

00955

**LIOFILIZACIÓN Y ESTERILIZACIÓN DE LA DENTINA DE DIENTES  
HUMANOS**

**DEXIE JANETH DÍAZ GARCÍA  
MELVIN RAFAEL FONTALVO SUÁREZ  
LUZ YAMILE GÓMEZ HINCAPIÉ  
LAURA ADRIANA LATORRE PINZON  
HUGO ARMANDO MARTÍNEZ DIAZGRANADOS  
JIMMY ARMANDO RAMOS RODRÍGUEZ  
DIEGO ALEXANDER RODRÍGUEZ ROMERO**

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO  
BOGOTA D.C ABRIL 2003**

**LIOFILIZACIÓN Y ESTERILIZACIÓN DE LA DENTINA DE DIENTES  
HUMANOS**

**DEXIE JANETH DÍAZ GARCÍA  
MELVIN RAFAEL FONTALVO SUÁREZ  
LUZ YAMILE GÓMEZ HINCAPIÉ  
LAURA ADRIANA LATORRE PINZON  
HUGO ARMANDO MARTÍNEZ DIAZGRANADOS  
JIMMY ARMANDO RAMOS RODRÍGUEZ  
DIEGO ALEXANDER RODRÍGUEZ ROMERO**

**ASESOR CIENTÍFICO  
MYRIAM ALARCÓN BARRERA**  
Odontóloga, Especialista en Cirugía, Implantología y Patología Oral.

**ASESOR METODOLÓGICO  
FREDDY SÁNCHEZ MENDOZA**  
Odontólogo, Especialista en Docencia Universitaria

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO  
BOGOTA D.C ABRIL 2003**

**LIOFILIZACIÓN Y ESTERILIZACIÓN DE LA DENTINA DE DIENTES  
HUMANOS**

**DEXIE JANETH DÍAZ GARCÍA  
MELVIN RAFAEL FONTALVO SUÁREZ  
LUZ YAMILE GÓMEZ HINCAPIÉ  
LAURA ADRIANA LATORRE PINZON  
HUGO ARMANDO MARTÍNEZ DIAZGRANADOS  
JIMMY ARMANDO RAMOS RODRÍGUEZ  
DIEGO ALEXANDER RODRÍGUEZ ROMERO**

**Trabajo de investigación presentado como requisito para obtener el título  
de Odontólogo General**

**ASESOR CIENTÍFICO  
MYRIAM ALARCÓN BARRERA  
Odontóloga, Especialista en Cirugía, Implantología y Patología Oral.**

**ASESOR METODOLÓGICO  
FREDDY SÁNCHEZ MENDOZA  
Odontólogo, Especialista en Docencia Universitaria**

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO  
BOGOTÁ D.C ABRIL 2003**

El trabajo de Grado **LIOFILIZACION Y ESTERILIZACIÓN DE LA DENTINA DE DIENTES HUMANOS** elaborado por los alumnos **DEXIE JANETH DÍAZ GARCÍA, MELVIN RAFAEL FONTALVO SUÁREZ, LUZ YAMILE GÓMEZ HINCAPIÉ, LAURA ADRIANA LATORRE PINZON, HUGO ARMANDO MARTÍNEZ DIAZGRANADOS, JIMMY ARMANDO RAMOS RODRÍGUEZ, DIEGO ALEXANDER RODRÍGUEZ ROMERO** ha sido aprobado como requisito parcial para obtener el título de Odontólogo General.

---

**MYRIAM ALARCÓN BARRERA**  
Directora Científica

---

**FREDDY SÁNCHEZ MENDOZA**  
Asesor Metodológico

---

**CLAUDIA BASTIDAS**  
Directora del Departamento de  
Investigación y Salud Pública

**BOGOTA D.C MAYO 2003**

## **AGRADECIMIENTOS**

**Los autores manifiestan su agradecimiento a:**

**AI INSTITUTO DE GENÉTICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL** y de forma especial al Doctor **MAURICIO REY BIOQUÍMICO** y Magíster en Genética quien liofilizó y determinó la no presencia de ADN en la dentina.

**A INGEOMINAS** al Ingeniero **AZARIAS MORENO** quien esterilizó la dentina con rayos gamma.

**A INGEOMINAS** al Ingeniero **JOEL RIVAS** quien promedió el tamaño de la partícula con microscopio electrónico de barrido.

Al Ingeniero **ERNESTO VILLARREAL** quien brindó asesoría en radiación gamma.

Doctora **Myriam Y. Alarcón Barrera**, Odontóloga Especialista en Cirugía, Implantología, y Patología Oral.

## DEDICATORIA

*En algún momento de nuestras vidas se presentan dificultades pero allí encontramos la fortaleza y la paciencia que nos brinda Dios, la familia, los docentes y nuestros amigos que a su vez nos hacen crecer como personas y futuros profesionales dándonos la sabiduría y la luz para seguir nuestro camino cumpliendo con nuestros sueños y nuestras metas tan anheladas.*

DEXIE JANETH  
DIEGO ALEXANDER  
HUGO ARMANDO  
JIMMY ARMANDO  
LAURA ADRIANA  
LUZ YAMILE  
MELVIN RAFAEL

## GLOSARIO

**ADN** : Ácido desoxirribonucleico, es la unidad informativa del cromosoma y la unidad genética de la herencia.

**Amorfo** : Sustancia que forma parte de los tejidos orgánicos, pero que examinados al microscopio no presentan ninguna estructura aparente.

**Dentinogénesis** : Formación de dentina.

**Dualidad** : Reunión de dos caracteres distintos en una misma cosa.

**Ebúrnea** : Hueso que presenta un aumento de densidad y que en una extensión mas o menos grande se vuelve compacto como el marfil.

**Esclerosis** : Induración patológica de un órgano o tejido debido a la hipertrofia del tejido conjuntivo que contiene.

**Espectro Electromagnético** : Figura que materializa las líneas de fuerza de un campo magnético.

**Esterilización** : Acción de destruir las toxinas y los microorganismos.

**Fibrilar** : Pertenece o relativo a las fibrillas proteicas.

**Foton** : Vehículo de interacciones electromagnéticas, onda luminosa monocromática.

**G.A.G** : Glucosa amino glucanos.

**Homologables** : Poner en relación de igualdad o semejanza dos cosas.

**Ionización** : Proceso al termino del cual un átomo o una molécula neutra se convierten en portadores de una carga eléctrica positiva o negativa (anion – cation).

**Irradiación** : Acción y efecto de irradiar intencional o accidental sobre una materia viva o inerte.

**Isótopos** : Nombre que se da a los elementos de diferente numero de masa pero con propiedades químicas casi idénticas.

**Liofilización** : Deshidratación de un producto por congelación rápida, seguida de una sublimación del hielo formado.

**mrads** : Unidad equivalente a una milésima de rad.

**Necrosis** : Mortificación tisular o celular que produciéndose a nivel de un tejido de un órgano, de una región anatómica, permite que el resto del organismo continúe vivo.

**Neutron** : Partícula hadronica eléctricamente neutra, cuya masa es muy similar a la del protón.

**Protón** : La más ligera de las partículas fundamentales portadora de una carga positiva elemental, el núcleo del átomo del hidrógeno.

**Rayos gamma**: Energía en forma de onda de partículas electromagnéticas tal como es la luz, microondas, ondas de rayos X y radio.

**Sublimación** : Paso de una sustancia de estado sólido a gaseoso y viceversa sin pasar por el estado líquido.

## TABLA DE CONTENIDO

### INTRODUCCIÓN

<b>1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN</b>	<b>3</b>
1.1. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	3
1.2. JUSTIFICACIÓN	3
1.3. PROPÓSITO	4
1.4. MARCO TEORICO	4
1.4.1 DENTINA	4
1.4.2 LA LIOFILIZACIÓN DE LA DENTINA	19
1.4.3 RADIACIÓN GAMMA	27
1.4.4 A.D.N.	38
1.5. OBJETIVOS	42
1.5.1 General	42
1.5.2 Específicos	43
<b>2. METODO</b>	
2.1 TIPO DE ESTUDIO	44
2.2 SUJETO DE ESTUDIO	44
2.3 INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DIENTES	44
2.4 PROCEDIMIENTO	44

<b>3. RESULTADOS</b>	
<b>3.1 PROTOCOLO PARA PULVERIZAR LA DENTINA</b>	<b>47</b>
<b>3.2 PROTOCOLO PARA LA LIOFILIZACION DE LA DENTINA</b>	<b>55</b>
<b>3.3 PROTOCOLO PARA OBSERVAR LA PRESENCIA DE ADN EN LA DENTINA LIOFILIZADA</b>	<b>56</b>
<b>3.4 PROTOCOLO PARA LA ESTERILIZACIÓN CON RAYOS GAMMA</b>	<b>63</b>
<b>4. DISCUSIÓN</b>	<b>65</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b>	<b>66</b>
<b>6. RECOMENDACIONES</b>	<b>67</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## INTRODUCCIÓN

La dentina llamada sustancia ebúrnea o marfil, es el eje estructural del diente y constituye el tejido más abundante de este, en su parte coronal esta recubierta por esmalte, y en la raíz por cemento. Las células formadoras de la dentina son los odontoblastos los cuales se localizan en la periferia de la pulpa dental y las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos se alojan dentro de los túbulos dentinales. El espesor de la dentina varía según el diente de 1.5 a 3 mm, siendo mayor en caninos y molares y su espesor es mayor hacia incisal y rebordes cúspideos, en zonas oclusales va disminuyendo de la cúspide hacia el surco. Se encuentra más abundante en diente permanentes adultos que en dientes recién erupcionados.

La composición química consta de un 67% de fracción inorgánica, 20% fracción orgánica y 13% de agua. Su componente inorgánico está compuesta por: cristales de hidroxiapatita, similares químicamente a los del esmalte, cemento y hueso.

Debido a que la dentina ocupa la mayor parte del diente y a que es un tejido compatible con el complejo dentino pulpar y forma parte de él, se pensó en la necesidad de utilizarla para realizarle el mismo procedimiento que se le realiza al hueso liofilizado de banco y más adelante utilizarla como material alternativo en recubrimientos pulpares directos.

Por lo anterior, en el presente trabajo de investigación se propuso realizar un protocolo para pulverizar, liofilizar la dentina de dientes humanos, identificar la presencia de ADN y posteriormente esterilizarla con rayos gamma.

Para llevar adelante este propósito se recogieron 16 dientes que estaban incluidos e iban a ser extraídos por tratamiento de ortodoncia. Se procedió a realizar un protocolo para pulverizar la dentina, liofilizarla, identificar la presencia de ADN, promediar el tamaño de las partículas de la dentina pulverizada con microscopio electrónico de barrido y posteriormente a esterilizarla con rayos gamma. Para de esta manera, obtener 5.82818 gramos de dentina liofilizada y esterilizada.

## **1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACION**

### **1.1 DEFINICION DEL PROBLEMA**

Partiendo que el hueso humano permitió un proceso de liofilización y tiene excelentes resultados en las cirugías de injertos óseos para el aumento de reborde alveolar y regeneración ósea, de igual forma la dentina humana fué aislada, liofilizada, esterilizada con rayos gamma y se determinó que no tenía ADN. ( López Palafox 2001).

Con base en esto se plantea el siguiente interrogante: ¿Se conoce el procedimiento para la pulverización, liofilización y esterilización de la dentina de dientes humanos?

### **1.2 JUSTIFICACIÓN**

Esta investigación sobre la liofilización y esterilización de la dentina de dientes humanos, es de gran importancia porque servirá para ser utilizada más adelante en procesos de recubrimientos pulpares directos, regeneración ósea de defectos periodontales in vivo en animales de laboratorio, para luego ser implementada en seres humanos, ya que es un producto de origen orgánico y que se obtiene del mismo ser humano.

### **1.3 PROPOSITO**

Se pretende dar a conocer el protocolo mediante el cual se puede liofilizar y esterilizar la dentina humana, que sirva como una nueva alternativa para el tratamiento de recubrimientos pulpaes, o de regeneración ósea aprovechando la dentina de terceros molares incluidos y de dientes que son extraídos con fines ortodónticos.

