

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

POSTGRADO DE ENDODONCIA

**EFFECTO DE DIFERENTES VEHÍCULOS SOBRE EL PH Y LA LIBERACIÓN
DE CALCIO IÓNICO DEL Ca(OH)_2**

Trabajo especial presentado ante la
ilustre Universidad Central de
Venezuela por el Odontólogo
Faride K. Szemat Daher para optar
al título de Especialista en
Endodoncia.

Caracas, Septiembre de 2012

UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

POSTGRADO DE ENDODONCIA

**EFFECTO DE DIFERENTES VEHÍCULOS SOBRE EL PH Y LA LIBERACIÓN
DE CALCIO IÓNICO DEL Ca(OH)_2**

Autor:

Od. Faride K. Szemat Daher

Tutor:

Od. Miguel Angel Aznar

Caracas, Septiembre de 2012

DEDICATORIA

A mis padres, hermano y Tía Ferye, por su apoyo y amor
incondicional.

A Henry, por su paciencia y demostración de amor constante.

AGRADECIMIENTOS

Al Postgrado de Endodoncia de la Universidad Central de Venezuela, al Dr. Miguel Angel Aznar, demás integrantes y colaboradores, por su dedicación y por transmitirnos sus conocimientos.

Al Postgrado de Cirugía de la Universidad Central de Venezuela, por su colaboración constante en la recolección de los dientes o de las muestras para la realización de este trabajo

Al Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central, por abrirme sus puertas para lograr realizar este trabajo de investigación en sus instalaciones

El Laboratorio de Bioquímica y Biología Celular Aplicada del Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central de Venezuela, en especial a la Dra. Valentina Salas, Jefa del Laboratorio, y al Profesor Lic. José Mejías, por su ayuda y guía constante en la realización de este trabajo.

El laboratorio de Histología del Instituto de Biología Experimental de la Universidad Central de Venezuela, por prestarme sus instalaciones y guiarnos con sus conocimientos para el desarrollo de la presente investigación.

A mis compañeras, amigas y cómplices del postgrado: Fariosca, Susana, Nathaly, Marie y Daniela, por compartir cada minuto de esta travesía juntas.

A las Dras. Mariela Fajardo, Aurora LaSala y Beatriz Millán, por su constante enseñanza, sabiduría y cariño en cada paso del postgrado.

LISTA DE GRÁFICOS

Figura 1: Grupo “A” Ensayo preparado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y anestesia -----	22
Figura 2: Grupo “G” Ensayo preparado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y glicerina -----	22
Figura 3: Grupo “S” Ensayo preparado con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y solución fisiológica ---- -----	22
Figura 4: Grupo experimental “A”: Jeringa de medicación intraconducto----- -----	23
Figura 5: Fotografía del experimento de un diente en el envase plástico.----- -----	23
Figura 6: Electrodo del medidor de pH dentro del envase experimental ----- -----	24
Figura 7: Detalle del electrodo del medidor de pH del envase experimenta --- -----	24
Figura 8: Preparación de la o-Cresolftaleína Complexona -----	25
Figura 9: Curva de calibración para medir Calcio -----	26
Figura 10: Colocación de 1,98 μl de agua destilada en la placa de Elisa con micropipeta p10 -----	27
Figura 11: Toma de 0,2 μl de o-Cresolftaleína Complexona con micropipeta multicanal -----	27
Figura 12: Colocación de 0,2 μl de o-Cresolftaleína Complexona con micropipeta multicanal en la placa de Elisa -----	27

Figura 13: Colocación de la placa de Elisa en la bandeja del espectofotómetro -----	28
Figura 14: Gráfico comparativo del método de varianza ANOVA entre los tratamientos realizados y los valores de pH alcanzados -----	30
Figura 15: Gráfico comparativo del método de varianza ANOVA entre los valores de pH alcanzados a diferente tiempo -----	31
Figura 16: Gráfico comparativo del método de varianza ANOVA entre valores de pH, diferente tiempo experimentales y diferentes preparaciones-- -----	32
Figura 17: Gráfico del método de varianza Kruskal-Wallis: Correlación entre valores de pH y tiempos de medición -----	33
Figura 18: Gráfico del método de varianza Kruskal-Wallis: Correlación entre valores de pH y los tratamientos -----	34
Figura 19: Gráfico del Análisis de Varianza ANOVA: Correlación entre las concentraciones de calcio iónico y los tratamientos -----	35
Figura 20: Gráfico de análisis de varianza ANOVA: Correlación entre concentraciones de calcio iónico (mM) y el tiempo de evaluación -----	36
Figura 21: Gráfico de análisis de varianza ANOVA: Correlación entre los diferentes medicamentos con sus respectivas concentraciones de calcio iónico y los diferentes tiempos de medición -----	38
Figura 22: Gráfico de análisis de varianza no paramétrica Kruskal- Wallis: Comparación entre las concentraciones de calcio iónico y los diferentes medicamentos. -----	39

Figura 23: Gráfico de análisis de varianza no paramétrico Kruskal-Wallis: Correlación entre diferentes concentraciones de calcio iónico con los tiempos de las mediciones -----	40
Figura 24: Imagen del precipitado/sedimento blanquesino en dos muestras -- -----	41
Figura 25: Imagen de los tubos de ensayo de los cultivos obtenidos de las muestras contaminadas -----	42
Figura 26: Imagen de la colocación y frotis de los cultivos en las láminas portaobjetos -----	42
Figura 27: Imagen de la colocación y frotis de los cultivos en las láminas portaobjetos -----	42
Figura 28: Imagen de los portaobjetos luego de su preparación -----	42
Figura 29: Imágenes de tinción de solución de Hematoxilina de Hierro de las muestras -----	45
Figura 30: Imagen de lavado de las muestras con agua corriente -----	45
Figura 31: Imagen de tinción con la coloración FCF de las muestras -----	45
Figura 32: Lavado con solución de ácido acético al 1% de las muestras ---	45
Figura 33: Imagen de tinción con la coloración solución de safranina al 1 % -- -----	45
Figura 34: Imagen obtenidas de las muestras a través de microscopio compuesto y bajo aceite de inmersión -----	46

Figura 35: Imagen obtenidas de las muestras a través de microscopio compuesto y bajo aceite de inmersión ----- 46

Figura 36: Imagen obtenidas de las muestras a través de microscopio compuesto y bajo aceite de inmersión ----- 46

Figura 37: Imagen obtenidas de las muestras a través de microscopio compuesto y bajo aceite de inmersión ----- 46

LISTA DE TABLAS

- Tabla I:** Datos de las mediciones de calcio del Ca(OH)_2 a los 10 minutos -- 70
- Tabla II:** Datos de las mediciones de calcio del Ca(OH)_2 a los 24 horas---- 72
- Tabla III:** Datos de las mediciones de calcio del Ca(OH)_2 a los 48 horas --- 74
- Tabla IV:** Datos de las mediciones de calcio del Ca(OH)_2 a la 1° semana -- 76
- Tabla V:** Datos de las mediciones de calcio del Ca(OH)_2 a la 2° semana -- 78
- Tabla VI:** Datos de las mediciones de pH del Ca(OH)_2 80

RESUMEN

Por su capacidad de disociación iónica, logrando una gran alcalinidad y elevada actividad antimicrobiana, el hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) es el medicamento intraconducto más utilizado en la terapia endodóntica. Últimamente se le ha dado gran importancia no solo por la capacidad antimicrobiana del hidróxido de calcio, sino que potencia esta actividad con diferentes vehículos a favorecer esta acción mediante diferentes vehículos. En este trabajo se evaluó la difusión "in vitro" de los iones calcio contenidos en diferentes vehículos en las pastas de Ca(OH)_2 y la variación de pH local en un periodo de 3 semanas. **Métodos:** Fueron seleccionados 30 dientes monorradiculares y preparados biomecánicamente hasta una lima K N° 30. Las muestras fueron separadas en 5 grupos y se le colocaron preparaciones (medicamentos) a base de Ca(OH)_2 con solución fisiológica, anestesia y glicerina. Las muestras fueron introducidas en recipientes con agua destilada (Y) desionizada. Las mediciones fueron hechas con un potenciómetro, o medidor de pH, y las mediciones de Calcio con un espectrofotómetro a diferente tiempo. **Resultados:** Se encontraron diferencias significativas entre todos los grupos. Con la solución fisiológica se hallaron elevados valores de pH, , con un valor máximo de 10,5 a las 48 horas. En la liberación de calcio, con la anestesia fue el vehículo que alcanzó mayores niveles de calcio, a la

primera semana de aplicación. **Discusión:** Con los vehículos utilizados se obtuvo niveles altos tanto de pH como de calcio iónico.

Debido a una rápida disociación iónica del Ca(OH)_2 , las preparaciones acuosas predominaron en el experimento sobre las preparaciones con glicerina, lográndose mantenerlas activas hasta por una semana.

Las preparaciones acuosas, en este estudio, resultaron predominantes sobre la glicerina en cuanto a lograr una excelente y rápida disociación iónica del Ca(OH)_2 y mantenerla en un período de 1 semana.

Palabras Claves: Hidróxido de calcio, Vehículos, Medicación Intraconducto

ABSTRACT

Calcium hydroxide is the most widely used drug in intracanal endodontic therapy by ionic dissociation capacity, achieving a high alkalinity and high power antimicrobial. Lately he has been given great importance not only to the antimicrobial capacity of calcium hydroxide, but to encourage this action by different vehicles. The purpose of this study was to evaluate the diffusion of calcium ions across different vehicle pastes of calcium hydroxide and the local variation of pH over a period of 3 weeks. **Methods:** We selected 30 single-rooted teeth were prepared to a file biomechanically KN ° 30, were separated into 5 groups and were placed based drugs calcium hydroxide with saline, anesthesia and glycerin. Samples were placed in containers with deionized distilled water. We proceeded to pH measurement with a pH meter and calcium measurement with a spectrophotometer at different times. **Results:** There were significant differences between all groups. The saline showed achieve high pH values, the resulting higher value at 48 hours with a pH of 10.5, as for the release of calcium, anesthesia was reached the vehicle that higher levels of calcium to 1 week application. **Discussion:** All vehicles used were able to achieve high levels of both pH and calcium ion. Aqueous solutions in this study, were predominant over glycerin as to achieve an excellent and fast ionic dissociation of calcium hydroxide and keeping in a period of 1 week.

Key Words: Calcium Hydroxide, Vehicles, Intracanal Medication

TABLA DE CONTENIDOS

Capítulo 1 INTRODUCCIÓN.....	1
Capítulo 2 MARCO TEÓRICO	1
Características generales del hidróxido de calcio.....	4
Composición química	4
Propiedades	5
pH	5
Disponibilidad iónica	6
Mecanismo de acción. Efecto sobre la célula bacteriana y el tejido necrótico.	7
Actividad fisicoquímica y biológica del Ca(OH) ₂ asociado a distintos vehículos, para obtener diferentes compuestos.....	12
Solución fisiológica	13
Propilenglicol	13
Anestésicos	14

Capítulo 3 OBJETIVOS	16
Objetivo General.....	16
Objetivos Específicos	16
Capítulo 4 MATERIALES Y MÉTODOS	17
Selección de la muestra	17
Preparación de las muestras	18
Medición de pH.....	23
Medición de la liberación de los iones calcio	24
Análisis Estadístico.....	28
Capítulo 5 RESULTADOS	29
Capítulo 6 DISCUSIÓN.....	47
Capítulo 7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	58
Capítulo 8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA	59
Capítulo 9 ANEXOS.....	66

Capítulo 1 INTRODUCCIÓN

El objetivo principal del tratamiento endodóntico, es la limpieza y desinfección del sistema de conductos radiculares, y aunque con la preparación químico mecánica se logra una gran reducción de los microorganismos, la necesidad de una medicación intraconducto entre las citas endodónticas es significativa, ya que potencia el efecto antimicrobiano, además de favorecer el proceso de reparación de los tejidos. ¹

Ante esto, la selección de la medicación intraconducto debe presentar tres parámetros importantes: tener amplio espectro antimicrobiano, histocompatible con los tejidos circundantes y ser capaz de estimular los tejidos del huésped, con el objetivo de favorecer la reparación del tejido. ^{2,3}

El hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) fue introducido en la Odontología por Herman en 1920 como un agente antimicrobiano endodóntico. Sus aplicaciones clínicas han sido ampliamente descritas, incluyendo el uso de una pasta como un agente antimicrobiano, para controlar exudados dentro del conducto radicular y para resorciones radiculares induciendo la respuesta de los tejidos duros. ^{2,4}

Una de las características más relevantes del Ca(OH)_2 y a la que le confiere su acción biológica en la pulpa y en los tejidos periapicales, es el pH alcalino por el gran potencial de disociación en iones calcio e hidróxilos.³

Sin embargo, el vehículo con el que se mezcla el Ca(OH)_2 juega un rol importante en el proceso de desinfección, porque va a determinar la velocidad de la disociación de los iones, y que resulte en una pasta que sea soluble y que se reabsorba a diferentes tiempos en los tejidos periapicales y dentro del conducto radicular.

Por lo que el objetivo principal de este trabajo de investigación ha sido evaluar la difusión de los iones calcio a través de diferentes vehículos en las pastas de Ca(OH)_2 y la variación de pH local en un periodo de 3 semanas.

Capítulo 2 MARCO TEÓRICO

La polémica existente en épocas pasadas, con respecto a la medicación intraconducto, estuvo justificada por las lagunas conceptuales que existían con respecto a la preparación del sistema de conductos radiculares y a la reparación de los tejidos perirradiculares. Con la mejora y el desarrollo de nuevos materiales y conceptos, asociados al uso de sustancias químicas de excelentes propiedades antimicrobianas, junto con la preparación mecánica, se elevaron las tasas de éxito de la terapia endodóntica.⁵

La identificación de la microbiota presente en los conductos radiculares infectados es un factor importante en la selección del medicamento intraconducto a utilizar. Los conceptos actuales se enfocan en el uso de una medicación capaz de generar un potencial de acción eficaz ante los diferentes tipos de microorganismos (aerobios, microaerófilos y anaerobios).

