



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE INTERLEUQUINA IL-4 E  
INTERFERÓN GAMMA INF- $\gamma$  EN PULPAS DENTALES DESPUÉS DE UTILIZAR  
IONÓMERO DE VIDRIO COMO BASE INTERMEDIA**

HELBERT EDUARDO CARREÑO HIGUERA  
LUISA FERNANDA PUERTO RODRIGUEZ  
ANGELICA LILIANA RIVERA AMADO  
ORIANA ROJAS MARTINEZ

**INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO. BOGOTA  
POSTGRADO DE ENDODONCIA  
BOGOTA D.C.**

**II – 2008**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE INTERLEUQUINA IL-4 E  
INTERFERÓN GAMMA INF- $\gamma$  EN PULPAS DENTALES DESPUÉS DE UTILIZAR  
IONÓMERO DE VIDRIO COMO BASE INTERMEDIA**

HELBERT EDUARDO CARREÑO HIGUERA  
LUISA FERNANDA PUERTO RODRIGUEZ  
ANGELICA LILIANA RIVERA AMADO  
ORIANA ROJAS MARTINEZ

**ASESOR CIENTIFICO  
DR. VICTOR JAVIER CHAMORRO MICOLTA  
OD. ENDODONCISTA**

**ASESOR METODOLOGICO  
DRA. CLAUDIA HURTADO**

**ASESOR ESTADISTICO  
DRA CLARA LOPEZ DE MESA**

**INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO. BOGOTA  
POSTGRADO DE ENDODONCIA  
BOGOTA D.C.**

**II - 2008**



**DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE INTERLEUQUINA IL-4 E  
INTERFERÓN GAMMA INF- $\gamma$  EN PULPAS DENTALES DESPUÉS DE UTILIZAR  
IONÓMERO DE VIDRIO COMO BASE INTERMEDIA**

HELBERT EDUARDO CARREÑO HIGUERA  
LUISA FERNANDA PUERTO RODRIGUEZ  
ANGELICA LILIANA RIVERA AMADO  
ORIANA ROJAS MARTINEZ

**Trabajo de Grado para optar por el Título de Endodoncista**

**ASESOR CIENTIFICO  
DR. VICTOR JAVIER CHAMORRO MICOLTA  
OD. ENDODONCISTA**

**ASESOR METODOLOGICO  
DRA. CLAUDIA HURTADO**

**ASESOR ESTADISTICO  
DRA CLARA LOPEZ DE MESA**

**INSTITUCIÓN UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO. BOGOTA  
POSTGRADO DE ENDODONCIA  
BOGOTA D.C.**

**II - 2008**



*Determinación de la presencia de interleuquina IL-4 e interferón gamma INF - y  
en pulpas dentales después de utilizar ionómero de vidrio como base  
intermedia*

**INVESTIGADORES**

HELBERT EDUARDO CARREÑO HIGUERA  
LUISA FERNANDA PUERTO RODRIGUEZ  
ANGELICA LILIANA RIVERA AMADO  
ORIANA ROJAS MARTINEZ

**Asesor Científico**

Victor Javier Chamorro Micolta

**Asesor Metodológico**

Claudia Hurtado, M

**Asesor Estadístico**

Clara Lopez De Mesa

**BOGOTA D.C.**

**II - 2008**

## 1. ASPECTOS TEORICOS CIENTIFICOS.

### 1.1 PROBLEMA

“Las citocinas se producen durante las fases efectoras de la inmunidad natural y específica, sirven para mediar y regular las respuestas inmunitarias e inflamatorias “(Abbas 2 edición). Son derivadas de las células T y se producen en respuesta al reconocimiento específico de antígenos extraños, la IL4 desempeña una función importante en las reacciones inflamatorias mediadas por IgE y eosinófilos puesto que estimulan moléculas de adhesión vascular (VCAM-1) sobre las células endoteliales produciendo una cantidad elevada de IL4 induciendo una reacción inflamatoria. El interferón Gamma promueve las reacciones inflamatorias ricas en Th1 (Helper 1) y macrófagos, a la vez que suprimen las reacciones ricas en Th2 (Helper 2) y eosinófilos. (Abbas 2 edición).

La elaboración de una cavidad produce un aumento no controlado de la temperatura y el estímulo mecánico produce una respuesta pulpar inflamatoria con un desplazamiento de los núcleos odontoblasticos hacia los túbulos dentinarios como resultado del aumento de la presión pulpar y lesión en la membrana celular. En cavidades profundas se puede llegar a lesionar directamente las prolongaciones odontoblasticas (Marion 1991).

La biocompatibilidad de los materiales dentales para procedimientos restaurativos es de gran importancia, pero la inconsistencia de muchos estudios en lo concerniente a biocompatibilidad, es materia de debate en cuanto al material de elección. En un estudio de cultivo celular con referencia a la capacidad citotóxica de los cementos de Ionómero y otros agentes restaurativos demostró que son citotóxicos y que esta citotoxicidad se vio reducida después de 6 semanas. (Investigaciones presentadas acerca del Ionómero de vidrio refieren estar indicados en tratamientos de restauraciones para preservar la estructura dental y como protectores pulpares.

El cemento de Ionómero de vidrio tiene óptimas características como Actividad mecánica, biocompatibilidad, liberación de flúor, contracción volumétrica y un

componente de expansión térmica similar a la del diente. (Dasilva, R.2006, Schedle A. 1998)

Finalmente, la actividad inflamatoria de la pulpa dental y la respuesta a la colocación de cementos como ionómero de vidrio dependerá de la preparación cavitaria y de las variables en la restauración realizada en presencia o ausencia de bacterias.<sup>14</sup>

Con base a lo anterior, el objetivo de esta investigación, es determinar la presencia de IL4 e Interferón gamma, en pulpas de dientes humanos posterior a la utilización del ionómero de vidrio como base intermedia.

### **1.3 IMPACTO**

El propósito de este estudio es determinar la presencia de IL4 e IFN –y producidas en el tejido pulpar humano durante los procedimientos restaurativos en preparaciones cavitarias clase V utilizando el ionomero de vidrio como base intermedia.

### **1.2 MARCO TEORICO**

La pulpa dental se compone de tejido conectivo suelto revestido por paredes rígidas de dentina. Debido a su topografía el tejido intersticial tiene baja conformidad y limitada capacidad para ampliarse durante cambios de volumen de líquidos. Debido a las limitaciones sobre el acceso del líquido intersticial la habilidad limitada para expandirse puede comprometer severamente la circulación sobre condiciones que aumenten el volumen del fluido ocurriendo cambios inflamatorios como hiperemia e incremento de la filtración de fluido (Athanasia Bletsa et al 2006), la primera reacción vascular durante la pulpitis es la vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular (Kerezuodis et al 1993,Heyereaas et al 1994).

La pulpa dental es un tejido único que presenta células altamente especializadas que incluyen odontoblastos, fibroblastos, células presentadoras de antígenos, fibras de tejido conectivo y células del sistema inmune. La pulpa contiene todos los componentes para producir una respuesta de defensa a diferentes estímulos, incluyendo la inflamación pulpar. La respuesta se caracteriza por la acumulación de células como macrófagos y leucocitos polimorfo-nucleares, las cuales liberan sustancias mediadoras que inducen una respuesta inflamatoria aguda en el diente. Toda agresión a la pulpa ya sea por confección de cavidades, materiales dentales o caries produce una reacción inflamatoria e inmunitaria.

Además de los mediadores bien definidos de la inflamación como los péptidos fibrinolíticos, neuropéptidos, enzimas lisosomales, componentes del complemento y metabolitos del ácido araquidónico están las citoquinas que son glucoproteínas segregadas como consecuencia de la estimulación celular con bajo peso molecular, no están almacenadas en la célula, se producen localmente, interactúan con los receptores celulares de superficie que conducen a un cambio en los patrones del ARN celular y en la síntesis proteica y el comportamiento celular. (Cohen)

Los primeros estudios acerca de las citoquinas van desde 1950 a 1970, en esta época se descubrieron interferones antivirales, pirógenos productores de fiebre y factores activadores de macrófagos, y a partir de los 70's se genera una hipótesis que las citocinas eran sintetizadas principalmente por leucocitos y actuaban básicamente sobre otros leucocitos y por ello podrían denominarse interleuquinas, los 80's fue la época de oro de la investigación de las citocinas (citoquinas).

Las citoquinas se producen durante las fases efectoras de la inmunidad natural y específica y sirven para mediar y regular las respuestas inmunitarias e inflamatorias (Abbas).

En la inmunidad natural los lipopolisacáridos (LPS) estimulan los fagocitos mononucleares a secretar sus citoquinas mientras que las citoquinas derivadas de las células T se producen en respuesta al reconocimiento específico de antígenos extraños. Existen 4 clases de citoquinas específicas:

1. Mediadoras de la inmunidad natural que son desencadenadas por agentes infecciosos a partir de fagocitos mononucleares.
2. Reguladoras de la activación, proliferación, y diferenciación linfocitaria que surgen en respuesta al reconocimiento de antígenos específicos por los linfocitos T.
3. Reguladoras de la inflamación de origen inmunitario que activa a células inflamatorias inespecíficas en respuesta a antígenos específicos por los linfocitos T.
4. Estimuladoras de proliferación y diferenciación de los leucocitos inmaduros que son producidos por linfocitos estimulados y otras células.

El interferón gamma llamado también interferón tipo II, es una glucoproteína homodimétrica (que contiene subunidades de aproximadamente 21 a 24 KD ,Lo producen las células T cooperadoras CD4+ nativas ( TH<sub>0</sub>),TH1 y casi todas las células T CD8+, tiene varias propiedades relacionadas con la inmunorregulación. Es un potente activador de los fagocitos mononucleares lo que permite a los macrófagos matar células tumorales (MAF fagocitos activadores de macrófagos), es también un activador de células endoteliales vasculares, promoviendo la adhesión de los linfocitos CD4+ y los cambios morfológicos necesarios para facilitar su extravasación, también potencia muchas de las acciones de TNF (factor de necrosis tumoral) sobre las células endoteliales. (Abbas)

“El efecto neto del interferón gamma es promover las reacciones inflamatorias ricas en TH1y macrófagos a la vez que suprimen las reacciones ricas en TH2 y eosinofilos.”(Abbas)(Bletsa 2004)

TH1 secretan células INF $\gamma$ - $\alpha$  y IL12 promueven la respuesta celular inmune e inflamatoria contra microbios intracelulares mientras que las células TH2 secretan IL4,IL5,IL10 e IL13,inducen IgG, IgE,mediando la respuesta humoral y son importantes para la eliminación de grandes parásitos extracelulares; la IL2 e IL4 manejan la diferenciación de células nativas T CD4+ hacia los efectos celulares TH1 o TH2.(Zhinan Yin-2000), son herméticamente reguladas para que el desarrollo de un subconjunto sea inhibido por citoquinas producidas por otras, las

citoquinas TH2, IL4 e IL10 suprimen el desarrollo de TH1 inhibiendo la producción de INF gamma e IL12 limitando el crecimiento de células TH2..(Zhinan Yin-2000, Haug, Heyeraas 2006).

La interleuquina 4 (IL4) es un miembro de las citoquinas  $\alpha$  helicoidales, y su receptor es una proteína de 130KD que contiene la estructura WSXWS, su principal función es la regulación de las reacciones alérgicas.

Las principales fuentes celulares de IL4 son los linfocitos T CD4+, específicamente del subgrupo TH2, desempeña también una función importante en las reacciones inflamatorias mediadas por IgE y los eosinófilos, ya que estimulan la expresión de ciertas moléculas de adhesión celular vascular (V-CAM1) sobre células endoteliales, lo que produce mayor adhesión de los linfocitos, monocitos y eosinófilos por lo cual las concentraciones elevadas de IL4 inducen reacciones inflamatorias. (Abbas)

Entre las reacciones básicas que tienden a proteger la pulpa de caries, preparaciones cavitarias, materiales dentales, están las reacciones inflamatorias e inmunitarias, la respuesta de la pulpa a la preparación cavitaria depende de muchos factores, entre ellos se incluyen las de tipo térmico, producidas por el calor de fricción, la transección de los procesos de odontoblastos, la vibración, la desecación de la dentina, la exposición pulpar, el barrillo dentinario, el grosor de la dentina remanente y el grabado ácido. Los materiales irritantes o tóxicos producen una respuesta pulpar incrementando o disminuyendo el flujo de sangre, los metabolitos bacterianos también pueden generar una reacción inflamatoria en presencia de caries. (Cohen)

La elaboración de una cavidad produce un aumento no controlado de la temperatura pulpar y el estímulo mecánico produce una respuesta inflamatoria con un desplazamiento de los núcleos odontoblasticos hacia los túbulos dentinarios como resultado del aumento de la presión pulpar y la lesión de la membrana celular. Algunas investigaciones han demostrado que la injuria pulpar generada durante la preparación cavitaria y la restauración está determinada por la velocidad de rotación de la fresa (Hatton 1994). En cavidades profundas se puede llegar a lesionar directamente las prolongaciones odontoblasticas (Marion 1991).

A nivel del canal radicular los odontoblastos se encuentran ampliamente distribuidos con grandes espacios intercelulares y gran cantidad de material fibrilar (Marion 1991).

La lesión pulpar se vuelve más grave a medida que la preparación se profundiza debido a que el corte de las prolongaciones odontoblasticas es capaz de causar daño a los odontoblastos. Se ha demostrado en estudios histológicos que un espesor de dentina remanente mayor a 2mm no produce ninguna o muy poca respuesta pulpar. (Stanley 1959). Una reducción de tejido, cerca de la unión dentina-esmalte, tiene como respuesta probable una leve irritación, sin influencia clínica. (Mezzomo 2006).

Realizando un análisis morfométrico de odontoblastos humanos, se encontró que el número total de estas células en la pulpa disminuye a medida que se reduce el grosor de la dentina remanente luego de preparaciones cavitarias clase V. El promedio en el número de odontoblastos en una cavidad con dentina remanente menor a 0.25 mm es 23% menos que con un grosor de dentina entre 0.25 y 0.5 mm, observándose leve actividad inflamatoria (About 2001) y ninguna alteración en el número de odontoblastos en cavidades que mantienen por lo menos 0.5 mm de dentina remanente. (Murray 2000).

El Corte de los túbulos dentarios o las prolongaciones odontoblasticas, origina cambios en el protoplasma lesionado, que a su vez causa la salida del líquido. El movimiento de líquidos desplaza el núcleo odontoblástico al interior de los túbulos dentinarios mediante una acción capilar. (Brannstrom 1963).

Cuando se examina histológicamente la pulpa dental después de una operación, como el corte dentinario, la capa odontoblástica, subyacente a la preparación muestra cambios característicos que pueden atribuirse al exudado líquido que incluyen: desplazamiento de los núcleos odontoblásticos, alteración de la membrana pulpo-dentaria y diferentes grados de inflamación pulpar. (Peyton 1999).

En cavidades profundas donde el espesor remanente dentinario entre la cavidad y la cámara pulpar es muy delgado (1.0 mm), el adhesivo fluye a través de los túbulos dentinarios hasta penetrar a la pulpa causando una reacción inflamatoria

crónica con dilatación vascular, zonas de necrosis, y nula formación del puente dentinario. Este proceso es asintomático con ausencia de signos patológicos radiográficos (Espinosa 2006).

La biocompatibilidad de los materiales dentales es para el Odontólogo y el especialista de gran importancia, pero la inconsistencia de muchos estudios en lo concerniente a biocompatibilidad es materia de debate sobre cuál material es el ideal para realizar un procedimiento restaurativo. Un estudio de cultivo celular con referencia a la capacidad citotóxica de los cementos de Ionómero de vidrio y otros agentes restaurativos demostró que son citotóxicos pero que esta citotoxicidad se reducía después de 6 semanas (Andreas schedle 1999).

El cemento de Ionómero de vidrio tiene óptimas características como actividad mecánica, biocompatibilidad, liberación de flúor lo que lo convierte en un material anticariogénico. Contracción volumétrica y un componente de expansión térmico similar a la del diente. (Dasilva, R.2006, Schedle A. 1998) mirar Los cementos de ionómero de vidrio fueron descritos por primera vez por Wilson y Kent en Inglaterra en 1972, quienes investigaron la reacción de fraguado de un polvo de vidrio alúmino silicato y la solución de un ácido poliacrílico. (Wilson, A.; Kent, B; 1972, Haruyuki 1979). Posteriormente fueron desarrollados para su uso clínico por Mc Lean y Wilson en 1974. Tenían como objetivo la combinación de las propiedades positivas de los cementos de silicato, de las resinas compuestas y de los cementos de Policarboxilato. (Mc Lean, J.; Wilson, A; 1974). Al producto original se le dio el nombre de ASPA (Aluminio-Silicato-Poliacrilato), en el cual ciertamente se combinaron todas las propiedades mencionadas anteriormente. Kent y cols, en 1973, reportaron los resultados de un estudio "in vitro" de un ASPA, corroborando todo lo antes mencionado. (Kent, B.; Lewis, B.; Nilson, A; 1973).

El primer ionómero de vidrio restaurador estéticamente aceptado fue el Fuji II®, el cual presentó mejores propiedades físicas que los materiales anteriores. (Albers, H 1988) Posteriormente los cementos de ionómero de vidrio experimentaron el mayor cambio en su evolución: se sumaron componentes que experimentaron su polimerización mediante la luz. (Albers, H; 1988).De estos el primer producto en

aparecer en el mercado fue el Vitrebond ® de la casa dental 3M, en cuya formulación probablemente contenga cristales de estroncio, capaces de liberar flúor y un líquido, que es una solución acuosa del ácido poliacrílico. Al líquido se le añade 2 hidroxietil metacrilato (HEMA). (Mc Lean, J.: 1992)

La modificación más importante de los cementos de ionómero de vidrio, ha sido la incorporación de componentes resinosos, dando paso así a los nuevos ionómeros de vidrio modificados con resina los cuales fueron introducidos en el mercado entre los años 1993 y 1994, pudiendo ser utilizados como materiales de restauración definitiva. Estas y otras modificaciones a través de los años han mejorado sus características de manipulación y sus propiedades físicas. (Albers, H; 1988). Entre estos productos se mencionan el Variglass ®, el Fuji II L.C ®, de la G.C Corporation y el Vitremer ® de la casa dental 3M.

