblastos se extiende a lo largo de la superficie radicular y comienza la proliferación de fibras colágenas dentro del tejido de granulación. El epitelio aumenta su grosor a 6 o 10 capas celulares con una capa basal definitiva. Antes del 10º día el coágulo de fibrina adyacente a la superficie radicular parece limitar la migración apical del epitelio. La proliferación

El epitelio apical del colgajo se migró entre el 4^o y 14^o día y al mismo tiempo se formó un tejido conectivo de tipo fibroso en el espacio.

La etapa de inserción (21^o día - 28^o día): Al 21^o día se observa un aumento en la formación de colágeno. Apicalmente al epitelio de unión, se observa un tejido conjuntivo adyacente a la raíz con fibroblastos y fibras colágenas orientadas paralelamente a la superficie radicular. Sólo unas pocas haces de fibras colágenas se observaron al 28^o día.

La formación de cemento se hizo evidente al 21^o día con la presencia de cementoide en la parte más apical de la superficie radicular instrumentada. Al 28^o día el cementoide cubría la superficie radicular hasta inmediatamente por debajo del epitelio de unión. Algunos haces de fibras colágenas se insertaban a este cementoide en la parte más apical.

El epitelio no migró apicalmente entre 21^o y 28^o día, al parecer limitado por la presencia de cementoide sobre la superficie radicular.

La etapa de maduración (28^o día - 6^o mes): Al 90^o día haces de fibras colágenas estaban presentes en el tejido conjuntivo adyacente a la superficie radicular y se observó una maduración del nuevo cemento a través de la calcificación del cementoide.

Hiatt y col. (1968) en un estudio realizado en perros también describieron las etapas de la regeneración de la inserción conectiva, observando al 3^o día una delgada capa de fibrina interpuesta entre el tejido conectivo gingival y la superficie dentaria, la cual se engrosaba hacia apical. A la semana la capa de fibrina comenzó a ser reemplazada por nuevas fibras colágenas, y a las dos semanas la proliferación de nuevo tejido conectivo ya había reemplazado una gran porción del coágulo de fibrina. La proliferación continuó y a la cuarta semana la formación de la nueva inserción conjuntiva estaba prácticamente terminada. Sin embargo, Ririe y cols (1980) observaron células tipo fibroblasto en vez de fibras colágenas sobre la superficie radicular al 21^o día y solo al 42^o día encontraron una continuidad fibrosa entre la superficie radicular y el tejido conjuntivo gingival. Polson (1982), por el contrario, observó que no se producía ningún tipo de unión física entre la fibrina y la superficie radicular, permitiendo una migración del epitelio de unión hasta el límite más apical de la superficie radicular instrumentada.

Estas contradicciones confirman que el establecimiento de una nueva inserción conjuntiva gingival a la superficie radicular no es considerado un evento biológico predecible. Muchas técnicas han sido probadas con el fin de promover este tipo de patrón de cicatrización. Los resultados obtenidos por una serie de investigadores (Register y col, 1973; Ririe y col, 1980; Selvig y col, 1981; Polson y col, 1982; Frank y col, 1983) han demostrado que cuando se aplica ácido cítrico a pH 1 por 2 a 3 minutos sobre las superficies radiculares se producirá una desmineralización superficial que induce a la cementogénesis y a la inserción de fibras colágenas. De acuerdo a la evidencia biológica del proceso de reparación periodontal, permitiendo que se establezca más rápidamente la inserción de tejido conectivo e impida de esta forma la migración apical del epitelio de unión. Se

... las fibras colágenas con las fibras expuestas del ...
 1988, Selvig y cols, 1988).

En contraste con estos resultados positivos, Sthal y Froum (1977) y Nyman y col. (1981) reportaron que el tratamiento con ácido cítrico de la superficie radicular no promueve una nueva inserción conjuntiva o formación de cemento.

Según las observaciones histológicas de Polson y cols. (1983), el precursor esencial para la reinserción del tejido conectivo, es la unión de fibrina a las fibras colágenas expuestas de la superficie radicular, la cual será gradualmente reemplazada por fibras colágenas a medida que madura el proceso.

En su experiencia observó, que entre el día 1 y 3 existen células inflamatorias incluidas en una matriz de fibrina que aparece unida físicamente a la superficie radicular por estructuras arcadas (Polson y cols, 1983).

Al día 7, la zona inicialmente ocupada por fibrina se hace densamente celular, semejante al tejido de granulación, y las fibras colágenas comienzan a reemplazar la capa de fibrina (Polson y cols, 1983). Fibroblastos, al igual que macrófagos y ocasionalmente leucocitos, están presentes cerca de la superficie radicular. Sin embargo, una capa de finas fibrillas de colágeno de variado grado de densidad, separa a los fibroblastos de la superficie dentaria. Algunas de estas nuevas fibrillas de colágeno se orientan al azar, mientras que otras se unen orientándose tanto paralela como anguladamente a la superficie radicular. A menudo estas fibrillas cambian su angulación para insertarse perpendicularmente en el cemento o en la matriz dentinaria (Selvig y cols, 1988; Ririe y cols, 1980; Polson y cols, 1983).

En estudios similares, se vio que el catorceavo día, fibrillas de colágeno se unen en fibras más anchas orientadas en diferentes angulaciones hacia la superficie radicular. La orientación de las fibras no parece estar influenciada por la matriz de fibras del cemento o dentina. Existe además una disminución del componente celular y una mayor interdigitación de fibrillas comparado con el día 7 (Selvig y cols, 1988; Ririe y cols, 1980).

Al día 21 la matriz de fibrina ha sido completamente reemplazada por fibras colágenas. El ancho de las fibras colágenas unidas al cemento o la dentina, ya es muy similar al del tejido original (Selvig y cols, 1988). Las fibras transeptales tienen una orientación normal y se observa una inserción conjuntiva a la superficie radicular sin formación de cemento. Por otra parte el epitelio de unión mantuvo su posición a nivel del límite amelocementario, sin evidenciar migración apical (Polson y cols, 1993).

El refuerzo de la nueva inserción conjuntiva puede ocurrir a través de la recalificación de la superficie desmineralizada y formación de cemento después de 3 a 6 semanas (Selvig y cols, 1988; Ririe y cols, 1980), e incluso se ha visto formación de cemento a los 21 días (Selvig y cols, 1981).

Selvig y cols (1988) concluyeron que la reinserción de tejido conjuntivo, después del pulido y la desmineralización de la superficie radicular, se produce a

... de la integridad de los puentes de las colágenas y las fibras
... de la integridad de los puentes de las colágenas y las fibras
... de la integridad de los puentes de las colágenas y las fibras
puede ser interpretado como una unión directa a nivel molecular, solo ocurre en
raras ocasiones.

Los problemas radiculares a nivel cervical, como caries, abrasiones, erosiones,
o cualquier alteración morfológica que pueda afectar la unión dentogingival, han
llevado al desarrollo y utilización de diversos materiales restauradores. Sin
embargo, el efecto de la utilización de estos materiales sobre la poblaciones
celulares de los tejidos periodontales es aún desconocida, ya que fueron
desarrollados para ser utilizados en contacto con dentina y por ende con el
odontoblasto y no con otras poblaciones celulares.

PROBLEMA

Evaluar cuales son los efectos de la utilización de materiales a base de CVI sobre las poblaciones celulares después de cirugía periodontal.

HIPÓTESIS

Los efectos de la utilización de materiales a base de CVI sobre las poblaciones celulares se expresan como la formación *de novo* de la unión dentogingival.

OBJETIVO GENERAL

Determinar que la utilización de tres materiales producen la formación *de novo* de la unión dento-gingival (UDG), después de cirugía periodontal.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Observar las características histológicas de los tejidos, luego de la utilización de los materiales a base de Vidrio Ionómero después de cirugía periodontal.
- Analizar características citológicas de los tejidos expuestos a los tres biomateriales después de cirugía periodontal.
- Detectar alteraciones patológicas de los tejidos expuestos a los tres biomateriales después de cirugía periodontal.
- Analizar la biocompatibilidad en los tejidos periodontales de tres materiales a base de Vidrio Ionómero luego de cirugía periodontal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales Experimentales.

Se utilizaron dos perros mestizos adultos de 12 y 13 kg de peso con dentición definitiva completa. Los animales fueron sometidos, durante una semana, a dos topificaciones diarias con un algodón embebido en clorhexidina al 0,1% (Oralgene[®], colutorio, Maver[®]). Se les realizó un examen clínico y radiográfico para seleccionar los dientes a utilizar en este estudio. Se analizó tamaño y número de raíces, características gingivales tales como inflamación, recesión, profundidad de surco gingivo dentario y cantidad de encía adherida; los datos fueron recopilados en una ficha clínica diseñada para el estudio (anexo 1). De acuerdo a esto fueron seleccionados tres premolares por cuadrante: primero, segundo y tercero en maxilar superior y segundo, tercero y cuarto en maxilar inferior. Los segundos y terceros incisivos se utilizaron para una cirugía experimental.

Etapa pre-quirúrgica.

- Sedación:

Los animales fueron sedados con Acepromazina 1% (Pacifor[®]), en una dosis de 3 ml subcutáneos.

- Anestesia:

Se indujo anestesia general vía endovenosa con un preparado de clorhidrato de ketamina 100mg (Ketostop[®]), diazepam 10mg (Diazepam[®]) y atropina 1%, en la proporción 3c³:2c³:0,5c³

Etapa quirúrgica.

