



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA RESTAURADORA**

**“Efecto del almacenamiento en Solución de Hank sobre la difusión transdentinaria  
en terceros molares extraídos”**

**Francisco Javier Araya Castillo**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN  
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Eduardo Fernández G.**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Dr. Gustavo Moncada C**

**Dra. Claudia Sommariva**

**Adscrito a Proyecto DE Difusión Transdentinaria PRI-ODO U. Chile  
Santiago – Chile  
2012**



## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia, en especial a mis padres Orlando y Gladys, y a mis hermanos Alexis, Esteban y Fernanda, para los cuales me faltarían palabras y hojas en esta tesis para describir mi agradecimiento por todo el apoyo durante estos años, ya que de una u otra manera han determinado quien soy actualmente.

Agradezco a la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile y a cada uno de sus funcionarios, quienes de diferentes formas a lo largo de todos estos años me entregaron la gran formación recibida.

Al grupo docente de Operatoria Clínica, quienes desde hace algunos años ya, me han hecho sentir parte de un muy lindo grupo. En especial, agradezco a mi profesora guía Claudia Sommariva por su dedicación, entrega y consejos durante todo el período que este trabajo significó

Agradezco la importante ayuda del Dr Ismael Yevenes, con quien compartí innumerables tardes y charlas en el laboratorio durante el desarrollo de este trabajo. Así también, agradezco el apoyo del Dr Javier Martin en la estadística del trabajo, y por su insuperable paciencia en la explicación de la misma. Agradezco también, a los Dres Eduardo Fernandez y Gustavo Moncada, por la constante supervisión y entrega que tuvieron en el desarrollo de este trabajo.

Debo agradecer especialmente, a todos mis amigos que estuvieron presentes durante mi formación académica, e hicieron de la Universidad un lugar demasiado agradable. Entre ellos, no puedo dejar de mencionar a Ignacio Gómez, Pablo Gutiérrez, Álvaro Aliaga, Hernán Pérez, Matías Bahamondes, Sebastián Zúñiga, David Sandoval, Matías Letelier, Beatriz Sciolla, Constanza Osorio, Andrea González, Begoña Ruiz, Verónica Mundi, Consuelo Fernández y Valeria Rojas, y muy especialmente a mi gran amigo de infancia, colegio y universidad Cristian Bersezio y su familia. Además, agradecer la ayuda de Alejandra Salomon en los períodos más duros del presente trabajo, al mismo tiempo de su incondicional apoyo y compañía a lo largo de todos estos años.

Muy especialmente también, a mis compañeros de proyecto Héctor y María de los Ángeles, con quienes compartimos muchos días de victorias y derrotas en el laboratorio.

Y por supuesto, agradezco a Dios la oportunidad de reunirme con todas las personas ya nombradas, por la oportunidad de estudiar en la mejor Universidad del país, y por cada una de las situaciones que me ha puesto en el camino

## **RESUMEN**

La permeabilidad dentinaria es el paso de fluidos, iones, bacterias y/o partículas a través del tejido dentinario bajo condiciones definidas. En la actualidad, su estudio abarca tópicos que van desde la adhesión de materiales restauradores, hasta procesos de sensibilidad dentinaria, razón por la cual entender los múltiples factores involucradas en la misma revierte sin duda una vital importancia. Una de estas variables es el tiempo de almacenamiento de muestras *in vitro*.

El objetivo de este estudio fue determinar *in vitro* la variación en la tasa de filtración transdentinaria (conductancia hidráulica) en discos de dentina humana, luego de 2, 4, 6, 7, 14, 21 y 28 días almacenados en Solución de Hank, en formalina al 10% y en suero fisiológico,

Se utilizaron 41 terceros molares humanos sanos en inclusión, obtenidos previa firma de un consentimiento informado por parte del paciente. Estos dientes fueron desinfectados en solución de Timol al 0,1% por 24 horas, para luego ser incluidos en bloques de resina epóxica. Estos bloques fueron cortados de manera perpendicular al eje mayor del diente con una recortadora diamantada y con uso de refrigeración, logrando discos de dentina de 1mm de grosor. Luego, a cada disco se le realizó grabado ácido por ambos lados con ácido ortofosfórico al 37%, a fin de eliminar el barro dentinario.

Posterior a esto, a los discos dentinarios se les midió su conductancia hidráulica, determinada con el modelo experimental creado por Pashley, en el cual a cada disco dentinario se le aplica una presión de H<sub>2</sub>O de 200 mm de altura. Seguido de esta medición, los discos dentinarios fueron separados para ser almacenados en diferentes medios de almacenamiento, que constituyeron los siguientes grupos: 1)Grupo de discos dentinarios almacenados en Formalina al 10%, b)Grupo de discos dentinarios almacenados en Solución de Hank y c)Grupo de discos dentinarios almacenados en Suero Fisiológico. Luego de ser almacenados, a los discos se les midió su conductancia hidráulica luego de 1, 2, 4, 6, 7, 14, 21 y 28 días de ser almacenados. El análisis estadístico de los datos se realizó por medio de la prueba de ANOVA y post hoc de Tukey. Los resultados obtenidos, indicaron que las medias de los discos dentinarios, en todas las soluciones de almacenamiento, aumentaron su conductancia hidráulica

comparando el día de corte con el día 28 de análisis. Sin embargo, no existieron diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) de conductancia hidráulica entre los diferentes días de los discos almacenados en solución de Hank, pudiendo eventualmente ser alternativa confiable para ser utilizada como medio de almacenamiento de discos dentinarios en pruebas de conductancia hidráulica.

## INDICE

INTRODUCCIÓN	1
MARCO TEÓRICO	3
HIPÓTESIS	14
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
MATERIALES Y MÉTODO	16
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	30
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	36
ANEXO	43

## **INTRODUCCION**

Se define permeabilidad dentinaria, como el paso de fluidos, iones, bacterias y/o partículas a través del tejido dentinario bajo condiciones definidas<sup>(1)(2)</sup>. En la actualidad, su estudio es llevado a cabo para determinar la importancia del barro dentinario, cómo fluyen sustancias a través de la dentina, el efecto de tratamientos químicos en los tejidos dentinarios, y la capacidad de distintos materiales de sellar la dentina<sup>(3)</sup>.

El estudio de la permeabilidad dentinaria, constituye por tanto un pilar fundamental para conocer el inicio y desarrollo de diferentes fenómenos acaecidos a nivel pulpodentinario, siendo dentro de los más importantes de estos la hipersensibilidad dentinaria y la adhesión de materiales a la dentina<sup>(3)</sup>. La sensibilidad dentinaria, se define como un dolor agudo y de corta duración originado en una zona del diente con exposición dentinaria en respuesta a estímulos químicos, termales, táctiles u osmóticos y que no puede ser adscrita a ninguna otra forma de defecto o patología dental<sup>(4)</sup>. Esta patología, es explicada por el hecho descrito por Brannstrom en 1986, en el cual los tubulos dentinarios presentan un movimiento de fluidos en su interior a causa de estimulaciones externas (como frío, calor, presión), movimiento que llega a receptores nerviosos anexados al complejo pulpodentinario que lo traducen en dolor. Esta teoría, es conocida como la teoría hidrodinámica de Brannstrom, vital para entender el origen de los dolores a nivel pulpar<sup>(5)</sup>.

El uso de materiales adhesivos en dentina es otro de los tópicos que realzan la importancia del estudio de la permeabilidad dentinaria y sus aplicaciones. Esto es debido a que en un estado basal, la presión pulpar es mayor que la atmosférica, lo que determina que el flujo del fluido dentinario vaya hacia el exterior por los túbulos<sup>(6)</sup>. Esto origina que en cavidades dentinarias, exista una constante salida de fluido dentinario. Es por esta razón, que el ideal del material adhesivo a dentina es que tenga características hidrofílicas<sup>(3)</sup>. A esto sumamos además, el hecho de la presencia de barro dentinario o smear layer, situación que también determina características críticas a la hora de evaluar materiales que cumplen funciones adhesivas en dentina.

Dada la importancia del estudio de la permeabilidad dentinaria, es que Pashley y colaboradores crearon un modelo experimental para medir la permeabilidad dentinaria *in vitro*, utilizando una cámara de difusión a la cual se le podía ejercer una presión<sup>(41)</sup>. La conductancia hidráulica de la dentina es la habilidad del fluido de pasar a través de ésta, situación diferente de la permeabilidad dentinaria ya que esta considera los iones, moléculas, partículas y bacterias, y no solo el fluido<sup>(8)</sup>.

Dentro de las distintas variables que existen en los estudios *in vitro* de permeabilidad dentinaria, la solución en la que se almacenan los discos de dentina mientras son estudiados ha determinado ser vital para reproducir condiciones posibles encontrar *in vivo*, y que finalmente resulta crítica en la evaluación de cualquier estudio relativo a la conductancia hidráulica. Es así, ya que la solución en la que se encuentren las muestras determinará la manera en que se mantendrán las propiedades del disco, pudiendo influenciar notoriamente su grado de permeabilidad<sup>(9)</sup>. Por este motivo, el presente estudio tiene la finalidad de analizar diferentes soluciones de almacenamiento, entregando como nueva alternativa la Solución de Hank (Hank'S Balanced Salt Solution, HBSS) . Esta solución actualmente posee uso reconocido en traumatismos dentales, dado que le otorga una mayor viabilidad a las células periodontales en casos de avulsión. Además, posee un pH, osmolaridad y componentes iónicos que la hacen un material ideal para el almacenamiento de tejidos dentales<sup>(10-16)</sup>. De esta manera, resultará necesario comprobar si esta sustancia mantiene en condiciones óptimas a los discos para medir su conductancia hidráulica, pudiendo convertirse en alternativa para futuras investigaciones.