Mucho se ha discutido sobre las ventajas y desventajas de este material, debido a que presenta adhesión al tejido dentario pero a su vez no presenta muy buenas características mecánicas si es comparado con otros materiales de obturación, como la resina o la amalgama. (Mc Lean, J.; Wilson, A; 1974). Su composición química está formada por ácido poliacrílico entre el 30 y el 50% con otros aditivos como el ácido itacónico para potenciar algunas propiedades o copolímeros de líquidos acrílicos. Algunos contienen ácido tartárico o maleico, que actúan como agentes aceleradores o endurecedores y/o ácido vinil fosfórico. Estos poliácidos de alto peso molecular muestran buena afinidad con el órgano dentino pulpar. (Torres Jaime.2001), El líquido, aunque no es una evidencia demostrada, tiene la capacidad de mostrar enlaces de hidrógeno con el colágeno y con el calcio. El polvo, es un vidrio de alúmino-silicato y otros componentes que mejoran sus características, con una fórmula de vidrio de fluoruro-alúmino-silicato de calcio.

Dentro de sus propiedades físicas el módulo flexural es similar a la dentina al igual que el coeficiente de expansión térmica que es comparable al de la estructura del diente. La resistencia compresiva aumenta con el envejecimiento de la restauración debido a la incorporación de iones dentro de la matriz y de la cadena cruzada de estas. A pesar que la resistencia de un ion a la dentina (2 a 3 Mpa), es mucho más baja que las resinas, los estudios clínicos han demostrado

que su retención en áreas de erosión cervical es considerablemente mejor que las resinas. Sus ventajas más sobresalientes son: Liberación de flúor, efecto anticariogénico, afinidad con el sustrato dentario, mayor adhesión potencial a los tejidos dentarios, baja reacción exotérmica, no presentan contracción de polimerización, no contienen monómero libre, estabilidad dimensional en humedad relativamente alta.

El ionómero de vidrio ha demostrado presentar buenas características de adhesión debido a la quelación que forma con los iones de calcio de la estructura dentaria y por ende haciendo una unión química con éste. (Guzmán H, 1999). La capacidad de adhesión y de liberación del flúor permitió su amplia utilización como base, sellador, material para muñones o cavidades clase II o V, tratamientos endodónticos, cemento de restauraciones rígidas o bandas ortodóncicas.

El cemento de vidrio ionómero es biocompatible con el complejo dentino-pulpar, lo que significa que es bien tolerable y produce pocos daños al tejido pulpar por las siguientes razones: a) Los ácidos poliacrílicos son mucho más débiles que el ácido fosfórico o sea que los iones COOH son menos tóxicos que los iones H del ácido fosfórico. b) El ácido poliacrílico tiene mayor peso molecular, lo que limita su difusión en el interior de los túbulos dentinarios. (Torres Jaime.2001) se utilizan como liners, base intermedia, reconstructor de muñones, material restaurativo, material cementante. Mientras que algunos de estos materiales son considerados de doble curado, materiales tales como el Fuji II LC ®, y el Vitremer®, tienen una reacción de polimerización tricurada. (Vaikuntam, J.:1997)

Se han realizado estudios comparando la Microfiltración de varios materiales de obturación temporal dentro de los cuales han evaluado el Cavit, Cavit G, TERM, fosfato de zinc, Policarboxilato, IRM y ionómero de vidrio, utilizando una técnica de filtración de fluidos, encontrando que los valores de Microfiltración para el Cavit, Cavit G, el IRM, el TERM y los cementos de ionómero de vidrio todos dan un excelente selle contra la Microfiltración. (Turner J. 1990)

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 OBJETIVO GENERAL**

Cuantificar la presencia de interleuquina 4 (IL-4) e interferón gamma (IFN  $\gamma$ ) en el tejido pulpar humano para observar la respuesta inflamatoria luego de la utilización del ionómero de vidrio como base intermedia en cavidades clase V.

## **1.6 HIPOTESIS**

### **1.6.1 HIPOTESIS NULA**

No existe un aumento en la expresión de citoquinas en tejido pulpar de dientes humanos utilizando Ionómero de vidrio como base intermedia.

### **1.6.2 HIPOTESIS ALTERNATIVA**

Existe un aumento en la expresión de citoquinas en tejido pulpar de dientes humanos utilizando ionómero de vidrio como base intermedia.

## **2. ASPECTOS METODOLÓGICOS**

### **2.1 TIPO DE ESTUDIO**

Ensayo clínico controlado aleatorio ciego

### **2.2 POBLACIÓN**

22 dientes premolares con exodoncias indicadas con fines ortodónticos de la institución Universitaria Colegios de Colombia

### **2.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

#### **2.3.1 Criterios de Inclusión**

- Dientes humanos de pacientes donadores en un rango de edad entre 14 y 25 años.

- Características específicas clínicas y radiográficas de los dientes: sanos y ápices cerrados.
- Dientes sanos sin ningún tipo de restauración

### 2.3.2 Criterios de Exclusión

- Pacientes sistémicamente comprometido

### 2.4 MUESTREO-MUESTRA

- Muestreo por conveniencia. se realizó la distribución de los dientes en cada grupo por aleatorización.
- Grupo 1 experimental: 11 primeros premolares superiores e inferiores con cavidad clase V, utilizando Ionómero de vidrio como base intermedia
- Grupo 2 control: 11 primeros premolares superiores e inferiores diente contralateral con cavidad clase v.

### 2.5 VARIABLES

Variable	Definición	Operacionalización	Escala de medición
<b>Liberación de citoquinas</b>	Respuesta celular ante un estímulo	Porcentaje	Discreta
<b>Exposición al tratamiento con Ionómero de vidrio</b>	Reacción pulpar ante la colocación del Ionómero de vidrio.	SI (exposición al tratamiento con IV)  NO (exposición al tratamiento con IV)	Nominal
<b>Profundidad de la cavidad</b>	Estandarizada a 2mm	Longitud mm	Discreta
<b>Edad</b>	14-25	Número de Años cumplidos	Discreta

## INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS

Liberación de citoquinas		Exposición al tratamiento con ionomero de vidrio	
IL-4 %	INF-g %	SI	NO

### 2.6 PROCEDIMIENTO

Inicialmente se solicitó autorización por escrito de los pacientes para utilizar los dientes extraídos como elementos para investigación. Previo a realización del estudio fue importante establecer la estandarización de todos los procedimientos para toma de muestras, la estandarización del operador se realizó confeccionando la apertura de cavidades en premolares extraídos tomando en consideración radiografía, profundidad de la cavidad (2X3mm), concordancia y precisión en cada una de ellas, la proximidad a pulpa dental, la habilidad del operador y el tiempo utilizado para el diseño de la cavidad (Índice de Kappa); se tomaron radiografías previas a 70 dientes, inicialmente seleccionaron 35 dientes divididos en 7 grupos de 5 dientes, posteriormente siete operadores realizaron cavidades clase I, con una pieza de alta velocidad de triple irrigación Cavo, utilizando fresas redondas de diamante # 2 con una profundidad de 2mm y fresa # 3 con una profundidad de 3mm, corroborando clínicamente y radiográficamente la profundidad con una sonda periodontal, se tomaron los 35 dientes restantes y se realizó el mismo procedimiento con cavidades clase V, de acuerdo a la observación clínica y radiográfica se determinó que por su proximidad a la pulpa dental sin depender de la anatomía oclusal que es dependiente de la posición de los cuernos pulpares, siendo la cavidad clase V más apropiada para el estudio.

Después de haber realizado las cavidades los dientes fueron enumerados, Se procedió a la selección del operador por lo cual un observador ajeno al estudio y

el director científico con experiencia y habilidad clínica evaluaron las cavidades desconociendo el orden de los operadores. Después de la observación clínica y radiográfica realizaron mediciones y comparaciones radiográficas respectivas, eligiendo el operador que acercaba al tamaño, forma, y profundidad de la preparación cavitaria y colocación del Ionómero de vidrio.

Posteriormente se procedió a la calibración del operador para la disección del diente para la extracción de la pulpa, para esto se utilizaron los 35 dientes con cavidad clase V , teniendo en cuenta la habilidad y el tiempo mínimo requerido para la disección del mismo.

Se selecciono el operador que realizo las exodoncias por su alta experiencia, habilidad y conocimiento.

**Prueba Piloto Determinante en el procedimiento a seguir y que define la metodología a realizar**

Previa extracción de los dientes se obtuvo consentimiento informado de los pacientes. El estudio experimental fue aprobado por el comité de ética institucional y de acuerdo a la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia fue clasificada sin riesgo.

### **Preparación de la muestra**

Inicialmente se tomo una radiografía periapical para determinar que no existiera ninguna patosis apical y presencia de caries, se utilizo anestesia sin vasoconstrictor pricanest 3% felipresina a nivel del nervio mentonero derecho e izquierdo; se realizo aislamiento del campo operatorio y se procedió a realizar una cavidad clase V con una fresa No.2 utilizando una pieza de mano de alta velocidad de triple irrigación (Kavo), con dimensiones de 2mm de profundidad y 3mm de ancho verificada con una sonda periodontal en ambos grupos, se coloco Ionómero de Vidrio tipo IV (Voco) en la cavidad del diente experimental, se esperó 10 minutos y posteriormente se realizo la Exodoncia. En el diente control se realiza el mismo procedimiento sin ionómero de vidrio.

## Procesamiento de la muestra

Obtenida la muestra se secciona el diente siguiendo el eje axial con fresa zecrya, el tejido pulpar expuesto se retira con cucharilla de black No. 5 y se coloca en el medio de transporte TransFix. Posteriormente se realizo la disgregación de la pulpa con mango de bisturí y hoja No. 15 en caja de petri, recolectando la muestra disgregada a 1 ml y transfiriéndola al medicons (Consul TS, Orbassano, Italy), para continuar la disgregación mecánicamente en el Medimachine (Consul TS, Orbassano, Italy) en 2 ciclos cada uno de 1 min.

Se recolectaron las células ya disgregadas por centrifugación, se re-suspendieron en 300  $\mu$ l de solución fijadora (eBioscience); este volumen fue alicuetiado en 3 tubos de polipropileno 12x75 (100  $\mu$ l por tubo), de la siguiente manera; tubo 1: células sin marcar; tubo 2: control isotipo; tubo 3: Anti FITC IL-4 y Anti PE INF-g. Se incubaron los tubos en esta solución por 20 min. a temperatura ambiente, posteriormente a los tubos 2 y 3 se les retiro el sobrenadante y se les adiciono solución de permeabilización (1:10, eBioscience), durante 5 min. Incubándolos a temperatura ambiente.

Se recolectaron por centrifugación y se adicionó nuevamente a cada tubo 100  $\mu$ l de la misma solución y se procedió a marcar con los fluorocromos; al tubo 2 se le adiciono 3  $\mu$ l de los isotipos control IgG-FITC e IgG PE, mientras que al tubo 3 se le agrego 3  $\mu$ l de Anti FITC IL-4 y 2  $\mu$ l de Anti PE INF-g. Igualmente a los tres tubos se les adiciono 7AAD para determinar la viabilidad celular de la muestra, estos tubos se incubaron 20 min. a temperatura ambiente y en cuarto oscuro; se realizo la lectura en el Citómetro de flujo (CyAN ADP 2 laser, 7 colores – Dako technologies) de los 3 tubos por diente (con ionómero y sin ionómero).

1. Se prepara las células de interés 100ml muestra
2. fijar las células 1ml de fijación e incubar T.A x 20M SIN LUZ.
3. 1ml de buffer permeabilizacion durante 5 min, se retira sobrenadante

4. 1ml de buffer permeabilización durante 5 min, se retira sobrenadante
5. Se re-suspende las células en 100ul de buffer permeabilización
6. Diluir la concentración óptima del fluorocromo en 20 ul de buffer de permeabilización
7. adicionar la cantidad apropiada al tubo (20ml) ,Mezclar
8. incubar a TEMPERATURA AMBIENTE oscuridad por 20min
9. Adicionar 1 ml de buffer permeabilización  
Se centrifuga durante 5 min. y se elimina el sobrenadante
10. se re- suspende el pellet en 0.5 ml de buffer de citometria
11. Análisis de muestra en el Citómetro

## **INSTRUMENTO PARA RECOLECCIÓN DE DATOS**

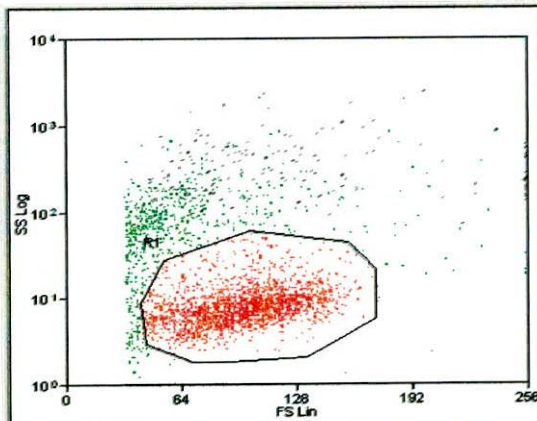
### FICHA TECNICA

1. Dividir la muestra en 3 tubos:
  - a) Muestra sin marcar.
  - b) Muestra + isotipos
  - c) Muestra + ACS
2. Fijar la muestra con 10 ml de solución sin fijación solo a los tubos 2 y 3.
3. Incubar 20 min a oscuridad; temperatura ambiente.
4. Adicionar 1 ml de solución de permeabilización.
5. Centrifugue 5 min, 250 rpm
6. Retire el "sbrite"
7. Resuspenda en 100 ul de solución de permeabilización.
8. Adicionar fluorocromos así:
  - a) IL-4 --- 10 ml            Isotipo IL-4 --- 10 ml
  - b) IN-F --- 10 ml        Isotipo INF --- 10 ml
9. Incube 20 minutos. Temperatura ambiente.
10. ?? Paso adicional:
  - a) Agregar 1 ml de solución de permeabilización

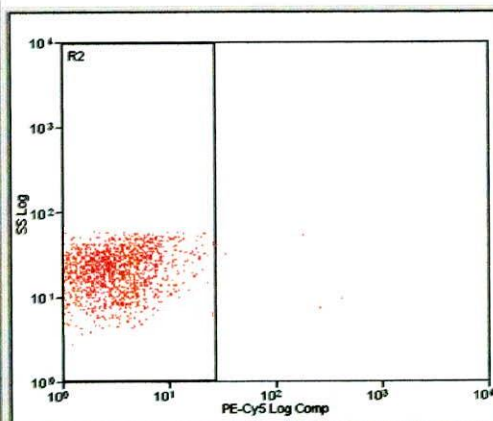
a) Centrifugar 5 minutos, 2500 rpm

b) Descartar

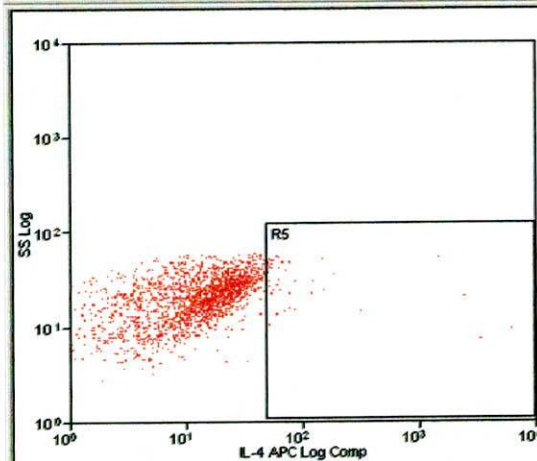
1. Agregar 500 ml de PBS.
2. Encienda el aire acondicionado.
3. Encienda el citometro



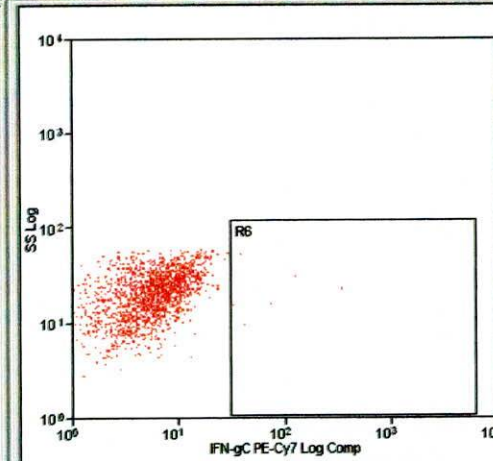
Region	Count	% Hist	% All
Total	3137	100.00	100.00
R1	2181	69.53	69.53



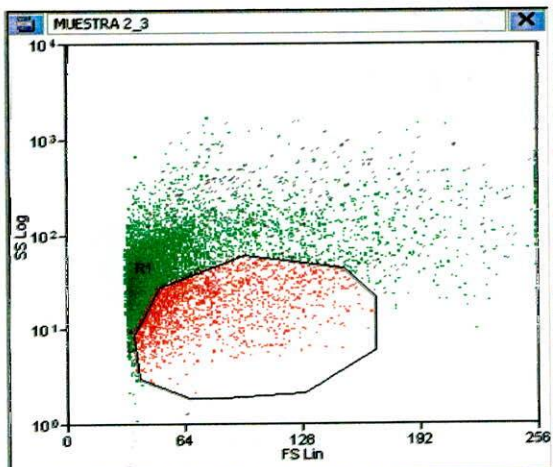
Region	Count	% Hist	% All
Total	1781	100.00	9.85
R2	1776	99.72	9.82



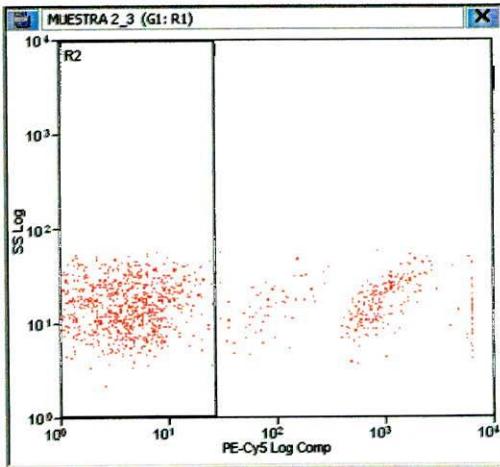
Region	Count	% Hist	% All
Total	1781	100.00	9.85
R5	54	3.03	0.30



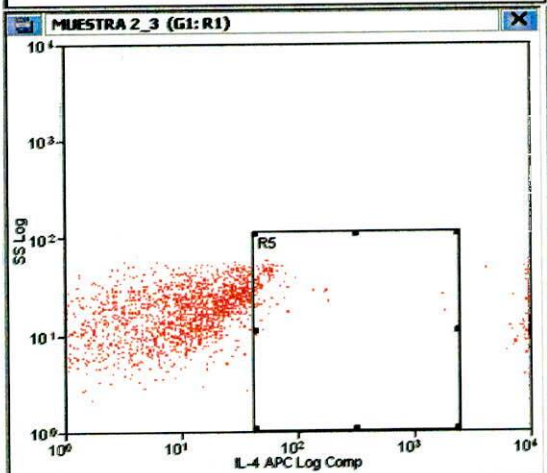
Region	Count	% Hist	% All
Total	1781	100.00	9.85
R6	7	0.39	0.04