Para estudiar un medicamento se deben tomar en cuenta dos efectos, el antimicrobiano y el biológico. El efecto antimicrobiano está basado en las condiciones determinantes del crecimiento y de la multiplicación bacteriana, por lo que, factores como: pH, temperatura, actividad osmótica,

concentración de oxígeno, concentración de dióxido de carbono y concentración de sustrato, presentan una gran influencia en la actividad enzimática de las bacterias. En lo que respecta al efecto biológico, se debe tomar en cuenta factores como el grado de inocuidad y la capacidad de favorecer la reparación del tejido afectado.²

La contribución de los microorganismos en el desenvolvimiento de la enfermedad pulpar y periapical ha sido bien documentada a lo largo del tiempo, concluyendo que el éxito para tratar infecciones endodónticas primarias y secundarias involucra la efectiva erradicación de los microorganismos patógenos durante el tratamiento endodóntico. La importancia de usar una copiosa irrigación con agentes antimicrobianos junto con la instrumentación mecánica logra una reducción de la microbiota bacteriana, pero no alcanza su completa eliminación, por lo que, el uso de una medicación intraconducto entre citas, para la completa la desinfección del sistema de conductos radiculares es de suma importancia.⁶

Se debe tener en cuenta, el conocimiento de la microbiota endodóntica, la definición de infecciones primarias, secundarias o persistentes, el mecanismo de acción del medicamento, la efectividad antimicrobiana, el tiempo necesario para lograr un máximo potencial de

acción, la difusión a través de la dentina, la resistencia microbiana y su compatibilidad biológica. ⁵

Entre los medicamentos intraconductos, el Ca(OH)_2 se destaca debido a sus importantes propiedades, entre ellas: inhibición de enzimas bacterianas a partir de su acción a nivel de la membrana citoplasmática, la cual conduce al efecto antimicrobiano y la activación enzimática del tejido, que motiva el efecto mineralizante, observado a partir de su acción sobre la fosfatasa alcalina. ⁴

El valor óptimo de pH para la activación de la fosfatasa alcalina se encuentra en un rango entre 8.6 y 10.3, lo que hace que se produzca una liberación de la fosfatasa orgánica (ion fosfato) que va a interactuar directamente con el calcio iónico encontrado en la circulación sanguínea, creando un sedimento de fosfato cálcico sobre la matriz orgánica. En efecto, este sedimento es la unidad molecular de la hidroxiapatita, que participa en la formación de tejido mineralizado. La formación de este tejido mineralizado luego del contacto con el hidróxido de calcio con el tejido conjuntivo se ha demostrado que ocurre entre los 7 y 10 días. ⁷

Características generales del hidróxido de calcio

Composición química

El Ca(OH)_2 se constituye en una base fuerte (pH 12,6), poco soluble en agua (1.2 g/l) obtenida a partir de la calcinación del carbonato de calcio hasta su transformación en óxido de calcio. El Ca(OH)_2 se obtiene con la hidratación del óxido de calcio, y la reacción química entre el Ca(OH)_2 y el dióxido de carbono forma carbonato de calcio.⁷

Las propiedades del Ca(OH)_2 derivan de su disociación iónica en iones de calcio (Ca^{2+}) e iones hidróxilo (OH^-), siendo la acción de los iones OH^- sobre los tejidos y bacterias los que explican sus propiedades antimicrobianas y biológicas. Teniendo en cuenta el entorno celular del Ca(OH)_2 , con valores de 74.08 g, a través de una regla de tres, se obtienen el porcentaje de iones (OH^-) encontrados en el hidróxido de calcio, que corresponde al 45.89%, mientras que el 54.11% corresponde a los iones (Ca^{2+}), por ende, cuando se coloca intraconducto la medicación con Ca(OH)_2 , el 45.89% y el 54.11% se disocia respectivamente en OH^- y Ca^{2+} .^{1,8}

Propiedades

pH

El $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ofrece un alto grado de alcalinidad de 11,5 a 12,4, en concentraciones variables que permiten su capacidad de disociación y liberación iónica sobre el tejido pulpar y los tejidos periapicales. El pH de una solución básica de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ está en función de su solubilidad y su constante de disociación. En soluciones saturadas de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, los valores de pH son entre 12,0 y 13, lo que indica que las concentraciones de iones libres son menor si se compara con la que puede mostrar un compuesto con pH 14 en solución saturada de sodio (NaOH). Esta menor concentración limita el grado de alcalinidad de la solución y las cantidades de ambos iones disponibles que pueden difundir dentro del tejido, lo que, evidentemente, va a favorecer la importancia que tiene el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en virtud de su limitada disolubilidad y concentración iónica, propiedad que puede prevenir la desnaturalización de las proteínas como efecto indeseable ⁹

Trostand y col. (1993) sugirieron que el $\text{Ca}(\text{OH})_2$, como medicación intraconducto elevaba el pH, produciendo un ambiente alcalino en áreas de resorción radicular por difusión de los iones hidroxilos (OH^-) a través de los túbulos dentinarios ¹⁰

Nerwich y col. en 1993, estudian la variación de pH en la dentina después de 4 semanas de haber colocado pastas a base de Ca(OH)_2 , mostrando que se presentaban cambios de pH entre 10.8 – 9.7, los cuales se mantenían las primeras dos semanas, y luego iba disminuyendo paulatinamente, promoviendo la importancia de que las medicaciones intraconducto con Ca(OH)_2 mantuvieran su pH alcalino.³

En concordancia con esto, Semra y col. (1999), evaluaron la variación del pH y la difusión de los iones calcio a través de los túbulos dentinarios de 28 dientes monorradiculares, colocándoles diferentes pastas de Ca(OH)_2 , y reportaron que las pastas de Ca(OH)_2 mantenían un pH alcalino en períodos de tiempo prolongados, y que se apreciaba una cantidad moderada de partículas de calcio en las superficies circundantes de los dientes.¹¹

Disponibilidad iónica

La aplicación de iones (Ca^{2+}) y (OH^-) en forma de Ca(OH)_2 se basa en su capacidad de proporcionar un medio alcalino, favorable para su acción bactericida y su capacidad inductora de calcificación. Sin embargo, esto depende de la disponibilidad y carencia iónica del tejido orgánico, del mantenimiento del pH y de la liberación de los iones de calcio e hidroxilos. La disociación del Ca(OH)_2 en iones (OH^-) e iones (Ca^{2+}) depende del vehículo

que se utilice para preparar la pasta. Simon y colaboradores, demostraron que el vehículo puede ejercer una gran influencia en la liberación iónica.⁴¹

Robert y colaboradores en el 2005, realizaron un estudio para evaluar si las propiedades del Ca(OH)_2 se optimizaban si se le colocaba en diferentes concentraciones combinándolo con diferentes vehículos y utilizando diferentes tamaños de preparaciones apicales, llegando a la conclusión que la difusión apical de los iones del Ca(OH)_2 está íntimamente relacionado con los vehículos utilizados y sus respectivas concentraciones¹²

En otro estudio Blanscet y colaboradores en el 2008, evaluaron la importancia de las diferentes viscosidades de los vehículos utilizados en las pastas de Ca(OH)_2 y su comportamiento ante los patógenos comunes de la microbiota endodóntica. Llegaron a la conclusión de que las pastas con Ca(OH)_2 presentaban grandes zonas inhibitorias en las placas con los microorganismos, y recomendaron que se deben utilizar preparaciones con concentraciones entre el 35 y el 60% de Ca(OH)_2 .¹³

Mecanismo de acción. Efecto sobre la célula bacteriana y el tejido necrótico.

A partir del conocimiento de la química del Ca(OH)_2 y de algunas características de la citología bacteriana, se puede discutir el mecanismo de

acción de este fármaco sobre las bacterias y sobre los tejidos, lo que constituye el fundamento básico para la selección de una medicación intraconducto.

En general, las sustancias antimicrobianas del grupo de los antibióticos y/o quimioterapéuticos causan dos tipos de efectos sobre los microorganismos: inhiben el crecimiento o reproducción o inducen a la inactividad celular. Estos efectos se expresan en la síntesis de la pared celular, en la estructura de la membrana, en la síntesis de proteínas, en la replicación cromosómica y en el metabolismo intermedio. Es de suma importancia el análisis del efecto del pH sobre el crecimiento, metabolismo y división celular bacteriana. ⁶

La variación de pH se refleja en el crecimiento bacteriano, una vez que se influencia la actividad enzimática. La velocidad de las reacciones químicas favorecidas por las enzimas es influenciada por el sustrato. Estas enzimas pueden estar presentes tanto extra como intracelularmente. Las enzimas extracelulares actúan sobre los nutrientes, carbohidratos, proteínas y lípidos, que mediante las hidrolasas favorecen la digestión. Las enzimas localizadas en la membrana citoplasmática están relacionadas con el transporte de sustancias hacia dentro y fuera de la célula, con la actividad respiratoria y con la estructuración de la pared celular. El transporte de membrana es

fundamental para sus complejas reacciones metabólicas, crecimiento y reproducción, pues es necesario el control del flujo de nutrientes. ¹⁴

También se considera la existencia de un gradiente de pH a través de la membrana citoplasmática, que es responsable de producir energía para el transporte de nutrientes y componentes orgánicos para el interior de la célula. Este gradiente puede ser afectado por el cambio en el pH del medio, influenciando el transporte químico a través de la membrana.

En este aspecto, el efecto del pH sobre el transporte químico puede ser directo o indirecto. Será directo cuando el pH influencia la actividad específica de las proteínas de la membrana. El efecto indirecto puede causar alteraciones de los estados de ionización de los nutrientes orgánicos. Los componentes no ionizados son mucho más fáciles de ser transportados a través de la membrana celular que los ionizados. De esta forma, según el pH, puede haber aumento de la disponibilidad de nutrientes, y un intenso transporte puede causar la inhibición y efectos tóxicos sobre la célula. ¹⁴

El crecimiento bacteriano en un pH inferior a su pH interno hace que el citoplasma quede más alcalino que el medio; no obstante, cuando el crecimiento ocurre en pH alto, su citoplasma queda más ácido. En lo que se refiere al pH, existen pocas especies que en un pH menor a 2 o mayor a 10

puedan sobrevivir y desarrollarse. La mayoría de las bacterias patogénicas se desarrollan mejor en un medio neutro. ⁵

Es posible que pueda ocurrir una inactividad enzimática reversible cuando el microorganismo se encuentra expuesto a un pH superior o inferior a lo ideal para su funcionamiento, una vez que se restablece su pH ideal, la enzima puede volver a adquirir su actividad catalítica. Su irreversibilidad puede ser observada en condiciones extremas de pH, por largos periodos de tiempo, causando una pérdida de actividad biológica.

Ante todos los estudios, sobre los procesos y actividades aisladas del pH en sitios enzimáticos esenciales, como lo es el que ocurre a nivel de la membrana, se torna más claro asociar el Ca(OH)_2 , que es una sustancia dotada de elevado pH, a efectos biológicos lesivos sobre la célula bacteriana para explicar su mecanismo de acción. El efecto del elevado pH del Ca(OH)_2 (12,6), influenciado por la liberación de iones $(\text{OH})^-$, es capaz de alterar la integridad de la membrana plasmática mediante agresiones químicas a los componentes orgánicos y transporte de nutrientes, o mediante la destrucción de los fosfolípidos de la misma, observado por el proceso de peroxidación lípida, siendo esta, una reacción de saponificación. ^{5, 15}

Por lo que, la explicación del mecanismo de acción del pH del Ca(OH)_2 en el control de la actividad enzimática bacteriana permitió a diferentes autores que se formulara la hipótesis de una inactivación de enzimas bacterianas, irreversible en condiciones extremas de pH, en largos períodos de tiempo. ¹⁵

Además de las investigaciones realizadas, que respaldan dicha hipótesis, la difusión dentinaria de iones de hidroxilo del Ca(OH)_2 con el cambio de pH en la superficie dentinaria puede tardar.

Baik y col. (2012) plantearon la participación activa en la periodontitis apical del ácido lipoteicoico producido por *Enterococcus faecalis*, y enlazaron la propiedad del Ca(OH)_2 de inhibir o modificar la actividad inflamatoria de dicho ácido, concluyendo, que el medicamento intraconducto atenúa la actividad del mismo contribuyendo a disminuir el proceso inflamatorio. ¹⁶

Sjörgen y colaboradores demostraron, en un estudio *in vivo*, que la medicación con Ca(OH)_2 elimina eficazmente las bacterias que pueden sobrevivir a la preparación biomecánica, y que gracias a esto, se pueden obtener resultados más confiables y predecibles al colocar la medicación intraconducto con Ca(OH)_2 por 7 días. ¹⁷

Actividad fisicoquímica y biológica del Ca(OH)_2 asociado a distintos vehículos, para obtener diferentes compuestos.

El efecto antimicrobiano de las diferentes preparaciones de Ca(OH)_2 se ha demostrado en el pasado. Sin embargo, el vehículo con el que se mezcla el Ca(OH)_2 es importante en el proceso de desinfección, porque va a determinar la velocidad de la disociación de los iones, resultando en una pasta que sea soluble y que se reabsorba a diferentes tiempos en los tejidos periapicales y dentro del conducto radicular. A menor viscosidad tenga el vehículo utilizado, mayor disociación de los iones se presentará. El alto peso molecular de los vehículos comúnmente utilizados minimiza la dispersión del Ca(OH)_2 en los tejidos y mantiene la pasta en las áreas deseadas por largos periodos de tiempo. Hay tres principales tipos de vehículos utilizados: (1) las sustancias solubles en agua, como lo son la solución salina, anestésico local, solución de Ringer, etc, (2) vehículos viscosos como la glicerina, el polietilenglicol y el propilenglicol y (3) los vehículos de bases oleosas, como el aceite de silicona, eugenol, metacrilatos, etc. ⁴

Los medios acuosos promueven un alto grado de solubilidad y algunos vehículos viscosos/acuosos pueden liberar iones de manera más lenta por un periodo de tiempo más prolongado. Los vehículos de bases oleosas, son insolubles en agua y provee una baja difusión del Ca(OH)_2 . ⁴

Un vehículo viscoso puede permanecer dentro del conducto radicular por un periodo mayor de tiempo, por lo que, la cantidad de citas requeridas para cambiar la medicación intraconducto serán reducidas. En 1982, Anthony y colaboradores, hicieron el intento de entender el efecto del vehículo sobre el pH del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ con el uso de solución salina, cresatina y paramonoclorofenol alcanforado, mostrando que la difusión de los iones (Ca^{2+}) se puede producir a través del foramen apical y cambiar el pH, y este se ve altamente relacionado con el vehículo utilizado. ¹⁸

Solución fisiológica

Es una disolución acuosa de sustancias compatibles con los organismos vivos debido a sus características definidas de presión osmótica, pH y fuerza iónica. Está compuesto de agua, electrolitos y, a veces, distintas sustancias, como por ejemplo la glucosa, fuente de carbono y energía para el organismo, y de algunos polisacáridos expansores. ⁴

Propilenglicol

El 1,2,3-propanotriol, glicerol o glicerina ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$) es un alcohol con tres grupos hidroxilos ($-\text{OH}$). Se trata de uno de los principales productos de la degradación digestiva de los lípidos, paso previo para el ciclo de Krebs

y también aparece como un producto intermedio de la fermentación alcohólica. Además junto con los ácidos grasos, es uno de los componentes de lípidos como los triglicéridos y los fosfolípidos. Se presenta en forma de líquido a una temperatura ambiental de 25 ° C y es higroscópico e inodoro. Posee un coeficiente de viscosidad alto y tiene un sabor dulce como otros polialcoholes. ¹⁹

Propiedades

Líquido incoloro e inodoro, con un sabor dulce a alcohol e insoluble en éter, benceno y cloroformo. De fórmula $C_3H_8O_3$ poner números en subíndices(1,2,3-propanotriol), y densidad relativa de 1,26. Tiene un punto de ebullición de 290 °C y un punto de fusión de 18 °C. La glicerina líquida es resistente a la congelación, pero puede cristalizar a baja temperatura. Es soluble en agua en cualquier proporción, y se disuelve en alcohol, pero es insoluble en éter y muchos otros disolventes orgánicos. ¹⁹

Anestésicos

Todos los anestésicos locales responden a una estructura química de un anillo aromático, por lo general, bencénico y una amina terciaria o secundaria, separados por una cadena intermedia con un enlace de tipo

éster o de tipo amida. La hidrosolubilidad está directamente relacionada con el grado de ionización e inversamente relacionada con la liposolubilidad.

Propiedades

Los anestésicos locales son bases débiles, escasamente solubles e inestables en agua, por lo que deben combinarse con un ácido fuerte, tal como lo es el Ácido Clorhídrico (HCl) para obtener una sal estable y soluble en agua a pH 4-7. Aquellas preparaciones comerciales que contienen adrenalina tienen un pH más ácido a causa de la presencia del agente antioxidante bisulfito de sodio, que se añade para conservar la adrenalina. También los anestésicos locales tipo éster son rápidamente hidrolizados en medio alcalino por lo que sus preparaciones tienen un pH menor. ⁴

Capítulo 3 OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la difusión de los iones calcio a través de diferentes vehículos en las pastas de hidróxido de calcio y la variación de pH local en un periodo de 3 semanas.

