

T1137

**PROTOCOLO DE MANEJO ODONTOLÓGICO DE LAS RATAS WISTAR PARA
EL ESTUDIO DE RECUBRIMIENTOS PULPARES DIRECTOS EN
MOLARES CON DENTINA LIOFILIZADA.
(PRUEBA PILOTO)**

**MYRIAM YOLANDA ALARCÓN BARRERA
DIANA NATALIA FORERO RUBIANO
ANGIE CAROLINA GAONA BARAJAS
DORIS JANETH HERNÁNDEZ RINCÓN
LUISA FERNANDA LAPUENTE VILLATE
NATALIA LASSO RAMÍREZ
JOHANA ANDREA RINCÓN VEGA
NANCY VIVIANA RODRÍGUEZ FORERO
JOSÉ LUIS RODRÍGUEZ MARTÍNEZ
DIANA MARCELA SAAVEDRA RODRÍGUEZ**

**COLEGIO ODONTOLÓGICO COLOMBIANO
BOGOTÁ D.C.
2004**

**PROTOCOLO DE MANEJO ODONTOLÓGICO DE LAS RATAS WISTAR PARA
EL ESTUDIO DE RECUBRIMIENTOS PULPARES DIRECTOS EN MOLARES
CON DENTINA LIOFILIZADA.
(PRUEBA PILOTO)**

INVESTIGADORES:

**MYRIAM YOLANDA ALARCÓN BARRERA
DIANA NATALIA FORERO RUBIANO
ANGIE CAROLINA GAONA BARAJAS
DORIS JANETH HERNANDEZ RINCÓN
LUISA FERNANDA LAPUENTE VILLATE
NATALIA LASSO RAMIREZ
JOHANA ANDREA RINCÓN VEGA
NANCY VIVIANA RODRÍGUEZ FORERO
JOSÉ LUIS RODRÍGUEZ MARTINEZ
DIANA MARCELA SAAVEDRA RODRIGUEZ**

ASESOR CIENTÍFICO

MYRIAM ALARCÓN BARRERA

Odontóloga, Especialista en Cirugía, Implantología y Patología Oral.

ASESOR METODOLÓGICO

MARIA ALEJANDRA GONZALEZ

Odontóloga, Especialista en Epidemiología.

**COLEGIO ODONTOLOGICO COLOMBIANO
BOGOTA D.C.**

2004

**PROTOCOLO DE MANEJO ODONTOLOGICO DE LAS RATAS WISTAR PARA
EL ESTUDIO DE RECUBRIMIENTOS PULPARES DIRECTOS EN MOLARES
CON DENTINA LIOFILIZADA.
(PRUEBA PILOTO)**

**DIANA NATALIA FORERO RUBIANO
ANGIE CAROLINA GAONA BARAJAS
DORIS JANETH HERNANDEZ RINCÓN
LUISA FERNANDA LAPUENTE VILLATE
NATALIA LASSO RAMIREZ
JOHANA ANDREA RINCÓN VEGA
NANCY VIVIANA RODRÍGUEZ FORERO
JOSÉ LUIS RODRÍGUEZ MARTINEZ
DIANA MARCELA SAAVEDRA RODRIGUEZ**

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial
para optar el título profesional de
ODONTÓLOGO**

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

**ASESOR METODOLÓGICO
MARIA ALEJANDRA GONZALEZ
Odontóloga, Especialista en Epidemiología.**

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación se desarrollo gracias a la ayuda de Dios y al apoyo que nos brindaron nuestros padres durante el trayecto de nuestra carrera. Por esto dedicamos nuestro esfuerzo a ellos, pues fueron la base para culminar con éxito nuestro trabajo de investigación.

Así mismo, ofrecemos esta investigación a los directivos, cuerpo docente y demás personas del Colegio Odontológico Colombiano que de una u otra forma contribuyó a la realización de nuestro trabajo y así obtener satisfactoriamente el título de Odontólogos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a:

A Dios y a nuestros padres por el apoyo emocional, económico y por sus consejos brindados durante todo el tiempo de trabajo arduo de nuestra carrera.

A nuestros Docentes que nos dieron su apoyo incondicional, sus enseñanzas y orientaciones las cuales ayudaron a encaminar nuestra investigación.

A la Doctora Myriam Alarcón por su dedicación, que permitió hacer realidad el resultado de nuestro esfuerzo.

Al Doctor Vladimir Galindo Zamora, MV, MSc. De Clinica de pequeños animales de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia por su colaboración en el desarrollo de este trabajo.

Al Doctor José V. Cifuentes y al Señor Jesús Arturo Cortes de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia Bioterio Central, de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá por su colaboración en el desarrollo de este trabajo.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	18
1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN	20
1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	20
1.2 JUSTIFICACIÓN	21
1.3 PROPÓSITO	21
1.4 MARCO TEORICO	21
1.4.1 Dentina	21
1.4.2 La Liofilización De La Dentina	35
1.4.3 Radiación Gamma	38
1.4.4 Ratas Wistar	40
1.4.5. Experimentación En Animales	42
1.4.5.1 Anestesia Para Animales De Laboratorio	68
1.4.5.2 Principios Básicos Para El Manejo De Animales En El Bioterio	68
1.4.6 Clasificación Cavidades De Black	75
1.4.7 Materiales Para Recubrimiento Pulpar Directo	76

1.4.7.1	Hidróxido De Calcio	76
1.4.7.2	Mineral Trióxido Agregado (Mta)	78
1.4.8	Materiales Para Restauración Definitiva	79
1.4.8.1	Resinas	79
1.4.8.2	Amalgamas	86
1.4.8.3	Ionómero De Vidrio	89
1.5	OBJETIVOS	92
1.5.1	GENERAL	92
1.5.2	Específicos	92
2.	METODO	93
2.1	TIPO DE ESTUDIO	93
2.2	OBJETO DE ESTUDIO	93
2.3	POBLACIÓN DE ESTUDIO	93
2.4	CRITERIOS DE SELECCIÓN	93
2.4.1	Criterios De Inclusión	93
2.5	DEFINICIÓN DE VARIABLES	94
2.6	INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	95
2.7	PROCEDIMIENTO	96
2.7.1	Primera Etapa Experimental Prueba Piloto	96
2.7.2	Segunda Etapa Experimental Prueba Piloto	98

2.7.3	Tercera Etapa Prueba Piloto	99
2.8	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	119
3.	RESULTADOS	123
3.1	PROTOCOLO ANESTESICO PARA LAS RATAS WISTAR	124
3.2	MANEJO CLINICO DE RATAS WISTAR EN EL BIOTERIO	124
3.3	DETERMINAR TIEMPO DE OBTURACIÓN DE LOS MOLARES CON CAVIDADES CLASE I DE LAS RATAS WISTAR	125
3.4	ESTABLECER EL TIEMPO DE DURACION DE LA OBTURACIÓN IONOMERO DE VIDRIO, AMALGAMA Y RESINA,	125
4.	DISCUSIÓN	128
5.	CONCLUSIONES	131
6.	RECOMENDACIONES	133
	BIBLIOGRAFÍA	134
	ANEXOS	142

ANEXOS

ANEXO 1. RESOLUCION 8430/1993

**ANEXO 2. PRINCIPIOS ÉTICOS PARA LAS INVESTIGACIONES MÉDICAS EN
SERES HUMANOS.**

ANEXO 3 TABLAS. INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.

GLOSARIO

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

AMALGAMA: Aleación de mercurio con otros metales

AMORFO: sustancia que forma parte de los tejidos orgánicos, pero que examinados al microscopio no presentan ninguna estructura aparente.

ANALGESIA: Anulación de la sensibilidad, dolor; puede presentarse en el curso de enfermedades especialmente neurológicas, o ser inducida por medio de analgésicos.

ANESTESIA: Supresión de la sensibilidad, en cualquiera de sus formas (táctil, térmica o dolorosa); puede ser espontánea o inducida. La inducida, generalmente por fármacos , permite la práctica quirúrgica; puede ser general o local, y superficial o profunda. El anestésico se suministra por inhalación, por vía endovenosa o rectal.

BIOTERIO: Adaptación de un nuevo hábitat creado por los laboratorios, para los animales utilizados en experimentación.

CALCOSFERITOS: Gránulos que se forman durante la calcificación por la unión del calcio y la sustancia intercelular.

CIANOSIS: Coloración azulada de piel y mucosas, por defecto de oxigenación de la sangre. Es signo de determinadas enfermedades pulmonares, cardíacas y vasculares.

DECLARACION DE HELSINKI: Es una propuesta de principios éticos que sirven para orientar a los médicos y a otras personas que realizan investigación médica en seres humanos. La investigación médica en seres humanos incluye la investigación del material humano o de información identificables.

DENTINOGENESIS: 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 más 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.

ESTERILIZACION: Acción de destruir las toxinas y los microorganismos.

EXUDADO: Líquido seroso rico en proteínas y elementos celulares, que se acumula en las cavidades del organismo y cuya causa es inflamatoria.

FIBRILAR: Perteneciente o relativo a las fibrillas proteicas.

FISTULA: Comunicación patológica congénita o adquirida entre una cavidad u órgano hueco, con otra víscera o con la superficie corporal. A través de ellas fluyen diversos líquidos orgánicos. Requieren tratamiento quirúrgico.

FOTÓN: Vehículo de interacciones electromagnéticas, onda luminosa monocromática.

G.A.G: Glucosaaminoglucanos.

HIDROXIAPATITA: Proporciona el componente inorgánico y estructural del esqueleto.

HOMOLOGABLES: Poner en relación de igualdad o semejanza dos cosas.

IONIZACIÓN: Proceso al término 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.

ISOPO: Aditamento que se compone de un palillo con el extremo en algodón utilizado para la recolección de todo tipo de muestras.

ISOFLUORANO: Éter 1-Cloro-2,2,2-Trifluoetildifluorometileno. Anestésico general volátil, no inflamable ni metabolizable.

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

KETAMINA: Arilcicloalquilamina empleada como anestésico general en administración intramuscular o intravenosa.

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

MRADS: Unidad equivalente a una milésima de Rad.

Mpa: Mega pascales

MIDAZOLAM: Derivado del grupo de la imidazobenzodiazepinas, la base libre es una sustancia lipofílica poco soluble en agua. Es indicado como hipnoinductor de corta

duración, para la premedicación, así como la inducción y el mantenimiento de la anestesia.

MIDRIASIS: Dilatación anormal de la pupila con inmovilidad del iris.

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.

NEUTRÓN: Partícula hadrónica eléctricamente neutra, cuya masa es muy similar a la del protón.

ODONTOBLASTOS: Células cilíndricas que forman una capa epitelial alrededor de la periferia de la cavidad pulpar inmediatamente por debajo de la superficie interna de la dentina.

OSTEOCALCINA: Es una proteína de 5 KD que constituye el 2% de las proteínas totales de la matriz y se encuentra unida a la hidroxipatita. Su función es desconocida.

OSTEONECTINA: La osteonectina posee dominios para colágeno del tipo I o proteoglucanos e integrinas de osteoblastos y osteocitos. De manera adicional, puede

facilitar la fijación de los cristales clásicos de hidroxiapatita a la colágena del tipo I en el hueso.

OSTEOPONTINA: Es una sialoproteína que esta fuertemente unida a la hidroxiapatita y que contiene una secuencia de fijación celular similar a la fibronectina.

OTOSCOPIO: Aparato utilizado para examinar los órganos interiores del aparato auditivo.

PROTÓN: La más ligera de las partículas fundamentales portadora de una carga positiva elemental, el núcleo del átomo del hidrogeno.

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

RECUBRIMIENTO PULPAR: Técnica encaminada a cubrir el tejido pulpar expuesto o no puede ser directo o indirecto.

SEDACIÓN: Acción farmacológica conseguida por los sedantes que consiste en tranquilizar o disminuir la excitación nerviosa.

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

XENOBIOTICO: Relacionado con sustancias orgánicas extrañas al organismo con fármacos o tóxicos orgánicos.

INTRODUCCIÓN

El uso de animales de laboratorio en la enseñanza universitaria y en la investigación no es algo nuevo. En nuestro medio la Ciencia y la Tecnología de animales de laboratorio aún está en estado embrionario. Existe un número muy limitado de profesionales y técnicos especializados en los diferentes aspectos de la cría y el mantenimiento de los animales. Los usuarios, no están, en la mayoría de los casos, preparados para definir la calidad del animal que necesitan y generalmente desconocen la historia previa de los que usan y las diferencias de los bioterios que los originaron.

Los protocolos para el manejo de los animales de laboratorio establecen diferentes normas a tener en cuenta para respetar y promover en lo posible la calidad de vida que comprende un trato adecuado, evitando el sufrimiento y dolor innecesarios provocados por el hombre durante el proceso investigativo. Entre estas normas se encuentra la resolución 8430 de 1993, que contempla los principios de la investigación biomédica en animales.

En Colombia, se han realizado varios estudios en animales implementando algunas de estas normas, sin embargo no se cuenta con la suficiente experiencia

e idoneidad para dicho manejo comprometiendo la integridad de los especímenes. Además no se cuenta con las instalaciones adecuadas para brindar condiciones como el confort, tranquilidad, y la mayor higiene posible para el bienestar de los animales y por consiguiente el éxito de los estudios.

En investigación, los estudios se han desarrollado en tres etapas en donde cada una marca la pauta para continuar con la siguiente. Una de ellas en la fase In Vitro o de laboratorio, seguida de una segunda fase experimental en animales para terminar en una tercera fase experimental en seres humanos. Esto con el fin de evitar el riesgo innecesario de la integridad humana contemplada en la DECLARACION DE HELSINKI.

Para realizar un estudio experimental en animales de laboratorio es necesario establecer un protocolo sobre el manejo clínico y anestésico en donde se estandarizan una serie de procedimientos para obtener determinados resultados acordes a los objetivos de dicho estudio, es decir, determinar lo que se puede obtener con dicho protocolo.

Estudios como el que se presenta en el presente documento establecen la necesidad de contribuir cada vez más al conocimiento científico con miras a promover la salud oral humana implementando tratamientos alternativos como los recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada humana buscando la neoformación de puentes dentinales lo cual indica la efectividad de dicho

tratamiento desde el punto de vista histológico preservando la vitalidad pulpar del diente.

El estudio estandarizó un protocolo para el manejo odontológico, anestésico y clínico de las ratas wistar para el estudio de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada humana. Además establece el tipo de material obturante efectivo para garantizar el éxito de dicho recubrimiento y su duración.

**PROTOCOLO DE MANEJO ODONTOLÓGICO DE LAS RATAS WISTAR PARA
EL ESTUDIO DE RECUBRIMIENTOS PULPARES DIRECTOS EN MOLARES
CON DENTINA LIOFILIZADA.
(PRUEBA PILOTO)**

1. CONTEXTO DE LA INVESTIGACIÓN.

1.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La investigación de materiales o elementos de uso odontológico que se van a colocar en cavidad oral requieren de estudios previos en laboratorio y en animales de experimentación, para luego poder ser utilizados en el ser humano.

El diseño de los experimentos que utilizan animales de laboratorio exige la definición detallada de las características genéticas y ambientales. De igual forma se debe conocer el manejo clínico de estos animales y adaptar los procedimientos odontológicos a los animales de laboratorio, para poder realizar recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada humana.

Por esta razón cabe preguntar: ¿Cómo es el procedimiento de anestesia de las ratas wistar?, ¿Cómo es el manejo clínico a nivel odontológico de las ratas wistar?, ¿Cuanto tiempo duran las obturaciones en las cavidades clase I de los

molares de las ratas wistar?, ¿Cuál es el material de obturación para cavidades clase I que tiene mayor duración en los molares de las ratas wistar? y ¿Cuales son los efectos histológicos de la dentina liofilizada sobre la pulpa expuesta en molares de ratas wistar?

1.2 JUSTIFICACIÓN

Esta investigación acerca del manejo clínico de las ratas wistar en el laboratorio permite describir los procedimientos de anestesia general, local y los odontológicos para la realización de cavidades clase I en los primeros y segundos molares, con sus respectivas obturaciones como la primera fase de una prueba piloto que más adelante contribuirá a la realización de los estudios de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada.

Más adelante será utilizada, en seres humanos, por ser un producto de origen orgánico, biocompatible con la estructura dentaria, siendo obtenida de dientes del mismo ser humano. Su utilidad clínica radica en realizar recubrimientos pulpaes directos en dientes que han sufrido exposición pulpar por caries dental, y de esta manera se espera la formación de puentes dentinales.

1.3 PROPOSITO

Esta investigación pretende continuar con la línea de investigación sobre dentina y por medio de una prueba piloto iniciar con el estudio experimental, desde el manejo clínico de las ratas wistar en el bioterio, el protocolo de anestesia y los

procedimientos del manejo clínico odontológico para realizar en los molares cavidades clase I y colocar obturaciones definitivas con resina, ionómero de vidrio y amalgama.

1.4 MARCO TEORICO

1.4.1 DENTINA.

La dentina, es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que conforma el mayor volumen del diente. En la porción coronal se halla recubierta a manera de casquete por el esmalte, mientras que en la región radicular está tapizada por el cemento. (Gómez de Ferraris 2001).

Es el tejido más abundante del diente, 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 3mm, siendo mayor en caninos y molares y su espesor es mayor hacia incisal y rebordes cuspídeos, en zonas oclusales va disminuyendo de la cúspide hacia el surco. Se encuentra más abundante en dientes permanentes que en dientes recién erupcionados. Su color característico es blanco amarillento y presenta una gama 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, esta es mas mineralizada pero muchos elementos la atraviesan con facilidad por la presencia de conductillos dentinales. (Abramovic A 1999, Thomas H. F 1985).

La **composición química de la dentina** esta formada por un 67% de fracción inorgánica, 20% fracción orgánica y 13% de agua. Su **componente inorgánico**, está compuesto 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 10 nm 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. (Abramovic A, 1999, Thomas H. F: 1985).

La **matriz orgánica** está 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 (γ-carboxiglutanico). Además contiene tres proteínas que se localizan en la dentina: son la fosfórica dentinaria (DPP) que tras el colágeno es el componente mas 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 ultima, segregada por los odontoblastos jóvenes y también por preameloblastos, participarían de algún modo en el proceso de interrelación epitelio-mesénquima, 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 mas 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, Abramovic 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 dentina y tienen una forma de árbol. Las ramificaciones de los tubulos han sido descritas a través del espesor dentina. (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, en la superficie pulpar dentinal coronal del humano de 29.5 a 35.000/mm, en la mitad de la dentina y de 15 a 20.000/mm cerca de la unión dentino-esmáltica. (Garberoglio y Bränstrom 1976, Mjor 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 limite 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 mas abundantes cerca de la pulpa que de los limites amelodentinarios. 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. Los procesos dentinales están ocupados por sustancia intercelular que se continúa con sustancia de la pulpa. (Orchadson 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 predentina 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 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 ésta 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 se continua 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 micro radiografías, la matriz peritubular se presenta mas 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 ultima en formarse por lo tanto es menos mineralizada que el resto. (Gómez de Ferraris y col. 2002. Abramovich 1999).

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 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 8 μm . Se producen durante el movimiento de translación del odontoblasto que de 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 300 μm ; 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 calcosferitos.

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 μm . 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 μm 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 odontoblásticas 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 o la curva simple es la región radicular, tanto más nítida aparecerá la banda de Schreger.

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. Abramovich y col 1999.

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 disminuida de conductillos dentarios.

Dentina Terciaria o Irritante: También denominada reaccional es aquella que se elabora como consecuencia de un estímulo localizado. Su localización está 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 disminuido y aun 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 permeable, 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 éste 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 que servirán de barrera frente al estímulo. La dentina opaca se localiza en los vértices de los cuernos pulpares o de los bordes incisales. (Orchardson, 1994).

La Dentinogénesis es un 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 ectomesenquimáticas de la papila dental, bajo la influencia inductora del epitelio interno, se pueden considerar las siguientes etapas:

- Células mesenquimáticas indiferenciadas
- Preodontoblastos.
- Odontoblastos jóvenes.
- Odontoblastos secretores (Gómez de Ferraris 2002).

Las células de la papila son pequeñas, estrelladas, con núcleo grande y escaso citoplasma. Entre las células ectomesenquimáticas periféricas y la membrana basal hay una delgada zona celular amorfa. En esta área se encuentran heparán sulfato, colágeno tipo IV, lámina, entactina y fibronectina en la lámina basal ameloblástica o membrana preformadora. Las células del epitelio dentario interno se dividen, se transforman en preameloblastos alcanzando las células ectomesenquimáticas de la papila. Antes de comenzar la diferenciación celular las células ectomesenquimáticas segregan colágeno tipo I y III, proteoglicanos, glicosaminoglicanos sulfatados y fibronectina. La diferenciación de las células ectomesenquimáticas es precedida por la maduración de ameloblastos jóvenes en el epitelio dentario interno. Las células ectomesenquimáticas aumentan su volumen, adoptan una 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 está 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 alojada 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 numerosos factores: El epitelio dentario interno, membrana basal, los componentes de la matriz extracelular existentes en la papila dental y distintos factores de crecimiento. El TGF- β 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 ha demostrado que los factores TGF- β 1 y β 3 estimulan la secreción de matriz y también inician la citodiferenciación de la capa odontoblástica. (Sloan y Smit 1999).

Cuando la predentina de la dentina del manto alcanza un espesor aproximado de 6 μ m comienza la mineralización. Los odontoblastos una vez que elaboran dicha predentina 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. (Avery, 1981)

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 calcico 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).

La dentina es un tejido duro extremadamente sensible ya que percibe estímulos ocasionados por variaciones térmicas, táctiles, eléctricas, cambios de pH, los cuales ocasionan dolor. La información proviene de todos los posibles receptores, se transmite al cerebro en forma de una serie de impulsos eléctricos cuya frecuencia está relacionada con la intensidad del estímulo, 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 lesión se elabora dentina terciaria. En íntima relación con la necrosis del proceso odontoblástico, en las zonas de dentina opaca disminuye la sensibilidad dentaria. (Abramovic 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 translúcida 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 translúcida representa un tipo de esclerosis por medio de la cual resulta menos permeable como más dura y menos elástica. (Abrahamovic, 1998).

El concepto actual de la estructura dentinaria señala dos tipos de matriz mineralizada, la intertubular y la peritubular. Esta última tiene un elevado grado de mineralización y se presenta completamente translúcida. Por lo tanto, es imperceptible en los cortes por desgaste y desaparece por completo cuando se prepara la pieza para los cortes de descalcificación. El proceso odontoblástico se encuentra en contacto con la cara interna de la matriz peritubular. Para otros, en cambio, existe un espacio entre ambos elementos llamado espacio peritubular. Los nervios de la dentina llevan el impulso nervioso desde la periferia hacia los centros nerviosos superiores. Las fibras nerviosas localizadas en las zonas subyacentes a los odontoblastos adquieren las características del plexo de Raschkow, cuando se ha completado la formación de la raíz algunas fibras nerviosas se desprenden de dicho plexo y se dirigen hacia los odontoblastos donde terminan su recorrido. Otras después de penetrar en la predentina, describen una curva y retornan a la pulpa. La íntima unión entre la fibra nerviosa y el proceso odontoblástico se mantiene desde la región pulpar hacia el interior de la dentina. Es probable que algunas fibras finalicen su recorrido a nivel de: los odontoblastos, la predentina y la dentina. La histofisiología de la dentina está íntimamente asociada a la pulpa. Con el transcurso de la vida, aumenta el espesor de la dentina y disminuye el de la cavidad pulpar. (Abramovic 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 predisuelta 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 “**liofilico**”, 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° o -50° C, para congelar el agua que se extrae del producto y reducir la presión de la cámara de la liofilización (Bariloche A. 1999)

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 periodos de tiempo.

La liofilización es ideal en estas instancias porque los componentes de la muestra permanecen estables y no cambian su composición química.

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 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. El proceso de desecación por congelación brusca se hace en -40°C después se realiza la sublimación al vacío en productos o elementos orgánicos con el fin de conservarlos. (Navarro Marisell 1998).

1.4.3 RADIACIÓN GAMMA.

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. 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 matar 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, y 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.