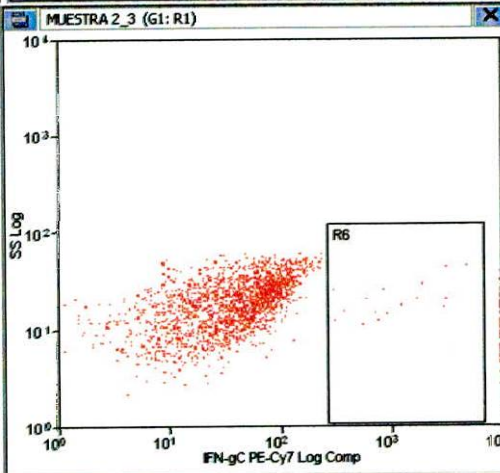
Region	Count	% Hist	% All
Total	12109	100.00	100.00
R1	2177	17.98	17.98



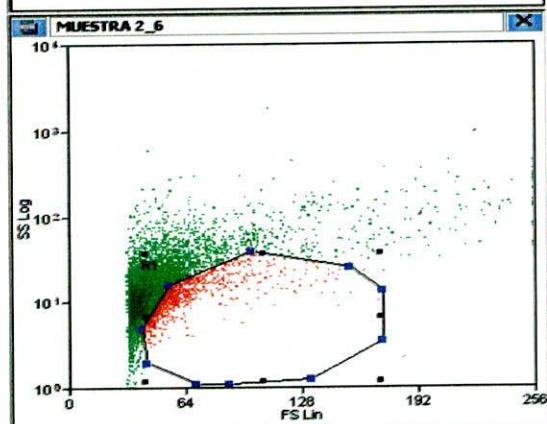
Region	Count	% Hist	% All
Total	2177	100.00	17.98
R2	1891	86.86	15.62



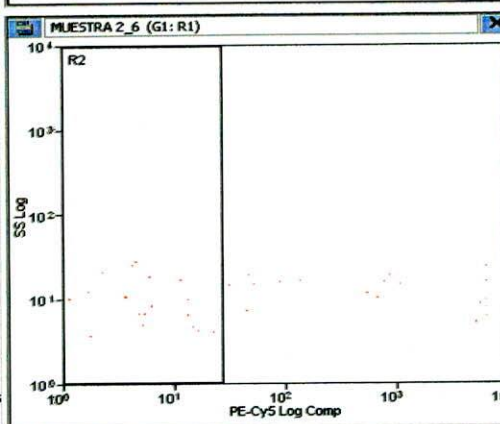
Region	Count	% Hist	% All
Total	2177	100.00	17.98
R5	126	5.79	1.04



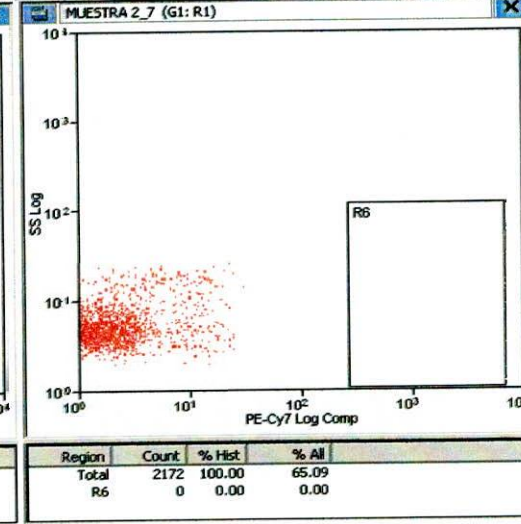
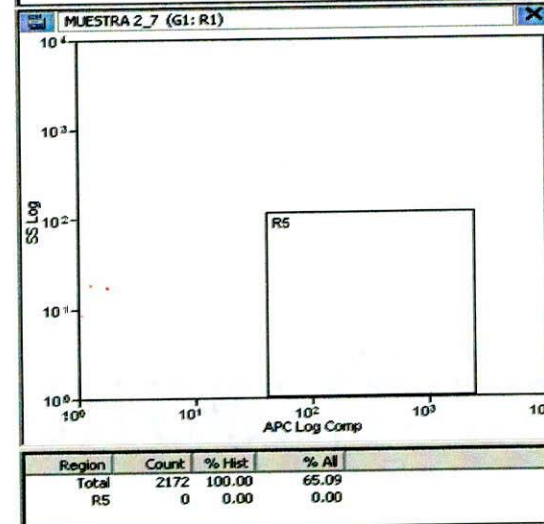
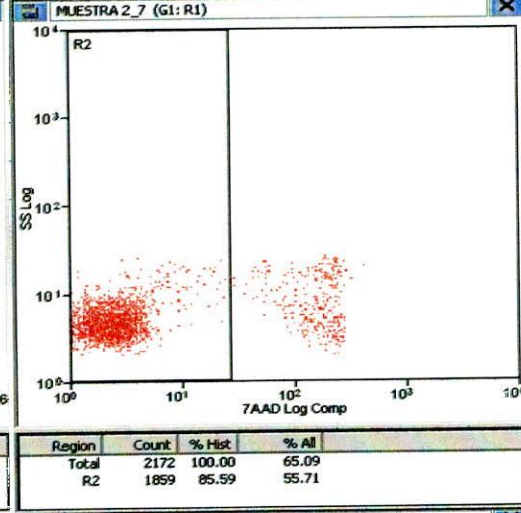
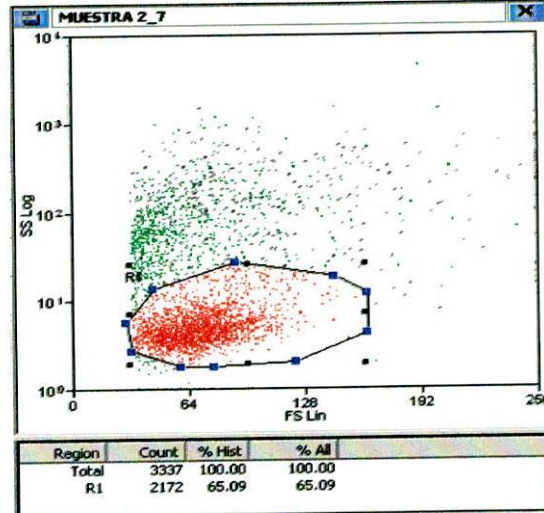
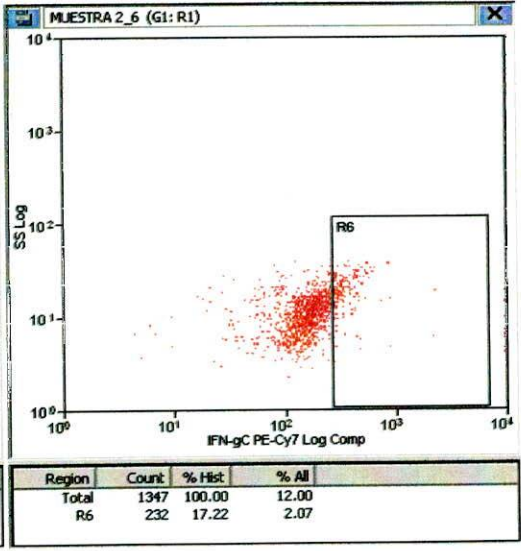
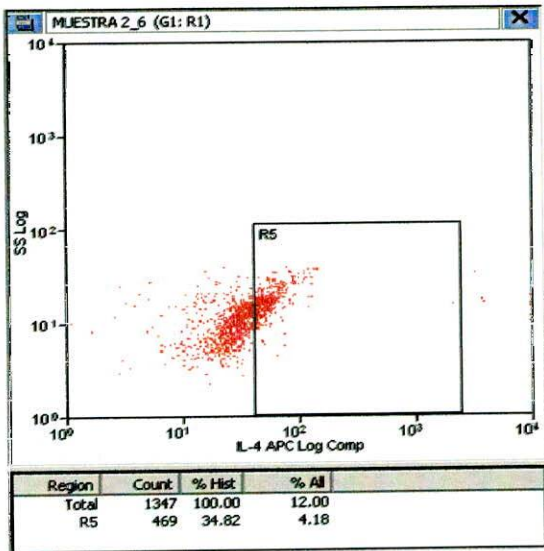
Region	Count	% Hist	% All
Total	2177	100.00	17.98
R6	16	0.73	0.13

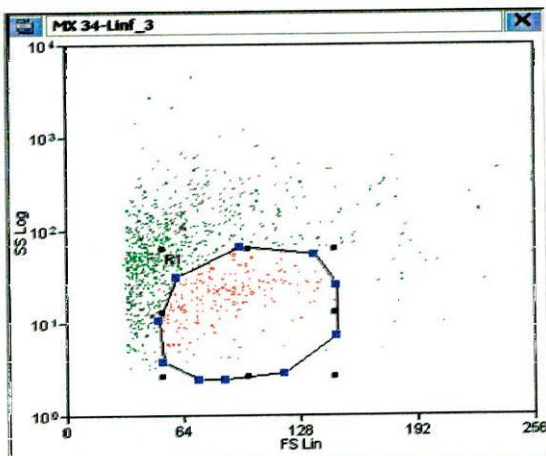


Region	Count	% Hist	% All
Total	11225	100.00	100.00
R1	1347	12.00	12.00

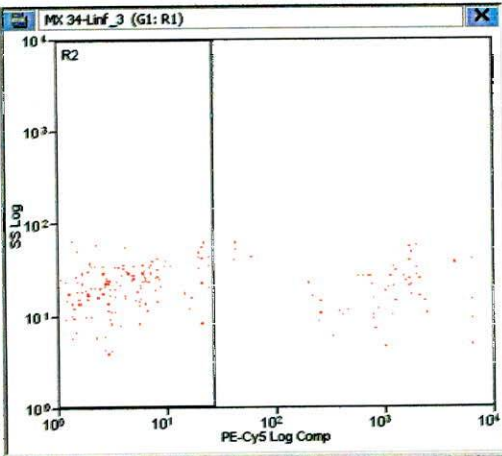


Region	Count	% Hist	% All
Total	1347	100.00	12.00
R2	1327	98.52	11.82

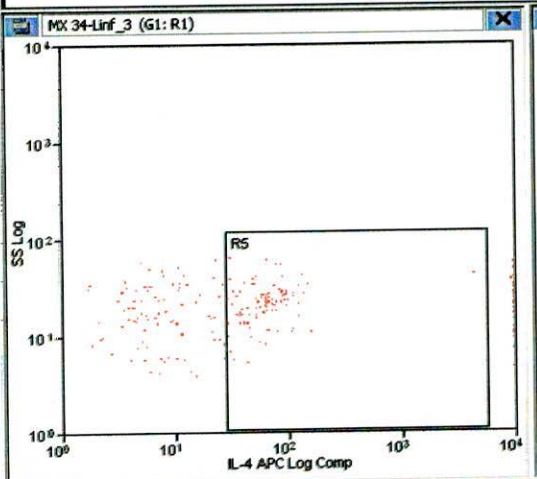




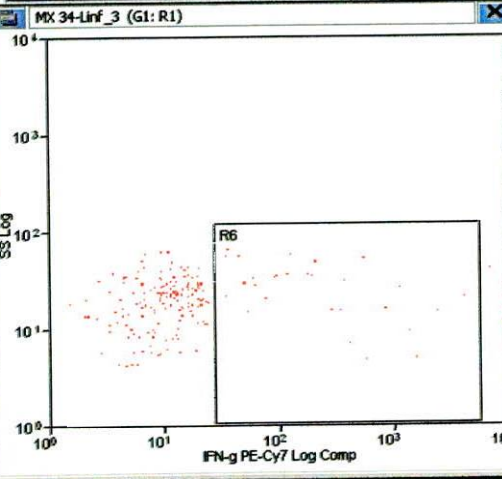
Region	Count	% Hist	% All
Total	1038	100.00	100.00
R1	228	21.97	21.97



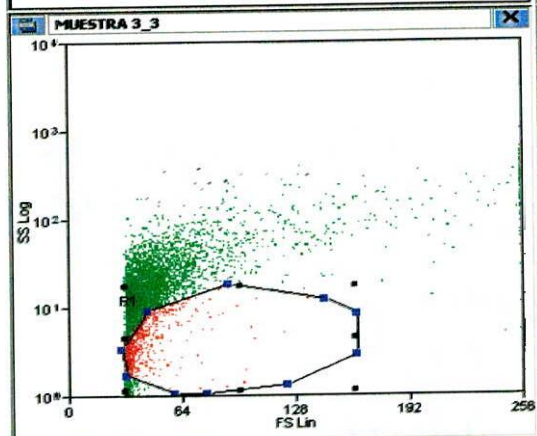
Region	Count	% Hist	% All
Total	228	100.00	21.97
R2	173	75.88	16.67



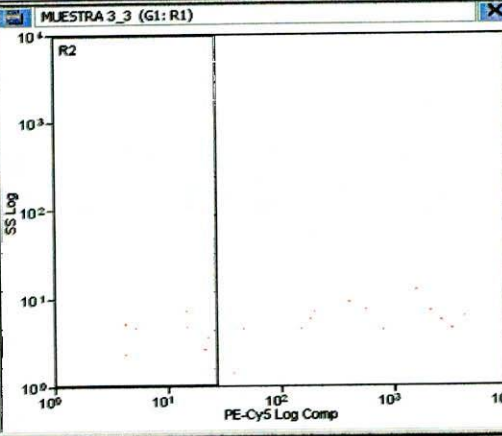
Region	Count	% Hist	% All
Total	228	100.00	21.97
R5	100	43.86	9.63



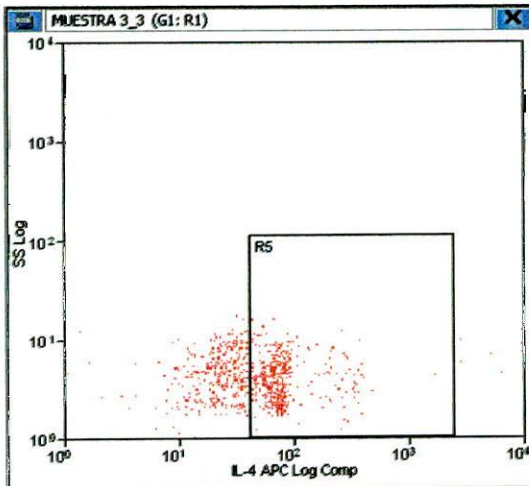
Region	Count	% Hist	% All
Total	228	100.00	21.97
R6	30	13.16	2.89



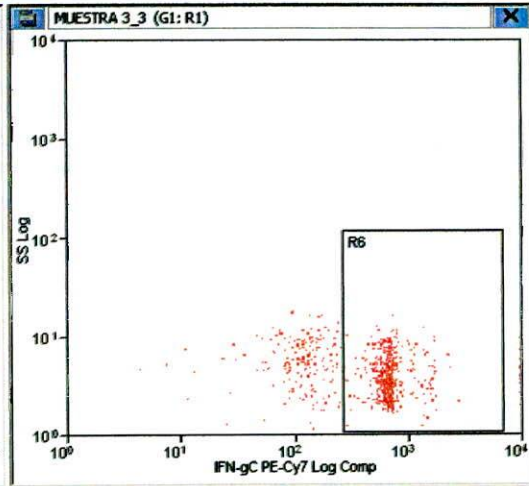
Region	Count	% Hist	% All
Total	5901	100.00	100.00
R1	788	13.35	13.35



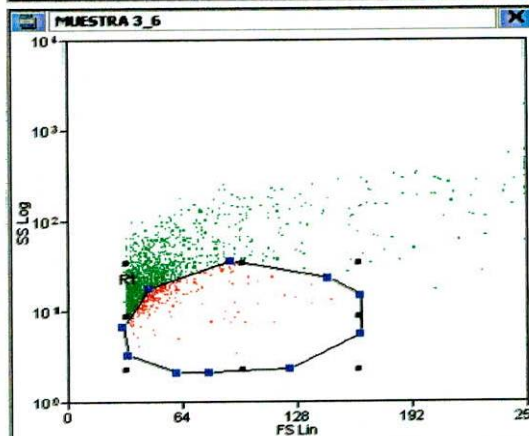
Region	Count	% Hist	% All
Total	788	100.00	13.35
R2	775	98.35	13.13



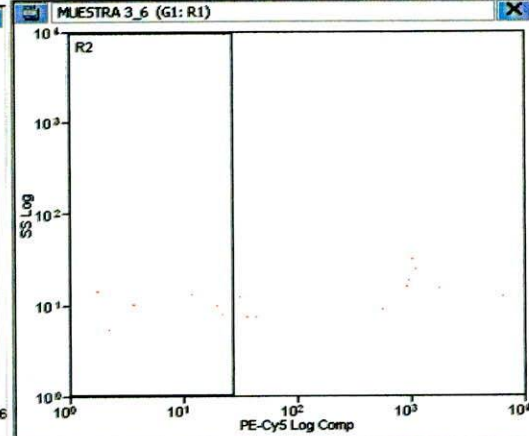
Region	Count	% Hist	% All
Total	788	100.00	13.35
R5	459	58.25	7.78



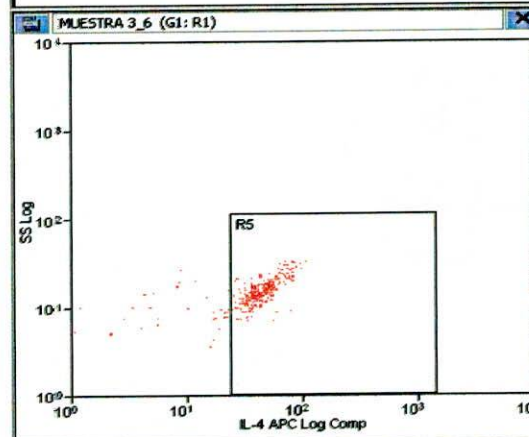
Region	Count	% Hist	% All
Total	788	100.00	13.35
R6	588	74.62	9.96



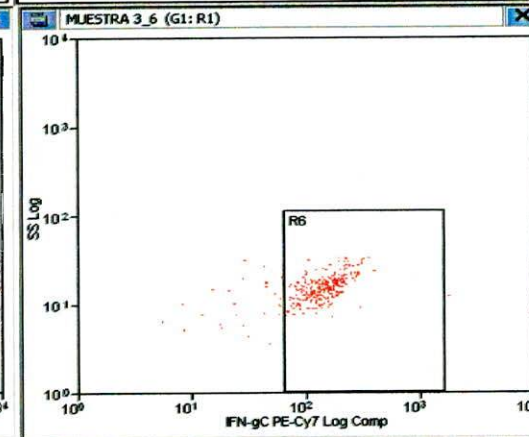
Region	Count	% Hist	% All
Total	1659	100.00	100.00
R1	318	19.17	19.17



