



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EFFECTO OSTEOGENICO DEL PULVERIZADO
DESMINERALIZADO ESTERIL DE DIENTES DE RATA,
INTRODUCIDO EN CAVIDADES DE COLMILLOS DE
PERRO Y CUBIERTAS CON RESINA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JULIA ESTHER BLANCO CHAVEZ

ASESORES: MVZ. ALFREDO CORTES ARCOS
DR. FERNANDO CONSTANTINO CASAS



MEXICO, D. F.

1999

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

270554



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

EFFECTO OSTEOGÉNICO DEL PULVERIZADO DESMINERALIZADO ESTÉRIL DE
DIENTES DE RATA, INTRODUCIDO EN CAVIDADES DE COLMILLOS DE PERRO Y
CUBIERTAS CON RESINA.

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la

Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

por

Julia Esther Blanco Chávez

Asesores: MVZ. Alfredo Cortes Arcos
Dr. Fernando Constantino Casas

México, D.F.

1999

DEDICATORIA

A mis padres que siempre me han
demostrado su amor y confianza y
que siempre se han esforzado tanto
para que yo pueda realizar
mis anhelos.

A mi maestro y amigo
MVZ. Alfredo Cortes Arcos
por haberme apoyado y guiado
durante mis estudios.

"Al forjar hoy mis sueños pienso en
tí padre, y no puedo gritar mas que
una palabra, gracias por aquellos sueños"

Canción teresiana

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores:

MVZ. Alfredo Cortes Arcos

Dr. Fernando Constantino Casas

por haberme ayudado a realizar el presente trabajo

Gracias a la T.A. Guadalupe Juarez Juarez quien
realizó los cortes histológicos necesarios y que
además me brindo su amistad.

A Benjamín Leon Mancilla quien me
ayudo con las placas radiográficas.

A mi hermana, que siempre me
ha apoyado en momentos difíciles.

A Hilda, por escucharme y ser una gran amiga.

A Alejandra, por que siempre que se me
olvida algo ella se encarga de recordarme.

A todos aquellos del departamento de
cirugía experimental de la Facultad de
Medicina, que siempre me apoyaron y
asesoraron con el trabajo experimental.

CONTENIDO

	Página
RESUMEN	1
INTRODUCCION.	2
OBJETIVOS E HIPOTESIS.10
METODOS DE INCLUSION.11
MATERIAL Y METODOS.12
RESULTADOS.23
DISCUSION.34
LITERATURA CITADA38

RESUMEN

BLANCO CHAVEZ JULIA ESTHER. Efecto osteogénico del pulverizado desmineralizado estéril de dientes de rata, introducido en cavidades de colmillos de perro y cubiertas con resina (bajo la dirección de: Alfredo Cortés Arcos y Fernando Constantino Casas.)

La caries dental afecta a perros y otros animales pero sobre todo en los humanos ha sido uno de los grandes problemas por resolver, se han utilizado un sin número de procedimientos y materiales incluyendo la hidroxiapatita; cabe señalar que el polvo desmineralizado proveniente de piezas dentarias, en especial de roedores, ha sido subutilizado por los investigadores. En la presente investigación se evaluó la capacidad del pulverizado de dientes de rata desmineralizado estéril (colágena tipo I), como regenerador de la dentina de colmillos de perro dañados expofeso en diferentes tiempos de 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 semanas. Obteniendo como resultado una regeneración mínima en el tiempo que se estipuló, concluyendo que el diente de rata desmineralizado estéril requiere de un estudio a mayor tiempo para evaluar integralmente su capacidad osteogénica.

INTRODUCCION

Los dientes son estructuras altamente mineralizadas localizados en la cavidad oral, estos tienen la función de sujetar, desgarrar, cortar y triturar el alimento, además de ser una protección contra depredadores o rivales sociales. (1,2)

Los dientes se clasifican en braquiodontos (simples) o hipsodontos (complejos). Los dientes braquiodontos son cortos y su crecimiento cesa después que termina su erupción, constan de una corona que se encuentra en la parte superior de la gingiva, un cuello que es la región estrecha localizada justamente debajo de la línea gingival y una o más raíces localizadas dentro de un hueco óseo llamado alveolo. La corona se encuentra cubierta por una capa de esmalte la cual se extiende por debajo de la región del cuello. La raíz está cubierta por una capa de cemento, el cual cubre ligeramente el esmalte hasta su unión con el cuello. Los dientes braquiodontos son propios de todos los carnívoros incluyendo al hombre, los dientes incisivos de los rumiantes y los dientes del cerdo con excepción de los colmillos. (1,3)

Los dientes hipsodontos son de erupción constante, morfológicamente únicos y distintivos y difieren mucho de los braquiodontos. Son mucho más largos y no constan de una corona y un cuello. En éstos, el esmalte está intacto hasta la erupción. Esto hace que el tejido conjuntivo llegue al saco dentario en íntima relación con el esmalte de nueva formación. Como resultado, se deposita cemento sobre el esmalte. También la morfología cambia en el diente hipsodonto maduro, ya que el esmalte es más complejo en su morfología superficial que en los dientes simples. En dientes braquiodontos, la erupción de la corona se acompaña de la desintegración de los ameloblastos. En los hipsodontos, los ameloblastos no se desintegran, continúan su actividad por un periodo más extenso después de la erupción. Aunque los dientes hipsodontos se describen como dientes con raíz sin corona definitiva, cuello y raíz, esto

no es completamente cierto. Una raíz típica (cemento y dentina) está confinada a la porción más baja del diente. Los dientes hipsodontos se presentan en los rumiantes, roedores, caballos y los colmillos del cerdo. (.1,3)

En el centro de un diente simple, se encuentra la cavidad pulpar que contiene un tejido blando llamado pulpa dentaria. La cavidad pulpar o dentaria está rodeada por una capa gruesa de tejido mineralizado, llamada dentina. (4)

1.1 Características histológicas del diente

Ciertas partes del diente están altamente mineralizadas, de modo que los cortes histológicos se preparan de manera similar a los de hueso, es decir desgastándolo o desmineralizándolo. Los cortes obtenidos por el método de desgaste son útiles para estudiar dientes extraídos o exfoliados, permitiendo observar el tejido mineralizado, pero los tejidos blandos desaparecen. El método de desmineralización en contraste con el anterior, retiene los tejidos blandos presentando una vista del diente *in situ* y de esa manera, se pueden apreciar las relaciones entre éste y las estructuras de sostén adyacentes, sin embargo, en los preparados de rutina de diente maduro desmineralizado el esmalte se ha disuelto por lo que ya no se observa. (4,5,6)

1.2 Dentina

La mayor parte del diente está formada por dentina. La corona se encuentra por debajo del esmalte y la raíz se localiza bajo el cemento que constituye la gruesa pared mineralizada de la cavidad pulpar. La dentina está constituida por un 70% de mineral (hidroxiapatita) y un 30% de material orgánico, conformado en un 90% por colágeno; el resto corresponde a otras proteínas (fosfoproteínas) y glucosaminoglicanos. (4,7)