### **1.4 MARCO TEÓRICO**

#### **1.4.1 DENTINA**

Llamada sustancia ebúrnea o marfil, es el eje estructural del diente y constituye el tejido más abundante de este, en su parte coronal esta recubierta por esmalte, y en la raíz por cemento. Las células formadoras de la dentina son los odontoblastos los cuales se localizan en la periferia de la pulpa dental y las prolongaciones citoplasmáticas de los odontoblastos se alojan dentro de los túbulos dentinales. El espesor de la dentina varia según el diente de 1.5 a 3 mm, siendo mayor en caninos y molares y su espesor es mayor hacia incisal y rebordes cúspideos, en zonas oclusales va disminuyendo de la cúspide hacia el surco. Se encuentra más abundante en diente permanentes adultos que en dientes recién erupcionados. Su color característico es blanco amarillento y presenta una gamma de matices entre los diferentes individuos, la traslucidez

de la dentina es menor que la del esmalte, la dureza de la dentina es menor que la del esmalte y mayor que la del cemento y hueso, mientras que su elasticidad es mayor que la del esmalte y semejante a las del cemento y hueso ( Kinney y col. 1999), esta es mas mineralizada pero muchos elementos la atraviesan con facilidad por la presencia de conductillos dentinales. (Thomas H.F 1985, Abramovich A,1999, Seltzer y Bender 2002).

La **composición química** consta de un 67% de fracción inorgánica, 20% fracción orgánica y 13% de agua. Su **componente inorgánico** esta compuesta por: cristales de hidroxiapatita, similares químicamente a los del esmalte, cemento y hueso. Por su tamaño se diferencian de los grandes cristales del esmalte, ya que los cristales de la dentina son pequeños y delgados, mas parecidos a los que se encuentran en el tejido óseo. Las dimensiones de los cristales son de 36 a 100nm de longitud, de 5 a 35 nm de anchura y 10nm de altura. Los cristales se orientan en forma paralela a las fibras de colágeno de la matriz dentinaria, disponiéndose entre las fibras y también dentro de las mismas, ya que ocupan los espacios entre las moléculas de colágeno que las forman. Además se encuentra fosfato de calcio amorfo y otras sales minerales como carbonatos, sulfatos e indicios de flúor, cobre, hierro, magnesio, zinc etc.

La **matriz orgánica** esta constituida por varios componentes entre los que se destaca el colágeno tipo I que es sintetizado por el odontoblasto y representa el

90% de dicha matriz. Una vez segregado en la región de la predentina las moléculas del colágeno configuran extracelularmente las fibras. Los colágenos tipo III, IV, V y VI se han descrito en pequeñas proporciones y en diferentes circunstancias. El tipo III se segrega en casos de dentina opalescente y esta ocasionalmente presente en la denominada dentina peritubular; el tipo IV, en los momentos iniciales de la dentinogénesis, cuando existe una membrana basal que separa la dentina no mineralizada de los ameloblastos secretores, finalmente los tipos V y VI se han descrito en las distintas regiones de la predentina. En la matriz orgánica de la dentina se han detectado así mismo, proteínas semejantes a las existentes en la matriz ósea tales como osteonectina, osteopontina y la proteína Gla de la dentina (similar a la osteocalcina) que contienen ácido ( $\gamma$ -carboxiglutámico). Además contiene tres proteínas que se localizan en la dentina: son la fosforina dentinaria (DPP) que tras el colágeno es el componente más abundante de la dentina, la proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP1) y la Sialoproteína dentinaria (DSP). Las dos primeras segregadas por los odontoblastos participarían en el proceso de mineralización y la última, segregada por los odontoblastos jóvenes y también por preameloblastos, participarían de algún modo en el proceso de interrelación epitelio-mesenquima, que acompaña al desarrollo de las piezas dentarias. Los proteoglicanos están presentes también en la matriz dentinaria. El condroitin 4-sulfato y condroitin 6-sulfato son los GAG más frecuentes, predominando el

segundo de ellos en la predentina. Se han encontrado en mayor proporción los GAG sulfatados en premolares que en molares.

Proteínas del suero, como la albúmina, fosfolípidos y factores de crecimiento posiblemente inmovilizados durante la dentinogénesis se han identificado también en la matriz orgánica de la dentina. (Gómez de Ferraris 2002).

Su matriz orgánica tiene colágeno tipo I, III y presenta proteínas no colágenas como la sialoproteína, osteopontina, fibronectina y proteoglicanos como en condroitinsulfato, dermatansulfato y ácido hialurónico. Estas sustancias participan con la fosfatasa alcalina para que se produzca la precipitación mineral sobre la trama orgánica. ( Davis W.L 1986, Abramovich 1999, Gómez de Ferraris 2001).

Los componentes estructurales son los túbulos dentinales y la matriz intertubular o dentina intertubular. Los **túbulos** presentan diferentes curvaturas primarias y secundarias. Las curvaturas primarias son amplias en forma de S itálica, y las secundarias son pequeñas, numerosas y están incluidas en las curvaturas primarias. Presenta ramificaciones unas terminales y colaterales. Las ramificaciones terminales coronales se localizan en la periferia, en la zona del manto dentinal y tienen una forma de árbol. Las ramificaciones de los túbulos han sido descritas a través del espesor dentinal ( Kaye H y col.1966). Otros investigadores han mostrado que se ramifican a la unión dentino-

esmáltica y otras ramificaciones ocurren en el tercio medio de la dentina (Weber D.F 1983).

El número de los túbulos dentinales tiene un rango de 45 a 65.000/mm<sup>2</sup>, en la superficie pulpar dentinal coronal del humano de 29.5 a 35.000/mm<sup>2</sup>, en la mitad de la dentina y de 15 a 20.000/mm<sup>2</sup> cerca de la unión dentino-esmáltica. (Garberoglio y Branström 1976, Mjör 1979).

En un diente recién erupcionado el túbulo dentinal se presenta aproximadamente 4nm de diámetro, tanto en la zona periférica como en la profunda. En el adulto la luz del túbulo dentinario se reduce a 1nm de diámetro en la zona periférica y en la zona pulpar sigue siendo de 4nm por eso es que el túbulo dentinal adquiere una forma cónica con base pulpar y vértice periférico.(Mjor y Noordahl 1996).

Dentro de los túbulos dentinarios se encuentra el proceso odontoblástico o prolongación odontoblástica la cual tiene un diámetro mayor cerca de la pulpa y se adelgaza hacia el límite con el esmalte dental. Las prolongaciones odontoblásticas terminan como esferas dilatadas debajo de la unión dentino-esmáltica con un diámetro de 1.0 a 2.0um (Sigal M:1988)

La prolongación dentinaria de Tomes se extiende desde el límite amelodentinal hasta la pulpa y es responsable de la vitalidad de la dentina. Cada odontoblasto origina un proceso odontoblástico el que a su vez da origen a un número de ramificaciones laterales las cuales se originan directamente de los procesos odontoblásticos principales o de las ramas gruesas. Desde el punto de vista estructural, el proceso odontoblástico está constituido por una membrana plasmática que contiene un citoplasma con escasos organelos los que son más abundantes cerca de la pulpa que del límite amelodentinario. Entre estos organelos figuran las mitocondrias pertenecientes al sistema del retículo endoplasmático liso. El espacio peritubular corresponde al que se encuentra entre el proceso odontoblástico y la pared del túbulo dentinal, en su interior encontramos haces de fibras colágenas dispuestas tangencialmente en el proceso odontoblástico. Dentro de los procesos dentinales están ocupados por sustancia intercelular que se continúa con sustancia de la pulpa. (Orchardson y col. 1994)

La **matriz intertubular** constituye la mayor parte de la matriz dentinal, es la primera en formarse y sus fibras se continúan con las de la preentina y la matriz peritubular. La matriz intertubular presenta dos tipos de fibras, las más abundantes muestran estriaciones transversales cada 68nm, los que indican su naturaleza colágena, otras fibras mucho menos gruesas y sin estratificaciones. En su origen la trama fibrilar de la dentina proviene de la región dentinal de la

pulpa. Su componente mineral esta formado por cristales de hidroxiapatia y fosfatos de calcio amorfos. La matriz peritubular empieza su formación cuando se completa la mineralización de la dentina intertubular depositada entre esta y el proceso odontoblástico en sentido centrípeto en relación con los túbulos dentinales. La sustancia orgánica es similar a la de la intertubular con la que sé continúa y contiene una masa fundamental amorfa donde se ubican las fibras, una diferencia entre estas dos, es que la peritubular contiene una menor cantidad de fibras y mayor cantidad de elementos minerales, por la misma razón los dientes de las personas de edad avanzada tiene mayor espesor que el de los dientes jóvenes. (Ingle y Bakland 1996).

En microradiografías, la matriz peritubular se presenta más radiopaca que la intertubular y aparece como anillos en los cortes trasversales o como delgadas franjas en los cortes longitudinales de los túbulos, esta matriz presenta tres zonas: a. Una **franja hipomineralizada externa** es la diferencia que hay entre la formación de la matriz intertubular y peritubular siendo una franja hipomineralizada respecto de sus vecinas, b. una **capa media hipermineralizada** es la que tiene mayor espesor y c. una **franja hipomineralizada interna** es la última en formarse por lo tanto es menos mineralizada que el resto.

Las unidades estructurales secundarias son aquellas variaciones que se originan a partir de las unidades estructurales básicas o como resultado de la interrelación de las unidades básicas con el esmalte o cementos periféricos, los cuales se observan en corte por desgastes :

**Líneas incrementales o de crecimiento de Owen:** Se disponen en ángulos rectos con respecto a los túbulos dentinales, pero no son paralelos a la superficie externa de la dentina. Son líneas que demarcan el incremento de la capa de dentina durante la dentinogénesis y se observan en cortes longitudinales.

**Líneas de imbricación o de crecimiento de Von Ebner:** Demarcan la formación diaria de dentina de 4 a 8µm. Se producen durante el movimiento de translación del odontoblasto que da origen a las curvaturas secundarias del conductillo dentario.

**Dentina interglobular o espacios de Czermak:** Aparecen en la periferia de la dentina coronaria y raramente en la dentina radicular. Los espacios interglobulares son de tamaño variable, entre 150 y 300µm; son zonas limitadas por segmentos de esferas y se originan por un defecto en la mineralización de la dentina debido a la falta de fusión de los calcoferitos.

**Zona granulosa de Tomes:** Se localiza en la zona periférica de la dentina radicular y se originan íntimamente vinculados a la formación del manto dentinal radicular. Su estructura se presenta como numerosos espacios agrupados de manera densa y homogénea por la falta de mineralización de los

gruesos haces de fibras colágenas de la zona más periférica en la dentina radicular. Su espesor es más o menos constante aproximadamente 50  $\mu\text{m}$ . La frecuencia se presenta en casi todos los dientes y es resultante de la persistencia de zonas no mineralizadas, su función es desconocida.

**El límite dentinocementario o zona hialina de Hopewell Smith:** Es una zona delgada de 15  $\mu\text{m}$  de espesor, ubicada entre el cemento y la zona granulosa de tomes. Para unos autores sería dentina elaborada por los odontoblastos, pero con características propias, ya que no se identifican en este lugar prolongaciones odontoblasticas ni túbulos. Para otros investigadores carece de birrefringencia por la orientación mixta de sus fibras, destacándose con luz polarizada del cemento acelular adyacente.

**Líneas o bandas dentinarias de Schreger:** Son homologables a las bandas de Hunter- Schreger del esmalte. Se observan en cortes longitudinales. Representan el cambio de rumbo más o menos brusco de los túbulos dentinarios al realizar la curvatura primaria. Cuanto más marcadas sean las dobles curvaturas de las S en la porción coronaria la curva simple en la región radicular, tanto más nítida aparecerá la banda de Schereger.

En la **clasificación histotopográfica** de la dentina se consideran tres zonas:

**Dentina del manto:** Es la primera que se forma inmediatamente por dentro del esmalte y del cemento.

**Dentina Circumpulpar :** Comprende el resto de la dentina mineralizada y extiende desde la zona del manto hasta la predentina.

**Predentina:** Es la dentina sin mineralizar adyacente a los odontoblastos de la pulpa. Se pueden identificar tres capas: Yuxtapulpar, Predentina joven y Predentina madura.