Objetivos Específicos

1. Comparar diferentes vehículos en la difusión de los iones calcio, tales como: Propilenglicol, Solución fisiológica y Solución anestésica.
2. Evaluar la variación de pH local de las pastas con los diferentes vehículos, tales como el Propilenglicol, Solución fisiológica y Solución anestésica.
3. Evaluar la liberación de iones de calcio y las variaciones de pH en el tejido periapical realizando mediciones en los diferentes tiempos: 10 minutos, 24 horas, 48 horas, 1 semana, 2 semanas y 3 semanas
4. Implicaciones clínicas de la liberación de los iones de calcio y de la variación del pH en el tejido periapical del hidróxido de calcio.

Capítulo 4 MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de la muestra

Para la realización de la presente investigación, veinte personas adultas que asistieron al Postgrado de Cirugía de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela, quienes participaron voluntariamente en el presente estudio, luego de haber firmado un consentimiento informado, el cual fue aprobado por el comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Central de Venezuela bajo el N° 0282 - 2012. A todos los dientes se les realizó extracción por razones ortodoncicas o periodontales.

Para la escogencia de los dientes a utilizar, se siguieron los siguientes criterios:

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Dientes monorradiculares humanos extraídos
- Dientes permanentes
- Sin curvaturas
- Sin calcificaciones camerales o del conducto radicular
- Sin tratamientos de conductos previos

- Sin fracturas o fisuras radiculares
- Raíces completamente formadas
- Sin resorciones radiculares
- Que hayan sido almacenados en soluciones de pH neutros

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Dientes multirradiculares humanos extraídos
- Dientes deciduos
- Con curvaturas
- Con calcificaciones camerales o del conducto radicular
- Con tratamientos de conductos previos
- Con fracturas o fisuras radiculares
- Raíces incompletamente formadas
- Con resorciones radiculares
- Que hayan sido almacenados en soluciones de pH ácidos o básico

Preparación de las muestras

30 dientes monorradiculares fueron extraídos. Se eliminaron los remanentes de los tejidos de soporte con un cepillo blando. Los dientes fueron examinados con lupas de magnificación para descartar cualquier tipo de fractura, fisura o defecto. Todos los dientes fueron almacenados en agua

destilada a temperatura ambiente. El agua destilada fue cambiada diariamente hasta que se recolectaron todas las muestras.

Luego, se removieron todas las coronas de los dientes, a nivel de la unión cemento-esmalte utilizando un disco de carborundo y la longitud radicular fue estandarizada a 15 mm.

Los conductos fueron inicialmente preparados con una lima manual K número 20 para eliminar cualquier tejido pulpar remanente. La longitud del conducto radicular fue determinada introduciendo una lima manual tipo K número 10 en el conducto, hasta que se lograra ver a través del ápice, y luego restándole 1 mm a esta longitud.

Luego, coronalmente el conducto fue ensanchado con limas Gates Glidden de la número 2 a la 4. Cada conducto fue instrumentado con limas rotatorias Protaper (© 2012 DENTSPLY) utilizando toda la secuencia, desde la lima S1 hasta la lima F3.

Durante la preparación, el conducto se irrigó pasivamente con 2 ml de Hipoclorito de Sodio (NaOCl) al 2,5%, utilizando una punta de irrigación pasiva de calibre 27, colocando la aguja de 1 a 2 mm de la longitud de trabajo. La irrigación final fue realizada con 2 ml de solución de Ácido

Etilendiaminotetraacético (EDTA) al 18% por 1 minuto, y finalmente, el conducto se irrigó con 5 ml de agua destilada para remover cualquier precipitado del EDTA.

Cada diente fue almacenado en 5 ml de solución salina en envases sellados y se procedió a realizar la división de los grupos al azar de la siguiente manera:

Grupo 1: Ca(OH)_2 (E-Z products) con Propilenglicol (5 dientes); **Grupo 2:** Ca(OH)_2 con solución fisiológica (5 dientes); **Grupo 3:** Ca(OH)_2 con solución anestésica (5 dientes); **Grupo 4** (Controles Positivos): 3 diente con únicamente propilenglicol, 3 dientes únicamente con solución fisiológica y 3 dientes únicamente con solución anestésica; **Grupo 5** (Control negativo): 3 diente sin ningún tipo de medicación o vehículo mencionado anteriormente.

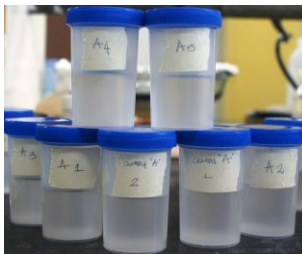


Figura 1: Grupo "A": Ensayo preparado con Ca(OH)_2 y anestesia



Figura 2: Grupo "G": Ensayo preparado con Ca(OH)_2 y glicerina

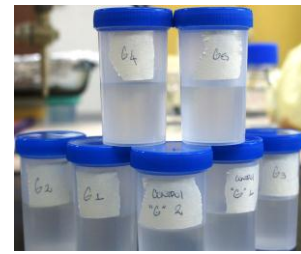


Figura 3: Grupo "S": Ensayo preparado con Ca(OH)_2 y solución fisiológica

Se procedió a preparar las pastas utilizando 1 gr de Ca(OH)_2 en polvo con los diferentes vehículos hasta lograr viscosidades y textura tipo pastas. Luego, cada una de estas pastas se dispensó en jeringas de 3 ml para luego poder colocar las pastas en los conductos radiculares de manera estandarizada. Mientras se realizaba este procedimiento, cada diente era sostenido utilizando una gasa húmeda, para prevenir el contacto de la superficie radicular con las pastas, y para mantener la superficie radicular humectada.

Luego se procedió a sellar la entrada de los conductos radiculares con ionómero de vidrio.



Figura 4: Grupo experimental "A": Jeringa de medicación intraconducto

Posteriormente, los dientes fueron suspendidos con tirro en envases estériles con tapa que contenían 10 ml de agua destilada desionizada y esterilizada en autoclave, de tal manera, que solo la porción apical de las raíces estuviera inmersa en el agua destilada.

Finalmente, se realizaron las mediciones de pH y las concentraciones de calcio. Se tuvo la precaución de trabajar evitando el contacto del interior de los envases con el medio ambiente.



Figura 5: Fotografía del experimento de un diente en el envase plástico.

Medición de pH

Se usó un medidor de pH (Marca Corning, modelo pH meter 125), utilizando un electrodo previamente calibrado con soluciones patrones de pH de 7 y 14. El proceso de medición se realizó, sumergiendo el electrodo en el agua destilada, realizando mediciones en intervalos de tiempo establecidos hasta 3 semanas.

Entre cada una de las mediciones, el electrodo fue lavado con agua destilada y secado con hojas de papel estériles para asegurar que no quedarán partículas de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en el electrodo que pudieran interferir posteriormente en la próxima lectura.



Figura 6: Electrodo del medidor de pH dentro del envase experimental



Figura 7: Detalle del electrodo del medidor de pH en el envase experimental

Medición de la liberación de los iones calcio

Se determinó la concentración de (Ca^{2+}) por el método colorimétrico con o-Cresolftaleína Complexona. Se preparó el reactivo 1 (R1) etanolamina (500 mmol/L) y el reactivo 2 (R2) o-Cresolftaleína complexona (0,62 mmol/L) y 8-Hidroxiquinoleína (69 mmol/L), para realizar el ensayo se agregaron 2 ml de R1, 10 ml de R2 y 20 ml de muestra..^{20, 21.}



Figura 8: Preparación de la o-Cresolftaleína Complejona

Se construyó una curva de calibración usando carbonato de calcio diluido en HCl, se mezclaron e incubaron por 5 minutos a temperatura ambiente y se determinó la absorbancia a 570 nm ^{20,21}

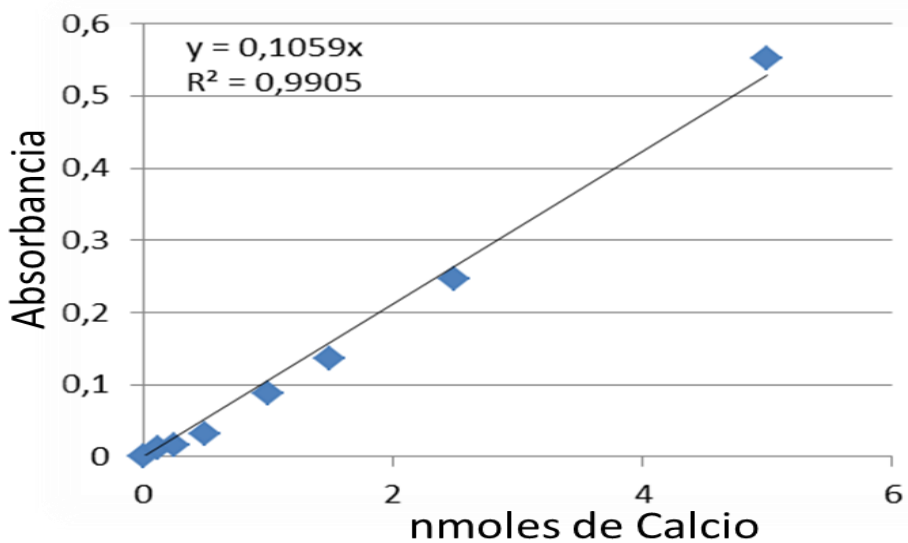


Figura 9: Curva de calibración para medir Calcio

Luego, se procedió a tomar 1.98 μl del agua destilada con una micropipeta Pipetman P10 (Marca Gilson), y se colocó en los pozos de la placa de Elisa por triplicado de cada una de las muestras.

Posteriormente, con una micropipeta Pipetman 200 multicanal (Marca Gilson) se colocó a cada una de las muestras 0,2 μl de o-Cresolftaleína Complexona, completando un total de 200 μl .

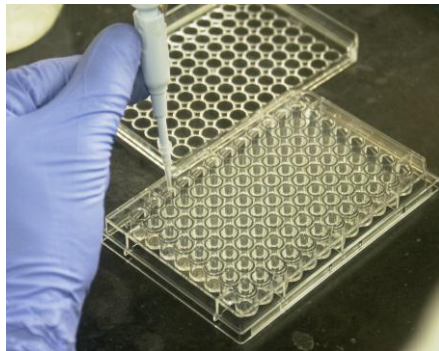


Figura 10: Colocación de 1,98 μl de agua destilada en la placa de Elisa con micropipeta p10

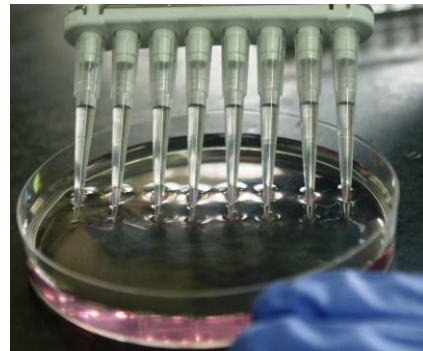


Figura 11: Toma de 0,2 μl de o-Cresolftaleína Complexona con micropipeta multicanal

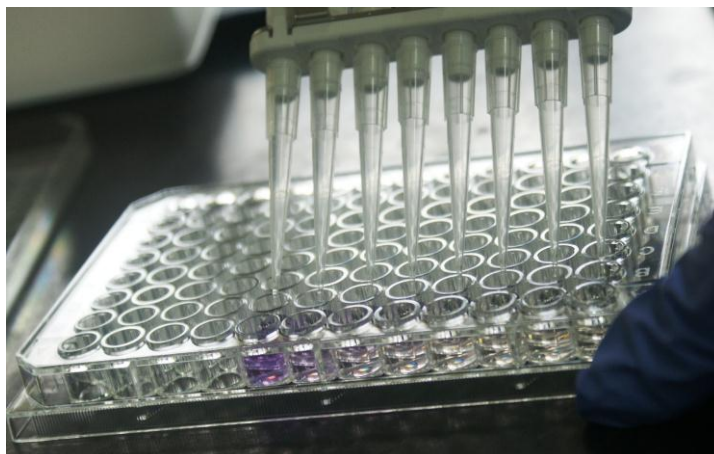


Figura 12: Colocación de 0,2 μ l de o-Cresoltaleína Complejona con micropipeta multicanal en la placa de Elisa

Posteriormente, se realizaron las mediciones en un espectrofotómetro (Marca Tecan, Modelo Sunrise).



Figura 13: Colocación de la placa de Elisa en la bandeja del espectrofotómetro

Análisis Estadístico

Para comparar entre tratamiento y el tiempo se procedió a realizar una prueba de comparaciones de medias múltiple (ANOVA) cuando los datos cumplían con los supuestos del modelo. En aquellos casos en los cuales los supuestos no se cumplían se utilizó el análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis, para aquellos casos en que las muestras no fueran homogéneas o existiera mucha dispersión entre ellas, así como sus respectivas pruebas a posteriori (Para el caso del ANOVA paramétrico se utilizó la prueba de diferencia mínima significativa, y para la prueba de Kruskal-Wallis, la prueba de rangos promedio). El programa estadístico utilizado fue el Statistica V 8.0

Capítulo 5 RESULTADOS

Para el pH se consiguieron los siguientes resultados:

Cuando se compararon los diferentes grupos con respecto a los niveles de pH alcanzados, todos los vehículos utilizados obtuvieron elevados valores de pH con respecto a los controles, siendo la solución fisiológica el vehículo que alcanzó el mayor valor de pH, encontrando diferencias significativas entre los grupos ($p \leq 0.95$).

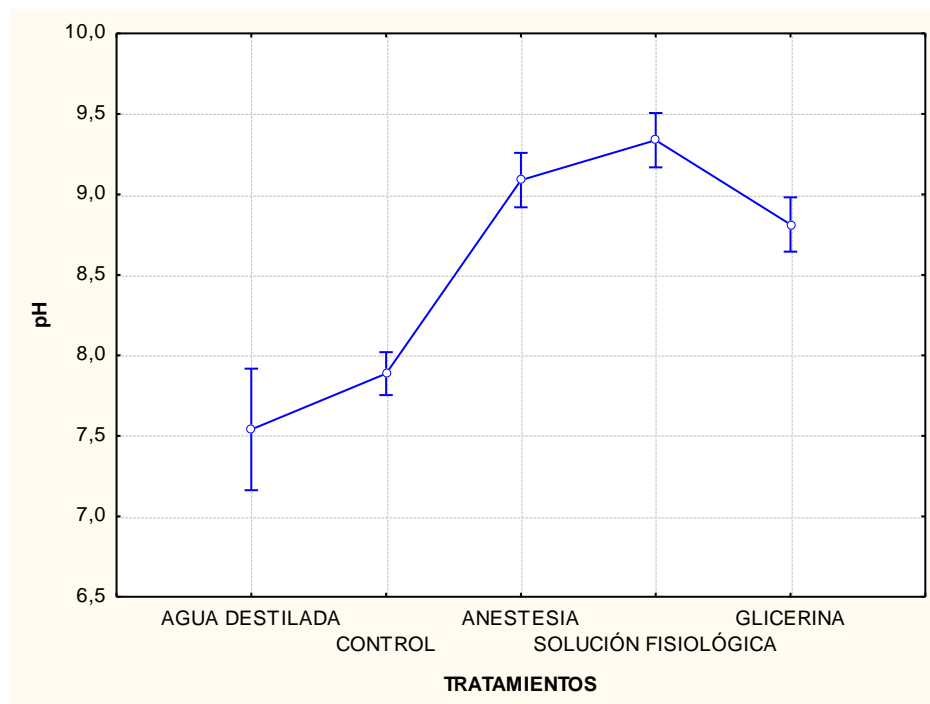


Figura 14: Gráfico comparativo de análisis de varianza ANOVA entre los tratamientos realizados y los valores de pH alcanzados

Cuando se relacionó el tiempo con respecto a la variación del pH sin importar el vehículo utilizado, se evidenció que el pH presenta sus picos máximos en la primera semana de aplicación, y va disminuyendo progresivamente a lo largo de las semanas siguientes, tal como se evidencia en el siguiente grafico:

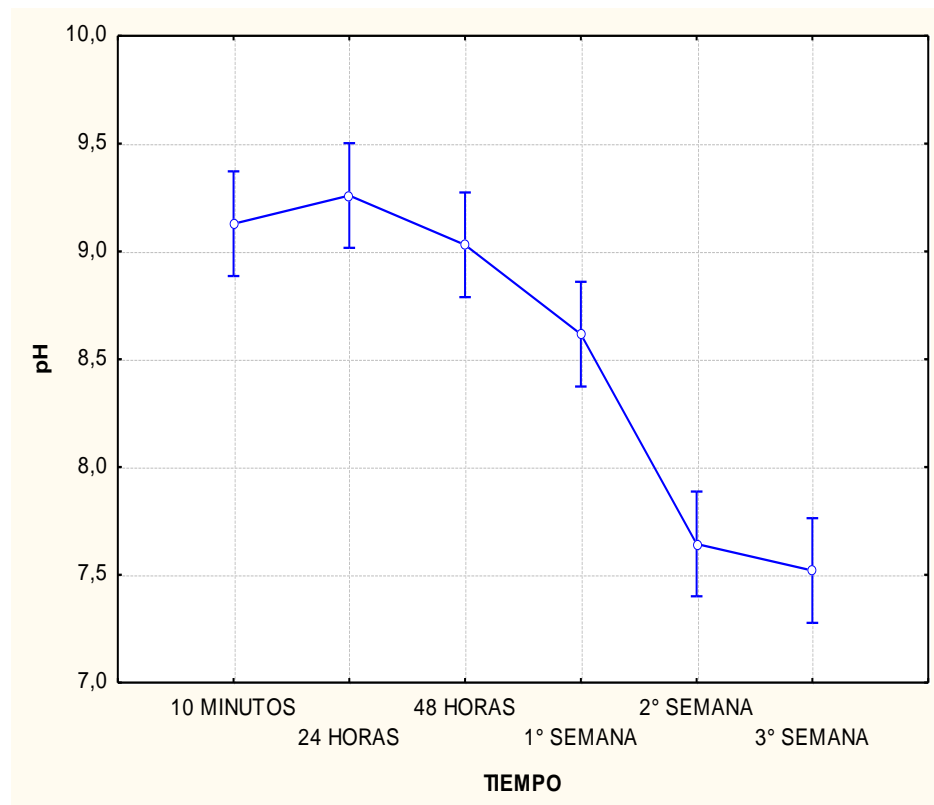


Figura 15: Gráfico comparativo de análisis de varianza ANOVA de los valores de pH alcanzados y tiempo.

En relación a la combinación de tratamientos y los diferentes tiempos evaluados, se puede observar en el siguiente gráfico, como los diferentes grupos de tratamientos se separan completamente de los controles, encontrando diferencias significativas entre todos los grupos. Se evidencia que el máximo valor encontrado de pH fue alcanzado por la solución fisiológica a las 24 horas de aplicación, y valores muy parecidos se relacionan a la solución anestésica y a la glicerina, para luego ver en los tres grupos de tratamientos, un descenso del pH luego de la primera semana de aplicación

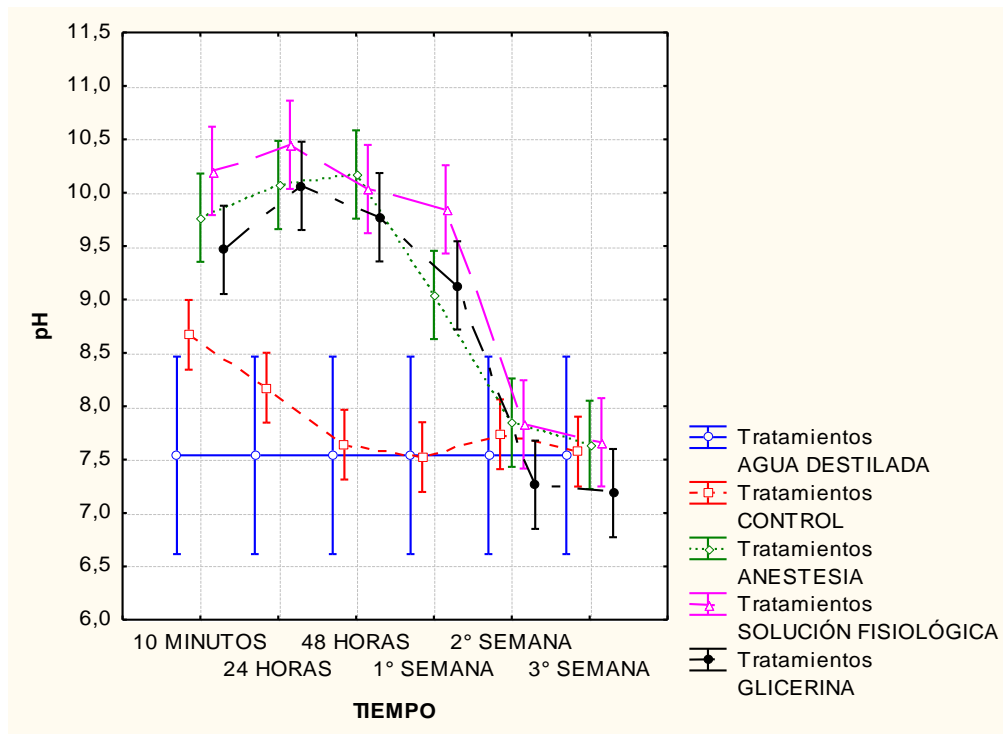


Figura 16: Gráfico comparativo de análisis de varianza ANOVA entre pH y diferente tiempo experimentales y los diferentes preparaciones

Comprobando estos resultados con el método de Kruskal - Wallis, encontramos que, los grupos experimentales se separan completamente de los grupos controles, encontrando semejanzas en cuanto a valores y desviación estándar, en los valores de pH entre la solución fisiológica (máximo valor por encima de 10,5 y mínimo valor por encima de 8), la anestesia (máximo valor por encima de 10 y mínimo valor de 8) y la glicerina (máximo valor de 10 y mínimo valor de 7,5).

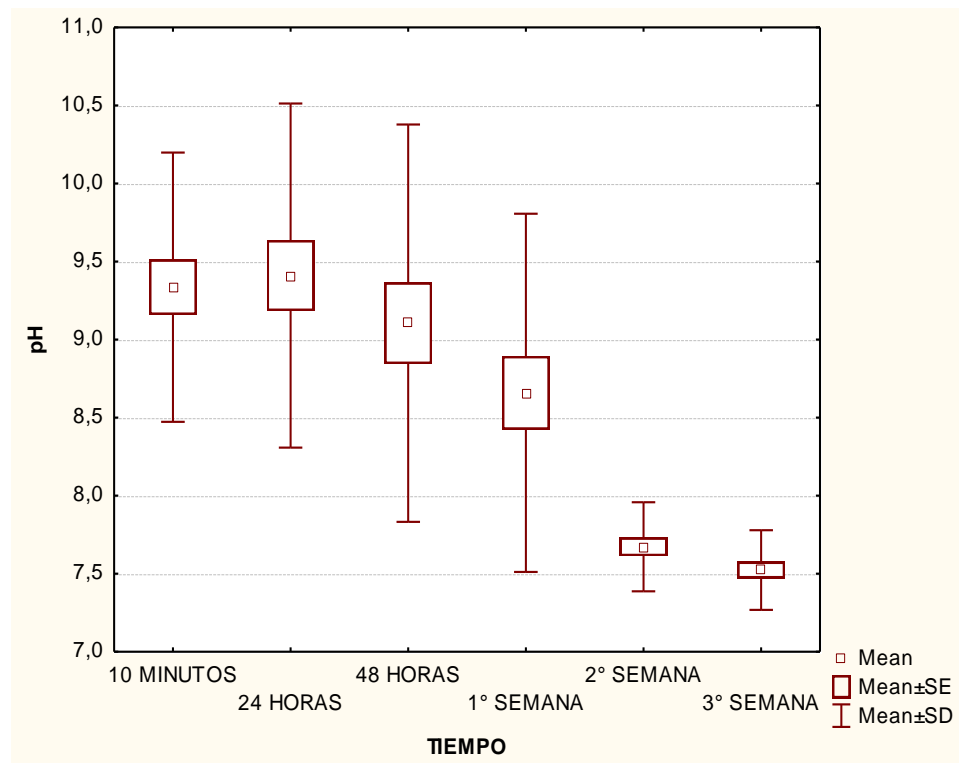


Figura 17: Gráfico del método de varianza Kruskal-Wallis: Correlación entre valores de pH y tiempo de medición

Cuando se relaciona los valores de pH con respecto al tiempo, se puede observar como todos los vehículos se comportaron de manera similar, alcanzando un valor máximo de pH a las 24 horas de aplicación, y continuando con valores elevados entre 10 y 8 en la primera semana de aplicación, para luego ir disminuyendo estos valores en las próximas semanas.

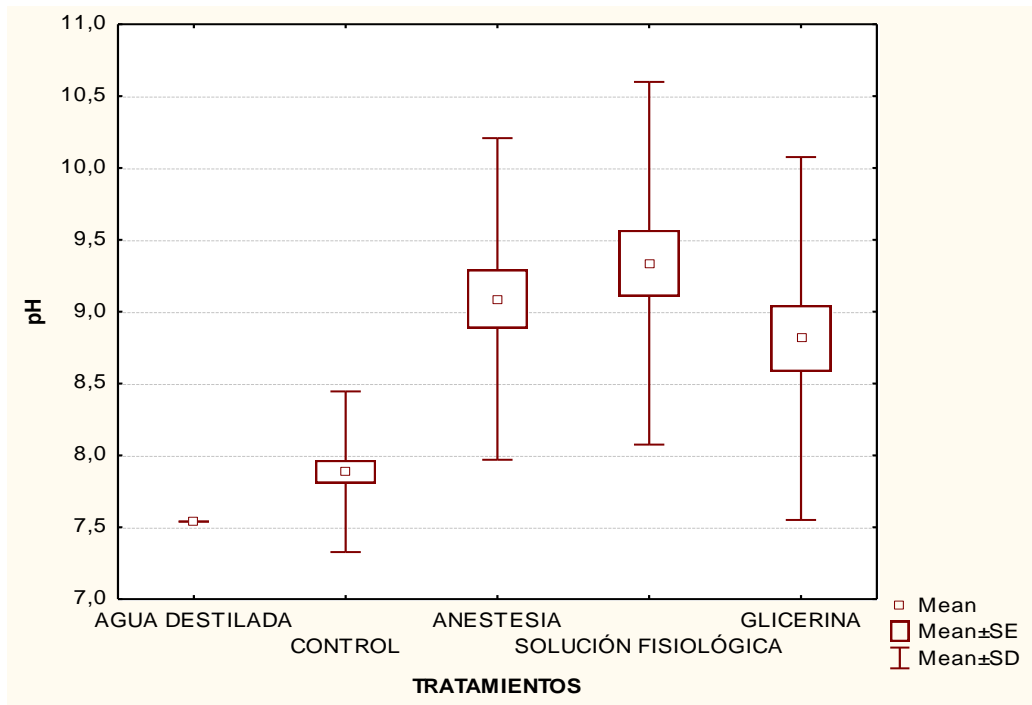


Figura 18: Gráfico del método de varianza Kruskal-Wallis: Correlación entre valores de pH y los tratamientos

Para la liberación del calcio iónico se consiguieron los siguientes resultados:

En cuanto a la media de liberación de calcio de los diferentes vehículos, se observa en el siguiente gráfico, separándose todos los vehículos utilizados de los controles, la liberación de calcio en la solución fisiológica y la anestesia se comporto de manera similar, encontrando valores de liberación entre 0,6 – 0,5 nM, siendo la glicerina el vehículo que mostró valores inferiores de liberación de calcio, comprendidos entre 0,3 y 0,2 nM.

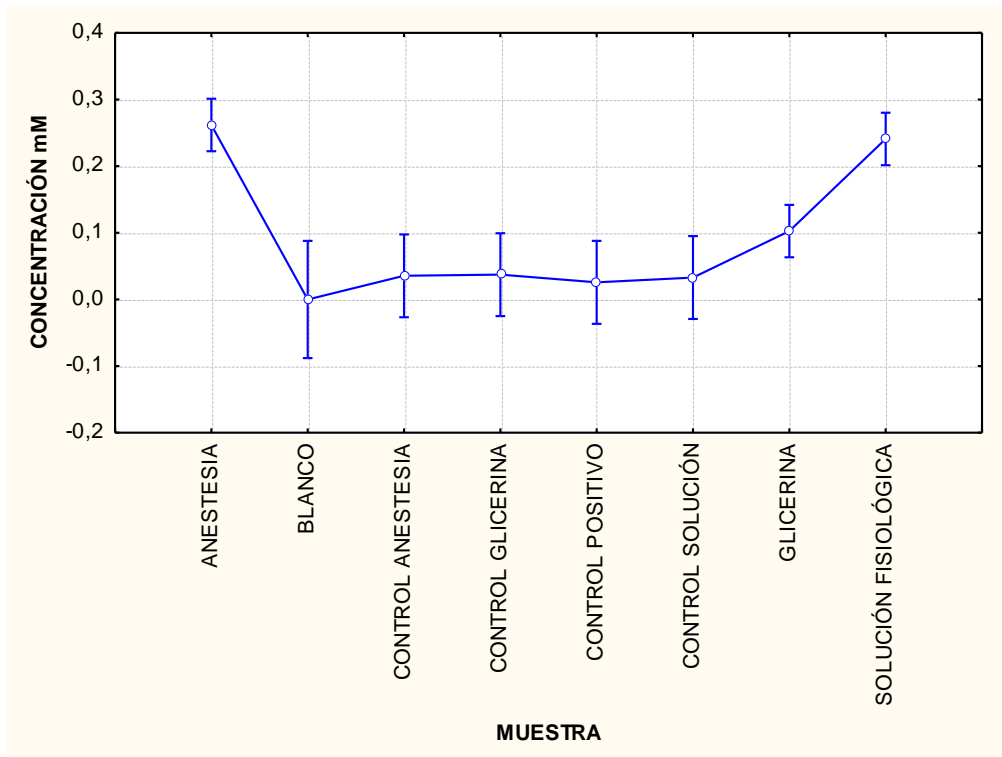


Figura 19: Gráfico del Análisis de Varianza ANOVA: Correlación entre las concentraciones de calcio iónico y los tratamientos

En cuanto a la liberación de calcio con respecto al tiempo de aplicación, se puede evidenciar en el siguiente gráfico, como todos los vehículos fueron incrementando progresivamente la liberación de calcio iónico, alcanzando un valor máximo entre 0,6-0,5 a la primera semana de aplicación del hidróxido de calcio, valor que se estabiliza en las próximas semanas.