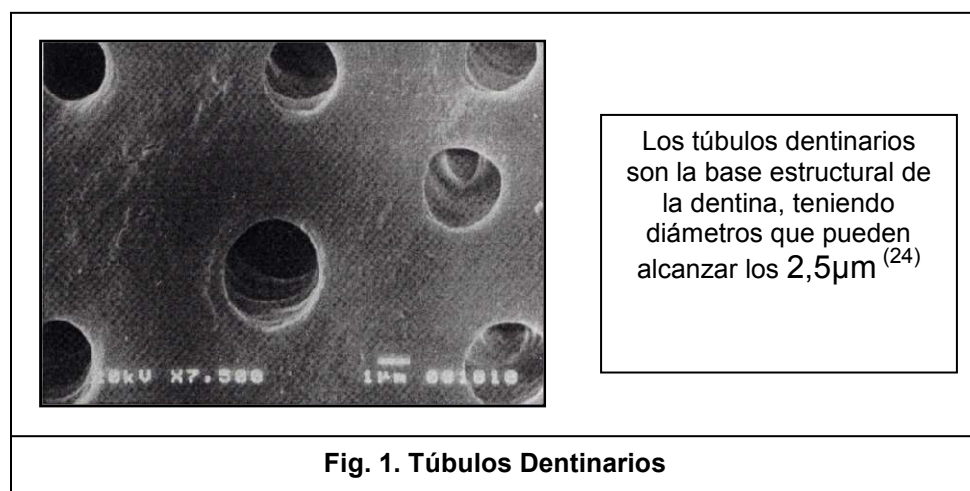
## MARCO TEORICO

La permeabilidad dentinaria, como bien lo dice su nombre, corresponde a un proceso de filtrado de partículas a través del tejido dentinario, proceso que puede tener repercusiones a tal nivel, que pueden determinar la viabilidad del complejo pulpodentinario. Para comprender mejor cada uno de los procesos involucrados, es necesario comprender las propiedades y funciones de la dentina.

### Dentina

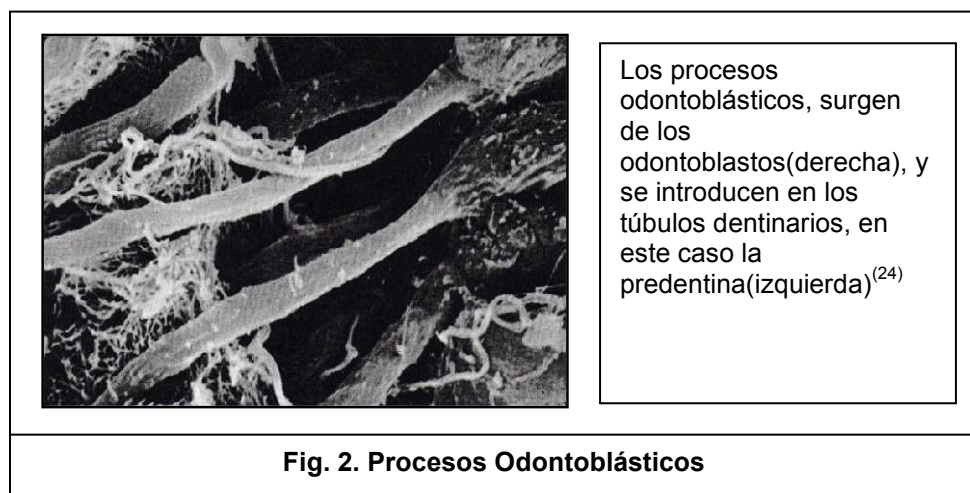
La dentina corresponde a un tejido mineralizado del diente, cuya matriz inorgánica está compuesta aproximadamente de un 50 vol% de hidroxiapatita carbonatada. A esto, sumamos una matriz orgánica que representa un 30 vol%, rica en Colágeno tipo I, una pequeña cantidad de Colágeno tipo V y Proteoglicanos, además de un 20 %vol constituido por fluidos<sup>(10)(17)(18)</sup>. La hidroxiapatita, contribuye en la fuerza compresiva que puede resistir el tejido, (que tiene directa relación con la dureza del mismo), mientras que el colágeno provee a la dentina de elasticidad. Cambios en cualquiera de estas dos fases pueden afectar las propiedades físicas, dureza y módulo de elasticidad de este tejido<sup>(19)</sup>.

A nivel de su microestructura, la dentina está compuesta por túbulos de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de diámetro que van desde el límite amelodentinario hasta la pulpa. Además, alrededor de cada túbulo se encuentra la dentina peritubular, tejido mineralizado de 1  $\mu\text{m}$  de grosor y con propiedades diferentes a la dentina intertubular<sup>(20)</sup>



El número de túbulos dentinarios, varía no sólo entre individuos, sino también entre dientes de un mismo individuo<sup>(21)</sup>, e incluso entre diferentes áreas de un mismo diente. Esto es así, debido a que a medida que los túbulos surgen desde el límite dentinopulpar y se adentran en la dentina, comienzan a reducirse en diámetro, lo que se traduce también en una disminución de su densidad a medida que se acercan hacia el esmalte<sup>(22)</sup>. La densidad observada cerca del límite amelodentinario es de aproximadamente 15.000 túbulos por  $\text{mm}^2$ , a nivel de dentina del tercio medio unos 45.000 por  $\text{mm}^2$  y en la dentina del tercio pulpar de unos 65.000 por  $\text{mm}^2$ <sup>(23)</sup>. Por otra parte, los túbulos cercanos a la pulpa tienen diámetros cercanos a los  $2,5\mu\text{m}$ , mientras que aquellos colindantes a la unión esmalte-dentina tienen diámetros aproximados a los  $0,8\mu\text{m}$ <sup>(24)</sup>.

En la superficie externa de la pulpa se encuentran los odontoblastos, células especializadas encargadas de producir la dentina, y están unidos unos a otros por uniones intercelulares<sup>(25)(26)</sup>. Cada odontoblasto, tiene una extensión hacia los túbulos dentinarios, los cuales en longitud pueden superar el tercio medio de dentina, e incluso llegar a cercanías del límite amelodentinario<sup>(27)</sup>. Los túbulos dentinarios además, alojan en su interior líquido tisular, fibras nerviosas y colágeno.



El fluido dentinario corresponde a un ultrafiltrado sanguíneo de los capilares sanguíneos. Si bien tiene una composición muy similar a la del plasma, este fluido contiene hasta 3 veces más concentración de iones calcio, y sólo un 10% de proteínas plasmáticas<sup>(28)</sup>. A esto, se le suma la presencia de anticuerpos u otras

sustancias antimicrobianas, y excepcionalmente según la fisiopatología presente, puede presentar bacterias, eritrocitos, plaquetas, polimorfo nucleares neutrófilos e restos de odontoblastos disgregados.<sup>(29)(30)(31)</sup>

La presencia de fluido en el tejido dentinario es crucial en la mantención de la estructura de la dentina, sobre todo de la red colágena y su elasticidad<sup>(32)</sup>. Así además, el movimiento de partículas dentro de este fluido, resulta vital en procesos de salud y enfermedad del complejo pulpodentinario<sup>(20)(9)</sup>. Si bien la importancia del fluido dentinario fue supuesta por Gysi<sup>(33)</sup>, fue Brännström quien lo retomó la idea con evidencias. Brännström y su grupo de investigadores aplicaron diferentes estímulos a dentina expuesta, incluyendo presión hidrostática, aire comprimido, calor, frío, presión negativa y presión osmótica. Estos estímulos causaron dolor, y además resultaron en movimiento de fluidos a través de los túbulos dentinarios. Propusieron entonces, que los estímulos generaban el movimiento de fluido dentro de los túbulos, produciendo sensibilidad dentinaria<sup>(34)</sup>. Este concepto, es conocido como la teoría hidrodinámica de sensibilidad de Brännström<sup>(3)</sup>.

Actualmente, se sabe que los movimientos de fluido dentro de los túbulos activan las terminaciones nerviosas A Delta, originando dolor<sup>(34)</sup>.

Teniendo en cuenta todo lo anterior, resulta viable pensar en que en determinados estados, y dependiendo de las características de cada dentina, podría existir un mayor o menor flujo de fluidos dentinarios, pudiendo por tanto estudiarse y controlar estas variables. De esta manera, surge el concepto de permeabilidad dentinaria.