### **Clasificación de la Dentina**

**Dentina Primaria:** Es la dentina que se forma desde la dentinogénesis hasta cuando el diente entra en oclusión. Posee numerosos túbulos dentinarios organizados.

**Dentina Secundaria regular o adventicia:** Es la que se forma después de que el diente entra en oclusión, se diferencia con la primera por el cambio brusco en la dirección de los túbulos dentinarios y por la cantidad disminuída de conductillos dentarios.

**Dentina Terciaria o Irritacional:** También denominada reaccional, es aquella que se elabora como consecuencia de un estímulo localizado. Su localización esta relacionada con la zona afectada, disminuyendo el volumen de la cavidad pulpar solo en la zona que guarda estrecha dependencia con el estímulo causal. La estructura de la dentina es mucho más irregular que la de la dentina adventicia. Presenta conductillos dentarios de recorrido irregular, cuyo número se encuentra disminuído y aún en algunos sectores pueden estar ausentes.

**Dentina Translúcida o Esclerótica:** Es la transformación de los túbulos dentinales de la dentina primaria o secundaria en regiones secundarias en regiones dentinales sometidas a estímulos lentos, persistentes y no muy severos, lo que ocasiona el depósito de sales de calcio sobre las prolongaciones odontoblásticas aumentando la cantidad de dentina peritubular y disminuyendo el espacio periprocesal. Representa un tipo de esclerosis por medio de la cual resulta menos permeables, más dura y menos elástica. En personas de edad se produce la denominada dentina esclerótica fisiológica, por obliteración y mineralización de los túbulos en la dentina radicular en especial en la zona apical.

**Dentina opaca o conductillos muertos:** La característica principal de la de la dentina opaca o de conductos dentinales muertos es la pérdida de continuidad del contenido de este con su respectivo odontoblasto y la subsiguiente generación y necrosis de su contenido. Un estímulo intenso provoca en la zona de la dentina afectada, la necrosis del proceso odontoblástico. Durante este proceso en algunos sitios pueden realizarse precipitaciones minerales localizadas a servir de barrera frente al estímulo. La dentina opaca se localiza en los vértices de los cuernos pulpaes o de los bordes incisales.

La **Dentinogénesis** el conjunto de mecanismos mediante los cuales la papila dental elabora por medio de sus células especializadas los odontoblastos, una matriz orgánica que más tarde se calcifica para formar la dentina.

En la dentinogénesis se pueden considerar tres etapas:

**Elaboración de la matriz orgánica**, compuesta por una trama fibrilar y un componente fundamental amorfo.

**Maduración de la matriz.**

Precipitación de sales minerales.

Comienza en el estadio de campana avanzada.

En el ciclo vital de los odontoblastos se diferencian de las células ectomesenquimatosas de la papila dental, bajo la influencia inductora del epitelio interno, se pueden considerar las siguientes etapas:

Células mesenquimatosas indiferenciadas

Preodontoblastos.

Odontoblastos jóvenes.

Odontoblastos secretores( Gómez de Ferraris 2002).

Las células de la papila dental son pequeñas, estrelladas, con núcleo grande y escaso citoplasma. Entre las células ectomesenquimáticas periféricas y la membrana basal hay una delgada zona acelular amorfa. En esta área se encuentra heparin sulfato, colágeno tipo IV, lámina, entactina y fibronectina en la lámina basal ameloblástica o membrana preformadora.

Antes de comenzar la diferenciación celular las células ectomesenquimatosas segregan colágeno tipo I y III, proteoglicanos, glicosaminoglicanos sulfatados y fibronectina.

La diferenciación de las células ectomesenquimatosas es precedida por la maduración de ameloblastos jóvenes en el epitelio dentario interno. Las células ectomesenquimatosas aumentan su volumen adoptan forma cilíndrica denominándose preodontoblastos, juntándose unos con otros y luego diferenciándose en odontoblastos se hacen cilíndricos y el núcleo se desplaza a la zona basal. (Ruch.1985).

En el polo proximal se observa una prolongación que se denomina proceso odontoblástico. La predentina elaborada por el odontoblasto joven esta formada por colágenos tipo I, V, y VI, proteoglicanos y algunas sustancias no colágenas. Una vez formada la predentina el odontoblasto ayuda a su mineralización y se dará origen a la dentina del manto. Cuando la prolongación del odontoblasto queda alojado en el túbulo dentinario de la matriz de la dentina recién formada el odontoblasto que se desplaza hacia el interior se denomina odontoblasto maduro. Más tarde ese odontoblasto formará la dentina circumpulpar.

La evolución y maduración de los odontoblastos se inicia en el vértice de la papila progresando hacia cervical.

En el proceso de diferenciación del odontoblasto intervienen números factores: el epitelio dentario interno, la membrana basal, los componentes de la matriz extracelular existentes en la papila dental y distintos factores de crecimiento. El TGF-B factor de crecimiento transformante beta sintetizado por los

ameloblastos y preameloblastos jóvenes y adecuadamente activado en el seno de la membrana basal interactuarían con receptores existentes en la superficie de los odontoblastos. En estudios realizados in vitro e in vivo se han demostrado que los factores TFG-B1 y B3 estimulan la secreción de matriz y también inician la citodiferenciación de la capa odontoblástica. (Sloan y Smit 1999).

Cuando la pre dentina de la dentina del manto alcanza un espesor aproximado de 6  $\mu\text{m}$  comienza la mineralización (Avery 1981). Los odontoblastos una vez que elaboran dicha pre dentina participan en el proceso de calcificación de la misma:

Captando y almacenando calcio.

Elevando la concentración local de iones fosfatos.

Mediante la fosfatasa alcalina que se localiza en la superficie y se difunde en la matriz extracelular formando las denominadas vesículas matriciales.

Las vesículas matriciales que son la base de la calcificación de esta zona de la dentina son formaciones esféricas de 100 a 200nm de diámetro, limitadas por una membrana que se originan por gemación a partir del odontoblasto.

Los iones acumulados en las vesículas precipitan como fosfato cálcico amorfo para finalmente transformarse en cristales de hidroxiapatita en general ricas en magnesio.

Los cristales crecen y terminan por romper las vesículas esparciéndose en la matriz circundante. Estos núcleos de calcificación se fusionan con otros vecinos constituyéndose un frente lineal de calcificación. Los cristales siguen una orientación definida con respecto a las fibras colágenas, disponiéndose en su superficie y en su interior.

**Formación de la dentina circumpulpar:** A medida que se calcifica la dentina del manto los odontoblastos que ya son maduros continúan produciendo matriz orgánica para formar el resto de la dentina primaria es decir la dentina circumpulpar. La calcificación no es por vesículas matriciales sino que sigue una calcificación globular, formando núcleos de cristalización globulares, calcosferitos que mas tarde se fusionan con sus vecinos (Gómez de Ferraris 2001 y 2002).

Mientras en la dentina primaria la acción de un estímulo provoca la formación de dentina opaca paralelamente en la pared pulpar ubicada frente a la lección se elabora dentina terciaria. En íntima relación con la necrosis del proceso odontoblástico, en las zonas de dentina opaca disminuye la sensibilidad dentaria. (Abramovichh A. 1998).

Al mismo tiempo que la pulpa forma sucesivas capas de dentina disminuye también el espacio peritubular mediante la formación de matriz peritubular. En

la dentina traslúcida se produce una obliteración que se realiza cuando la dentina se encuentra sometida a la acción de estímulos suaves y persistentes. Es más frecuente que en los sitios correspondientes a surcos y fisuras de la región coronaria y en los dos tercios apicales de la raíz. La dentina traslúcida representa un tipo de esclerosis por medio de la cual resulta menos permeable como más dura y menos elástica.

La dentina es extremadamente sensible ya que percibe estímulos ocasionados por variaciones térmicas, táctiles, eléctricas, cambios de Ph, por esos es necesario tener presente que ante cualquier estímulo la respuesta se manifiesta de una sola manera con dolor. La información proviene de todos los posibles receptores, se transmite al cerebro en forma de una serie de impulsos eléctricos cuya frecuencia esta relacionada con la intensidad del estímulo. (Abramovich A. 1998).

#### **1.4.2 LA LIOFILIZACIÓN DE LA DENTINA**

La **liofilización** (en inglés "**freeze-drying**"), consiste en introducir el producto a tratar en una cámara, y realizarle vacío rápidamente. Este proceso consiste en desecar un producto previamente congelado, lográndose la sublimación del hielo bajo vacío. Es por lo tanto el paso directo del hielo (sólido) a gas (vapor), sin que en ningún momento aparezca el agua en su estado líquido. Se obtiene

una masa seca, esponjosa de más o menos el mismo tamaño que la masa congelada original, mejorando su estabilidad y siendo fácilmente redisuelta en agua. Debido a la disminución de presión, el agua contenida en el material se congela; a continuación se comienza a calentar, manteniendo el vacío, para aumentar la velocidad de sublimación del hielo. Los niveles de vacío y de temperatura de calentamiento varían según el producto a tratar.

La deshidratación por congelación es el proceso de extraer el agua u otro solvente de un producto congelado por sublimación. La sublimación ocurre cuando una muestra congelada pasa directamente a la fase gaseosa sin pasar por la fase líquida. Cuando el hielo se sublima, deja huecos o vacíos en el material residual seco lo que facilita su rehidratación. Gracias a que el material liofilizado se rehidrata tan fácilmente, se dice que es "liofílico", de dos palabras griegas que significan "amante del solvente" El producto deshidratado por congelación se dice que está liofilizado y el proceso se conoce como liofilización. (Navarro Marisell 1998).

La liofilización es usada para la conservación de plasma sanguíneo y productos alimenticios porque detiene el crecimiento de microorganismos e inhibe el deterioro por reacción química, facilitando su distribución y almacenamiento.

Inhibe el deterioro por reacción química (cambio de color y sabor, pérdida de propiedades fisiológicas etc), ya que no es necesario mantener una cadena de

frío. Para el caso de los alimentos tiene otras dos virtudes fundamentales: el producto tratado no cambia de forma y es fácilmente re-hidratable.

Consiste en introducir el producto a tratar en una cámara y realizarle vacío rápidamente. En las instalaciones industriales convencionales, el vacío se logra mediante la combinación de bombas de vacío y “trampas frías” que operan a  $-40^{\circ}$  o  $-50^{\circ}$  C, para congelar el agua que se extrae del producto y reducir la presión de la cámara de la liofilización. ( Bariloche A. 1999. <http://invap.bariloche.com.ar>)

### **Beneficios de la Liofilización:**

El secado convencional hace que el material se encoja o contraiga, dañando las células. Sin embargo, en el proceso de liofilización, los componentes sólidos son retenidos en su lugar por el hielo rígido. La sublimación del hielo deja vacíos, preservando así la integridad de las actividades y estructura biológica y química del producto. Debido a sus cualidades preservantes, la liofilización tiene muchos y variados usos en el laboratorio. Se ha convertido en un medio indispensable en muchas aplicaciones bioquímicas y farmacéuticas.

La liofilización es un proceso que se aplica en tres grandes categorías de productos biológicos:

1. Materiales no vivientes tales como el plasma sanguíneo, suero, soluciones de hormonas, productos farmacéuticos y alimenticios.
2. Transplantes quirúrgicos de especies tales como arterias, piel y huesos.
3. Células vivas destinadas a permanecer en ese estado por largos períodos de tiempo.

Además, la liofilización tiene aplicaciones en el análisis químico donde es muy conveniente tener la muestra en forma seca o donde la concentración de la muestra aumenta la sensibilidad del análisis. La liofilización es ideal en estas instancias porque los componentes de la muestra permanecen estables y no cambian su composición química.

Aplicada a bacterias es uno de los métodos que mantiene por más tiempo la viabilidad bacteriana. Para obtenerla, el cultivo bacteriano se adiciona de leche o suero se congela sobre nieve carbónica y se conecta a una bomba de vacío, que provoca la desecación. La eliminación de toda el agua sobre la muestra congelada aumenta la viabilidad de esta, que se guarda en ampollas cerradas de vidrio a temperatura ambiente, hasta su uso que puede ser incluso muchos años después. (Iañez Enrique 1998).

## **Las Etapas de la Liofilización son las siguientes:**

**Congelación inicial o precongelamiento:** La cual prepara el producto para el proceso de sublimación. Es la base de que el producto liofilizado presente óptimas condiciones de aspecto, con la conservación de sus propiedades originales y rápida rehidratación.