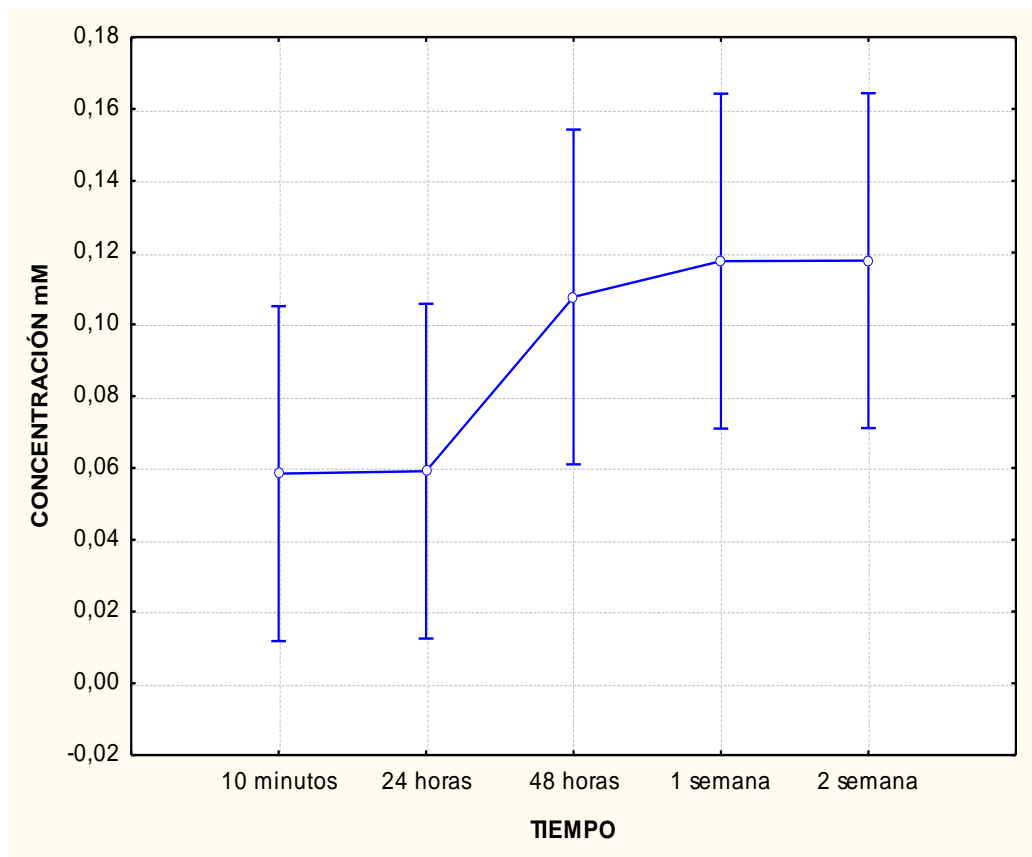


Figura 20: Gráfico de análisis de varianza ANOVA: Correlación entre las concentraciones de calcio iónico (mM) y tiempo de evaluación

En el siguiente gráfico, se comparan simultáneamente los diferentes vehículos y su desempeño en la liberación de calcio iónico en los diferentes periodos de tiempo, indicando la liberación progresiva de calcio iónico de todos los vehículos. Por otro lado, se observa similitud en el desempeño de la liberación de calcio iónico de la solución fisiológica y la anestesia, demostrando ser la anestesia un vehículo ligeramente más eficiente a la hora de liberar y mantener progresivamente los niveles de calcio. En cuanto a la glicerina como vehículo, demostró una liberación de calcio iónico inferior a los otros dos vehículos, en los primeros tiempos de aplicación del medicamento, teniendo una elevación de los valores de calcio a la primera semana de aplicación del medicamento.

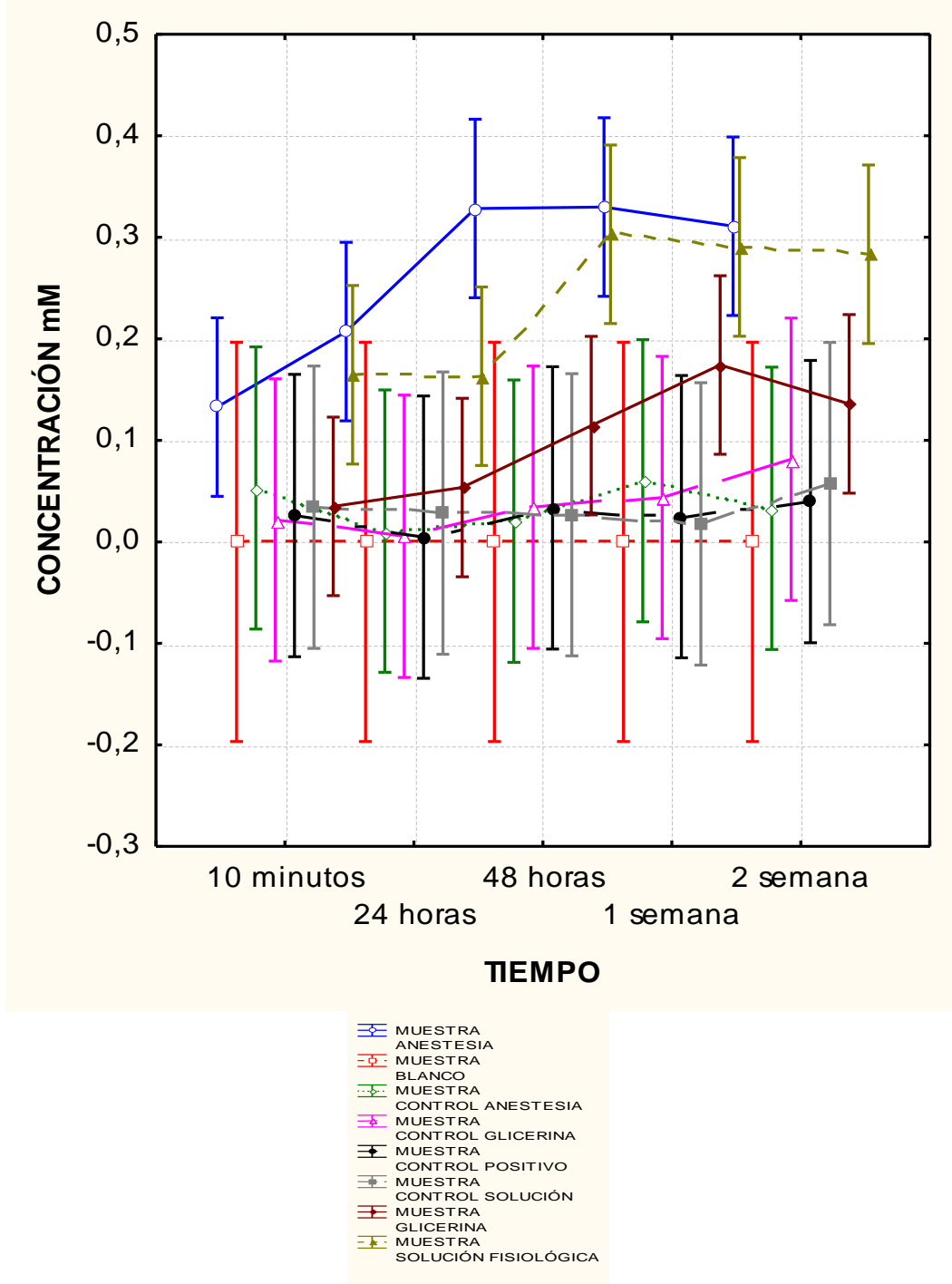


Figura 21: Gráfico de análisis de varianza ANOVA: Correlación entre los diferentes medicamentos con sus respectivas concentraciones de calcio iónico y los diferentes tiempos de medición.

Comprobando estos resultados con el método de Kruskal - Wallis, evidenciamos en el siguiente gráfico la similitud entre los valores de liberación de calcio iónico para la anestesia y la solución fisiológica, y como los valores de la glicerina se encuentran entre los valores del control y los valores de los otros vehículos.

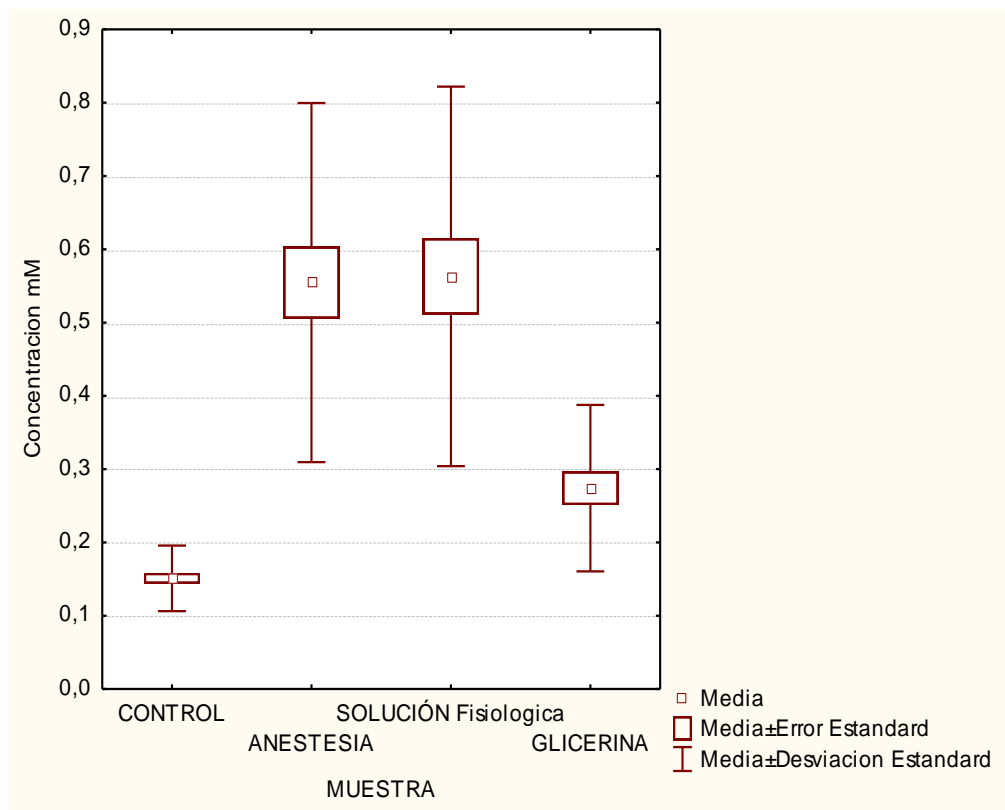


Figura 22: Gráfico de análisis de varianza no paramétrica Kruskal- Wallis: Comparación entre concentraciones de calcio iónico y los diferentes medicamentos.

En el próximo gráfico se comprueba, que la liberación de calcio iónico es progresiva en el tiempo para todos vehículos, alcanzando el valor máximo a la semana de aplicación del medicamento, con una concentración por encima de los 0,4nM.

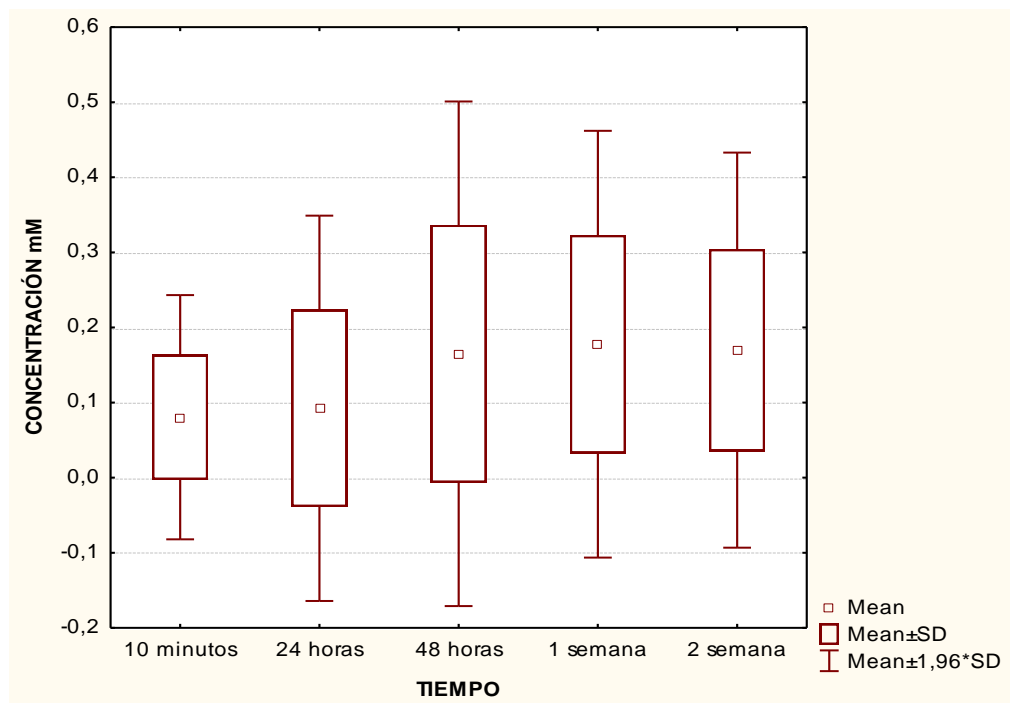


Figura 23: Gráfico de análisis de varianza no paramétrico Kruskal-Wallis: Correlación entre concentraciones de calcio iónico con los tiempos de las mediciones

Después de la segunda semana de haber aplicado el medicamento, se comenzó a notar en 9 de las 27 muestras, que el agua destilada se había vuelto turbia y al abrir los envases se observó la presencia de un precipitado blanquecino. (Glicerina 1, Glicerina 2, Glicerina 3, Glicerina 4, Glicerina 5, Anestesia 3, Solución fisiológica 1, Solución fisiológica 4 y Solución fisiológica 5)



Figura 24: Imagen de precipitado blanquesino en dos muestras

Se decidió tomar una muestra del agua destilada con una micropipeta Pipetman P10 (Marca Gilson), y colocarla en un caldo de cultivo para bacterias (Caldo de Soya Trypticasa) para observar si había presencia bacteriana, observando a las 24 horas que el resultado era positivo.

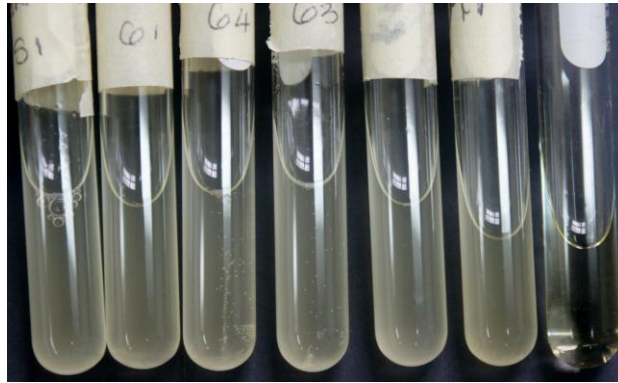


Figura 25: Imagen de los tubos de ensayo de los cultivos obtenidos de las muestras contaminadas, y de ultimo se puede observar el tubo de ensayo control, el cual esta totalmente transparente.

Debido al resultado positivo de crecimiento bacteriano de los cultivos, se procedió a realizar un frotis en una lámina portaobjeto y luego se fijo con calor.

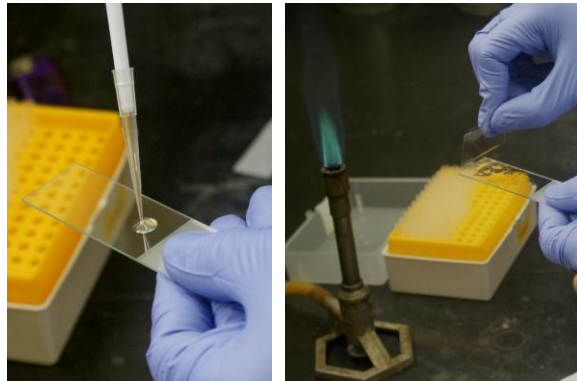


Figura 26 y 27: Imágenes de la colocación y frotis de los cultivos en las laminas portaobjetos



Figura 28: Imagen de los portaobjetos luego de su preparación

Posteriormente, se realizo una tinción de láminas del cultivo bacteriano con safranina, el cual es un colorante biológico de contraste que se utiliza en la Tinción de Gram, para proporcionar un color violeta más intenso a las bacterias Gram⁺ y tiñe de rosa a las bacterias G⁻, el cual se detalla a continuación:

Soluciones:

1) Falta solución de Hematoxilina de Hierro:

0,5 g de hematoxilina cristalina

10 ml de alcohol 96°.