### **Permeabilidad dentinaria**

Se define permeabilidad dentinaria, como el paso de fluidos, iones, bacterias y/o partículas a través del tejido dentinario bajo condiciones definidas<sup>(1)(2)</sup>. Este paso de objetos por tanto, corresponde a la conexión entre el medio pulpar y el medio bucal, siendo vital en la biología y fisiopatología del complejo pulpodentinario. En la actualidad, su estudio abarca investigaciones para saber el

efecto del barro dentinario, el efecto de tratamientos químicos en la dentina, el grado de fluidez de sustancias por las cavidades dentinarias, y la habilidad de los materiales de sellar dentina<sup>(3)</sup>.

Para explicar el fenómeno de la permeabilidad, resulta necesario comprender el proceso físico involucrado en el mismo, por lo que el comportamiento del flujo dentinario se ajusta a las ecuaciones de dinámica de fluidos. Esto se refleja en la ecuación de Poiseulle (fig. 1), la cual determina los factores físicos que determinan el movimiento de fluido en la dentina<sup>(35)</sup>. Estos son la presión tisular pulpar, la viscosidad del fluido dentinario y la longitud y radio de los túbulos dentinarios, siendo este último el más determinante del flujo.

$F_d = \frac{P \cdot r^4}{8 \cdot \eta \cdot l}$	<p>“Fd” es el volumen de flujo que aparece en la superficie de la dentina, “P” es la presión intrapulpar, “r” es el radio tubular medio, “n” es la viscosidad del fluido dentinario, y “l” la longitud media de los túbulos.<sup>(35)</sup></p>
<b>Fig. 3. Ecuación de Poiseulle</b>	

Dada la complejidad de poder medir la longitud y el radio de los túbulos dentinarios, existe una ecuación más sencilla capaz de hacer medible el fenómeno de la permeabilidad. Esta es la ecuación de la Conductancia Hidráulica (fig. 2).

$Ch = \frac{F}{A \cdot P \cdot t}$	<p>“F” es el flujo del fluido a través de la dentina, “A” es el área de la dentina a través de la cual se produce la filtración, “P” la presión hidrostática aplicada y “t” el tiempo en minutos.<sup>(35)</sup></p>
<b>Fig. 4. Ecuación de Conductancia Hidráulica</b>	

Dentro del proceso de permeabilidad dentinaria, podremos distinguir una serie de variables que finalmente determinaran la magnitud de la misma. David Pashley y su equipo de investigadores, determinó que existen ciertos factores que afectan la permeabilidad dentinaria, como el grosor de dentina, la proximidad a la cámara pulpar, el área superficial expuesta, la temperatura, la presencia o ausencia de barro dentinario, procesos celulares (como el odontoblástico), y el tamaño molecular de las partículas que lo atraviesan<sup>(36-39)</sup>. A esto, se suma evidencia de que componentes propios de la pulpa y bacterias, también pueden cumplir un rol en las variaciones de la permeabilidad dentinaria

a) **Grosor**

El grosor dentinario es uno de los factores más importantes al momento de determinar la magnitud de la permeabilidad. Dado el hecho que de pulpar hacia el limite amelodentinario disminuye tanto la cantidad, densidad y grosor de los túbulos dentinarios, se llego a la conclusión que una dentina de mayor grosor, genera una mayor resistencia al flujo, además de lograr una mayor disipación de la concentración de fluido<sup>(3)</sup>.

b) **Proximidad a cámara pulpar**

De manera similar al grosor de dentina, la proximidad de la dentina a la cámara pulpar también es determinante en la permeabilidad dentinaria. En la dentina profunda, debido a que en número y en diámetro los túbulos son mayores, la permeabilidad también es mayor que en otras zonas de la dentina<sup>(3)</sup>. Esto guarda especial importancia en procesos restauradores, debido a que a mayor cercanía que se logre con la cámara pulpar, mayor será la posibilidad de intercambios con el medio pulpar, aumentando la probabilidad de generar una respuesta ante estímulos por parte de la pulpa.

c) **Área superficial**

La permeabilidad dentinaria es directamente proporcional a área superficial de túbulos dentinarios al cual sometemos un gradiente de presión<sup>(2)</sup>.

Además, la permeabilidad varía en diferentes sectores de un mismo diente, dado que el diámetro, la densidad y las bifurcaciones de los túbulos dentinarios varían entre sí en diferentes zonas del diente<sup>(40)</sup>.

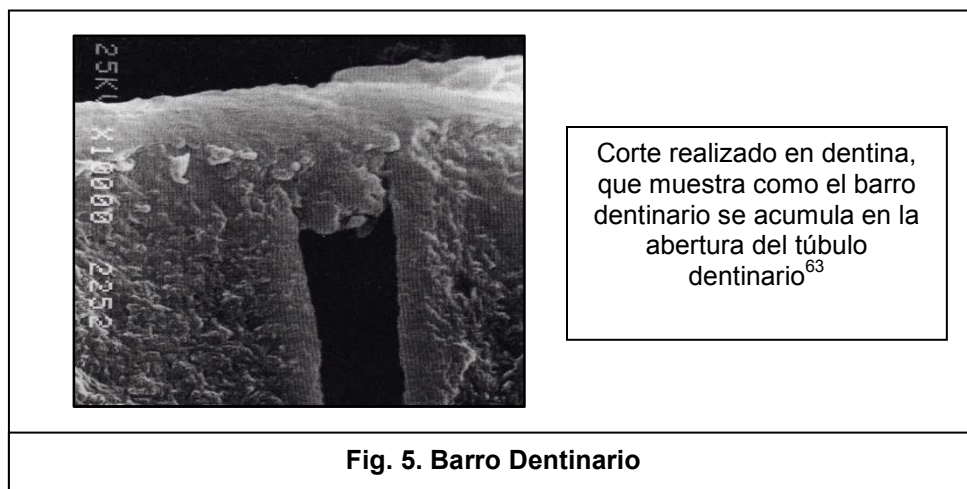
El cambio en la superficie expuesta a permeabilidad, puede variar por la estructura misma de la dentina, dado procesos como el de formación de dentina esclerótica ante noxas externas, lo cual obstruye los túbulos disminuyendo su área útil<sup>(41)(24)</sup>.

#### d) Temperatura

Outhwaite, Livingston y Pashley postularon que la temperatura de la dentina podría jugar un rol dentro de la permeabilidad dentinaria. Fue así, como llegó al resultado que al aumentar en 10 grados Celsius la temperatura de la dentina, podría incluso duplicar la permeabilidad de la misma<sup>(42)</sup>.

#### e) Barro dentinario

El smear layer o barro dentinario surge de un proceso mecánico por el cual, pequeñas partículas producidas al desgastar mecánicamente la dentina con algún instrumental rotatorio, combinadas con saliva o cualquier líquido presente, son forzadas a situarse dentro y sobre los túbulos dentinarios<sup>(2)(43)</sup>. Está compuesto de partículas pulverizadas consistente en hidroxapatita y fragmentos de colágeno alterado amorfo y en forma coloidal, además de otros componentes dependientes del proceso por el cual se forma<sup>(44)</sup>.



**f) Procesos celulares**

El proceso odontoblástico es considerado como un factor que contribuye en la obliteración intratubular, reduciendo por tanto la permeabilidad dentinaria<sup>(41)</sup>. Incluso, junto con el flujo ejercido por la presión pulpar, han sido identificados como factores que retienen el avance de bacterias al interior de los túbulos dentinarios<sup>(45)</sup>.

De esta manera, Pashley fue quien demostró junto con su equipo de investigadores que el contenido de odontoblastos dentro de los túbulos es responsable de disminuir en un 7,48% la permeabilidad dentinaria<sup>(41)</sup>.

**g) Tamaño de partículas**

El tamaño de partícula también es reconocido como parte importante de la permeabilidad dentinaria, así como también cualquier interacción química entre la dentina y el agente penetrante. Por esto, es posible deducir que a menor tamaño, mayor es el paso de partículas, además de disminuir la posibilidad de obliteración de los túbulos<sup>(2)</sup>.

**h) Componentes propios de la pulpa y bacterias**

Habitualmente, son los odontoblastos las células responsables de generar resistencia intratubular. Sin embargo otro tipo de células, bajo ciertas circunstancias, pueden también generar resistencia al interior de los túbulos. Así es posible encontrar leucocitos polimorfonucleares, los cuales pueden migrar debido a una alta presión pulpar o debido a la atracción de productos quimiotácticos de la autólisis odontoblástica. Así también, es posible encontrar glóbulos rojos en una inflamación pulpar severa<sup>(30)</sup>

Por otra parte, diversos restos celulares pueden ser encontrados en los túbulos, alterando significativamente la permeabilidad<sup>(46)</sup>. Entre otros, es posible encontrar fibrinógeno proveniente de la pulpa, proteínas salivales e incluso plaquetas<sup>(31)</sup>.

Asimismo, es posible que bacterias provenientes de procesos infecciosos puedan jugar un importante rol en la disminución de flujo tubular<sup>(24)</sup>.

Ahora, el estudio de la permeabilidad dentinaria resulta interesante si se considera que los resultados de estos estudios, serán vitales para predecir comportamientos y características de la dentina a nivel clínico.