Las cirugías fueron realizadas por cuadrantes, utilizando como complemento anestesia infiltrativa vestibular (carbocaína 2% con neocobefrina 1:20000) en todo el sector a intervenir.

- Diéresis:

Se realizó una incisión horizontal con bisturí (hoja N° 15) a través de los crévices de los tres premolares seleccionados y dos incisiones liberadoras oblicuas en los espacios interdientales limitantes incluyendo aquella papila dentro del colgajo.

El colgajo fue levantado utilizando una espátula N°7 afilada hasta exponer 2mm de hueso por debajo del margen óseo.

- Cavidades:

Con una fresa redonda de carbide de alta velocidad (HM 1018, ISO 016, Meisinger[®]) (anexo 3.d), se realizó una osteoplastia de aproximadamente 1 mm

(anexo 3.a) donde se muestran fotos para demostrar la preparación de cavidades restauradas.

A continuación se realizaron cavidades de 1mm de ancho, 2mm de largo y 0.5mm de profundidad con una fresa cilíndrica de diamante de alta velocidad (ISO 835-010, Meisinger®) (anexo 3.f, 3.h).

- Técnicas restaurativas:

Materiales.

Se seleccionaron tres tipos de materiales de restauración que en su estructura tuvieran alguno de los componentes básicos del vidrio ionómero: un cemento ionómero convencional (IONOFIL®, VOCO®); un cemento ionómero híbrido o resino modificado (VITREMER®, 3M®) y un compómero o composite poliácido modificado (DYRACT®, Dentsply®) (anexos 3.a, 3.b, 3.c).

Ionofil® VOCO® fue seleccionado como un representante de CIV convencional ya que sus componentes son los mismos de la composición general; considerando además, ventajosa la experiencia clínica previa que se tenía en el manejo de éste, su disponibilidad y costo.

Por el grupo de los ionómeros híbridos, se seleccionó un material que ofrecía las ventajas del tricurado para asegurar la polimerización completa del material disminuyendo al máximo el monómero libre. Vitremer® 3M®, posee la composición base de los ionómeros híbridos y es un material que ha sido ampliamente estudiado.

Dyract® Dentsply® se seleccionó dentro del grupo de los composite poliácido modificados por ser uno de los primeros materiales de este tipo en el mercado, por lo cual ha sido utilizado en diversos estudios; además fue relevante para su selección el conocimiento en el manejo de la técnica y su disponibilidad.

Una vez que las cavidades estuvieron lavadas, limpias y secas, se restauraron con los diferentes materiales los que fueron manipulados de acuerdo con las instrucciones del fabricante

Cemento Vidrio Ionómero Convencional (Ionofil®).

Una vez limpia y seca la cavidad se aplicó el material con una espátula para composite, según las instrucciones del fabricante. Se mantuvo seco durante 8 minutos, luego de los cuales se eliminaron cuidadosamente los excesos con una fresa en forma de llama grano ultrafino de alta velocidad (ISO 861 U-010, Meisinger®) (anexo 3.g).

Cemento Vidrio Ionómero resino modificado (Vitremer®).

En una cavidad limpia y seca se aplicó y polimerizó el acondicionador dentinario según las instrucciones de uso. En seguida se preparó y aplicó Vitremer® con una espátula para composite y se polimerizó con una lámpara Optilux Demetron® durante 40 segundos. Se eliminaron excesos y pulió la

superficie con una fresa en forma de llama grano ultrafino de alta velocidad (ISO 835-010, Meisinger®) (anexos 3.l, 3.m, 3.n, 3.o, 3.p).
Composite Ponchado modificado (Dyract®).

Se realizó el grabado ácido de la superficie de la cavidad, utilizando ácido fosfórico al 35% durante 15 segundos, se lavó por igual cantidad de tiempo con spray agua/aire y se secó con aire suavemente, aplicando luego el adhesivo. Sobre él se aplicó Dyract® con una espátula para composite, polimerizándolo por 40 segundos con una lámpara Optilux Demetron®. La eliminación de los excesos fue hecha con una fresa de llama grano ultrafino de alta velocidad (ISO 835-010, Meisinger®) (anexos 3.l, 3.m, 3.n, 3.o, 3.p).

Como muestras control, se utilizaron dientes en los que las cavidades no fueron restauradas.

Para evitar la contaminación con humedad o sangre durante el procedimiento restaurativo, el colgajo fue desplazado apicalmente con una gasa estéril y entre ésta y las cavidades se interpusieron conos endodónticos de papel que recibían cualquier posible exudado.

- Síntesis:

Una vez realizadas las restauraciones en cada cuadrante, se reposicionó el colgajo y fue suturado con seda 4.0 ubicando un punto en cada papila levantada (anexo 3.q).

Luego con una fresa redonda de diamante de alta velocidad (ISO 801-009, Meisinger®), se marcó el margen gingival en el esmalte indicando la posición del colgajo.

- Post operatorio:

A los animales se les administró Amoxicilina 250mg en jarabe (Amoxicilina®, Laboratorio Chile®), 5ml cada 12 hrs durante 7 días; Ketofen oral® 50mg, medio comprimido diario por 5 días y Heprotec® 180ml, 5ml 2 veces al día. Además se les mantuvo la topicación diaria con clorhexidina por todo el tiempo que duró el estudio.

Mantuvieron una dieta blanda hasta una semana después de la última cirugía y luego ésta fue reemplazada por una dieta normal.

El tiempo de espera del proceso cicatricial fue de 15 semanas desde la primera cirugía, tras las cuales los perros fueron sometidos a un examen clínico de selección (anexo 1). En él, se evaluaron las características de la encía, estado del colgajo y exposición de la restauración (anexo 3.r).

Luego del examen, los perros fueron sacrificados mediante una sobredosis con pentobarbital endovenoso. Se realizaron cortes en bloque, que abarcaban los tres premolares en estudio por cuadrante, y estos fueron sometidos al procesamiento histológico.

Procesamiento histológico

Los cortes semifinos de 1μ de grosor se realizaron con cuchilla de diamante en ultramicrotomo los que se montaron en portaobjetos silanizados y fueron teñidos con los cuales fueron lavados con alcohol etanol 60% durante 24 hrs. Todas las muestras fueron desmineralizadas en solución de ácido fórmico al 22,5% con citrato de sodio al 10%, en una mezcla con paraformaldehído al 5% durante 15 días. Una vez que las muestras estuvieron descalcificadas (15 días) se seccionaron e individualizaron los casos. Las muestras fueron colocadas en frascos codificados por los alumnos (anexo 2), de manera que el histólogo no supiera qué material analizaría.

Las muestras se dejaron lavando en buffer fosfato pH 7,4 por 48 hrs a 4°C; al estabilizarse su pH, se deshidrataron en acetona ascendente de 35, 50, 75, 85, 95 y 100% en tiempos variables según el tamaño de la muestra. Una vez deshidratadas, se incluyeron en resina epóxica (Embed 812[®] Electron Microscopy Sciences Ft. Washington Pa. USA). La inclusión se realizó en mezclas de resina/acetona en diferentes proporciones; primero en proporción 1:1 por 48 hrs, luego en una mezcla 2:1 por 48 hrs y finalmente en resina epóxica al 100% por 48 hrs. Los bloques se orientaron según las zonas a cortar y se dejaron polimerizar toda la noche a 80°C.

Los cortes semifinos de 1μ de grosor se realizaron con cuchilla de diamante en ultramicrotomo los que se montaron en portaobjetos silanizados y fueron teñidos con:

1. Azur 2 en metanol- glicerol pH 7,4 durante 60 minutos a 60°C.
2. Fucsina básica al 0,5% por 4 minutos a temperatura ambiente.

Posteriormente las muestras se lavaron, deshidrataron y montaron con un bálsamo.

Las muestras experimentales y control fueron observadas en un foto microscopio Zeiss Axioscop[®]. Se obtuvieron microfotografías utilizando film para diapositivas color Kodak[®] Elite II, 100 ASA. Por otra parte algunas imágenes fueron capturadas utilizando cámara digital CCD Sony[®] DXC-107. Las imágenes fueron procesadas y analizadas digitalmente usando el software MATROX INSPECTOR[®] versión 1.7. Se realizaron histogramas para cuantificar la intensidad de color en áreas seleccionadas de 50 pixeles² en imágenes de 8 bit en escala de grises de 0 a 256.

RESULTADOS

El número total de cavidades realizadas fue de 51, de las cuales 13 fueron obturadas con Vitremer[®], 13 Ionofil[®], 13 Dyract[®] y 12 controles.

Se eliminaron 11 muestras, que se consideraron inapropiadas para la experiencia por presentar una o más de las siguientes alteraciones: inflamación (3), recesión (2), profundidad de sondaje previo mayor a 2 mm (3), técnica restaurativa dudosa (2) y fibrosis (1).

De las 40 muestras sometidas al procesamiento histológico, 8 fueron descartadas por fallas en la obtención de los cortes. Se analizaron un total de 32 muestras histológicas que correspondieron a 10 controles, 8 Ionómeros convencionales (Ionofil[®]), 7 Ionómeros resino modificado (Vitremer[®]) y 7 Composites poliácido modificado (Dyract[®]).

Controles.