Las células que producen la dentina, cuyo origen es mesenquimatoso, se llaman odontoblastos y son de forma cilíndrica, con una larga prolongación citoplasmática, el proceso odontoblástico o fibra de Tomes la cual se extiende dentro de la dentina. El espacio que contiene los procesos odontoblásticos se denomina túbulo dentinal y se extiende a través de todo el espesor de la dentina. El citoplasma del odontoblasto contiene muchos organelos del tipo de los hallados en las células sintetizadoras de colágeno, a saber: retículo endoplásmico rugoso abundante, aparato de Golgi prominente, gránulos de secreción, mitocondrias y ciertas vesículas. El aparato de Golgi contiene un precursor colágeno de forma filamentosos. La disposición ordenada de gránulos, los cuales contendrán calcio, sobre los filamentos de ciertas vesículas del aparato de Golgi explica su designación de cuerpos en ábaco. Estos corpúsculos se condensan para madurar hacia gránulos de secreción. El proceso odontoblástico joven es ancho al iniciarse cerca del cuerpo celular y se adelgaza rápidamente para formar un cilindro cada vez más angosto. Posee microtúbulos y filamentos citoplasmáticos, gránulos de secreción y vesículas. A la altura del cuerpo apical del cuerpo de los odontoblastos un complejo de unión mantiene adheridas las células vecinas y crean un microcompartimento que separa la predentina del espacio intercelular lateral. El complejo de unión no es totalmente hermético puesto que permite el pasaje de pequeños haces de fibras de colágenas (fibras de von Kroff) durante los comienzos de la formación dentinal y también es atravesado por fibras nerviosas. (4,6,7)

1.3 Dentinogénesis

La dentina es el primer componente dentario mineralizado que se forma. Es producida por odontoblastos y también, en su parte más externa que es conocida como dentina del manto, por células subodontoblásticas que sintetizan las fibras de von Kroff. Los odontoblastos se diferencian a partir de células de la periferia de la papila dentaria. Las células precursoras tienen el aspecto de células mesenquimáticas típicas, es decir que poseen escaso citoplasma. En su diferenciación hacia odontoblastos aumentan el volumen citoplasmático y los organelos característicos de las células sintetizadoras de colágeno. Las células forman una capa en la periferia de la papila dentaria y secretan

la matriz orgánica de la dentina, llamada preentina, por su polo apical (el extremo celular opuesto al que está en contacto con la papila dentaria). A medida que aumenta el espesor de la preentina, los odontoblastos son desplazados hacia el centro del diente. Una onda de mineralización sigue el retroceso de los odontoblastos y convierte la preentina en dentina, que es la matriz mineralizada. Mientras los odontoblastos se desplazan hacia el centro alejándose de la periferia, los procesos odontoblásticos se tornan cada vez más largos y quedan rodeados por la dentina en la mayor parte de su longitud. En la dentina neoformada, las paredes de los túbulos dentinales consisten simplemente en los bordes de la matriz mineralizada. Con el tiempo la parte de la dentina más cerca al proceso odontoblástico sufre una mayor mineralización; esta vaina más mineralizada se conoce como dentina peritubular. El resto de la dentina recibe el nombre de dentina intertubular. (4,6,7) Fig.1

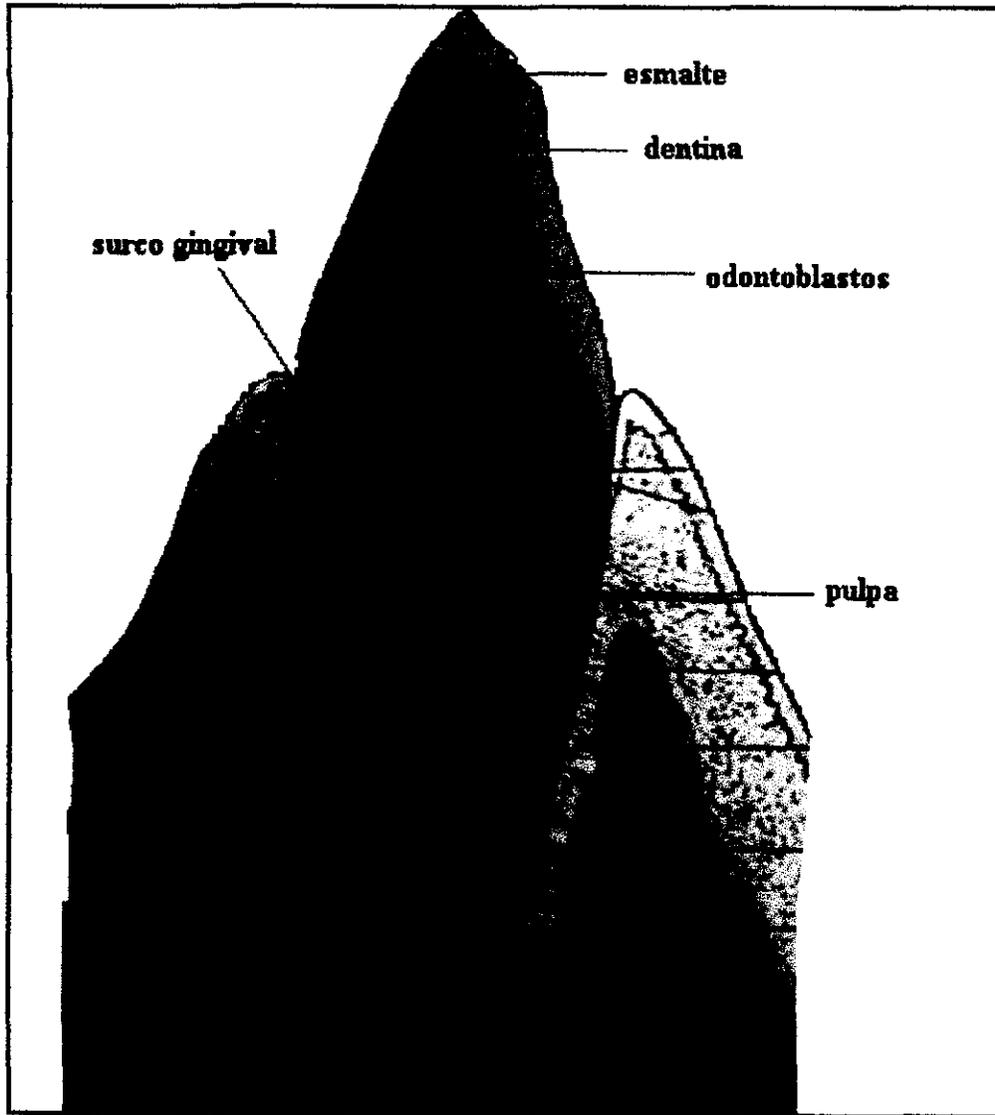


Fig.1 Fotografía que muestra algunas partes histológicas que conforman un diente.

Tomada del libro Histología texto y atlas a color por Ross y Romrell

1.4 Fibras Colágenas

La colágena es una proteína fibrilar insoluble localizada en la matriz extracelular y en el tejido conectivo y es la proteína más abundante en el reino animal. Existen por lo menos catorce tipos diferentes de colágena, si se les examina en microscopio fotónico, aparecen como estructuras onduladas de espesor variable y longitud indeterminada. Las más abundantes son las tipo I, II y III. (4,8,9)