### **Estudios de permeabilidad**

Los test de biocompatibilidad *in vitro* fueron desarrollados para simular reacciones biológicas de materiales cuando son puestos dentro, o en contacto con tejidos en el organismo, pudiendo muchas veces predecir lo que se debe esperar que ocurra *in vivo*<sup>(47)</sup>. Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados en odontología *in vitro* se alejan bastante de las condiciones fisiológicas presentes en boca<sup>(35)</sup>. Esto es, debido a lo complejo que resulta simular el ambiente oral, debido a los múltiples factores que dependen de ello.

El análisis de la permeabilidad dentinaria, ha sido estudiado por diferentes investigadores a través del tiempo, especialmente por el enfoque que se le ha dado a la hipersensibilidad y al estudio de nuevos materiales adhesivos<sup>(3)</sup>. Lamentablemente, la deficiencia común de los estudios de permeabilidad dentinaria es que el paso de fluido fue medido bajo condiciones definidas pobremente, además de presentar muchas variables sin control<sup>(1)(9)</sup>. Entre estas condiciones que no han podido ser estandarizadas correctamente, encontramos el tiempo de almacenamiento de los dientes entre que son cortados y analizados, hecho que al menos es reconocido por diferentes autores como uno de los de más alta importancia en la determinación de la permeabilidad dentinaria.<sup>(9)(48-50)</sup>

En diferentes estudios, se ha demostrado que la permeabilidad dentinaria *in vitro* aumenta en función del tiempo<sup>(41)</sup>. De hecho, la evidencia comprueba que incluso sin manipulación experimental, se puede esperar un cambio en la permeabilidad dentinaria, razón por la que al momento de usar dientes en medios de almacenamiento, se debe tener en cuenta esta tendencia<sup>(9)(41)(51)</sup>. La razón más correcta para el incremento de la permeabilidad dentinaria *in vitro* es el desprendimiento de materia orgánica de los túbulos que empieza desde el momento mismo de la extracción<sup>(51)</sup>.



Livingston y Pashley reportaron un aumento leve de la permeabilidad dentinaria entre la primera hora después de extraído y los dos días posteriores, aunque no se presentó mayor cambio entre las siguientes 3-4 semanas<sup>(42)</sup>. Por otra parte Ozok y sus colaboradores, utilizando como almacenamiento agua destilada con Azidia de Sodio( $\text{NaN}_3$ ), observaron un incremento en la permeabilidad del día 7 al 9, manteniéndose desde ese día en adelante, indicando una estabilidad en el mismo<sup>(51)</sup>.

Algunos autores, proponen el hecho que los dientes almacenados tienden a variar su permeabilidad a través del tiempo, llegando a un punto en que se logra un momento de estabilidad. Sin embargo, para llegar a estudiar este punto de estabilidad, resulta necesario encontrar una solución de almacenamiento que no altere la estructura de los tejidos, situación vital para estudios de permeabilidad a largo plazo<sup>(9)(51)</sup>. En el intento de establecer una fase de estabilidad mucho más rápido, algunos investigadores agregan a sus muestras de dentina Hipoclorito de sodio por algunas horas, a fin de disolver el material orgánico. Sin embargo, y considerando el alto contenido orgánico de la dentina, este método puede resultar agresivo, influenciando negativamente los resultados<sup>(51)</sup>.

Goodis y su equipo de trabajo determinaron que la permeabilidad dentinaria es sensible al medio de almacenamiento en el que se encuentra, sugiriendo que los cambios en la permeabilidad y los cambios estructurales que la determinan, necesitan ser evaluados desde el tiempo de extracción mismo<sup>(9)</sup>. Lamentablemente, no existe un protocolo estandarizado para el almacenamiento de muestras, existiendo por tanto estudios donde se usa agua destilada, formalina, suero e incluso soluciones con buffers fosfatados<sup>(9)(48)</sup>.

En general, las soluciones usadas para el almacenamiento de muestras no son estandarizadas, y sus efectos en permeabilidad no son claros<sup>(9)</sup>. Sin embargo, existen algunos consensos, como el hecho que una solución acuosa es esencial para mantener la hidratación apropiada de las muestras<sup>(11)</sup>. Polhagen y Brännström postularon que la evaporación de agua desde los túbulos dentinarios tiende a aumentar el bloqueo de los mismos, dada la aposición de sales y sustancias orgánicas<sup>(1)</sup>.

Los dientes extraídos que son almacenados en sustancias fijadoras como etanol y formalina, tienen una menor permeabilidad que aquellos dientes almacenados en soluciones a base de agua. Esto sugiere que el material orgánico residual en los túbulos, como los odontoblastos y el colágeno, fueron preservados y por tanto controlados<sup>(9)(48)</sup>. Además, investigadores demostraron que el almacenamiento en formalina es efectivo en el control de infecciones, sin embargo, no se recomienda para estudios de adhesión a largo plazo debido a las alteraciones ocasionadas por su uso<sup>(52)</sup>. Pese a lo anterior, la formalina al 10% ha demostrado ser la solución que conserva de mejor forma los tejidos dentinarios para pruebas de permeabilidad dentinaria, por sobre otros materiales como el timol, el suero y soluciones salinas reforzadas con buffers<sup>(9)</sup>.

Por otra parte, el uso de soluciones salinas mejoradas con buffers tiende a presentar una disminución en la permeabilidad en el tiempo, debiéndose muy probablemente a la precipitación de sales lo que termina obliterando los túbulos dentinarios<sup>(9)</sup>.

El suero, ha sido constatado como un medio de almacenamiento inadecuado, debido a los grandes cambios estructurales producidos en dentina, y que se traducen en un aumento excesivo de la permeabilidad<sup>(50)</sup>. De hecho, la dureza y el módulo de elasticidad de Young disminuyen cuando las muestras son almacenadas en suero, presumiblemente debido a la pérdida de calcio superficial que permite la exposición de colágeno dentinario, lo cual puede tener un efecto en la hidrólisis de las fibras de colágeno expuestas<sup>(11)</sup>.

En vista de los resultados, se da por hecho que aún no termina la búsqueda de soluciones que puedan permitir un almacenamiento que altere en menor proporción la permeabilidad dentinaria.

En el campo de la endodoncia, han utilizado diferentes soluciones con características fisiológicas, en especial para problemas derivados del traumatismo dentoalveolar como lo es la avulsión dentaria. La avulsión dentaria, es una de las formas de trauma dental más severas, siendo descrita como el desplazamiento completo del diente desde el alveolo. Dada lo compleja de la situación, el paquete vasculonervioso resulta altamente comprometido, hecho que genera en muchas veces la pérdida de la vitalidad pulpar<sup>(53)</sup>. Por esta razón, los endodoncistas han

buscado por años soluciones capaces de mantener al diente estable luego de una avulsión, para su posterior reimplantación.

En esta búsqueda es donde apareció la Solución de Hank o HBSS (Hank's Balanced Salt Solution). Esta solución es levemente básica, teniendo un pH entre 7,2 y 8,0. Es altamente concentrado en iones  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{PO}_3^{4-}$  y  $\text{Cl}^-$ , y tiene una composición comparable con las fases minerales dentales<sup>(16)</sup>. Además, posee un bajo potencial químico de disolver las fases del calcio fosfato en el diente, por lo que la superficie de desmineralización es prevenida<sup>(10-12)</sup>. Así también, la osmolaridad de la solución de Hank es de aproximadamente 300 mOsm/l<sup>(13)</sup>, y dado que la osmolaridad ideal para la preservación de células se encuentra entre los 230 y los 400 mOsm/l, la transforman en una solución ideal para este tipo de tareas<sup>(14)(15)</sup>. De hecho, son múltiples los estudios que comprueban la efectividad del HBSS como medio de conservación de células del ligamento periodontal en casos de traumatismo, entre ellos Ashkenazi, quien mostró que la solución de HBSS es el medio de almacenamiento más efectivo para la preservación de la viabilidad, motogenicidad y capacidad clonogénica de las células del ligamento periodontal, después de ser almacenadas por 24 horas a 22°C<sup>(54)</sup>.

Es por todos estos motivos, que la sociedad americana de endodoncia ha recomendado la solución de Hank como el medio de almacenamiento de preferencia en casos de avulsión dentaria<sup>(55)</sup>.

Dada las características conservadoras de tejido que proporciona la solución de Hank, comenzó a ser estudiado en profundidad, además de aumentar su aplicación práctica. Así por ejemplo, resultó ser un excelente medio de conservación de dentina y esmalte para estudios a corto plazo de resistencia mecánica del diente<sup>(10)</sup>. Sin embargo, no es menor el hecho de acotar que la solución de Hank resulta ser más cara que otras soluciones, además de que es inestable cuando se expone a la luz por cortos períodos de tiempo<sup>(11)</sup>, razón por la que el estudio de sus características, beneficios y contraindicaciones está aún en progreso.