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

Se han abierto en la década pasada bancos de tejidos que apoyan los cuidados médicos y tratamiento en pacientes afectados seriamente. La Internacional Atómica 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 requerido trasplantes y cirugía reconstructiva. Una mirada generalmente acompaña la asociación de la AIEA y la tecnología de la radiación con bancos de tejidos. Aun a través de esta vía los canales de cooperación 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. (November 2002. <http://IAEA.or.at/worldatom/press/News/2002/11-5-859279.htm>)

En Agosto del 2002 en el 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 mas recientemente a Seúl. Ahora se 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 y protocolos que sean de conocimiento público.

1.4.4 RATAS WISTAR

El nombre roedores viene de la palabra rodere, significando roer. El orden de los roedores es el orden más extenso de la clasificación mamífera y abarca 56 especies pero solamente algunas causan problemas al hombre son tres las principales cepas que representan a estos animales:

1. Albinas (sprague dawley wistar)
2. Pintas (blanco y negro)
3. Long evans.

Los adultos poseen cuerpos robustos con 18 a 25 centímetros de longitud pudiendo pesar entre 250 a 600 gramos. Con pelos ásperos, orejas pequeñas y redondeadas, los ojos son de tamaño pequeño en relación al resto de la cabeza las patas poseen callos lisos y membranas interdigitales. La cola es gruesa y peluda midiendo de 15 a 21 centímetros.(Hafez, E.S.D, 1987).

Tipo de dentición de los roedores: muchos roedores son herbívoros, comen hojas, pasto y otras plantas verdes, sin embargo algunas de las especies de ratas son omnívoras que pueden comer cierto tipo de carne. Todas las especies tienen una fórmula dental que caracteriza la variación en el tamaño dental y forma entre los incisivos y molares.

Los dientes incisivos superiores e inferiores de los roedores, vienen en un punto tipo cincel que se angula hacia atrás en dirección a la lengua. Estos dientes tienen esmalte en la parte anterior y lateralmente pero atípicamente solo tienen cemento y dentina sobre el lado hacia la lengua. El cemento y la dentina se desgastan mucho más rápido que el esmalte, resultando en un borde en cincel que es más largo labialmente. En suma, el esmalte en muchas de estas especies comúnmente toma una tinción amarilla naranja, dando a estos dientes su típica apariencia amarilla brillante. Estos dientes se curvan a través de los maxilares durante el crecimiento, resultando en su gran forma curva. (Robert B Wiggs, 2000)

El ángulo oblicuo de los **molares inferiores** va en la dirección opuesta. El punto de cincel está sobre el lado lingual, y los ángulos de la tabla oclusal del diente caen hacia el tejido blando de la mejilla. (Robert B. Wiggs, 2000)

Estos patrones de desgaste son debidos al hecho que los molares superiores están más extendidos aparte de la línea media más que los dientes mandibulares. Esto es conocido como una relación mandibular ansiognática, o naturalmente dispareja, en la cual el arco dental superior es ligeramente más largo que el inferior. **El ligamento Periodontal** difiere de aquellos dientes braquiodontos adultos a causa de la presencia de un plexo intermedio hacia el centro del ligamento entre su unión dental y su unión ósea. Este plexo permite el continuo crecimiento del diente moviéndose hacia arriba. Por otra parte, el ligamento periodontal podría mantener firmemente el diente y prevenir su erupción continua.

La formula dental de las ratas adultas es la siguiente: $2 \times (I \ 1/1, C \ 0/0, P \ 0/0, M \ 2-3/2-3) = 12$ a 16 dientes totales (Robert B. Wiggs, 2000).

Otras características:

- 1 Se alimentan con alimento balanceado que contiene aprox. 20% de proteína, 5% de Fibra, 5% de Grasa.
- 2 El período gestacional es 3 semanas.
- 3 Tienen entre 8 y 12 crías por camada.
- 4 Se pueden sexar las crías al día de nacidas.
- 5 El destete se efectúa entre los días 23 y 28.
- 6 Ingesta de alimento: 100 gr/kg/día. Ingesta de agua: 80-110 ml/kg/día.
- 7 Tiempo de vida: 2 años y medio a 3 años.

1.4.5 EXPERIMENTACION EN ANIMALES.

En nuestro medio la Ciencia y la Tecnología de animales de laboratorio aún está en estado embrionario. Existe un número muy limitado de profesionales y técnicos especializados en los diferentes aspectos de la cría y el mantenimiento de los animales. Los usuarios, no están, en la mayoría de los casos, preparados para definir la calidad del animal que necesitan y generalmente desconocen la historia previa de los que usan y las diferencias de los bioterios que los originaron.

Las investigaciones básicas y aplicadas y los trabajos de manufactura y control de medicamentos y vacunas que utilizan animales deberían ajustarse a las normas internacionales de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) y de Laboratorio (GLP).

Además, las revistas científicas internacionales exigen que los investigadores firmen un documento donde se garantice que las experiencias han sido efectuadas respetando las normas internacionales existentes, por ejemplo la Declaración Universal de los Derechos de los Animales (UNESCO, 1989) y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NRC, National Research Council, 1996). La firma de este documento significa aseverar que los trabajos han sido previamente autorizados por Comités de Ética Institucionales y que todo el personal que interviene en el trabajo en relación con los animales de laboratorio, ha aprobado previamente un curso de capacitación en el tema. La investigación biomédica usando modelos animales de experimentación ha mejorado mucho la calidad y expectativas de vida en todo el mundo, es esencial para la salud y bienestar de cada persona en la sociedad. Si bien hay alguna controversia con relación al uso de animales en experimentos científicos, existe un consenso en la comunidad científica en torno a la necesidad de ello. El presente estudio consiste en que se debe garantizar un trato humano a los animales de experimentación es decir albergue, cuidado, y transporte, el personal que investiga debe tener una capacitación adecuada y se les debe brindar atención veterinaria apropiada. El proceder está apegado a las Declaraciones de Helsinki (ANEXO 2) y Hong Kong adoptadas por la Asociación Médica Mundial en torno al uso de animales en experimentos biomédicos. (Fernández M, 2004)

1.4.5.1 EL USO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO EN LA INVESTIGACIÓN BIOLÓGICA.

El uso de animales de laboratorio en la enseñanza universitaria y en la investigación no es algo nuevo. Si revisamos año tras año desde 1901 hasta la fecha los nombres y temas de investigaciones que han recibido los Premios Nobel encontramos referencias casi anuales donde la base de la investigación fueron los animales de laboratorio. Por citar ejemplos: En 1901 Von Behring en el cobayo

desarrollo el suero antidiftérico, en 1902 Ross en la paloma estableció el ciclo de vida de la malaria, en 1905 Koch en ovejas y vacas estudio la patogénesis de la tuberculosis, 1906 Golgi y Cajan en perros y caballos establecieron la caracterización del sistema nervioso central, 1907 Laveran en pájaros estableció el papel de los protozoos como causa de la enfermedad, Metchnikov en pájaros, peces y cerdos pudo estudiar la reacciones inmunes y funciones de los fagocitos, Kossel en 1910 en pájaros apporto el conocimiento de la química celular trabajando con proteínas incluyéndolas en sustancias nucleares, Carrel en 1912 en perros genero toda una modificación al campo de la cirugía al injertar vasos sanguíneos, Richet en 1913 en perros y conejos descubrió los mecanismos de anafilaxia; Bordet en 1919 en caballos y conejos descubrió los mecanismos de inmunidad; gracias a lo trabajos de Krogh en el sapo se pudo describir el sistema regulador de los capilares sanguíneos; Hill 1922 en el sapo también estableció el sistema de consumo de oxígeno y ácido láctico en el metabolismo muscular; Baring y Macleod en 1923 en perros, conejos y peces descubrieron los mecanismos de la insulina y la diabetes; Einthoven en 1924 en perros evidencio mecanismos validos aun de la electrocardiografía; Nicole en 1928 en monos, cerdos, ratas y ratones estableció la patogénesis del tifo; Eijkman y Hopkins en 1929 descubrieron vitaminas estimulantes del crecimiento y factores aneuríticos; Sherrington 1932, en perros y gatos descubrió el funcionamiento de las neuronas; Whipple en perros genero la terapia hepáticas para la anemia; Spemann en anfibios descubrió el desarrollo embrionario; Dale y Loewi 1936 en perros, gatos, pájaros y reptiles estudio la transmisión química de los impulsos nerviosos; Heymans en 1938 en perros descubrió el papel de los mecanismos aórticos y sinusales en la regulación de la respiración; en 1943 Dam y Doisy en perros, ratones y ratas descubrieron la función de la vitamina K; en 1945 Flemin y su grupo descubrieron en ratones los efectos curativos de la penicilina en las infecciones bacterianas; de allí en adelante podríamos citar como cada año cada descubrimiento fue tan importante como el anterior y cada uno de ellos marco un hito en la historia. Mas recientemente después de una cadena sucesiva de descubrimientos Murray y Thomas en

perros establecieron los trasplantes de órganos, en 1991 Neher y Sakman en sapos estudiaron la comunicación química intercelular; en 1992 Fischer y Krebs establecieron los mecanismos de regulación celular; Lewis y colaboradores en mosquitos de las frutas establecieron el control genético del desarrollo estructural temprano; en 1996 Doherty y Zinkernage en ratones establecieron un sistema de detección de virus en células infectadas.

Según datos de Figures On animal Reserch reportados en el web Animal Care, aunque es muy difícil precisar el numero de animales de laboratorio usados en docencia e investigación, para el año de 1983 se registro, según reporte de la Office of Technology Assesment 'OTA ' haber usado entre 17 y 22 millones de animales de laboratorio en los laboratorios en los Estados Unidos la mayoría de los cuales fueron rats y ratones. Otras cifras, sin embargo, dadas por el Animal Welfal Enforcement Report para el año de 1996 reportaron el uso de 1.345.739 incluyendo perros, gatos, primates, cobayos, hamsters, conejos y otros animales.

El uso adecuado y el tratamiento humano de animales usados en investigación y educación requiere del criterio científico y profesional basado en el conocimiento de las necesidades del animal y de los requerimientos especiales de la investigación, los análisis y los programas académicos. Cada institución debe proveer recursos para el cuidado del animal y su uso de acuerdo con la Guide for the Care and Use of Laboratory Animals Institute of Laboratory Animal Resources Comisión on Life Sciencies National Reserch Counsil así como la animal Welfare Regulation, organismos que convocan y recogen el pensamiento de los investigadores del área.

La investigación biológica y biomédica requiere de animales de laboratorio de calidad adecuada para garantizar la validez y eficiencia de los trabajos, su publicación y su posterior aplicación. Para asegurar esa calidad, en los países desarrollados la ciencia y la tecnología de animales de laboratorio tiene un alto

grado de sofisticación el cual alcanzaron empleando estrategias variadas de acuerdo al país. Al mismo tiempo se han establecido normas éticas estrictas y se han desarrollado políticas, legislaciones, regulaciones y recomendaciones que incluyen la obligatoriedad de los comités de ética institucionales.

En la relación con estos países Colombia tiene un atraso estimado en casi 100 años en la tecnología y una gran despreocupación en la aplicación de los principios éticos tan discutidos a nivel internacional. Esto se traduce de manera real en trabajos de investigación ineficientes y potencialmente inválidos, frustraciones por no obtener los resultados esperados, abandono de interesantes iniciativas e impedimento para la posibilidad de acceso a colaboración internacional. Además constituye un peligro para la salud de docentes, investigadores, alumnos y técnicos que trabajan en ambientes insalubres.

Situación en Colombia relacionada con el manejo de animales de laboratorio.

En la mayoría de los países en desarrollo, particularmente en Colombia, la ciencia y tecnología de animales de laboratorio es muy incipiente, se encuentra casi en el mismo estado en que se encontraban los países desarrollados después de la segunda guerra mundial. Puede decirse en términos generales que los principales problemas se encuentran en la inexistencia de un abastecimiento organizado y confiable de animales de las especies requeridas. Además las instalaciones y equipamiento de los bioterios son insuficientes y en la mayoría de los casos totalmente inadecuados. No se controla la pureza genética ni sanitaria de los animales aunque ello sea requerido para la validez de los trabajos. Con el agravante de que las dietas disponibles comercialmente ni son adecuadas ni confiables. El personal que cría y/o utiliza animales experimentales carece, en general de los conocimientos y/o entrenamiento necesario para una efectiva realización de los trabajos como apoyo a proyectos de investigación. No existen comités institucionales responsables por el aseguramiento y uso adecuado eficiente de los animales. Los entes financiadores de ciencia y tecnología no

tienen programas ni proyectos específicos para promover el abastecimiento de animales confiables para los trabajos que se financian.

Profesiones como Medicina, Farmacia, Odontología, Enfermería, Psicología y Veterinaria requieren como soporte de sus investigaciones el manejo de animales establecidos específicamente para ciertos propósitos que aun no se utilizan de manera sistemática en países como el nuestro. De manera empírica se han venido utilizando animales tomando en algunos casos de los centros de zoonosis y hasta de la calle.

En Colombia existe la ley 84 de 1989 que trata de la protección de los animales contra el sufrimiento y el dolor causado directa o indirectamente por el hombre. Define como "Animal" a los silvestres y bravíos o salvajes y los domésticos o domesticados cualquier sea el medio físico en que se encuentren o vivan, en libertad o cautividad. En el capítulo sexto de la ley se trata del uso de animales vivos en experimentos e investigaciones. Esto requiere autorización previa del ministerio de salud que deberá tener en cuenta que las experiencias sean necesarias para el control, prevención, diagnóstico o tratamiento de enfermedades que afecten al hombre o al animal y que los resultados no puedan obtenerse usando alternativas.

La ley prohíbe realizar experimentos como medio de ilustración de conferencias o con el propósito de obtener destreza manual. El artículo 26 dice "para todo experimento en animales vivos deberá conformarse un comité de ética". Este comité deberá estar integrado por lo menos por tres miembros, uno de los cuales deberá ser veterinario del Instituto Colombiano Agropecuario el segundo deberá pertenecer a la Autoridad Administrativa de los Recursos Naturales y el tercero deberá ser representante de las sociedades Protectoras de Animales. "los miembros del comité de Ética serán designados por sus respectivas entidades a solicitud del experimentador".

El comité coordinara y supervisara las actividades y procedimientos encaminados al cuidado de los animales, las condiciones físicas para el cuidado y bienestar de los mismos, el entrenamiento y capacitación del personal encargado del cuidado de los animales, los procedimientos para la prevención del dolor innecesario, y el cumplimiento de las disposiciones de los artículos particulares de la ley. Este Comité podrá ordenar la suspensión de los experimentos y el sacrificio de los animales cuando se haya causado enfermedad o lesión incurable. El Comité tiene el deber de inspeccionar por lo menos cuatro veces al año las áreas de estudio con animales en cada laboratorio y en los centros experimentales” revisando las condiciones de manejo y el control del dolor en los animales.

Principios Éticos Internacionales que guían la investigación biomédica con animales de laboratorio:

El tema de la ética compete a todos los individuos pero, con mayor razón, a los involucrados en la investigación biológica: desde el técnico auxiliar que esta a cargo del cuidado de los animales, hasta el mas alto directivo de la institución productora o usuaria de los mismos. La primera condición del científico que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, el dolor o el sufrimiento a que estos pueden ser sometidos en los trabajos bajo su responsabilidad.

Existe un fuerte movimiento internacional, cuya visibilidad es cada vez mayor, que niega totalmente el derecho del hombre como especie a utilizar las demás especies para su propio beneficio. Esto se aplica tanto a la experimentación biológica y biomédica como a la industria alimenticia, a la del vestido, a las actividades deportivas, etc. Los integrantes de este movimiento llegan a comparar la investigación en animales con crueldades y tormentos medievales.

En contra posición a este movimiento existe otra corriente con que se considera que la experimentación en animales es fundamental para el avance del entendimiento de la naturaleza de la vida y sus procesos específicos, y para perfeccionar nuestras herramientas para prevenir y curar enfermedades. Esto beneficiara no solamente al hombre sino también a los propios animales. Este grupo reconoce que el uso de los animales en la investigación ha contribuido grandemente para aliviar el sufrimiento y el dolor y para prolongar la vida útil y que aun existen muchas enfermedades que requieren estudios en animales para su mejor entendimiento y curación (Esclerosis Múltiple, Parkinson, Sida, etc.).

Se calcula que existen más de cuatrocientas organizaciones en el mundo preocupadas por el bienestar y los derechos de los animales.

Independientemente de la posición de cada persona tengan con respecto a esta problemática no puede negarse que la utilización de animales con propósitos científicos trae consigo problemas filosóficos y morales que difieren en cada sociedad, país o cultura de acuerdo a tradiciones, dogma religiosos, creencias nativas, etc.

La UNESCO y la ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD establecieron desde 1949 el Council For International Organizations cuyo principal campo de acción incluye la bioética, la nomenclatura internacional de las enfermedades, el desarrollo y uso de medicamentos, la educación medica y la política y la economía relacionadas con la salud. Esta institución elaboro los principios básicos para guiar éticamente la investigación biomédica realizada con animales. Estos principios fueron el resultado de extensas consultas internacionales e interdisciplinarias:

- I. El avance del conocimiento biológico y el desarrollo de mejores medios para la protección de la salud y el bienestar tanto del hombre como el animal, requieren recurrir a experimentación en animales vivos intactos de una gran variedad de especies.

- II. Siempre que sean apropiados, deben usar en métodos tales como matemáticos, simulación en computador y sistemas biológicos in Vitro.
- III. La experimentación en animales solamente se debe realizar después de estudiar la importancia para la salud humana o animal y para el avance del conocimiento biológico.
- IV. Los animales seleccionados para la experimentación deben ser de una especie y calidad apropiada y utilizar el mínimo numero requerido para obtener resultados científicamente validos.
- V. Los investigadores y más personal nunca deben dejar de tratar a los animales como seres sensibles y deben considerar como un imperativo ético el cuidado y uso apropiado y el evitar o minimizar la inconformidad, la angustia y el dolor.
- VI. Los investigadores deben presumir que procedimientos que causarían dolor, en seres humanos también causan dolor en otras especies vertebradas aun cuando todavía falta mucho por saber sobre la percepción del dolor en animales.
- VII. Todo procedimiento que pueda causar en animales mas que un dolor o una angustia momentánea o mínima, debe ser realizado con sedación, analgesia o anestesia apropiada y conforme con la practica veterinaria aceptada. No se deben realizar procedimientos quirúrgicos, o dolorosos en animales no anestesiados paralizados con agentes químicos.
- VIII. Cuando se requiere adaptar lo establecido, la decisión no debe ser tomada solamente por el investigador exactamente involucrado sino que debe ser tomada por el cuerpo revisor convenientemente constituido. Estas excepciones no deben hacerse solamente con fines de demostración o de enseñanza.
- IX. Al final del experimento, o cuando sea apropiado durante el mismo, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia o invalidez que no pueda ser mitigada, deben ser sacrificados con dolor.

- X. Los animales mantenidos con propósitos biomédicos, deben tenerse en las mejores condiciones de vida, normalmente el cuidado de los animales debería estar bajo la supervisión de veterinarios con experiencia en la ciencia de manejo de laboratorio.
- XI. El director del instituto o del departamento donde se usen animales es el responsable de asegurar que los investigadores y demás personal tengan calificación apropiada o experiencia para realizar los procedimientos en animales.

El uso de los animales de experimentación, su protección, su bienestar la definición por categorías, y las normas éticas han sido objeto de regulaciones nacionales e internacionales, el consejo internacional para la ciencia de los animales de laboratorio ICLAS, ha venido promoviendo estas actividades.

Los códigos, formatos, reglamentos, normas y demás rigen a nivel internacional para garantizar la calidad de los resultados de la investigación científica y los servicios científico-técnicos tienen fundamentalmente unos principios básicos y los principios específicos que se describirán a continuación.

Principios básicos:

El avance de los conocimientos biológico y el desarrollo de los mejores medios para la protección de la salud y el bienestar, tanto del hombre como de los animales, requieren del empleo, sobre animales vivos en una amplia variedad de especies. El hombre tiene necesidad de utilizar el animal en la búsqueda de conocimiento humano igual que para alimentarse, vestirse y trabajar. De ahí el deber de respetar al animal, ante auxiliar y ser viviente, común a él.

Toda persona que reproduzca o emplee los animales con fines experimentales debe tener presente que están dotados de sensibilidad y memoria y que son susceptibles al dolor y a la angustia.

Por las razones éticas antes expuestas unido al elevado valor económico de su reproducción y uso, en los estudios con animales de laboratorio debe existir una

probabilidad razonable de que, los mismos, contribuyan de manera importante a la adquisición de conocimientos que resultaran eventualmente en la mejora de la salud del hombre, de los animales y de las plantas.

Los sistemas matemáticos modelos de análisis y computación y microbiológico, el análisis químico, el cultivo de células tejidos y órganos el uso de plantas e invertebrados, la investigación epidemiológica, y la investigación controlada en humanos, deben ser utilizados, cuando sean apropiados y aceptados, en la situación o disminución de numero de animales de experimentación.

Las experiencias, concernientes a los animales vivos y a las extracciones tejido o células, a sujetos vivos con fines de investigación deben ser realizados, por un profesional calificado o bajo su control directo. Los propósitos, la selección y las condiciones de conservación de los animales en experimentación deben ser definidas y controlada por personal autorizado y competente.

Toda persona vinculada a la cría, transporte, recepción y uso de los animales de laboratorio, debe tener en cuenta los procedimientos que disminuya la tensión o angustia del estado higiénico sanitario original; de tal forma que permita una rápida adaptación del animal para la adaptación de la experimentación.

Se deben emplear anestésicos, analgésicos o sedantes para lograr la disminución o alivio del dolor y el sufrimiento: a menos que sea contrario a los objetivos del estudio. En esta última situación, se permitirá solamente una breve duración del dolor, debiendo ser aliviado posteriormente.

Si durante el uso. Después del mismo, o cuando se consideran, apropiado, los animales sufrirán dolor crónico severo, molestias, sufrimiento daño o invalidez que no puedan ser aliviados, esto deberán ser sacrificados por métodos debidamente sacrificados éticamente sin dolor – eutanasia.

Principios específicos:

Posibilitar el mínimo de manipulaciones al animal y las intervenciones en su entorno evitando perturbarlo o provocarle reacción de alerta refugio o escape.

Ofrecerle un entorno confortable y protegido en cuanto a:

Agentes Físicos: temperatura, humedad relativa, ventilación, presión atmosférica, iluminación y lecho.

Agentes químicos: calidad del aire, ausencia de sustancias químicas ajenas a su especie o nocivas, calidad del agua y los alimentos, sustancias odoríferas propias de su especie.

Agentes biológicos: ausencia de microorganismos patógenos y parásitos.

Lograr la seguridad del confinamiento evitando su escape o fuga, la penetración de otros animales, la exposición o daño y la ausencia de peligros.

Las áreas de alojamiento de los animales deben ser específicas para ese propósito y deben responder a los requerimientos establecidos para la actividad que se trate. Solo en aquellos casos cuando los procedimientos experimentales sean los comúnmente utilizados en las áreas de cría, se podrán instalar los animales en estas áreas.

Se deben lograr los objetos de experimentos, prueba, ensayo o validación con el mínimo de variables de tiempo y de animales.

Es recomendable ofrecer toda la información obtenida del conocimiento y uso de los animales para cualquier propósito a los suministradores del mismo, los cuales la adjuntara a la que poseen sobre la caracterización de sus colonias respectivas.

Idoneidad:

Todas las personas que trabajan con animales deben poseer una personalidad acorde a los objetivos fundamentales del manejo de los mismos y en particular los principios éticos y molares que conduzcan a una actitud positiva a los animales en defensa de su bienestar y protección.

La superación técnico profesional por cualquier vía o forma, en una actividad permanente de cada persona que maneje animales de laboratorio. Se deben poseer los conocimientos como habilidades y calificación que cada puesto de trabajo requiere para su desempeño y se deben dominar la reglas, procedimientos

y principios que rigen para cada ocupación todas estas actividades deben ser debidamente inspeccionadas.