**Sublimación de desecación primaria:** Es la etapa en que la mayor parte del agua libre pasa a vapor, el hielo se sublima sin derretirse. Los parámetros de temperatura, presión y tiempo, pueden ser modificados independientemente pero están íntimamente relacionados no es posible modificar sin que se afecten los otros, por lo que en todo momento deben ser considerados conjuntamente y analizados sus efectos.

**Desorción o desecación secundaria:** En el cual la humedad residual ligada al material sólido es extraída, dejando un producto seco. Este paso es esencial para la estabilidad de la muestra. Su misión es eliminar las últimas trazas de vapor de agua, evaporando el agua no congelada ligada al producto. (Navarro Marisell 1998).

### **Requerimientos Básicos de un sistema de liofilización:**

Una vez que la muestra está congelada, está lista para conectarse al sistema de liofilización. Los requerimientos básicos son:

**Una cámara** de secado múltiple, un manifold o un secador con bandejas en los cuales se conectan los contenedores con muestras precongeladas o se colocan las muestras precongeladas en bulto.

**Un sistema de vacío** para superar los factores de resistencia y para facilitar el flujo de vapor.

**Una fuente de calor** para suministrar energía.

**Un colector de baja temperatura** para maximizar la diferencia de presión del vapor y para retener la humedad antes de que contamine la bomba de vacío.

El secado primario y secundario se lleva a cabo cuando el contenedor de la muestra es colocado en el sistema de liofilización o conectado a él. La muestra es expuesta inmediatamente a un vacío para superar la resistencia al flujo de vapor. Al mismo tiempo, se aplica calor para suministrar energía. La fuente de calor para los frascos y otros contenedores de vidrio en una cámara de secado múltiple o manifold es la temperatura de ambiente. En el secado de un

secador con bandejas, las repisas calefaccionadas proporcionan calor controlado. El vacío y el calor ayudan a que el vapor de agua sublime del hielo y fluya fácilmente fuera de la muestra y lejos del material desecado restante. La velocidad de sublimación de un producto congelado depende de varios factores, siendo lo más importante la diferencia de presión del vapor entre el producto congelado y el colector. Generalmente, la liofilización más efectiva ocurre cuando la muestra está a la temperatura más caliente que pueda tolerar y todavía permanecer congelada, y la temperatura del colector y el vacío del sistema son mantenidas a los valores más bajos conseguibles. Los tiempos de desecado varían dependiendo de la temperatura eutéctica del material a ser liofilizado. Para la mayoría de los materiales biológicos, esta temperatura es bastante inferior a 0°C y probablemente más baja que -40°C.

<b>TEMPERATURA SEGURA Y TIEMPOS DE DESECADO PARA MATERIALES SELECTOS</b>			
<b>Material de 10 mm de espesor</b>	<b>Temperatura segura °C</b>	<b>Temperatura del colector °C</b>	<b>Horas (aprox)*</b>
<b>Leche</b>	-5	-40	10
<b>Urea</b>	-7	-40	10
<b>Plasma sanguíneo</b>	-10 a -25	-40	16
<b>Suero</b>	-25	-40	16
<b>Vaccinia</b>	-30 a -40	-50	22
<b>Vacuna de influenza</b>	-30	-50	24
<b>Tejido humano</b>	-30 a -40	-50	48
<b>Tejido vegetal</b>	-50	-80	60

\*Las horas totales requeridas dependen de las cantidades de muestras y/o de las capacidades del sistema de liofilización.

Tabla N° 1 [www.labconco.com/pdf/freezone.pdf](http://www.labconco.com/pdf/freezone.pdf). Labconco corporation. 2003

La tabla 2 es un cuadro que muestra la presión de vapor de agua o hielo a distintas temperaturas. Si la muestra congelada esta a -10 °C, el cuadro indica una presión de vapor de 1950 mm. Si el colector esta de -50° C, la tabla 2 indica una presión de vapor de 0.0269 mm. La diferencia de presión de 1.9231 (1950 mm menos 0.0269 mm) es adecuada para la liofilización eficaz. La diferencia de presión de vapor disminuye en sentido directo a la desecación del producto.

<b>PRESION DE VAPOR DE AGUA A DISTINTAS TEMPERATURAS</b>				
	TEMPERATURA (° C)	MILIMETROS	PRESION (Hg) Micrones	MiliBar (mBar)
	100	759.993	759993.0	1010
	90	525.886	525886.0	699
	60	149.459	149459.0	199
	30	31.826	31826.0	43
	15	12.784	12784.0	17
	0	4.579	4579.0	6
<b>TEMPERATURA TIPICA DE PRODUCTO</b>	- 10	1950	1950.0	2.6
	- 20	0.776	776.0	1.1
	-30	0.2859	285.9	.34
	-40	0.0966	96.6	.13
<b>TEMPERATURA TIPICA DE COLECTOR</b>	-50	0.0269	26.9	.036
	-60	0.00808	8.0	.012
	-70	0.00194	1.94	.003
<b>TEMPERATURA DECOLECTOR EN CASCADA</b>	-80	0.00040	0.40	.0005
	-90	0.00007	0.07	.00009

Tabla Nº 2 [www.labconco.com/pdf/freezone.pdf](http://www.labconco.com/pdf/freezone.pdf). Labconco corporation. 2003

Una vez terminado el secado primario, y todo el hielo se ha sublimado, todavía hay humedad ligada en el producto. Durante el secado secundario, la fase final de la liofilización, el agua que estaba ligada fuertemente a los sólidos en la muestra, llamada agua sorbida es convertida a vapor. Este proceso se llama desorción. La desorción es un proceso lento porque el agua sorbida tiene una presión mas baja que el líquido a la misma temperatura. La liofilización termina cuando la presión del vapor entre la muestra y el colector se iguala. Si se extrae el producto del sistema demasiado pronto antes que esté completamente seco, se puede degradar rápidamente y sufrir la pérdida de las características estructurales y biológicas.

### **1.4.3 RAYOS GAMMA**

#### **La Radiación**

La radiación, es la emisión y propagación de energía a través del espacio o una sustancia, de ondas o partículas.

#### **Radiación Por Partículas**

Este tipo de radiación se define como la propagación de energía en forma de onda (sin masa) a través del espacio o materia. La energía que se propaga esta acompañada por campos eléctricos y magnéticos oscilatorios colocados en ángulos rectos uno en el otro, por esta razón el término de electromagnético. Las radiaciones electromagnéticas pueden ser provocadas o

naturales; ejemplo son los rayos cósmicos, rayos gamma, rayos X, ultravioleta, luz visible, luz infrarroja, ondas de radar, microondas y ondas de radio. Las radiaciones electromagnéticas están ordenadas de acuerdo con sus energías en lo que se denomina un espectro electromagnético.

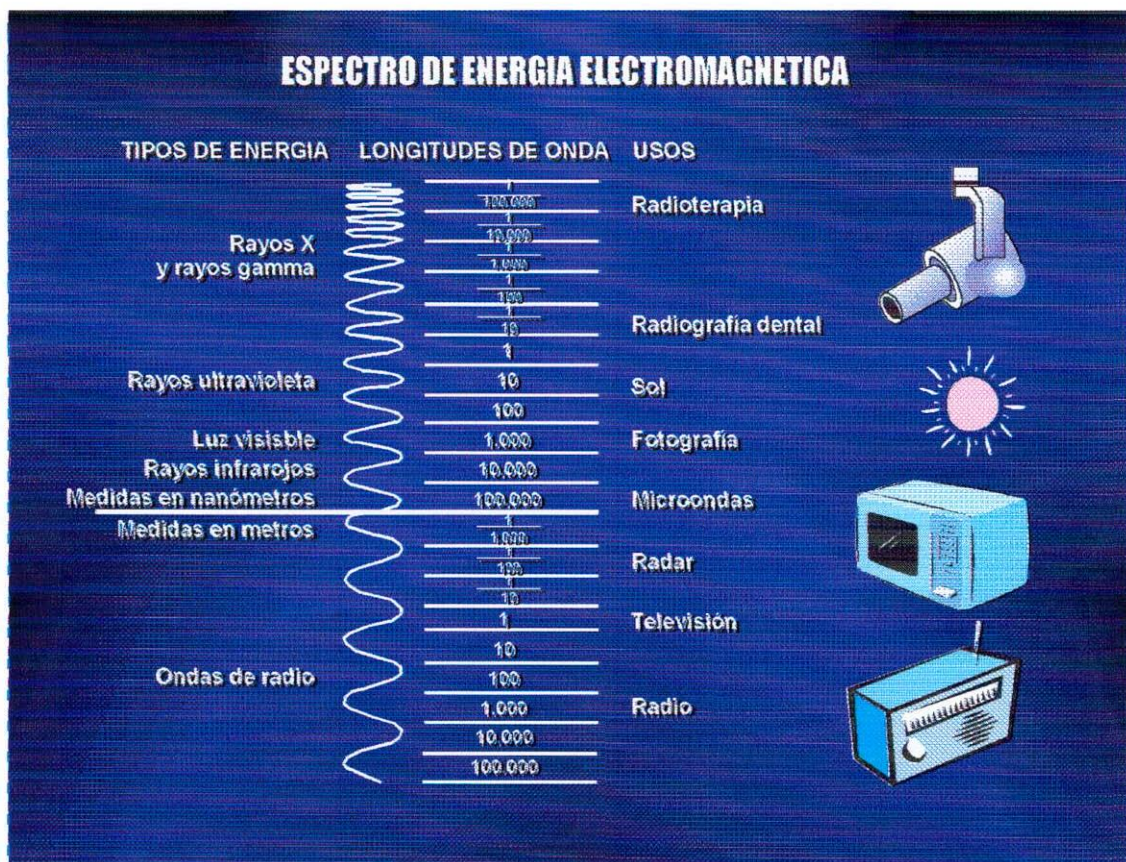


Fig 1. Espectro de energía electromagnética. Haring-Lind - 2000

Todas las energías del espectro comparten características comunes. Según sus niveles de energía, se clasifican como ionizantes y no ionizantes. En el espectro electromagnético solo las radiaciones de alta energía (rayos

cósmicos, rayos gamma y rayos X) son capaces de ionización. (Haring - Lind 2000)

Por otra parte, también la cantidad de energía que carga un fotón determina su comportamiento que a veces se manifiesta como ondas y otras como partículas, lo que se llama "dualidad". Un fotón con baja energía ( como el radio) se comporta como ondas, mientras que un fotón con una alta carga de energía (como los rayos gamma) se comporta como partículas. El espectro electromagnético puede expresarse desde los puntos de vista de la energía, la longitud de onda, o la frecuencia.

La energía promedio necesaria para producir ionización en un elemento depende de su número atómico. Conviene separar los tipos de radiación en cuatro grupos según su interacción con la materia: 1) las partículas pesadas cargadas positivamente, que incluyen partículas alfa, protones e iones pesados energéticos; 2) las partículas ligeras cargadas, como electrones, betas y positrones; 3) las radiaciones electromagnéticas, incluyendo rayos X y gamma; 4) los neutrones.

Los rayos X y gamma, al no tener carga, no pueden ser frenados lentamente por ionización al atravesar un material. Sufren otros mecanismos que al final los hacen desaparecer, transfiriendo su energía, pueden atravesar varios

centímetros de un sólido, o cientos de metros de aire, sin sufrir ningún proceso ni afectar la materia que cruzan.