**HIPÓTESIS**

$H_0$ : No existe diferencia significativa en la conductancia hidráulica de discos dentinarios almacenados en Solución de Hank por diferentes períodos de tiempo

$H_1$ : Existe diferencia significativa en la conductancia hidráulica de discos dentinarios almacenados en Solución de Hank por diferentes períodos de tiempo

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar *in vitro* la variación en la tasa de difusión transdentinaria (conductancia hidráulica) en discos de dentina humana, luego de 2, 4, 6, 7, 14, 21 y 28 días almacenados en solución de Hank, en formalina al 10% y en suero fisiológico.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

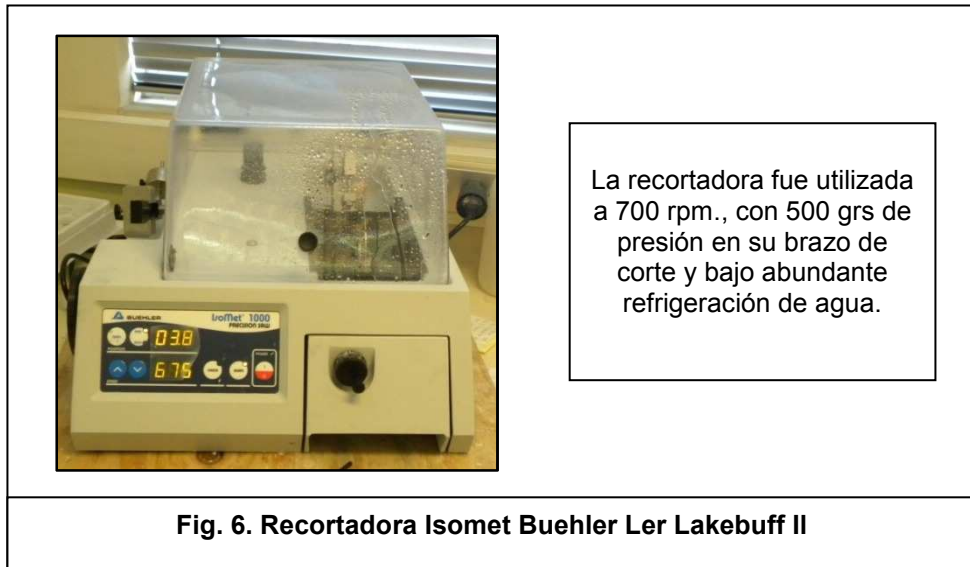
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* en discos de dentina de 1 mm de grosor inmediatamente luego de ser cortados.
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* en discos de dentina de 1 mm de grosor luego de 2, 4, 6, 7, 9, 14, 21 y 28 días almacenados en solución de Hank a temperatura ambiente.
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* en discos de dentina de 1 mm de grosor luego de 2, 4, 6, 7, 9, 14, 21 y 28 días almacenados en Formalina al 10% a temperatura ambiente.
- Determinar la conductancia hidráulica *in vitro* en discos de dentina de 1 mm de grosor luego de 2, 4, 6, 7, 9, 14, 21 y 28 días almacenados en suero fisiológico a temperatura ambiente.
- Analizar y comparar los resultados, determinando posibles diferencias entre ellos.

## **MATERIALES Y METODOS**

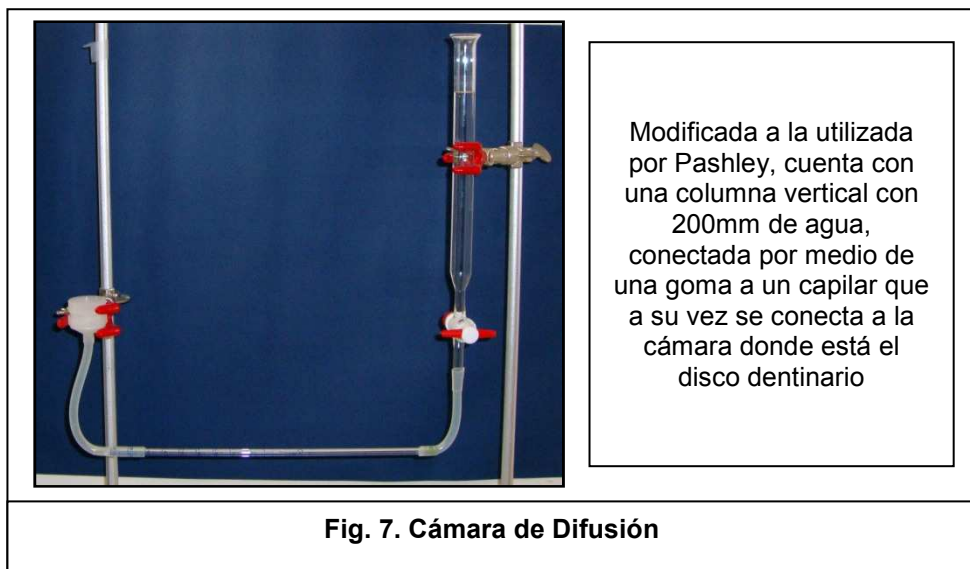
En este estudio de tipo Observacional, se utilizaron 41 terceros molares humanos sanos en inclusión extraídos de personas entre 16 y 30 años, cuyo diámetro coronal no fue mayor de 12 mm, obtenidos previa firma de un consentimiento informado por parte del paciente, el cual fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Anexo 1). Posterior a la extracción, se limpiaron manualmente con Cureta 13-14 Gracey (HuFriedy-USA), siendo luego desinfectados durante 24 horas en una solución de Timol al 0.1% (SIGMA, LDN, England), y finalmente fueron dejados en una solución de Hank, a temperatura ambiente por no más de dos semanas.

Luego, los especímenes en estudio fueron incluidos en bloques de resina epóxica Bosh de 25 mm de tamaño. Para esto, los molares fueron limpiados con agua destilada, se les aplicó ácido ortofosfórico (Coltene-Whaledent) al 37% por 30 segundos, fueron lavados, secados y pincelados con cianocrilato. Los dientes luego fueron fijados en el interior de un molde cilíndrico de silicona envaselinada de 25mm de diámetro, usando cera rosada en su cara oclusal para fijarlos. Finalmente, la resina epóxica fue vertida en el molde, esperando su polimerización por al menos 48 horas.

Una vez polimerizada la resina epóxica, se realizaron cortes de manera perpendicular al eje mayor del diente a la altura de la corona, logrando de esta manera discos de 1 mm de grosor. Estos cortes se realizaron con la recortadora Isomet Buehler Ler Lakebuff IL, USA a 700 rpm., con 500 grs de presión, bajo abundante refrigeración (Figura 6). Obtenidos los discos, las caras oclusales y pulpares se regularizaron con papel abrasivo (N°600 Silicon carbide) bajo agua circulando para estandarizar los espesores y lograr un alisado superficial. Se procedió luego al grabado ácido de cada superficie para eliminar el barro dentinario, por medio de Acido Ortofosfórico al 37% por 15 segundos por cada superficie, y luego lavado profuso con agua.



El modelo experimental utilizado para medir el flujo, es una modificación al dispuesto por el equipo de Pashley El modelo experimental utilizado para medir el flujo se confeccionó con un reservorio de agua destilada, en una columna vertical de agua de 20 mm, conectada a una llave de paso. Luego por medio de un tubo de silicona se conectó a un tubo capilar milimetrado en posición horizontal, al cual se le incorporó una gota de aire. El capilar se conectó distalmente a una cámara en donde se fijaron los discos en estudio (discos de dentina sellados por medio de anillos de silicona) a través de un tubo de silicona(Figura 7).



El tiempo durante el cual se dispuso cada disco del estudio, fue de 20 minutos, repitiéndose cada medición 3 veces al día, a fin de lograr un promedio diario. Así además, cada disco fue medido el día en que fue cortado, y a los días 2, 4, 6, 7, 14, 21 y 28 posterior al corte.

De esta manera, y dado los objetivos del estudio, se conformaron 5 grupos experimentales, que fueron:

Grupo 1: Discos almacenados en Solución de Hank(SIGMA, England)

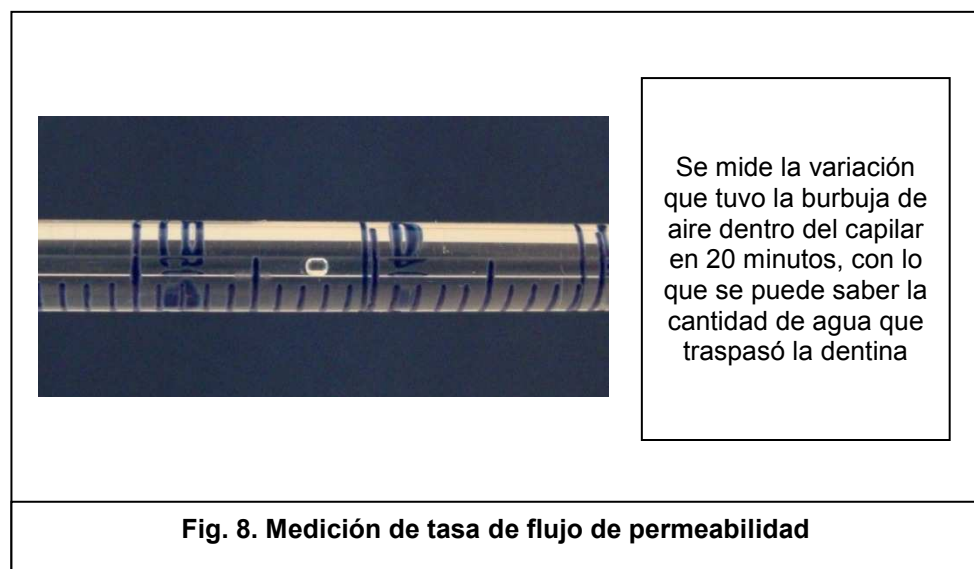
Grupo 2: Discos almacenados en formalina al 10%