En las 10 muestras control se observó la formación de un epitelio de unión de características normales a lo largo de toda la muesca. A mayores aumentos fue posible distinguir claramente los estratos constitutivos del epitelio de unión. El estrato basal o germinativo con sus células cuboidales directamente relacionadas con el conectivo subyacente, estrato suprabasal con células alargadas y paralelas a la superficie dentaria y las células DAT (células directamente adheridas al diente). En todos los casos se observó células DAT adheridas a la superficie dentinaria expuesta y en algunos casos al esmalte. El estrato suprabasal presentaba espacios intercelulares relativamente más amplios comparado con los del estrato basal. Además éste presentó un grado de tinción más intenso que la capa suprabasal, característico de un epitelio de unión normal. En los espacios intercelulares, fundamentalmente del estrato suprabasal, se observó la presencia de PMNN.

El tejido conjuntivo fibrilar denso, subyacente al epitelio de unión, no presentaba infiltrado inflamatorio. La interfase entre el tejido conjuntivo y el epitelio de unión se observó relativamente plana, con ausencia de papilas conjuntivas.

El epitelio bucal presentó características normales en todos los controles, observándose claramente el estrato basal con sus células cuboidales y columnares; el estrato espinoso compuesto de células poligonales; el estrato de células granulares y el estrato superficial queratinizado o paraqueratinizado (Fig.3).

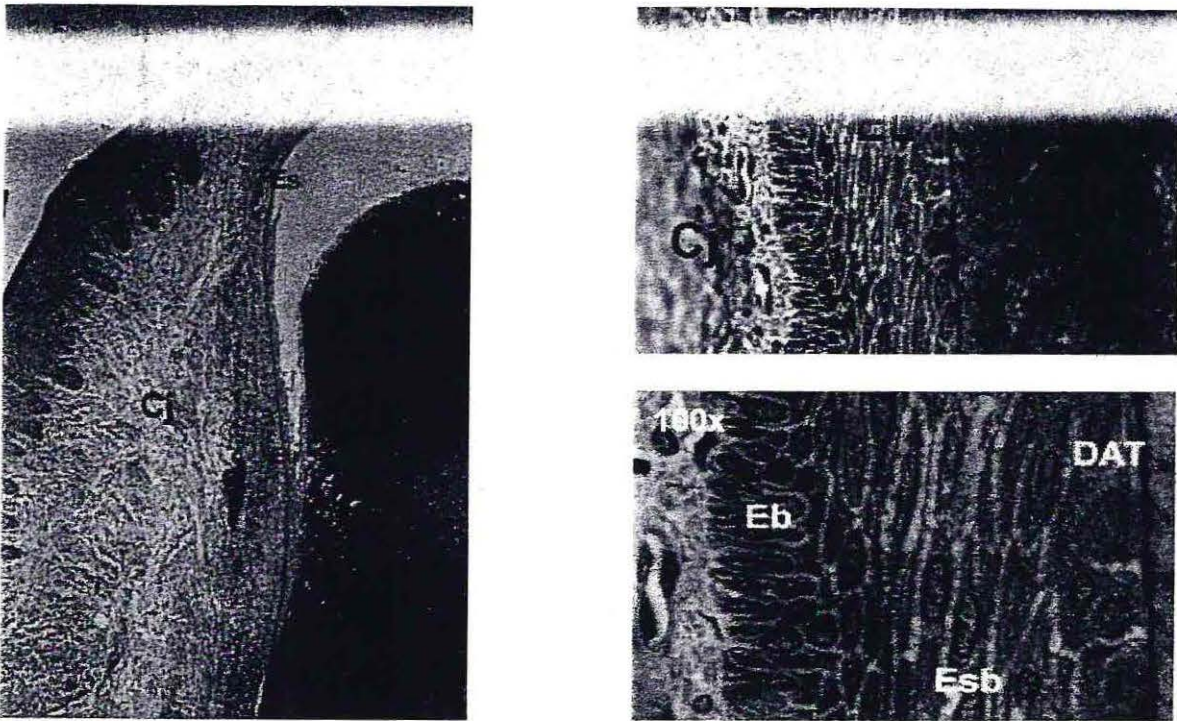


Fig 3: Eo: Epitelio oral; Es: Epitelio del surco; Eu: Epitelio de unión; Cj: Tejido conjuntivo; D: Dentina; Eb: Estrato basal; Esb: Estrato suprabasal; DAT: Capa de células directamente adheridas al diente.

Ionómero convencional (Ionofil[®], Voco[®]).

En todas las muestras se observó al material rodeado por la formación de un epitelio de unión hasta su porción más apical. Las células más superficiales estaban directamente adheridas al material en las 8 muestras, sin embargo no presentaban características normales. Tanto éstas como las células del estrato suprabasal y basal se observaban con citoplasmas y núcleos hiper cromáticos y espacios intercelulares aumentados, con presencia de PMNN. La hiper cromatización del epitelio de unión dificulta el reconocimiento de los diferentes estratos celulares que lo componen.

Las células del epitelio de unión que no tomaron contacto con el material se observaron de características normales (iguales a las células de control).

El tejido conjuntivo se observó hiper cromático y con la presencia de un infiltrado inflamatorio crónico, compuesto fundamentalmente por macrófagos. Además se observó la presencia de hiperplasia epitelial caracterizada por la penetración de cordones epiteliales en el seno del tejido conjuntivo inflamado.

Las células de los distintos estratos del epitelio oral presentaron características normales en todos los casos.

Ionofil se observó como una estructura con cristales azul-grisáceo de tamaño y forma irregular sumergidos en una matriz poco definida. Sin embargo, esto sólo se observó en algunas zonas de las muestras, ya que en su gran mayoría el material se encontraba disuelto (Fig. 4).

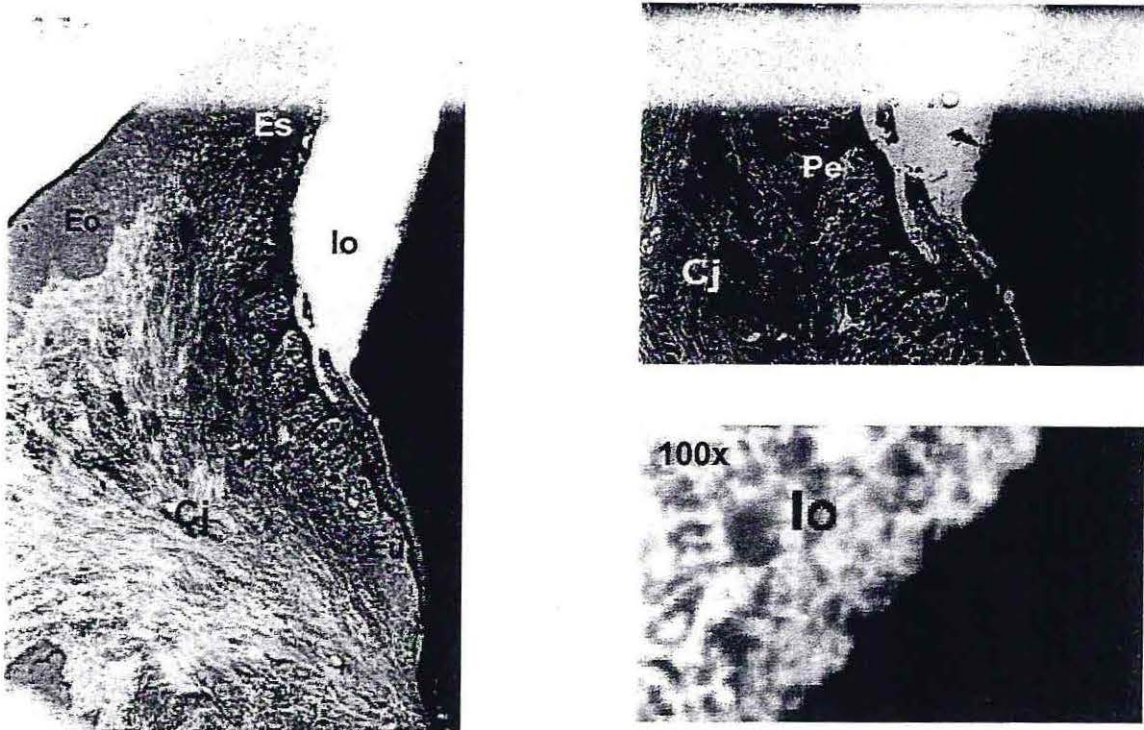


Fig. 4: Eo: Epitelio oral; Es: Epitelio del surco; Cj: Tejido conjuntivo; Eu: Epitelio de unión; Io: Ionofil®; D: Dentina; Inf: Infiltrado inflamatorio; Pe: Prolongaciones epiteliales.

Ionómero Resino Modificado (Vitremér®, 3M®.)

De las muestras analizadas, en todas se observó un epitelio de unión en íntimo contacto con la superficie del material. Las características de este epitelio, observadas a mayor aumento, estaban muy cercanas a la normalidad, salvo por la presencia de PMNN, espacios intercelulares ensanchados y mínimas vacuolizaciones. El grado de tinción del epitelio de unión era normal, con una capa basal levemente más teñida.

A aumento de 100x se observa con claridad el íntimo contacto entre las células DAT y la superficie del material.

El tejido conjuntivo subyacente presentaba mínimos signos de inflamación crónica (fundamentalmente macrófagos) e hiper cromatización. Su interfase con el epitelio de unión se observaba plana.

El epitelio oral presentaba características histológicas normales.

Vitremér® presentó una estructura granular poco uniforme de color azul intenso, con espacios poligonales no teñidos en su interior (Fig. 5).