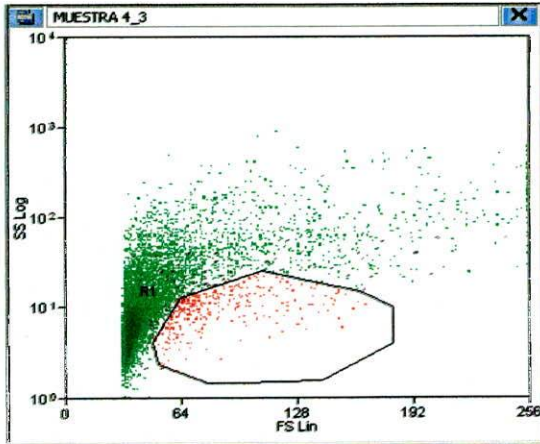
Region	Count	% Hist	% All
Total	318	100.00	19.17
R2	308	96.86	18.57



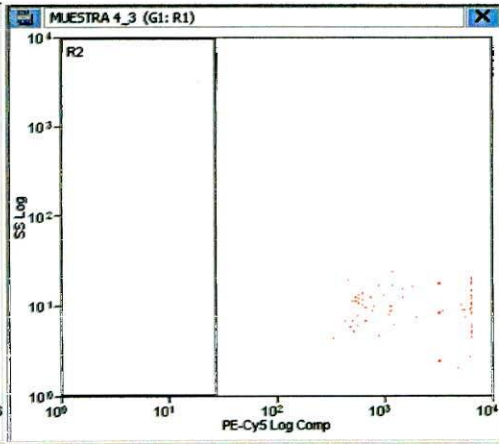
Region	Count	% Hist	% All
Total	318	100.00	19.17
R5	280	88.05	16.88



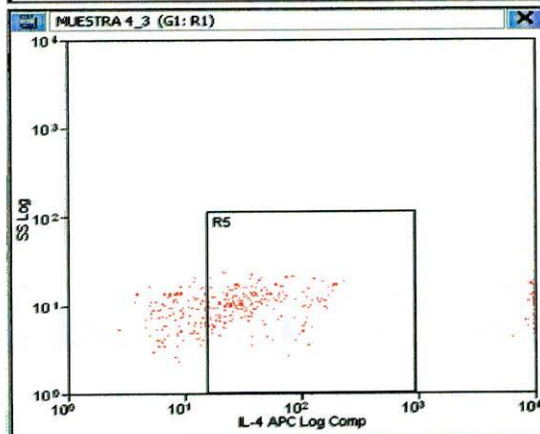
Region	Count	% Hist	% All
Total	318	100.00	19.17
R6	284	89.31	17.12



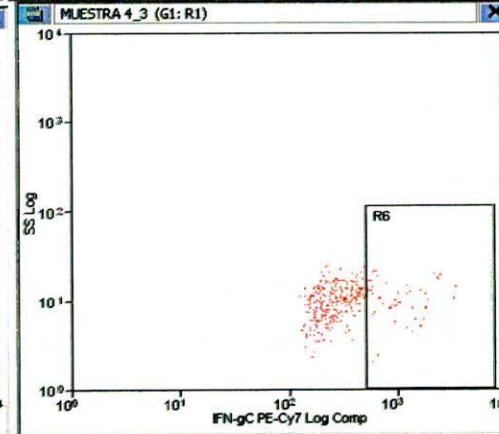
Region	Count	% Hist	% All
Total	12325	100.00	100.00
R1	366	2.97	2.97



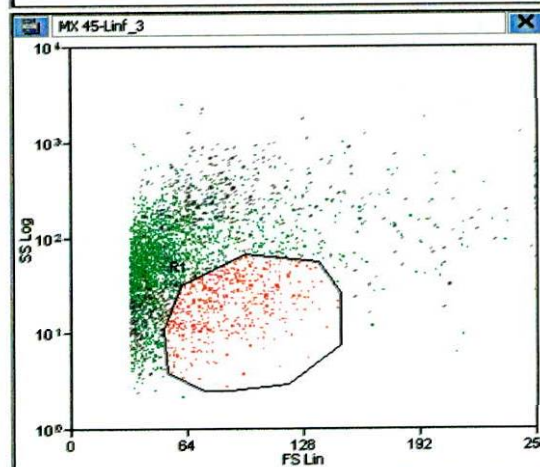
Region	Count	% Hist	% All
Total	366	100.00	2.97
R2	296	80.87	2.40



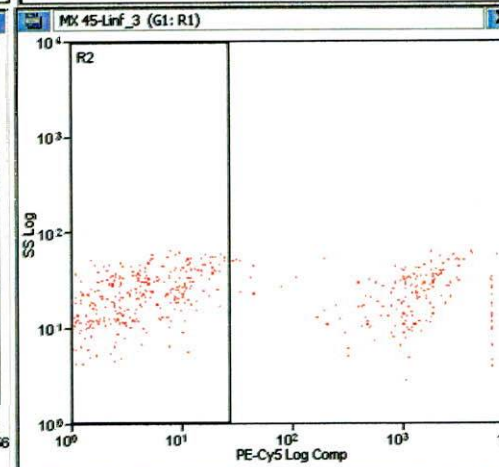
Region	Count	% Hist	% All
Total	366	100.00	2.97
R5	196	53.55	1.59



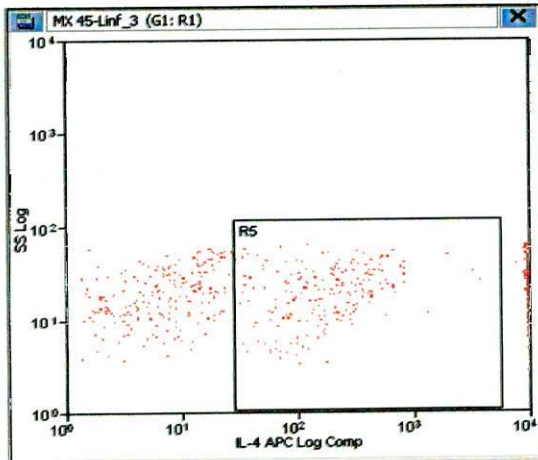
Region	Count	% Hist	% All
Total	366	100.00	2.97
R6	58	15.85	0.47



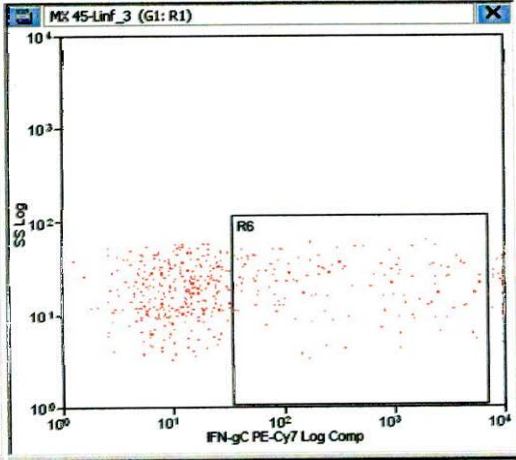
Region	Count	% Hist	% All
Total	3670	100.00	100.00
R1	584	15.91	15.91



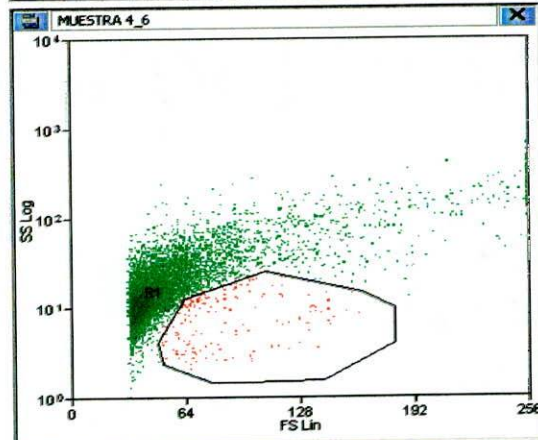
Region	Count	% Hist	% All
Total	584	100.00	15.91
R2	400	68.49	10.90



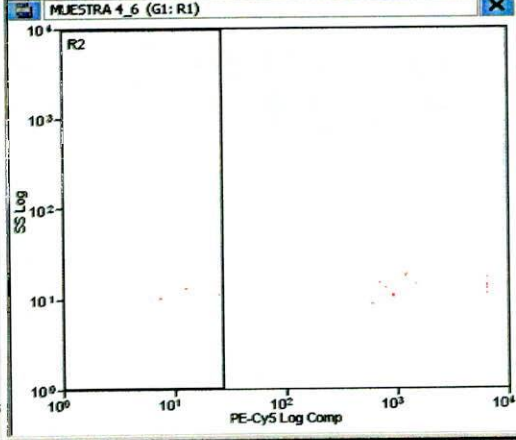
Region	Count	% Hist	% All
Total	584	100.00	15.91
R5	214	36.64	5.83



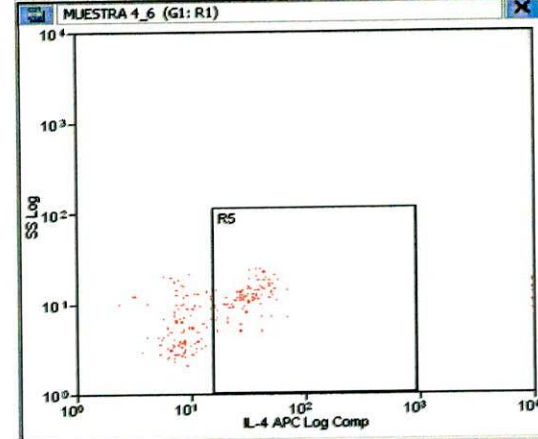
Region	Count	% Hist	% All
Total	584	100.00	15.91
R6	136	23.29	3.71



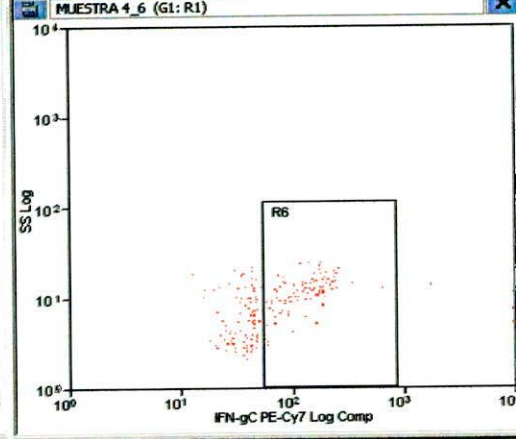
Region	Count	% Hist	% All
Total	10073	100.00	100.00
R1	202	2.01	2.01



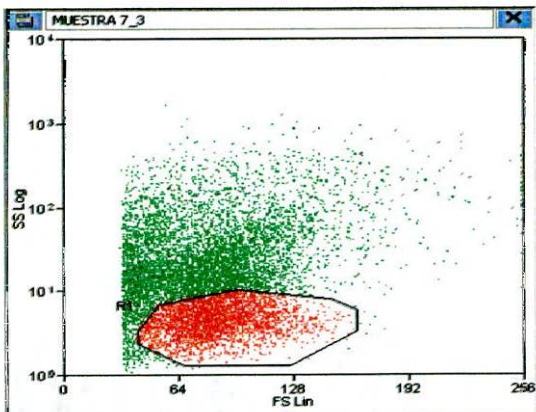
Region	Count	% Hist	% All
Total	202	100.00	2.01
R2	191	94.55	1.90



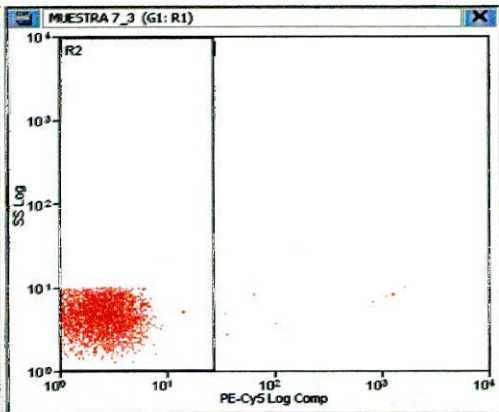
Region	Count	% Hist	% All
Total	202	100.00	2.01
R5	87	43.07	0.86



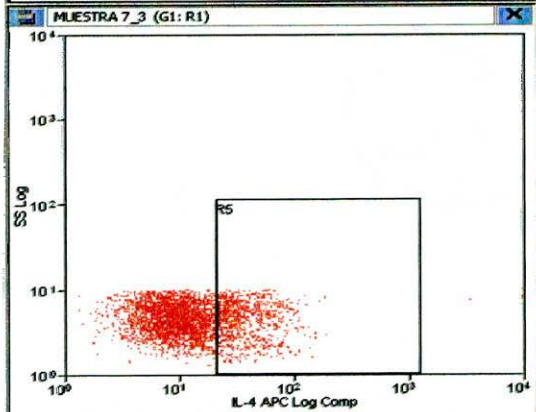
Region	Count	% Hist	% All
Total	202	100.00	2.01
R6	101	50.00	1.00



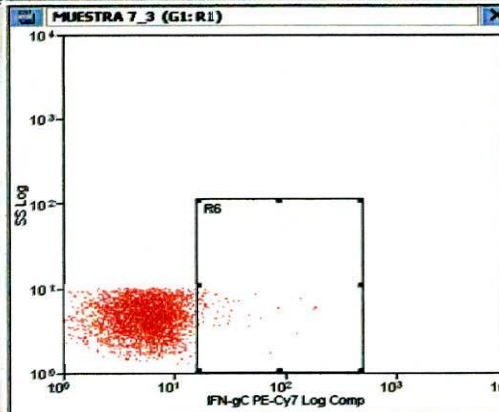
Region	Count	% Hist	% All
Total	10105	100.00	100.00
R1	3517	34.80	34.80



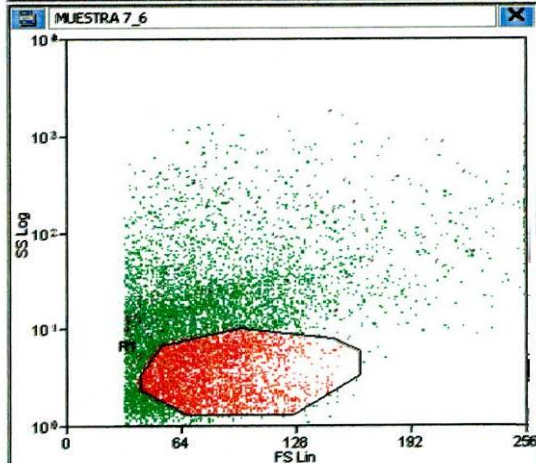
Region	Count	% Hist	% All
Total	3517	100.00	34.80
R2	3509	99.77	34.73



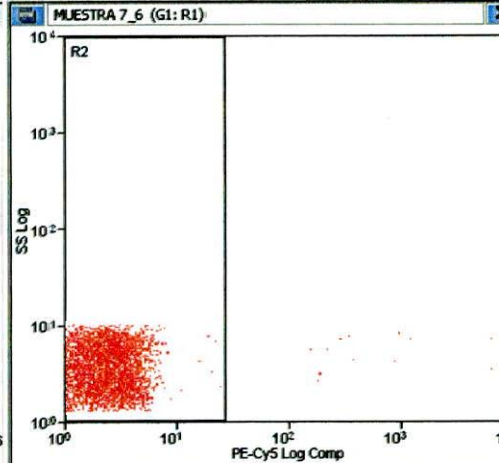
Region	Count	% Hist	% All
Total	3517	100.00	34.80
R5	902	25.65	8.93



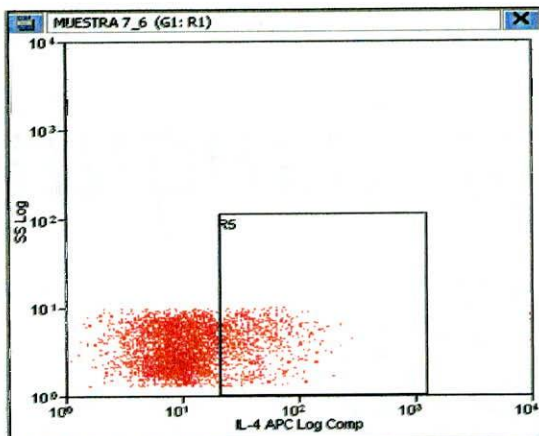
Region	Count	% Hist	% All
Total	3517	100.00	34.80
R6	72	2.05	0.71



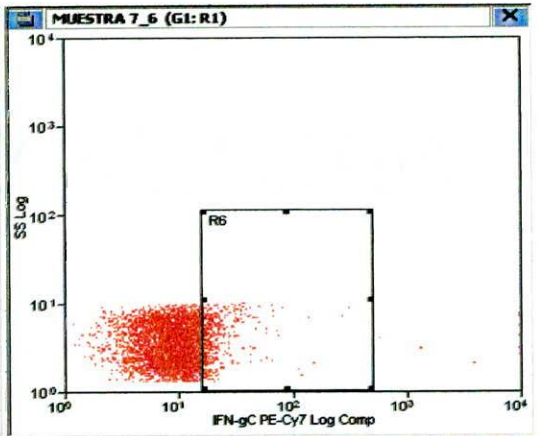
Region	Count	% Hist	% All
Total	10026	100.00	100.00
R1	4196	41.85	41.85



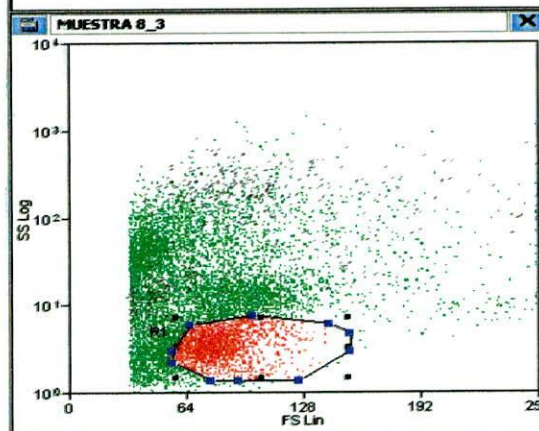
Region	Count	% Hist	% All
Total	4196	100.00	41.85
R2	4184	99.71	41.73