El personal que labore con animales debe mantener hábitos correctos de higiene y limpieza personal, utilizar adecuadamente su vestuario de trabajo. Debe cumplir las instrucciones y medidas de la medicina del trajo y reglamento de protección de higiene que corresponda a su puesto de trabajo y cargo. La ingestión de alimentos, uso de cosméticos, arreglo o aseo personal o el habito de fumar se deben realizar en las áreas habilitadas para ello. Deben mantenerse una supervisión permanente de estos aspectos.

Para mayor ilustración para lo aquí expuesto que transcribirá el capítulo 6 de la ley 84 de 1989:

Art.23. Los experimentos que se llevan a cabo en los animales vivos se realizaran únicamente con autorización previa del Ministerio de Salud Publica y solo cuando tales actos sean imprescindibles para tal estudio y avance de las ciencias, siempre y cuando este demostrado.

- a. Que los resultados experimentales no pueden obtenerse por otros procedimientos o alternativas.
- b. Que las experiencias son necesarias para el control, prevención, el diagnostico o el tratamiento de enfermedades que afecte al hombre o al animal.
- c. Que los experimentos no puedan ser sustituidos por cultivo de tejido, modos computarizados, dibujos, películas, videos u otros procedimientos análogos.

Art.24 El animal en cualquier procedimiento deberá ser puesto bajo los efectos de anestesia lo suficientemente fuerte para evitar que sufra dolor.

Si sus heridas son de consideración o implican mutilación grave, serán sacrificados inmediatamente al término del experimento.

Art.25 Se prohíbe realizar experimento con animales vivos como medios de ilustración de conferencias en facultades de medicina, veterinaria, zootecnia,

hospitales o laboratorios o en cualquier otro sitio dedicado al aprendizaje, y con el propósito de mantener destreza manual.

Los experimentos de investigación a cabo únicamente en los laboratorios utilizados previamente por las autoridades del Ministerio de Salud y el Decreto 1608 de 1978 en lo pertinente.

También se prohíbe el uso de animales vivos en los siguientes casos expresamente:

- a. Cuando los resultados del experimento son conocidos con anterioridad.
- b. Cuando el experimento no tiene un fin científico y especialmente cuando esta orientado hacia la actividad comercial.
- c. Realizar experimentos con animales vivos de grado superior en la escala zoológica al indispensable, según la naturaleza de la experiencia.

Art.26 Para todo experimento con animales vivos deberá conformarse un comité de ética.

El Ministerio de Salud no autorizara la utilización de experimentos con animales vivos sino cuando este conformado el mismo, el cual deberá estar integrado por lo menos con tres miembros uno de los cuales deberá ser veterinario del Instituto Colombiano Agropecuario, el segundo deberá pertenecer a la autoridad administrativa de los recursos naturales y el tercero deberá ser representante de las Sociedades Protectoras de Animales. "Los miembros del comité de ética serán designados por sus respectivas entidades a solicitud del experimentador". El gobierno nacional reglamentara la forma de prever las representaciones de las Sociedades Protectoras de Animales y Junta Coordinadora Nacional que tendrá tres miembros por un periodo de dos años. Las representaciones de las Sociedades Protectoras de Animales en los comités de ética serán ad-honorem.

Todo comité de ética establecido de acuerdo con este artículo será responsable de coordinar y supervisar:

- a. Las actividades y procedimientos encaminados al cuidado de los animales.
- b. Las condiciones físicas para el cuidado y bienestar de los animales.

- c. El entrenamiento y la capacitación del personal encargado del cuidado de los animales.
- d. Los procedimientos para la prevención del dolor innecesario incluyendo el uso de anestesia y analgésicos.
- e. El cumplimiento de lo descrito en los artículos 24 y 25 de esta ley.

El director de un procedimiento en el que se vayan a utilizar animales vivos, quedan obligados a comunicar al comité de ética la naturaleza de los procedimientos que vayan a emplearse con los animales, el número y tipo de los mismos, las alternativas al uso de animales y las fuentes y naturaleza de los fondos de investigación.

En el sitio en el cual un comité de ética tenga razones para crear que se esta violando esta ley o que se violara o que se haya violado, ordenara los siguientes, según sea pertinente:

- a. Suspensión del experimento.
- b. Sacrificio del animal cuando se le haya causado enfermedad o lesión incurable.

PARÁGRAFO-Son deberes de los comités de ética:

- a. Reunirse trimestralmente.
- b. Hacer inspecciones por lo menos cuatro veces al año a las áreas de estudio de animales en cada laboratorio y a los centros experimentales, de las cuales rendirán un informe a las autoridades competentes y a la entidad administradora de los recursos naturales.
- c. Revisar durante las inspecciones de los centros experimentales o de estudio las condiciones de manejo y el control del dolor.

La docencia e investigación biológica, e biomédica, el desarrollo, y la producción en el control de medicamentos, alimentos y otros insumos importantes para la salud humana y animal, requieren la utilización de animales de laboratorio.

El diseño de los experimentos que utilizan animales de laboratorio exige la definición detallada de las características genéticas y ambientales. Solo así, utilizando animales definidos y estandarizados se obtendrán resultados reproducibles.

Mantener los animales en condiciones sofisticadas durante los experimentos puede ser inútil si los mismos fueron previamente sometidos a agentes infecciosos, nutrición inadecuada, estuvieron en contacto con agentes químicos perjudiciales o albergados en condiciones que alteraron sus características comporta mentales, fisiológicas y hasta anatómicas. Todo lo que suceda desde el nacimiento hasta la muerte del animal debe ser preocupación del investigador, pues a todo lo largo de este intervalo pueden introducirse variables que afecten adversamente los resultados experimentales.

Además, las revistas científicas internacionales exigen que los investigadores firmen un documento donde se garantice que las experiencias han sido efectuadas respetando las normas internacionales existentes, por ejemplo la Declaración Universal de los Derechos de los Animales (UNESCO, 1989) y la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (NRC, 1996). La firma de este documento significa aseverar que los trabajos han sido previamente autorizados por Comités de Ética Institucionales y que todo el personal que interviene en el trabajo en relación con los animales de laboratorio, ha aprobado previamente un curso de capacitación en el tema.

Genética y reproducción

Es esencial una investigación de las características genéticas para seleccionar los animales, a fin de elegir los portadores de caracteres consistentes con los objetivos experimentales. Deben considerarse las diferencias conocidas entre especies, colonias o cepas que incluyen; expectativas de vida, anatomía, tamaño corporal, sistemas fisiológicos y metabólicos, requerimientos nutricionales, susceptibilidad a enfermedades, características comporta mentales,

susceptibilidad a xenobióticos, etc. Es muy importante conocer la historia genética completa de los animales antes de comenzar a trabajar. (Mrad y Cardozo 1999).

Ambiente

Existe abundante evidencia de que las condiciones ambientales en que se crían y experimentan los animales influyen decisivamente en las respuestas a los diferentes tratamientos. Si se requieren respuestas estandarizadas las condiciones en que se mantienen los animales deben ser fijas y comparables en todos los laboratorios del mundo.

En general, los cambios en el ambiente externo son registrados por los receptores externos de los animales que enviarán información al sistema nervioso central el que, a su vez informará al sistema neuroendocrino para restaurar cualquier desbalance homeostático.

Esto producirá cambios en el modelo animal y con ello cambios, reconocibles o no, en las respuestas ocasionadas por el tratamiento experimental. Estas modificaciones pueden traducirse en una modificación del tipo de respuesta o en un aumento de la variabilidad de los resultados entre o dentro de los laboratorios.

Los principales factores ambientales que afectan a los animales pueden clasificarse en Climáticos (temperatura, humedad, ventilación, etc.). Fisicoquímicos (iluminación, ruido, presencia de contaminantes, anestésicos y sanitizantes, composición del aire y cama, etc.

Habitacionales (forma, tamaño, tipo y población de las jaulas, etc.) Nutricionales (dietas, agua y esquema de administración). Microorganismos y parásitos (con especial referencia a los patógenos específicos de cada especie). Situación experimental.

Ética y alternativas

El tema ético compete a todos los individuos pero, con mayor razón, a los involucrados en la investigación biológica, desde el técnico auxiliar que este a cargo de los animales, hasta el directivo de la institución productora o usuaria de

los mismos. La primera condición del científico que trabaja con animales de laboratorio es el respeto por la vida, el dolor o el sufrimiento a que éstos pueden ser sometidos en los trabajos bajo su responsabilidad. Siempre que se utilizan animales en investigación se tiene que considerar que un objetivo, tan importante como el de obtener resultados experimentales será el de minimizar cualquier dolor o angustia que estos puedan sufrir. El refinamiento de los procedimientos para conseguir que sean más humanos debe ser parte integrante de toda investigación científica. Esto es importante tanto desde el punto de vista de la preocupación humanitaria como para cumplir con los requisitos de la legislación sobre animales de investigación.

Principios éticos internacionales para investigación biomédica con animales.

El avance del conocimiento, la protección de la salud y/o el bienestar de los hombres y los animales requiere de experimentación con animales vivos.

Siempre que sea apropiado, usar métodos alternativos.

Realizar experimentación en animales después de estudiar su importancia para la salud humana y animal y para el avance del conocimiento biológico.

Seleccionar animales de especie y calidad apropiadas y usar el mínimo número requerido para obtener resultados científicamente válidos.

Tratar a los animales como especies sensibles y considerar imperativo ético el cuidado y uso adecuado, evitando o minimizando la incomodidad (discomfort), angustia y dolor.

Presumir siempre que los procedimientos dolorosos para el hombre también causarán dolor en otras especies vertebradas.

Procedimientos que pueden causar dolor o angustia momentánea o mínima deben ser realizados con sedación, analgesia o anestesia. No realizar procedimientos quirúrgicos o dolorosos en animales no anestesiados o paralizados con agentes químicos.

Cuando se requiere apartarse del principio anterior la decisión debe ser tomada por un Comité convenientemente constituido. Estas excepciones no deben ser hechas solo para demostración o enseñanza.

Al final de la experiencia, o en el momento apropiado, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia, invalidez, que no puedan ser aliviados, deben ser sacrificados sin dolor.

Los animales mantenidos con fines biomédicos, deben tener las mejores condiciones posibles, de preferencia con supervisión de veterinarios con experiencia en ciencia de animales de laboratorio.

Categorización de molestias o malestar inducido durante la fase de investigación.

Molestias menores.

Toma de muestra de sangre.

Examen rectal.

Toma de muestra de flujo vaginal.

Administración forzada de sustancias inocuas.

Experimentos terminales bajo anestesia.

Vacunas sin coadyuvante.

Toma de radiografías en animales no anestesiados.

Molestias moderadas

Toma frecuente de muestras de sangre.

Pruebas de pirógenos.

Cateterización y canulación.

Uso de yesos.

Inmovilización

Cesárea.

Recuperación de anestesia general.

Inmunización

Molestias severas

Extracción del fluido ascítico.

Sangría total sin anestesia previa.

Inducción de defectos genéticos.

Deprivación prolongada de comida, agua o sueño.

Pruebas de dosis letal 50 y concentración letal 50.

Inmovilización con relajantes sin sedación.

Inducción de infecciones experimentales.

Pruebas de carcinogenicidad con producción de tumores.

Inducción de convulsiones.

Categorización de la invasividad

Categoría A. Experimentos realizados en invertebrados o células/tejidos aislados.

Categoría B. Experimentos que causan nulo o mínimo estrés o molestia.

Categoría C. Experimentos que causan leve estrés o dolor de corta duración.

Categoría D. Experimentos que causan de moderado a severo malestar o molestia.

Categoría E. Procedimientos que causan dolor severo o al límite de tolerancia en animales conscientes.

Alternativas (El principio de las tres R's)

Se considera como alternativa cualquier técnica que Remplace el uso de animales, que Reduzca su número en un trabajo particular o que Refine un método existente para disminuir el dolor o malestar de los animales (Reemplazo, Reducción y Refinamiento).

Entre las alternativas tendientes al Reemplazo se pueden mencionar:

Sustitución de estudios en animales vivos por invertebrados, embriones de vertebrados o microorganismo.

Trabajos con órganos o humores aislados de animales.

Técnicas in Vitro utilizando cultivo de órganos, tejidos o células.

Sistemas fisicoquímicos mimetizantes de funciones biológicas.

Simulación de procesos fisiológicos y modelos matemáticos de relación estructura y actividad basados en las propiedades fisicoquímicas de principios activos utilizando computadores.

Entre las alternativas tendientes a la reducción se pueden mencionar:

Ajuste de la calidad genética, sanitaria y ambiental de los animales para lograr una menor dispersión de los datos y como consecuencia la disminución de los animales necesarios para la significación estadística de los resultados. Simultáneamente la utilización de técnicas de diseño experimental sofisticadas para la misma finalidad Planificación de las experiencias para compartir los mismos animales. Establecimiento de banco de datos, facilitación del acceso a la literatura especializada y estímulo a la publicación de los resultados negativos con la finalidad de evitar la repetición de experimentos.

Entre las alternativas tendientes al Refinamiento se pueden mencionar:

Perfeccionamiento de métodos para detectar dolor.

Utilización de técnicas no invasivas, antropométricas o telemétricas.

Empleo de análisis radiológicos para detectar tumores o deterioro orgánico incipiente sin esperar sintomatología aparente. Esto permitirá anticipar la eutanasia evitando así el padecimiento prolongado del animal.

Uso de analgésicos, tranquilizantes o anestésicos cuando las circunstancias lo permitan.

Responsabilidades.

En la práctica el cuidado de los animales de laboratorio recae en varias personas, pero legalmente y dependiendo de las leyes del país donde se adelanta el estudio, la responsabilidad final con frecuencia recae en el investigador principal que esté realizando el procedimiento científico. (Mrad de Osorio, A. 1999)

Cuando se deben alojar animales de laboratorio hay que regular las condiciones ambientales, de nutrición y de manejo y observar un período de cuarentena desde la compra hasta la utilización. El lugar debe contar con las condiciones adecuadas para asegurar la salud y comodidad de los animales, lo que colaborará para obtener respuestas confiables al verse sometidos al protocolo experimental. Muchas veces no se cuenta con el lugar apropiado para el mantenimiento de los mismos,. Cuando se plantea la necesidad del uso de animales de laboratorio, luego de seleccionar la especie y el protocolo experimental, surge la duda acerca del lugar donde éstos serán alojados mientras dure la experiencia. Existen lugares que son denominados bioterios. Generalmente son cuartos donde se guardan las jaulas con los animales, se les cambia el material de cama lo suficiente para que no generen un desagradable olor en el ambiente, y se les da alimento y bebida para asegurar su subsistencia mientras dure el experimento.

Cuando uno habla de instalaciones adecuadas, en general se reconoce que son necesarias, pero también costosas, y en ocasiones impracticables.

En la construcción de las salas de animales de bioterio se deben seguir ciertas normas. Los pisos principalmente deben ser fáciles de desinfectar y poseer cierta pendiente. Debe haber un sistema de desagüaderos eficiente, el cual se debe verificar regularmente para asegurar su funcionamiento adecuado. Para las paredes deben utilizarse materiales impermeables y al igual que los techos deben carecer de juntas y fisuras que impidan la correcta desinfección. Las puertas

deben tener las medidas adecuadas y estar diseñadas para evitar la entrada de roedores. Hay que tener en cuenta que las ventanas exteriores interfieren en el control de la temperatura y del foto período. Los pasillos tienen las mismas normas de construcción anteriores en cuanto a piso, paredes y techos y estarán ubicados estratégicamente según la circulación prevista en los programas de trabajo. En cuanto a los servicios, las salas de animales deben tener agua fría y caliente y un sector eléctrico a prueba de agua, insectos y explosiones lo mismo que conmutadores y termostatos, además de un generador para emergencias.

Los bioterios cobran un precio por animal durante su estadía, que puede ser comparado con el costo que tiene el investigador al mantenerlo en su propio laboratorio, de acuerdo al número de animales a utilizar y al tiempo que se los deberá alojar.

Cuando se posee un lugar, lo apropiado es tratar de regular las condiciones ambientales, de nutrición y de manejo. Controlar la luz, en intensidad, duración y foto período, la temperatura y la humedad, Cambiar el material de lecho dos a tres veces por semana para evitar concentraciones altas de amoníaco que son perjudiciales para los animales. Abastecer de comida y de agua limpia, lavar y desinfectar con frecuencia todo material en contacto con los animales. Evitar el hacinamiento, los ruidos y los manejos inadecuados. Observar un período razonable de cuarentena desde la compra hasta la utilización, para tener animales mejor adaptados, menos estresados y más sanos, generando por lo tanto un mejor resultado experimental.

El agua debe ser renovada en forma total diariamente. Las bebederos serán lavadas y desinfectadas una vez por semana. Los picos deben ser lavados con cada uso, enjuagando con agua, y serán limpiados con cepillo periódicamente evitando el taponamiento de los mismos. Los bebederos automáticos se limpiarán semanalmente, se desinfectarán quincenalmente, y se mantendrá clorinada el agua de los mismos. Los picos serán revisados y se deberán mantener en

condiciones. Los tanques deben recibir igual tratamiento. En los casos necesarios se pondrá doble bebederos, los fines de semana, feriados o sin concurrencia del personal. Se debe trabajar con el menor ruido posible y en forma de reducir el estrés ocasionado a los animales.

Al entrar en contacto con las ratas es necesario el empleo de barreras sanitarias, como guantes, tapabocas y ropa desechable, para la limpieza y desinfección de las instalaciones.

El investigador podrá decidir, de acuerdo a sus necesidades, dónde ubicar los animales empleados, teniendo en cuenta que el lugar brinde condiciones ambientales y de manejo que aseguren la salud y la comodidad de los mismos, de modo que sus patrones metabólicos y su comportamiento se mantengan normales y estables dando respuestas confiables al verse sometidos al protocolo experimental.

En el campo de la investigación científica es habitual el uso de animales para experimentación.

Como seres humanos responsables y cada vez comprendemos más el valor de estas especies en nuestro planeta, y la necesidad de protección que tienen.

Como investigadores, surge la necesidad de encontrar modelos animales que aporten los requerimientos necesarios a nuestra investigación, y nos brinden resultados certeros, que reiteren en beneficio de esas mismas especies, y del hombre.

Sabemos bien que toda especie animal puede ser tomada como modelo, dependiendo del objetivo de nuestra investigación. Pero cada una de ellas necesitará parámetros distintos para su mantenimiento en bioterios y su uso en el campo de la investigación biomédica.

Y es allí donde debemos seleccionar nuestro modelo, ver si nosotros podemos alcanzar y mantener nuestro objetivo general.

Para realizar con criterio esa selección, es necesario conocer profundamente nuestro objeto animal y su vida silvestre, su biología y sus hábitos, su genética y su nutrición, su forma de aparearse, cuidar a sus crías, sus enfermedades, y todo cuanto podamos acerca de él.

La selección de los materiales y métodos empleados en un protocolo experimental se realiza en forma cuidadosa, metódica, programada. Todo se piensa y se calcula minuciosamente. Se invierte trabajo, dinero y tiempo. Y sin embargo suele suceder que el modelo animal no responde como esperamos. Los experimentos no dan.

La última regla habla de nuestra calidad como investigadores, de nuestra habilidad y de nuestra práctica. Refine sus técnicas antes de aplicarlas a los animales. Disminuya su dolor como si se tratara del suyo, escoja el método eutanásico más conveniente, piense que los buenos resultados que obtuvo fueron gracias a su profesionalismo, y a esos animales (Fernández M, 2004)

1.4.5.2. ANESTESIA GENERAL EN ANIMALES.

ANESTÉSICOS NO INHALATARIOS

Se introducen por cualquier vía, excepto la inhalatoria. Normalmente es IV o IM, se pueden usar como inducción de anestesia para después continuar la anestesia con un anestésico inhalatorio. También puede ser exclusivo para llevar a la anestesia y después mantener la anestesia (mediante una bomba de infusión continua o añadiendo dosis adicionales conforme lo necesita).

También se puede usar anestésicos inyectables como coadyuvantes de anestésicos inhalatorios. También cada vez se usa más para mantener animales

un la UCI quietos. También en animales con crisis convulsivas para dormirlos durante días.

Producen una inducción rápida y suave, olvidando la excitación voluntaria e involuntaria. No irrita el aparato respiratorio, no poluciona el ambiente del quirófano. Como inconveniente, si tiene una reacción anafiláctica, después de inyectarlo, no hay remedio. Al no intubar al animal, no se le da O₂ al animal. También puede tener una respuesta variable.

BARBITURICOS

Sales del ácido barbitúrico que actúan rápidamente en el organismo. Hay tiobarbitúricos, oxibarbitúricos. Dentro de los tiobarbitúricos se incluye los barbitúricos de acción ultracorta (sobretudo se va el tiopental).

Los oxibarbitúricos tienen acción corta como el pentobarbital (Dolethal ®) que sólo se usa para fines eutanásicos o de acción larga como el fenobarbital (Luminal ® y Epilantin) que se usan para tratar reacciones epilépticas.

Tienen acciones muy concretas, principalmente con fines anestésicos. Son muy buenas sustancias hipnóticas que producen rápidamente el sueño y son profundos depresores cardiorrespiratorios, muy relacionados con la dosis. También producen arritmias, pasan la placenta y afectan al feto, se debe evitar cuando se hace una cesárea. Son sustancias muy irritantes de pH alcalino que sólo se pueden dar intravenoso. Las que sirven para tratar convulsiones también están en pastillas.

Cuando se suministra a un animal obeso, tarda en localizarse en el tejido adiposo y se debe dar pensando en el peso del animal sin grasa (primero afecta al SNC y el remanente va al tejido adiposo).

TIOBARBITAL à (Tiopental / Pentotal). Es un polvo amarillento, que cuando se diluye sólo se puede mantener 24-48 h porque rápidamente pierde efectividad. Se comercializa en envases de 0'5 – 1 g. La solución madre está al 5% o 1/20.

En el bote de 1 g se suministran 20 ml de suero fisiológico o agua destilada.

En el bote de 0'5 g se suministran 10 ml de suero fisiológico o agua destilada.

Como es una solución alcalina y muy irritante si sale de la vena, sólo se usa al 5% si el perro pesa más de 30 Kg. Si pesa menos se da al 2'5% o 1/40.

Si el animal es muy pequeño o se decide usarlo como anestesia exclusiva, se da al 1'25% o 1/80 (< 5 Kg o anestesia prolongada).

Los anestésicos inyectables pueden ser inductores o anestésicos exclusivos. Si se usa como inductor, se necesitan 10 mg / Kg de pentotal IV. Después se mantiene con anestesia inhalatoria.

Si se decide usar el pentotal como anestésico único se usa un máximo de 25 mg / Kg. Si pesa 20 Kg se usa al 2'5% o 1/40.

$20 \text{ mg} \times 25 \text{ mg/Kg} \times 40 \text{ ml} / 1000 \text{ mg} = 20 \text{ ml Pentotal } 1/40.$

El pentotal produce depresión cardiovascular dosis dependiente y produce efecto acumulativo, pero nunca se puede pasar de 25 mg / Kg para dar Pentotal porque a partir de esa dosis hay muchos problemas, y no produce relajación muscular.

Apenas tiene efecto analgésico. Para inducción se da 1/20 – 1/40 – 1/80.

Los efectos concretos en el sistema cardiovascular son arritmias, hipotensión, taquicardia, fibrilación auricular y paro cardíaco y disminución del rendimiento cardíaco.

A nivel respiratorio, es un depresor potente y deprime el centro respiratorio permitiendo que haya más CO₂ circulando.

PROPOFOL

Es un derivado fenólico muy poco soluble y se debe diluir en aceite de soya y lecitina de huevo, que es altamente contaminable y se aconseja tirar a la basura.

Las ampollas son de 10 mg / ml y tiene una rápida metabolización (glucoronoconjugación y sulfatación hepática que lo llevan a metabolitos inactivos que no producen anestesia de forma inmediata). Desaparece de forma muy rápida, pero el resto es muy parecido al pentotal, es un potente depresor cardiorrespiratorio y potente depresor cardiovascular. Tiene un muy bajo poder analgésico y relajante, que puede dar temblores en la inducción.