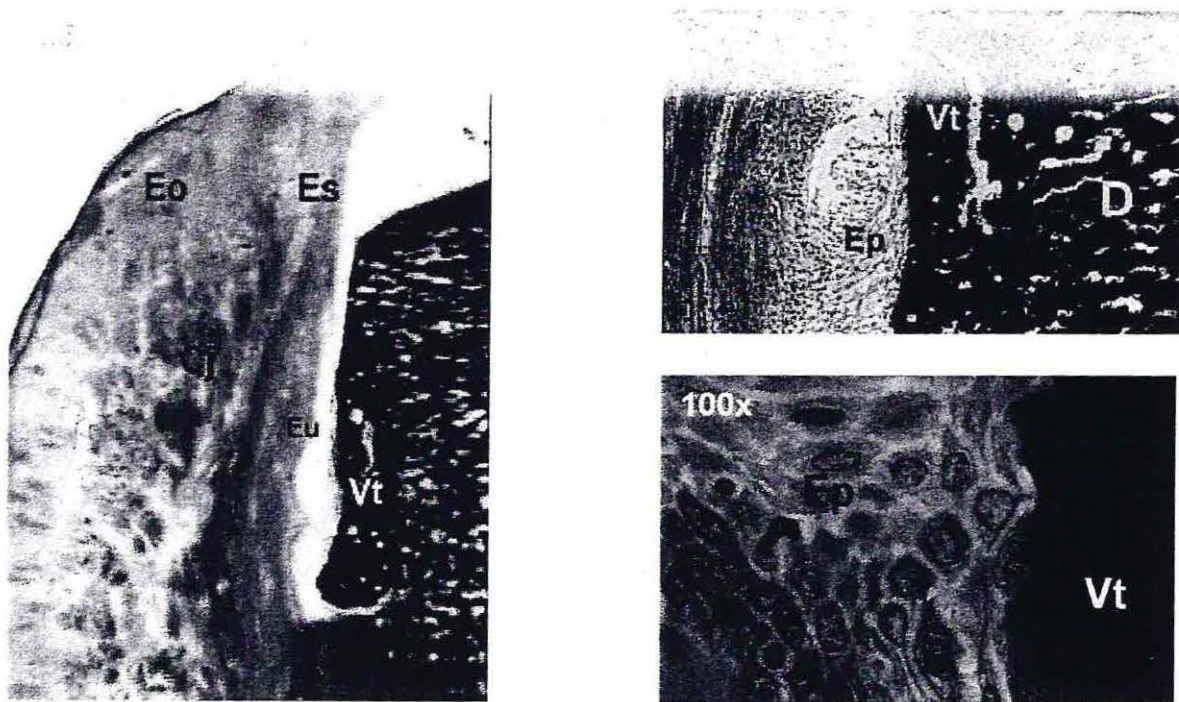


Fig. 5: Eo: Epitelio oral; Cj: Tejido conjuntivo; Es: Epitelio del surco; Eu: Epitelio de unión; Vt: Vitremer®; D: Dentina; Ep: Epitelio.

Composite poliácido modificado (Dyract®, Dentsply®).

En todas las muestras analizadas se observó un epitelio de revestimiento pluriestratificado plano que rodeaba completamente la superficie externa del material implantado. El epitelio oral se observó normal en todos los estratos.

A mayores aumentos se observó que en todos los casos las células más superficiales y algunas capas celulares del estrato suprabasal presentaban claros indicios de lesión celular, como vacualización del citoplasma, hiper cromatización de los núcleos, aumento de los espacios intercelulares y en algunos casos necrosis celular. Además se detectó un abundante infiltrado de PMNN, tanto en la interfase con el material (absceso), como en los espacios intercelulares. Por otra parte, se observó acúmulos de placa bacteriana adherida a la superficie del material tanto en la región expuesta al medio oral como en la región subgingival.

El conjuntivo subyacente presentaba un profuso infiltrado inflamatorio mixto, fundamentalmente células plasmáticas y PMNN, algunos macrófagos y escasos linfocitos. En el espesor del infiltrado inflamatorio se observaron prologaciones celulares epiteliales y ausencia de fibras colágenas. En la interfase epitelio-conjuntiva se observó la presencia de papilas conjuntivas.

Estructuralmente, en Dyract® fue posible observar dos zonas: una zona central caracterizada por filamentos violáceos dispuestos perpendicularmente a la superficie dentaria, paralelos entre sí, y una zona periférica azulada de grosor uniforme. En la parte más superficial, en relación con el epitelio, se observaron dos capas de un color azul oscuro, una delgada y continua (biofilm) y otra más

gruesa de aspecto granular (Fig. 6). Estas áreas no se observan en la interfase entre el Dyract® y el D.

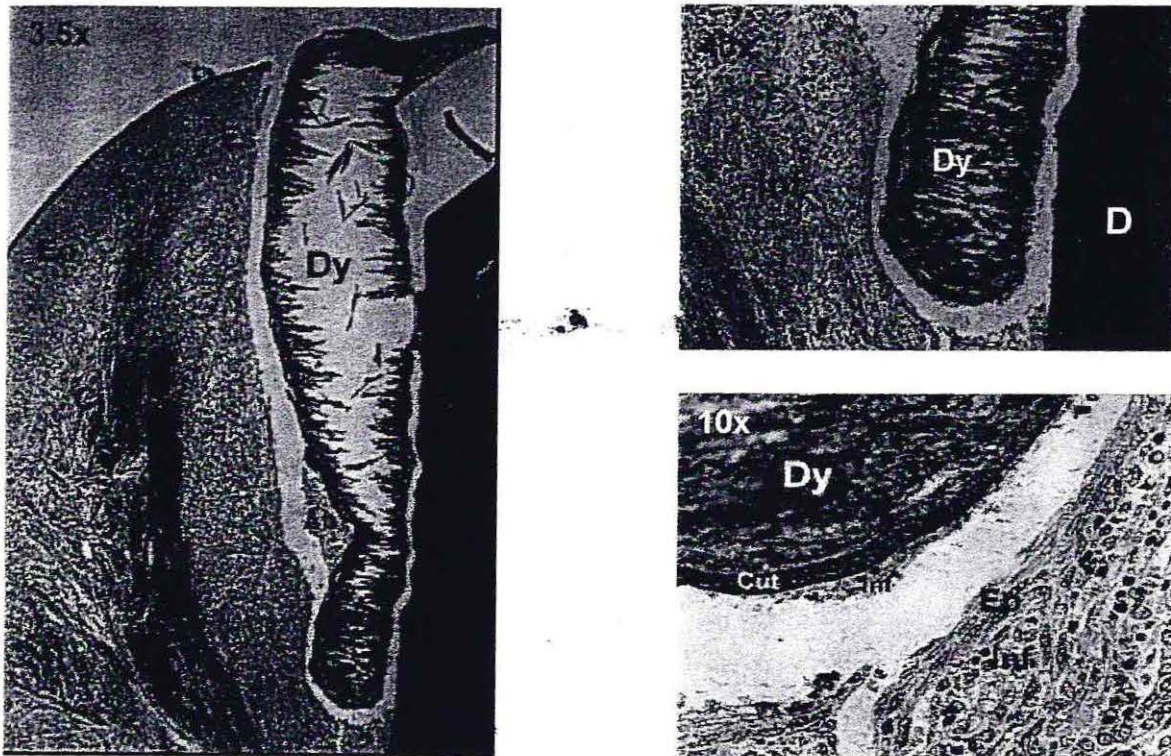


Fig. 6: Eo: Epitelio oral; Es: Epitelio del surco; Cj: Tejido conjuntivo; Ab: Absceso; Dy: Dyract®; D: Dentina; Cut: Cutícula; Ep: Epitelio; Inf: Infiltrado inflamatorio.

Tabla II: Cuadro comparativo de observaciones histológicas.

	Número muestras	Adhesión epitelial	Hipercromatización epitelial	Infiltrado inflamatorio	Alteración Celular
Control	10	SI	NO	NO	NO
Dyract®	7	NO	NO	SI	SI
Ionofil®	8	SI	SI	SI	SI
Vitremer®	7	SI	NO	SI	SI

Tabla III: Cuadro comparativo de alteraciones celulares epiteliales.

	Cariolisis	Picnosis	Vacuolización	Aumento espacio intercelular	Necrosis
Control	NO	NO	NO	NO	NO
Dyract®	SI	SI	SI	SI	SI
Ionofil®	NO	NO	SI	SI	NO
Vitremer®	NO	NO	SI	SI	NO

Los resultados obtenidos no pudieron ser sometidos a un estudio estadístico formal, porque no se encontró variabilidad en los datos obtenidos en los distintos materiales; esto hace inaplicable cualquier tipo de fórmula estadística o test, los cuales se basan en la existencia de una desviación estándar.

DISCUSIÓN

Los materiales a base de vidrio ionómero se han utilizado fundamentalmente en odontología restauradora, buscando sus propiedades de adhesión a la dentina y anticariogénicas por la liberación de fluoruros. Sin embargo a la luz de nuevas corrientes e interacciones entre las diversas disciplinas médicas, están siendo utilizados en otros campos de la Biomedicina, con un objetivo diferente para lo cual fueron formulados.

Ejemplos de estas nuevas aplicaciones son sus usos en cirugía ósea reconstructiva, tales como cirugía de base de cráneo y obliteración de seno maxilar (Dazert y col, 1995) o su aplicación en neuro-otología como tratamiento para neuromas acústicos translaberínticos (Ramsden y col, 199), reparación de canal auricular externo y estabilización intra aural de la cóclea (Babyghian, 1992), entre otros usos.

La biocompatibilidad de estos materiales, sin embargo, no ha sido lo suficientemente estudiada como para justificar su uso en estos campos clínicos, no pudiendo negar su alto desempeño en dichos tratamientos. Estos estudios, disminuyen más aún en relación a las formas modificadas de los ionómeros.