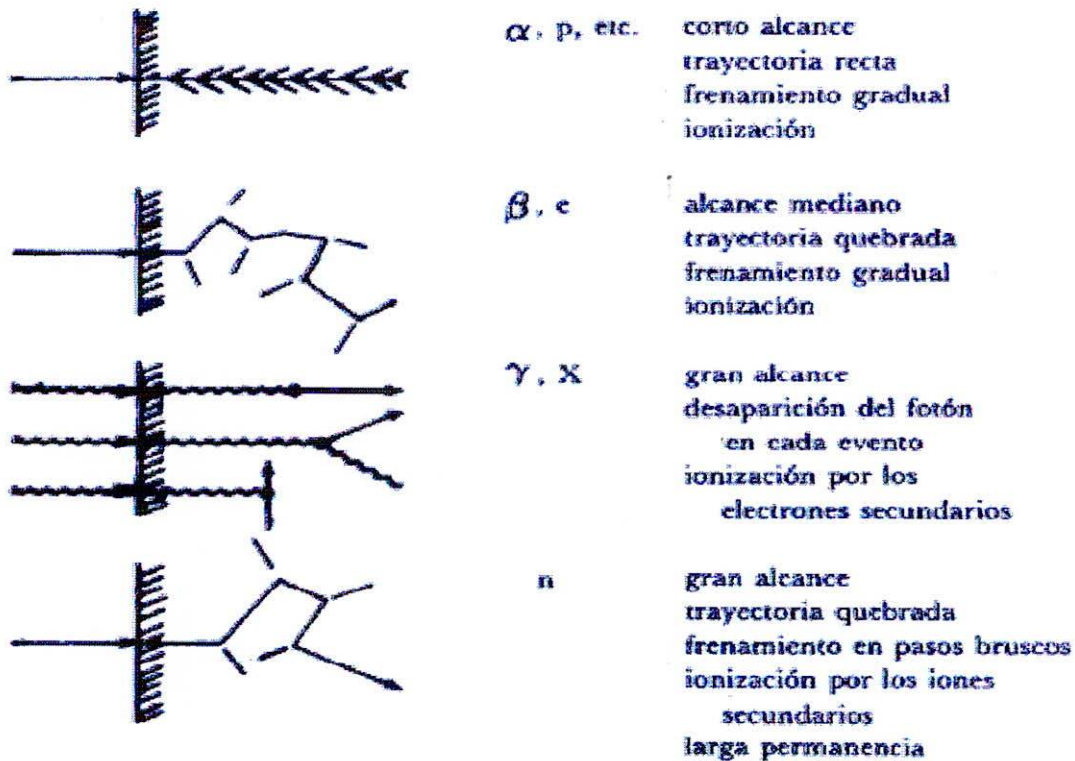


Fig 2. Tipo de alcance y trayectoria de la radiación. [www.tuotromedico.com](http://www.tuotromedico.com)

Luego sufren uno de los tres efectos y depositan allí gran parte de su energía. Los tres mecanismos de interacción con la materia son: el efecto fotoeléctrico, el efecto Compton y la producción de pares.

a) El *efecto fotoeléctrico* consiste en que el fotón se encuentra con un electrón del material y le transfiere toda su energía, desapareciendo el fotón original. El

electrón secundario adquiere toda la energía del fotón en forma de energía cinética, y es suficiente para desligarlo de su átomo y convertirlo en proyectil.

b) En el efecto Compton el fotón choca con un electrón como si fuera un choque entre dos esferas elásticas. El electrón secundario adquiere sólo parte de la energía del fotón y el resto se la lleva otro fotón de menor energía y desviado.

c) Cuando un fotón energético se acerca al campo eléctrico intenso de un núcleo puede suceder la *producción de pares*. En este caso el fotón se transforma en un par electrón- positrón. Como la suma de las masas del par es 1.02 MeV, no puede suceder la energía del fotón es menor que esta cantidad. Si la energía del fotón original es mayor que 1.02 MeV, el excedente se lo reparten el electrón y el positrón como energía cinética, pudiendo ionizar el material. El positrón al final de su trayecto forma un positronio y luego se aniquila produciéndose dos fotones de aniquilación, de 0.51 MeV cada uno.

Cada uno de los efectos predomina a diferentes energías de los fotones. A bajas energías (rayos X) predomina el fotoeléctrico; a energías medianas (alrededor de 1MeV), el Compton; a energías mayores, la producción de pares.

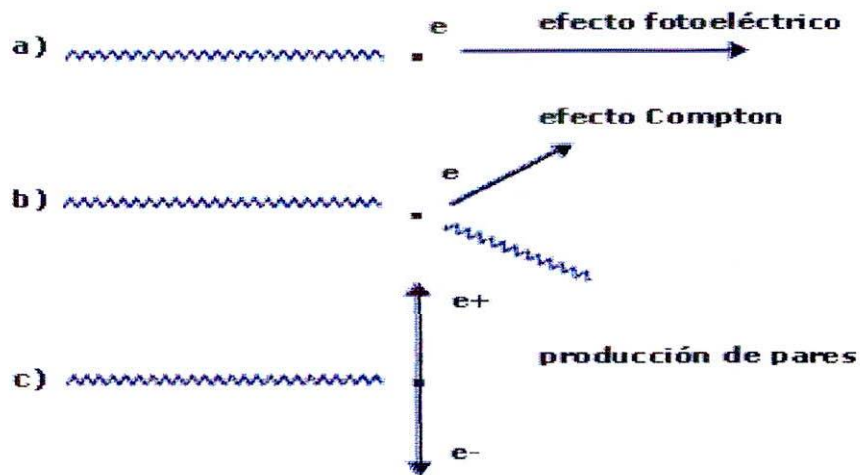


Fig. 3 Mecanismos de interacción con la materia [www.tuotromedico.com](http://www.tuotromedico.com)

Puede pensarse en la radiación electromagnética, de la cual la luz visible es un ejemplo, como si fueran ondas. Las ondas tienen una longitud de onda, que es inversamente proporcional a su frecuencia. Cuanto más corta sea la longitud de onda, mayor será la frecuencia, y la radiación portará mayor energía. La energía se transporta en pequeños paquetes (cuantos), también llamados fotones. Hagamos una gira por el espectro electromagnético, comenzando con las ondas cortas.

Existen dos tipos de radiaciones ionizantes:

- La electromagnética, constituida por rayos gamma, rayos X y rayos ultravioleta.
- la constituida por partículas subatómicas (electrones, neutrones, protones).

Cada elemento atómico se caracteriza por su número de protones, que es constante; pero puede presentar distinto número de neutrones, y el número de éstos es lo que define a los diferentes **isótopos** de cada elemento químico. Muchos isótopos son inestables, y pueden cambiar su **número másico** (suma de neutrones y protones) por emisión de partículas. Dependiendo de qué tipo de partículas se emitan, hablamos de radiación alfa, beta o gamma, con distinta interacción sobre la materia.

La **radiación gamma**, o radiación electromagnética de alta energía, es capaz de penetrar profundamente en los tejidos; sin embargo, libera menos energía en el tejido que las alfa o beta. Éstas interaccionan con los átomos y moléculas que se van encontrando a su paso, lo que es mucho más nocivo.

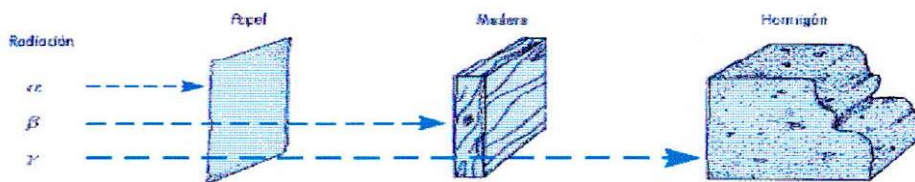


Fig. 4. Capacidad de penetración de las partículas alfa, beta, y de la emisión gamma.  
[www.slb](http://www.slb)

La **radiactividad** de un isótopo puede medirse, así como la **dosis absorbida** de radiación ionizante en un tejido determinado.

La radiación gamma es energía en forma de ondas electromagnéticas, tal como lo es la luz, las microondas, las ondas de radio o los rayos X.

Estas formas de energía pueden ser controladas y usadas para cubrir importantes necesidades de los seres humanos, y son de hecho utilizadas cotidianamente en un amplio espectro de aplicaciones, tales como telecomunicaciones, hornos de microondas, diagnóstico y tratamiento de enfermedades (Rayos X y G), O para el procesamiento de productos y sustancias que requieren un medio ambiente libre de microorganismos (Rayos Gamma).

Los procesos de irradiación emplean esta forma particular de ondas electromagnéticas, o sea la radiación Gamma, que se conoce también como radiación ionizante o energía ionizante. Este término es utilizado para describir estas ondas, puesto que ellas provocan en el material que contactan la formación de partículas cargadas eléctricamente, llamadas "iones".

La ionización actúa interrumpiendo los procesos que conducen a la descomposición de las sustancias orgánicas. Su función es la de destruir las bacterias rompiendo las cadenas del material genético del núcleo, de manera tal que la división de las bacterias no tenga lugar. A su vez, las levaduras y hongos son destruidos, los parásitos, insectos o sus huevos y larvas son inactivados o vueltos estériles. COBALTO 60 (Freijo y colaboradores 1998).

El Cobalto 60 es un metal que se caracteriza por emitir energía en forma de rayos llamados Gamma, el cual se obtiene a partir del Cobalto en su estado natural, llamado Cobalto 59 cuando es expuesto a un flujo de alta velocidad de partículas muy pequeñas llamadas neutrones. Estos neutrones son parte constitutiva de los átomos que componen la materia.

#### APLICACIONES MEDICAS

Las aplicaciones en radioterapia se llevan a cabo en numerosas instituciones hospitalarias publicas y privadas, destacándose entre las primeras el Instituto

de Oncología Dr. Angel Roffo, el Hospital Municipal de Oncología de la Ciudad de Buenos Aires, y la Escuelas de Medicina Nuclear creada por la CNEA en la ciudad de Mendoza

#### APLICACIONES INDUSTRIALES

Las primeras aplicaciones comerciales de la energía ionizante se remontan a los principios de la década de los 60.

Se encuentran actualmente en operación en el mundo unas 160 plantas de irradiación, localizadas en mas de treinta países, brindando una amplia gama de servicios a un creciente numero de industrias.

## **Guías para la esterilización industrial de productos médicos con Radiación Gamma y Cobalto 60**

El papel importante de la esterilización por radiación y los bancos de tejidos están recibiendo mayor reconocimiento entre los practicantes médicos. Los esfuerzos ahora se están intensificando para expandir el conocimiento de los beneficios y de las oportunidades para la capacitación en este campo.

Se han abierto en la década pasada bancos de tejidos que apoyan los cuidados médicos y tratamiento de pacientes afectados seriamente. La International Atomic Energy Agency (IAEA), ha sido un catalizador para introducir este importante desarrollo, por el avance de la tecnología de esterilización con radiación de tejidos y la promoción de estándares que permiten especificaciones médicas estrictas. Los beneficios duraderos yacen en las muchas vidas que se han salvado o mejorado, incluyendo víctimas quemadas y pacientes que han requerido trasplantes y cirugía reconstructiva. Entre estos pacientes hay quienes han recibido millones de injertos de tejidos suministrados desde que el programa de la IAEA en radiación y banco de tejidos, comenzó hace 30 años. Una mirada generalmente acompaña la asociación de la IAEA y la tecnología de la radiación con bancos de tejidos. Aun a través de esta vía la ciencia y los canales de cooperación tecnológica, la IAEA esta contribuyendo al avance del conocimiento de la aplicación de la

radiación ionizante a tejidos estériles, tales como cartílago, tendones, corneas, válvulas cardíacas, hueso y piel. La tecnología esta bien pulida y la radiación ha sido usada para esterilizar productos y suplementos médicos favoreciendo el método de escogencia en muchos países por el costo y razones de calidad. En Agosto del 2002 en el tercer congreso mundial realizado en Boston USA, el papel catalizador de la IAEA fue escogido, para que los bancos de tejidos regulen la esterilización con radiación de los injertos. Sobre la capacitación los bancos de tejidos nacionales e internacionales se ha desarrollado y ofrecen junto con la IAEA soporte a las Universidades de Singapur, Buenos Aires y más recientemente Seúl. Ahora sé esta preparando una completa capacitación interactiva para los bancos de tejidos los cuáles se activaran en el 2003. Otras iniciativas en esta área incluyen la preparación de documentos y directrices que incluyen una serie de estándares internacionales para los bancos de tejidos, y un código internacional de práctica para la esterilización con radiación de tejidos biológicos y protocolos que sean de conocimiento público.

### **Tecnología de la radiación.**

Otros métodos de esterilización han usado calor y químicos por un largo periodo de tiempo, pero ninguno es tan preciso como la irradiación. El uso de la radiación permite que el tejido sea esterilizado en su empaque final, lo cual dramáticamente baja los riesgos de la contaminación. Además el calor y los

químicos pueden dañar potencialmente la composición biológica de los tejidos, mientras que la irradiación no afecta las propiedades de los tejidos.