La colágena tiene la capacidad de formar, entre otras, las siguientes estructuras: hebras y cintas (tendones y ligamentos), láminas ondulares (piel y fascia), membranas de filtración (glomérulo), soporte esquelético reforzado con sales minerales (hueso y dentina), materiales de sostén lubricados con proteoglicanos (cartílago y disco intervertebral) y otros tejidos especiales que deben ser resistentes y aún tener propiedades poco usuales tales como la transmisión de la luz en la córnea y resistencia a la fatiga de las válvulas cardíacas. La colágena es una de las proteínas más estudiadas y de mayor importancia biológica debido a su función como material estructural en el tejido conectivo, además de ser el soporte celular de los tejidos, es reconocida como marcador de diferenciación celular. Debido a que la colágena se encuentra en proporción elevada como proteína de matriz extracelular y dada su poca antigenicidad, se ha utilizado desde hace algún tiempo como material de bioimplante en tejidos, como son: piel, hueso y cartílago. Tiene la propiedad de reabsorberse sin consecuencias, esta absorción es relativamente rápida tomando en cuenta su velocidad de biotransformación. La colágena tipo I es más abundante en piel, tendón, hueso y dentina, y como ya se ha mencionado se ha utilizado como material de bioimplante ya que las características de la colágena en las diferentes especies son muy similares, permitiendo así realizar implantes con un amplio margen de seguridad. Son bien conocidos los implantes de colágena en heridas en donde por la disposición de la lesión, es difícil que el organismo repare por si solo o lo haga en un período breve; así como también los bioimplantes en cirugía reconstructiva, en donde se ha implantado colágena heteróloga (cerdo y ovino) en el hueso, teniendo

resultados satisfactorios y se hace mención que la regeneración es mucho más acelerada que cuando el implante se lleva a cabo con materiales aloplásticos que muestran la desventaja de no transformarse en hueso o eliminarse en períodos cortos como es el caso del fosfato tricálcico. Joos y col. (10) concluyeron que el proceso de extracción, purificación y regeneración de colágena son un factor esencial para la calidad del material de implante y por lo tanto, en su compatibilidad con el organismo. (5,8,9,11,12,13,)

1.5 Inducción de la morfogénesis ósea

El hueso difiere de otros tejidos por su estructura fisicoquímica, además de su extraordinaria capacidad de crecimiento, continua remodelación interna y regeneración a lo largo de la vida posfetal, inclusive en la larga vida de los vertebrados superiores. Básicamente se asume que la regeneración ocurre por la combinación de dos procesos. El proceso de inducción de la diferenciación celular ha sido observado a través de la medición cuantitativa de la formación de hueso en respuesta a implantes de matriz ósea o de proteína morfogenética ósea purificada (BMP). El proceso de proliferación de las células osteoprogenitoras ha sido conocido por más de una centuria y es modulado por reacciones del periostio y endostio. El factor liberador de crecimiento óseo (BDGF) estimula la proliferación de células osteoprogenitoras en cultivos de tejidos libres de suero. Los mecanismos de acción de la BMP y del BDGF primeramente son locales, pero después se presentan reacciones secundarias sistémicas las cuales pueden tener efectos estimulantes o depresivos.(12,14)

Recientes progresos en el área, sugieren que la BMP y el BDGF son coeficientes; la BMP origina un estado de inducción y el BDGF estimula la osteoconducción del hueso externo. La teoría de la diferenciación celular por inducción se originó por observaciones en transplantes de tejidos embrionarios. El desarrollo comienza con una

parte morfogenética y termina con una fase de citodiferenciación. La fase morfogenética consiste en una disgregación celular, migración, regeneración y proliferación, a través de la interacción de influencias intra y extracelulares, seguida de una citodiferenciación y la aparición de tejido maduro funcional especializado. La mayor evidencia que indica la diferenciación celular ósea proviene de experimentos en cartílago posfetal y de hueso en desarrollo. Este experimento consiste en la inducción ósea formada dentro de implantes alogénicos de matriz ósea dentro de una bolsa muscular en roedores. Cuando la matriz ósea es desmineralizada a base de un tratamiento con ácido clorhídrico, es implantada en una bolsa muscular, las células mesenquimatosas perivasculares se disgregan y migran al área del implante, se reagregan, proliferan y diferencian dentro en cartílago y hueso. La cantidad del hueso nuevo es proporcional a la masa de la matriz implantada. (14)

En 1996 la institución Médica Johns Hopkins anunció que una sustancia (BPM) que se utilizó para reconstruir hueso también puede ayudar a regenerar la encía y el tejido conectivo alrededor del diente. Los hallazgos están basados en un estudio en el que el hueso y el tejido periodontal de 12 babuinos (*Cercopithecus papro*) fueron removidos y reemplazados por BMP. Los resultados sorprendieron a los investigadores, la BPM que se esperaba regenerara la mandíbula, también regeneró los ligamentos y el cemento que unen los dientes con la mandíbula. (15)

OBJETIVOS

- 1) Evaluar la capacidad osteogénica del pulverizado desmineralizado estéril de dientes de rata (colágena tipo I), utilizado como regenerador de la dentina de colmillos de perro, dañados exprofeso.
- 2) Evaluar el tiempo en que sucede la probable regeneración de la dentina de colmillos de perro dañados ex profeso, utilizando el pulverizado desmineralizado estéril de dientes de rata (colágena tipo I).

HIPOTESIS

El pulverizado desmineralizado estéril de dientes incisivos de rata tiene capacidad osteogénica, por lo que es capaz de regenerar la dentina de un colmillo de perro dañado exprofeso.

METODOS DE INCLUSION

Los dientes incisivos se obtuvieron de cadáveres de rata hembras o machos de la cepa Wistar recién sacrificadas humanitaria mente con guillotina.

- Los perros utilizados reunieron los siguientes requisitos:
 - Edad aproximada de dos años
 - Hembras
 - Peso promedio de 28 Kilos
 - Con una conformación bucal normal, es decir una oclusión adecuada, que cuenten con todas sus piezas dentales y que estas no presenten coloraciones anormales, caries, fracturas, ni grietas, que no presenten enfermedad periodontal y sin hipoplasia del esmalte. (2,15)
- Cada colmillo se toma como un individuo independiente de la experimentación.
- El orden en que se seleccionó el primer perro y en que se trabajaron las piezas dentales para la colocación del implante fue aleatorio.
- Las piezas dentales que se utilizaron para poner el implante son los colmillos, debido a su localización, son fácilmente accesibles, además de que su única función es de sujetar y desgarrar (2,15), por su conformación se puede medir la longitud de este desde el margen gingival hasta la porción distal de la pieza y así poder determinar en todos los casos el tercio medio y trabajar en el mismo sitio en todas las piezas dentales.
- Ambas se sacrificaron humanitariamente el mismo día.

MATERIAL Y METODOS

I. Obtención de los Dientes de Rata:

Los incisivos superiores de la rata fueron separados del alvéolo dentario con una cuchilla semicurva de mango fijo y extraídos de raíz con una pinza porta-agujas Mayo. Los incisivos inferiores se sujetaron y se extrajeron directamente. Los incisivos extraídos se lavaron con agua corriente hasta que ya no se desprendió ningún material y se depositaron en un frasco limpio. Fig. 2 y 3.

II. Desmineralización de Dientes de Rata:

Se utilizó el método de descalcificación con ácido clorhídrico descrito por Sheehnan (16) Fig. 3 y 4.

III. Obtención del Polvo Desmineralizado de Dientes de Rata:

Los dientes fueron introducidos en el embudo de un molino de turbina de acero inoxidable marca "Pulvex" con criba de 5 milímetros de separación, posteriormente se puso en marcha para que estos fueran triturados, finalmente el polvo fue recolectado en una bolsa de papel celofán.