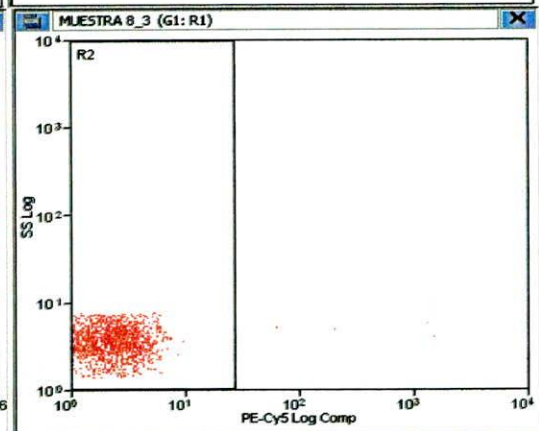
Region	Count	% Hist	% All
Total	4196	100.00	41.85
R5	778	18.54	7.76



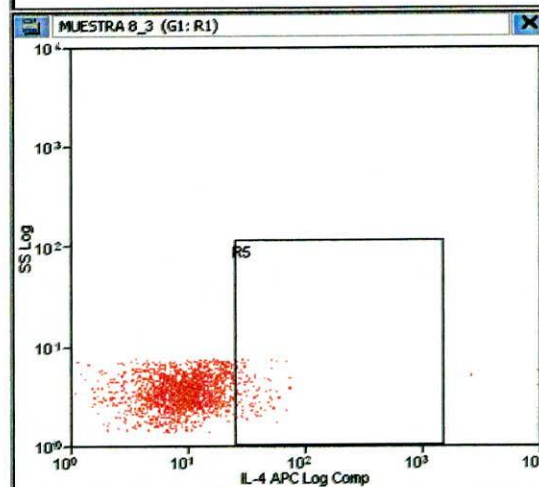
Region	Count	% Hist	% All
Total	4196	100.00	41.85
R6	565	13.47	5.64



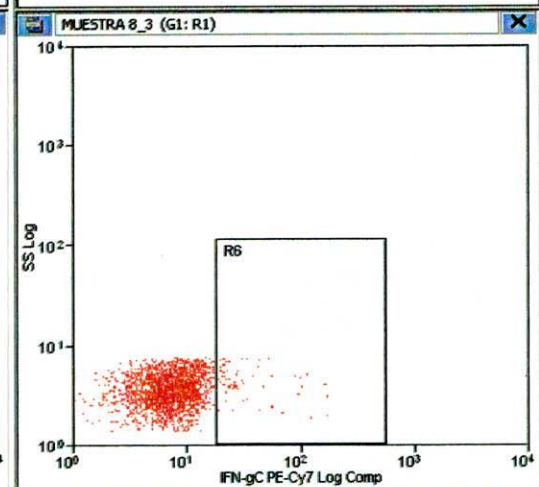
Region	Count	% Hist	% All
Total	10051	100.00	100.00
R1	2057	20.47	20.47



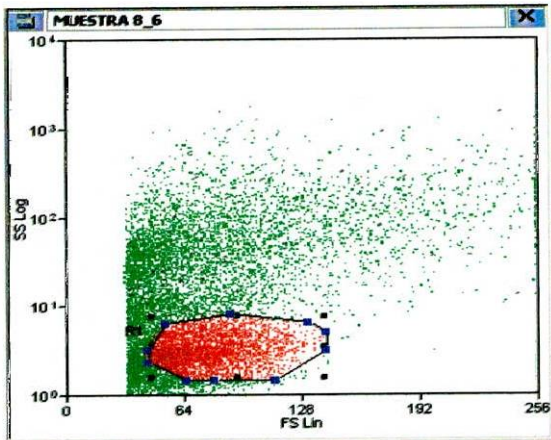
Region	Count	% Hist	% All
Total	2057	100.00	20.47
R2	2053	99.81	20.43



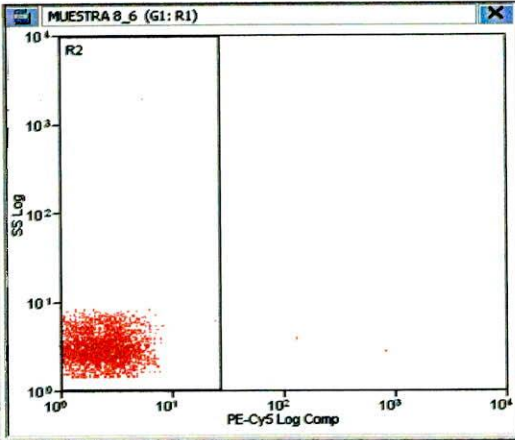
Region	Count	% Hist	% All
Total	2057	100.00	20.47
R5	105	5.10	1.04



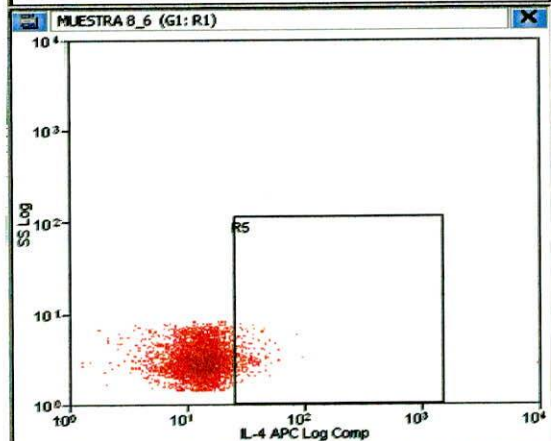
Region	Count	% Hist	% All
Total	2057	100.00	20.47
R6	74	3.60	0.74



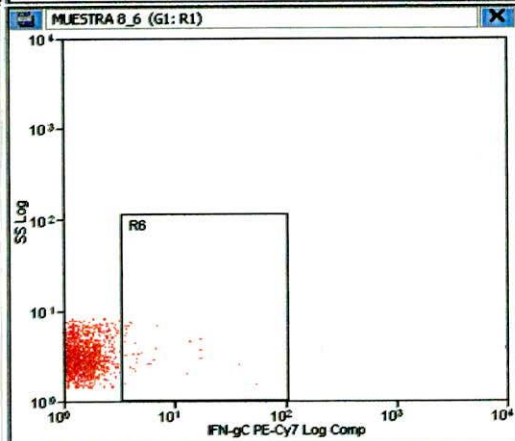
Region	Count	% Hist	% All
Total	12057	100.00	100.00
R1	4221	35.01	35.01



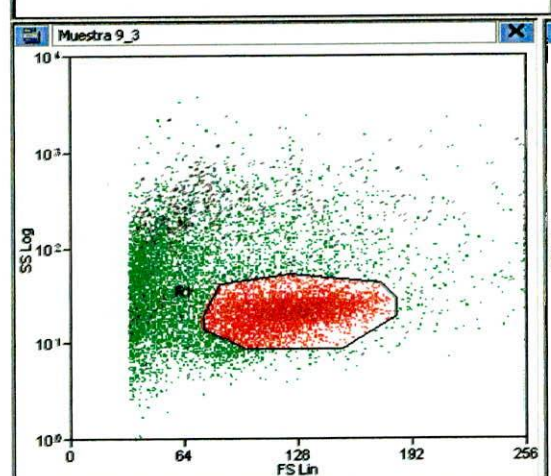
Region	Count	% Hist	% All
Total	4221	100.00	35.01
R2	4219	99.95	34.99



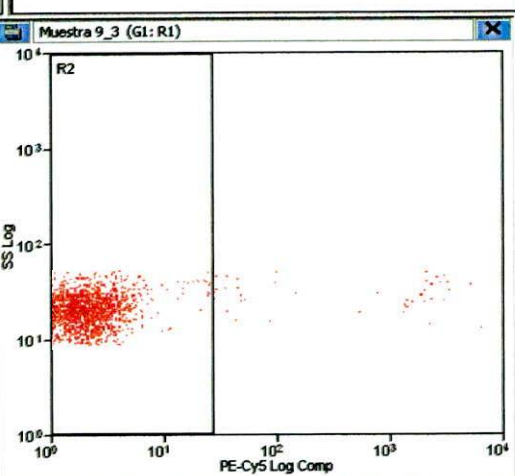
Region	Count	% Hist	% All
Total	4221	100.00	35.01
R5	213	5.05	1.77



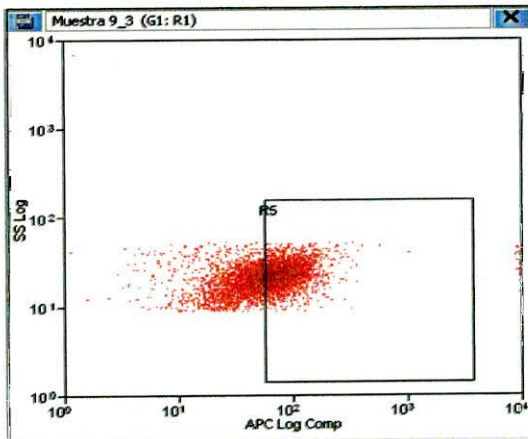
Region	Count	% Hist	% All
Total	4221	100.00	35.01
R6	36	0.85	0.30



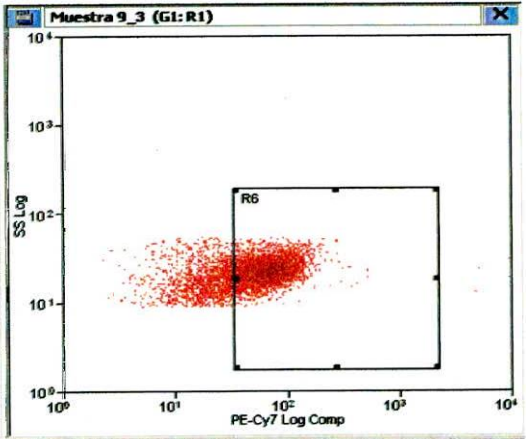
Region	Count	% Hist	% All
Total	11901	100.00	100.00
R1	5329	44.78	44.78



Region	Count	% Hist	% All
Total	5329	100.00	44.78
R2	5289	99.25	44.44



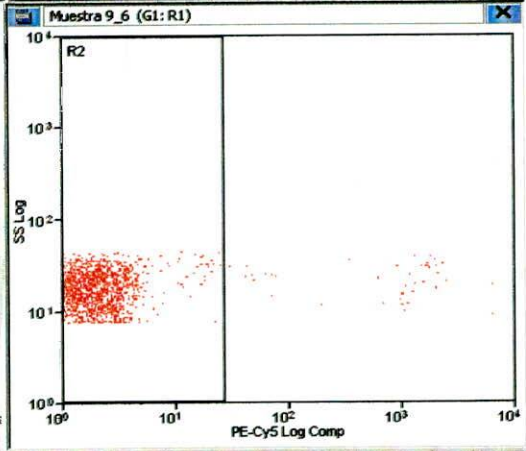
Region	Count	% Hist	% All
Total	5329	100.00	44.78
R5	3055	57.33	25.67



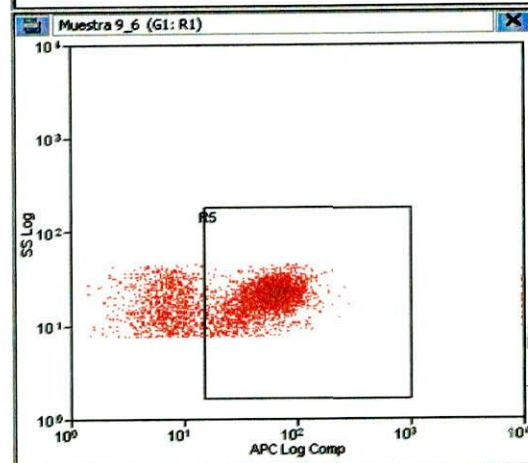
Region	Count	% Hist	% All
Total	5329	100.00	44.78
R6	4020	75.44	33.78



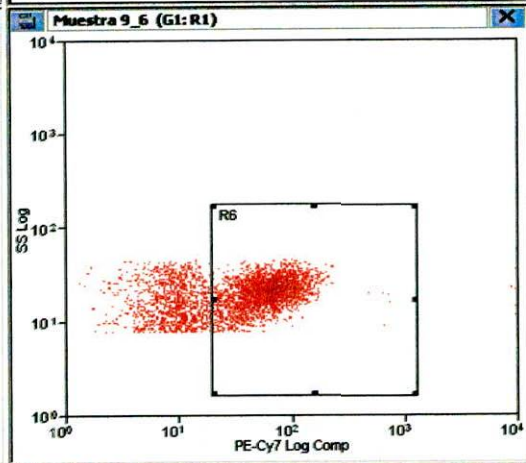
Region	Count	% Hist	% All
Total	10286	100.00	100.00
R1	4164	40.48	40.48



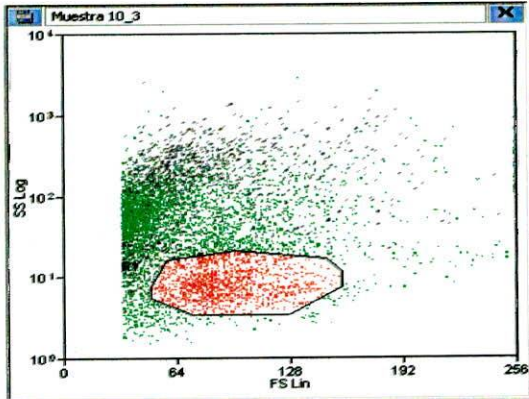
Region	Count	% Hist	% All
Total	4164	100.00	40.48
R2	4123	99.02	40.08



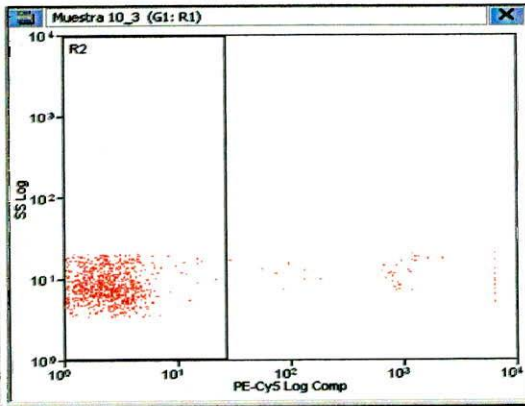
Region	Count	% Hist	% All
Total	4164	100.00	40.48
R5	3137	75.34	30.50



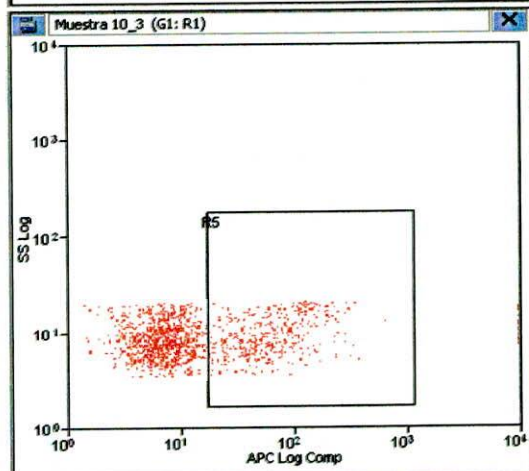
Region	Count	% Hist	% All
Total	4164	100.00	40.48
R6	3024	72.62	29.40



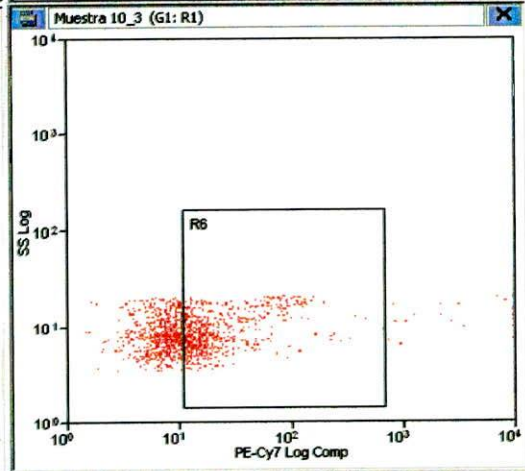
Region	Count	% Hist	% All
Total	6733	100.00	100.00
R1	1342	19.93	19.93



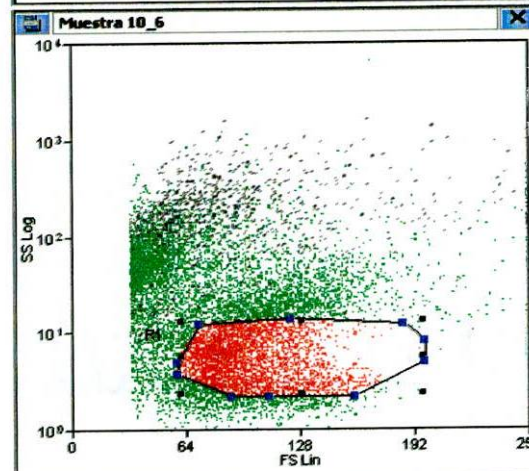
Region	Count	% Hist	% All
Total	1342	100.00	19.93
R2	1293	96.35	19.20



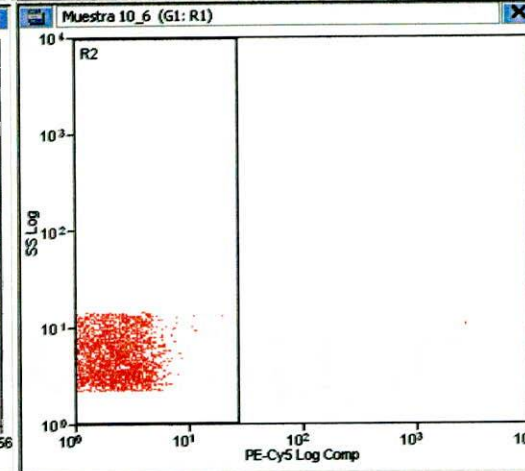
Region	Count	% Hist	% All
Total	1342	100.00	19.93
R5	419	31.22	6.22



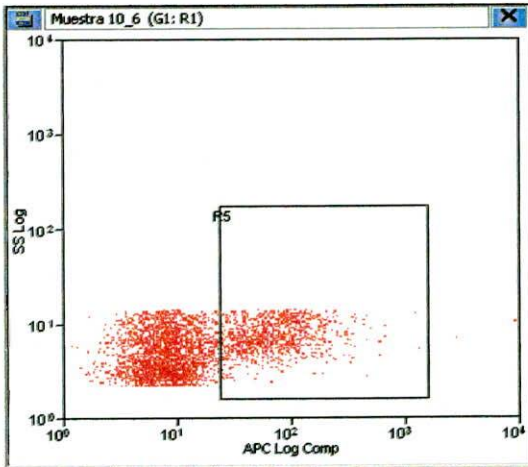
Region	Count	% Hist	% All
Total	1342	100.00	19.93
R6	687	51.19	10.20