Grupo 3: Discos almacenados en suero

Control Positivo: Medición sin disco

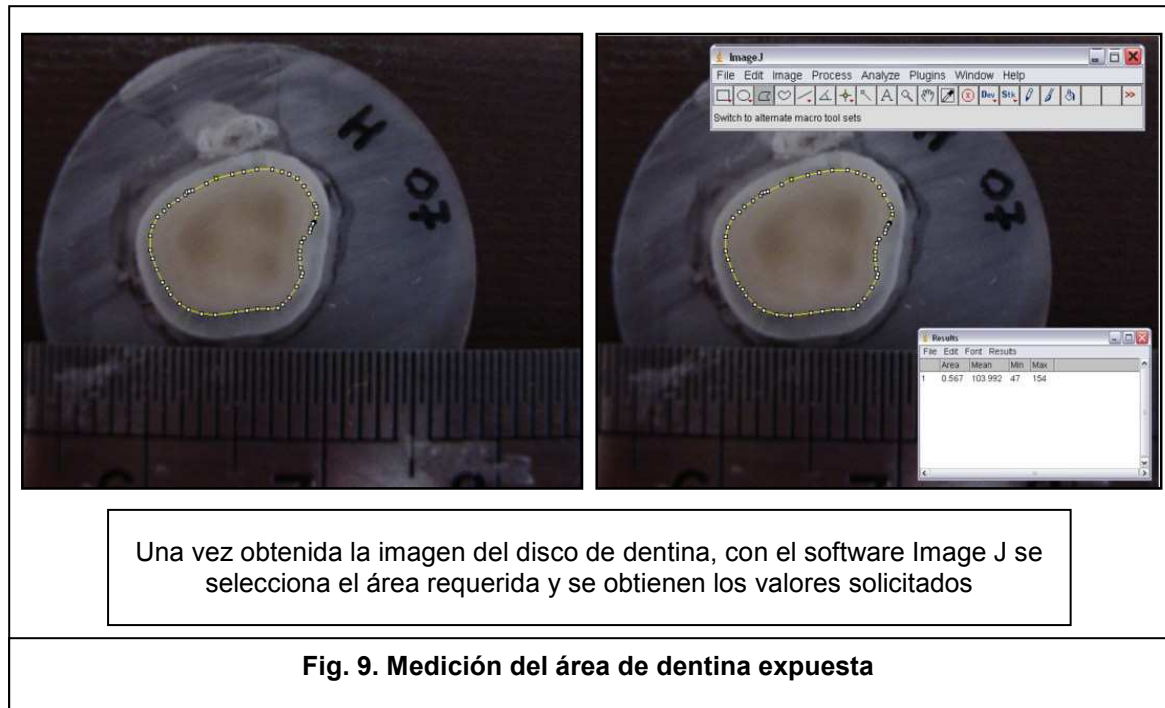
Control Negativo: Disco de Resina Epóxica.

La tasa de flujo de permeabilidad fue medida registrando la posición inicial de la burbuja de aire dentro del capilar, para luego de transcurridos 20 minutos consignar su posición final(Figura 8).





Las mediciones del área de dentina expuesta por disco fueron calculadas por el software computacional ImageJ. Este software es de amplio uso en medicina, y en él es posible establecer manualmente, por medio del manejo computacional de la imagen, un área seleccionada, en este caso el área dentinaria expuesta en cada disco. (Figura 9) Para ello, cada disco fue escaneado computacionalmente (Epson Scan CX-3700, resolución 1200 ppp) a fin de lograr la menor distorsión visual posible.



Una vez obtenida el área y la tasa de flujo de cada disco, se procedió a calcular la conductancia hidráulica mediante la siguiente fórmula:

$$Ch = \frac{F}{A * P * t}$$

La conductancia hidráulica corresponde a una fórmula que determina la permeabilidad, en este caso, de los discos de dentina. La variable F corresponde a la tasa de flujo de cada grupo experimental. La variable A corresponde al área de dentina expuesta al fluido. La variable P corresponde a la presión intrapulpal cuyo

valor corresponde a la altura de la columna de agua destilada (200 mm.), y la variable t es el tiempo en minutos.

Análisis estadístico: Se realizó por medio de la prueba de ANOVA de dos variables y post hoc de Tuckey. Todo este análisis fue realizado en el software G\*Power 3.1, y para la muestra se determinó con un valor  $p=0,05$ , un poder estadístico de 0,8 y un tamaño de efecto de 0,5.

## **RESULTADOS**

De un total de 41 Terceros Molares recolectados en perfectas condiciones para el estudio, se obtuvieron 41 discos de dentina de 1mm(+/- 0,01 mm), divididos en 3 grupos, correspondientes a las 3 soluciones de almacenamiento analizadas en este estudio. Los grupos fueron:

- 18 Discos de Dentina en Solución Formalina al 10%
- 15 Discos de Dentina en Solución de Hank
- 8 Discos de Dentina en Solución Suero Fisiológico.

La tabla 1, muestra los valores obtenidos del área de cada disco dentinario por medio del uso de scanner, y posterior medición con el software Image J. El área como sabemos, será útil para medir la conductancia hidráulica dentinaria específica de cada diente

Tabla 1. Área de discos de dentina, calculadas con programa Image J

Formalina		Solución de Hank		Suero	
Disco	Área (en cm <sup>2</sup> )	Disco	Área (en cm <sup>2</sup> )	Disco	Área (en cm <sup>2</sup> )
F1	0,516	H1	0,593	S1	0,575
F2	0,415	H2	0,446	S2	0,577
F3	0,496	H3	0,53	S3	0,569
F4	0,696	H4	0,567	S4	0,764
F5	0,509	H5	0,505	S5	0,469
F6	0,417	H6	0,433	S6	0,441
F7	0,661	H7	0,466	S7	0,695
F8	0,334	H8	0,524	S8	0,597
F9	0,443	H9	0,554		
F10	0,431	H10	0,547		
F11	0,611	H11	0,394		
F12	0,511	H12	0,665		
F13	0,456	H13	0,739		
F14	0,747	H14	0,599		
F15	0,558	H15	0,51		
F16	0,44				
F17	0,419				
F18	0,628				

Medida expresada en cm<sup>2</sup>

Las tablas 2, 3 y 4, corresponden a los promedios diarios de Conductancia Hidráulica dentinaria obtenida, en los 3 diferentes medios de almacenamiento estudiados, que fueron Formalina al 10%, Solución de Hank y Suero Fisiológico. Cada permeabilidad, fue obtenida usando la ecuación de conductancia hidráulica ya propuesta.

Tabla 2. Conductancia Hidráulica de discos de dentina almacenados en Formalina al 10%

	Día de Corte	Día 1	Día 2	Día 4	Día 6	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Disco F1	0,004845	0,009690	0,008882	0,012920	0,024225	0,029070	0,006460	0,005652	0,008075
Disco F2	0,013052	0,012048	0,011044	0,015060	0,021084	0,022088	0,022088	0,008032	0,010040
Disco F3	0,016801	0,025202	0,024362	0,036962	0,038642	0,031922	0,015121	0,018481	0,045363
Disco F4	0,009579	0,009579	0,005388	0,010776	0,011973	0,011973	0,017960	0,016762	0,007783
Disco F5	0,004912	0,006549	0,004093	0,012279	0,012279	0,016372	0,009005	0,013098	0,037656
Disco F6	0,014988	0,018985	0,025979	0,023981	0,011990	0,007994	0,010991	0,008993	0,021982
Disco F7	0,011346	0,011346	0,009455	0,006934	0,003782	0,010086	0,007564	0,006934	0,015759
Disco F8	0,008733	0,004990	0,003743	0,003743	0,003743	0,007485	0,007485	0,011228	0,013723
Disco F9	0,006584	0,007524	0,007524	0,005643	0,007524	0,004703	0,011287	0,011287	0,030098
Disco F10	0,006767	0,004834	0,004834	0,009667	0,003867	0,012568	0,002900	0,003867	0,011601
Disco F11	0,006137	0,006819	0,008865	0,008183	0,010229	0,006819	0,008865	0,013639	0,014321
Disco F12	0,006523	0,007339	0,004892	0,005708	0,008969	0,007339	0,012231	0,009785	0,011416
Disco F13	0,006396	0,006396	0,003655	0,013706	0,004569	0,003655	0,004569	0,003655	0,008224
Disco F14	0,015618	0,018965	0,003347	0,016176	0,013387	0,010040	0,012829	0,014502	0,018407
Disco F15	0,005974	0,027628	0,026882	0,022401	0,023895	0,023895	0,032855	0,006272	0,026882
Disco F16	0,003788	0,011364	0,005682	0,009470	0,008523	0,007576	0,007576	0,009470	0,011364
Disco F17	0,003978	0,007955	0,003978	0,006961	0,004972	0,004972	0,009944	0,005967	0,013922
Disco F18	0,008625	0,003981	0,003981	0,004644	0,005308	0,006635	0,007962	0,003981	0,005308