Produce la misma depresión cardiorrespiratoria que el pentotal. Se puede usar como anestésico único porque no tiene efecto acumulativo. Para inducir, se aconseja usarlo sin tranquilizante en dosis de 6 mg / Kg. Si se usa con tranquilizante, se da en 4 mg / Kg. Se aconseja como sustancia que se pueda usar para hacer cirugía sin gases.

Para toda la anestesia se pone 4-6 mg / Kg según si es con o sin tranquilizante y después en infusión continua en 0'4 mg / Kg min. Desaparece el efecto en unos minutos. Permite hacer cirugías. Si se necesitan dosis adicionales por falta de bomba de infusión, se pone 1 mg / Kg.

DERIVADOS IMIDAZÓLICOS

Etomidato Sibul ®. Produce una mínima depresión cardiovascular y respiratoria. Se metaboliza muy rápidamente, no se acumula, es un analgésico pobre y produce una rápida recuperación.

Sustancia especialmente indicada para la inducción de pacientes de alto riesgo, sobretudo pacientes cardiopatas con insuficiencia cardiaca.

Para la inducción se usan dosis de 1-3 mg / Kg vía IV. Siempre hay que dar analgésico como el Buprex. Se pueden dar dosis sucesivas. Se mantiene con anestesia inhalatoria. Sólo sirve para inducir.

AGENTES DISOCIATIVOS

Producen una sobre estimulación del sistema límbico y de la formación reticular (es parecido a un estado epiléptico donde el animal no se entera de nada). Lleva a una depresión de la corteza cerebral, el animal no es consciente del dolor que se le provoca. Por esta sobre estimulación que produce, también se modifica las características de los estadios anestésicos: hay una primera fase que produce salivación, dilatación de la pupila, alucinaciones e hiperactividad. En la segunda fase pierde agresividad, incrementa la rigidez muscular, los ojos se ponen centrales (córneas), pupilas dilatadas y párpados abiertos. En la tercera fase (Catalepsia) hay una máxima extensión (contracción) de la musculatura extensora.

Tiene amnesia y analgesia perfecta. Los ojos están centrales y las pupilas dilatadas. Se mantiene el reflejo palpebral y laríngeo y es difícil intubar. A nivel cardiovascular, hay un incremento de la frecuencia cardíaca, incremento de la presión arterial y un incremento del rendimiento cardíaco. Es bastante seguro.

Como complicaciones presenta: por tener los ojos abiertos sin parpadear, puede dar lesiones corneales, salivación excesiva, más hemorragia y excitación sobretodo al despertar porque le produce posturas retorcidas y puede llegar a asfixiarse. Son animales muy sensibles a la luz y al ruido al despertar. La sustancia más usada es la ketamina (Imalgene ® o Ketolar ®).

ANTICOLINÉRGICOS

Tiene 3 finalidades:

- Bloquea los impulsos vágales.
- Bloquea las secreciones respiratorias y del aparato digestivo.
- Bloquea cualquier sustancia que estimule el sistema parasimpático.

La sustancia que se usa es el sulfato de atropina (ampolla dentro del animal a 0'5 mg / ml o 1 mg / ml). Bloquea el impulso en los nervios colinérgicos a nivel postganglionar (célula efectora). Hay una acción nicotínica en la musculatura y una acción muscarínica que interesa por actuar a nivel respiratorio y a nivel circulatorio. Tiene una acción a nivel muscular, no importante para la anestesia pero sí importante para la intoxicación.

Estos tóxicos paralizan al animal. Hay que dar atropina para que compita con el insecticida y elimine la parálisis.

La acción muscarínica hace que a nivel circulatorio, incrementando el rendimiento del corazón porque incrementa la frecuencia, salida de sangre del corazón... y no afecta a la presión arterial.

A nivel respiratorio, por la acción muscarínica, incrementa la viscosidad de las secreciones y produce broncodilatación (bueno en gatos porque tienden a los broncos espasmos pero también incrementa el espacio muerto porque en los bronquios no hay intercambio con el O₂).

La atropina, antes estaba indicada en todos los tratamientos anestésicos. Con el tiempo no es positiva porque no hay que producir taquicardia si no tiene bradicardia. Puede llevar a la fibrilación auricular y muerte. Se usa en animales con bradicardia fisiológica.

También se usa para disminuir las secreciones porque puede taponar las vías respiratorias o sondas.

También se usa mucho en oftalmología para calmar el dolor porque bloquea los espasmos palpebrales.

Dosis de 0'04 – 0'05 mg / Kg en perro.

Dosis en gato de 0'05 – 0'1 mg / Kg.

RELAJANTES MUSCULARES

Estos medicamentos pueden actuar como relajantes o bloqueantes. Los relajantes son sustancias que actúan en la médula espinal en la neurona interaxial que conecta las neuronas del asta motora con las neuronas del asta sensitiva. Actúan junto a los α -2-agonistas y las benzodiacepinas.

Como relajante hay el éter-gliceril-guayacol. Se usa como relajante muscular en caballos para favorecer su derribo y como coadyuvante de los anestésicos sin producir depresión del SNC como los α -2-agonistas o benzodiacepinas.

La anestesia se induce cuando el caballo está muy relajado y cae de forma más relajado y tranquila.

Tiene como problema que produce hemólisis, de forma que deben ir en la misma concentración con dextrosa o glucosa para prevenir la hemólisis. Suele diluirse en suero fisiológico en 500 ml y se pone 50 g de éter-gliceril-guayacol + 50 g de glucosa. Luego se induce la anestesia.

BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES

Actúa en la unión neuromuscular. Se usan en pacientes críticos para reducir la cantidad de anestésico. El anestésico general sólo sirve como hipnótico. Si se

pone un relajante muscular para que no se pueda mover, también disminuye el riesgo de depresión del SNC por la anestesia.

Si sólo se usa el bloqueante neuromuscular, el animal tiene dolor. Sólo se da con suficiente anestésico.

También se usa para reducir fracturas, exponer mejor las vísceras en animales obesos, posible uso en cesáreas porque no atraviesa la placenta, en oftalmología sirve para que el ojo suba hacia arriba.

Existen dos tipos de relajantes-bloqueantes neuromusculares:

Despolarizantes: o Succinil colina a sustancia que se usaba incorrectamente en eutanasia. Primero hay que anestesiar.

No despolarizante: Pancuronio (Pavulón ®) , sustancia que se usa para bloquear la unión neuromuscular que también bloquea los músculos respiratorios. Siempre hay que hacer respiración asistida. Tiene acción de 10-20 minutos. La dosis es de 0'02-0'05 mg / Kg. Tiene efectos acumulativos y las dosis posteriores duran mucho más tiempo.

Atracurium (Tracrium ®) en dosis de 0'2-0'5 mg / Kg. Tarda más en actuar. Se da IV. Dura 30 minutos y hacen falta dosis adicionales cuando se queja o empieza a respirar. (<http://www.camal-h.net/web/stsgonzales002/pagina-inicio.htm>)

1.4.6 CLASIFICACION CAVIDADES SEGUN BLACK

Otro método para clasificar las lesiones es el ideado por el Dr. G. V. Black hace unos cien años, y que aun se utiliza. Para ello, se emplea la localización específica de las lesiones comunes sobre los dientes donde suelen presentarse, y es la siguiente:

CLASE I. Estas lesiones ocurren en fosetas y fisuras en todos los dientes, aunque esta clase suele corresponder a premolares y molares.

CLASE II. Según la definición del doctor Black, una lesión de clase II puede afectar las superficies mesiales y distales o solo una superficie proximal del diente y se denomina MO, DO o MOD (mesiooclusal, distooclusal, mesiooclusodistal). Debido a que el acceso para reparación de ordinarios se logra desde la cara oclusal, tanto el lado como la parte alta del diente se restauran con una sola obturación sin embargo, por definición, la cavidad es una lesión proximal y no debe incluir necesariamente la superficie oclusal.

CLASE III. Así como la clase II se refiere a los dientes posteriores, las lesiones de clase III afectan a los dientes anteriores. Según la definición del Dr. Black, una cavidad de clase III puede aparecer en la superficie mesial o la distal de cualquier incisivo o canino. En la clase II, la lesión ocurre debajo del punto de contacto, pero a diferencia de la lesión en molares elípticos, la clase III es pequeña y de forma circular.

CLASE IV. Esta cavidad es en realidad una extensión de la lesión clase III. La caries avanzada o el desgaste excesivo pueden debilitar el ángulo incisivo y provocar su fractura. Por tanto, una cavidad clase IV, según el Dr. Black es una lesión sobre la superficie proximal de un diente anterior en la que también falta el ángulo incisal.

CLASE V. Como se señaló antes, las cavidades gingivales son de superficie lisa. Sin tomar en cuenta su etiología, de caries, abrasión o erosión, este tipo de lesión, según Black, se conoce como cavidad clase V por definición, una cavidad clase V puede aparecer en la superficie bucal o lingual; sin embargo, estas lesiones ocurren con mayor frecuencia en las zonas adyacentes a los labios y carrillos y no en la zona cercana a la lengua. Las cavidades clase V pueden dañar tanto el cemento como el esmalte.

CLASE VI. Esta cavidad se encuentra en las puntas de las cúspides o en los bordes de mordida de los incisivos. La unión incompleta en los vértices de las cúspides o en los bordes incisales pocas veces da como resultado un sitio propenso a la caries. (Lloyd, B Y Col. 1996)

1.4.7 MATERIALES PARA RECUBRIMIENTO PULPAR

1.4.7.1 EL HIDRÓXIDO DE CALCIO

El tratamiento de la pulpa dental expuesta ya sea por caries, trauma o la exposición accidental en la preparación cavitaria, el hidróxido de calcio es una alternativa eficaz para sellar el tejido expuesto, ya que los estudios histológicos han evidenciado el cierre de la comunicación a través de la formación de un puente dentinario calcificado, estimulado por este medicamento, es considerado un buen protector pulpar para recubrimientos pulpaes directos e indirectos, esta compuesto por oxido zinc, sulfato de bario, sulfonamidas y estearato de zinc. Su principal acción es la de producir un estímulo pulpar que induce la calcificación y la producción de dentina esclerótica, su ph de 11 efectúa esa irritación leve estimulante. Por su carácter alcalino neutraliza rápidamente los ácidos de las bases como el fosfato de zinc o al efecto irritante de las resinas compuestas. (Guzmán H. 1993).

El hidróxido de calcio favorece la estimulación positiva a las pulpas sanas, por lo cual el recubrimiento pulpar directo en dientes primarios debe estar limitado a microexposiciones mecánicas no sangrantes, no rodeadas por dentina sana y que no halla una historia de dolor e inflamación, proporciona un efecto antimicrobiano y cariostático a corto plazo, este puede tener un fraguado duro en el cual los fibroblastos pueden proliferar y diferenciarse en células capaces de elaborar matriz de dentina. (Walton R. y colaboradores. 1997)

Se emplea en recubrimientos pulpaes directos (perforación de la cámara pulpar), e indirectos (no hay comunicación directa con la pulpa), este hidróxido de calcio es puro y se mezcla con agua destilada. Los actuales hidróxidos de calcio poseen alta resistencia al ataque de los ácidos y al lavado profuso con agua. Recientemente se han creado hidróxidos de calcio de fotocurado y preparados de hidroxiapatita de Ca en pro de la resistencia. Ante la más leve sospecha de exposición pulpar siempre se debe aplicar hidróxido de calcio, sin importar el tipo de material restaurador, (Amaiz A, 2002).

Composición

Tipo A: hidróxido de calcio más rellenos inertes diluyentes (óxido de zinc y Ti), Sulfato de Bario como radiopacador; todo ello en etilentoluenosulfonamida. Tipo B: polisalicilato líquido reactivo más rellenos inertes diluyentes y Radiopacadores. (Bóveda A, Julio 2000)

Marcas: Forma A: Dycal, Life, Calcimol, Cavitet, Reolit.

Forma B: Prisma VLC Dycal.

Manipulación

Dosificación: partes iguales en volumen no es crítica, tolera hasta un 20% de error. Si se coloca mucho hidróxido de calcio se le quita espacio a la base intermedia, que es la resistente. (Guzmán H, 1993)

1.4.7.2 MINERAL TRIÓXIDO AGREGADO(MTA)

Ha sido empleado en la actualidad para recubrimientos pulpaes directos, para inducir la formación de una constricción apical del tejido duro, es un polvo grisáceo compuesto de trióxidos o partículas minerales hidrofílicas que solidifican en presencia de humedad (agua destilada). Al hidratar el polvo este se convierte en un gel coloidal con un pH inicial de 10.2 y luego en una estructura sólida e insoluble en menos de tres horas con el pH final de 12.3. La fuerza compresiva a los 21

días es aproximadamente de 70 MTA, comparada a la del IRM y la del Súper EBA, pero mucho menor que la de la Amalgama, la cual es de 311 MTA. (Elsa. V, 2000)

Estudios realizados demostraron la biocompatibilidad del MTA, se observa que el material es capaz de producir resultados de movilización de precursores de osteoblastos y angiogénesis.

Además, se ha demostrado formación de cemento alrededor del MTA utilizado para obturación y en otras zonas se pudo observar la presencia de fibras insertadas en este material no es inerte, sino que posee un acción inductora de cementoblastos y un efecto antibacterial, se demostró menos filtración marginal y mejor adaptación. Se utiliza en el selle perforaciones radiculares y de la furca en procedimientos quirúrgicos: es sellador endodòntico y posee buena acción en recubrimientos pulpaes directos. (Elsa. V, 2000)

1.4.8 MATERIALES PARA RESTAURACION FINAL.

1.4.8.1 RESINAS

El doctor estadounidense Rafael L. Bowen desarrollo en los años sesenta una molécula orgánica polimérica que tiene menores cambios dimensionales llamada bisfenol A glicidil dimetacrilato (BIS-GMA) y que con el agregado de partículas inorgánicas reduce aún más el cambio dimensional aumentado su resistencia . Esta mezcla de material orgánico y material inorgánico tratado con un silano órgano funcional para poder unirse con el orgánico, es lo que recibe el nombre de resina compuesta. (Barcelo f, Calero J. 2003)

Se han desarrollado varios mecanismos par lograr mayor sellado y permanencia en los dientes con estos materiales, entre estos mecanismos se encuentran el

grabado ácido, el uso de adhesivos específicos y los procesos de polimerización, sin los cuales ni se podrían obtener los resultados clínicos actuales con estos materiales. (Barcelo F, Calero J. 2003)

Son materiales de baja viscosidad con un porcentaje menor de carga de vidrio que contienen partículas de relleno finas la cual presentan gran escurrimiento esto para mejorar la humectación y la adaptación de la resina a las paredes cavitarias disminuyendo la micro filtración. El término fluido fue utilizado por primera vez en 1979, para describir un material compuesto introducido en Europa, posteriormente en 1996, fue aplicado el mismo término para un nuevo material a base de resina híbrida de baja viscosidad lanzado al mercado por la compañía KERR bajo el nombre de revolución. (Guzmán, Báez. 2003.)

COMPOSICION

Son compuestos fotocurables que se presentan en colores translucidos y opacos y pueden ser pulidos a alto brillo creando una restauración muy estética.

Poseen una matriz de:

- BIS-GMA (Bisfenol Glicidil Metacrilato)
- UDMA (Dimetacrilato de Uretano)
- TEGMA (trietilen Glicol Dimetacrilato), en mayor cantidad para aumentar su capacidad de fluidez.

Relleno

- Vidrio de boro silicato de bario
- Sílica fusionada

PROPIEDADES

- Relleno 42% Vol.

- Partículas 0.1-1 micrón
- Contracción de polimerización 2.5%
- Dureza no aplicable
- Resistencia a la tensión 40 Mpa.
- Resistencia a la flexión 125 Mpa.
- Escasa contracción de la polimerización
- Un coeficiente de expansión térmico similar al de la estructura dental
- Resistencia a la fractura
- Resistencia al desgaste
- La radio opacidad
- La gran fuerza de adhesión a la dentina y el esmalte
- Fácil manipulación

Las resinas fluidas son además materiales que contienen partículas de relleno pequeñas, como las resinas híbridas, pero en las que se ha reducido el contenido de relleno en volumen, lo que produce una mayor fluidez. Los compuestos fluidos, se adaptan exactamente a la estructura dental preparada, requiriendo mínima instrumentación. Su viscosidad, consistencia, características de manipulación y su sistema de distribución hacen a las resinas fluidas, una atractiva opción en casos seleccionados. Estas características les otorga aplicaciones clínicas de gran utilidad:

1. Sellantes de fosetas y fisuras de alta resistencia al desgaste y abrasión
2. Restauración preventiva.
3. Restauración para la clase tres y pequeños defectos estructurales.
4. Restauraciones en caso de afracción cervical.
5. Como liner cavitario en combinación con restauraciones en resinas compuestas en posteriores.

6. Sellar pequeños defectos marginales.
7. Cementante de carillas cerámicas junto con técnica adhesiva.

Las partículas de relleno utilizadas en estos compuestos son generalmente cristales de bario, sílice, cristales de boro silicato de bario, con un tamaño de partícula que varía entre 0.7 a 1.5 mm en un porcentaje que va de 37 a 53% del volumen total. Así mismo, algunos de estos materiales presentan en su composición cierta cantidad de flúor, en forma de trifluoruro de iterbio o vidrio fluoro silicato de bario aluminio, el cuál es eliminado de manera continua. Son compuestos fotocurables. Su presentación comercial es en forma de jeringas o cavifiles de 0.25 a 1.5 g con una punta aplicadora recta o angulada, que se adapta exactamente a la estructura dental preparada, requiriendo un mínimo uso de los instrumentos manuales. Con el afán de mejorar algunas propiedades físicas y facilitar su manipulación, las resinas compuestas fluidas han sufrido modificaciones en la proporción de micro relleno de sílice coloidal en relación con las partículas más grandes, obteniendo cuatro tipos de viscosidad: alta, media, baja y muy baja. (Guzmán, Báez. 2003.)

Así mismo, todos estos materiales son compuestos híbridos, que a su vez se dividen en micro rellenos y partícula fina dependiendo del tamaño de partícula de relleno presente en su composición. Las resinas compuestas fluidas tienen un módulo de elasticidad 20 a 50% más bajo que el de los compuestos híbridos, por lo que podrían ser utilizados como rompe fuerzas en ciertas aplicaciones. En las pruebas de resistencia a la abrasión, como en las pruebas de fuerza compresiva, las resinas compuestas fluidas mostraron resultados similares a los que se obtuvieron con resinas convencionales. Otra propiedad física que se debe considerar en éste tipo de materiales es su radiopacidad. Curtis así como Murchison, coinciden en que todos los materiales fluidos cumplen con la norma ISO 4049 de radiopacidad, sin embargo, solo dos compuestos fluidos (Tetric Flow, Flow-it) presentaron

una radiopacidad mayor a la del esmalte. Mazer y Russell reportan que la microfiltración de una resina compuesta fluida es muy similar a la que se produce con una resina convencional, lo que sugiere que los materiales fluidos se adaptan tan bien a las paredes de la preparación cavitaria como los compuestos híbridos.

CARACTERÍSTICAS DE LAS RESINAS.

Producen alta humectabilidad de la superficie dental, lo que se traduce en el aseguramiento de penetración en todas las irregularidades de la misma, puede formar espesores de capa mínimos que mejora o elimina el atrapamiento o inclusiones de aire.

Poseen alta flexibilidad por lo que tiene menos posibilidad de desalojo en áreas de concentración de estrés (afracciones cervicales y áreas dentinales socavadas). son radioopacas y vienen en varios colores.

DESVENTAJAS DE LAS RESINAS

Alta contracción de polimerización debido a la disminución del relleno lo que se controla por medio de la polimerización gradual a bajo espesor de capa del material. Las resinas se emplean básicamente para la obturación de cavidades dentales. Las marcas más utilizadas son **“Tetric-Ceram”** y **“Tetric-Flow”** de la casa alemana **Ivoclar-Vivadent**, también resinas como la **“Herculite SINERGY”** de la casa **COLTENE**, la línea **FILTEK (A110 – P60 – Z250)** de la casa **3M**, **“vitaescense”** de la casa **ULTRADENT**.

Estas resinas se caracterizan por su alta estética y gran resistencia, en el acabado; cualidades que les confiere la incorporación de partículas de cerámica en su estructura. (Graig, G y Colaboradores. 1999)

ADHESION DE LAS RESINAS A LA ESTRUCTURA DENTAL

La resina fluida como material obturador permite obtener una restauración con determinada armonía óptica y forma anatómica, logrando el sellado marginal y la protección biomecánica del remanente dentario generando una interrelación entre la restauración y el sustrato dentario. La denominada técnica de grabado ácido es válida para lograr la adhesión de la resina fluida a esmalte, penetrando en las irregularidades microscópicas generadas por el ácido que al polimerizar quedan formadas prolongaciones sólidas o tags que generan la adhesión por traba mecánica se acostumbra a colocar sobre el esmalte grabado una capa delgada de monómero líquido puro o casi puro para luego completar la restauración. El llamado adhesivo o bond una vez polimerizado con la acción de una luz es lo que nos permite dar la adhesión final a la dentina.

El logro de la adhesión no solo es necesario para evitar desprendimiento del bloque restaurador también para lograr una integración y continuidad entre la estructura del material restaurador y la estructura dental, evitando la presencia de brechas entre ambos; en la cuales por fenómenos similares a la capilaridad puedan introducirse los componentes del medio bucal. Y así evitar la filtración marginal. El diente restaurado bajo estas condiciones mantiene un comportamiento mecánico cercano al diente sano y las fuerzas que reciben ambas estructuras son absorbidas de manera conjunta disminuyendo así las posibilidades de fractura. (Macchi, Luis. 2003)

ADHESIÓN DE RESINA AL ESMALTE

Es la técnica del grabado ácido la que permite la adhesión de la resina al esmalte, para utilizarla es necesario tener presente lo siguiente: El asilamiento correcto, la no contaminación de la superficie, el cuidado de la forma y el tiempo de aplicación del ácido y el posterior lavado. La naturaleza del esmalte y la casi total ausencia de agua en su composición le permite introducirse a la resina en las irregularidades generadas por la acción del ácido sobre la estructura prismática

del esmalte y generar la adhesión buscada. Es posible generar una adhesión al esmalte que alcance valores bastante superiores a 15 MPa. (Macchi, Luis. 2003).

ADHESIÓN DE LAS RESINAS A LA DENTINA

La adhesión de las resinas a la dentina se alcanza colocando sobre su superficie moléculas hidrofílicas que reintroducen en el interior de la trama colágena de la dentina intertubular, al polimerizar, queda formada una estructura o capa en la que coexisten los componentes de la dentina y el material polimerizado habitualmente denominado “capa híbrida” a esta capa puede unirse la resina de la misma manera y con la misma eficacia que lo hace a la capa ubicada sobre el esmalte grabado. Para lograr que esas moléculas penetren en la estructura dentaria deben abrírseles caminos, es decir exponer la trama colágena. Por lo cual deben disolverse los cristales de hidroxiapatita que junto con el colágeno constituyen la dentina intertubular y el “barro dentinal” por esta razón una sustancia ácida es utilizada, la cual disuelva la hidroxiapatita y expone la trama colágena; de esta manera se disponen las moléculas polimerizables que puedan introducirse en la estructura de la dentina y allí quedar trabadas al polimerizar, una parte de la estructura dentinaria que permite generar esa traba micro mecánica es la traba colágena de la dentina intertubular. (Macchi, Luis. 2003)

SISTEMA DE POLIMERIZACIÓN

Los sistemas iniciadores son a base de peróxido de benzoilo y un activador que puede ser una amina terciaria o un derivado del ácido sulfínico. Son polímeros activados por una luz ultravioleta y su iniciador o base de metil éter de benzoquinona y los polímeros de fotocurado, activados por la luz del espectro visible (díquetonas). (Graig, G y Colaboradores. 1999)

BIOCOMPATIBILIDAD

Las resinas acrílicas poseen un potencial irritante sobre el complejo dentina pulpar, como parte integral de la molécula Bis-GMA, se debe tener en cuenta el

requerimiento de proteger la dentina expuesta mediante el uso de un cemento o base intermedia. La desadaptación de sellado entre el material restaurador y el diente, permitiendo el fenómeno de precolación marginal con entrada de microorganismos, fluidos, restos alimenticios, etc. Es el de mayor importancia en el proceso de irritación del complejo dentino pulpar. (Graig, G y Colaboradores. 1999).