## **PROTOCOLO DE UN BANCO DE TEJIDOS**

La Asociación Americana de Bancos de Tejidos y la Asociación Europea de Bancos de Tejidos siguen unas directrices, además de investigar en detalle la historia medica y la examinación clínica de todos los donantes se investiga por: SIDA, Hepatitis B, Hepatitis C, Sífilis, Cultivo de tejidos para organismos aerobios y anaerobios.

### **Procesamiento de los tejidos**

#### **Irradiación Gamma de Hueso Liofilizado**

Como una protección adicional de esterilización segura, todos los huesos son irradiados con una dosis de Rayos Gamma de 25 Kilograys y el Instituto de Tecnología Nuclear de Malasia usa cobalto 60 y esta en colaboración bajo los auspicios de la IAEA. El requerimiento para la esterilización es que el hueso sea liofilizado. (Medical Tissue Banks and Radiation Technology 2002)

#### **1.4.4 DNA**

El ADN (Ácido desoxiribonucleico) es la materia informativa del cromosoma, la unidad genética de la herencia y por tanto, la molécula que en condiciones normales se transmite sin modificaciones a través de generaciones pese a su

complejidad estructural hoy en día se conoce con cierto detalle la disposición del ADN en el cromosoma.

Un cromosoma es una molécula de ADN muy enrollada y cubierta parcialmente por proteína, las cuales hacen que su longitud y grosor varíen los nucleosomas son las unidades elementales de la estructura de los cromosomas y se forman de diferentes historias relacionadas con una porción relativamente fija del ADN. El ADN entonces se relaciona de alguna manera alrededor de las historias. El sitio del cromosoma donde se localiza un gen en particular, se conoce como locus, luego cuando una célula se reproduce, debe replicar sus cromosomas para que sus rasgos hereditarios pasen a una generación subsiguiente de células.

El ADN guarda la información genética de cada individuo y se transmite de padres a hijos de conformidad con los principios mendelianos de la herencia, también se caracteriza porque mantiene su estabilidad a través de días, semanas, meses, años en un medio ambiente adecuado.

Por encontrarse el ADN presente en los núcleos celulares, es posible obtener en el lugar del in suceso, los instrumentos u objetos intervinientes en el mismo. Las inmensas cadenas de ADN compuestas de decenas de miles de pares de bases, se repiten de manera secuencial, determinada constante y específica en longitud y localización, para cada persona, de manera que el ADN es como la huella dactilar individualizante y única de cada persona.

La mayor parte del ADN en los tejidos óseos compactos se localiza en los osteocitos, los cuales son remanentes de los osteoblastos, que a su vez han sido auto secretados y se han empezado a aislar de la matriz de un hueso calcificado. Además, la matriz de un hueso calcificado puede aportar al ADN alguna protección contra la degradación.

El acceso al ADN de los osteocitos puede ser difícil para la constitución de la matriz calcificada. Por ello, algunos autores recomiendan descalcificar las muestras, mediante la remoción de los iones de calcio, previamente a la extracción ( Hochmeister M y Cols . 1991 )

## **PROTOCOLO**

### **AISLAMIENTO DE ADN A PARTIR DE LA PIEZA DENTARIA**

#### **ADAPTADA DE CORACH D, SALA A, PENACINO G, 1999**

1. Seleccionar la pieza dentaria a analizar, de preferencia utilizar los dientes del maxilar superior que son los que mejor se conservan.
2. Lavar la pieza seleccionada con un cepillo y abundante agua, secar a 37°C en estufa.

3. Disgregar el diente con el equipo freezeer mill 6750 (Glen Creston Ltda, England), en presencia de nitrógeno líquido mediante un fuerte impacto mecánico también se puede pulverizar el diente en un mortero de acero o utilizar un motor con una fresa delgada de dentista, para obtener polvo dental.
4. Tratar el material con 2 mm de solución de extracción: EDTA 10 Mm, Tris 10 Mm Y NaCl 100 Mm, mas 1% de SDS Y 10-20 ul de proteinasa K. Continuar con el protocolo descrito para la extracción de ADN a partir de restos óseos reducidos.
5. Purificar el ADN (Corach D, Sala A, Penacino G, 1999)

## **EXTRACCIÓN DE ADN CON TEJIDO OSEO TOTALMENTE REDUCIDO**

**ADAPTADO CORACH D, SALA A, PENACINO G, 1999**

### **PRIMER DIA:**

1. Tratar la muestra de hueso en polvo ( 300 - 500 mg. ) con 2 ml de la solución de extracción formada por:

EDTA 10 Mm

Tris 10 Mm

NaCl 100 Mm

SDS 1 %

Proteinasa k, ( 20 mg / ml ) 10 a 20 ul

2. Mezclar por vortex e incubar a 60° C toda la noche.

## **SEGUNDO DIA**

1. Realizar tres extracciones orgánicas como en el protocolo previo.

Fenol

Fenol – cloroformo (1 / 1)

Cloroformo.

2. Mezclar la fase acuosa con un solvente orgánico hasta formar una emulsión y centrifugar 5 minutos a máxima velocidad en una centrífuga tipo Rolco.

3. Recuperar cada extracción la fase acuosa superior.

4. Purificar las muestras.

## **1.5 OBJETIVOS**

### 1.5.1 General

Diseñar un protocolo para liofilizar y esterilizar la dentina de dientes humanos.

### 1.5.2 Especificos.

Establecer el proceso de pulverización de la dentina humana.

Realizar la liofilización de la dentina de dientes humanos.

Identificar el ADN en la dentina liofilizada.

Esterilizar la dentina liofilizada de dientes humanos con rayos gamma.

## **2. MÉTODO**

### **2.1 TIPO DE ESTUDIO**

Descriptivo tipo exploratorio.

### **2.2 SUJETO DE ESTUDIO**

Dentina humana.

### **2.3 INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE DIENTES.**

Para este efecto se diseñó un instrumento denominado RECOLECCIÓN DE DATOS DE LOS PACIENTES A LOS CUALES SE LES REALIZARON LAS EXODONCIAS. ( Anexo 1).

### **2.4 PROCEDIMIENTOS**

#### **Selección de dientes para obtener la Dentina.**

Se recolectaron previamente los dientes a los cuales se les iba a realizar exodoncia indicada por ser dientes incluidos o que se requerían por tratamiento de ortodoncia. Se realizó la exodoncia por método abierto o método cerrado. (Anexo 1). Los dientes fueron recolectados de cuatro instituciones: Centro

Médico San Roque Centro, Centro Médico San Roque Sur, Centro Médico Décima Avenida y el Sindicato de Trabajadores de Icollantas.

De los cuales se obtuvieron 16 dientes, de ocho pacientes sistémicamente sanos de acuerdo con la anamnesis realizada a los pacientes y consignada en la historia clínica.

Los dientes obtenidos fueron distribuidos de la siguiente forma: Dos caninos superiores, seis premolares superiores (cuatro primeros premolares y dos segundos premolares derechos), un molar superior derecho, un molar inferior izquierdo, y seis premolares inferiores ( cuatro primeros premolares y dos segundos premolares derechos).

El motivo de la consulta del total de dientes extraídos fue el siguiente:

Por Ortodoncia : 11 dientes.

Por malposición dental: 2 dientes.

Por falta de antagonista: 2 dientes.

Incluido: 1 diente.

Se recolectaron bajo el criterio que todos los dientes debían estar completamente sanos, sin problemas periodontales, vitales al momento de la exodoncia, sin caries, sin fracturas, en su composición estructural, sin importar si estaban erupcionados o no.

Al retirarlos de cavidad oral fueron lavados con agua estéril y luego fueron colocados en una caja de petric de 9 por 9 centímetros de diámetro con formol al 10% y luego fueron almacenados en nevera a 4 grados centígrados, durante un mes mientras se continuaba con el aislamiento y obtención de la dentina.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 PROTOCOLO PARA PULVERIZAR LA DENTINA

##### 3.1.1 PRUEBA PILOTO

Asepsia y antisepsia del área de trabajo.

Con pinzas estériles se tomó un canino superior derecho de la caja de petric con formol.

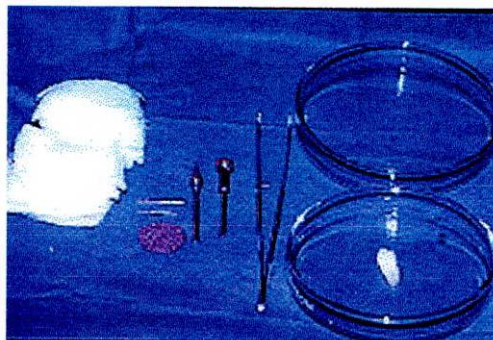


Fig. 5. Canino Superior.

Lavado a presión del diente para retirar la solución, con una jeringa desechable de 10 mm con agua estéril.

Secado del diente con aire a presión.

Se tomó radiografía periapical del diente previo a la realización de las cavidades estandarizadas para el desgaste del cemento y el esmalte dental.



Fig. 6. Rx previa.

Con fresa redonda número, con 2 milímetros de diámetro se realizaron pequeñas cavidades con un profundidad de 2 milímetros en esmalte y cemento a 5 milímetros de distancia cada una, por todas las caras, mesial, distal, vestibular , palatino o lingual para un total de 5 perforaciones.



Fig. 7. Fresa redonda # 2

Con una fresa troncocónica de punta plana número 2 montada en una pieza de alta velocidad, se procede a desgastar el esmalte y el cemento hasta el nivel

de profundización de las perforaciones realizadas, cerciorándose del retiro de los dos milímetros de esmalte y de cemento en la corona y raíz respectivamente.

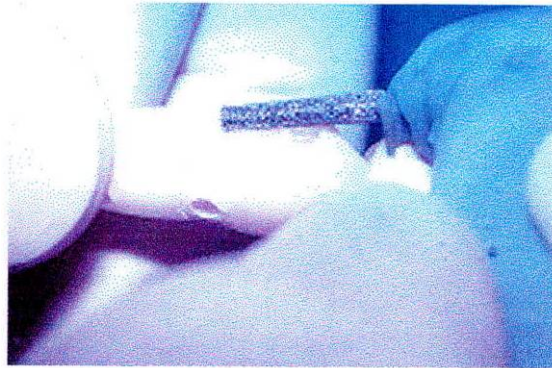


Fig. 8 Fresa troncocónica punta plana.

Toma de radiografía periapical de control para verificar que se haya retirado el esmalte y cemento totalmente, si hizo falta retirar tejido se vuelve a desgastar hasta cerciorarse del retiro completo del esmalte que tiene mayor espesor en las cúspides.

Lavado con jeringa de 10 mm y agua estéril.

Secado a presión.

Con un disco de seguridad montado en micromotor, se realiza un corte transversal a nivel del cuello del diente dividiendo el diente en dos partes.

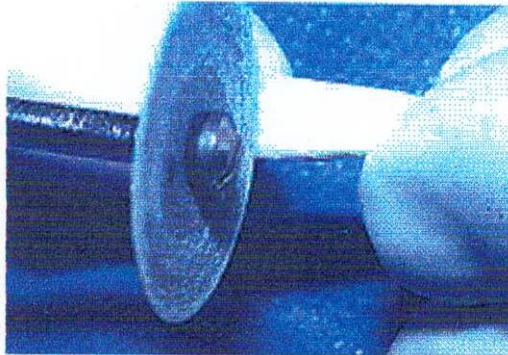


Fig. 9 Disco de seguridad

Con una sonda barbada número 15 se retiraron los restos de pulpa dental para dejar únicamente dentina.

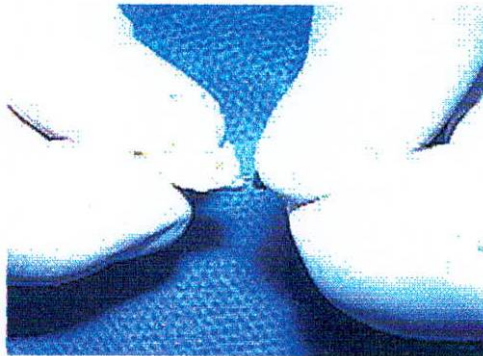


Fig. 10. Sonda barbada

Lavado con jeringa de 10mm y agua estéril.