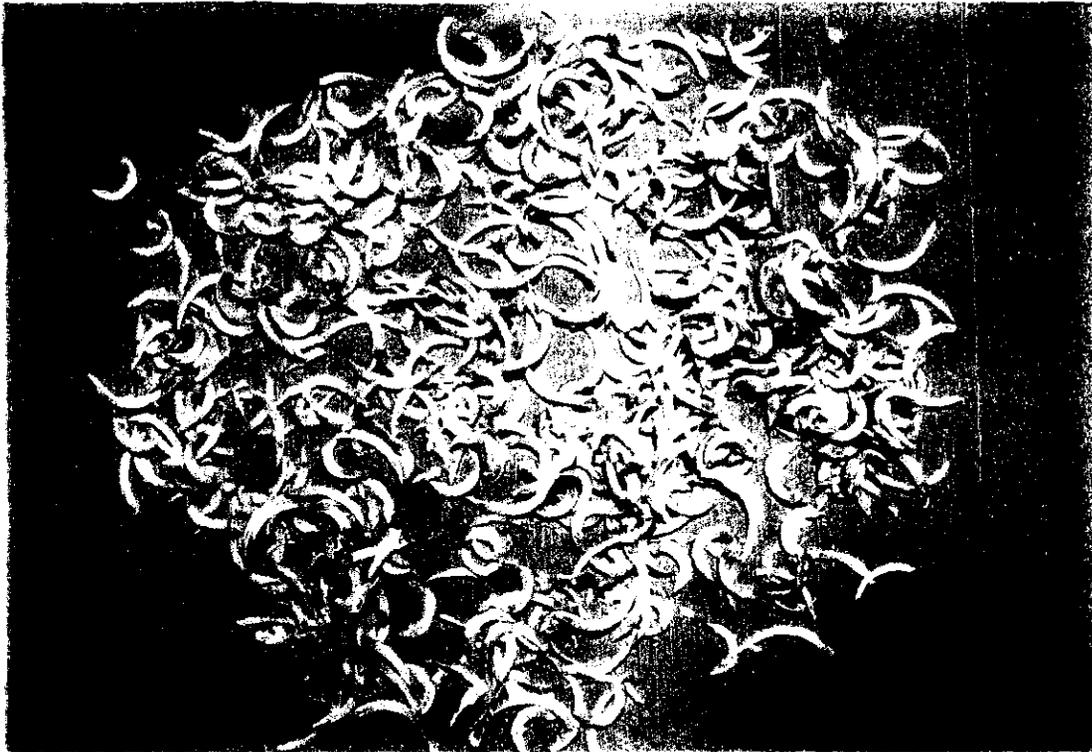


Fig. 1. Larvae of the fly *Calliphora vicina*.



Fig. 2. Larvae of the fly *Calliphora vicina* (larvae of the fly *Calliphora vicina*) and larvae of the fly *Calliphora vicina* (larvae of the fly *Calliphora vicina*) and larvae of the fly *Calliphora vicina* (larvae of the fly *Calliphora vicina*).



IV. Esterilización del polvo de dientes de rata desmineralizado en autoclave de gas (óxido de etileno) en el Instituto Nacional de Cardiología de la secretaría de salud.

Se introdujeron 0.1 gramos de polvo en bolsitas individuales de papel, se cerraron con cinta marcadora y fueron llevadas al Instituto Nacional de Cardiología de la Secretaría de Salud para ser esterilizadas en el autoclave de gas con óxido de etileno.

V. Preparación de los perros para realizar el procedimiento experimental:

Antes de trabajar con los perros se les realizó una limpieza dental general, bajo tranquilización con hidrocloreuro de xilazina (Rompun) a una dosis de 0.5 mg por Kg de peso corporal, que consistió en retirar el posible sarro acumulado entre la gingiva y el diente, esto debido a que aunque este no fuera visible a simple vista siempre está presente y podría contaminar el implante.

VI. Inducción de la anestesia para colocar el implante en los colmillos:

El perro a trabajar, seleccionado aleatoriamente se indujo a una anestesia general utilizando como tranquilizante hidrocloreuro de xilazina (Rompun) a una dosis de 0.5 mg por Kg de peso corporal, y como anestésico pentobarbital sódico (Anestesal) a una dosis de 20 mg por Kg de peso corporal.

VII. Toma de placa radiográfica control:

Bajo anestesia general (como se describió anteriormente), antes de realizar la cavidad se tomó una placa radiográfica control a cada colmillo utilizando placas dentales de tipo "ultraspeed" de 3 x 4 cm, la distancia focal a la placa debe ser de 30 centímetros.

los rayos X se especificaron a 10 mA con 70 kVp con un tiempo de exposición de 0.2 segundos; igualmente se les tomó otra placa radiográfica una vez hecha la cavidad. Las siguientes tomas radiográficas con excepción del colmillo festigo se realizaron cuando el pulverizado había sido introducido en la cavidad. Finalmente se tomaron placas radiográficas de los colmillos obturados con resina autocurable. (2,15)

La radiografía se tomó en posición paralela al eje mayor del diente y al plano perpendicular de los rayos X. Fig. 5 y Fig. 6

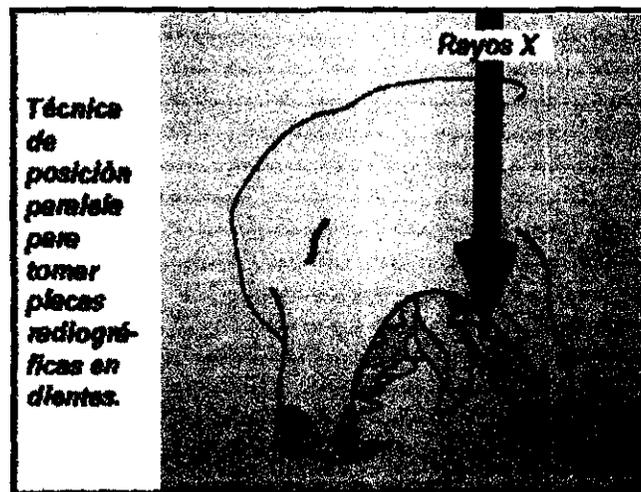


Fig. 5

Fotografía tomada del libro Small Animal Dentistry por Harvey y Emily.

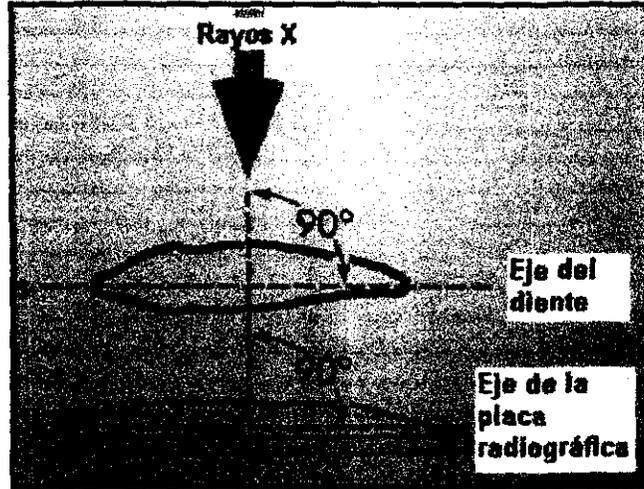


Fig. 6

Fotografía tomada del libro *Small Animal Dentistry* por Harvey y Emily.

VIII. Realización de las cavidades dentales realizadas expreso en los colmillos de los perros:

Una vez que se seleccionó aleatoriamente el colmillo a trabajar, se midió la longitud del diente en su cara bucal de la porción apical a partir de la gingiva a la porción distal de la pieza dental con un Vernier, se anotó la medida en centímetros, se dividió a la mitad, la cual se marcó con un lápiz siendo esta la zona donde se practicó la cavidad. Fig. 7

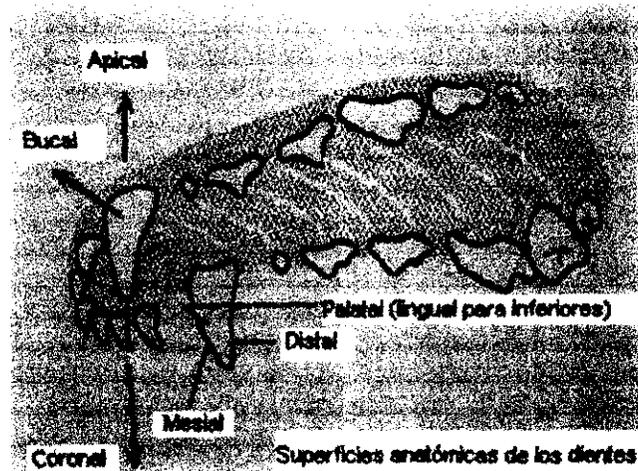


Fig. 7 Planos anatómicos de la cavidad bucal.