Fases

Orgánica: Grupo de polímeros.

Unión: Es responsable de la integración entre la fase orgánica e inorgánica.

Inorgánica: Material de refuerzo, generalmente vidrio.

1.4.8.2 AMALGAMAS

Se introdujo en Estados Unidos de Norte America en 1883, en este momento las únicas alternativas eran las restauraciones en oro no proporcionaban técnicas de moldeado satisfactorias; fue mejorada por Flagg y Black dando como resultado una fórmula balanceada entre sus componentes.

Es una aleación de metales entre ellos el mercurio, la plata y el estaño en su mayor parte en partes iguales que se unen a través de un proceso de amalgamación mediante un triturador del cual se obtiene una masa plástica que reacciona o se solidifica en el interior de la cavidad, esta comienza desde la trituración hasta el tallado y pulido; se conserva en la cavidad mediante retención mecánica. (Gladwin M, Bagby M. 2001)

FUNCIÓN DE LOS COMPONENTES

La amalgama convencional esta compuesta por Plata (Ag 65%), Estaño (Sn 25%), Cobre (Cu 5%), Zinc (Zn 1%).

La plata y el Cobre originan la expansión al cristalizar además que incrementan la fuerza y la resistencia a la corrosión. El Estaño produce contracción secundaria al solidificar disminuyendo la fuerza y la resistencia a la corrosión.

Durante la fabricación, el Zinc reduce la oxidación de otros metales de la aleación, las investigaciones han demostrado que la amalgamas con este material tienen un mayor tiempo de duración en boca. (Barcelo F, Calero J. 2003)

CLASES DE AMALGAMA

- *0 Con alto contenido de Cobre
- *1 Mixta con alto contenido de Cobre
- *2 Esféricas con alto contenido e Cobre

FACTORES QUE AFECTAN EL MANEJO Y DESEMPEÑO DE LA AMALGAMA DENTAL

Por parte del fabricante depende la composición de la aleación, la forma, el tamaño y la distribución de la partícula y la aleación. Por parte del odontólogo influyen las técnicas para mezclar y manipular los componentes. La precisión en la cantidad de mercurio mezclado en la aleación evita que el exceso de este produzca una restauración débil. Una técnica y un tiempo correcto de trituración para la obtención de una mezcla adecuada. Influye además el hecho de realizar

una técnica correcta de condensación que evite vacíos o contaminación excesiva con saliva para evitar la expansión de la restauración originada por el Zinc.

Otro factor es la técnica de colocación terminación y pulido por parte del odontólogo pues los márgenes sobresalientes, los contactos ínter proximales abiertos y los contornos adecuados aumentan la probabilidad de fallo en la restauración por caries recurrente o un problema periodontal. (Gladwin M, Bagby M. 2001)

PROPIEDADES DE LA AMALGAMA

Cambios dimensionales: Son importantes para la prevención de micro filtración o expansión.

Fuerza: Tiene fuerza compresiva alta, aunque las fuerzas tangencial y de tensión son bajas en comparación. Por lo tanto la estructura dentinaria debe soportar a la amalgama para obtener un éxito clínico prolongado, debe tener un grosor mínimo de 1.5mm para soportar las fuerzas oclusales.

Corrosión: Sufre de corrosión galvánica de manera que cuando dos metales coexisten en un medio húmedo, una corriente eléctrica fluye entre ambos metales y se desarrolla la oxidación entre uno de ellos. Y se aumenta si el metal presenta dos fases como en el caso de la Amalgama. (Gladwin M, Bagby M. 2001)

VENTAJAS DEL USO DE LA AMALGAMA

Debido a su dureza y resistencia al desgaste, la amalgama es un material restaurador durable y eficaz. Además, posee la capacidad de sellar sus márgenes

por que sufre un proceso llamado corrosión en la interfase diente restauración, los productos liberados llenan los resquicios reduciendo así la micro filtración. La investigación clínica ha demostrado que el deterioro marginal de las amalgamas dentales es un criterio predictivo insuficiente respecto a la recurrencia de caries. Es el material menos dependiente de una técnica de aplicación y capaz de actuar en un ambiente húmedo contaminado. Su vida útil se relaciona directamente con el tamaño de la restauración y su duración en boca varia entre los 12 y 18 años; pero teniendo en cuenta factores como la dieta y la higiene oral. (Barcelo F, Calero J. 2003)

1.4.8.3 IONÓMEROS DE VIDRIO

Los cementos de ionómero de vidrio son muy populares por sus propiedades mecánicas y físicas, así como por desempeño clínico. En el mercado existe una multitud de productos esta clase.

Los protectores de ionómero de vidrio poseen la resistencia adecuada para ser empleados como base intermedia. Muchas veces, los odontólogos utilizan un material restaurador de ionómero de vidrio par una restauración provisional o una base muy extensa. (Gladwin M, Bagdy M. 2001)

VENTAJAS

- No es irritante
- Tiene adhesión específica al diente
- Libera flúor
- Muestra estabilidad dimensional
- más estéticos que los otros grupos de cemento.

DESVENTAJAS

- No se adhieren químicamente a la porcelana ni aleaciones a base de oro
- Son muy solubles en las primeras 24 horas
- No permite variables en su manipulación

PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

Tiene características de compuestos iónico o cerámico y plástico, por lo que es aislante térmico y eléctrico.

Como material usado como cemento tiene valores altos de resistencia a la compresión, y alcanza la más baja solubilidad de todos los cementos después de 24 horas de colocados.

Como base intermedia tiene muy buena resistencia para soportar cargas de condensación de otros materiales, como la amalgama dental, y puede colocarse cualquier otro material en contacto con el sin interferir en su endurecimiento.

Como material de restauración, su resistencia a la compresión permite usarlo en áreas de los dientes que reciban poca o ninguna carga de oclusión, ya que no resiste este tipo de cargas cuando son altas.

En cualquiera de los usos antes mencionados se aprovecha el comportamiento quelante de ácido polocarboxílico que le confiere adhesión específica a los dientes (por la presencia del calcio en ellos), y a algunos metales de uso odontológico.

La presencia de flúor confiere a la mezcla, también en todos los usos, acción anticariogénica. Esta presencia es mayor en los primeros días, y aunque se detecta después de varios meses, las cantidades son muy pequeñas como para que se logre esta acción.

Por su acción específica al diente, la liberación de fluoruro y su moderada resistencia a la compresión, su uso como sellador de fresas y fisuras en niños.

La mezcla no adquiere propiedades físicas y químicas suficientemente buenas cuando la reacción inicial de quelación se está dando con el calcio, sino hasta que

se da con el aluminio; el tiempo prudente de espera para que se de toda la reacción es de 24 h. En las primeras horas la solubilidad es muy alta, por lo que durante este lapso conviene protegerla de la humedad y no exponerla a cargas fuertes de masticación.

Por ser sus valores de acidez muy parecidos a los de los cementos de fosfato de zinc se esperaría una irritabilidad comparable, sin embargo, en los cementos de ionómero de vidrio es un ácido débil el que reacciona y el peso molecular y éste no permite que penetre los túbulos dentinales y por tanto su irritabilidad es menor. Es recomendable usa hidróxido de calcio en cavidades muy profundas donde se vaya a colocar el cemento. (Gladwin M, Bagdy M. 2001)

MEZCLA

Es fundamental que el cemento de ionómero de vidrio se mezcla y manipule de manera correcta; de lo contrario, se obtendrá un material no adhesivo.

Para lograr la máxima adhesión, las cavidades deben estar libres de contaminantes (agua, aceite, barrillo del diente), lo cual se logra lavándolas, secándolas y limpiándolas con un algodón embebido en una solución de ácido cítrico o carboxílico, antes de colocar el material. (Gladwin M, Bagdy M. 2001)

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 GENERAL

Describir los hallazgos clínicos e histológicos del manejo de las ratas wistar para el estudio del recubrimiento pulpar directo con dentina liofilizada.

1.5.2 Específicos

- ◆ Establecer el protocolo de anestesia de las ratas wistar.
- ◆ Describir el manejo clínico a nivel Odontológico de las ratas wistar.

- ♦ Determinar el tiempo de duración de las obturaciones en los molares con cavidades clase I de las ratas wistar.
- ♦ Establecer el material de obturación (amalgama, resina , ionómero de vidrio), que mayor tiempo permaneció en las cavidades de los molares.
- ♦ Determinar los efectos histológicos de la dentina liofilizada sobre la pulpa expuesta.

2. MÉTODO

2.1 TIPO DE ESTUDIO

Experimental Fase II: De Laboratorio.

2.2 OBJETO DE ESTUDIO

Obturaciones en molares de ratas wistar.

2.3 POBLACION EXPERIMENTAL

21 Molares de ratas Wistar que corresponden a los primeros molares y se encuentran distribuidos de la siguiente manera:

5 Molares superiores derechos.

4 Molares superiores izquierdos.

6 Molares inferiores derechos.

6 Molares inferiores izquierdos.

4 Molares de ratas Wistar que corresponden a segundos molares distribuidos de la siguiente manera:

3 Molares inferiores derechos.

1 Molar inferior izquierdo.

Todos los molares pertenecen a 6 ratas Wistar.

2.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN

2.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

25 Molares pertenecientes a 6 ratas Wistar.

Peso promedio de las ratas de 236 a 435 gramos.

De cuatro meses de edad.

2.4 DEFINICION DE VARIABLES.

Nº	VARIABLES	DEFINICIÓN	OPERACIÓN DE VARIABLES	CATEGORIA	ESCALA DE MEDICIÓN	TIPO DE VARIABLE	INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS
1.	Protocolo de anestesia	Procedimiento para producir sedación	Tipo de anestesia	Cualitativo	Nominal	Independiente	Instrumento n° 1 clínico
2.	Manejo clínico en el bioterio	procedimientos manipular durante el procedimiento	Tipo de manejo clínico en el bioterio	Cualitativo	Nominal	Independiente	Instrumento n° 1 clínico
3.	Hallazgos clínicos						
3.1	Mantenimiento de la obturación	Presencia del material obturante en la cavidad de cada molar Se realiza refuerzo para evitar la microfiltración manteniendo el selle marginal	SI NO	Cualitativa	Nominal	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
3.2	Refuerzo de la obturación		SI NO	Cualitativa	Nominal	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
3.3	Tipo de material obturante	Material utilizado en cada procedimiento en los molares	Ionómero de vidrio (IV) Resina ® Amalgama (A)	Cualitativa	Nominal	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
3.4	Posición del molar según su orden.	Procedimiento realizado en primeros o segundos molares	Primeros molares (1M) Segundos molares (2M) Superior izquierdo (SI) Superior derecho (SD) Inferior izquierdo (II) Inferior derecho (ID)	Cualitativa	Nominal	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
3.5	Posición del molar según la arcada.	Procedimiento realizado en el maxilar superior e inferior		Cualitativa	Nominal	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
3.6	Controles realizados.	Observación clínica durante la recolección de datos Tomado en cada control por rata	1,2,3,4,5,6	Cuantitativa	Nominal	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
3.7	Peso.	Duración de cada obturación en los molares	Gramos	Cuantitativa	Discreta	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
3.8	Tiempo.		Días	Cuantitativa	Discreta	Independiente	Instrumento N° 1 Clínico
4	Hallazgos histológicos		SI NO	Cualitativa	Nominal	Independiente	Instrumento N°2 clínico

2.6 INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

Para efectos de este estudio se realizaron los siguientes instrumentos:

2.6.1 Instrumento numero 1: Hallazgos Clínicos del Manejo de las Ratas Wistar por cada una para el Estudio de Recubrimientos Pulpares Directos con Dentina Liofilizada. Prueba Piloto.(Anexo 3)

2.6.2 Instrumento numero 2: Hallazgos Clínicos del Manejo de las Ratas Wistar por Molar utilizado en la prueba piloto.(Anexo 4)

INSTRUMENTO NUMERO 1: HALLAZGOS CLÍNICOS DEL MANEJO DE LAS RATAS WISTAR POR CADA UNA PARA EL ESTUDIO DE RECUBRIMIENTOS PULPARES DIRECTOS CON DENTINA LIOFILIZADA. PRUEBA PILOTO.

VARIABLE	RATA N° 2 06-08-04															
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADA	SI								ID							
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA SECA								2M DENTINA SECA							
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	R		R		R		R		R		R		R		R	
CONTROLES REALIZADOS	1control		2control		3control		1control		1control		2control		3control		1control	
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
TIEMPO DE MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN																
PESO																

INSTRUMENTO NUMERO 2: HALLAZGOS CLÍNICOS DEL MANEJO DE LAS RATAS WISTAR POR MOLAR UTILIZADO EN LA PRUEBA PILOTO.

MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN

MANTENIMIENTO DE LA OBTURACION							
No. DEL MOLAR	Control 1	Control 2	Control 3	Control 4	Control 5	Control 6	TIEMPO EN DIAS
	S N R	S N R	S N R	S N R	S N R	S N R	

2.7 PROCEDIMIENTO:

Para el manejo clínico de las Ratas Wistar en el bioterio, en el estudio piloto perteneciente a la investigación de recubrimiento pulpar directo con dentina liofilizada en los molares de las ratas wistar, se inició la etapa experimental fase II de laboratorio (prueba piloto), en tres etapas:

2.7.1 PRIMERA ETAPA EXPERIMENTAL DE LA PRUEBA PILOTO.

Se llevó a cabo un estudio de diseño experimental fase II de laboratorio (prueba piloto), se utilizaron diez ratas adultas, raza "Wistar", machos, con un rango de peso entre 236 y 435 gramos. El Protocolo de la investigación se entregó al Comité de Ética del Colegio Odontológico Colombiano, se obtuvo la aprobación

para la iniciación del estudio piloto y la determinación del número de especímenes necesarios permitidos para la investigación.

En una primera etapa, se realizó el análisis de la anatomía bucal en una rata wistar, de cuatro meses de edad, a la cual se le había practicado eutanasia en el Instituto Nacional de Salud.

El objetivo de esta etapa era evaluar las características clínicas de los tejidos blandos y duros de la cavidad bucal de este tipo de roedor. Se observó que tenían una fórmula dental de tres molares en cada hemiarcada para un total de doce molares posteriores, siendo el primer y segundo molar de mayor tamaño con respecto al tercer molar. En la región de la mandíbula superior e inferior, se observaron dos incisivos anteriores, para un total de cuatro.

Luego de haber hecho la revisión anatómica, se realizó la calibración de las fresas de diamante redondas de 1/4 con un instrumento rotatorio (pieza de mano pediátrica) en los molares de las ratas Wistar. Por medio de un instrumento rotatorio se hicieron cavidades clase I y se definió, tamaño, cantidad de tejido a retirar y profundidad de las cavidades.

De esta forma se definió que equipos, materiales e instrumental odontológico eran necesarios para llevar a cabo el estudio piloto con las ratas vivas.

2.7.2 SEGUNDA ETAPA EXPERIMENTAL DE LA PRUEBA PILOTO.

Después de llevar a cabo la primera fase se procedió a realizar una segunda prueba experimental, con otra rata a la cual se le había realizado eutanasia previamente, y que presentaba las mismas características que la anterior. Este procedimiento se realizó para afianzar el reconocimiento anatómico y clínico de la anatomía dental de las ratas Wistar.

Con la pieza de mano pediátrica y una fresa de diamante de $\frac{1}{4}$, se realizaron cavidades Clase I, en el maxilar y la mandíbula bajo un aislamiento absoluto con dique de goma y wet-yet. Este procedimiento no se pudo realizar debido a que los molares eran muy pequeños y el espacio interproximal es reducido en estos animales. Se introducía la parte activa de la fresa provocando micro exposiciones pulpares, estas fueron recubiertas con hidróxido de calcio y posteriormente se colocó una obturación definitiva en resina fluida fotopolimerizable (Tetric-flow). El objetivo de este segundo procedimiento previo al estudio experimental piloto fue: estandarizar la profundidad de la exposición pulpar, obtener un patrón de espacio utilizado por cada material. Se realizó una mandibulectomía y se llevó la muestra a histopatología donde se realizaron cortes histológicos y bajo el microscopio de luz se observó el volumen ocupado por cada material.

2.7.3 TERCERA ETAPA PRUEBA PILOTO

En la tercera etapa después de haberse realizado dos diseños experimentales previos, se procedió a la realización de la prueba piloto en el Bioterio de la

Universidad Nacional en la clínica de pequeños animales de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, bajo los parámetros estipulados por la ley 8430 de 1989 y la resolución 8430/1993, del Ministerio de Salud que reglamenta la investigación biomédica en animales.

Una vez obtenido el consentimiento, las ratas fueron adquiridas en el Bioterio de la Universidad Nacional, donde se inició un proceso de adaptación mediante la separación y colocación en cajas individuales dotadas con un comedero con PELEX, un bebedero con agua y cascarilla de arroz para proporcionarles calor.

En el quirófano de la Clínica de Pequeños Animales de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional, **se hizo el primer procedimiento** donde se emplearon 4 ratas wistar de aproximadamente las mismas características de talla, peso y condiciones sistémicas normales.

Se procedió a la adecuación de los equipos odontológicos (unidad odontológica portátil, un equipo de rayos X y lámpara de fotocurado) y a la preparación de la mesa de mayo con el instrumental necesario. El procedimiento fue realizado por el mismo operador que realizó los diseños experimentales previos. Se distribuyeron funciones a cada uno de los participantes en la prueba.

El medico veterinario inicio la sedación bajo anestesia general de la primera rata wistar, la cual tenía un peso de 244 gramos, manipulándola por el cuello, cruzándole los brazos por encima del tórax, se ubico en posición de cubito ventral para inhabilitarla inmediatamente se le estiro la extremidad inferior y se coloco en posición lateral; se realizo asepsia y antisepsia con alcohol antiséptico a nivel peritoneal y se inyecto en la pared abdominal con una jeringa hipodérmica muy

superficialmente, Midazolam 2mg/Kg con Ketamina 50mg/Kg, después de cinco minutos como inducción anestésica; debido al reducido espacio traqueal se continuo con el proceso de intubación con un catéter endovenoso # 18 con la ayuda de un otoscopio. El procedimiento se complico debido a la presencia de saliva en la epiglotis, impidiendo la visualización, además por la posición en la que se encontraba la lengua obstruía la vía aérea dificultando la respiración; se trato de retirar con un isopo, la saliva y se reanudo la intubación con un catéter de mayor calibre, se reforzó la anestesia con isoflurano inhalado a efecto usando un circuito pediátrico semiabierto (minibain), adicionalmente se le suministro oxigeno, posteriormente presento cianosis lingual en repetidas ocasiones y reducción de la frecuencia cardiaca después de 40 minutos la rata falleció tras varios intentos de reanimación.

En la segunda rata Wistar con un peso de 244 gramos, se utilizó el mismo protocolo anestésico, se traslado al sitio del procedimiento, y bajo el efecto de la anestesia, se coloco en la misma posición y se dispuso a realizar la apertura de los maxilares por medio de bandas elásticas retenidas por los dientes anteriores y sostenidas en los dedos de un circulante, esta se completo a través de la retracción de los carrillos por medio de espátulas de resina y de cemento plásticas, modificadas previamente con acrílico las cuales fueron adaptadas a la cavidad oral de la rata. El catéter impidió el acceso del instrumental odontológico y se decidió retirarlo. Se dispuso entonces a realizar la primera cavidad, se le suspendió el agua a la pieza de mano, pues se observo que esto provocaba dificultad respiratoria en el animal. Seguidamente se le administro en repetidas

ocasiones Isoflurano y oxígeno, el procedimiento se vio interrumpido debido a que presentó disminución de la frecuencia cardíaca, se cambió de posición, pero no fue posible reanimarla, inmediatamente presentó midriasis pupilar, cianosis lingual y la rata falleció.

En la tercera rata Wistar con un peso de 263 gramos, se le inyectó 3mg/Kg de Midazolam con 75 mg/Kg de Ketamina y se realizó la apertura bucal de la misma manera, se le ubicó en la mesa quirúrgica a una angulación aproximada de 45 grados, se le suministró oxígeno a 5 centímetros de distancia, se auscultó la frecuencia cardíaca con cuidado de no presionar el tórax. Se inició con la apertura de la cavidad del primer molar superior derecho se profundizó toda la parte activa de la fresa redonda de 1/4 hasta provocar la exposición pulpar, se controló la hemorragia con motas de algodón secas estériles, luego se colocó dentina en polvo (liofilizada y almacenada en frascos sellados y numerados) del frasco #14; se hidrató con agua estéril y se llevó a la cavidad con la ayuda de una cucharilla # 5 y un instrumento aplicador de hidróxido de calcio.

Finalmente se colocó la obturación definitiva con ionómero tipo II y se verificó la adaptación con un explorador # 5.

Se continuó con el primer molar superior izquierdo y el primer molar inferior derecho igualmente se les colocó dentina hidratada y ionómero de vidrio tipo II.

En el cuarto molar se colocó como recubrimiento pulpar hidróxido de calcio y ionómero de vidrio tipo II como material obturante. Este molar se dejó como diente control.

Al realizar control post operatorio presento midriasis aparentemente ocasionada por la Ketamina pero poco después se estabilizó.

En la rata numero cuatro con un peso de 236 gramos se le aplicó la misma concentración anestésica que a la anterior y adicionalmente se le colocó 1mg/Kg de Butorfanol; se realizaron las mismas maniobras para mantener la boca abierta y se decidió trabajar únicamente en la mandíbula debido a que se observó que la lengua obstruía la vía aérea si se trabajaba en el maxilar superior colocando la rata en posición decúbito dorsal. Se reforzó la anestesia con Isoflurano y se le administro oxígeno.

Los procedimientos fueron: en el primer molar inferior izquierdo, se realizo cavidad, presento una leve hemorragia que fue controlada con una mota de algodón estéril, se colocó dentina hidratada y ionómero de vidrio tipo II; en el segundo molar inferior izquierdo y derecho se colocó dentina sin hidratar con una obturación en ionómero de vidrio tipo II; finalmente en el primer molar inferior derecho se colocó hidróxido de calcio con una obturación con ionómero de vidrio tipo II (diente control).

Se determinó que el tiempo promedio usado en cada rata fue de 40 a 45 minutos en cada procedimiento.

El protocolo analgésico postoperatorio para las ratas 3 y 4 fue manejado con Ketoprofeno de 1.25 mg/Kg de peso equivalente a 0.125 ml, subcutáneo una vez al día durante tres días.

Después de la recuperación de los animales fueron trasladados al bioterio y instalados en un cuarto aislado.

A los ocho días se realizó control de las obturaciones, en el bioterio y para tal efecto se les aplicó un protocolo de anestesia general, trabajado con Ketamina de 50mg/Kg con Acepromacina de 0.1 mg/Kg, se presentó retardo en el efecto anestésico en la rata número tres debido al peso y a un proceso metabólico más demorado. Por medio de un explorador # 5 se observó ausencia del material obturador en la rata número 3, se perdieron las obturaciones de la mandíbula en el primer molar inferior derecho e izquierdo.; mientras que en el maxilar se mantuvieron las dos obturaciones en los primeros molares derecho e izquierdo. En la rata número 4 las obturaciones se perdieron en los primeros y segundos molares derechos e izquierdos inferiores.

Se procedió nuevamente a obturar las cavidades con ionómero de vidrio tipo II en las dos ratas, en los molares a los cuales se les habían caído las obturaciones. Se tomó la decisión para evitar que el animal presentara abscesos y dolor posteriormente.

En el segundo control (15 días después), en la rata número 3 se observó ausencia de las obturaciones en los molares inferiores nuevamente y la permanencia de las superiores.

En la rata número 4, se perdieron las obturaciones en todos los molares nuevamente. Se decidió entonces obturar los dientes con amalgama por sus propiedades y resistencia a la fractura, esta se llevó a las cavidades con ayuda de un porta amalgama, se condensó y bruñó con un aplicador de Hidróxido de Calcio.