Secado a presión.

Se lava los conductos y cuernos pulpares con agua estéril.

Se seca a presión.

Se coloca el diente previamente desgastado en el mortero.

Se coloca la dentina dentro del mortero y se aplica el Nitrógeno líquido que se encuentra a  $-160^{\circ}\text{C}$ .

Se volatiliza el Nitrógeno líquido quedando la dentina congelada y con el pistilo se empieza a macerar la dentina, dejándola en pequeñas partículas en forma de cristal.

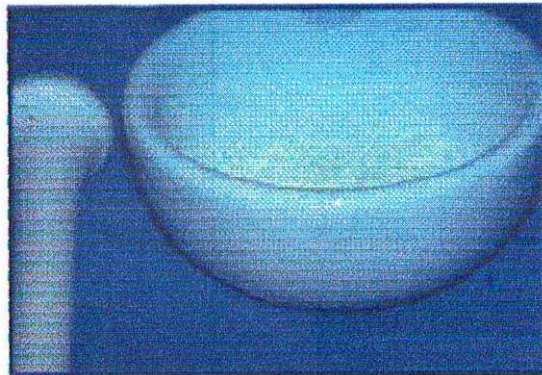


Fig. 11 Dentina pulverizada

Se le aplica nuevamente el Nitrógeno líquido y se vuelve a macerar la dentina hasta dejarlo pulverizada.

La dentina pulverizada se coloca en tubos de ependorff y se lleva al congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

El mortero se lava con detergente, luego se coloca en Decol, agua estéril y una mezcla sulfocrómica durante 24 horas.

### 3.1.2 ESTUDIO DEFINITIVO

El mismo protocolo con los mismos pasos se realizó con los 16 dientes restantes, los cuales fueron almacenados en 6 tubos ependorff.

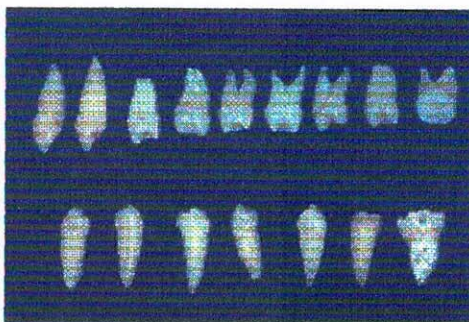


Fig.12 Dientes estructuralmente sanos

La dentina pulverizada se pesó en una balanza analítica Chyo Júpiter C3-200MDM, la cual tuvo un peso de 5.82818 gramos. La dentina obtenida se colocó en un congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas.

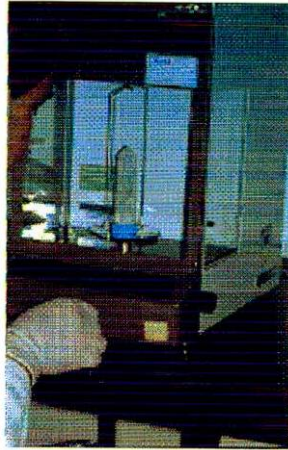


Fig 13. Balanza analítica

### **3.1.3 ANÁLISIS DEL TAMAÑO DE LA PARTÍCULA DE DENTINA PULVERIZADA VISTA AL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO.**

Para establecer el tamaño de la partícula de la dentina pulverizada, se observó con el microscopio electrónico de barrido marca Phillips serie XI, XL 30 ESEM. Se tomaron varias magnificaciones y con algunas de ellas se tomaron varias mediciones, encontrando que el tamaño de la partícula fue muy heterogéneo. Se tomaron varias magnificaciones, de 21X, 100X, 300X, 600 X, 780X, 1200 X, y 1440 X. Con una magnificación de 40X la partícula midió, 905 micras de largo y 340 micras de ancho. Con una magnificación de 68 X la partícula midió, 826 micras de largo y 579 micras de ancho y 142 micras de alto. Con una magnificación de 70X se midió una partícula de forma triangular, que midió

522 micras de largo y 103 micras de ancho. 180 X la partícula midió 351 micras de longitud y 251 micras de ancho y 76.8 micras de alto.



Fig. 14 21 x

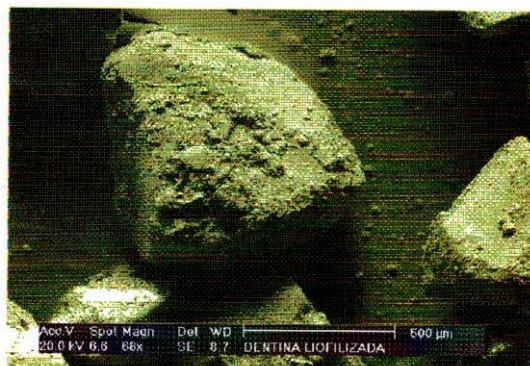


Fig. 15 68 x

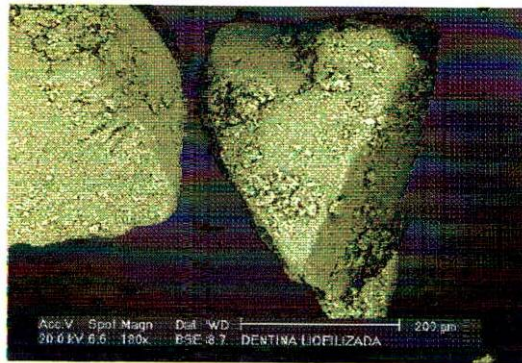


Fig. 16 180 x

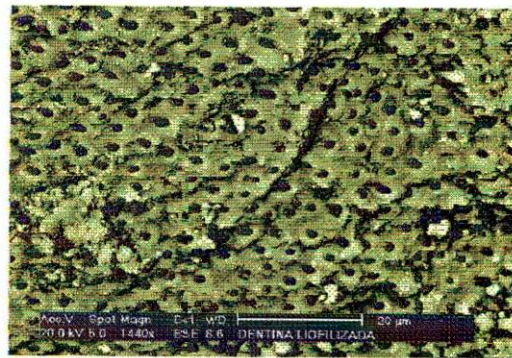
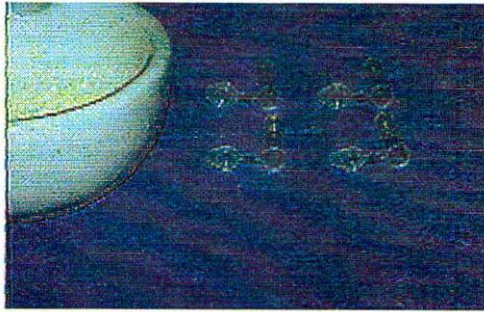


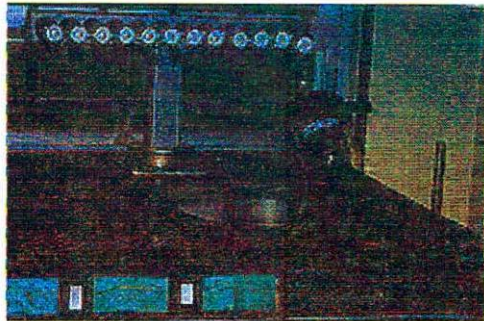
Fig. 17 1440 x

### 3.2 PROTOCOLO PARA LA LIOFILIZACION DE LA DENTINA

La dentina pulverizada almacenada en 6 tubos ependorff se sacó del congelador a  $-70^{\circ}\text{C}$  . Se sacaron los tubos ependorff con la dentina pulverizada y congelada y se llevó a la liofilizadora marca Labconco durante 48 horas, después de las cuales se obtuvo la dentina liofilizada, la cual fue almacenada en un tubo Facol.



**Fig. 18. Tubos ependorff**



**Fig. 19. Liofilizadora Labconco**

### **3.3 PROTOCOLO PARA IDENTIFICAR LA PRESENCIA DE ADN EN LA DENTINA LIOFILIZADA.**

#### **AISLAMIENTO DE ADN A PARTIR DE LA PIEZA DENTARIA.**

**ADAPTADA DE CORACH D, SALA A, PENACINO G,1999.**

Seleccionar la pieza dentaria a analizar, de preferencia utilizar los dientes del maxilar superior que son los que mejor se conservan.

Lavar la pieza seleccionada con un cepillo y abundante agua, secar a 37°C en estufa.

Disgregar el diente con el equipo freezeer mill 6750 (Glen Creston Ltda, England), en presencia de nitrógeno líquido mediante un fuerte impacto mecánico también se puede pulverizar el diente en un mortero de acero o utilizar un motor con una fresa delgada de dentista, para obtener polvo dental.

(En este paso ya se había obtenido la dentina pulverizada separada del esmalte, cemento y pulpa dental creado por los autores del estudio).

**DE AQUÍ EN ADELANTE SE UTILIZÓ EL PROTOCOLO DE ADN CON TEJIDO OSEO TOTALMENTE REDUCIDO.**

**ADAPTADO DE CORACH D, SALA A, PENACINO G, 1999**

**Primer día:**

Se tomaron dos premolares, dos de hombre y dos de mujeres para realizárseles un corte transversal nivel del cuello del diente.

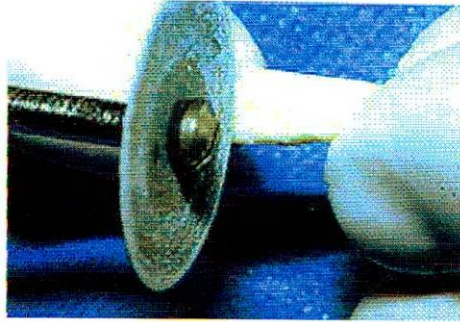


Fig. 20 Corte transversal de un diente

Se extrajeron los restos de la pulpa seca con una sonda barbada y se depositaron estos en un tubo de ependorff.

Se preparó 1ml de solución de EDTA 10 m $\mu$  : 250m $\mu$ , TRIS 10m $\mu$  : 50m $\mu$ , NaCl 100m $\mu$  : 2500m $\mu$ ., para identificar el ADN de la pulpa dental y de la dentina.

SDS 1% - 20%      20 ml proteinasa K.

Para realizar la prueba de ADN en la pulpa se utilizó :

**EDTA** : Se utiliza 0.5 ml con un ph de 8, agregando 90 ml de agua estéril, realizando un pisen con marca registrada sandryx Ga, la que se realiza para bajar la solución que queda en las paredes.

**NaCl** : Se utilizó una solución de 10 ml de Cloruro de Sodio y se mezcló con 90 ml de agua estéril.

**Para realizar la prueba de ADN en la dentina :**

**EDTA** : En un tubo ependorff se colocaron 10 microlitros de esta solución.

**TRIS** : Se utilizó 0.1 molar y se convierte a 50 microlitros.

**NaCl** : Se utilizó 100 microlitros.

**SDS** : Se utilizó esta solución en una concentración del 20%, y se tomaron 25 microlitros, mezclándose con 315 ml de agua estéril agregándosele 20 ml de proteinasa K para degradar todas las proteínas en especial el colágeno. Luego se le agregó el vortex, con papel parafinado se realizó el sellado periférico. Después se colocó en una microcentrífuga marca HETTICH a 14000 rpm durante 1 minuto. Procediendo a dejar incubándose durante toda la noche a 60° C.

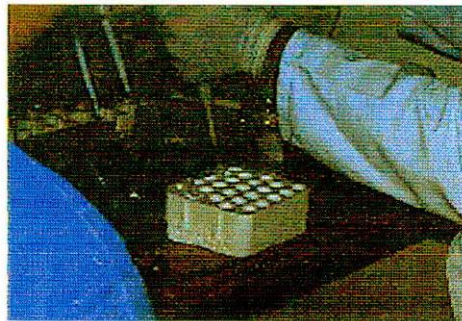


Fig. 21 Reactivos para obtención del ADN

### **Segundo día:**

Se sacó la muestra de la incubadora después de estar 24 horas, se le agregó un diluido en Buffer, Proteinasa K.

Se agitan las dos muestras de dentina y pulpa para verificar que si se disolvió.

Al observar que se diluyó la pulpa y la dentina se le agrega a cada muestra 1 ml de fenol.

Se centrifugaron las dos muestras por 5 minutos a 5000 r.p.m.