90 ml de agua destilada

2) Acido Acético:

Acido acético glacial 1 mL

Agua 99 mL

3) Fast Green: Solución de Fast Green al 0,001 %

FCF 0,01 gr

Agua 100 mL

4) Safranina al 0,1 %:

Safranina 0,1 gr

Agua 100 mL

PROCEDIMIENTO:

1. Se tiñó con solución de Hematoxilina de hierro por 7 min
2. Se lavó con agua corriente por 10 min, colocando el agua sobre la lámina
3. Se tiñó con FCF por 3 min
4. Se enjuagó rápidamente con solución de ácido acético al 1%, 10 a 15 segundos
5. Se tiñó con solución de safranina al 1 % por 5 min
6. Se procedió a deshidratar y aclarar a través de alcohol etílico al 95 %, alcohol absoluto y xileno, 2 min cada cambio.
7. Se montó permanentemente con resina de montaje "Permoaunt" colocando el cubre objeto sobre la lamina.
8. Se dejó secar hasta el día siguiente
9. Se procedió a observar al microscopio.

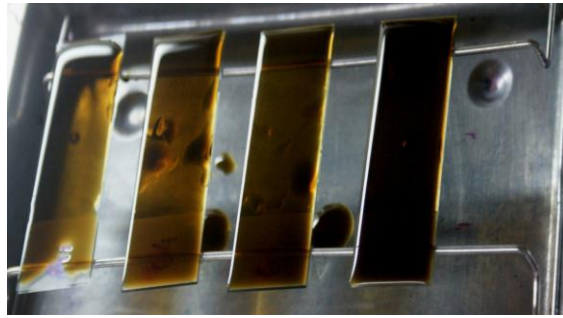


Figura 29: Imágenes de tinción de solución de Hematoxilina de Hierro de las muestras



Figura 30: Imagen de lavado de las muestras con agua corriente



Figura 31: Imagen de tinción con la coloración FCF de las muestras

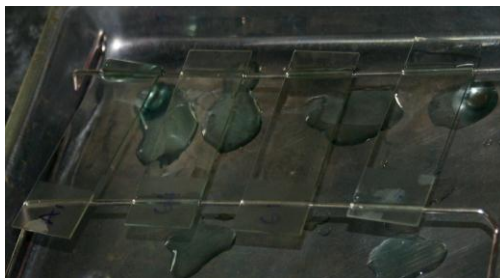


Figura: 32: Lavado con solución de ácido acético al 1% de las muestras

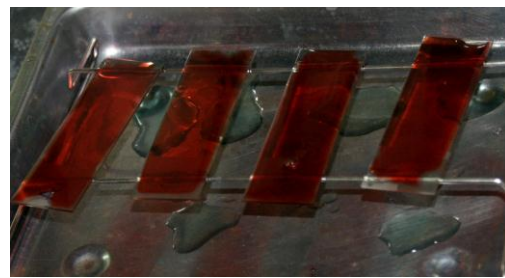
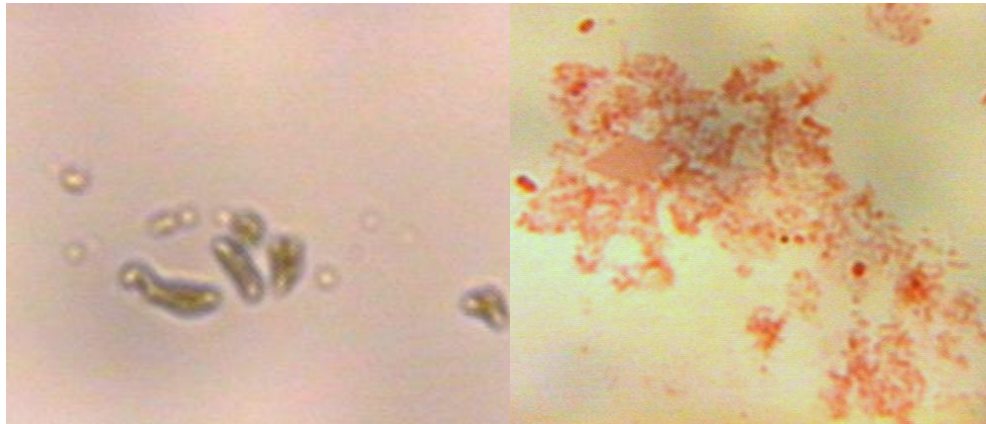
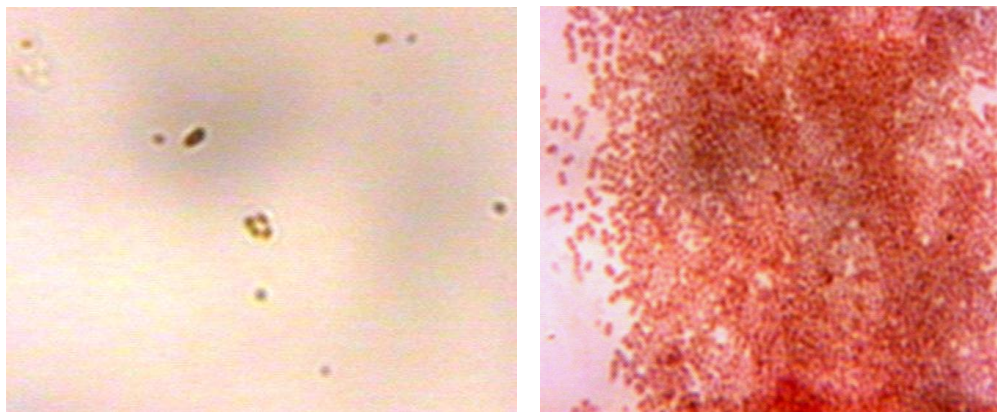


Figura 33: Imagen de tinción con la coloración solución de safranina al 1 %

Se procedió a examinar las muestras, utilizando microscopio compuesto y aceite de inmersión, encontrando que todas las muestras presentaban microorganismos en forma de cocos Gram negativos (Gram -).



Imágenes 34 y 35: Imágenes obtenidas de las muestras a través de microscopio compuesto y bajo aceite de inmersión



Imágenes 36 y 37: Imágenes obtenidas de las muestras a través de microscopio compuesto y bajo aceite de inmersión.

Capítulo 6 DISCUSIÓN

La dinámica química del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ en su disociación iónica le confiere su característica primordial. La activación de enzimas tisulares, tal como lo es la fosfatasa alcalina muestra un efecto mineralizante y su efecto inhibitor sobre las enzimas bacterianas, conlleva a su propiedad antimicrobiana, lo que demuestra las cualidades biológicas de los iones hidróxilos y calcio tanto en el tejido como sobre los microorganismos.^{7, 22}

En la búsqueda por explicar el mecanismo antimicrobiano del hidróxido de calcio, se observó que las enzimas en la membrana citoplasmática eran susceptibles a los cambios de pH, lo que puede conllevar a una inactivación, reversible o irreversible, de los microorganismos aerobios, anaerobios, Gram positivos y Gram negativos.^{7, 23}

Obviamente, el efecto antimicrobiano depende de la tasa en que se liberen los iones hidróxilo, su disponibilidad, el tiempo de contacto para su acción directa o indirecta, refiriéndose a la difusión de los iones hidróxilo a través de los túbulos dentinarios, para poder demostrar su efectividad real. Sin embargo, también es necesario considerar la microbiota presente en el conducto radicular infectado, la respuesta del huésped y el mecanismo de acción de la medicación.^{7, 23}

Por lo que, la medicación debe tener suficiente tiempo para lograr ser efectiva, tener la capacidad de actuar a distancia y de neutralizar los residuos de los agentes agresores. Para esto, diferentes sustancias (agua destilada, solución salina, propilenglicol, paramonoclorofenol, clorhexidina, glicerina, yodoformo, sulfato de bario, corticoesteroides-antibiótico, antibiótico, anestesia, metilcelulosa y detergente) han sido asociadas al Ca(OH)_2 para promover sus propiedades.²³

En el presente estudio, el objetivo principal fue evaluar y comparar el efecto de los diferentes vehículos sobre la difusión de los iones del Ca(OH)_2 en un periodo de 3 semanas, y su implicación clínica.

Se pudo observar que los tres compuestos a base de Ca(OH)_2 junto con los diferentes vehículos (Solución Fisiológica, Anestesia y Propilenglicol) alcanzaron concentraciones de pH elevadas, separándose de los controles, comprobando que los tres vehículos cumplen su función de promover la disociación y difusión de los iones hidróxilos del hidróxido de calcio.

Con respecto a la liberación de calcio iónico, se pudo evidenciar que los tres medicamentos a base de Ca(OH)_2 lograron una liberación constante y creciente en el tiempo de calcio iónico.

La combinación de vehículos acuosos junto al Ca(OH)_2 ha demostrado mejores resultados comparados con el paramonoclorofenol alcanforado. Holland y col estudiaron el proceso reparador de 60 raíces que presentaban lesiones periapicales utilizando Ca(OH)_2 en combinación con solución salina, paramonoclorofenol alcanforado, paramonoclorofenol canforado combinado con furacin y paramonoclorofenol canforado solo. Los mejores resultados estuvieron asociados cuando se combinaba el Ca(OH)_2 con la solución salina.²⁴

Recientemente, estudiando la viabilidad de colonias de *Cándida albicans* en infecciones endodónticas tratadas con Ca(OH)_2 , Weckwerth y col. demostraron la susceptibilidad de este hongo en 30 cepas de *C. albicans* cuando se saturaban con Ca(OH)_2 mezcladas con solución fisiológica, y se encontraba una total inhibición de las cepas después de 48 horas de incubación²²

Los vehículos acuosos promueven un alto nivel de solubilidad y un rápido consumo de la efectividad del medicamento, necesitando múltiples recambios para alcanzar el efecto deseado.⁶

En el presente estudio se obtuvo como resultado lo descrito en diferentes investigaciones con respecto a los cambios de pH de la solución fisiológica,

la cual alcanzó los niveles más elevados de pH, de aproximadamente 10.5, en comparación con la anestesia y la glicerina, que alcanzaron niveles máximos de 10.

En cuanto al tiempo de acción de los medicamentos, los tres se comportaron de manera similar, alcanzando un valor máximo de pH a las 24 - 48 horas y disminuyendo su valor progresivamente en los diferentes tiempos. Sin embargo, cuando se analiza en detenimiento cada vehículo, se puede comprobar que la solución fisiológica, comienza con altos valores de pH, logrando el mayor valor a las 24 horas, el cual mantiene entre 10 -10.5 hasta la primera semana de aplicación, valor que decrece rápidamente a partir de la segunda semana de aplicación.

Con respecto a la liberación de calcio iónico, la solución fisiológica y la anestesia fueron los vehículos que alcanzaron los mayores valores de liberación de calcio con respecto a la glicerina.

En el análisis de la liberación del calcio iónico en el tiempo, se pudo observar que todos los vehículos lograron una liberación constante y progresiva del ion calcio, sin embargo, la solución fisiológica alcanza su mayor valor de calcio iónico a las 24 horas de aplicación del medicamento, y luego este valor permanece constante a lo largo de los diferentes tiempos, lo

que significa que la solución fisiológica logra alcanzar un nivel máximo de liberación del calcio iónico en un corto periodo de tiempo y logra mantener este valor constante por 3 semanas de haberse aplicado el medicamento.

Yücel y colaboradores reportaron en el 2005 altos valores de pH cuando se realizaba la mezcla de Ca(OH)_2 con solución anestésica, alcanzando el más alto valor a las 24 horas. El autor concluye que la medicación intraconducto debe permanecer dentro del conducto radicular por lo menos, durante 7 días ²³

Blanscet y colaboradores proponen promover futuras investigaciones enfocándose en repetir el efecto de difusión del medicamento con diferentes concentraciones de Ca(OH)_2 y diferentes vehículos acuosos para probar eficacia clínica en periodos de desinfección entre 14 y 21 días. ¹³

Se evidencia en este estudio, lo descrito en diferentes investigaciones con respecto a los cambios de pH de la anestesia, la cual alcanzó el segundo lugar en cuanto al valor de pH (10.3), luego de la solución fisiológica.

En cuanto al tiempo de acción de los medicamentos, los tres se comportaron de manera similar, alcanzando un pico máximo de pH a las 24 - 48 horas y disminuyendo su valor progresivamente en los diferentes tiempos.

Sin embargo, al analizar con detenimiento cada vehículo, se puede comprobar que la anestesia comienza con valores elevados de pH entre 9,8 y 10,3, alcanzando su mayor valor a las 48 horas de aplicación, y luego el pH desciende un poco en la primera semana de aplicación, para luego descender bruscamente en las siguientes semanas.

Con respecto a la liberación de calcio iónico, la solución fisiológica y la anestesia fueron los vehículos que alcanzaron los mayores valores de liberación de calcio comparados con la glicerina.

En el análisis de la liberación del calcio iónico en el tiempo, se pudo observar que todos los vehículos lograron una liberación constante y progresiva del ion cálcico, sin embargo, la anestesia comienza con una liberación paulatina del ion calcio, hasta alcanzar su valor máximo a las 48 horas de aplicación superando en este valor a la solución fisiológica, para luego mantener este valor máximo por un periodo de 2 semanas extra, lo que significa que la anestesia tiene una liberación del calcio iónico mayor y mas progresiva que la de la solución fisiológica, también logra alcanzar niveles máximos de liberación de calcio iónico en un corto periodo de tiempo, logrando mantener este alto valor por el tiempo del estudio.

La glicerina como vehículo para la medicación con Ca(OH)_2 ha sido ampliamente estudiada, algunos autores han demostrado que favorece la liberación de los iones calcio e hidróxilo cuando se compara con otros vehículos como lo es el agua destilada. También se ha reportado que la glicerina cuando se tiñe con tinta, es capaz de penetrar a través de los túbulos dentinarios en el sistema de conductos radiculares de manera rápida y más efectivamente que el agua destilada, confirmando su potencial como vehículo para la medicación intraconducto.²⁵

Los vehículos viscosos promueven una lenta solubilidad del medicamento, prolongando los intervalos de recambio del medicamento. El alto peso molecular de estos vehículos, tales como la glicerina y el propilenglicol pudiera minimizar la dispersión del Ca(OH)_2 en el tejido, manteniendo el medicamento en el área deseada por un mayor tiempo (entre 2 a 4 meses). Sin embargo, estudios recientes, tal como lo es el trabajo de El Karim y colaboradores en el 2007, han demostrado que aquellas pastas mezcladas con glicerina o propilenglicol necesitaban más tiempo para eliminar microorganismos que otras pastas, confirmando el trabajo de Safavi y Nakayama, quienes reportaron que altas concentraciones de glicerina y propilenglicol utilizados como vehículos pudieran disminuir la efectividad del Ca(OH)_2 , disminuyendo la liberación de los iones hidroxilos.^{6, 23}

En cuanto a la glicerina, difiere de algunos estudios en cuanto a los altos valores de pH alcanzados por este vehículo, dado que, fue el medicamento que comenzó con el menor nivel de pH de 9,5, al compararlo con los valores alcanzados por la solución fisiológica y la anestesia.

Sin embargo, en cuanto al tiempo de acción de los medicamentos, la glicerina se comportó de manera similar a la solución fisiológica y difiriendo de la anestesia, dado que, aunque fue la que comenzó con el nivel más bajo de pH, pudo alcanzar su mayor nivel a las 24 horas como lo hizo la solución fisiológica, y sus valores fueron descendiendo progresivamente, valores que luego descendieron bruscamente luego de la primera semana de aplicación, alcanzando niveles de pH muy parecidos a los controles.

Con respecto a la liberación de calcio iónico, la glicerina es la que mayor difiere de los otros vehículos, dado que sus valores se encuentran en un intermedio entre la solución fisiológica y la anestesia y los controles.