Luego de un análisis acucioso de la literatura odontológica, nuestro estudio constituye uno de los primeros intentos de evaluar en forma experimental la biocompatibilidad de estos materiales en la unión dento gingival en un sistema *in vivo*.

La biocompatibilidad de tres materiales a base de vidrio ionómero fue estudiada en tejidos periodontales de perro. El estudio fue realizado en este modelo por la similitud entre encía humana y canina y la factibilidad de realizar procedimientos dentales en ellos. (Meir y col, 1996). La elección del sector premolar fue debido a que según Mc Lean y cols (1995), es preferible el uso del sector posterior para cirugía periodontal en perros, para evitar el desplazamiento del colgajo ante fuerzas musculares.

La biocompatibilidad ha sido definido por numerosos autores utilizando diferentes materiales y sistemas de ensayo. De acuerdo con Clark y col (1976), un material biocompatible es "aquel material de implante ideal, que posee una superficie química dinámica que induce cambios histológicos en la interfase como los que normalmente ocurrirían si el implante no estuviera presente", definición antigua pero que explica claramente el concepto. Estudios más recientes publicados por Gristina (1994), la designan como una "unión química o covalente normal de la membrana celular con la superficie del biomaterial, sin la presencia de una capa fibroinflamatoria".




Los resultados obtenidos luego del análisis a microscopía óptica, identificaron respuestas tisulares a los diferentes materiales; ante esto se hace necesario identificar términos que relacionen la evidencia clínica e histológica para poder dar un encuadre científico a las reacciones encontradas.

□ **Bioactivos:** materiales que tienen la capacidad de formar una unión estable con los tejidos vivos (bonding). Esta propiedad es característica de los fosfatos de calcio, cerámicos y algunas cerámicas vítreas.

□ **Biotolerados:** corresponden a los materiales que provocan una osteogénesis a distancia (distance osteogénesis), lo que permite la interposición de una capa fibrosa o células inflamatorias. Propiedad característica de metales como el cromo, cobalto, níquel y el acero inoxidable.

□ **Bioinertes:** corresponden a aquellos que provocan osteogénesis por contacto (contact osteogénesis), por lo que se encuentra interpuesta una matriz extracelular cementante de grosor variable compuesta por proteoglicanos o glicoproteínas. Los materiales con estas propiedades son el titanio, aleaciones de titanio y algunos óxidos de aluminio.

Tabla IV: Cuadro resumen clasificación de materiales*

Metales	BIOTOLERADO	Osteogénesis a Distancia 
Oxidos (Al₂O₃) Ti y aleaciones de Ti	BIOINERTE	Osteogénesis por Contacto 
Cerámicas Ca - P Cerámicas de Vidrio especiales	BIOACTIVO	Adhesión Osteogénica 

*Osborn y col, 1980

Tomando en consideración las definiciones de biocompatibilidad, bioactividad, biotolerancia y bioinercia, anteriormente formuladas, y extrapoladas a los resultados obtenidos en el presente protocolo experimental, podemos inferir que tanto Vitremer[®] como Ionofil[®] son materiales bioactivos, pues permitían la colonización y supervivencia de células epiteliales, observándose, en todas las muestras analizadas, una adhesión celular del estrato más superficial del epitelio a la superficie de estos materiales, remodelando la arquitectura citológica de las células DAT de un epitelio de unión normal adherido al diente. La bioactividad de estos materiales en relación con las células epiteliales queda de manifiesto ya que al realizar el procesamiento de las muestras, para su análisis citológico, se produjeron artefactos que se manifestaron, en algunas muestras, como separación del material de la superficie de la cavidad dentaria, pero a pesar de esto, las células del epitelio permanecieron adheridas a la superficie del material (anexo 4.a).

La adhesión de las células DAT a un sustrato está mediada por la formación de un aparato biológico de inserción, conocido como adherencia epitelial. Estudios morfológicos han detectado que esta adherencia está formada por una lámina

receptores celulares denominados integrinas. Tal es el caso de la integrina $\alpha_5\beta_1$, receptor de adhesión transmembrana asociado con los hemidesmosomas, que se ha localizado en la adherencia epitelial de epitelios de unión de roedores (Hormia y col, 1992). Es altamente sugerente que mecanismos mediados por integrinas, sean un evento común en la adherencia epitelial a lo largo de la filogenia.

Aunque el estudio no tuvo por objeto análisis ultramicroscópico o inmunohistoquímica, para corroborar la existencia de un mecanismo de adhesión mediado por lámina basal y hemidesmosomas, las imágenes histológicas observadas sugieren la existencia de tales estructuras en las células epiteliales alrededor de Ionofil® y Vitremer® (anexo 4.b).

Al analizar las muestras en las cuales Dyract® estuvo en contacto con células epiteliales gingivales, se infiere que este material es menos bioactivo que los anteriores, ya que en la mayoría de las muestras el epitelio nunca se adhirió a su superficie. Es importante destacar que la interfase entre las células y él, podía estar ocupada por cuatro estructuras discernibles morfológicamente (anexo 4.d): una fina película de color azul intenso en contacto con el material; sobre ella, una estructura cuticular de aspecto granular que podía o no estar colonizada por placa bacteriana, compuesta por formas cocáceas y/o bacilares (anexo 4.e) y asociado con estas estructuras, fue común encontrar polimorfonucleares.

La naturaleza de las primeras dos capas es desconocida, pero aparentemente son de origen orgánico, dadas por la adsorción inespecífica de proteínas séricas, del fluido gingival, exudado inflamatorio o material extracelular sintetizado por el epitelio. Esta suposición se sustenta, en el hecho de que el biofilm y la cutícula están ausentes en la interfase entre el material y el diente (anexo 4.g).

Estas observaciones asociadas con la definición de biocompatibilidad de Gristina y col, permiten deducir que para esta situación experimental, Dyract® no sólo no es bioactivo, sino además es poco biocompatible, pues su interfase estaba colonizada entre otras cosas por células inflamatorias, pudiendo pertenecer al grupo de los materiales biotolerados.

El análisis citológico de las muestras experimentales y el control permiten evidenciar alteraciones celulares variadas, que en una perspectiva patológica, van desde lesiones celulares reversibles como son simples vacuolizaciones hasta lesiones irreversibles como son las necrosis celulares (Robins, 1992). Estas lesiones corresponden a citotoxicidad, definida como "cualquier reacción que produzca alteraciones de la expresión morfológica, fenotípica o funcional de una célula respecto de lo normal, por efecto de una cantidad tóxica".*

La necrosis celular fue observada generalmente en el estrato superficial y suprabasal del epitelio en contacto con Dyract® (anexo 4.h). Estas observaciones morfológicas pueden estar sustentadas en estudios como los de Geurtsen (1998), quien estableció la liberación de múltiples subproductos derivados de la

* Dr. Manuel Ellahueñe. Profesor de Citogenética. Universidad de Chile. 1998.

organicos, inorganicos o productos resultantes de la polimerizacion, que, segun estudios *in vitro*, pueden producir algún grado de alteración celular o citotoxicidad.

Análisis realizados a los componentes de las resinas compuestas señalan que tienen efectos en las membranas biológicas. Terakado y col. (1984) demostraron que el peróxido de benzoilo fue capaz de convertir ácidos grasos poli insaturados y fosfolípidos en peróxidos, compuestos que gatillan una respuesta inflamatoria (Redlich y col, 1996), especialmente en presencia de bajas concentraciones de Cu^{+2} , Fe^{+2} y Fe^{+3} . Esto sugiere una acción de un número de componentes de las resinas compuestas en las capas de lípidos de las membranas celulares. Esos componentes capaces de formar peróxidos en los lípidos fueron: peróxido de benzoilo, metil metacrilato, dimetacrilato de etilenglicol, TEG-DMA, bisglicidil metacrilato y 2.2-bis-4-metacriloxietoxifenil propano. Adicionalmente, el etanol también fue capaz de formar peróxido de lípidos y el dimetracrilato de trietilenglicol pudo inhibir los liposomas.

Si las acciones de estos químicos son primariamente en la membrana celular, esto podría permitir un aumento en la permeabilidad de la membrana y la exposición de la membrana plasmática interna a más de esos químicos. La tumefacción subsecuente de la célula debido a la permeabilidad y la acción de los radicales libres (incluyendo hidroperóxidos lipídicos) en DNA y proteínas celulares, podría inhibir procesos sintéticos (Contran y col, 1989). Fujisawa y col (1988) también reportaron, que el TEG-DMA se une a los lisosomas, resultando quizás en una autofagocitosis celular.

Estos datos bioquímicos soportan lo encontrado, pues las células en Dyract® mostraron lesiones parecidas a las identificadas por los investigadores (anexo 4.J). Avalado en estos hechos, se podría decir que el material per se provoca una reacción celular que impediría que las células DAT, desarrollen un mecanismo biológico de adhesión. Sin embargo, los signos de lesión celular no pueden ser atribuidos exclusivamente a Dyract®, ya que, al no existir una adherencia epitelial, fue factible la colonización bacteriana desde el margen, lo que podría haber desencadenado una respuesta inflamatoria secundaria adicional a la citotoxicidad.