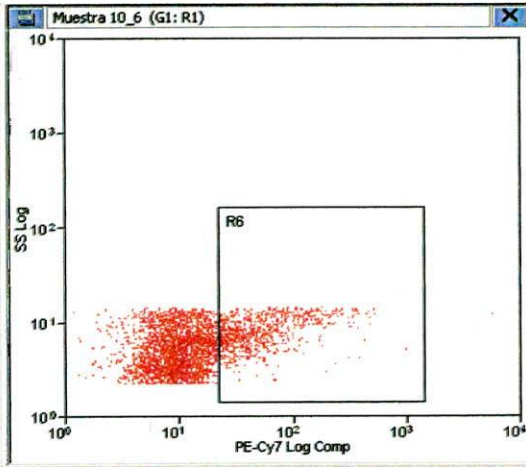
Region	Count	% Hist	% All
Total	11313	100.00	100.00
R1	3568	31.54	31.54



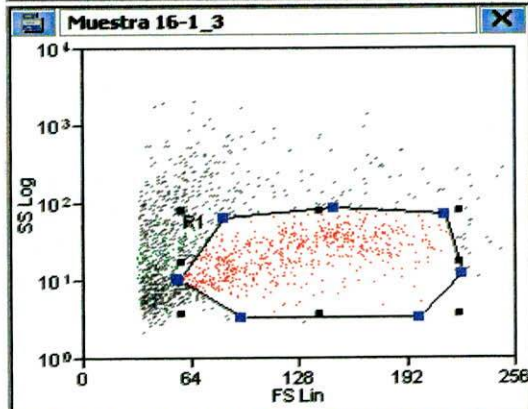
Region	Count	% Hist	% All
Total	3568	100.00	31.54
R2	3567	99.97	31.53



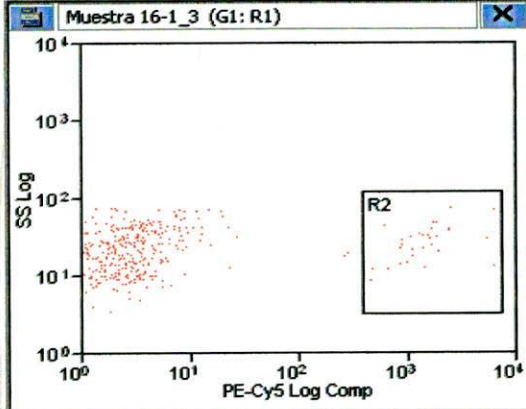
Region	Count	% Hist	% All
Total	3568	100.00	31.54
R5	1034	28.98	9.14



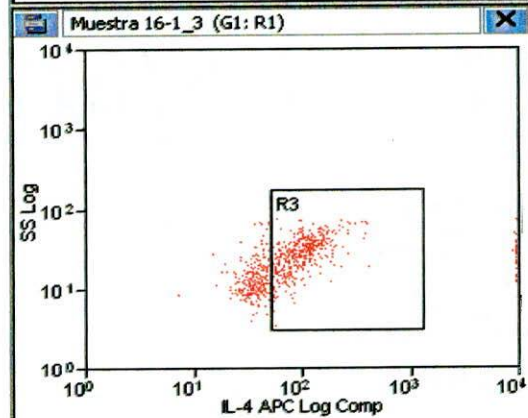
Region	Count	% Hist	% All
Total	3568	100.00	31.54
R6	823	23.07	7.27



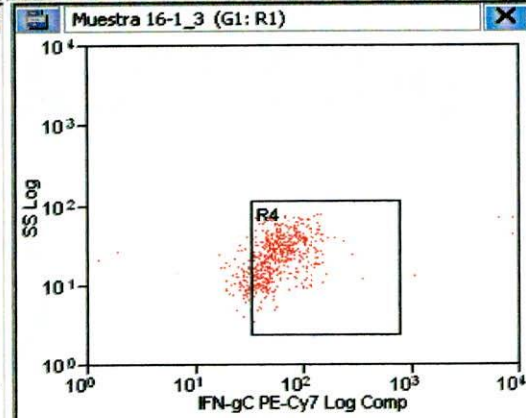
Region	Count	% Hist	% All
Total	2022	100.00	100.00
R1	914	45.20	45.20



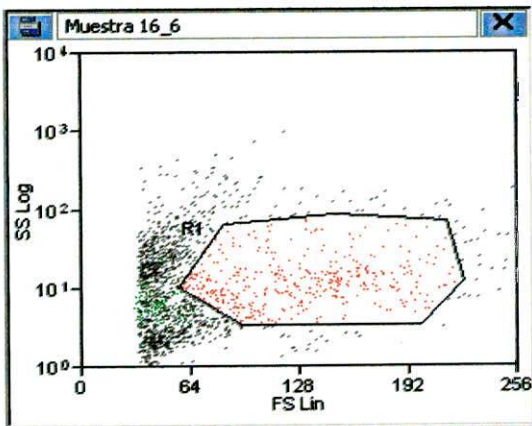
Region	Count	% Hist	% All
Total	914	100.00	45.20
R2	45	4.92	2.23



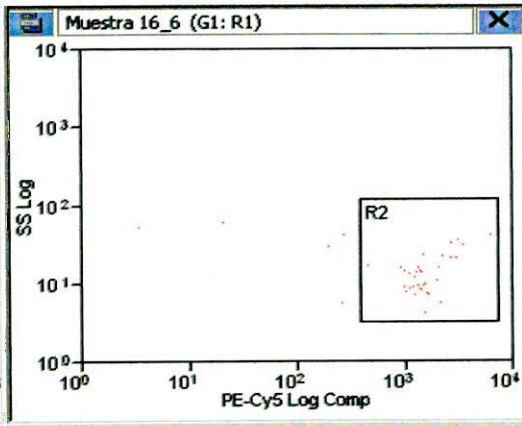
Region	Count	% Hist	% All
Total	914	100.00	45.20
R3	582	63.68	28.78



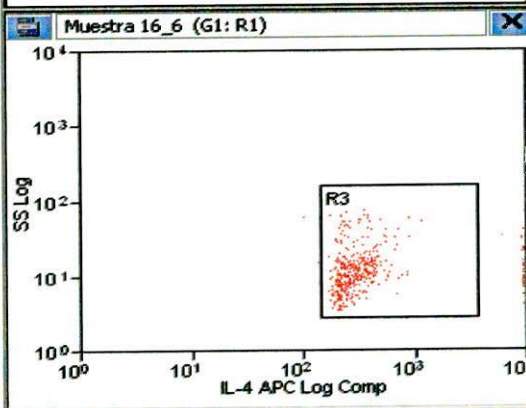
Region	Count	% Hist	% All
Total	914	100.00	45.20
R4	782	85.56	38.67



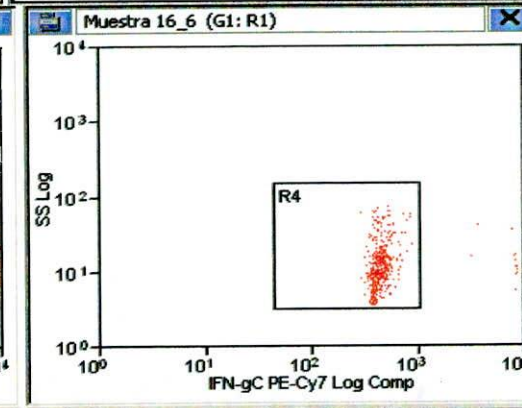
Region	Count	% Hist	% All
Total	2070	100.00	100.00
R1	597	28.84	28.84



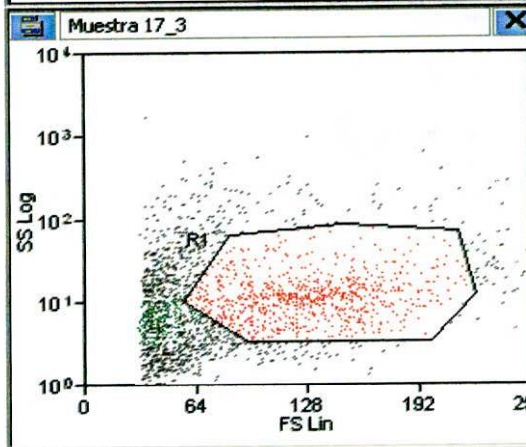
Region	Count	% Hist	% All
Total	597	100.00	28.84
R2	45	7.54	2.17



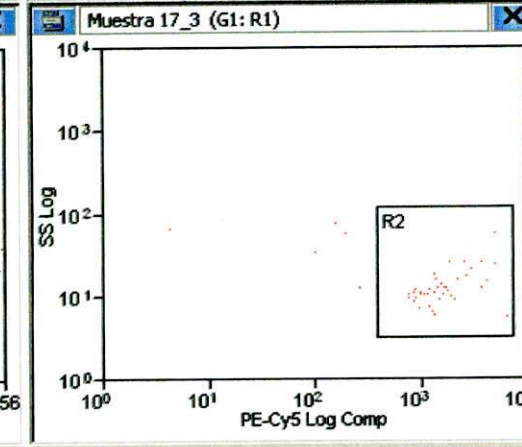
Region	Count	% Hist	% All
Total	597	100.00	28.84
R3	554	92.80	26.76



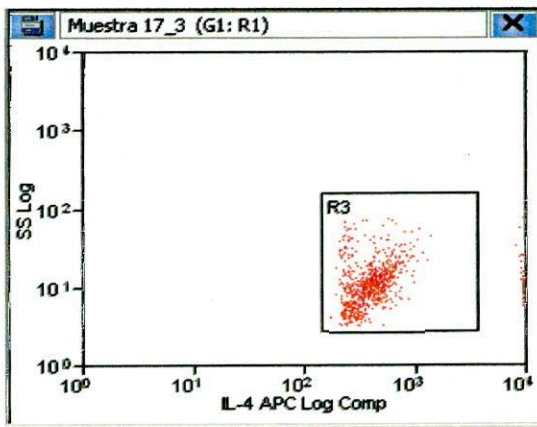
Region	Count	% Hist	% All
Total	597	100.00	28.84
R4	580	97.15	28.02



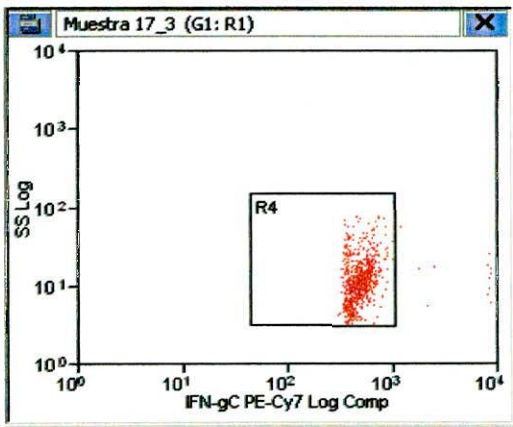
Region	Count	% Hist	% All
Total	2439	100.00	100.00
R1	1105	45.31	45.31



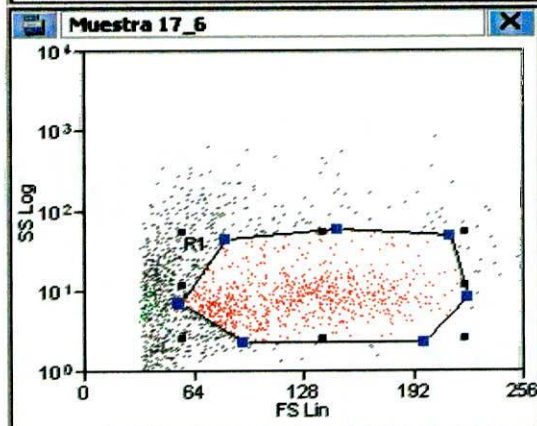
Region	Count	% Hist	% All
Total	1105	100.00	45.31
R2	52	4.71	2.13



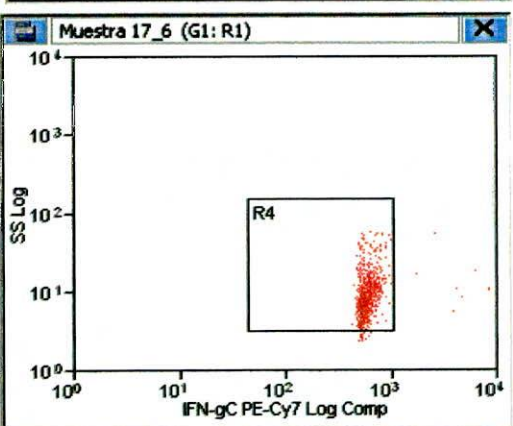
Region	Count	% Hist	% All
Total	1105	100.00	45.31
R3	1054	95.38	43.21



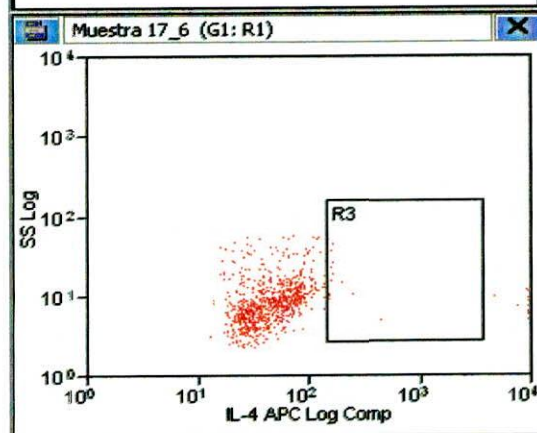
Region	Count	% Hist	% All
Total	1105	100.00	45.31
R4	1085	98.19	44.49



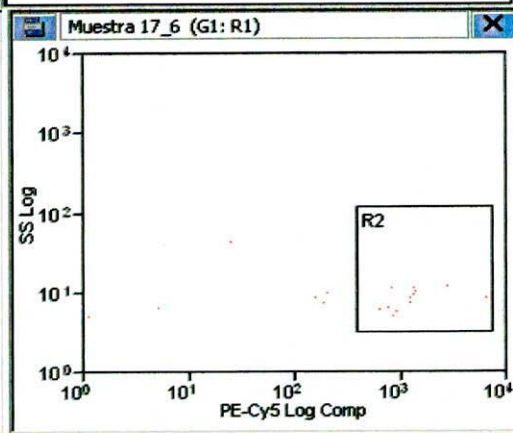
Region	Count	% Hist	% All
Total	2078	100.00	100.00
R1	1122	53.99	53.99



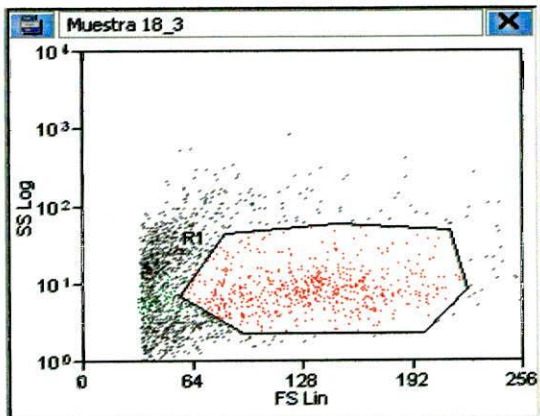
Region	Count	% Hist	% All
Total	1122	100.00	53.99
R4	1085	96.70	52.21



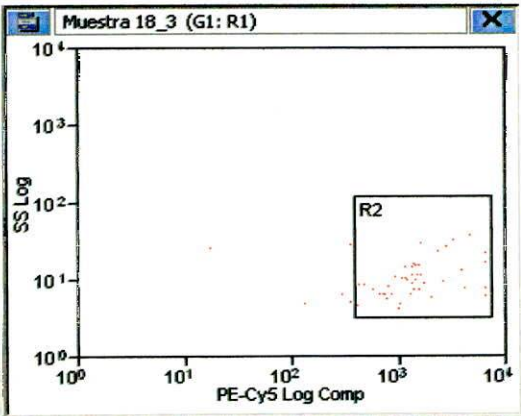
Region	Count	% Hist	% All
Total	1122	100.00	53.99
R3	18	1.60	0.87



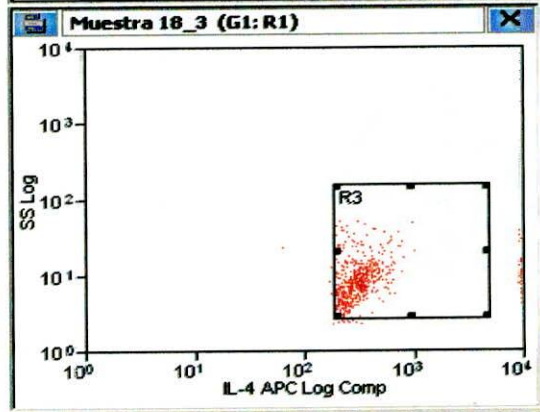
Region	Count	% Hist	% All
Total	1122	100.00	53.99
R2	18	1.60	0.87



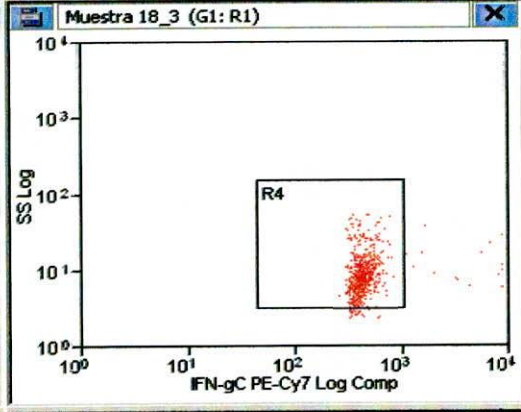
Region	Count	% Hist	% All
Total	2194	100.00	100.00
R1	913	41.61	41.61



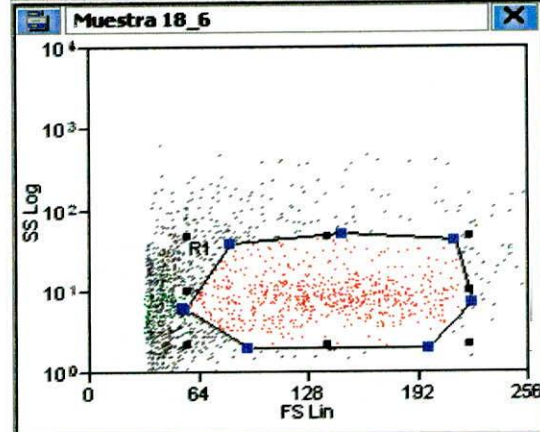
Region	Count	% Hist	% All
Total	913	100.00	41.61
R2	56	6.13	2.55