Valores de Conductancia Hidráulica expresados en  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{cm}^2$

Tabla 3. Conductancia Hidráulica de discos de dentina almacenados en Solución de Hank

	Día de Corte	Día 1	Día 2	Día 4	Día 6	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Disco H1	0,011945	0,006324	0,007026	0,006324	0,015458	0,016863	0,021079	0,023187	0,018971
Disco H2	0,014948	0,016816	0,008408	0,013079	0,004671	0,009342	0,034567	0,005605	0,026158
Disco H3	0,014151	0,015723	0,021226	0,040094	0,017296	0,029088	0,020440	0,023585	0,018082
Disco H4	0,003674	0,002939	0,006614	0,013962	0,016167	0,014697	0,015432	0,016167	0,016167
Disco H5	0,016502	0,015677	0,010726	0,018977	0,036304	0,056931	0,051155	0,062706	0,075908
Disco H6	0,023095	0,023095	0,032717	0,011547	0,016359	0,017321	0,026944	0,021170	0,023095
Disco H7	0,004471	0,004471	0,018777	0,012518	0,015200	0,016094	0,009835	0,008941	0,008941
Disco H8	0,003976	0,006361	0,013518	0,019084	0,022265	0,023060	0,022265	0,011132	0,023855
Disco H9	0,004513	0,015042	0,021811	0,025572	0,027076	0,027076	0,021059	0,018051	0,021059
Disco H10	0,003047	0,003809	0,006856	0,012188	0,015235	0,018282	0,022852	0,022852	0,024375
Disco H11	0,023266	0,008460	0,014805	0,013748	0,014805	0,016920	0,012690	0,008460	0,014805
Disco H12	0,003759	0,008772	0,013784	0,023810	0,026316	0,032581	0,030075	0,017544	0,013784
Disco H13	0,016915	0,003947	0,005074	0,002255	0,007894	0,007894	0,007894	0,004511	0,006766
Disco H14	0,002087	0,006956	0,009738	0,004174	0,002782	0,005565	0,004174	0,008347	0,006956
Disco H15	0,002451	0,003268	0,004085	0,007353	0,006536	0,006536	0,004902	0,014706	0,008170

Valores de Conductancia Hidráulica expresados en  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{cm}^2$

Tabla 4. Conductancia Hidráulica de discos de dentina almacenados en Suero Fisiológico

	Día de Corte	Día 1	Día 2	Día 4	Día 6	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Disco S1	0,004348	0,017391	0,028986	0,036232	0,023188	0,031884	0,023188	0,024638	0,014493
Disco S2	0,005777	0,025997	0,053437	0,018775	0,049105	0,038995	0,010110	0,023108	0,020220
Disco S3	0,004394	0,017575	0,020504	0,029291	0,016110	0,026362	0,014646	0,014646	0,010252
Disco S4	0,003272	0,015271	0,029450	0,041449	0,037086	0,046902	0,038176	0,037086	0,031632
Disco S5	0,005330	0,005330	0,005330	0,008884	0,019545	0,010661	0,010661	0,010661	0,007107
Disco S6	0,005669	0,007559	0,017007	0,017007	0,011338	0,018896	0,020786	0,013228	0,015117
Disco S7	0,004796	0,004796	0,014388	0,009592	0,015588	0,021583	0,016787	0,016787	0,014388
Disco S8	0,004188	0,004188	0,004188	0,005583	0,008375	0,013959	0,006979	0,013959	0,008375

Valores de Conductancia Hidráulica expresados en  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{cm}^2$

La tabla 5, corresponde a las medias con sus respectivas desviaciones tipo, de las diferentes permeabilidades obtenidas en los diferentes medios de almacenamiento. Cabe recordar que los n de cada solución eran diferentes, ya que en la Formalina al 10% el n era de 18 muestras, en Solución de Hank el n era de 15 muestras, y en Suero Fisiológico el n era de 8 muestras. El gráfico 1 en tanto, corresponde a la comparación de las medias diarias de los 3 grupos en estudio.

Tabla 5. Media de permeabilidades diarias según solución de almacenamiento.

	Discos en Formalina (n = 18)		Discos en Solución de Hank (n = 15)		Discos en Suero Fisiológico (n = 8)	
	Media	Desviación Tipo	Media	Desviación Tipo	Media	Desviación Tipo
Día de Corte	0,0085914	0,00411188	0,00992	0,00768505	0,0047218	0,00084685
Día 1	0,0111774	0,00697289	0,009444	0,00623537	0,0122634	0,00795829
Día 2	0,0092548	0,00793506	0,013011	0,00786034	0,0216613	0,0159102
Día 4	0,0125119	0,00833844	0,014979	0,00962621	0,0208516	0,01338581
Día 6	0,0121645	0,00933203	0,0162909	0,00903347	0,0225419	0,01384858
Día 7	0,0125107	0,00860715	0,0198833	0,01305656	0,0261553	0,01248182
Día 14	0,0115384	0,00706308	0,0203575	0,01238945	0,0176666	0,00993662
Día 21	0,0095336	0,0044576	0,0177976	0,01402329	0,0192641	0,00867944
Día 28	0,0173291	0,01104267	0,0204728	0,01668525	0,015198	0,00786436

Valores de Conductancia Hidráulica expresados en  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{cm}^2$

Gráfico 1. Comparación de Medias de Conductancia Hidráulica entre los 3 diferentes tipos de soluciones de almacenamiento



Valores de Conductancia Hidráulica expresados en  $\mu\text{L}/\text{min}/\text{cm}^2$

Con el fin de hacer una comparación de cada día para las medias de los distintos grupos, es que se realiza el test de Anova (Tabla 6)

**Tabla 6. Test de Anova para determinar diferencias significativas entre los grupos de estudio**

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Día 0 (Día de Corte)	Inter-grupos	0	2	0	2,433	<b>0,101</b>
	Intra-grupos	0,001	38	0		
	Total	0,001	40			
Día 1	Inter-grupos	0	2	0	0,494	<b>0,614</b>
	Intra-grupos	0,002	38	0		
	Total	0,002	40			
Día 2	Inter-grupos	0,001	2	0	4,369	<b>0,02</b>
	Intra-grupos	0,004	38	0		
	Total	0,005	40			
Día 4	Inter-grupos	0	2	0	1,961	<b>0,155</b>
	Intra-grupos	0,004	38	0		
	Total	0,004	40			
Día 6	Inter-grupos	0,001	2	0	2,897	<b>0,067</b>
	Intra-grupos	0,004	38	0		
	Total	0,005	40			
Día 7	Inter-grupos	0,001	2	0,001	4,521	<b>0,017</b>
	Intra-grupos	0,005	38	0		
	Total	0,006	40			
Día 14	Inter-grupos	0,001	2	0	3,427	<b>0,043</b>
	Intra-grupos	0,004	38	0		
	Total	0,004	40			
Día 21	Inter-grupos	0,001	2	0	4,141	<b>0,024</b>
	Intra-grupos	0,004	38	0		
	Total	0,004	40			
Día 28	Inter-grupos	0	2	0	0,482	<b>0,621</b>
	Intra-grupos	0,006	38	0		
	Total	0,007	40			

**\*Basado en las medidas observadas**

No hay diferencia entre los grupos en los días 0 ( $p=0,101$ ), 1 ( $p=0,614$ ), 4 ( $p=0,155$ ), 6 ( $p=0,67$ ) ni 28 ( $p=0,621$ ). Sin embargo, si existe diferencia entre los grupos los días 2 ( $p=0,020$ ), 7 ( $p=0,017$ ), 14 ( $p=0,043$ ) y 21 ( $p=0,024$ )

Para determinar entre cuales de los grupos hay diferencia significativa, se hace el Test post hoc de Tukey (Tabla 7)