Por su parte, en todas las muestras en las que se utilizó Ionofil®, las células del epitelio de unión y del surco e incluso un componente importante de las células del epitelio oral a nivel de la cresta gingival, presentaron un drástico aumento en la afinidad por los colorantes utilizados (hipercromatismo, anexo 4.I). Este aumento de la coloración dificultó el análisis histológico y el reconocimiento de las diferentes estructuras a nivel epitelial. Además, esta hipercromatización, involucró gran parte del tejido conectivo subyacente.

De acuerdo con los principios básicos de patología celular (Robins, 1992), una de las formas de expresión de lesión celular son los cambios en la afinidad intrínseca de las células afectadas. Este cambio de coloración en relación con las muestras control se objetivizó a través de la realización de densitometría digital (anexo 4.m: A y B).

En las células epiteliales en contacto con Ionofil® no se evidenciaron signos de inflamación (signo de un tejido inflamado)(anexo 4.j), alteraciones compatibles hasta ese minuto con lesiones celulares reversibles.

Estos resultados difieren de la respuesta esperada para el ionómero convencional, ya que la mayoría de los estudios señalan que el material es altamente biocompatible (Sasanaluckit, 1993). Sin embargo, cuando se usa ionómero directamente sobre tejido, por ejemplo en cirugía ósea, el material está completamente gelificado y/o procesado para que se encuentre en sus máximas condiciones, siendo utilizado como matriz de relleno, presentando a largo plazo bonding con las células (Dazert y Muss, 1995).

En la experiencia realizada, debido a la técnica operatoria, el material fue colocado en las cavidades inmediatamente luego de ser preparado y cubierto por un colgajo tras esperar 8 minutos para su endurecimiento inicial. De esta secuencia se puede identificar la posible causa a los fenómenos encontrados en Ionofil®.

Es sabido que los ionómeros convencionales de restauración, son susceptibles a la adición de agua durante las primeras 24 hrs y a la pérdida de ella durante 6 meses. El hecho de que el colgajo tomase contacto con un material de poca resistencia, en ese momento, a los cambios hídricos, pudo inducir a un desequilibrio que llevó a una degradación acelerada de la capa superficial (Ollo, 1992) e incluso de la matriz vítrea, liberando moléculas solubles en agua como también pequeñas partículas sólidas, las cuales pudieron desencadenar una reacción de cuerpo extraño manifestándose como una inflamación gingival (Leyhausen y col, 1998). Sin embargo, esta teoría puede ser discutida ya que al análisis histológico, no se observó la presencia de células gigantes multinucleadas, características de una reacción a cuerpo extraño (Oyarzún, 1998). Quizás, el no haber protegido Ionofil® con alguna resina o barniz, como lo recomienda el fabricante, influyó negativamente en las propiedades físicas del material, favoreciendo la solubilización de su matriz y la consiguiente respuesta hística. El no uso del protector fue para evitar que éste pudiera intervenir en las reacciones del tejido al material.

En sus estudios, Leyhausen (1998) también atribuye una acción nociva a las especies moleculares intrínsecamente tóxicas lixiviadas al medio desde el material, siendo una de las más estudiadas el flúor. A pesar de ello, los estudios no son concluyentes en cuanto a la acción citotóxica del flúor a nivel celular. Muller y col (1990) señalan que la citotoxicidad del CVI no es debido al flúor sino que es atribuida a otros componentes tóxicos no identificados difundidos en el medio. Esta afirmación es sostenida también por Kahuajara y col (1979) y por Bapna y Muller (1994), quienes sugieren que el ionómero libera un rango de otros iones, los cuales no pueden ser descartados como posibles factores citotóxicos.

Man y col (1997) en un estudio *in vitro* encontraron una relación directa entre el grado de liberación de iones de fluoruro y la actividad de las enzimas por el sistema de defensa celular.

Con los nuevos adelantos en la investigación, se ha determinado que la biocompatibilidad de los materiales debe ser analizada no sólo por evaluaciones morfológicas o de adhesión celular, sino también, es importante la examinación de alteraciones metabólicas celulares (Caughman y col, 1990).

Actualmente se sabe que los CVI, *in vitro*, inhiben la síntesis de proteínas en fibroblastos humanos (Consiglio y col, 1998). Estos hallazgos están de acuerdo con varios estudios reportados de inhibición de crecimiento celular, variación de actividad celular y alteración de la morfología (Muller y col, 1990; Pertola y col, 1992; Caughman y col, 1994). Consiglio (1998) también encontró, que la inhibición de la síntesis proteica en algunos materiales vidrio ionómeros fue parcial y reversible. Esta recuperación de la actividad sintética normal no refleja una simple reversibilidad de la acción del CVI, sino que debe estar dada, por alguna propiedad de los componentes celulares que sean capaces de inactivar la acción de sustancias citotóxicas derivadas de los cementos.

En esta experiencia, Ionofil® presentó citotoxicidad dependiente del material, ya que no se encontró migración bacteriana hacia la interfase material/tejido, hecho atribuible a la adhesión celular y a las propiedades bacteriostáticas del ionómero. A pesar de todo esto, Ionofil® sigue siendo bioactivo ya que las células están en contacto con él luego de 2,5 meses, lo que sugiere que siendo tóxico para esta situación experimental, es tolerado por las células que toman contacto con él, produciéndose una adaptación celular a la adyacencia del material.

En relación a las muestras con Vitremer®, sólo fue posible observar algún grado variable de vacuolización y aumento de los espacios intercelulares (anexo 4.c).

Todas las reacciones celulares antes mencionadas para los tres materiales son claros indicios de citotoxicidad que se expresan en su grado máximo en Dyract® y en su grado mínimo en Vitremer®.

La mínima citotoxicidad mostrada por el cemento vidrio ionómero resino modificado podría atribuirse a las características propias del material. Vitremer® posee la base estructural de los CVI convencionales con la ventaja de presentar un tricurado, por lo tanto su sensibilidad a la humedad en los primeros estadios disminuye considerablemente, lo que hace que la degradación sea más lenta e incluso mucho menor que la de los CVI convencionales (Cho y col, 1995), minimizando la posibilidad de reacción a componentes lixiviados. Por otro lado, el componente resinoso de Vitremer®, quizás no fue lo suficientemente tóxico en calidad o cantidad, como para desencadenar una fuerte lesión celular, también avalado en su capacidad de tricurado que asegura una polimerización completa de los monómeros libres, aún en ausencia de luz.

En esta experiencia no se utilizó el brillo de acabado de Vitremer®, ya que, además de no ser el requerimiento estético un objetivo para el estudio, su

En contraposición a los resultados de este estudio, Kan y col (1997) trabajando con fibroblastos de rata, midieron la citotoxicidad de ionómeros resino modificados y convencionales, encontrando que, a pesar de que los cambios metabólicos fueron de baja magnitud, Vitremer® presentó los mayores valores de alteración, siendo esto atribuido por ellos al flúor y a los componentes que posiblemente libera de su matriz. Consiglio y col (1998) siguiendo la misma línea, pero en fibroblastos humanos, reportaron que Vitremer® inhibía completamente la síntesis de proteínas celulares, efecto que atribuyeron a la acción combinada del flúor y del HEMA.

En este punto sería importante mencionar que los datos de citotoxicidad pueden variar dependiendo del tipo de célula utilizada para los experimentos (Leyhausen y col, 1998). Esto, también ha sido demostrado por Caughman y col (1990) y Lhemman y col (1993), quienes vieron que las células gingivales primarias humanas son más discriminativas de la citotoxicidad de los materiales que las líneas celulares derivadas de animales, es decir, las células orales primarias pueden correlacionarse mejor con la situación *in vivo* respecto a la biocompatibilidad que las líneas celulares animales (Leyhausen y col, 1992; Wataha y col, 1994). Lo anterior podría explicar, en algún grado, las diferentes respuestas encontradas entre estudios revisados y los datos obtenidos en esta experiencia.

Además de las características histológicas y citológicas antes mencionadas, fue posible observar un infiltrado inflamatorio en el tejido conectivo subyacente en todas las muestras experimentales para el ionómero convencional y el compómero. Sin embargo, la extensión y la composición de éste fue diferente dependiendo del material utilizado.

Ionofil® presentó un extenso infiltrado inflamatorio predominantemente de tipo crónico (anexo 4.k), formado principalmente por macrófagos, lo que implica que el biomaterial en ausencia de placa bacterianas es capaz de desencadenar una respuesta inflamatoria defensiva. Este evento inflamatorio, provocado quizás por la constante liberación de sustancias desde el ionómero, se debe a un reconocimiento por parte de las células de Langerhans al Ionofil®, ellas viajan a través del epitelio y van al conjuntivo para provocar la activación macrófagica; la inmunoactivación de macrófagos y linfocitos generan una respuesta inmunocompetente por parte del tejido conjuntivo que se evidencia como gran infiltrado celular e hiper cromatización de las fibras colágenas conjuntivas.

Dyract® por su parte presentó un infiltrado inflamatorio mixto/agudo (anexo 4.f) con polimorfonucleares neutrófilos en el tejido conjuntivo, epitelial y en la interfase epitelio/material. La presencia de estos PMNN puede deberse a la existencia de placa bacteriana, lo que induce a un gran movimiento de estas células hacia los tejidos. Esta inflamación secundaria podría estar agravando la lesión celular en el epitelio de revestimiento, ya que en esta fase aguda, los neutrófilos comúnmente

Para descartar la influencia de la placa bacteriana en la inflamación y así poder asegurar que es el material el causante exclusivo de la citotoxicidad, sería necesario realizar un estudio en el cual Dyract® estuviera aislado del medio bucal y en un medio aséptico.

En Vitremer®, casi no se observó infiltrado inflamatorio y el tejido conjuntivo subepitelial era un tejido denso de características normales.