Fotografía tomada del libro Small Animal Dentistry por Harvey y Emily.

Al equipo de motor eléctrico de alta velocidad se le fijó la pieza de mano de alta velocidad y utilizando una fresa de cono invertido con punta de diamante se comenzó a practicar la cavidad donde se marcó el tercio medio del colmillo, una vez que se llegó a la dentina se cambió la fresa por otra de cono invertido de carburo, con el vernier se midió la profundidad y el ancho de la cavidad para tener un control aproximado de todas las cavidades ya que no es posible realizar cavidades exactas, se lavó con agua bidestilada estéril y se tomó otra placa radiográfica con el método descrito anteriormente. (2,17,18,19) Fig. 8

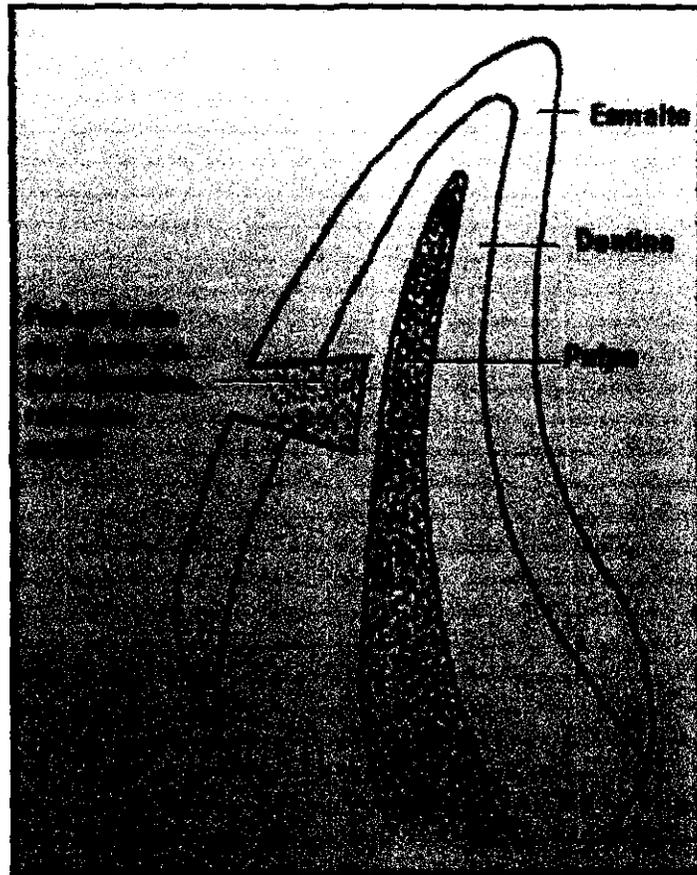


Fig. 8 Esquema de la cavidad realizada en un colmillo de perro a la cual se le introdujo el implante. Nótese que no se llega a la pulpa del diente.

Con el pincel se tomó un poco de ácido grabador de la resina autocurable y se pinceló la orilla de la cavidad, se esperó un minuto, se volvió a lavar y a secar; con las tijeras se abrió la punta del sobre que contenía el pulverizado desmineralizado de diente de rata estéril y con pequeños movimientos se introdujo en la cavidad, se apizonó con el mortenson y el cuádruplex hasta faltar aproximadamente un milímetro para obturar totalmente la cavidad, con el explorador se retiró el exceso del pulverizado a los lados de la cavidad, se tomó otra placa radiográfica con las mismas características descritas en el punto VII. Finalmente se terminó de obturar utilizando en partes iguales la base y el catalizador de la resina autocurable, la cual se prepara

espatulando las dos pastas por espacio de 20 segundos hasta obtener una mezcla lo más homogénea posible, se colocó en la cavidad con la espátula y se presionó con una tira de plástico para resinas compuestas. Durante los siguientes dos minutos es completado el endurecimiento de la resina autocurable, tiempo en que no debe ser tocada. (2,15,17,18,19) Al terminar la obturación se tomó otra placa radiográfica del colmillo.

El animal durante el tiempo que duró la investigación siguió con la misma alimentación que consistía en croquetas, la cual al igual que el agua se proporcionaron *ad libitum*.

— Cuadro 1. Morfometría de cada colmillo.

PERRO 1	LARGO DEL COLMILLO	MEDIDA DE LA MITAD DEL COLMILLO	PROFUNDIDAD DE LA CAVIDAD	ANCHO DE LA CAVIDAD
C1 SD	2.2 cm	1.10	0.3 mm	0.4 mm
C2 SI (testigo)	2.2 cm	1.10	0.3 mm	0.4 mm
C2 ID	2.2 cm	1.10	0.3 mm	0.4 mm
C3 II	2.2 cm	1.10	0.3 mm	0.4 mm
PERRO 2	LARGO DEL COLMILLO	MEDIDA DE LA MITAD DEL COLMILLO	PROFUNDIDAD DE LA CAVIDAD	ANCHO DE LA CAVIDAD
C1 SD	2.2 cm	1.10	0.3 mm	0.3 mm
C2 SI	2.2 cm	1.10	0.3 mm	0.4 mm
C2 ID	2.1 cm	1.05	0.3 mm	0.4 mm
C3 II	2.1 cm	1.05	0.3 mm	0.4 mm

C1 SD : Colmillo número 1 superior derecho

C2 SI : Colmillo número 2 superior izquierdo

C3 ID : Colmillo número 3 inferior derecho

C4 II : Colmillo número 4 inferior izquierdo

Testigo: Colmillo preparado con cavidad y obturado únicamente con resina.

IX. Toma de placas radiográficas quincenal:

Cada quince días se tomaron placas control de los colmillo con la misma técnica descrita en el punto VII.

X. El implante en los colmillos permaneció durante el siguiente periodo:

A continuación se muestra el número de diente y las semanas que se mantuvo el implante en cada uno.

— Cuadro2. Número de semanas totales de permanencia del implante en cada colmillo:

PERRO	DIENTE No.	SEMANAS TOTALES CON EL IMPLANTE
1	C1 SD	14 semanas
1	C2 SI	14 semanas (testigo)
2	C1 SD	13 semanas
1	C3 ID	12 semanas
2	C2 SI	11 semanas
1	C4 II	10 semanas
2	C3 ID	9 semanas
2	C4 II	8 semanas

C1 SD : Colmillo número 1 superior derecho

C2 SI : Colmillo número 2 superior izquierdo

C3 ID : Colmillo número 3 inferior derecho

C4 II : Colmillo número 4 inferior izquierdo

Testigo: Colmillo preparado con cavidad y obturado únicamente con resina.

XI. Sacrificio humanitario de los perros y extracción de los colmillos.

Catorce semanas después de haber puesto el primer implante se indujo la eutanasia del perro utilizando una sobredosis de pentobarbital sódico por vía endovenosa, se cortaron los dientes a nivel del margen gingival, utilizando el motor de alta velocidad con una fresa larga conectada a la pieza de mano (2,15). Una vez realizado este procedimiento, los dientes fueron colocados en frascos limpios individuales con una solución de formalina al 10 % amortiguada a un pH de 7.4, etiquetados previamente con los siguientes datos: número de perro, pieza dentaria correspondiente, número de semanas con el implante.