Entre las posibles razones de la pérdida de las obturaciones se encontraba el hecho de que el concentrado que se les administraba como alimento (PELEX), tenían un gran tamaño y su consistencia es muy dura. Por este motivo se decidió administrarla triturada.

En la rata número 3 en el tercer control en los molares inferiores se mantuvieron las obturaciones, mientras que en los molares superiores se perdieron las obturaciones en la rata numero 4 se mantuvieron todas las restauraciones en los molares.

Se realizó un segundo procedimiento, a las tres semanas siguientes de haberse realizado el primero. En este procedimiento se emplearon cuatro ratas Wistar, y se hizo en el quirófano nuevamente.

El procedimiento fue ejecutado por el mismo operador que realizó todas las intervenciones anteriores. Se distribuyeron funciones a cada uno de los participantes en la prueba.

Para esta intervención, se modificó el protocolo anestésico y se facilitó la inmovilización de la rata con la ayuda de un tubo de P.V.C. de un diámetro similar a su volumen. Se realizó asepsia y antisepsia del área peritoneal y se les suministró atropina de 0.08 mg/Kg. a nivel subcutáneo, el cual equivale a 0.005 ml, con el fin de inducir un efecto anestésico. En un lapso de dos minutos se les inyectó una combinación de Acepromacina de 0.1 mg/Kg, Ketamina de 4.0 mg/Kg. equivalente a 0.32 ml, Butorfanol de 0.2 mg/Kg = 0.008 ml a nivel intramuscular. Se reforzó posteriormente con Isoflurano, fue necesario hacerlo

también con la Acepromacina en la rata 1 de 300 gramos de peso debido a un mal cálculo de su masa corporal.

Una vez en el campo operatorio se procedió a la apertura de la cavidad oral de la rata número 1 del segundo procedimiento, con la misma técnica de manipulación clínica realizada en el anterior y en los controles practicados en las ratas 3 y 4.

A la rata 1 del segundo procedimiento se le suministro oxígeno 1 libra/Kg a 5 cm. de distancia; se colocó el animal en posición decúbito ventral y se le realizó cavidad en el primer molar inferior derecho, se hizo la exposición y se colocó hidróxido de calcio (diente control) y amalgama como obturación definitiva.

El siguiente diente fue el primer molar inferior izquierdo se aplicó dentina sin hidratar del frasco #13 y amalgama. Se acomodó la rata en posición lateral y se realizó una cavidad en el primer molar superior derecho, se colocó dentina hidratada y se obturó con amalgama en este caso se dispuso de un porta amalgama endodóntico que se encuentra diseñado para dispensar cantidades muy pequeñas del material, se condensó y bruñó con aplicador de hidróxido de calcio.

A la rata 3, se le denominó 6 para diferenciarla de la rata 3 del primer procedimiento.

En la rata 2 y 6 las dos tenían un peso de 435 gramos, se inmovilizaron con el tubo PVC, se les aplicó la misma concentración anestésica y finalmente se les realizó refuerzo con Isoflurano y oxígeno, en este caso se tomó el primer molar inferior derecho al cual se le colocó un recubrimiento pulpar directo con hidróxido

de calcio y se obturo con amalgama (diente control). En ambas ratas se utilizaron los mismos molares.

En el primer molar inferior izquierdo se coloco dentina sin hidratar y obturación en amalgama, mientras que en el primer molar superior derecho se aplico dentina hidratada y se obturo con amalgama. En el primer molar superior derecho se coloco hidróxido de calcio y obturación en amalgama. A la rata 2 se le tomo radiografía de control de los lados derecho e izquierdo.

La rata 4 tenía un peso de 419 gramos, se anestesió y se le realizó cavidad en el primer molar inferior derecho, con dentina hidratada y se obturo con amalgama; en el primer molar superior derecho se le coloco hidróxido de calcio y amalgama y finalmente en el primer molar inferior izquierdo se aplico dentina sin hidratar y amalgama.

Al terminar la intervención se observó un color pálido en la mucosa y la lengua de la rata, se auscultó y se pudo evidenciar una disminución considerable en la frecuencia cardiaca y los reflejos, sufrió midriasis pupilar y falleció.

En el quirófano se procedió a realizar el procedimiento de eutanasia de las ratas 3 y 4 del primer procedimiento, se aplicó el siguiente protocolo eutanásico: Anestesia intramuscular con Acepromacina de 0.1 mg/Kg (0.004ml), Butorfanol de 0.2 mg/Kg (0.008 ml), Ketamina de 40 mg/Kg (0.32ml) y por ultimo Eutanex que contiene Pentarbitol sódico de 390mg y Difenilhidantoina sódica de 50mg; en la 3 se inyecta ½ cm intra cardiaco y a la succión hubo sangre, en la 4 se aplico ½ cm en el tórax .

Posteriormente se realizaron controles periódicos cada ocho días en el bioterio, utilizando el mismo protocolo anestésico de los controles del primer procedimiento para verificar el mantenimiento de las obturaciones dentro de las cavidades.

Control # 1

Se realizó a los 8 días en el bioterio.

A la rata 1 se le tomo nuevamente el peso, que fue de 382 gramos (subió de peso). Con el mismo manejo clínico ya estandarizado, se observó con la ayuda de un explorador # 5, que en el primer molar inferior izquierdo la resina estaba adaptada sin embargo se reforzaron los márgenes con resina de fotocurado. En el primer molar inferior se observó pérdida de la obturación, se descalcifico con acido fosfórico por 15 segundos, se retira con una mota de algodón mojada el desmineralizante, se seco, se coloco el agente adhesivo con el aplicador de hidróxido de calcio, se polimerizo por 20 segundos, se coloco la resina, se condenso y polimerizo por 40 segundos y finalmente se verificó adaptación con el explorador..

A la rata 2 se le volvió a tomar el peso y fue de 440 gramos, (subió de peso) se observó que el primer molar inferior derecho e izquierdo presentaron una adaptación clínica de las obturaciones en amalgama; en el primer molar superior derecho se observó una leve desadaptación marginal entonces se reforzó con resina. No se presentaron hallazgos desfavorables en los tejidos periodontales y adyacentes a los dientes.

A la rata 6 se le volvió a tomar el peso y fue de 398 gramos (bajo de peso), se observó en el primer molar superior derecho que la amalgama se encontraba adaptada y no se le realizó refuerzo. En el primer molar inferior derecho e izquierdo se había perdido la amalgama se reemplazó nuevamente con amalgama para evitar que se presentaran abscesos y dolor posteriormente.

Control # 2

Se realizó a los 15 días en el bioterio.

A la rata 1 se le tomó nuevamente el peso y fue de 386 gramos (subió de peso), se observó en el primer molar inferior derecho que se perdió el ionómero de vidrio y en el primer molar superior derecho se cayó la obturación en amalgama. En el primer molar inferior izquierdo se encontró la obturación con ionómero de vidrio pero se observaron fracturas de los márgenes por esta razón se reforzó con resina.

Se procedió a colocar resina para evitar formación de abscesos y dolor posteriormente; Debido a que se perdieron obturaciones en algunos molares de esta rata, se tomó la decisión de aprovechar el primer molar superior izquierdo donde se realizó una cavidad clase I, se produjo la exposición pulpar, se secó con mota de algodón estéril, se colocó dentina sin hidratar del frasco número 10 y se obturó con resina.

En la rata 2 se le volvió a tomar el peso y fue de 444 gramos (subió de peso). En el primer molar inferior derecho, el primer molar superior derecho y el primer

molar inferior izquierdo las obturaciones eran en amalgama y se encontraron clínicamente adaptadas.

Se tomó la decisión de aprovechar el primer molar superior izquierdo y segundo molar inferior derecho, donde se realizaron cavidades clase I y se provocaron exposiciones pulpares, se seco con mota de algodón estéril, se colocó dentina sin hidratar del frasco número 10 y se obturo con resina.

A la rata 6 se le tomó nuevamente el peso que fue de 418 gramos (subió de peso), se observó en el primer molar inferior derecho que se había perdido la restauración en amalgama y se colocó ionómero de vidrio tipo II. En el primer molar inferior izquierdo se cae la amalgama y se coloca ionómero de vidrio tipo II. En el primer molar superior derecho la amalgama se observó adaptada y no se realizó refuerzo.

Se aprovechó el segundo molar inferior derecho y primer molar superior izquierdo, donde se hicieron cavidades clase I, se realizaron las exposiciones pulpares, se seco con mota de algodón estéril, se colocó en ambos molares dentina sin hidratar del frasco número 10 y se obturo con resina.

Se empleó una nueva rata en el estudio la cual se denominó con el número 5. En esta rata se utilizaron los siguientes molares. En el primer molar inferior derecho e izquierdo se realizaron las cavidades, se efectuaron recubrimientos con dentina sin hidratar y se obturaron con resina. En el primer molar superior izquierdo en el momento de realizar la cavidad para provocar la exposición, no se

encontró la pulpa. En el primer molar superior derecho se realizó la exposición , se colocó hidróxido de calcio y resina.

Control # 3

Se realizó a los 20 días.

A la rata 1 se le tomó el peso y fue de 386 gramos (subió de peso). En el primer molar inferior derecho la obturación en resina estaba adaptada y no se hizo refuerzo. En el primer molar superior izquierdo la obturación en resina estaba fracturada por vestibular y se realizó refuerzo con resina.

El primer molar superior derecho se encontró la resina adaptada y no se realizó refuerzo. En el primer molar inferior izquierdo se encontró la obturación en amalgama levemente desadaptada y se realizó refuerzo.

A la rata 2 se le toma nuevamente el peso y fue de 444 gramos , (subió de peso). El primer molar inferior izquierdo la amalgama se encontró desadaptada y se realizó refuerzo con resina. En el primer molar inferior derecho la amalgama se encontró desadaptada y se realizó refuerzo con resina. En el primer molar superior derecho la obturación en amalgama estaba adaptada y no se realizó refuerzo. En el primer molar superior izquierdo la obturación en resina se encontró adaptada y no se realizó refuerzo. En el segundo molar inferior derecho la resina se encontró desadaptada y se reforzó con resina.

A la rata 6, se le tomo nuevamente el peso y fue de 398 gramos (bajo de peso).

En el primer molar inferior derecho permaneció el ionómero de vidrio y no se le realizó refuerzo. En el segundo molar inferior derecho, la resina estaba desadaptada y se le realizó refuerzo. En el primer molar inferior izquierdo la obturación en ionómero permaneció y no se realizó refuerzo. En el primer molar superior derecho la obturación en amalgama estaba adaptada y no se realizó refuerzo. En el primer molar superior izquierdo la obturación en resina estaba desadaptada y se realizó refuerzo.

A la rata 5, en su primer control se le tomó nuevamente el peso y fue de 325 gramos (se mantuvo igual). El primer molar inferior derecho la obturación en resina estaba adaptada y no se realizó refuerzo. El primer molar inferior izquierdo no se encontró la obturación en resina y se colocó nuevamente en resina para evitar la formación de absceso y dolor posteriormente. El primer molar superior derecho la obturación en resina permaneció adaptada y no se realizó refuerzo.

Control #4

A la rata 1 se le tomó nuevamente el peso y fue de 389 gramos (subió de peso). En el primer molar inferior derecho la obturación en resina estaba desadaptada y se realizó refuerzo. En el primer molar inferior izquierdo se perdió la obturación en resina y se colocó nuevamente. En el primer molar superior izquierdo la obturación en resina estaba desadaptada y se realizó refuerzo. En el primer molar superior derecho la obturación en resina estaba desadaptada y se realizó refuerzo.

A la rata 2 se le tomo nuevamente el peso y fue de 447 gramos (subió de peso). En el primer molar inferior derecho la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo. En el segundo molar inferior derecho la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo. En el primer molar inferior izquierdo la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo. En el primer molar superior izquierdo la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo. En el primer molar superior derecho la obturación en resina estaba adaptada y no se realizo refuerzo.

A la rata 6 se le tomo nuevamente el peso y fue de 408 gramos (bajo de peso). En el primer molar inferior derecho la obturación en ionómero de vidrio tipo II estaba desadaptada y se realizo refuerzo con resina. En el segundo molar inferior derecho la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo con resina. En el primer molar inferior izquierdo se perdió la obturación en cemento de ionómero de vidrio tipo II y se colocó obturación en resina. El primer molar superior izquierdo la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo con resina. El primer molar superior derecho la obturación en amalgama estaba desadaptada y se realizo refuerzo con resina.

A la rata 5 se le tomo nuevamente el peso y fue de 325 gramos (se mantuvo el peso). El primer molar inferior derecho la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo con resina. El primer molar inferior izquierdo la obturación en resina estaba adaptada y no se realizo refuerzo. Primer molar superior derecho estaba desadaptada y se realizo refuerzo con resina.

Control #5

A la Rata 1 se le tomo nuevamente el peso y fue 393 gramos (subió de peso) En el primer molar inferior derecho presento obturación en resina adaptada y no se realizo refuerzo. En el primer molar inferior izquierdo la obturación en resina estaba desadaptada y se realizo refuerzo con resina. En el primer molar superior derecho la obturación en resina estaba desadaptada se reforzó con resina. En el primer molar superior izquierdo presento obturación en resina desadaptada y se reforzó con resina.

A la rata 2 se toma nuevamente el peso que fue de 426 gramos (bajo de peso). En el primer molar superior derecho la obturación en resina estaba desadaptada se reforzó con resina. En el segundo molar inferior derecho la obturación en resina estaba adaptada y no se realizo refuerzo. En el primer molar inferior izquierdo la obturación en amalgama se observo desadaptada se reforzó con resina. En el primer molar superior izquierdo la obturación en resina estaba desadaptada se reforzó con resina. En el primer molar superior izquierdo presentaba obturación en amalgama adaptada y no se realizo refuerzo.

A la rata 6 se le toma nuevamente el peso y fue 410 gramos (subió de peso). En el primer molar inferior derecho se observo que la obturación en resina estaba adaptada no se realizo refuerzo. En el segundo molar inferior derecho la obturación en resina estaba desadaptada se reforzó. En el primer molar inferior izquierdo la obturación en resina se encontró adaptada no se realizo refuerzo. En

el primer molar superior derecho la obturación en resina estaba desadaptada se reforzó. En el primer molar superior izquierdo la obturación en resina se observó desadaptada se realizó refuerzo con resina.

A la rata 5 se le tomó nuevamente el peso que fue de 335 gramos (se mantuvo igual). En el primer molar inferior izquierdo la obturación en resina estaba adaptada no se realizó refuerzo. En el primer molar inferior derecho obturación en resina adaptada no se realizó refuerzo. En el primer molar superior derecho la obturación en resina se encontraba adaptada no se realizó refuerzo.

Control # 6

A la rata 1 se le tomó nuevamente el peso que fue de 386 gramos (bajo de peso). En el primer molar inferior izquierdo la obturación en resina se encontró adaptada. En el primer molar inferior derecho obturación en resina adaptada. En el primer molar superior derecho presentó obturación en resina adaptada. En el primer molar superior izquierdo presentó obturación en resina adaptada.

A la rata 2 se le tomó nuevamente el peso y fue de 420 gramos (bajo de peso). En el primer molar superior derecho obturación en resina adaptada. En el segundo molar inferior derecho obturación en resina adaptada. En el primer molar inferior izquierdo obturación en amalgama adaptada. En el primer molar superior izquierdo obturación en resina adaptada. En el primer molar superior izquierdo obturación en amalgama adaptada.

A la rata 6 se le tomó nuevamente el peso y fue 403 gramos (bajo de peso). En el primer molar inferior derecho obturación en resina adaptada. En el segundo molar inferior derecho obturación en resina adaptada. En el primer molar inferior izquierdo obturación en resina desadaptada. En el primer molar superior derecho obturación en amalgama adaptada. En el primer molar superior izquierdo obturación en resina adaptada.

A la rata 5 se le toma nuevamente el peso y fue de 336 gramos (subió de peso). En el primer molar inferior izquierdo obturación en resina adaptada. En el primer molar inferior derecho obturación en resina adaptada. En el primer molar superior derecho obturación en resina adaptada.

Se llevó a cabo el siguiente procedimiento para la eutanasia de las ratas

Rata 1

Se le inyectó por vía intramuscular una mezcla de Ketamina y Xilacine, la reacción del animal fue de relajación y estado anestésico. Luego mediante una punción intracardiaca con aguja gruesa se le infiltró Eutanex solución inyectable, cada mililitro contiene pentobarbital sódico de 390mg, Difenilhidantoína de 50mg como vehículo acuoso y se le inyectó a la rata 0.2 ml.

Rata 2

En la mandíbula y el maxilar se encontraron todas las restauraciones y el tejido blando y periodontal se observó sano.

Se colocó anestesia: Acepromacina 0.8% mas una mezcla de Ketamina y Xilacine 4.8%. Finalmente se colocó Eutanex 0.2% intracardiaca; se le aplico en dos ocasiones.

Rata 3 (403 gr.)

En la mandíbula y el maxilar superior las restauraciones se encontraron en buen estado clínico.

Se anestesia con una mezcla de Ketamina y Xilacine 4.8% y se sacrifico con Eutanex 0.2% intracardiaca , se aplicó dos veces.

Rata 5 (336gr)

En la mandíbula las obturaciones en resina presentaron atrición pero se conservaron, igual que el maxilar superior. Se anestesia con una mezcla de Ketamina y Xilacine 4.8%. Se sacrificó con Eutanex al 0.2% intracardiaca.

Se extrajeron los maxilares de las ratas posterior a los decesos y se almacenaron sumergidas en formol en frascos rotulados y marcados.

Se procede a realizar la disección de las mandíbulas de las ratas y posteriormente se colocan en formalina al 2%, almacenándolas y rotulándolas separadamente . Se realiza el procedimiento histológico utilizando la técnica de la parafina, previamente se decalcifican con ácido nítrico y luego se proceden a incluirlas en parafina. Se colorean con hematoxilina y eosina y se hacen cortes de 4 micras de espesor. Luego se observan al microscopio.

2.8 ANALISIS ESTADISTICO

El análisis estadístico realizado fue el cálculo del tiempo máximo de la obturación por cada uno de los grupos preestablecidos según el tipo de material obturante (amalgama, ionómero de vidrio y resina) para los molares.

Para analizar los resultados del tiempo que permanecieron las obturaciones realizadas en amalgama, ionómero de vidrio y resina en las cavidades clase I de los primeros y segundos molares de la mandíbula y el maxilar de las ratas wistar, se conformaron cuatro grupos de la siguiente forma:

GRUPO 1: Rata 1,2 y 6 segundo procedimiento

Rata 1

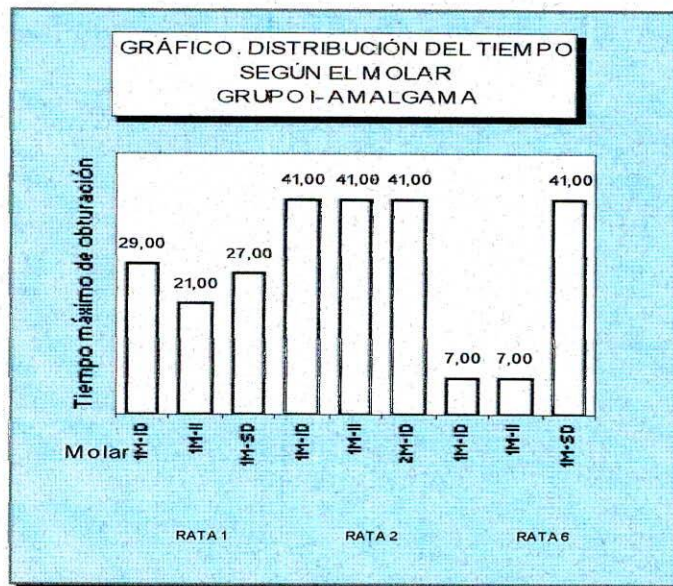
El material obturante utilizado en el mandíbula fue la amalgama que tuvo una duración de 29 días y en el maxilar tuvo una duración 27 días.

Rata 2

El material de mayor duración tanto en el maxilar como en la mandíbula fue la amalgama con 41 días,

Rata 6

El material obturante utilizado fue amalgama en donde el tiempo de duración fue 41 días en el maxilar y 7 días en la mandíbula,



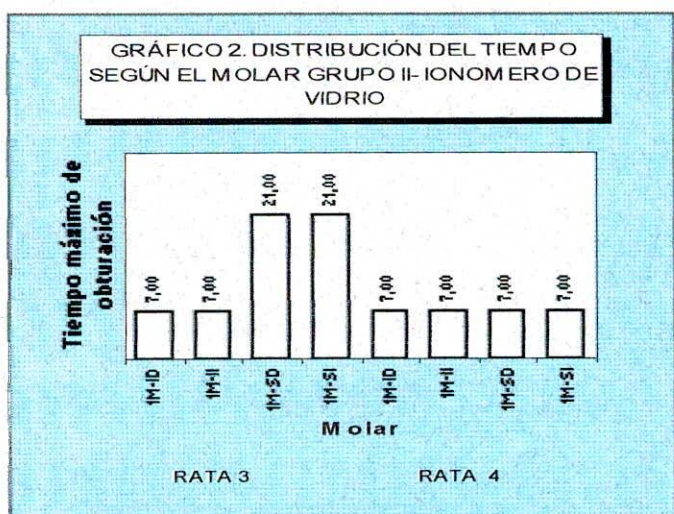
GRUPO 2: Rata 3 y 4 primer procedimiento

Rata 3

El material obturante utilizado fue el ionómero de vidrio el cual duro 21 días en el maxilar y 7 días en la mandíbula.

Rata 4

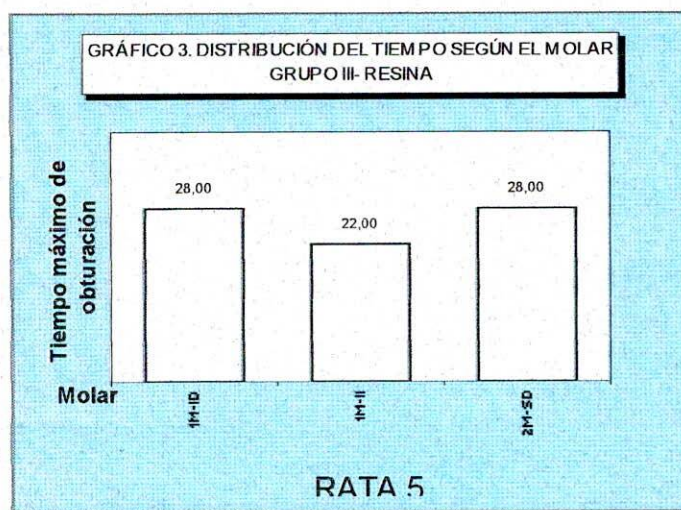
El material obturante fue el ionómero de vidrio con una duración de 7 días en la mandíbula en primeros y segundos molares.



GRUPO 3: Rata 5 segundo procedimiento

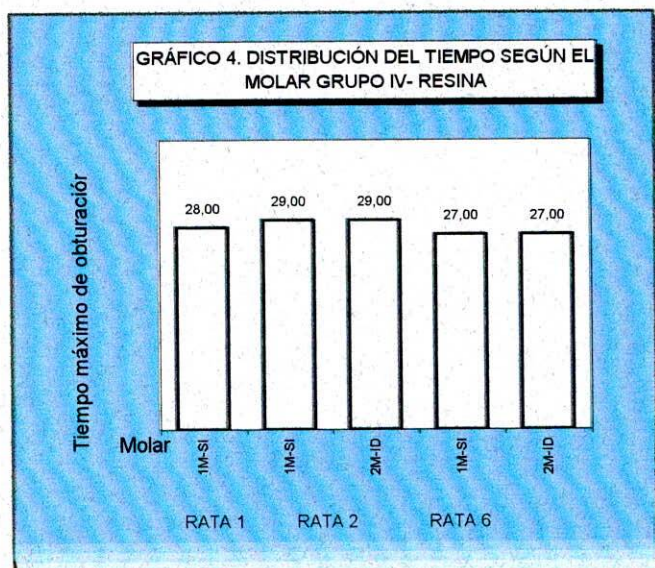
Rata 5

Se utilizó resina como material obturante la cual tuvo una duración de 28 días en el maxilar y 22 en la mandíbula teniendo en cuenta que el tiempo de estudio fue de 28 días.