Tomando en consideración todas las observaciones hechas en el presente estudio, podemos decir que para los límites de esta investigación, los biomateriales usados tienen diferentes niveles de respuesta, no presentando ninguno, un epitelio totalmente normal.

Analizado en un concepto global, el hecho de tener una restauración subgingival, sea cual fuere su naturaleza, induce a cambios en el medio ambiente que hacen que el organismo responda de una u otra manera a su presencia.

La importancia clínica de analizar la biocompatibilidad de materiales a nivel periodontal, es poder definir cuál de ellos, referido a la familia del material y no a la marca comercial, se comportaría mejor, en situaciones de íntimo contacto entre cemento y periodonto, tales como clases V paragingivales, lesiones radiculares subgingivales, restauraciones intaquirúrgicas e incluso perforaciones a periodonto.

Los resultados obtenidos parecen indicar que los cementos vidrio ionómero resino modificados presentan la mejor conjunción de características físico-mecánicas y biológicas para ser utilizados en las situaciones antes descritas. Sin embargo, en los trabajos realizados en dientes de animales, principalmente monos y perros, los resultados obtenidos no pueden ser extrapolados de inmediato hacia los humanos, pues existen variaciones morfológicas y fisiológicas importantes, además de las propias diferencias en el potencial de reparación del tejido (de Souza, 1998). De todos modos, el patrón seguido por cada material da un indicio sobre sus características biológicas, no debiendo ser descartados al momento de definir nuevas experiencias de investigación en relación a biomateriales.

Por último, retornando al problema original que motivó la realización de esta experiencia, la hipótesis planteada no fue ratificada por los resultados obtenidos. En ninguna de las muestras analizadas se observó la presencia de tejido conjuntivo organizado en relación a las restauraciones, ya que siempre se encontraron rodeadas por epitelio. La explicación a este fenómeno se basa en los conocimientos básicos de reparación periodontal; el epitelio tiene una capacidad proliferativa mucho mayor que el conjuntivo, y por ello es capaz de cubrir cualquier defecto antes que el conjuntivo comience a organizarse. Para evitar que esto ocurra, el defecto debería estar en una zona alejada del dominio epitelial o debiera ser tratada con el fin de que el conectivo tenga el tiempo suficiente como para reparar el daño.

En el estudio de la unión de los materiales bioactivos, el epitelio se relaciona con ellos al igual como lo hace con la superficie dentaria. Se puede decir entonces, que en este estudio, y para estos materiales, se estableció una estructura similar a la unión dento epitelial dada por las células DAT y su mecanismo de adhesión. Las células más superficiales de los epitelios en contacto con los materiales bioactivos bien podrían ser llamadas células DAB (Directly Attached to the Biomaterial) debido a su capacidad de formar una entidad biológica de adhesión a materiales restauradores.

Las corrientes actuales de investigación están tratando de identificar las relaciones biológicas existentes entre materiales y diferentes tejidos vivos, sin embargo, es amplio el camino que aún queda por descubrir en relación a la biocompatibilidad, y se necesitará de un gran trabajo en conjunto entre las ciencias básicas y las clínicas para encontrar aquel material que llene todas las expectativas que hoy se esperan de ellos.

1. Los materiales a base de vidrio ionómero analizados en este estudio, no restablecieron de novo la UDG luego de ser utilizados como restauradores intraquirúrgicos.
2. Todos los materiales utilizados generaron respuesta citotóxica.
3. Existe una gradiente de reacciones citotóxicas que se expresa mayoritariamente en el composite poliácido modificado (Dyract[®]) y muy poco en el cemento vidrio ionómero resino modificado (Vitrem[®]).
4. El cemento vidrio ionómero resino modificado (Vitrem[®]) es un material bioactivo y biocompatible para las poblaciones celulares estudiadas.
5. El cemento vidrio ionómero convencional (Ionofil[®]) es un material bioactivo, sin embargo, genera reacciones citotóxicas mantenidas lo que le resta biocompatibilidad, para esta situación experimental.
6. El composite poliácido modificado (Dyract[®]) es un material no bioactivo y no biocompatible para la población epitelial estudiada.
7. Los materiales que presentaron bioactividad (Ionofil[®] y Vitrem[®]) permitieron la formación, en su superficie, de una entidad similar a la UDE (unión dento epitelial).
8. Para restauraciones intraquirúrgicas, en condiciones similares a las de este estudio, se deberían seleccionar materiales de fácil manipulación y aplicación, que endurezcan rápidamente y en forma completa.
9. El ionómero convencional Ionofil[®], a pesar de ser un material bioactivo, no se recomienda en restauraciones intraquirúrgicas, en condiciones similares a las de este estudio, debido a su largo período de gelificación y a su sensibilidad a la humedad.

SUGERENCIAS

- Utilizar un número de animales experimentales igual o mayor al número de variables en estudio para eliminar de esta forma la posible dependencia entre ellas.
- Obtener un de mayor número de muestras, que aumenten la posibilidad de encontrar algún grado de variabilidad en los resultados.
- Utilizar algún modelo quirúrgico que permita excluir el tejido epitelial, y de esta forma evaluar la interacción entre los materiales y el conjuntivo.
- Realizar un análisis ultraestructural que permita corroborar la existencia de membrana basal y hemidesmosomas en la adherencia epitelial a los materiales utilizados.
- Analizar la biocompatibilidad de diferentes CVI resino modificados, de similares características y de diferentes marcas comerciales, para determinar si existen o no diferencias en su comportamiento biológico.
- Crear un modelo experimental que permita el estudio de la biocompatibilidad de materiales a base de vidrio ionómero en humanos.

RESUMEN

La bioactividad a nivel periodontal de tres materiales a base de cemento vidrio ionómero fue evaluada para conocer cuáles eran los efectos celulares de estos materiales. Se evaluaron un cemento vidrio ionómero convencional (Ionofil[®], VOCO[®]), un cemento vidrio ionómero resino modificado (Vitremmer[®], 3M[®]) y un composite poliácido modificado (Dyract[®], Dentsplay[®]) en un estudio *in vivo* realizado en perros mestizos mediante restauraciones intraquirúrgicas cérvico radiculares. Después de 15 semanas se evaluaron histológicamente adhesión (bioactividad) y alteraciones celulares bajo microscopía óptica.

Todos los materiales produjeron citotoxicidad celular en diferentes rangos, desde vacuolizaciones hasta necrosis celular, siendo Dyract[®] el más citotóxico. Ionofil[®] y Vitremmer[®] presentaron bioactividad, sin embargo, Ionofil[®] se encontró altamente asociado con inflamación tisular. En esta experiencia Vitremmer[®] resultó ser el material con mejores características biológicas.

Bibliografía

- Andersson O. (1994). "Aluminium release from glass ionomer cements after 10 days of *in vitro* exposure *in vitro*". *Biomaterials*. 15:882-888.
- Attin, T.; Buchalla, W.; Hellwing, E. (1996): "Influence of enamel conditioning on bond strength of resin-modified glass ionomer restorative materials and polyacid-modified composites". *J Prosthet Dent*. 76: 29-33.
- Babyghian G. (1992): "Use of a glass ionomer cement in otological surgery. A preliminar report". *Journal of Laryngotology and Otology* 106: 954- 959.
- Barrios G.; Caffesse R.; Jiménez M.; Manton S.; Midda M.; Polson A.; Sendyk W. (1993), "Cirugía periodontal" y "Ultraestructura del epitelio de unión en salud y enfermedad": Odontología, su fundamento biológico. Gustavo Barrios Edit., Bogotá: Edit. latros, pp:619-650; 791-840.
- Blackman R.; Gross M.; Seltzer S. (1989): "An evaluation of the Biocompatibility of Glass Ionomer-Silver Cement in Rat Connective Tissue". *J Endodont*. 15: 76-79.
- Carranza F. (1993), "Bolsa periodontal", "Técnica de gingivectomía" y "Cirugía ósea reconstructiva". *Periodontología clínica de Glikman*. México D.F.: Edit. Interamericana, pp:224-252; 847-857; 905-930.
- Caughman W. ; Caughman G.; Dominy W.; Schuster G. (1990): "Glass ionomer and composite resin cements: Effects on oral cells". *J Prosthet Dent*. 63: 513-521.
- Cayón R.; Aguadé B.; Sahli C. (1997): "Consideraciones generales sobre el uso clínico de los adhesivos dentinarios" *Oper Dent Endod* 1: 10-17.
- Cho E.; Kopel H.; White S. (1995): "Moisture suceptibility of resin-modified glass ionomer material". *Quintessence International* 26: 351-358.
- Consiglio R.; Rengo S.; Liguoro D.; Riccitiello F.; Formisano S.; Palumbo G.; Di Jeso B. (1998): "Inhibition by glass-ionomer cements of protein synthesis by human gingival fibroblats in continuous culture". *Arch Oral Biol* 43: 65-74.
- Dawood A.; Wennberg A.(1993): "Biocompatibility of denting bonding agents". *Depart Endodontics, School of Dentistry, Lund University, Malmo, Sweden*. 9: 1-7.
- Dazert S.; Muss W.H. (1995): "Light y transmission electron microscopic studies following frontal sinus obliteration with ionomer cement in cats". *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 252 (6): 332-335.
- de Souza Costa C.; Hebling J.; Giro E. (1997): "Por qué usar ácido y adhesivos dentinarios sobre el complejo dentino-pulpar". *Journal G.B.P.D. Año IV* (7): 6-7.
- de Souza Costa C. (1998): "Actualidades sobre los test de biocompatibilidad de los materiales odontológicos". *Journal G.B.P.D. Año IV* (9): 6-8.
- Dragoo M. (1996): "Resin-Ionomer and Hybrid- Ionomer Cements: Part I. Comparasion of three material for the treatment of Subgingival Root Lesions". *J.Periodont Rest Dent*. 16: 595-601.
- Egelberg J.(1987): "Regeneration and repair of periodontal tissue". *J Periodont Res*. 22: 233-242.
- Ferracane J. (1994): "Elution of leachable components from composite". *J Oral Rehabil*. 21:441-452.