XII. Examen histológico y evaluación de los resultados en el Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Los colmillos fueron desmineralizados con el método del ácido clorhídrico y se procesaron en el departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, en el cual los dientes desmineralizados se cortaron a la mitad en su porción sagital tomando como referencia el canal pulpar. Las muestras procesadas e incluidas en parafina por la técnica convencional fueron cortadas en secciones de 5 µm de espesor y teñidas con Hematoxilina- Eosina, Tricrómica de Masson y Hematoxilina Fosfotúngstica; las secciones histológicas fueron revisadas bajo el microscopio fotónico (20).

RESULTADOS

1.- Polvo de diente de rata desmineralizado estéril:

Los dientes incisivos de rata se observaban casi transparentes y sin esmalte, además de que se volvieron completamente flexibles lo que era indicativo de que estaban desmineralizados. Fig 2.

2.- Placas Radiográficas

- Interpretación de una placa radiográfica normal: Las estructuras que forman el diente son estructuras duras calcificadas las cuales tienen diferentes radiodensidades y siguen patrones específicos. El tejido más radiodenso es el esmalte el cual cubre la corona del diente; la mayor parte del diente está formada por dentina localizada por debajo del esmalte y la cual es menos radiodensa, esta tiene una densidad muy uniforme además que esta rodeada por el tejido blando de la pulpa. (2,3).
- En las placas radiográficas control se comprobó que en todos los casos las estructuras eran normales. Las placas radiográficas con la cavidad realizada, se observaron radiopacas en el punto donde se practicó la cavidad. Las placas radiográficas tomadas con el polvo introducido en la cavidad, excepto al colmillo testigo, se observaron radiopacas, al igual que la placa tomada únicamente con la cavidad sin polvo. (Fig. 9) Finalmente en las placas radiográficas de los colmillos obturados con resina autocurable, se observó que la densidad de la resina era casi igual a la de la dentina sin embargo se aprecia el sitio de la cavidad. (Fig. 10) En el colmillo testigo no se apreció el sitio de la cavidad en la placa radiográfica debido a que solamente se utilizó resina para obturarlo y la densidad de ésta igualó a la dentina.



Figure 1. (continued)

Figure 1. (continued)

Figure 1. (continued)

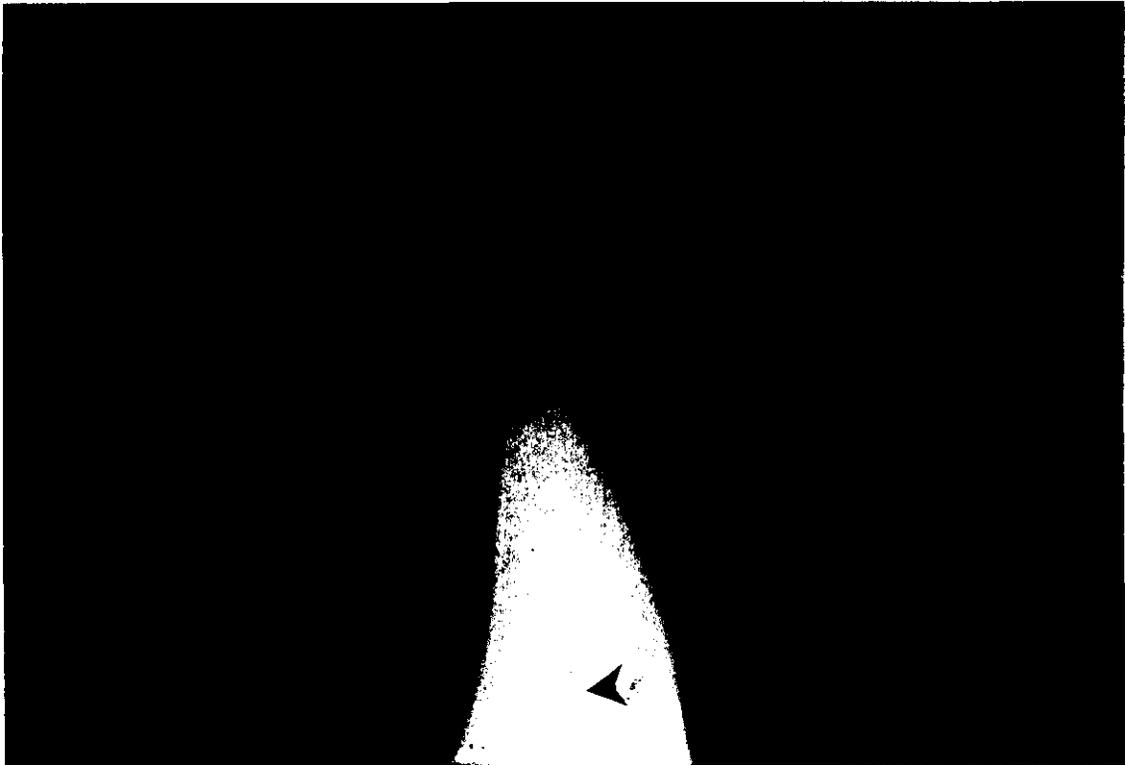
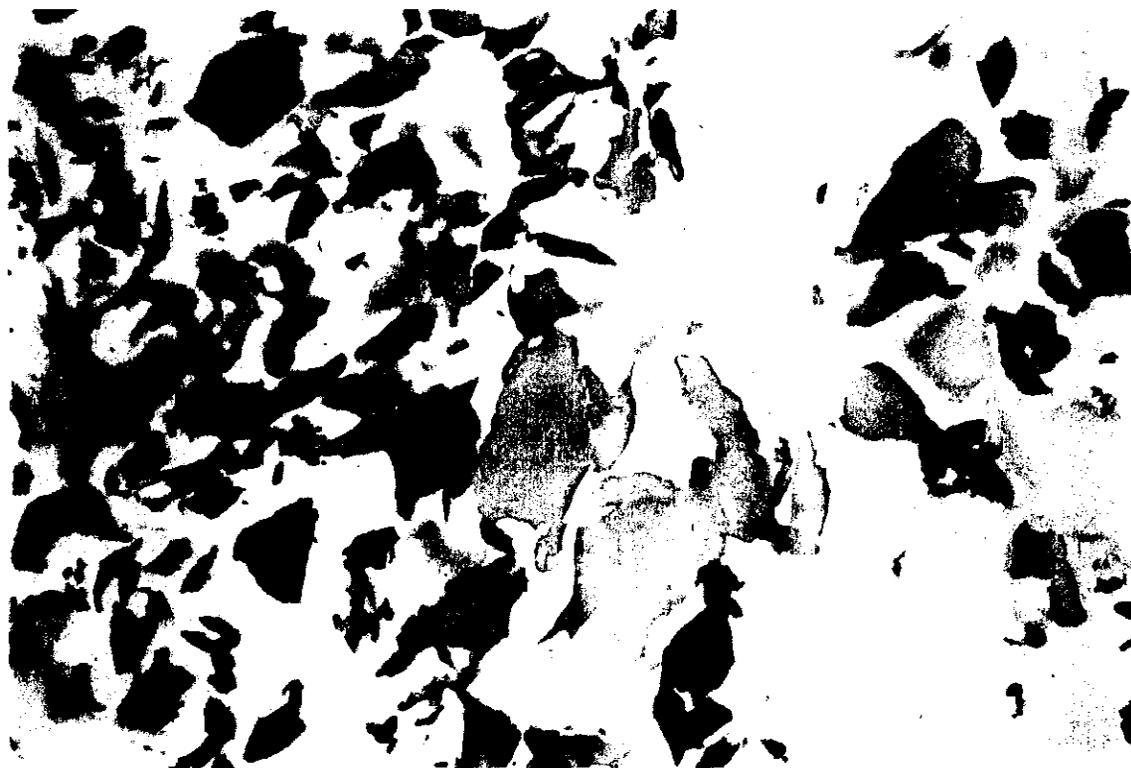


Figure 1. A high-contrast, black and white image showing a bright, vertical, textured shape against a black background. A small black arrow points to the right, indicating a specific feature on the shape.