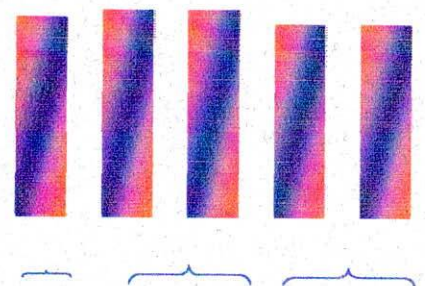
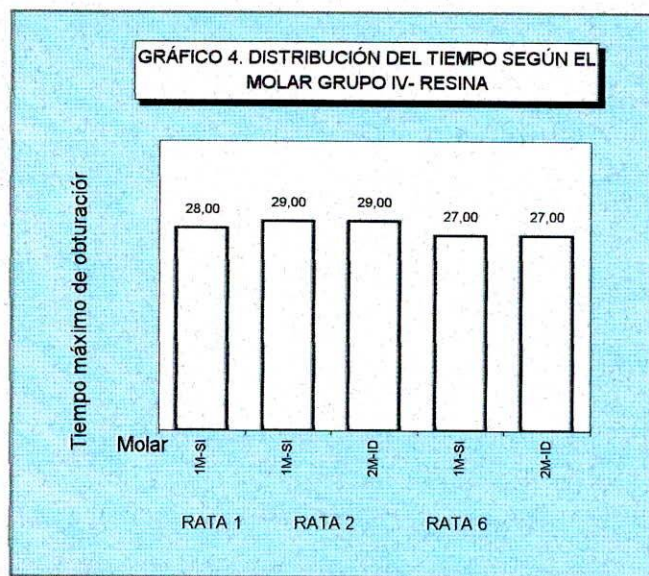
GRUPO 4: Rata 1,2 y 6 en las mismas ratas se volvieron a hacer cavidades a los molares que no se les había realizado anteriormente.

Rata 1: primer molar superior izquierdo obturado en resina con una duración de 28 días



GRUPO 4: Rata 1,2 y 6 en las mismas ratas se volvieron a hacer cavidades a los molares que no se les había realizado anteriormente.

Rata 1: primer molar superior izquierdo obturado en resina con una duración de 28 días



3. RESULTADOS

3.1 PROTOCOLO ANESTÉSICO PARA LAS RATAS WISTAR.

El protocolo para anestesiarse las ratas wistar se dividió en dos secciones, la primera en el quirófano y la segunda en el bioterio.

3.1.1 PROTOCOLO ANESTESICO EN EL QUIRÓFANO

El procedimiento del protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en la primera procedimiento en el quirófano de pequeños animales de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional fue el siguiente:

Los factores a tener en cuenta para elegir el anestésico fueron: Raza Wistar, edad aproximada 4 meses, también se tuvo en cuenta el peso, que osciló entre 236 a 435 gr., el tiempo que duró la intervención fue en quirófano 45 minutos.

Se colocó anestesia intraperitoneal con midazolam de 2 mg/kg de peso y ketamina de 50 mg/kg de peso, luego se utilizó intubación endotraqueal con un catéter intravenoso número 18, con ayuda de un otoscopio, para el mantenimiento anestésico local, se utilizó Isoflurano 1.5 por 2 minutos a efecto con un circuito anestésico pediátrico semiabierto (Minibain), cada 15 minutos.

El procedimiento del protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en el segundo procedimiento en el quirófano se unificaron conceptos entre el protocolo anestésico estandarizado en el quirófano y el bioterio:

Se utilizó anestésico subcutáneo Acepromazina 0.1 mg/kg de peso, Butorfanol 0.2 mg/kg de peso, Ketamina 15 mg/kg de peso y Atropina 0.08 mg/kg de peso; mezclados en la misma jeringa y se administraron intramuscularmente, cuyo

efecto tuvo una duración de 45 minutos, donde también fue reforzado con Isoflurano inhalado 1.5 por dos minutos.

Después del procedimiento se aplicó un analgésico intramuscular tipo Ketoprofeno de 125 mg/kg de peso una vez al día por tres días, para controlar la analgesia postoperatoria.

3.1.2 PROCEDIMIENTO ANESTESICO EN EL BIOTERIO

El procedimiento del protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en el Bioterio de la Universidad Nacional fue el siguiente:

Se colocó anestesia subcutánea Acepromazina 0.1 mg/kg, Ketamina y xilacine 4.8 mg/kg de peso; mezclados en una misma jeringa y se administró intramuscularmente. El efecto anestésico duró una hora, después del procedimiento se controló la analgesia postoperatoria con ketoprofeno 1.25 mg/kg de peso, una vez al día por tres días.

3.2 MANEJO CLÍNICO A NIVEL ODONTOLÓGICO DE LAS RATAS WISTAR

Durante el procedimiento clínico la manipulación de las ratas se realizo de la siguiente forma: un operador sostenía la rata sobre un almohadilla previamente diseñada para el procedimiento. La rata se colocaba en posición decúbito ventral, para realizar la apertura de las mandíbulas, las cuales se mantenían abiertas con bandas elásticas retenidas por los dientes anteriores y sostenidas entre los dedos pulgar e índice del operador, este procedimiento se complementaba con la retracción de los carrillos por medio de espátulas plásticas de resina y de cemento, las cuales fueron modificadas previamente con acrílico teniendo en cuenta la anatomía bucal de las ratas, para evitar que se cortaran los carrillos del animal. Para retraer la lengua y mantener la vía aérea despejada, se utilizo una

espátula de resina permitiendo el fácil acceso del instrumental odontológico, sin que se maltratara o se le produjera daño al animal.

Al realizar el procedimiento el animal se mantuvo en posición decúbito ventral, para trabajar en la mandíbula, lo cual facilitaba el acceso a la cavidad oral de todo el instrumental, equipos y materiales odontológicos necesarios para llevar a cabo el procedimiento.

Para realizar el procedimiento en el maxilar, el animal se mantuvo en la posición de cubito dorsal, colocándole la cabeza en posición inclinada para tener una mejor visualización en el momento de la apertura de las cavidades; de ésta forma se mantiene la vía aérea despejada y se impide que el animal se ahogue.

En el momento de realizar las cavidades, se debe retirar totalmente el agua a la pieza de mano pediátrica, y se debe irrigar con jeringa que tenga agua estéril. Esto impide que el animal bronco aspire agua y se ahogue. Se debe tener el eyector con una punta quirúrgica larga para retirar rápidamente el agua que se acumule en la cavidad oral del animal. Este procedimiento se debe hacer de forma rápida, y para tal efecto se tuvo que realizar una calibración previa de cada operador participante en el procedimiento y asignarle una tarea a cada uno para que el tiempo del manejo clínico del animal sea corto y acorde con la duración del efecto anestésico.

3.3 TIEMPO DE DURACIÓN DE LAS OBTURACIONES EN LOS MOLARES y MATERIALES DE OBTURACIÓN (AMALGAMA, RESINA, IONÓMERO DE VIDRIO) EN CAVIDADES CLASE I DE LAS RATAS WISTAR.

Como se mencionó anteriormente para analizar los resultados de el tiempo que permanecieron las obturaciones realizadas en amalgama, ionómero de vidrio y resina en las cavidades clase I de los primeros y segundos molares de la mandíbula y el maxilar de las ratas wistar , se conformaron cuatro grupos de la siguiente forma:

GRUPO 1: Rata 1,2 y 6 segundo procedimiento

Rata 1

El material obturante utilizado en el mandíbula fue la amalgama que tuvo una duración de 29 días y en el maxilar tuvo una duración 27 días.

Rata 2

El material de mayor duración tanto en el maxilar como en la mandíbula fue la amalgama con 41 días,

Rata 6

El material obturante utilizado fue amalgama en donde el tiempo de duración fue 41 días en el maxilar y 7 días en la mandíbula,

GRUPO 2: Rata 3 y 4 primer procedimiento

Rata 3

El material obturante utilizado fue el ionómero de vidrio el cual duro 21 días en el maxilar y 7 días en la mandíbula.

Rata 4

El material obturante fue el ionómero de vidrio con una duración de 7 días en la mandíbula en primeros y segundos molares.

GRUPO 3: Rata 5 segundo procedimiento

Rata 5

Se utilizó resina como material obturante la cual tuvo una duración de 28 días en el maxilar y 22 en la mandíbula teniendo en cuenta que el tiempo de estudio fue de 28 días.

GRUPO 4: Rata 1,2 y 6 en las mismas ratas se volvieron a hacer cavidades a los molares que no se les había realizado anteriormente.

Rata 1: primer molar superior izquierdo obturado en resina con una duración de 28 días.

Rata 2: se realizó un segundo procedimiento en el primer molar superior izquierdo y segundo molar inferior derecho donde el material obturante fue la resina utilizada como material comparativo con una duración de 29 días, con una diferencia de 12 días después de realizado el primer procedimiento.

Rata 6: se realizó un procedimiento adicional en el segundo molar inferior derecho y en el primer molar superior izquierdo las cuales tuvieron una duración de 27 días.

3.4 HALLAZGOS HISTOLOGICOS

Al observar al microscopio de luz, los cortes histológicos de las mandíbulas se apreciaron rupturas en los cortes en los molares del estudio, los cortes se vieron muy gruesos y la orientación de la mandíbula no fue la adecuada.

4. DISCUSION

El protocolo con el cual se realizo el primer procedimiento en la clínica de pequeños animales de la clínica de pequeños animales de la facultad de veterinaria de la Universidad Nacional fue con una técnica preanestesia con atropina 0.02 miligramos por kilo, para un promedio de peso por rata de 350 gramos, equivalente a 0.007 miligramos diluido con solución salina. El mantenimiento anestésico se utilizó una combinación anestésica. Al revisar los protocolos que nos reporta la literatura no se presentan de forma específica, sino que se adaptan de los animales pequeños. (22). Por esto toman como parámetros el peso únicamente. Con relación al protocolo anestésico establecido internacionalmente para animales pequeños y por estudios previos realizados hay una gran variedad de medicamentos utilizados para la sedación preanestesia y el mantenimiento anestésico, permitiendo una prolongación del efecto. Como agente preanestesia se reporta el uso de la atropina en dosis de 0.5 a 1 miligramo en diferentes especies de animales de acuerdo al peso. Se reporta el uso de barbitúricos como el pentotal y el propofol en dosis de 10 mg/Kg y de 4 a 6 miligramos. Otros veterinarios usan dosis únicas de anestésicos como el tiopental al 1.25% diluido con suero fisiológico para prolongar el efecto anestésico; pentotal de 25mg/Kg y pentobarbital sódico 40 a 45 miligramos /Kg de peso. Sin embargo se ha demostrado la presencia de efectos secundarios entre unos y otros medicamentos de acuerdo con lo anterior fue necesario realizar una unificación entre los medicamentos utilizados en la clínica de pequeños animales y el bioterio. Esto nos permitió determinar la poca experiencia que se tiene en el medio veterinario para el manejo de anestesia en animales de laboratorio para tratamientos dentales. Por este motivo se perdieron tres animales del presente estudio y este factor ameritó que se estableciera el protocolo

anestésico para el manejo de las ratas wistar. Otro factor que no contribuye a la investigación en animales es la reserva que han hecho los investigadores en la publicación del manejo anestésico y clínico de los animales de experimentación. El estudio que se reporta es clínicamente significativo, por que describe el manejo clínico a nivel odontológico que se debe realizar paso por paso para hacer tratamientos dentales en animales como las ratas wistar. Los investigadores y los técnicos que se encuentran en los bioterios no aportan sus experiencias de forma abierta. Además hay ausencia de literatura al respecto. Según Cardozo en 1999(22), las instituciones y el personal técnico no cuentan con la suficiente experiencia y capacidad de manejo en animales de experimentación, lo cual compromete significativamente los resultados y por consiguiente el éxito del estudio. En el presente estudio con todas las dificultades que se presentaron por la falta de experiencia, se logró de forma exitosa conocer el manejo clínico de los animales sin causarle daño en lo posible, y se logró aprovechar al máximo todos los molares disponibles en los animales para poder realizar las cavidades y mantener las obturaciones estableciendo el material ideal que permanece más tiempo en boca.

De acuerdo con los resultados encontrados en esta primera etapa del estudio piloto, se observó que las obturaciones en resina tuvieron una mayor duración en las cavidades clase I, en relación con las obturaciones en amalgama y ionómero de vidrio, permaneciendo más tiempo en el maxilar que en la mandíbula con excepción de los molares de la rata número dos, la cual era de más peso y los molares eran de mayor tamaño favoreciendo el diseño de la cavidad y el grado de retención de la restauración. Este factor fue diferente en cada uno de los molares de las demás ratas, debido a que la superficie oclusal era más pequeña e impedía que la parte activa de la fresa conformara un diseño adecuado de la cavidad, por que eliminaba demasiada estructura dentaria. Por esto el material ideal fue la resina debido a sus propiedades físicas y de adhesión al tejido dentario. Respecto a la consistencia del alimento que ingerían, se observó que fue la variable determinante en la duración de las obturaciones, debido a las características

funcionales en la masticación de las ratas aunada a la dureza de la comida, al tamaño de los pelex. Esto permitió que a mayor dureza del alimento menor tiempo de duración de la obturación. Por esta razón se decidió triturar el alimento a partir del tercer control y esto influyó en la disminución del peso de las ratas 1,2 y 6 por que la rata 5 se mantuvo estable.

Debido a la modificación de la dieta, técnica histológica y espesor del corte ocasionó alteraciones en los resultados histológicos. Por esto se recomienda utilizar el método histológico de cortes ultrafinos o de criofractura, dejar margen de seguridad amplio al retirar las mandíbulas de las ratas después de la eutanasia y realizar controles diarios por parte de los investigadores a las ratas experimentales.

5. CONCLUSIONES

- El procedimiento del protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en el quirófano fue: Acepromazina 0.1 mg/kg de peso, Butorfanol 0.2 mg/kg de peso, Ketamina 15 mg/kg de peso y Atropina 0.08 mg/kg de peso; Isoflurano inhalado 1.5 por dos minutos. Como analgésico se utilizó Ketoprofeno de 125 mg/kg de peso una vez al día por tres días.

El procedimiento del protocolo anestésico de las ratas wistar utilizado en el bioterio

Fue: Acepromazina 0.1 mg/kg, Ketamina y xilacine 4.8 mg/kg de peso. Como analgésico se utilizó ketoprofeno 1.25 mg/kg de peso, una vez al día por tres días.

- La rata se colocaba en posición decúbito ventral, las mandíbulas, se mantenían abiertas con bandas elásticas retenidas por los dientes anteriores, este procedimiento se complementaba con la retracción de los carrillos por medio de espátulas plásticas de resina y de cemento, Para retraer la lengua y mantener la vía aérea despejada, se utilizó una espátula de resina, para el maxilar, se mantuvo en la posición pero inclinada. Al realizar las cavidades, se debe retirar totalmente el agua a la pieza de mano pediátrica, e irrigar con jeringa. Este procedimiento se debe hacer de forma rápida.

- Se realizó el estudio con 25 molares de ratas wistar, de las cuales permanecieron 14. Se obturaron 4 con amalgama que permanecieron 41 días,

2 con ionómero de vidrio que permanecieron por 21 días y 8 con resina que permanecieron por 29 días .

GRUPO 1 Ratas 1, 2 y 6. Tiempo de observación = 41 días. AMALGAMA

GRUPO 2 Ratas 3 y 4. Tiempo de observación = 21 días. IONOMERO
DE VIDRIO.

GRUPO 3 Ratas 5 . Tiempo de observación = 29 días. RESINA.

GRUPO 4 Ratas 1,2 Y 6. Tiempo de observación = 29 días. RESINA

Los cortes histológicos no permitieron mostrar hallazgos relevantes.

6. RECOMENDACIONES

Continuar con la segunda etapa experimental de la prueba piloto.

Inducir los principios éticos y de buenas prácticas en el manejo de los animales de laboratorio.

Exigir el protocolo de manejo de los animales de laboratorio en los bioterios.

Utilizar el método histológico de cortes ultrafinos o de criofractura.

Dejar margen de seguridad amplio al retirar las mandíbulas de las ratas después de la eutanasia.

Realizar controles diarios por parte de los investigadores a las ratas experimentales.

Realizar las siguientes fases experimentales en otro bioterio.

Escoger ratas que tengan molares de buen tamaño.

Modificar la dieta desde el momento del destete para evitar inconvenientes en los estudios siguientes en cuanto al estado y la duración de las obturaciones.

BIBLIOGRAFIA

ABRAMOVICH, A. Histología y embriología dentaria. Edit. Panamericana. ed. 4. 1999. P. 44-55.

AMARZ, F. Recubrimientos Pulpares en Endodoncia. Universidad Central de Venezuela. Mayo 2002. P 89-99.

AVERY, J. Repair potential of the pulp. Journal of endodontics. Mayo 1981; 7, 5.

BARCELO, S, CALERO, J. Materiales dentales. Conocimientos básicos aplicados. Edit. Trillas. 2003, P 62 a 75, 97 a 102, 127

CRAIG, R. Materiales dentales. Edit. Harcourt Brace. ed. 6. ESPAÑA. 1999. P. 55 -75.

ELSA, V. BOVEDA, Z. "Aplicación Clínica del Agregado Trióxido Mineral (MTA) en endodoncia", Universidad Central de Venezuela, Julio 2000. P 108 -182.

FERNANDEZ, MARIELA "Bioterio y alojamiento de los animales en el bioterio"
<http://www.portalveterinaria.com>. Octubre 9 de 2004.

GARBEROGLIO, R. and BRANNSTROM, M. Scanning Electrón Microscopio investigation of human dentinal tubules. Arc oral biology, 1976. 21: 355 - 62

GOMEZ, C. Prueba de ADN en el derecho penal. COLOMBIA. 1999; P. 8 – 21.

GOMEZ, F. Histología y Embriología bucodental. Edit. Panamericana, ed.2. 2002; P 203-204

GUZMAN VAEZ, H. Biomateriales Odontológicos de uso clínico. Edit. Ecoe Ediciones. ed. 3. 2003. P. 203 – 204.

H. F, T. Session V: dentin – predentin complex and its permeability. Anatomical overview. April 1985. Journal Dent rest 64; 607 – B12.

INGLE, J. and BAKLAND, L. Vías de la pulpa. Edit. McGraw Hill Interamericana, ed. 4. CANADA. 1996; P 358-359.

IÁÑEZ, E. Efecto de los factores ambientales sobre las bacterias, ESPAÑA, 1998.

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

KAYE, H and HEROLD, R. Structure of Human dentine. Arch oral biology; USA. 1960, 11: 355 - 68.

KINNEY, J. BALOOCH, M. MARSHALL, G. MARSHALL, S. Micromechanics model of the elastic properties of human dentine. Archives of oral biology. 1999. 44: 813 - 22.

LLOYD, B. RALPH, W. MELVIN, R. Tratado de Operatoria dental. Edit. Mc Graw Hill Interamericana. Ed 3. MEXICO 1996.

LOPEZ, P. Maxilares, Guía práctica de odontología forense. Universidad Alfonso X de Madrid. ESPAÑA. Mayo 2001.

MACCHI, R. Materiales Dentales. Edit. Médica Panamericana. ed. 3. 2000. P. 125 -176.

MARCIA G, BAGBY M. Aspectos Clínicos de los Materiales en Odontología. Editorial Naget Arsof Saab. El manual moderno. México. 2001. 201: P 75 a 86 96,97.

MJOR, I. Dentin and pulp. In histology of the human tooth. GERMANIA. 1979.

P. 43 -73.

MJOR, I. And **NORDAHL, I.** The density and branching of dentinal tubules in human tooth. Arc oral biology. GERMANIA. 1996; 41.5: 401 –12

Mrad de Osorio, A. y Cardazo de Martínez, C. Programa global para la infraestructura de la investigación biológica y biomédica en manejo de animales de laboratorio. Cartilla: Principios básicos para el manejo de animales de laboratorio. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de biotecnología. Bogotá, D.C., Colombia. 1999.

NAVARRO, M. La liofilización de productos farmacéuticos. Edit. Sintefarma. MEXICO. Enero – Julio. 1998.

ORCHARDSON, R. GANGAROSA, L. HOLLAND, G. PASHLEY, D.

TRWBRIDGE, H. ASHLEY, P. KLEINBERG, I. and ZAPPA, U. Dentine

Hypersensitivity into the 21ST Century. Archs Oral Biology. 1994; 39, Suppl 1: 113S – 19S.

RUCH, J. Seccion I. Development from a function of odontoblast. C.O. Torneck
Chairman. Odontoblast differentiation and deformation of the odontoblast layer.
Journal dent. USA. April, 1996; 64: P. 498.

SIGAL, M. and **ROBERT C.** Terminal end of the odontoblast process. Journal of
Endodontic. ENGLAD. November 1986; 14, 11.

SLOAN, A. SMITH, A. Stimulation of the Dentine- Pulp complex of rat incisor tooth
by transforming growth factor-B isoforms 1-3 in vitro. Achives of Oral Biology. USA.
1999. 44: 149-56.

WEBER, D. And improved technique for producing casts of the internal structure
of harás tisúes. Including some doserrations on human dentine. Arch. Oral Biology.
AUSTRALIA. 1983. P. 28, 885, 891.

W. L, D. Histología y embriología bucal. Edit. Interamericana Mc graw Hill. USA.
1986. P. 117-141.

HAFEZ, E. Reproducción e inseminación artificial. [Cited 1987]. Aviable from: URL:
<http://homepages.tesco.net/whitehound/Rats-Next/Ship-Rats/Reproduction.htm>.

HYPERLINK. Colegio Oficial de Físicos de España Subvención del Consejo de Seguridad Nuclear. 2002. Marzo Aviable from:

URL: <http://www.fisicaysociedades.es>.

HYPERLINK. Electroscopic 1996. Bern Eggen. Aviable from:

URL: <http://www.slb.com/es>.

Guidelines for Industrial Radiation Sterilization of Disposable Medical Products (Cobalt – 60 Gamma Irradiation). [Cited 2002 November], Aviable from:

URL: <http://IAEA.or.at/worldatom/press/News/2002/11-5-859279.htm>

HYPERLINK. Labconco Corporation. Kansas City, Missouri. [Cited 2003]. Aviable from: URL: <http://www.labconco.com/pdf/freezone.pdf>

HYPERLINK. Radiaciones ionizantes y cáncer. Radiación y efectos biológicos.

[Cited 2002 Diciembre] Aviable from: URL:

http://www.tuotromedico.com/temas/radiaciones_ionizantes.htm

Animales de laboratorio, manual para técnicos. Organización panamericana de la salud. Aviable from: URL: <http://pragas.zaz.com.br/pragas/roedores/ratazanas.htm>.

Manual de practicas de fisiología animal. Facultad de medicina Veterinaria y zootecnia. Universidad nacional autónoma de México. [Cited 1980]. Aviable from: URL: <http://www.geocites.com/ste7dias/7dias.html>.

Radiación y radio protección Interacción de la radiación con la materia. Bogotá. Aviable from: URL: <http://invap.bariloche.com.ar/Indus/lial/descrip.htm>
<http://atenea.udistritaledu.co>.