En el análisis de la liberación del calcio iónico en el tiempo, se pudo observar que todos los vehículos lograron una liberación constante y progresiva del ion cálcico, sin embargo, la glicerina comienza con niveles inferiores de calcio iónico en relación a los otros vehículos, pero esta liberación va en aumento progresivo y constante, hasta alcanzar su valor

máximo a la primera semana de aplicación del medicamento, y logra mantener este valor durante la segunda semana.

Se debe mencionar que algunos estudios tales como los de Pacios y col. (2004) y Yücel y col. (2007) reportan valores de pH entre 11 y 12, valores que son más elevados que los que se encontraron en el presente estudio. Esto se puede explicar a través del hecho, que dichos estudios se realizaban las mediciones de pH directamente sobre el medicamento a estudiar, o en el agua destilada cuando se colocaba el medicamento directamente.^{23, 31.}

En el presente trabajo, las diferentes combinaciones de medicamentos fueron colocadas en conductos de raíces de premolares humanos con diámetros de forámenes apicales de 30 μm (equivalente a una lima K N° 30), y el sellado coronal fue realizado antes de sumergirlas en el agua destilada desionizada. Esto permitió una disolución más lenta del medicamento en el agua destilada donde se encontraba el diente sumergido, haciendo un intento de simular la situación clínica.

Con respecto a la colonización bacteriana a partir de la segunda semana de aplicación del hidróxido de calcio, se pudiera direccionar el análisis y asumir ciertas hipótesis.

Luego de confirmar que existía un crecimiento bacteriano, se decidió realizar la tinción con el método Gram, resultando en la presencia de bacterias aerobias Gram negativas.

Se pudiera presumir, que estas bacterias pudieran pertenecer a bacterias facultativas, reportadas en el sistema de conductos radiculares, tal como describe Nair (1997), dentro de la categoría de Facultativos, Aerotolerantes y Microaerófilos tal como bacilos Gram negativos: *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Campylobacter* y Cocos Gram negativos tal como la *Neisseria*.³⁸

En el 2006, Chu y colaboradores estudian los microorganismos presentes luego de dos (2) visitas clínicas colocando diferentes medicaciones intraconducto, dentro de las cuales se encontraba el hidróxido de calcio, encontrando especies cultivables anaerobias facultativas tales como *Capnocytophaga spp.* y la *Eikenella corrodens*, en todos los medicamentos utilizados.⁴⁰

Se debe acotar que las propiedades del hidróxido de calcio vienen dadas por la disociación en los iones tanto de calcio como hidróxilos, y su acción sobre las bacterias. Cuando existe la presencia de dióxido de carbono, el hidróxido de calcio se convierte en carbonato cálcico, y este último producto

no posee las propiedades biológicas del hidróxido de calcio, causando una neutralización parcial del medicamento.⁷

Capítulo 7 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. El Ca(OH)_2 es el medicamento intraconducto mayormente utilizado y con alto índice de efectividad.
2. El vehículo a utilizar presenta una gran importancia, ayudando a lograr mejores niveles de efectividad del Ca(OH)_2 .
3. Todos los vehículos alcanzaron altos niveles de pH, siendo la solución fisiológica el más efectivo.
4. Todos los vehículos lograron altos niveles de liberación de iones calcio, siendo la anestesia el vehículo más efectivo.
5. El periodo de tiempo ideal para que el Ca(OH)_2 permanezca dentro del conducto radicular y logre alcanzar sus mayores niveles de efectividad es entre 7 a 10 días, por lo que se recomienda hacer los recambios de la medicación luego de este periodo de tiempo.
6. Se recomiendan realizar futuros estudios, dado que por ser un estudio *in vitro* e intenta simular los procesos biológicos, no se logra conocer el efecto real de como funciona el medicamento *in vivo*.
7. Se recomienda identificar específicamente las bacterias presentes en futuros estudio.

Capítulo 8 REFERENCIAS BIBLIOGRAFÍA

1. Hungaro Duarte, MA, Zanin Midena, R, Zeferino, M, Ricci Vivan, R, Weckwerth, P, Dos Santos, F, Guerreiro-Tanomaru, J, Tanomaru-Filho, M. pH and Calcium Ion Release of Calcium Hydroxide Pastes Containing Different Substances. *Journal of Endodontics* 2009, Vol. 35 (9): 1274-1277
2. Chongkiat Sukawat, Thanapen Srisuwan. A Comparison of the Antimicrobial Efficacy of Three Calcium Hydroxide Formulations on Human Dentin Infected with *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics* 2002. Vol. 28 (2): 102-104
3. Nerwich, A, Figdor, D, Messer, H. pH Changes in Root Dentin over a 4- Week Period following Root Canal Dressing with Calcium Hydroxide. *Journal of Endodontics* 1993, Vol. 19 (6)
4. Nidambur Vasudev Ballal, Gopal Venktesh Shavi, Ranjith Kumar, Mala Kundabala, Kadengodlu Seetharama Bhat. *In Vitro* Sustained Release of Calcium Ions and pH Maintenance from Different Vehicles Containing Calcium Hydroxide. *Journal of Endodontics* 2010, Vol. 3 (5)
5. Estrella, C. *Ciencia Endodóntica*. Editorial Artes Médicas Latinoamerica. 1° Edición. 2005. Capítulo 12: 457-538

6. El Karim, I, Kennedy, J, Hussey, D. The antimicrobial effect of root canal irrigation and medication. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*. 2007. Vol. 103 (4):560-569
7. Estrella, C, Holland, R. Calcium hydroxide: study base on scientific evidences. *Journal of Applied Oral Science*. 2003; 11 (4): 269-82
8. Takashi Komabayashi, Rena N. D'souza, Paul C. Dechow, Kamran E. Safavi. Particle Size and Shape of Calcium Hydroxide. *Journal of Endodontics* 2009. Vol. 35 (2): 284-287
9. Gordon, T, Ranly, D, Boyan, B. The effects of calcium hydroxide on bovine pulp tissue: Variations in pH and calcium concentration. *Journal of Endodontics* 1985. 11 (4):156 – 160
10. Trostad L, Andreasen, J, Hasselgren, G, Kisterson, L, Riis, I. pH changes in dentinal tissue after root canal filling with calcium hydroxide. *Journal of Endodontics* 1980, 7: 17-21
11. Semra Çalt, Ahmet Serper, Bahar Özçelik, M. Dilek Dalat. pH changes and calcium ion diffusion from calcium hydroxide dressing materials through root dentin. *Journal of Endodontics* 1999. Vol. 25 (5): 329-331
12. Robert, G, Liewehr, F, Buxton, T, Mcpherson, J. Apical diffusion of calcium hydroxide in an in vitro model. *Journal of Endodontics* 2005, 31 (1): 57 – 61

13. Blanscet, M, Tordik, P, Goodell, G. An agar diffusion comparison of the Antimicrobial Effect of Calcium hydroxide at five different concentrations with three different vehicles. *Journal of Endodontics* 2008; Vol. 34: 1246–1248
14. Stuart C, Schwartz S, Beeson T, Owatz C. *Enterococcus faecalis*: It's Role in Root Canal Treatment Failure and Current Concepts in Retreatment. *Journal of Endodontics* 2006;32:93–98
15. Rocas I, Siqueira J, Santos K. Association of *Enterococcus faecalis* With Different Forms of Periradicular Diseases. *Journal of Endodontics* 2004; 5:315-320
16. Baik, Je, Jang, K-S, Kang, S-S, Yun, C-H, Lee, K, Kim, Bg, Kum, K-Y, Han, Sh. Calcium Hydroxide Inactivates Lipoteichoic Acid from *Enterococcus faecalis* through Deacylation of the Lipid Moiety. *Journal of Endodontics* 2011, 37 (2): 191-196
17. Sjörgen, U, Fidgor D, Spångberg, L, Sundqvist, G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as short-term intracanal dressing. *International Journal of Endodontics* 1991, 24: 119-125
18. Anthony, D, Gordon, T, Del Rio, C. Effects of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 1982; 54:560–5.

19. Camoes I, Salles M, Chevitaese O. Influence on pH of vehicle containing glycerin used with calcium hydroxide. *Dental Traumatology* 2003;19:132–8.
20. Connerty H, Briggs A. Determination of serum calcium by means of orthocresolphthalein complexone. *American Journal of Clinical Pathology*. 1966;45(3):290-6
21. Cortés, C., Mejía, J., Escárate, J., Guevara, L., V. Salas. 2008. *Adaptación del método colorimétrico basado en orto-cresolftaleína complexona para la determinación de la concentración de calcio en saliva total humana*. (2008). LVIII Convención Anual de ASOVAC, San Felipe, Edo. Yaracuy. Venezuela
22. Weckwerth, P, Carnietto, C, Weckwerth, A, Duarte, M, Kuga, M, Vivian, R. *In vitro* Susceptibility of Oral *Candida albicans* Strains to Different pH Levels and Calcium Hydroxide Saturated Aqueous Solution. *Brazilian Dental Journal* 2012; 23 (3): 192-198
23. Yücel, Aç, Aksoy, A, Ertas, E, Güvenç, D. The pH changes of calcium hydroxide mixed with six different vehicles. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 2007; 103: 712-7
24. Holland, R, Cruz, A, Nery, M, Souza, V, Otoboni-Filho, J, Bernabé, P. Efecto de los medicamentos colocados en el interior del conducto, hidrosoluble y no hidrosolubles en el proceso de reparación de dientes de perro con lesión periapical. *Endodoncia* 1999; 17: 90-100

25. Cruz, Ev, Kota, K, Huque, J, Iwaku, M, Hoshino, E. Penetration of propyleneglicol into dentine. *International Endodontic Journal* 2002; 35: 330-6
26. Safavi, K, Nakayama, T. Influence of mixing vehicles on dissociation of calcium hydroxide in solution. *Journal of Endodontics* 2000; 26: 649-51
27. Coelho Gomes, I, Roedel Salles, M, Chevitarese, O. Ca^{2+} Diffusion Through Dentin of $\text{Ca}(\text{OH})_2$ Associated with Seven Different Vehicles. *Journal of Endodontics* 2003; 29 (12): 822-825
28. Siqueira, JF, Lopes, HP. Mechanism of antimicrobial activity of calcium hydroxide: a critical review. *International Endodontic Journal*, 1999; 32: 361-369.
29. Hauman, C, Love, RM. Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy; a review. Part 1. Intracanal drugs and substances. *International Endodontic Journal* 2003; 36: 75-85.
30. Hungaro Duarte, MA, Balan, N, Zeferino, M, Ricci Vivan, R, Morais, C, Ordinola-Zapata, R, Moraes, I, Tanomaru-Filho, M. Effect of Ultrasonic Activation on pH and Calcium Released by Calcium Hydroxide Pastes in Simulated External Root Resorption. *Journal of Endodontics* 2012: 1-4.
31. Pacios, MG, De La Casa, MI, Bulacio M De Los A, Lopez, ME. Influence of different vehicles on the pH of calcium hydroxide pastes. *Journal of Oral Science* 2004; 46: 107-11

32. Camargo, C, Bernardineli, N, Valera, M. Vehicles influence on calcium hydroxide pastes diffusion in human and bovine teeth. *Dental Traumatology* 2006; 22:302-6
33. Haenu, S, Schmidlin, P, Mueller, B, Sener, B, Zehnder, M. Chemical and antimicrobial properties of calcium hydroxide mixed with irrigant solution. *International Endodontics Journal* 2003; 36: 100-5
34. Duarte, M, Martins, C, Demarchi, A, Godoy, L, Kuga, M, Yamashita, J. Calcium and hydroxide release from different pulp-capping material. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 2007; 104: e66-9
35. Narita, H, Itoh, S, Imazato, S, Yoshitake, F, Ebisu, S. An explanation of the mineralization mechanism in osteoblast induced by calcium hydroxide. *Acta Biomaterialia* 2010; 6: 586-90
36. Pavaskar, R, De Noronha, I, Chalakkal, P, Pinto, M, Sabrin Fernandes, K, Keny, R, Kamath, A. An *In Vitro* Study Comparing the Intracanal Effectiveness of Calcium Hydroxide - and Linezolid – based Medicaments against *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics* 2012; 38: 95-100.
37. Delgado, R, Hasparoto, T, Sipert, C, Pinheiro, C. Moraes, I, Garcia, R, Bramante, C, Campanelli, A, Bernardineli, N. Antimicrobial Effects of Calcium Hydroxide and Chlorhexidine on *Enterococcus faecalis*. *Journal of Endodontics* 2010; 36: 1389-1393

38. Sathorn, C, Parashos, P, Messer, H. Australian endodontists' perceptions of single and multiple visit root canal treatment. *International Endodontics Journal* 2009; 42: 811-8
39. Nair, P. Apical periodontitis: a dynamic encounter between root canal infection and host response. *Periodontology* 2000 1997; 13: 121-148
40. Chu, F, Leung, K, Tsang, P, Chow, T, Samaranayake, L. Identification of Cultivable Microorganisms from Root Canal Therapy with Apical Periodontitis Following Two-Visit Endodontic Treatment with Antibiotic/Steroid or Calcium Hydroxide Dressing. *Journal of Endodontics* 2006; 32 (1): 17- 23.
41. Simon, ST, Bhat, KS, Francis, R. Effect of four vehicles on the pH of calcium hydroxide and the release of calcium ion. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology* 1995; 80: 459 - 64

Capítulo 9 ANEXOS

**CONSENTIMIENTO INFORMADO SOBRE LA PARTICIÓN EN UNA INVESTIGACIÓN
BIOMEDICA EN SERES HUMANOS EN EL POSTGRADO DE ENDODONCIA DE LA FACULTAD
DE ODONTOLOGÍA DE LA UCV**

Yo, _____, de _____ edad, identificado con la cedula de identidad N° _____, domiciliado(a) en _____ como representante legal o familiar de _____, declaro lo siguiente:

He sido informado(a) por parte de el/la Odontólogo _____ (estudiante del Postgrado de Cirugía Bucal de dicha institución) que la atención brindada en esta institución es de tipo docente-asistencial, caracterizada por la atención odontológica a cargo de odontólogos bajo la supervisión clínica de docentes-especialistas.

Me han explicado en forma clara y suficiente, el diagnóstico, la naturaleza de la enfermedad que padezco o padece mi representado y su evolución natural, objetivos del tratamiento propuesto, así como las alternativas de tratamiento (sobre lo cual pude participar), descripción de las consecuencias derivadas del tratamiento o intervención, beneficios, riesgos comunes del tratamiento (posibles complicaciones que se pueden desencadenar durante o después del mismo), riesgos personalizados (por presentar problemas de salud general que incidan sobre el tratamiento) por lo que debo acudir al centro sanitario y buscar al médico tratante en el caso de desencadenarse algún riesgo, adicionalmente debo presentar el informe médico correspondiente para anexarlo a la historia clínica y seré informado(a) en cada momento y a mi requerimiento de la evolución del proceso.

Me han explicado en forma clara y suficiente, sobre la participación en una investigación realizada por la Odontólogo Faride Szemat del Postgrado de Endodoncia de dicha institución, en la que se recolectarán premolares monoradiculares extraídos por razones ortodónticas o periodontales, la cual no afectará el protocolo de tratamiento indicado. Esta investigación evaluará la difusión de los iones calcio y la variación del pH de medicación intraconducto con hidróxido de calcio Ca(OH)_2 junto a diferentes vehículos en conductos radiculares de dientes humanos extraídos. Los resultados obtenidos en la investigación demostrarán cual es el mejor vehiculo de difusión de los iones calcio de dicho medicamento es eficiente y aportará información que podrá ser tomada en cuenta por especialistas y odontólogos generales que se dediquen al área de Endodoncia, para ayudar a establecer la selección de una apropiada medicación intraconducto.

Acepto participar en la investigación y estoy dispuesto(a) a donar mis dientes para que sean extraídos por razones ortodónticas o periodontales, a la realización de las radiografías, fotografías, y otros medios diagnósticos que sean necesarios para documentar la investigación; garantizándome la confidencialidad, el resguardo de mi identidad o la de mi representado y la utilización de dichos record sólo con fines académicos e investigativos.