- Placas radiográficas tomadas las semanas subsecuentes a la realización del implante: Todas las placas en las diferentes semanas se observaron sin cambios evidentes en las estructuras normales del diente, en todos los casos el canal pulpar no cambió en su grosor por lo que se advierte que no existió infección ni reacción de rechazo al implante. Las cavidades de los colmillos se observaron con la misma densidad en todas las semanas con excepción del colmillo 4 inferior izquierdo del perro 1 el cual perdió la obturación cuando tenía dos semanas con el implante por lo que la cavidad en ausencia de la resina se observa más radio opaca.

3.- Resultados de la evaluación histológica de los colmillos:

Observación de los resultados obtenidos de la evaluación histológica de los colmillos con el implante a diferentes tiempos. Fig 11.



Perro 1	No. semana	OBSERVACIONES
C1SD	14	<p>En la sección histológica teñida con tricrómica de Masson se observa formación nodular desordenada de regeneración hacia la pulpa además de que los microtúbulos se encontraron desorganizados.</p> <p>En la laminilla con coloración hematoxilina-eosina se observa el implante adherido, además de una zona de mineralización lo que sugiere ser dentina de nueva formación. Fig 12.</p>
C2 SI testi- go	14	<p>En la sección histológica teñida con tricrómica de Masson, se observan las prolongaciones odontoblásticas y microtúbulos de la dentina.</p> <p>En la laminilla con coloración hematoxilina fosfotúngstica, se observan los odontoblastos con sus núcleos y las prolongaciones odontoblásticas. Fig 13.</p> <p>En la laminilla con coloración hematoxilina-eosina, se puede distinguir entre la pre dentina y la dentina ya que se observan líneas de mineralización.</p> <p>La resina se nota como un material inerte y no se advierte respuesta de integración con la dentina.</p>
C3 ID	12	<p>En las secciones histológicas teñida con tricrómica de Masson, aparentemente el material implantado se desprendió con el corte.</p>
C4 II	10	<p>Las secciones histológicas con coloración hematoxilina-eosina se observan una franja con diferente afinidad tintorial más basófila (puede ser una reacción ante la perforación) no se observan adherencias, debido a que el material de obturación se perdió en la segunda semana en que fue implantado.</p>

Perro 2	No. semana	OBSERVACIONES
C1 SD	13	<p>Las secciones histológicas con coloración hematoxilina-eosina se notan más acidofílicas además que existe mayor actividad de los odontoblastos los cuales tienen prolongaciones en la parte superior del diente. Fig 14.</p>
C2 SI	11	<p>En las secciones histológicas con coloración hematoxilina-eosina, existen unas adherencias del implante aunque no se puede determinar si se están integrando, aunque tiene un aspecto granular que da la apariencia que se integran a la dentina.</p> <p>En la sección histológica teñida con hematoxilina fosfotúngstica, se observa una formación granular lo que sugiere que el material del implante se esta adhiriendo. Fig 15 y 16.</p>
C3 ID	9	<p>En este colmillo no se pudo realizar ningún corte exitoso debido a que al cortarlo con el microtomo el diente desmineralizado se desprendía de la parafina obteniendose cortes incompletos, irregulares y doblados.</p>
C4 II	8	<p>En las tinciones de hematoxilina-eosina se observan las estructuras normales de un diente sin cambios histológicos aparentes. Fig.17</p> <p>En la tincion hematoxilina fosfotúngstica, se observan estructuras basófilas entre dentina que podría ser de nueva formación.</p>



Figure 1. Rat skull with brain removed. The skull is shown in a lateral view, with the brain removed. The image is high contrast, with the white bone and brain tissue standing out against a dark background.

Figure 2. Rat skull with brain removed. The skull is shown in a lateral view, with the brain removed. The image is high contrast, with the white bone and brain tissue standing out against a dark background.



Figure 3. Rat skull with brain removed. The skull is shown in a lateral view, with the brain removed. The image is high contrast, with the white bone and brain tissue standing out against a dark background.

Figure 4. Rat skull with brain removed. The skull is shown in a lateral view, with the brain removed. The image is high contrast, with the white bone and brain tissue standing out against a dark background.



DISCUSION

La regeneración de la dentina es un proceso que consiste en una serie de mecanismos ligados entre sí, como son la diferenciación e interacción celular, la síntesis de una matriz orgánica y la formación de cristales de minerales en la matriz extracelular. La fase final de la regeneración de la dentina, que es el proceso de calcificación, tiene similitud con la osteogénesis y la cementogénesis del diente. En el caso del hueso, la dentina y la formación de cemento, una capa de células forman la matriz orgánica en la cual es depositado fosfato de calcio en forma de cristales de mineral. La morfología de la región donde se localizan la predentina y la dentina es identificada fácilmente, con lo que su estudio se facilita. En contraste con el hueso, la dentina no es remodelada constantemente y no existen procesos de reabsorción en condiciones normales, así que ante un daño en la dentina ya sea por extensa abrasión, erosión, caries o procedimientos operatorios, las prolongaciones odontoblásticas quedan al descubierto o seccionadas, los odontoblastos mueren o, si viven, depositan dentina reparadora. Esta acción de sellar la zona de daño ocurre como un proceso curativo iniciado por la pulpa, resultando en la solución del proceso inflamatorio y la remoción de células muertas. El tejido duro, así formado es mejor nominado dentina restauradora, no obstante, los términos dentina terciaria, responsiva o reactiva son también utilizados. La dentina restauradora se caracteriza por tener menor número y más túbulos entrelazados que la dentina normal por lo cual el proceso de reparación es insuficiente por lo tanto se tienen que utilizar materiales de restauración no orgánicos como son resinas autocurables, fotocurables, amalgamas, ionómeros de vidrio, hidroxido de calcio, óxido de zinc, entre otros, los cuales no substituyen las propiedades de la dentina y a la larga tienen que ser nuevamente sustituidos. (6,7) El pulverizado de dientes de rata desmineralizado estéril como material de implante es 100% orgánico

además de ser de fácil adquisición y con procesos tecnológicos no complejos dando así una opción más a los materiales de restauración dental.

La colágena tipo I, principal componente de la matriz extracelular (7,8,9,20), obtenida del pulverizado de dientes de rata desmineralizados es sencilla de conseguir y de simple aplicación como parte del material de obturación. Investigaciones realizadas a fines de los años 60's por Urist, mostraron que la colágena tipo I tiene una gran capacidad de inducción ósea.(14) Urist y colaboradores al igual que Reddi desarrollaron métodos para aislar los factores de crecimiento y diferenciación ósea, llamados proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) a lo cual Urist llamó osteogenina. (14, 21, 22). Otras investigaciones han mostrado que la matriz extracelular provee un sustrato óptimo para el anclaje celular y su subsecuente proliferación y diferenciación. Además la matriz de colágena puede evitar la difusión prematura y la disolución de osteogenina en el sitio del implante. (23)

Una de las formas de diagnosticar los resultados de implantes de BMP en cirugías maxilofaciales es mediante el uso de placas radiográficas (22). De acuerdo a las placas radiográficas tomadas durante el tiempo en que el implante permaneció en los colmillos, no se observaron cambios radiológicos, por lo que se recomienda que el implante permanezca más tiempo en los colmillos debido a que pudo haber faltado tiempo para que se efectuaran cambios de densidad detectables radiográficamente en el proceso de remineralización y así evaluar correctamente el tiempo que necesita el pulverizado de diente de rata desmineralizado estéril para integrarse a la dentina y remineralizarse completamente. Según Sailer H. Y Klob en tres casos de cirugía maxilofacial realizados en los que se implantó BMP para inducir la regeneración ósea se necesitaron cuatro, diez y siete meses respectivamente para obtener resultados radiográficos de regeneración ósea. (21) Además que se tiene que tener en cuenta la forma de irrigación sanguínea del diente ya que no existen vasos sanguíneos en la dentina; la arteria que nutre al diente penetra a través del ápice del mismo y migra hacia la corona a través del centro de la pulpa y se divide en dos arterias terminales

que forman una red de capilares por debajo de la capa de odontoblastos. Los capilares son fenestrados, lo cual es importante para la difusión de precursores y otros nutrientes sobre la membrana plasmática de los odontoblastos (7) sin embargo el aporte de nutrientes hacia la dentina es lento.