Anestésicos no inhalatorios 1 de julio de 2002

.(<http://www.canal-h.net/web/s/sgonzales002/pagina-inici.htm>)

ANEXO 1

RESOLUCIÓN 8430/1993

MINISTERIO DE SALUD

LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN ANIMALES

ARTICULO 87. En toda investigación en la que los animales sean sujeto de estudio deberán tenerse en cuenta, además de las disposiciones determinadas en la ley 84 de 1989, las siguientes:

- a. Siempre que sean apropiados, deben usarse métodos tales como modelos matemáticos, simulación en computador y sistemas biológicos in vitro.
- b. La experimentación en animales solamente se debe realizar después de estudiar su importancia para la salud humana o animal y para el avance del conocimiento biológico.
- c. Los animales seleccionados para la experimentación deben ser de una especie y calidad apropiada, y utilizar el mínimo número requerido para obtener resultados clínicamente válidos.
- d. Solamente se emplearán animales adquiridos legalmente y se mantendrán en condiciones adecuadas y que cumplan con las condiciones sanitarias vigentes.
- e. Los investigadores y demás personal nunca deben dejar de tratar a los animales como seres sensibles y deben considerar como un imperativo ético el cuidado y uso apropiado y evitar o minimizar el discomfort, la angustia y el dolor.

f. Los investigadores deben presumir, que procedimientos causarían dolor en seres humanos también causen dolor en otras especies vertebradas, aún cuando todavía falta mucho por saber sobre la percepción del dolor en los animales.

g. Todo procedimiento, que pueda causar en los animales más que un dolor o una angustia momentánea o mínima, debe ser realizado con sedación, analgesia o anestesia apropiada y conforme con la práctica veterinaria aceptada. No se deben realizar procedimientos quirúrgicos o dolorosos en animales no anestesiados o paralizados por agentes químicos. La eutanasia en los animales se efectuará con anestésicos apropiados, aprobados por la asociación veterinaria.

h. Cuando se requiera apartarse de lo establecido en el inciso anterior, la decisión no debe ser tomada solamente por el investigador directamente involucrado, sino que debe ser tomada por el comité de ética, establecido por la ley 83 de 1989. Estas excepciones no deben hacerse solamente con fines de demostración o enseñanza.

i. Al final del experimento, o cuando sea apropiado durante el mismo, los animales que puedan sufrir dolor crónico o severo, angustia, discomfort o invalidez que no pueda ser mitigada, deben ser sacrificados sin dolor.

j. Los animales mantenidos con propósitos biomédicos deben tenerse en las mejores condiciones de vida, de ser posible bajo la supervisión de veterinarios con experiencia en animales de laboratorio. En todo caso se debe disponer de cuidado veterinario cuando sea requerido.

k. El director del instituto, departamento o unidad donde se usen animales es el responsable de asegurar que los investigadores y demás personal tengan calificación apropiada o experiencia para realizar procedimientos en animales. Debe proporcionar oportunidades adecuadas de entrenamiento en servicio que

incluya la preocupación por un trato humano y apropiado para con los animales que están bajo su cuidado.

ARTICULO 88. El uso de animales en la investigación, enseñanza y ensayos es aceptado solamente cuando promete contribuir a la comprensión y avance del conocimiento de los principios fundamentales biológicos o al desarrollo de mejores medios para la protección de la salud y del bienestar tanto del hombre como el animal.

ARTICULO 89. Los animales deben ser utilizados, en caso que el investigador haya descartado otras alternativas, para tal fin se sigue el principio de Russell Burch "3R", reemplazo, reducción y refinamiento.

ARTICULO 90. Los bioterios deberán estar de acuerdo con la especie, conformación corporal, hábitos, preferencias posturales y características locomotoras de los animales, para proporcionarles comodidad, excepto cuando las variables experimentales justifiquen otras situaciones.

ARTICULO 91. Los bioterios de producción o mantenimiento crónico serán supervisados por el personal profesional calificado y competente en la materia y deberán permitir el crecimiento, maduración, reproducción y comportamiento normal de los animales, de conformidad con las normas que la propia institución emita.

ARTICULO 92. El director de la institución donde se realice investigación en animales, deberá establecer y vigilar el cumplimiento de las medidas de seguridad para el cuidado y manejo de los animales, así como las medidas de profilaxis y vacunación necesarias para la protección del personal ocupacionalmente expuesto.

ARTICULO 93. El director de la institución donde se realice investigación en animales, deberá ordenar, vigilar o ejecutar, se tengan en cuenta las siguientes medidas, según el caso:

- a. Aislamiento.
- b. La cuarentena.
- c. La observación personal.
- d. La vacunación de personas.
- e. La vacunación de animales, en cuanto esté referida a la salud humana.
- f. La destrucción o control de insectos y otra fauna, transmisora y nociva, en cuanto esté referida a la salud humana.
- g. La suspensión de trabajos o servicios.
- h. El aseguramiento y destrucción de objetos, productos o sustancias.
- i. Desalojo de casas, edificios, establecimientos y en general de cualquier predio.
- j. La prohibición del uso de ciertas especies.
- k. Las demás de índole sanitaria que determine este Ministerio o entidad competente de su nivel, que puedan evitar que causen o continúen causando riesgos o daños a la salud.

ARTICULO 94. L a presente resolución rige a partir de la fecha de su publicación.
PUBLÍQUESE Y CÚMPLASE. Dada en Santa fe de Bogota D.C a los cuatro días del mes de octubre de mil novecientos noventa y tres. 04/10/1993.

ANEXO No 2

PRINCIPIOS ÉTICOS PARA LAS INVESTIGACIONES MÉDICAS EN SERES HUMANOS (DECLARACIÓN DE HELSINKI DE LA ASOCIACIÓN MÉDICA MUNDIAL)

INTRODUCCIÓN

1. La Asociación Médica Mundial ha promulgado la Declaración de Helsinki como una propuesta de principios éticos que sirvan para orientar a los médicos y a otras personas que realizan investigación médica en seres humanos. La investigación médica en seres humanos incluye la investigación del material humano o de información identificables.
2. El deber del médico es promover y velar por la salud de las personas. Los conocimientos y la conciencia del médico han de subordinarse al cumplimiento de ese deber.
3. La Declaración de Ginebra de la Asociación Médica Mundial vincula al médico con la fórmula "velar solícitamente y ante todo por la salud de mi paciente", y el Código Internacional de Ética Médica afirma que: "El médico debe actuar solamente en el interés del paciente al proporcionar atención médica que pueda tener el efecto de debilitar la condición mental y física del paciente". La investigación biomédica en seres humanos debe ser realizada solamente por personas científicamente calificadas, bajo la supervisión de una persona médica con competencia clínica. La responsabilidad por el ser humano siempre debe recaer sobre una persona con calificaciones médicas, nunca sobre el individuo sujeto a investigación, aunque éste haya otorgado su consentimiento.

4. El progreso de la medicina se basa en la investigación, la cual, en último término, tiene que recurrir muchas veces a la experimentación en seres humanos.

5. En investigación médica en seres humanos, la preocupación por el bienestar de los seres humanos debe tener siempre primacía sobre los intereses de la ciencia y de la sociedad.

6. El propósito principal de la investigación médica en seres humanos es mejorar los procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos, y también comprender la etiología y patogenia de las enfermedades. Incluso, los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles deben ponerse a prueba continuamente a través de la investigación para que sean eficaces, efectivos, accesibles y de calidad.

7. En la práctica de la medicina y de la investigación médica del presente, la mayoría de los procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos implican algunos riesgos y costos.

8. La investigación médica está sujeta a normas éticas que sirven para promover el respeto a todos los seres humanos y para proteger su salud y sus derechos individuales. Algunas poblaciones sometidas a la investigación son vulnerables y necesitan protección especial. Se deben reconocer las necesidades particulares de los que tienen desventajas económicas y médicas. También se debe prestar atención especial a los que no pueden otorgar o rechazar el consentimiento por sí mismos, a los que pueden otorgar el consentimiento bajo presión, a los que se beneficiarán personalmente con la investigación y a los que tienen la investigación combinada con la atención médica.

9. Los investigadores deben conocer los requisitos éticos, legales y jurídicos para la investigación en seres humanos en sus propios países, al igual que los requisitos internacionales vigentes. No se debe permitir que un requisito ético, legal o jurídico disminuya o elimine cualquiera medida de protección para los seres humanos establecida en esta Declaración.

B. PRINCIPIOS BÁSICOS PARA TODA INVESTIGACIÓN MÉDICA

10. En la investigación médica, es deber del médico proteger la vida, la salud, la intimidad y la dignidad del ser humano.

11. La investigación médica en seres humanos debe conformarse con los principios científicos generalmente aceptados, y debe apoyarse en un profundo conocimiento de la bibliografía científica, en otras fuentes de información pertinentes, así como en experimentos de laboratorio correctamente realizados y en animales, cuando sea oportuno. Cuando el menor de edad puede en efecto dar su consentimiento, éste debe obtenerse además del consentimiento de su tutor legal.

12. Al investigar, hay que prestar atención adecuada a los factores que puedan perjudicar el medio ambiente. Se debe cuidar también del bienestar de los animales utilizados en los experimentos.

13. El proyecto y el método de todo procedimiento experimental en seres humanos debe formularse claramente en un protocolo experimental. Este debe enviarse, para consideración, comentario, consejo, y cuando sea oportuno, aprobación, a un comité de evaluación ética especialmente designado, que debe ser independiente del investigador, del patrocinador o de cualquier otro tipo de influencia

indebida. Se sobreentiende que ese comité independiente debe actuar en conformidad con las leyes y reglamentos vigentes en el país donde se realiza la investigación experimental. El comité tiene el derecho de controlar los ensayos en curso. El investigador tiene la obligación de proporcionar información del control al comité, en especial sobre todo incidente adverso grave. El investigador también debe presentar al comité, para que la revise, la información sobre financiamiento, patrocinadores, afiliaciones institucionales, otros posibles conflictos de interés e incentivos para las personas del estudio.

14. El protocolo de la investigación debe hacer referencia siempre a las consideraciones éticas que fueran del caso, y debe indicar que se han observado los principios enunciados en esta Declaración.

15. La investigación médica en seres humanos debe ser llevada a cabo sólo por personas científicamente calificadas y bajo la supervisión de un médico clínicamente competente. La responsabilidad de los seres humanos debe recaer siempre en una persona con capacitación médica, y nunca en los participantes en la investigación, aunque hayan otorgado su consentimiento.

16. Todo proyecto de investigación médica en seres humanos debe ser precedido de una cuidadosa comparación de los riesgos calculados con los beneficios previsibles para el individuo o para otros. Esto no impide la participación de voluntarios sanos en la investigación médica. El diseño de todos los estudios debe estar disponible para el público.

17. Los médicos deben abstenerse de participar en proyectos de investigación en seres humanos a menos de que estén seguros de que los riesgos inherentes han sido adecuadamente evaluados y de que es posible hacerles frente de manera satisfactoria. Deben suspender el

experimento en marcha si observan que los riesgos que implican son más importantes que los beneficios esperados o si existen pruebas concluyentes de resultados positivos o beneficiosos.

18. La investigación médica en seres humanos sólo debe realizarse cuando la importancia de su objetivo es mayor que el riesgo inherente y los costos para el individuo. Esto es especialmente importante cuando los seres humanos son voluntarios sanos.

19. La investigación médica sólo se justifica si existen posibilidades razonables de que la población, sobre la que la investigación se realiza, podrá beneficiarse de sus resultados.

20. Para tomar parte en un proyecto de investigación, los individuos deben ser participantes voluntarios e informados.

21. Siempre debe respetarse el derecho de los participantes en la investigación a proteger su integridad. Deben tomarse toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de los individuos, la confidencialidad de la información del paciente y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física y mental y su personalidad.

22. En toda investigación en seres humanos, cada individuo potencial debe recibir información adecuada acerca de los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas del experimento. La persona debe ser informada del derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Después de asegurarse de que el individuo ha comprendido

la información, el médico debe obtener entonces, preferiblemente por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede obtener por escrito, el proceso para obtenerlo debe ser documentado formalmente ante testigos.

23. Al obtener el consentimiento informado para el proyecto de investigación, el médico debe poner especial cuidado cuando el individuo está vinculado con él por una relación de dependencia o si consiente bajo presión. En un caso así, el consentimiento informado debe ser obtenido por un médico bien informado que no participe en la investigación y que nada tenga que ver con aquella relación.

24. Cuando la persona sea legalmente incapaz, o inhábil física o mentalmente de otorgar consentimiento, o menor de edad, el investigador debe obtener el consentimiento informado del representante legal y de acuerdo con la ley vigente. Estos grupos no deben ser incluidos en la investigación a menos que ésta sea necesaria para promover la salud de la población representada y esta investigación no pueda realizarse en personas legalmente capaces.

25. Si una persona considerada incompetente por la ley, como es el caso de un menor de edad, es capaz de dar su asentimiento a participar o no en la investigación, el investigador debe obtenerlo, además del consentimiento del representante legal.

26. La investigación en individuos de los que no se puede obtener consentimiento, incluso por representante o con anterioridad, se debe realizar sólo si la condición física/mental que impide obtener el consentimiento informado es una característica necesaria de la población investigada. Las razones específicas por las que se utilizan participantes en la investigación que no pueden otorgar su consentimiento informado deben ser estipuladas en el protocolo

experimental que se presenta para consideración y aprobación del comité de evaluación. El protocolo debe establecer que el consentimiento para mantenerse en la investigación debe obtenerse a la brevedad posible del individuo o de un representante legal.

27. Tanto los autores como los editores tienen obligaciones éticas. Al publicar los resultados de su investigación, el médico está obligado a mantener la exactitud de los datos y resultados. Se deben publicar tanto los resultados negativos como los positivos o de lo contrario deben estar a la disposición del público. En la publicación se debe citar la fuente de financiamiento, afiliaciones institucionales y cualquier posible conflicto de intereses. Los informes sobre investigaciones que no se ciñan a los principios descritos en esta Declaración no deben ser aceptados para su publicación.

C. PRINCIPIOS APLICABLES CUANDO LA INVESTIGACIÓN MÉDICA SE COMBINA CON LA ATENCIÓN MÉDICA

28. El médico puede combinar la investigación médica con la atención médica, sólo en la medida en que tal investigación acredite un justificado valor potencial preventivo, diagnóstico o terapéutico. Cuando la investigación médica se combina con la atención médica, las normas adicionales se aplican para proteger a los pacientes que participan en la investigación.

29. Los posibles beneficios, riesgos, costos y eficacia de todo procedimiento nuevo deben ser evaluados mediante su comparación con los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles. Ello no excluye que pueda usarse un placebo, o ningún

tratamiento, en estudios para los que no se dispone de procedimientos preventivos, diagnósticos o terapéuticos probados.

30. Al final de la investigación, todos los pacientes que participan en el estudio deben tener la certeza de que contarán con los mejores métodos preventivos, diagnósticos y terapéuticos disponibles, identificados por el estudio.

31. El médico debe informar cabalmente al paciente los aspectos de la atención que tienen relación con la investigación. La negativa del paciente a participar en una investigación nunca debe perturbar la relación médico-paciente.

32. Cuando los métodos preventivos, diagnósticos o terapéuticos disponibles han resultado ineficaces en la atención de un enfermo, el médico, con el consentimiento informado del paciente, puede permitirse usar procedimientos preventivos, diagnósticos y terapéuticos nuevos o no probados, si, a su juicio, ello da alguna esperanza de salvar la vida, restituir la salud o aliviar el sufrimiento. Siempre que sea posible, tales medidas deben ser investigadas a fin de evaluar su seguridad y eficacia. En todos los casos, esa información nueva debe ser registrada y, cuando sea oportuno, publicada. Se deben seguir todas las otras normas pertinentes de esta Declaración.

Adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki, Finlandia, Junio 1964, y enmendada por las:

1. 29ª Asamblea Médica Mundial, Tokio, Japón, Octubre 1975
2. 35ª Asamblea Médica Mundial, Venecia, Italia, Octubre 1983
3. 41ª Asamblea Médica Mundial, Hong Kong, Septiembre 1989
4. 48ª Asamblea General, Somerset West, Sudáfrica, Octubre 1996
5. y la 52ª Asamblea General, Edimburgo, Escocia, Octubre 2000

Instrumento numero 1: Hallazgos Clínicos del manejo de las ratas wistar por cada una para el estudio de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada (prueba piloto)

VARIABLE				RATA N° 5 06-08-04																				
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADEA	II								ID								SD							
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA SECA								1M DENTINA SECA								1M DIENTE CONTROL DYCAL							
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	R		R		R		R		R		R		R		R		R		R		R		R	
CONTROLES REALIZADOS	1control		2control		3control		4control		1 control		2control		3control		4 control		1control		2control		3control		4 control	
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
		X	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X	
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	R			X		X		X		X	R			X		X		X	R			X		X
TIEMPO DE MANTENIMIENTO DE LA OBTURACION		0	8		14		22		7		15		23		28		7		15		23		28	
PESO	325		325		335		336		325		325		335		336		325		325		335		336	

Instrumento numero 1: Hallazgos Clínicos del manejo de las ratas wistar por cada una para el estudio de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada (prueba piloto)

VARIABLE	RATA N° 1 22-07-04																							
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADA	II						ID						SD						SI					
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA SECA						1M DIENTE CONTROL DYCAL						1M DENTINA HIDRATADA						1M DENTINA SECA					
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	R	R	R	R		
CONTROLES REALIZADOS	1control	2control	3control	4control	5control	6control	1control	2control	3control	4control	5control	6control	1control	2control	3control	4control	5control	6control	1control	2control	3control	1control		
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X	
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	X		R		R		R		R		R		R		R		R		R		R		R	
TIEMPO DE MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	8		14		21		0		0		0		0		0		0		0		0		0	
PESO	382		382		386		389		393		386		382		382		386		389		393		386	

Instrumento numero 1: Hallazgos Clínicos del manejo de las ratas wistar por cada una para el estudio de recubrimientos pulpares directos con dentina liofilizada (prueba piloto)

VARIABLE	RATA N° 2 22-07-04																			
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADEA	II						ID						SD							
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA SECA						1M DIENTE CONTROL DYCAL						1M DENTINA HIDRATADA							
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG
CONTROLES REALIZADOS	1control	2control	3control	4control	5control	6control	1control	2control	3control	4control	5control	6control	1control			3control	4control	5control	6control	
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X	
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
					R		R		R		R		R		R		R		R	
TIEMPO DE AMNTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	8		14		21		29		36		41		8		14		21		29	
PESO	435	440	444	447	426	420	435	440	444	447	426	420	435	440	444	447	426	420		

VARIABLE	RATA N° 2 06-08-04											
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADEA	SI						ID					
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA SECA						2M DENTINA SECA					
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CONTROLES REALIZADOS	1control	2control	3control	1control	1control	2control	3control	1control				
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	X		X		X		X		X		X	
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
			R		R		R		R		R	
TIEMPO DE MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	8		14		21		29		8		14	
PESO	444	447	426	420	444	447	426	420				

Instrumento numero 1: Hallazgos Clínicos del manejo de las ratas wistar por cada una para el estudio de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada (prueba piloto)

VARIABLE	RATA N° 3 22-07-04																																			
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADEA	II						ID						SD																							
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA SECA						1M DIENTE CONTROL DYCAL						1M DENTINA HIDRATADA																							
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	AG		AG		AG		AG		AG		AG		AG		AG		AG		AG		AG															
CONTROLES REALIZADOS	1control		2control		3control		4control		5control		6control		1control		2control		3control		4control		5control		6control													
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N												
		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X												
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N												
	A		IV			X	R			X		X	A		IV			X	R			X		X												
TIEMPO DE AMNTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN		0		0		0	7			0		0		0		0		7		0	8		14		21		29		36		41					
PESO	398		418		398		408		410		403		398		418		398		408		410		403		398		418		398		408		410		403	

VARIABLE	RATA N°3 06-08-04							
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADEA	ID				SI			
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	2M DENTINA SECA				1M DENTINA SECA			
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	R	R	R	R	R	R	R	R
CONTROLES REALIZADOS	1 control	2 control	3 control	4 control	1 control	2 control	3 control	4 control
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N
	X		X		X		X	
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N
	R		R		R		R	
TIEMPO DE MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	7	15	22	27	7	15	22	27
PESO	398	408	410	403	398	408	410	403

Instrumento numero 1: Hallazgos Clínicos del manejo de las ratas wistar por cada una para el estudio de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada (prueba piloto)

VARIABLE	RATA N° 3 01-07-04																							
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADEA	SD						SI						ID						II					
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA SECA						1M DENTINA HIDRATADA						1M DENTINA SECA						1M DIENTE CONTROL DYCAL					
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV	
CONTROLES REALIZADOS	1control		2control		3control		1control		2control		3control		1control		2control		3control		1control		2control		3control	
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	X		X		X		X		X		X			X		X		X		X		X		X
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	X		X		X		X		X		X		X		A		A		IV		A		A	
PESO	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263	263
TIEMPO DE MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	8		15		21		8		15		21			0		0	7			0		0	7	

Instrumento numero 1: Hallazgos Clínicos del manejo de las ratas wistar por cada una para el estudio de recubrimientos pulpaes directos con dentina liofilizada (prueba piloto)

VARIABLE	RATA N° 4 01-07-04																							
POSICIÓN MOLAR SEGÚN SU ARCADEA	II						II						ID						ID					
POSICIÓN DEL MOLAR SEGÚN SU ORDEN	1M DENTINA HIDRATADA						2M DENTINA SECA						1M DIENTE CONTROL DYCAL						2M DIENTE SECA					
TIPO DE MATERIAL OBTURANTE	IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV		IV	
CONTROLES REALIZADOS	1control		2control		3control		1control		2control		3control		1control		2control		3control		1control		2control		3control	
MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
		X		X		X		X		N		X		X		X		X		X		X		X
REALIZACIÓN DE REFUERZO DE LA OBTURACIÓN	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N	S	N
	IV		A		A		IV		A		A		IV		A		A		IV		A		A	
PESO	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236	236
TIEMPO DE MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN		0		0	7			0		0	7			0		0	7			0		0	7	

INTRUMENTO N°2 HALLAZGOS CLÍNICOS DEL MANEJO DE LAS RATAS WISTAR POR MOLARES UTILIZADOS EN LA PRUEBA PILOTO

No. DEL MOLAR		MANTENIMIENTO DE LA OBTURACIÓN																		TIEMPO DEL MOLAR
		Control 1			Control 2			Control 3			Control 4			Control 5			Control 6			
		S	N	R	S	N	R	S	N	R	S	N	R	S	N	R	S	N	R	
1MSDR3-1-07		x		x	x		x	x		x										22 DÍAS
1MSIR3-1-07		x		x	x		x	x		x										22 DÍAS
1MIDR3-1-07			x	x		x	A		x	A										22 DÍAS
1MIIR3-1-07			x	IV		x	A		x	A										22 DÍAS
1MIIR4-1-07			x	R		x	A		x	A										22 DÍAS
2MIIR4-1-07			x	XA		x	A		x	A										22 DÍAS
1MIDR4-1-07			x	R		x	A		x	A										22 DÍAS
2MIDR4-1-07			x	XR		x	XA		x	XA										22 DÍAS
1MIIR1-22-07		x			x		XR	x		XR		x	XR		x	XR		x		42 DÍAS
1MIDR1-22-07			x	XA		x	XR		x	XR		x	XR		x			x		42 DÍAS
1MSIR1-06-08		x		XR	x		XR	x		XR	x									27 DÍAS
1MSDR1-22-07			x	XR		x	XA		x			x	XR		x	XR		x		42 DÍAS
1MIIR2-22-07		x			x			x		XR	x		XR	x		XR	x			42 DÍAS
1MIDR2-22-07		x			x			x		XR	x		XR	x		XR	x			42 DÍAS
1MSIR2-06-08		x			x		XR	x		XR	x									27 DÍAS
1MSDR2-22-07		x			x		XR	x			x			x				x		42 DÍAS
2MIDR2-6-08		x		XR	x		XR	x			x									27 DÍAS
1MIIR3-22-07			x	XA		x	XIV		x			x	XR		x			x		42 DÍAS
1MIDR3-22-07			x	XA		x	XIV		x			x	XR		x			x		42 DÍAS
1MSIR3-6-08		x		XR	x		XR	x		XR	x									27 DÍAS
1MSDR3-22-07		x			x			x			x		XR	x		XR	x			42 DÍAS
2MIDR3-6-08		x		XR	x		XR	x		XR	x									27 DÍAS
1MIIR5-6-08			x	XR		x			x			x								27 DÍAS
1MIDR5-6-08		x			x		XR	x			x									27 DÍAS
1MSDR5-6-08		x			x		XR	x			x									27 DÍAS

S= Presencia de la obturación; N= ausencia de la obturación; R= refuerzo de la obturación con R= resina, A=amalgama, IV= ionómero de vidrio.

Aus = ausencia de cambio clínico.