Diagnóstico(s)

–

Tratamiento(s) _____ por
realizar _____

Tratamientos _____ alternativos

Riesgos _____ y _____ complicaciones _____ inherentes _____ al
tratamiento _____

Beneficio _____ esperado _____ con _____ el _____ tratamiento _____ por
realizar _____

Riesgos _____ y _____ complicaciones _____ en _____ caso _____ de _____ no _____ efectuarse _____ el
tratamiento _____

He recibido la información necesaria de forma satisfactoria con respecto al plan de tratamiento y mis dudas han sido totalmente aclaradas, por lo tanto autorizo al odontólogo _____ a extraer los siguientes dientes _____. Comprendo los riesgos que implica la extracción de los dientes, entre los cuales tenemos dolor, tumefacción, propagación de la infección, alveolos secos, senos descubiertos, pérdida de sensibilidad en los dientes, labios, lengua y tejidos circundantes (parestesia) que puede durar por un período de tiempo indefinido. Entiendo que pudiera necesitar tratamiento adicional de un especialista u hospitalización si surgieran complicaciones durante o después del tratamiento y que yo seré responsable del costo.

Comprendo que la odontología no es una ciencia exacta y por tanto la garantía de los resultados está sujeta a múltiples factores. Confío en el buen juicio y las decisiones del profesional durante el tratamiento, buscando siempre el mayor beneficio, razón por la cual si surgiese cualquier situación inesperada durante el tratamiento, autorizo al operador a realizar el procedimiento o maniobra que estime oportuna para la resolución de dicha situación.

Se me ha explicado que se me darán las indicaciones postoperatorias o de medicación ambulatoria, según sea el caso, las cuales me comprometo a cumplir, así como a acudir a las citas y controles cuando el odontólogo así me lo indique, mantener una higiene adecuada y cumplir con las instrucciones dadas. Estoy al tanto y asumo la cancelación de las tarifas de la Institución; los costos están sujetos a posibles cambios sin previo aviso, pero notificado oportunamente.

Me siento libre, sin coacción ni manipulación, para decidir de acuerdo con mis valores e intereses y me declaro competente para tomar las decisiones que correspondan. En tal sentido DOY MI CONSENTIMIENTO AL FACULTATIVO A REALIZAR EL TRATAMIENTO PERTINENTE _____ o NO CONSIENTO _____, con el buen entendido que puedo retirar este consentimiento por escrito cuando así lo desee, sin represalia, ni penalidad alguna.

Nombre del paciente: _____ Edad: _____

En caso de ser menor de edad:

Nombre del representante legal: _____ CI: _____

Parentesco: _____ Firma: _____

Nombre del profesional: _____ Firma: _____

Nombre de testigo: _____ Firma: _____

Nombre de testigo: _____ Firma: _____

Caracas, _____ de _____ de _____.

**TABLA I: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL
Ca(OH)₂ REALIZADAS A LOS 10 MINUTOS**

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
CONTROL POSITIVO 1	0,009	0,080	8,02655E-08	0,0401
CONTROL POSITIVO 2	0,003	0,024	2,36075E-08	0,0118
CONTROL ANESTESIA 1	0,005	0,047	4,7215E-08	0,0236
CONTROL ANESTESIA 2	0,018	0,165	1,65253E-07	0,0826
ANESTESIA 1	0,014	0,135	1,3535E-07	0,068
ANESTESIA 2	0,037	0,346	3,46243E-07	0,173
ANESTESIA 3	0,035	0,334	3,33653E-07	0,167
ANESTESIA 4	0,044	0,415	4,15492E-07	0,208
ANESTESIA 5	0,010	0,098	9,75777E-08	0,049
CONTROL SOLUCIÓN 1	0,008	0,071	7,08225E-08	0,035
CONTROL SOLUCIÓN 2	0,007	0,066	6,6101E-08	0,033
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 1	0,076	0,715	7,1452E-07	0,357
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 2	0,038	0,354	3,54113E-07	0,177
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 3	0,020	0,186	1,85712E-07	0,093

TABLA I: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL Ca(OH)_2 REALIZADAS A LOS 10 MINUTOS (CONTINUACIÓN)

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 4	0,024	0,227	2,26632E-07	0,113
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 5	0,018	0,165	1,65253E-07	0,083
CONTROL GLICERINA 1	0,005	0,044	4,40673E-08	0,022
CONTROL GLICERINA 2	0,005	0,042	4,24935E-08	0,021
GLICERINA 1	0,009	0,080	8,02655E-08	0,040
GLICERINA 2	0,007	0,066	6,6101E-08	0,033
GLICERINA 3	0,007	0,061	6,13795E-08	0,031
GLICERINA 4	0,008	0,079	7,86917E-08	0,039345833
GLICERINA 5	0,007	0,063	6,29533E-08	0,031476667
BLANCO	0	0	0	0

**TABLA II: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL
Ca(OH)₂ REALIZADAS A LAS 24 HORAS**

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
CONTROL POSITIVO 1	0	0	0	0
CONTROL POSITIVO 2	0,002	0,018886	1,8886E-08	0,009
CONTROL ANESTESIA 1	0,003	0,0330505	3,30505E-08	0,017
CONTROL ANESTESIA 2	0,001	0,009443	9,443E-09	0,005
ANESTESIA 1	0,016	0,1463665	1,46367E-07	0,073
ANESTESIA 2	0,065	0,613795	6,13795E-07	0,307
ANESTESIA 3	0,034	0,3163405	3,16341E-07	0,158
ANESTESIA 4	0,082	0,771178333	7,71178E-07	0,386
ANESTESIA 5	0,024	0,223484333	2,23484E-07	0,112
CONTROL SOLUCIÓN 1	0,012	0,113316	1,13316E-07	0,057
CONTROL SOLUCIÓN 2	0,00	0	0	0,000
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 1	0,114	1,0717805	1,21647E-07	0,061
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 2	0,037	0,349391	1,29275E-08	0,006
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 3	0,014	0,135349667	1,3535E-07	0,068

**TABLA II: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL
Ca(OH)₂ REALIZADAS A LAS 24 HORAS (CONTINUACIÓN)**

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 4	0,106	0,997810333	9,9781E-07	0,499
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 5	0,039	0,3635555	3,63556E-07	0,182
CONTROL GLICERINA 1	0,002	0,022033667	2,20337E-08	0,011
CONTROL GLICERINA 2	0,00	0	0	0,000
GLICERINA 1	0,002	0,018886	1,8886E-08	0,009
GLICERINA 2	0,02	0,18886	1,8886E-07	0,094
GLICERINA 3	0,013	0,122759	1,22759E-07	0,061
GLICERINA 4	0,016	0,151088	1,51088E-07	0,076
GLICERINA 5	0,006	0,053510333	5,35103E-08	0,027
BLANCO	0	0	0	0,000

TABLA III: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL $\text{Ca}(\text{OH})_2$ REALIZADAS A LAS 48 HORAS

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
CONTROL POSITIVO 1	0,006	0,055083381	5,50834E-08	0,028
CONTROL POSITIVO 2	0,008	0,078690557	7,86906E-08	0,039
CONTROL ANESTESIA 1	0,005	0,04564051	4,56405E-08	0,023
CONTROL ANESTESIA 2	0,004	0,036197639	3,61976E-08	0,018
ANESTESIA 1	0,029	0,27699084	2,76991E-07	0,138
ANESTESIA 2	0,098	0,928548914	9,28549E-07	0,464
ANESTESIA 3	0,048	0,450110135	4,5011E-07	0,225
ANESTESIA 4	0,117	1,103242021	1,10324E-06	0,552
ANESTESIA 5	0,056	0,5256531	5,25653E-07	0,263
CONTROL SOLUCIÓN 1	0,004	0,040919075	4,09191E-08	0,020
CONTROL SOLUCIÓN 2	0,007	0,066100063	6,61001E-08	0,033
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 1	0,114	1,074913409	1,07491E-06	0,537
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 2	0,065	0,610638936	6,10639E-07	0,305
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 3	0,013	0,12590491	1,25905E-07	0,063

TABLA III: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL $\text{Ca}(\text{OH})_2$ REALIZADAS A LAS 48 HORAS (CONTINUACIÓN)

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 4	0,084	0,79162729	7,91627E-07	0,396
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 5	0,045	0,428076771	4,28077E-07	0,214
CONTROL GLICERINA 1	0,006	0,053509569	5,35096E-08	0,027
CONTROL GLICERINA 2	0,009	0,083411992	8,3412E-08	0,042
GLICERINA 1	0,013	0,122757287	1,22757E-07	0,061
GLICERINA 2	0,038	0,357255241	3,57255E-07	0,179
GLICERINA 3	0,031	0,295876582	2,95877E-07	0,148
GLICERINA 4	0,021	0,201447875	2,01448E-07	0,101
GLICERINA 5	0,018	0,168397828	1,68398E-07	0,084
BLANCO	0	0	0	0

**TABLA IV: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL
Ca(OH)₂ REALIZADAS A LA 1° SEMANA**

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
CONTROL POSITIVO 1	0,008	0,07082153	7,08215E-08	0,035
CONTROL POSITIVO 2	0,003	0,028328612	2,83286E-08	0,014
CONTROL ANESTESIA 1	0,009	0,084985836	8,49858E-08	0,042
CONTROL ANESTESIA 2	0,017	0,155807365	1,55807E-07	0,078
ANESTESIA 1	0,044	0,410764873	4,10765E-07	0,205
ANESTESIA 2	0,069	0,64841045	6,4841E-07	0,324
ANESTESIA 3	0,066	0,623229462	6,23229E-07	0,312
ANESTESIA 4	0,072	0,676739062	6,76739E-07	0,338
ANESTESIA 5	0,100	0,939565628	9,39566E-07	0,470
CONTROL SOLUCIÓN 1	0,007	0,061378659	6,13787E-08	0,031
CONTROL SOLUCIÓN 2	0,001	0,009442871	9,44287E-09	0,005
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 1	0,056	0,528800755	5,28801E-07	0,264
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 2	0,050	0,467422096	4,67422E-07	0,234
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 3	0,035	0,330500472	3,305E-07	0,165
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 4	0,104	0,978910922	9,78911E-07	0,489

TABLA IV: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL $\text{Ca}(\text{OH})_2$ REALIZADAS A LA 1° SEMANA (CONTINUACIÓN)

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 5	0,064	0,599622285	5,99622E-07	0,300
CONTROL GLICERINA 1	0,013	0,118035883	1,18036E-07	0,059
CONTROL GLICERINA 2	0,006	0,056657224	5,66572E-08	0,028
GLICERINA 1	0,027	0,254957507	2,54958E-07	0,127
GLICERINA 2	0,046	0,429650614	4,29651E-07	0,215
GLICERINA 3	0,027	0,250236072	2,50236E-07	0,125
GLICERINA 4	0,055	0,519357885	5,19358E-07	0,260
GLICERINA 5	0,031	0,288007554	2,88008E-07	0,144
BLANCO	0	0	0	0,000

**TABLA V: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL
Ca(OH)₂ REALIZADAS A LA 2° SEMANA**

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
CONTROL POSITIVO 1	0,010	0,09600255	9,60025E-08	0,0480
CONTROL POSITIVO 2	0,007	0,062952502	6,29525E-08	0,0315
CONTROL ANESTESIA 1	0,008	0,072395373	7,23954E-08	0,0362
CONTROL ANESTESIA 2	0,006	0,059804879	5,98049E-08	0,0299
ANESTESIA 1	0,039	0,369845798	3,69846E-07	0,1849
ANESTESIA 2	0,076	0,714510576	7,14511E-07	0,3573
ANESTESIA 3	0,042	0,39817441	3,98174E-07	0,1991
ANESTESIA 4	0,069	0,648410482	6,4841E-07	0,3242
ANESTESIA 5	0,104	0,978910954	9,78911E-07	0,4895
CONTROL SOLUCIÓN 1	0,011	0,100723985	1,00724E-07	0,0504
CONTROL SOLUCIÓN 2	0,014	0,129052597	1,29053E-07	0,0645
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 1	0,068	0,643689046	6,43689E-07	0,3218
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 2	0,050	0,46899594	4,68996E-07	0,2345
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 3	0,033	0,313188574	3,13189E-07	0,1566
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 4	0,084	0,796348788	7,96349E-07	0,3982

TABLA V: DATOS DE LAS MEDICIONES DE CALCIO IÓNICO DEL $\text{Ca}(\text{OH})_2$ REALIZADAS A LA 2° SEMANA (CONTINUACIÓN)

MUESTRA	X ABS - X BLANCO	nmol de Ca	milimoles (/1000000)	Concentracion mM /0,000002
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 5	0,065	0,610638999	6,10639E-07	0,3053
CONTROL GLICERINA 1	0,025	0,239219421	2,39219E-07	0,1196
CONTROL GLICERINA 2	0,009	0,086559679	8,65597E-08	0,0433
GLICERINA 1	0,019	0,180988385	1,80988E-07	0,0905
GLICERINA 2	0,036	0,343090998	3,43091E-07	0,1715
GLICERINA 3	0,035	0,32735288	3,27353E-07	0,1637
GLICERINA 4	0,027	0,25653135	2,56531E-07	0,1283
GLICERINA 5	0,027	0,251809915	2,5181E-07	0,1259
BLANCO	0	0	0	0

TABLA VI: DATOS DE LAS MEDICIONES DE pH DEL $\text{Ca}(\text{OH})_2$

	10 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	1° SEMANA	2° SEMANA	3° SEMANA
AGUA DESTILADA	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54	7,54
CONTROL POSITIVO 1	8,45	8,67	7,5	7,62	8,23	8,02
CONTROL POSITIVO 2	8,39	7,96	7,17	7,71	7,9	7,69
CONTROL ANESTESIA 1	7,66	7,75	7,07	7,52	7,73	7,63
CONTROL ANESTESIA 2	8,63	7,74	7,24	7,42	7,75	7,54
ANESTESIA 1	9,32	9,67	9,62	8,54	7,67	7,5
ANESTESIA 2	9,8	10	10,5	9,91	7,88	7,43
ANESTESIA 3	10,04	10,03	9,7	8,81	7,9	7,6
ANESTESIA 4	10,25	10,31	10,8	9,94	7,78	7,79
ANESTESIA 5	9,42	10,35	10,23	8,01	8	7,87
CONTROL SOLUCIÓN 1	8,95	8,48	8,83	7,8	7,83	7,58
CONTROL SOLUCIÓN 2	8,54	8,22	8,01	7,5	7,67	7,48
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 1	10,69	10,56	10,5	8,9	7,95	7,82
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 2	10,12	10,41	10	10,82	7,74	7,7
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 3	9,21	10,64	9,4	8,72	7,88	7,47
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 4	10,18	10,03	10,44	10,96	7,82	7,72

**TABLA VI: DATOS DE LAS MEDICIONES DE pH DEL Ca(OH)₂
(CONTINUACIÓN)**

	10 MINUTOS	24 HORAS	48 HORAS	1° SEMANA	2° SEMANA	3° SEMANA
SOLUCIÓN FISIOLÓGICA 5	10,82	10,6	9,83	9,82	7,76	7,6
CONTROL GLICERINA 1	9,04	8,44	7,74	7,31	7,44	7,36
CONTROL GLICERINA 2	9,69	8,13	7,56	7,31	7,35	7,3
GLICERINA 1	9,55	9,27	9,61	9,05	7,53	7,08
GLICERINA 2	9	10,56	10,06	9,99	7,26	7,4
GLICERINA 3	8,95	10,52	9,44	8,02	7,2	7,13
GLICERINA 4	9,97	10,11	10,6	9,7	7,13	6,91
GLICERINA 5	9,85	9,86	9,14	8,9	7,2	7,41