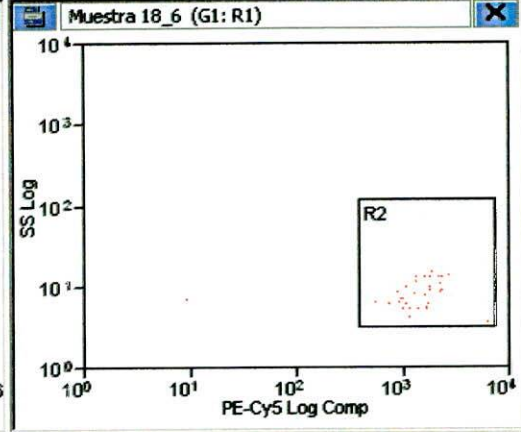
Region	Count	% Hist	% All
Total	913	100.00	41.61
R3	846	92.66	38.56



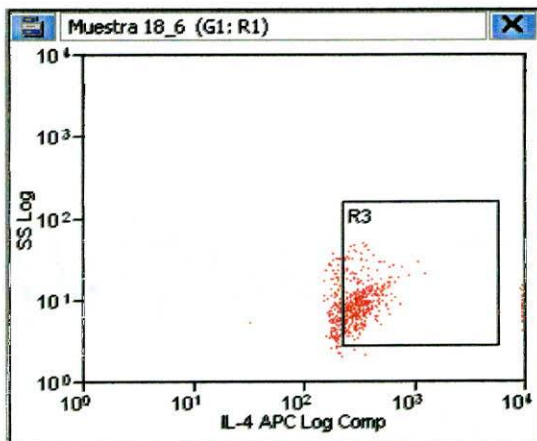
Region	Count	% Hist	% All
Total	913	100.00	41.61
R4	862	94.41	39.29



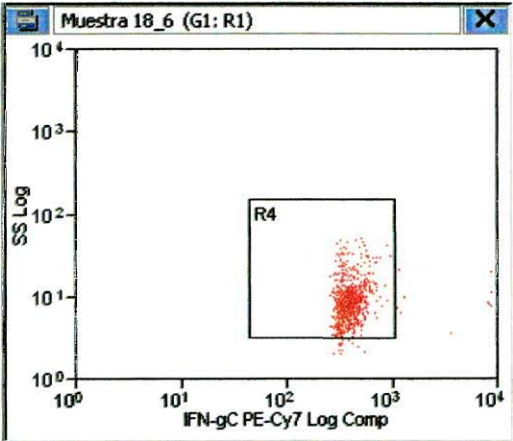
Region	Count	% Hist	% All
Total	2057	100.00	100.00
R1	967	47.01	47.01



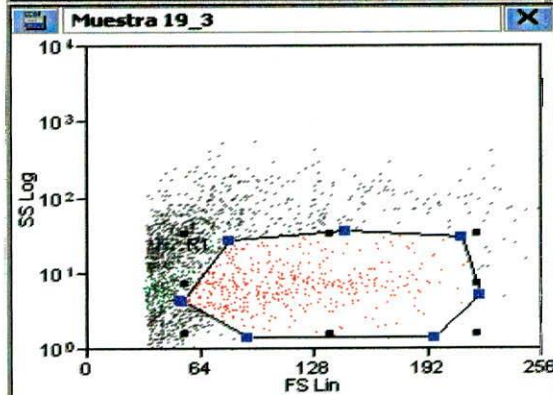
Region	Count	% Hist	% All
Total	967	100.00	47.01
R2	43	4.45	2.09



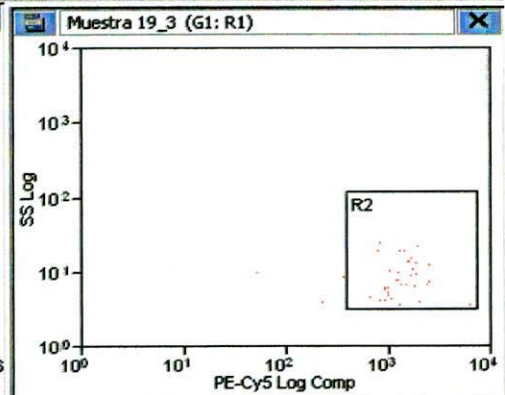
Region	Count	% Hist	% All
Total	967	100.00	47.01
R3	711	73.53	34.56



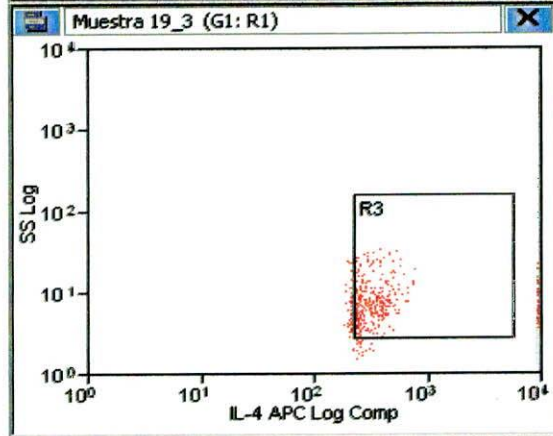
Region	Count	% Hist	% All
Total	967	100.00	47.01
R4	932	96.38	45.31



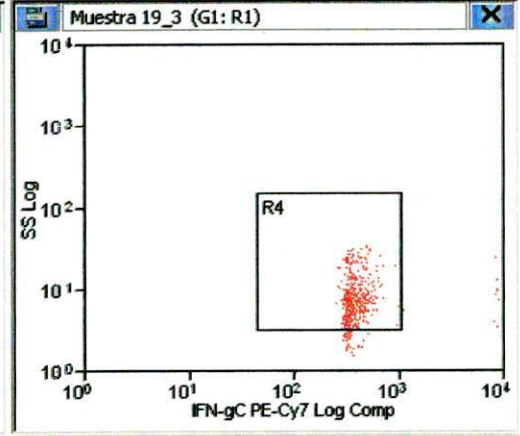
Region	Count	% Hist	% All
Total	2229	100.00	100.00
R1	642	28.80	28.80



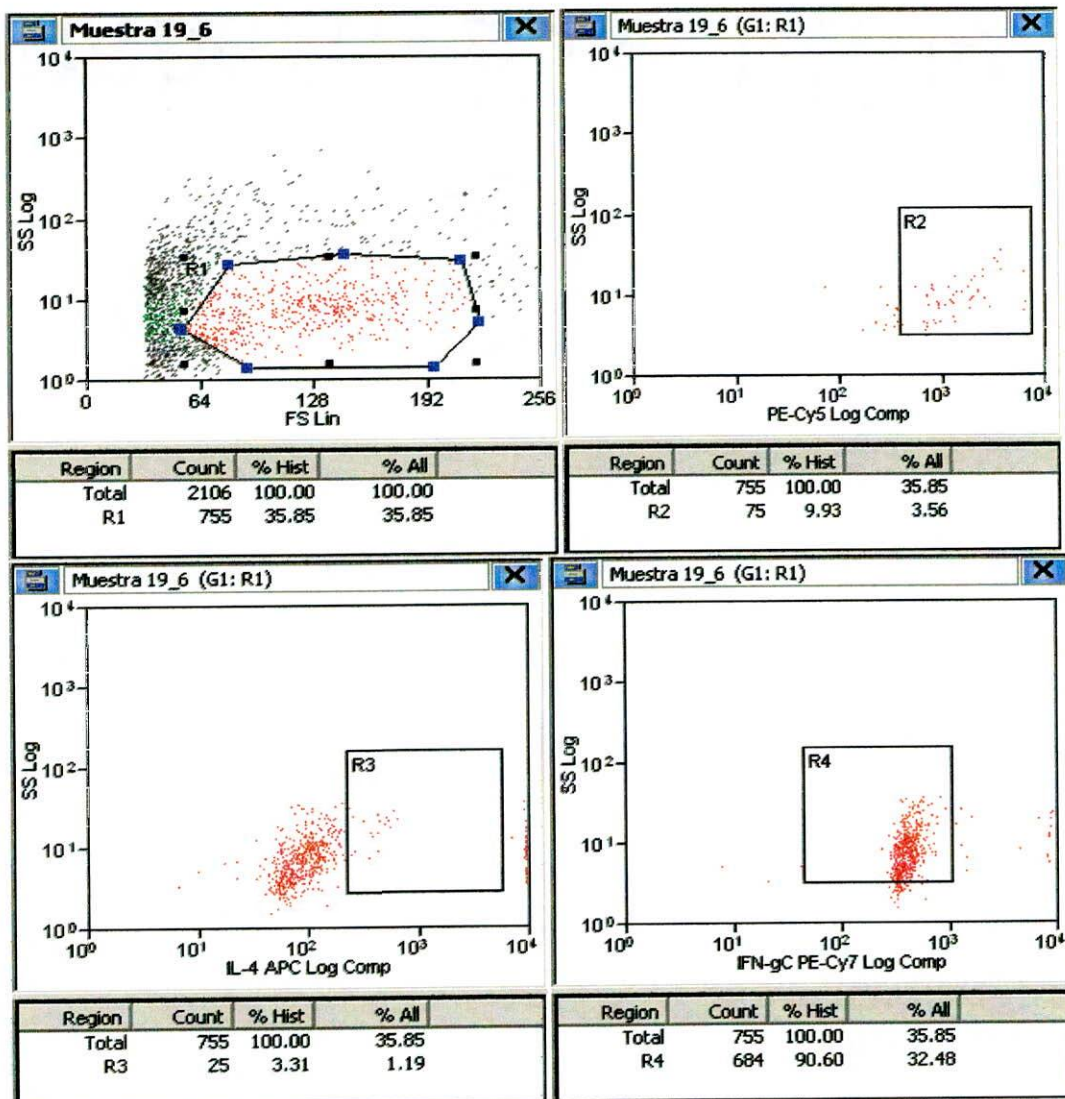
Region	Count	% Hist	% All
Total	642	100.00	28.80
R2	52	8.10	2.33



Region	Count	% Hist	% All
Total	642	100.00	28.80
R3	521	81.15	23.37



Region	Count	% Hist	% All
Total	642	100.00	28.80
R4	588	91.59	26.38



## 2.7 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS

Los datos fueron tabulados en Excel versión 2007, se procesaron en SPSS versión 16. El análisis estadístico se realizó mediante prueba T- Student para datos pareados.  $p \leq 0.005$  y con coeficiente de correlación y concordancia (CCC)

**Tabla 1. Estadísticos de muestras relacionadas**

	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Par 1 IL-4 Control	43.6	9	28.9	9.6
IL-4 Casos	51.1	9	32.0	10.6
Par 2 IFN-g Control	44.8	9	39.2	13.0
IFN-g Casos	51.1	9	38.6	12.8

**Tabla 2. Correlaciones de muestras relacionadas**

	N	Correlación ( r )	Sig.
Par 1 IL-4 Control y IL-4 Casos	9	0.80	0.009
Par 2 IFN-g Control y IFN-g Casos	9	0.90	0.001

**Tabla 3 Prueba de muestras relacionadas**

	Diferencias relacionadas							
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)
				Inferior	Superior			
Par 1 IL-4 Control IL-4 Casos	-7.4	19.1	6.3	-22.1	7.2	-1.1	8	0.2
Par 2 IFN-g Control IFN-g Casos	-6.2	17.2	5.7	-19.5	6.9	-1.0	8	0.3

## 2.8 IMPLICACIONES ÉTICAS

Fue sometido al comité institucional de ética para evaluar el consentimiento informado clasificado como sin riesgo, según la categoría de riesgo establecida en el artículo 11 de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia.

## 3.0 RESULTADOS

Luego de analizar los resultados obtenidos por el citómetro de flujo se observó una variabilidad positiva o negativa en los grupos de estudio, presentando una tendencia a disminuir del grupo experimental de IL-4 de -7.4 con un intervalo de confianza IC= 95% (-22.1 a 7.2). En las figura 1a y 1b se observó que al comparar los promedios de liberación de IL-4 entre casos (51.1±38) y controles (43.6±28) no hay diferencia estadísticamente significativa (p=NS), con una correlación de  $r=0.80$  y un CCC=0.002

La variabilidad positiva y negativa en el grupo de IFN- $\gamma$  presentó una tendencia a disminuir del grupo experimental de -6.2 con un intervalo de confianza IC= 95% (-19.5 a 6.9). En la figura 2a y 2b se observó que al comparar los promedios de liberación de IFN- $\gamma$  entre casos (51.1±32) y controles (44.8±39) no hay diferencia estadísticamente significativa (p=NS), con una correlación de 0.90 y un CCC= 0.008.

No existe un aumento en la expresión de citoquinas en el tejido pulpar de dientes utilizando el Ionómero de vidrio como base intermedia. La IL-4 presenta menos variación y dispersión en los valores obtenidos en los resultados.

No existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de casos y controles en la liberación de citoquinas IL-4 e IFN- $\gamma$ . El ionómero de vidrio puede ser utilizado como base intermedia por sus bajos niveles de citotoxicidad demostrados en este estudio.

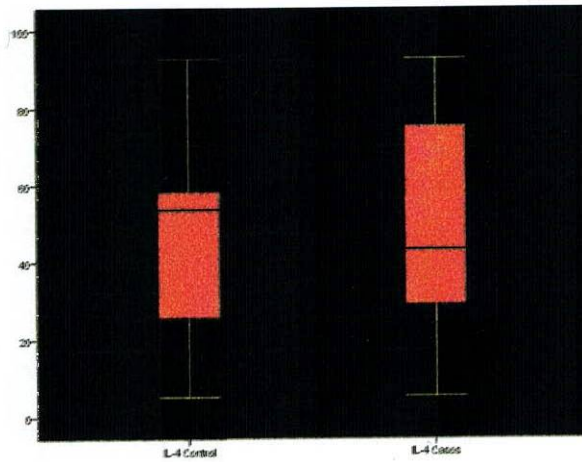


Figura 1a. Valores promedio Interleuquina 4 en casos y controles

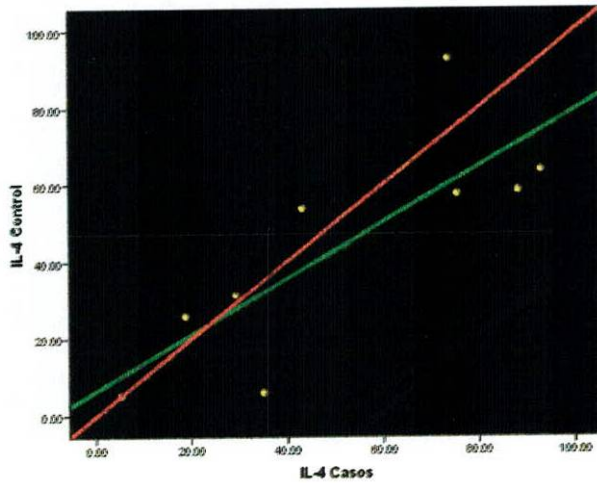


Figura 1b. Correlación de muestras relacionadas entre IL-4 casos y controles

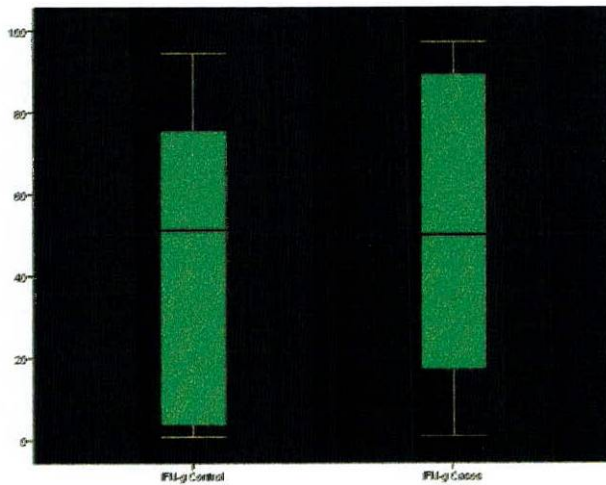


Figura 2a. Valores promedio interferón gamma en casos y controles

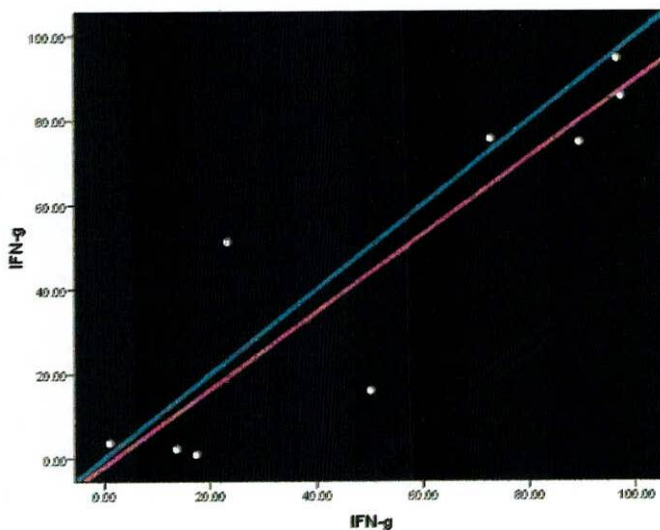


Figura 2b. Correlación de muestras relacionadas entre interferón gamma casos y controles

#### 4.0 DISCUSION

La presencia de múltiples citoquinas inflamatorias en pulpas humanas fue observada debido a la injuria pulpar presente por el paso de las bacterias (*Streptococo Mutans*) a través de los túbulos dentinales, mostrando la presencia

de interferón gamma (27%) e IL4( 19%) obtenidas en cavidades con caries poco profundas. (Chin Lo Chahn 2000).

Plant et al. (1984) encontraron reacciones inflamatorias pulpares leves y afirmaron que hay una fuerte relación entre los niveles de inflamación pulpar con la infiltración de bacterias, y es más intensa cuando están más cerca a la pulpa.

El ionómero de vidrio tiene un potencial de toxicidad pulpar cuando es colocado sobre la dentina intacta, demostrando un bajo potencial toxico en tales circunstancias. Los ionómeros de vidrio no parecen ser materiales deseables para la colocación directa sobre el tejido pulpar. Se recomienda la colocación de hidróxido de calcio como protector pulpar. (W.R. Hume and G.J. Mount 1988).

Sidhu y Watson (1995) mencionaron que los ionómero de vidrio con una pequeña adición de resina como hidroxil metacrilato (HEMA) contiene grupos no saturados lo cual los hacen carecer de biocompatibilidad e histopatologicamente producen reacciones pulpares poco aceptables. Jontell et al. (1995) respecto a la citotoxicidad de los componentes resinosos, afirmaron que es la acidez de los materiales la que contribuye para el efecto citopatico de los mismos.