Después de centrifugar se observan dos fases:



Fig. 22 Fase acuosa y fase fenolica

La acuosa: Se encuentra todo el material genético.

La fenólica: Quedan los residuos del material.

Se tomaron 200 microlitros de la fase acuosa y se vertieron en un tubo de ependorff cilíndrico de 2ml.

Se agregó 1 ml a cada muestra de cloroformo.

Se centrifugó durante 5 minutos a 5000 r.p.m.

Después de centrifugar se observaron dos fases: la acuosa y la clorofórmica.

Se traspasó la fase acuosa a un tubo de ependorff cónico de 1.5 ml.

Se colocó la base para tubos ependorff y se ubicaron de la siguiente manera de izquierda a derecha:

Muestra control. ( La suministró el laboratorio de genética).

Muestra de la pulpa.

Muestra de la dentina.

Se preparó Agarosa al 1%. Por el tamaño de la muestra solo se tomaron 0,3 gr.

Se virtió en el aparato de electroforesis la agarosa para que gelifique .

Antes que gelifique se coloca una peinilla que va ha dejar unos bolsillos.

Ya polimerizado el gel se retiró la peinilla.

Se agregó un buffer de corrida hasta que quede sumergido el gel de la Agarosa.

En un pedazo de papel de aluminio se colocó del mismo orden de izquierda a derecha 2 microlitros de ADN control, pulpa y dentina.

Sobre cada muestra se colocó 3 microlitros de buffer de carga.

Con una micropipeta y una punta de 5 microlitros se siembra en los bolsillos que dejó la peinilla en el gel de Agarosa en su mismo orden.



Fig. 23 Micropipetas

Se tapó el aparato de electroforesis y se prende el equipo a un voltaje constante con carga positiva y negativa a 100 voltios durante 40 minutos.

La carga positiva y negativa hace que las muestras se dividan y se van hacia los polos.

Después de los 40 minutos se sacó la tableta del gel Agarosa con las tres muestras impresas.

Se sumergió el gel de Agarosa en una solución de Bromuro de Etidio, que actúa como activador del ADN de las tres muestras.

Se observa el gel de Agarosa por medio de un transiluminador.



Fig. 24 Transiluminador

No se observaron líneas blancas por que no hay presencia de ADN.

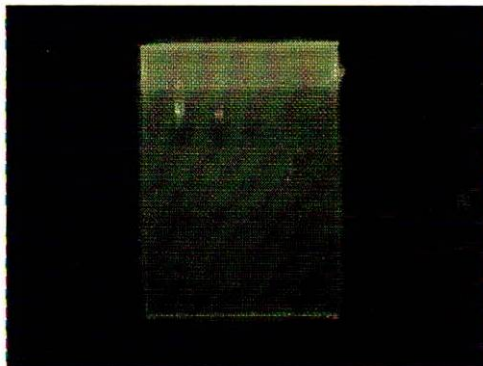


Fig. 25. Presencia de líneas blancas

Se observo la muestra control y la pulpa y presentaron líneas blancas lo cual concluye que poseen ADN.

### **3.5 PROTOCOLO PARA ESTERILIZAR LA DENTINA CON RAYOS GAMMA**

La dentina liofilizada y almacenada en un tubo Facol se llevo a la sala de exposición con Rayos Gamma, y se expuso a una fuente de radiación con cobalto 60 durante 5 horas con una dosis de 24.78 Kilograys.

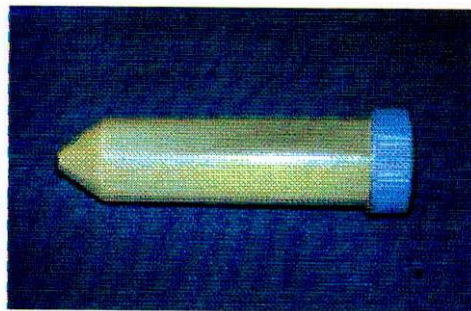


Fig. 26. Tubo facol

#### 4. DISCUSIÓN

El hecho de que la dentina humana liofilizada y esterilizada sirva para mantener vital un diente, solo se conocerá en estudios posteriores In- Vivo en animales de laboratorio cuya investigación se concentrará en saber si existe la posibilidad de generar la formación de dentina en dientes que puedan haber sufrido una exposición pulpar.

De igual forma se comprobó que si es factible el aislamiento y pulverización de la dentina de un diente para posteriormente liofilizarla, aunque no existen protocolos previos para este tipo de estudio.

En la dentina liofilizada no se encontró ADN, debido a que la dentina extraída de un diente no vital y que esta fuera de la cavidad oral no presenta odontoblastos ni tampoco prolongaciones citoplasmáticas dentro de los túbulos dentinales, lo cual la revisión de la literatura lo reporta. Lo anterior se comprobó con el proceso de aislamiento del ADN con el protocolo de ADN con tejido óseo totalmente reducido, adaptado de Corach D, Sala A, Penacino G, 1999, donde se realizó la técnica de fenol- cloroformo.

## 5. CONCLUSIONES

En relación con la liofilización y esterilización de la dentina de dientes humanos se puede concluir lo siguiente:

- Se realizó el protocolo para la pulverización de la dentina en dientes humanos.
- La dentina de dientes humanos se liofilizó.
- No se encontró ADN en la dentina liofilizada de dientes humanos.
- La dentina de dientes humanos se esterilizó con rayos gamma a una dosis 24.78 kilograys.

## **6. RECOMENDACIONES**

Realizar cultivos para determinar la existencia o no de microorganismos dentro de la muestra de dentina liofilizada y esterilizada.

Colocar la muestra de dentina liofilizada y esterilizada en varios tubos de ependorff dentro de una cámara de flujo laminar para poder manipular la dentina y evitar la contaminación.

Aplicar la dentina liofilizada y esterilizada clínicamente in vivo en animales de laboratorio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

**ABRAHAMOVIC**, Abraham, Histología y embriología dentaria. Edt. Panamericana, Ed. 4. 1999 Pág. 44 – 55.

**AVERY**, James, Repair potential of the pulp. Journal of endodontics. Vol 7 N° 5, May, 1981.

**BERNAT**, Maria, Urbina Patricia, Pinzón Maria, Pacheco Mario, Orjuela Marlen, Senejoa Shirley. Obtención de dentina liofilizada humana para el manejo de dientes con exposición pulpar. Colegio Universitario Colombiano. COLOMBIA 2001.

**GARBEROCLIO**, R. and Brannstrom. M. Scanning Electron Microscopie investigation of human dentinal tubules. Arch oral biology, 21. 1976. Pág. 355-362.

**GOMEZ**, Claudia, Prueba de ADN en el derecho penal. COLOMBIA. 1999. Pág. 8 – 21.

**GOMEZ**, Ferraris de Campos Muñoz, Histologia y Embriología bucodental. Ed Panamericana. Segunda edición. 2002. Pág. 240 -269

**HARING J**, Lind. Radiologia dental. Principios y técnicas. 3<sup>a</sup> ed. México, McGraw Hill Interamericana, 2000; p 13 - 19.

**H. F**, Thomas. Session v: dentin- predentin complex and its permeability. Anatomical overview. J. Dent rest 64; 607- B12 April. 1985

**HTPP://invap.bariloche.com.ar/Indus/lial/descrip.htm**

**Hptt:atenea.udistritaledu.co.** Radiación y radioprotección Interacción de la radiación con la materia. Bogota.

**INGLE, Jhon y Bakland Leif.** Vías dela pulpa. Cuarta edición Mcgraw Hill interamericana. CAN. 1996. Pág. 358-359.

**IAÑEZ, Enrique.** Efecto de los factores ambientales sobre las bacterias. ESP. 1998.

**KAYE, H and Herold R.C:** Structure of Human dentine. Arch oral biology ,11. USA. 1960. Pág. 355-368.

**KINNEY J. Balooch M, Marshall G, Marshall S.** A micromechanics model of the elastic properties of human dentine. Archives of oral Biology. 44 .1999 813-822.

**LOPEZ, Palafox., Juan.** Maxilares, Guia practica de odontología forense. Mayo. Universidad Alfonso X de Madrid. ESP. 2001

**IAEA** International Atomic Energy Agency Vienna.1973.Manual on Radiation Sterilization of Medical and Biological Materials.

**MJÖR, I. A.** Dentin and pulp. In histology of the human tooth GER. 1979. . Pag 43-73.

**MJÖR, I. A. And I. Nordahl,** the density and branshing of dentinal tubules in human teeth. Arc oral biology. Vol 41 N° 5. GER. 1996. Pag 401-412.

**NAVARRO, Maricell.** La liofilizacion de productos farmaceuticos. Sin tefarma. Enero- julio. MEX. 1998.

**ORCHARDSON R.**, Gangarosa L, Holland G, Pashley D, Trwbridge H, Ashley P, Kleinberg I y Zappa U. Dentine Hypersensitivity into th 21<sup>ST</sup> Century. Archs Oral Biolo. Vol.39.Suppl.pp.113S-119S .1994.

**RUCH, J.V.** Seccion I. Development from and function of odontoblast. C.O. Torneck Chairman. Odontobast differentiation and deformation of the odontoblast layer. J. dent. Rest 64: April, USA. 1996, Pág 498.

**SIGAL, Michael and Robert Cher Nekgy.** Terminal end of the odontoblast process. J. Of Endodontic. Vol 14 N° 11. November. ENG. 1986

**SLOAN, A. J. Smith A, J.** Stimulation Of the Dentine- Pulp complex of rat incisor teeth by transforming growth factor- B isoforms 1-3 in vitro. Archives of Oral Biology, 44. USA. 1999. Pág. 149-156.

**WEBER, D. F:** and improved technique for producing casts of the internal structure of hard tissues. Including some doserrations on human dentine. Arch Oral Biology. AUS. 1983. Pag 28, 885, 891.

**W, L, Davis.** Histologia y embriologia bucal. Interamericana Mc graw Hill. USA. 1986. Pag 117-141

Colegio Oficial de Fisicos de España Subvencion del Consejo de Seguridad Nuclear. Marzo 2002. [www.fisicaysociedades.es](http://www.fisicaysociedades.es).

Electroscopia 1996. Bern Eggen. [www.slb.com/es](http://www.slb.com/es).

Guidelines for Industrial Radiation Sterilization of Disposable Medical Products  
(Cobalt -60 Gamma Irradiation). November 2002.

<http://iaea.org/worldatom/press/News/2002/11-5-859279.htm>

Labconco Corporation. Kansas City, Missouri 2003.

[www.labconco.com/pdf/freezone.pdf](http://www.labconco.com/pdf/freezone.pdf).

Radiaciones ionizantes y cáncer. Radiación y efectos biológicos. Diciembre  
2002. [www.tuotromedico.com/temas/radiaciones\\_ionizantes.htm](http://www.tuotromedico.com/temas/radiaciones_ionizantes.htm)

[www.cne.gov.ar/tecno/co60/folletos/cobalt1.htm#co#co](http://www.cne.gov.ar/tecno/co60/folletos/cobalt1.htm#co#co)

## ANEXO 1

RECOLECCIÓN DE DATOS DE LOS PACIENTES A LOS CUALES SE LES REALIZARON LAS EXODONCIAS. ( Anexo 1).

<b>PACIENTE 1</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>PREMOLARES</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>ORTODONCIA CORRECTIVA</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>14, 24, 34, 44</b>

<b>PACIENTE 2</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>MOLARES</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>DESOCCLUSION</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>18, 38</b>

<b>PACIENTE 3</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>PREMOLARES</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>MALPOSICION</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>15, 25</b>

<b>PACIENTE 4</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>CANINO</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>ORTODONCIA</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>13</b>

<b>PACIENTE 5</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>CANINO</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>INCLUIDO</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>23</b>

<b>PACIENTE 6</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>PREMOLARES</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>ORTODONCIA</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>14, 24</b>

<b>PACIENTE 7</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>PREMOLARES</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>ORTODONCIA</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>34, 44</b>

**PACIENTE 8**

<b>PACIENTE 8</b>	
<b>TIPO DE DIENTE</b>	<b>PREMOLARES</b>
<b>MOTIVO DE LA EXODONCIA</b>	<b>ORTODONCIA</b>
<b>NUMERO DE DIENTES</b>	<b>35, 45</b>