Folleto instrucciones de uso Dyract™ "Compomer restorative system" Dentsply®

Folleto información de uso Ionofil®, Voco®, 1993.

Folleto instrucciones de uso Vitremer™. "Core Buildup/restorative". 3M®, 1995.

Frank R.; Fiore-Donnot G.; Cimasonit G.; Matter J. (1974): "Ultrastructural study of epithelial and connective gingival reattachment in man". J Periodontol. 45: 626-635.

Frank R.; Fiore-Donnot G.; Cimasoni G. (1983): "Cementogenesis and soft tissue attachment after citric acid treatment in human". J Periodontol. 54: 389-401.

Genco R.; Goldman H.; Cohen W. (1993): "La encía: estructura y función" y "Cicatrización después de tratamiento periodontal". Periodoncia. Genco, Goldman y Cohen Edits, México D.F.: Edit. Interamericana, pp: 3-32; 403-415.

Geurtsen W. (1998): "Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements". Eur J Oral Sci. 106:687-695.

Gladys S.; Van Meerbeek B.; Braem M.; Lambrechts P.; VanHesle G. (1996): "Caracterización de los ionómeros vítreos modificados por resinas". Rev. Beagle Med. Dent. 51: 22-35.

Gómez G.; Camarillo M.; Mascres C. (1991): "Bicompatibility of dental materials. Choice of testing methods: to do or not". J. Dent Que. 28: 201-206.

Hanks C.; Anderson M.; Craig R. (1981): "Cytotoxic effects of dental cements on two cell culture systems". J. Oral Pathol. 10: 101-112.

Hatton P.; Brook I. (1992): "Characterisation of the ultrastructure of glass-ionomer (polyalkenoate) cement". Br Dent J. 173: 275-277.

Hiatt W.; Stallard R.; Butler E.; Badgett B. (1968): "Repair following mucoperiosteal flap surgery with full gingival retention". J Periodontol. 39: 11-16.

Hormia M.; Virtanen I; Quaranta V. (1992): "Inmunolocalization of Integrin $\alpha^6 \beta^4$ in mouse junctional epithelium suggests an anchoring function to both the internal and the external basal lamina". J Dent Res 71: 1503- 1508.

Kan K.; Messer L.; Messer H. (1997): "Variability in cytotoxicity and fluoride release of resin-modified glass-ionomer cements". J Dent Res 76: 1502-1507.

Kaplan I.; Mincer H.; Harris E.; Cloyd S. (1992): " Microleakage of composite resin and glass ionomer cements restorations in retentive and nonretentive cervical cavity preparations". J Prosthet Dent. 68: 616-623.

Kerby R.; Knobloch L.; Thakur A. (1997): " Strength properties of Visible-Light-cured Resin-modified Glass-Ionomer cements". Operative Dentistry. 22: 79-83.

Leyhausen G.; Abtahi M.; Karbakhsch M.; Sapotnick A.; Geurtsen W. (1998): "Biocompatibility of various light-curing and one conventional glass-ionomer cement". Biomaterials 19: 559-564.

Lindhe J. (1992): "Cirugía periodontal: objetivos, indicaciones y técnicas para bolsas periodontales" y "Reinserción y Nueva inserción". Periodontología clínica. Buenos Aires: Edit. Médica Panamericana. pp: 350-381; 408-432.

Manual Técnico Prime & Bond™ 2.1. "Moves Adhesive Dentistry". Dentsply De Trey, 1997.

Matta B.; Mc Kee M.; Zaltz S.; Nanci A. (1994): "The epithelial attachment and the dental seal". *J Periodontol*. 65: 1172-1176. doi: 10.1016/j.jperiod.2003.07.007. The author(s) 2003. 1-14

Matis B.; Cochran M.; Carlson T.; Phillips R. (1988): "Clinical evaluation and early finishing of glass ionomer Restorative materials". *Operative Dentistry*. 13: 74-80.

Melcher A. (1976): "On the repair potential of Periodontal tissues". *J Periodontol*. 47: 256-260

Messadi D. (1991): "General principles of healing pertinent to the periodontal problem". *Reconstructive Periodontics*. 35: 443-446.

Meyer U.; Szulczewski D.; Moller K.; Jones D.B.; Wuisman P. (1996): "Biocompatibility of a new ionomer bone cements in endoprosthetics. In vitro testing using a mixed bone cell culture". *Z Orthop Ihre Grenzgeb*. 134: 117-124.

McLean T.; Smith B.; Morrison E.; Nasjlesi C.; Caffesse R. (1995): "Vascular changes following mucoperiosteal flap surgery: A fluorescein angiography study in dogs". *J Periodontol*. 66: 205-210.

Motzfeld R. (1998): "Plásticos estéticos y compómeros". *Infodent 3M*. N° 7:2-3.

Nicholson J.; Braybrook J.; Wasson E. (1991): "The biocompatibility of glass-poly(alkenoate) (Glass-Ionomer) cements: a review". *J Biomater Sci Polym Ed*. 2: 277-285.

Oliva A.; Della-Ragione F.; Salerno A.; Riccio V.; Tartaro G.; Gozzolino A.; D Amato S.; Pontoni G.; Zappia V. (1996): "Biocompatibility studies on glass ionomer cements by primary cultures of human osteoblasts". *Biomaterials*. 17: 1351-1356.

Ollo G. (1992): "Biodegradation of dental composites/glass-ionomer cements". *Adv Dent Res*. 6:50-54.

Overman D.; Salonen J. (1994): "Characterization of the human junctional epithelial cells directly attached to the tooth (DAT cells) in Periodontal disease". *J Dental Res*. 73: 1818-1823

Polson A.; Proye M. (1983): "Fibrin linkage: a precursor for new attachment". *J Periodontol*. 54: 141-146.

Ramsden R.; Lye R. (1992): "Ionomeric bone cement in neuro-otological surgery". *Journal of Laryngology and Otology* 106: 949-953

Redlich M.; Harary D.; Shoshan S. (1996): "Gingival Response to a new multipurpose dental adhesive: A histologic study in dogs". *J Prosthet Dent*. 76: 379-385.

Ririe C.; Crigger M.; Selvig K. (1980): "Healing of connective tissue following surgical wounding and application of citric acid in dogs". *J Periodont Res*. 15: 314-327.

Robins S.; Kumar V.; Cotran R. (1990): "Lesión y adaptación" e "Inflamación y reparación". *Patología estructural y funcional*. Madrid: Edit. Interamericana, pp: 1-38; 39-86

Salonen J. (1994): "Proliferative potential of the attached cells of human junctional epithelium". *J Periodont. Res*. 29: 41-45.

Santin M.; Huang S.; Iannace S.; Ambrosio L.; Nicolais L.; Peluso G. (1996): "Synthesis and characterization of a new interpenetrated poly (2-hidroxyethylmethacrylate)- gelatin composite polymer". *Biomaterials*. 17: 1459-1467.

Saganulykii B.; Il'inskiy K.; Dzhafar B.; Williams D. (1993): "Biocompatibility of glass ionomer cements". *J Prosthet Dent.* 68: 19-27.

Saygili G.; Sahmali S.; Guney C. (1992): "The citotoxic effects of composite resin adhesive agents on gingival cell culture using the agar coating method". *Mikrobiol-Bul.* 26: 61-69.

Schupbach P.; Gaberthüel T.; Lutz F.; Guggenheim B. (1993): "Perioral repair or regeneration: structures of different types of new attachment". *J Periodont Res.* 28: 281-285

Selvig K.; Ririe C.; Nilveus R.; Egelber J. (1981): "Fine structure of new connective tissue attachment following acid treatment of experimental furcation pockets in dogs". *J Periodont Res.* 16: 123-129.

Selvig K.; Bogle G.; Claffey N. (1988): "Collagen linkage in periodontal connective tissue reattachment". *J Periodontol.* 59: 758-768.

Stahl S. (1977): "Repair potencial of the soft tissue-root interface". *J Periodontol.* 48: 545-552

Stahl S.; Froum S. (1977): "Human clinical and histologic repair responses following the use of citric acid in periodontal therapy". *J Periodontol.* 48: 261-266.

Steenbecker O. (1994): *Apuntes Cátedra Operatoria.*

Steenbecker O. (1997): "Factores físico mecánicos y adhesión". *Apuntes Cátedra de Biomateriales.*

Sugarman, E. (1969): "A clinical and histological study of the attachment of grafted tissue to bone and teeth". *J Periodontol.* 40: 381-387.

Swift E.; Dogan A. (1990): "Analysis of glass ionomer cement with use of scanning electron microscopy". *J Prosthet Dent.* 64: 167-174.

Taylor C.; Campbell M. (1972): "Reattachment of gingival epithelium to the tooth". *J Periodontol.* 43: 281-291.

Wilderman M.; Wentz F. (1965): "Repair of a dentogingival defect with a pedicle flap". *J Periodontol.* 36: 218-231.