Experiencias in vivo realizadas por Costa y col 1996 , Tarim y col 1988 demostraron que ionómeros de vidrio aplicados en cavidades profundas clase V de ratas y macacos respectivamente en periodos de experimentación cortos (3 a 7 días) originan reacción inflamatoria leve ,proceso que fue resuelto a través de los periodos experimentales intermedio y largo; razones por las cuales puede decirse que tiene una aceptable compatibilidad biológica siendo irritantes leves para el complejo pulpo-dentinal.

Resultados similares en premolares humanos fueron encontrados por About y col (2001), encontrando una respuesta pulpar de leve a moderada. Del mismo modo Cooper IR (1980) observo que el ionómero de vidrio causa reacciones

inflamatorias intensas en periodos cortos (más o menos 16 días) en su mayoría resueltos en periodos de experimentación largos.

Holand Jr. Et al. (1978). En un estudio realizado en perros, se encontró que el ionómero de vidrio presento una respuesta leve en un periodo experimental largo (180 días). Mientras que Tobias et al. (1978) encontró presencia de respuesta inflamatoria durante un periodo experimental corto (14 días), en tanto que el periodo experimenta intermedio (28 días) en la mayoría de los especímenes (3 de 9), el proceso inflamatorio fue camino a la resolución, y en el periodo experimental largo (1 año) el proceso se detuvo.

Un estudio previo demostró que no hay una diferencia estadísticamente significativa en la liberación de IL-6 e IL-8 al utilizar el ionómero de vidrio como base intermedia (Mejía Jr, 2008). Es importante aclarar que las preparaciones cavitarias fueron estandarizadas, sin embargo no se valoró el grosor de remanente dentinal de las muestras debido a la utilización de radiografías que nos permiten una vista VL, este factor puede producir efectos en los hallazgos emitidos en este estudio. Se recomienda la utilización de microtomografía computarizada para estudios posteriores.

Se presentaron eventos críticos en dos de las muestras debido a un retardo en el tiempo de evaluación de estas, lo cual produjo disminución en la supervivencia celular, mostrando una elevación en los niveles de IL-4 e IFN- $\gamma$  relacionado posiblemente a la respuesta del sistema inmunológico de cada paciente, donde es posible un aumento o disminución en la liberación de citoquinas como mecanismo de respuesta celular.

## **5.0 CONCLUSIONES**

El comportamiento del ionomero de vidrio al ser utilizado como base intermedia demostro protección pulpar y menor irritabilidad del tejido de acuerdo al

comportamiento variable observado en la liberación de IL-4 e IFN- $\gamma$  como respuesta pulpar.

La liberación de IL-4 e IFN- $\gamma$  evaluada al colocar ionómero de vidrio durante este estudio no mostró diferencias estadísticamente significativas entre grupos experimentales y grupo control, por lo que se recomienda su utilización como base intermedia en cavidades clase V no mayores a 2mm de profundidad.

## **6.0 RECOMENDACIONES**

Los investigadores recomiendan realizar estudios donde el tiempo de exposición del ionómero de vidrio sobre la pulpa dental sea más prolongado determinando los niveles de liberación de la IL-4 e IFN- $\gamma$ .

Llevando a cabo la misma metodología aplicada en este estudio valorar en futuras investigaciones la liberación de Interleuquinas en cavidades clase I y clase II y en distintos grupos etareos.

Realizar estudios con grupos comparativos en dientes con pulpas sanas y con compromiso pulpar.

Se recomienda incluir la variable en cuanto al remanente dentinal que no puede ser obtenido radiográficamente, por lo cual se sugiere la utilización de microtomografía computarizada.

## 7.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Abbas. Immunology .2005.
2. Abdullah D, Pitt Ford T, Papaioannou S. An Evaluation Of Accelerated Portland Cement as a Restorative Material. *Biomaterials*, 23; 4001-410. 2002
3. About I. Murray PE, Franquin JC, Remusat M, Smith AJ. Pulpal inflammatory responses following noncarious class V restorations. *Oper Dent* 2001; 26 (4): 336-42.
4. Albers, H.: (1988). *Odontología estética. Selección y colocación de materiales.* Edit. Labor. Barcelona.
5. Aranha A, Giro E, Souza P. Effect of Curing Regime on the Cytotoxicity of resin Modified glass-Ionomer living Cements applied to an odontoblast –cell line. *Academy Of Dental Material. Dental Materials*, 22; 864-869. 2006
6. Athanasia Bletsa ,Ellen Berggreen,Frige fristad,Olav tenstad and Helge Wiig.Citokine signaling in rat pulp interstitial fluid and transcapillary fluid exchange during lipopolysaccharide induced acute inflammation,*J physiol* 573.1 2006 pp 225-236.
7. Bobotis H. A microleakage study of temporary restorative materials used in endodontics. *J Endod* 1989;15:569-72
8. Christensen, G.: (1993). *Glass ionomer resin: A maturing concept.* J. Am. Dent. Assoc.
9. Chang M, Chen Y, Tai T, Tai M, Tsai L, Lan W, Wang L, Jeng J. Citokine-induced prostaglandin E2 production and cicloxygenase-2 expression in dental pulp cells: downstream calcium signalling via activation of prostaglandin EP receptor. *International Endodontic Journal*, 39; 819-826. 2006.
10. Chang Yu- Chao, Yang S, Huang F. Proinflammatory Cytokines Induce Ciclooxygenase- 2m RNA and Protein Expression in Human Dental Pulp cell cultures. *Journal of Endodontics*, 29; 3.2003
11. Chang H, Guo M, Kasten F. Stimulation of glutathione depletion,ROS production and Cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials*, 26; 745-753. 2005.

12. Chang M, Chen Y, Tai T, Tai M, Tsai L, Lan W, Wang L, Jeng J. Cytokine-induced prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 expression in dental pulp cells: downstream calcium signalling via activation of prostaglandin EP receptor. *International Endodontic Journal*, 39; 819-826. 2006.
13. Chin Lo Chan, Al M Best, John G Tew. Cytokine induction by streptococcus mutans and pulp pathogenesis. *Infection and Immunity* vol 68, N° 12 pp 6785-6789 – 2000
14. Chin Lo Hahn, Frederick R, Liewehr. Update on the adaptive immune responses of the dental pulp. *Journal of Endodontics* vol 33, N° 7 2007
15. Chu S, Tsai C, Yang S, Huanf F. Induction of vascular Endothelial Growth factor gene expression by proinflammatory Cytokines in Human Dental Pulp and Gingival Fibroblasts. *Journal Of Endodontics*, 30; 10. 2004.
16. Costa C, Oliveira M. biocompatibility of resin based materials used as pulp-capping agents. *International endodontic journal*. 36, 831-839. 2003
17. Crim, C.: (1993). Marginal leakage of visible light-cured glass ionomer restorative materials. *J. Prost. Dent.* 69:561-563.
18. Croll, T.; Killan, C.: (1992). Visible light hardened glass ionomer resin cement restorations for primary teeth: New Development. *Quintessence Int.* 23:679-682.
19. Cvar, J.; Ryge, G.: (1971). Criteria for the clinical evaluation for dental restorative materials. *J. P. Public health service Pub.* N° 790-244. San Francisco, Government Printing Office.
20. Dasilva Renata, Cilense a, Surface roughness of glass ionomer cements indicated for atraumatic restorative treatment. *Brazilian Dental Journal*, 17; 2. 2006.
21. De Souza Costa C, Hebling J, Garcia-Godoy F. In Vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements *Biomaterials* 24:3853-3858. 2003.
22. De Souza Costa C, Lopes do Nascimento A. response of human pulps capped with a self-etching adhesive System. *Dental materials* 17: 230-240. 2001

23. Demirci Mustafa, ucok Mete. Pulp reaction to a tri --cure resin-modified glass ionomer. Oral sugery Oral medicine Oral pathology oral radiology endodontology 1998:85:712-719.
24. Díaz; A.: (1994). Evaluación de la resistencia de las uniones adhesives del Vitremer® a la dentina como substrato variable. Trabajo de Ascenso, U.C.V.
25. Digka A, Lyroudia K, Jirasek T, Kasampalidis I, Karayannopolou G, Kubinova L. Visualization of human Dental Pulp Vasculature by Immunofluorescent detection of CD34: A comparative Study. Australian Endodontic journal, 32; 101-106. 2006
26. Guzmán H. Biomateriales odontológicos de uso clínico. ECOE 1999, Pag 101-115.
27. Hinoura, K.; Miyazaki, M.; Onose, H.: (1991). Dentin bond strenght of light-cured glass ionomer cements. J. Dent. Resch. 70:1542-1544.
28. Huang F, Tsai C, Chen Y, Chou M, Chang Y. Examination of the signal transduction pathways leading to Upregulation of tissue type Palsminogen activator by interleukin-1  $\alpha$  in Human Pulp Cells. Jornal of Endodontics, 32, 1; 2005.
29. Isett James, Reader Al, Gallatin Erik, Beck Mike, Padgett David. Effect of intraosseous injection of Depomedrol on Pulpal concentrations of PgE-2 and IL-8 in Untreated Irreversible Pulpitis. Journal of Endodontics, 29; 4. 2003
30. Kim S. Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. Journal of endodontics, 16, 48- 53. 1990.
31. Kent, B.; Lewis, B.; Nilson, A.: (1973). The properties of a glass ionomer cement. Br. Dent. J. 135(7): 322-326.
32. Koch, G.: (1994). Ionómero de vidrio para dientes primarios. Fenestra. 2:15.
33. Lin Sze, Wang C, Huang S, Lee j. Induction of Dental Pulp Fibroblasts Matrix Metalloproteinase -1 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Gene Expression by Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor Alpha Trough a Prostaglandin-Dependent Pathway. Journal of Endodontics, 27; 3. 2001.

34. Martinez De Lubo, D.: (1994). Ionómeros de vidrio o polialqueonatos. Informe de materiales y productos dentales. Oral día 14 Boletín 3M. Productos dentales.
35. Mathis, R.; FERRACANE, J.: (1989). Properties of a glass ionomer/resin composite hybrid material. Dent. Mater. 5:355-358.
36. Mc Lean, J.; Wilson, A.: (1974). fissure sealants and filling with and adhesive glass ionomer cement. Br. Dent J. 136: 269-276.
37. Min Kyung, Kwon Y, Lee H. Effects of Proinflammatory Cytokines on Expression of mineralization Markers and Heme Oxygenase. Journal of Endodontics , 32; 1.2006
38. Mitra, S.: (1991). Adhesion to dentine and physical properties of a light cured glass ionomer liner/base. J. Dent Res. 70(1):72-74.
39. Mjor I. A. Pulp dentin biology in restorative dentistry. part II: initial reactions to preparations of teeth for restorative procedures. Quintessence Int: 32: 537-551. 2001
40. Momoi, Y.; Mc CABE J.: (1993). Fluoride release from light-activated glass ionomer restorative cements. Dent. Mater. 9:151-154.
41. Mount, G.: (1993). Clinical placement of modern glass ionomer cements. Quintessence. Int. 24:99-107.
42. Murray P E, Smith AJ, Windsor LJ and Mjor IA. Remaining dentine thickness and human pulp responses. Journal international endodontics 36,33-43,2003
43. Murray P, Hafeez A, Smith A, Cox C. Bacterial Microleakage and pulp inflammation associated with various restorative materials. Dental materials, 18; 470-478.2002.
44. Murray P, About I. Restorative pulpal and repair responses. JADA 132:4. 2001
45. Murray Peter E. Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials,pulp capping,and future therapies.Crit rev oral biol med 13(6):509-520.2002
46. Murray P, About I, Lumley P, Franquin J, Remusat M, Smith A. Human odontoblastst cell numbers after dental injury. Journal of Dentistry. 2000; 28: 211-285

47. Nakanishi T, Takahashi K, Hosokawa Y, Adachi t, Nakae H, Matsuo T. Expression of Macrophage inflammatory Protein 3 alpha in Human Inflamed Dental Pulp Tissue. *Journal of Endodontics*, 31; 2. 2005
48. Plasmans. : (1993). Vitremer como reconstructor de muñones. *Fenestra*. 1: 5.
49. Pezelj-Ribaric S, Anic I, Brekalo I, Hasan M, Soskic M. Detection of tumor necrosis Factor Alpha In Normal and Inflamed Dental Pulps. *Archives of Medical Research*, 33; 482-484. 2002
50. Ramos de G.: (1994). Comportamiento clínico de un cemento de vidrio ionómero tipo cermet Ketac Siver® en dientes temporales y permanentes. Trabajo de ascenso. U.C.V. Mimeografiado.
51. Rauschemberg C, Bailey J, Cootauco C. detection of human IL-2 in normal and inflamed dental pulps. *Journal of Endodontics*, 23; 6.1997.
52. Schedle A. Franz A, Rausch-Fan X. Cytotoxic Effects of Dental Composites, Adhesive substances, Compomers and Cements. *Dental Material*, 14; 429-440. 1999
53. Seltzer and Bender, *Dental Pulp*, Quintessence, 2002. Cap 11, Molecular Mediators of Pulpal Inflammation..
54. Stephen Crisp, Alan Wilson. Reaction in Glass Ionomer Cements: decomposition of the powder. London national research development corporation august 17,1973
55. Souza C, Giro E, Batista A, Teixeira H. Short- term evaluation of pulpo-dentin complex response to a resine modified glass ionomer cement and bondig applied in deep cavities. *Dental materials*, 19; 739-746. 2003
56. Smith DC and Ruse ND. Acidity of glass ionomer cements during setting and its relation to pulp sensitivity. *JADA* vol 112 : 654-657. 1986
57. SR Hang and KJ Heyeraas. Modulation of dental inflammation by the sympathetic nervous system .*J dent res* (8506);488-495 2006
58. Stanley HR, Swerdlow H. Reaction of the human pulp to cavity preparation: results produced by eight different operative grinding technics. *J Am Dent Assoc*. 1959; 58: 49-59

59. Sidhu, A.; Watson, T.: (1995). Resin-modified glass ionomer materials. A status report for the Am. J. of Dent. Am. J. Dent. 8:59-67.
60. Tate, W.; Friedl, K.; Powers, J.: (1996). Bond strength of composites to hybrid ionomers. Oper. Dent. 21:147-152.
61. Torres Jaime. Fundamentos modernos en la practica diaria con sistemas poliméricos. 2001 pg 99-105
62. Vaikuntam, J.: (1997). Resin modified glass ionomer cements. (RM GICS: Implications for use in pediatric dentistry. J. of Dent., for Children. 131-134
63. Wilson, A.; Kent, B.: (1972). A new translucent cement for dentistry. The glass ionomer cement. Br. Dent. J. 132 (4): 133-135.
64. Wilson, A.; Nicholson, J.: (1993). Resin glass polyalqueonate cements: their biomedical and industrial applications. Wilson, A., Nicholson, J., editions. Cambridge England University. Press, pp169-175
65. Wisithphrom K, Murray P, Windsor J. Interleukin-1 $\alpha$  Alters the expression of Matrix metalloproteinases and collagen degradation by pulp fibroblasts. Journal of Endodontics, 32; 3. 2005.
66. Xie Dong Chung I, Lemons J, Puckett A. An Amino Acid-modified and non-HEMA containing Glass -Ionomer Cement. Biomaterials, 25; 1825-1830. 2003

## COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO POSTGRADO ENDODONCIA

El Colegio Odontológico Colombiano realizará en pulpas dentales humanas en pacientes a los que por requerimientos ortodonticos solicitan exodoncias de premolares el objetivo es determinar la liberación de citoquinas después de colocar una base intermedia a base de Ionómero de vidrio.

Para la toma de los datos necesarios en esta investigación, se le realizará a cada paciente un examen odontológico que durará aproximadamente 30 minutos, con instrumental odontológico estéril, utilizando anestesia sin vasoconstrictor para realizar cavidad con fresa redonda según (estándar) De diamante, después se coloca Ionómero de vidrio y pasados 10 minutos se realiza la exodoncia:

1. Recopilación de datos del paciente y autorización para procedimiento, firma consentimiento informado.
2. Toma radiografía inicial.
3. Anestesia sin vaso constrictor colocada con aguja corta técnica infiltrativa.
4. Apertura de la cavidad con fresa redonda cavidad clase I.
5. Secar cavidad con gasa.
6. Colocar Ionómero de vidrio
7. Esperar 10 minutos
8. Realizar exodoncia
9. Al diente al que se le realiza la exodoncia es trasportado en un medio ideal para preservar la vitalidad de la pulpa, el transporte se realiza en el menor tiempo posible, el procedimiento es seccionar el diente con una fresa zecrya para retirar el tejido pulpar completo, colocarlo con los reactivos y procesarlos en en micro machin después es pasado por el clitómetro de flujo para realizar la lectura.

La participación en este estudio es voluntaria teniendo en cuenta la aceptación y aprobación firmando el consentimiento informado, la no participación no traerá

ninguna consecuencia para usted. Puede negarse a firmar este consentimiento y puede retirarse del estudio en cualquier momento, si así lo considera necesario. No se ofrece ninguna compensación por participar en el estudio. El presente estudio de acuerdo al artículo 11 de la resolución 8430 de 1993 expedida por el Ministerio de Protección está clasificado como una **Investigación con riesgo mínimo**.

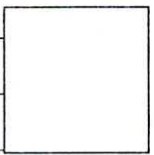
Esta investigación será realizada por profesionales calificados y especialistas, el Director del proyecto es el Dr. Víctor Javier Chamorro Micolta y los investigadores examinadores serán: Dr. Helbert Carreño, Dra. Luisa Puerto, Dra. Angelica Rivera y Dra. Oriana Rojas.

Cualquier información adicional acerca de los derechos de los participantes y de la investigación será resuelta antes de firmar el consentimiento por el Dr. Víctor Javier Chamorro Micolta personalmente o en el teléfono 310 242 2530 o en el e-mail victorjavier.chamorro@gmail.com.

He comprendido que participar en esta investigación no representa ningún riesgo o peligro para mí, ni para ninguna otra persona. Entiendo que toda la información es estrictamente CONFIDENCIAL y será utilizada para cumplir objetivos académicos y científicos, que traerá como beneficio un resumen de la investigación y adicionalmente un beneficio para la comunidad.

Yo \_\_\_\_\_ identificada con Cédula Número \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ leí los objetivos y el procedimiento descrito anteriormente y voluntariamente doy el consentimiento para que mi hijo \_\_\_\_\_ participe en este estudio.

Firma de Tutor legal o familiar: \_\_\_\_\_  
Nombre: \_\_\_\_\_  
C.C: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_  
Parentesco: \_\_\_\_\_



Huella digital del tutor legal o familiar

Dirección: \_\_\_\_\_ Municipio \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Firma del Director del proyecto: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Registro: \_\_\_\_\_ C.C: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Firma del testigo: \_\_\_\_\_

Nombre del testigo: \_\_\_\_\_

C.C: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_ Municipio \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_