En todos los cortes se observó que los odontoblastos localizados por debajo de las cavidades realizadas no mostraron cambios que sugieran que hayan muerto. En algunos cortes histológicos se pudo observar que el implante comenzó a integrarse en algunas zonas a la dentina propia del diente; al igual que el estudio realizado por Smith, Tobias y colaboradores (24) en colmillos de hurones de cuatro meses de edad en el cual se encontró una deposición significativa de nueva matriz extracelular en la dentina localizada por debajo de donde se realizó la cavidad, aunque hay que considerar que los hurones eran muy jóvenes y que según Linde y Goldberg (7) en términos de la composición de la matriz orgánica, la dentina de las diferentes especies caen en dos grupos principales los de continuo crecimiento y los que la dentinogénesis continúa por un tiempo limitado, así quizá la dentina de los hurones estaba demasiado joven para realizar un estudio en ella y podría tener aún factores de crecimiento; lo cual permite considerar que el tiempo de integración, regeneración y remineralización de la osteogénesis del diente en el caso de los perros en el presente estudio es más prolongado; lo que sugiere estudios de mayor duración.

Los cortes histológicos de dientes son difíciles de realizar ya que aunque el diente se desmineraliza para poder cortarlos, aún es un tejido muy duro y cuando se corta con el microtomo los cortes se doblan o se rompen y finalmente los dientes se desprenden de la parafina teniéndolos que incluir de nuevo varias veces con lo que se pierde material histológico y tiempo; Smith; Tobias y colaboradores (23) realizaron cortes histológicos exitosos a 7 μm de colmillos de hurón previamente desmineralizados en ácido fórmico al 10%, lo cual supone que el método de desmineralización de los dientes de perro en esta investigación puede mejorarse.

Por otro lado se contempla la posibilidad que durante el proceso de desmineralización del diente en estudio, se pierda parte del implante colocado, ya que este apenas comenzaría a regenerar la estructura dentinaria y por lo tanto a mineralizarse lo cual es la última fase de la dentinogénesis y por lo tanto la más tardía. (7,9)

El presente estudio mostró indicios evidentes de una regeneración dentinaria incipiente, lo cual cumple con las expectativas primarias de esta investigación. Concluyendo que el pulverizado de diente de rata desmineralizado estéril requiere de más tiempo para evaluar integralmente su capacidad osteogénica. Continuando así con el gran interés que existe hoy en día por el control de la producción de hueso de nueva formación y su aplicación en problemas craneofaciales y periodontales.

LITERATURA CITADA:

- 1) Dellman HD, Brown E. *Textbook of veterinary histology*. 1ª ed. Philadelphia, USA: Lea & Febiger, 1976.
- 2) Harvey CE, Emily P. *Small animal dentistry*. 1ª ed. St. Louis, Missouri, USA: Mosby, 1993.
- 3) Banks W. *Histología veterinaria aplicada*. México, D.F.: Editorial el Manual Moderno, S.A. de C.V., 1986.
- 4) Ross M, Reith E, Romrell L. *Histología. Texto y atlas a color*. 2ª ed. México: Editorial Panamericana, 1992.
- 5) Kübler N, Reuther J, Kirchner T, Priessnitz B, Sebald W. Osteoinductive, morphologic, and biomechanical properties of autolyzed, antigen-extracted, allogenic human bone. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51:1346-1357.
- 6) Bhaskar SN. *Histología y embriología bucal, de Orban*. 1ª ed. México, DF: Editorial Prado, S.A. de C.V., 1993.
- 7) Linde A, Goldberg M. Dentinogénesis. *Crit Rev Oral Biol Med* 1993; 4(5): 679-728.
- 8) Lodish H, Baltimore D, Berk A, Zipursky L, Matsudaria P, Darnell J. *Molecular cell biology*. 3ª ed. New York, USA: Scientific American Books, 1996.
- 9) Stanford C, Keller J. The concept of osseointegration and bone matrix expression. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991; 2(1): 83-101.
- 10) Joos U, Ochs G, Ries PE. Influence of collagenfleece on bone regeneration. *Biomaterials* 1980; 1: 23-25.

- 11) 28th Congress of the German Soc. of Oral & Maxillofacial Surgery. 1978 May 9-12 ; Tübingen. Joos U, Vogel D, Ries PE. The use of collagenfleece for filling up bone defects in maxillofacial surgery..
- 12) Lian J, Stein G. Concepts of osteoblast growth and differentiation: Basis for modulation of bone cell development and tissue formation. Crit Rev Oral Biol Med 1992; 3(3): 269-305.
- 13) Steflik DE, Parr G, Sisk A, Lake F, Hanes P, Berkery D, Brewer P. Osteoblast activity at the dental implant-bone interface: Transmission electron microscopic and high voltage electron microscopic observations. J Periodontol 1994; 65: 404-413.
- 14) Urist M, Delange RJ, Finerman GAM. Bone cell differentiation and growth factors. Science 1983; 220: 680-686.
- 15) Emily P, Penman S. Small Animal Dentistry. 2^o ed. Great Britain: Pergamon Press, 1994.
- 16) Sheehan, H. Theory and practice of histotechnology. 6^a ed. USA: Mosby, 1980.
- 17) Baratieri LN. Operatoria dental, procedimientos preventivos y restauradores. 1^o ed. Santiago de Chile: Quintessence Editora Ltda. 1993.
- 18) Barrancos M. Operatoria dental, técnica y clínica. 1^o ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Panamericana, 1991.
- 19) Phillips RW. La Ciencia de los Materiales Dentales. 7^a ed. Mexico: Nueva Editorial Interamericana S.A de C.V, 1976.
- 20) Prophet E, Mills B, Arrington J, Sobin L. Métodos histotecnológicos. 1^oed. Washington, DC: Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP), 1995.

ESTO
SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 21) Sailer H, Kolb Edith. Application of purified bone morphogenetic protein (BMP) in craniomaxillo-facial surgery. *J Craniomaxillofac Surg* 1994; 22: 2-11.
- 22) Ripamonti U, Reddi H. Growth and morphogenetic factors in bone induction: Role of osteogenin and related bone morphogenetic proteins in craniofacial and periodontal bone repair. *Crit Rev Oral Biol Med* 1992; 3(1/2): 1-14.
- 23) Smith AJ, Tobias RS, Cassidy N, Plant CG, Browne RM, Begue-Kirn C, Ruch JV, Lesot H. Odontoblast Stimulation in ferrets by dentine matrix components. *Archs oral Biol*. 1994; 39 (1): 13-22

⁶ Hari Reddi A, PhD., Ripamonti U., MD. : Bone - Regenerating Protein May Help Treatment of Dental Disease. [Http://www.ada.org/dnewdig/digest/0296/0228.html](http://www.ada.org/dnewdig/digest/0296/0228.html). American Dental Association. (1996).