Tabla 7. Comparaciones Múltiples: Estadístico post hoc de Tukey

Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de Confianza al 95%	
						Limite superior	Limite Inferior
Día 0 (Día de Corte)	Formalina	HBSS	-0,00132856	0,00189738	0,765	-0,0059559	0,0032988
		Suero	0,00386969	0,00230614	0,227	-0,0017546	0,009494
	HBSS	Formalina	0,00132856	0,00189738	0,765	-0,0032988	0,0059559
		Suero	0,00519825	0,00237603	0,086	-0,0005965	0,010993
	Suero	Formalina	-0,00386969	0,00230614	0,227	-0,009494	0,0017546
HBSS	Formalina	-0,00519825	0,00237603	0,086	-0,010993	0,0005965	
Día 1	Formalina	HBSS	0,00173344	0,00241562	0,755	-0,0041578	0,0076247
		Suero	-0,00108593	0,00293602	0,928	-0,0082464	0,0060745
	HBSS	Formalina	0,00173344	0,00241562	0,755	-0,0076247	0,0041578
		Suero	-0,00281938	0,00302501	0,624	-0,0101968	0,0045581
	Suero	Formalina	0,00108593	0,00293602	0,928	-0,0060745	0,0082464
HBSS	Formalina	0,00281938	0,00302501	0,624	-0,0045581	0,0101968	
Día 2	Formalina	HBSS	-0,00375622	0,00345314	0,527	-0,0121778	0,0046654
		Suero	-0,01240647(*)	0,00419706	0,014	-0,0226424	-0,0021706
	HBSS	Formalina	0,00375622	0,00345314	0,527	-0,0046654	0,0121778
		Suero	-0,00865025	0,00432427	0,126	-0,0191964	0,0018959
	Suero	Formalina	0,01240647(*)	0,00419706	0,014	0,0021706	0,0226424
HBSS	Formalina	0,00865025	0,00432427	0,126	-0,0018959	0,0191964	
Día 4	Formalina	HBSS	-0,00246711	0,00346533	0,758	-0,0109184	0,0059842
		Suero	-0,00833974	0,00421187	0,131	-0,0186118	0,0019323
	HBSS	Formalina	0,00246711	0,00346533	0,758	-0,0059842	0,0109184
		Suero	-0,00587263	0,00433953	0,375	-0,016456	0,0047107
	Suero	Formalina	0,00833974	0,00421187	0,131	-0,0019323	0,0186118
HBSS	Formalina	0,00587263	0,00433953	0,375	-0,0047107	0,016456	
Día 6	Formalina	HBSS	-0,00412643	0,00357131	0,487	-0,0128362	0,0045834
		Suero	-0,01037738	0,00434068	0,056	-0,0209635	0,0002088
	HBSS	Formalina	0,00412643	0,00357131	0,487	-0,0045834	0,0128362
		Suero	-0,00625094	0,00447224	0,352	-0,017158	0,0046561
	Suero	Formalina	0,01037738	0,00434068	0,056	-0,0002088	0,0209635
HBSS	Formalina	0,00625094	0,00447224	0,352	-0,0046561	0,017158	
Día 7	Formalina	HBSS	-0,00737267	0,00390317	0,156	-0,0168918	0,0021465
		Suero	-0,01364458(*)	0,00474403	0,018	-0,0252145	-0,0020747
	HBSS	Formalina	0,00737267	0,00390317	0,156	-0,0021465	0,0168918
		Suero	-0,00627192	0,00488782	0,413	-0,0181925	0,0056486
	Suero	Formalina	0,01364458(*)	0,00474403	0,018	0,0020747	0,0252145
HBSS	Formalina	0,00627192	0,00488782	0,413	-0,0056486	0,0181925	
Día 14	Formalina	HBSS	-0,00881909(*)	0,00344422	0,038	-0,017219	-0,0004192
		Suero	-0,00612818	0,00418622	0,319	-0,0163376	0,0040813
	HBSS	Formalina	0,00881909(*)	0,00344422	0,038	0,0004192	0,017219
		Suero	0,00269091	0,0043131	0,808	-0,007828	0,0132098
	Suero	Formalina	0,00612818	0,00418622	0,319	-0,0040813	0,0163376
HBSS	Formalina	-0,00269091	0,0043131	0,808	-0,0132098	0,007828	
Día 21	Formalina	HBSS	-0,00826399	0,0034114	0,052	-0,0165838	0,0000558
		Suero	-0,00973051	0,00414633	0,061	-0,0198427	0,0003817
	HBSS	Formalina	0,00826399	0,0034114	0,052	-0,0000558	0,0165838
		Suero	-0,00146653	0,004272	0,937	-0,0118852	0,0089521
	Suero	Formalina	0,00973051	0,00414633	0,061	-0,0003817	0,0198427
HBSS	Formalina	0,00146653	0,004272	0,937	-0,0089521	0,0118852	
Día 28	Formalina	HBSS	-0,00314369	0,00453828	0,769	-0,0142118	0,0079244
		Suero	0,00213111	0,00551597	0,921	-0,0113214	0,0155836
	HBSS	Formalina	0,00314369	0,00453828	0,769	-0,0079244	0,0142118
		Suero	0,0052748	0,00568316	0,626	-0,0085854	0,019135
	Suero	Formalina	-0,00213111	0,00551597	0,921	-0,0155836	0,0113214
HBSS	Formalina	-0,0052748	0,00568316	0,626	-0,019135	0,0085854	

\*Basado en las medidas observadas

En los resultados, podemos ver que existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre las muestras de Formalina y Suero para el día 2 ( $p = 0,014$ ) y para el día 7 ( $p = 0,018$ ), y

también entre las muestras de Formalina y Solución de Hank para el día 14( $p=0,038$ )

También, se realizó el Test post hoc de Tukey en cada solución para determinar entre qué días hubo diferencias significativas

Tabla 8. Comparaciones múltiples. Test de Tukey para Formalina 10%

	Día 0	Día 1	Día 2	Día 4	Día 6	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Día 0		0,986	1,000	0,852	0,907	0,853	0,969	1,000	0,027
Día 1			0,998	1,000	1,000	1,000	1,000	0,999	0,314
Día 2				0,944	0,971	0,944	0,994	1,000	0,058
Día 4					1,000	1,000	1,000	0,967	0,651
Día 6						1,000	1,000	0,985	0,559
Día 7							1,000	0,967	0,650
Día 14								0,998	0,398
Día 21									0,077
Día 28									

\*Basado en las medidas observadas

Tabla 9. Comparaciones múltiples. Test de Tukey para Solución de Hank

	Día 0	Día 1	Día 2	Día 4	Día 6	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Día 0		1,000	0,998	0,947	0,827	0,276	0,220	0,599	0,207
Día 1			0,994	0,914	0,763	0,220	0,172	0,520	0,161
Día 2				1,000	0,997	0,759	0,687	0,962	0,668
Día 4					1,000	0,956	0,926	0,999	0,917
Día 6						0,994	1,000	1,000	1,000
Día 7							1,000	0,999	1,000
Día 14								0,999	0,999
Día 21									0,999
Día 28									

\*Basado en las medidas observadas

Tabla 10. Comparaciones múltiples. Test de Tukey para Suero Fisiológico

	Día 0	Día 1	Día 2	Día 4	Día 6	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Día 0		0,902	0,068	0,097	0,045	0,007	0,322	0,185	0,608
Día 1			0,735	0,818	0,632	0,235	0,986	0,934	1,000
Día 2				1,000	1,000	0,996	0,998	1,000	0,958
Día 4					1,000	0,987	1,000	1,000	0,981
Día 6						0,999	0,993	1,000	0,915
Día 7							0,827	0,939	0,549
Día 14								1,000	1,000
Día 21									0,998
Día 28									

\*Basado en las medidas observadas

Dado los resultados, es posible observar diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las muestras almacenadas en Formalina entre los días 0 y 28 ( $p = 0,027$ ), y para las muestras almacenadas en Suero Fisiológico entre los días 0 y 6 ( $p = 0,045$ ) y 0 y 7 ( $p = 0,007$ )

## DISCUSIÓN

El estudio de la permeabilidad dentinaria *in vitro*, tiene una serie de utilidades y aplicaciones clínicas, principalmente en acciones relativas al uso de desensibilizantes dentinarios y a la aplicación de sistemas adhesivos. Los estudios *in vitro* de permeabilidad dentinaria entonces, servirán para predecir el comportamiento de los tejidos dentarios en boca, pudiendo por tanto estudiarse los distintos factores que participan en estos procesos.

Este estudio, se origina por la necesidad de contar con materiales que permitan desarrollar estudios tanto a corto como a largo plazo en permeabilidad dentinaria, sin que se altere el medio por reacciones entre los tejidos dentarios, los materiales utilizados y la solución de almacenamiento. Las actuales alternativas probadas, no han demostrado tener todas estas condiciones, ya que por una parte soluciones salinas y otras soluciones similares no han podido demostrar su utilidad como medios de almacenamiento a mediano plazo, otras como la formalina si bien han demostrado mejores resultados como soluciones almacenadoras, alteran características propias de los tejidos que finalmente terminan por afectar los resultados obtenidos.

El modelo utilizado para este estudio, está basado en el modelo utilizado por el grupo de investigación a cargo de Pashley<sup>(9)</sup>, y posteriormente utilizado por otros investigadores. Este modelo otorga una herramienta simple y confiable como lo es la cámara de difusión, para medir la conductancia hidráulica de discos de dentina de manera visual, lo que nos permite tener un reflejo de la permeabilidad dentinaria. El diseño de este estudio varía básicamente en la presión hidrostática utilizada, correspondiente a 20 cm de H<sub>2</sub>O a 20°C. Dentro de la técnica utilizada cabe comparar con Sekimoto, el cual utilizó el mismo modelo pero con una presión de 15 psi de N<sub>2</sub> sobre una solución salina fosfatada al 0,2%<sup>(38)</sup>, equivalente a 1054,8 cm de H<sub>2</sub>O a 4°C. En muchas investigaciones, tienden a aumentar significativamente la presión, debido a lo lento que es el proceso en si, a fin de obtener medidas mayores. En este caso, y debido a futuros usos del estudio mismo, se decidió utilizar una presión cercana a la fisiológica pulpar, presión que para muchos autores ronda entre los 12 y 18 cm H<sub>2</sub>O<sup>(56)</sup>.

Pese a esto, al final la presión utilizada sólo cobra relevancia en los posibles

efectos que puede generar en las paredes dentinarias, ya que dada la fórmula matemática de la Conductancia Hidráulica utilizada, al tener todos los discos la misma presión ejercida se transforma en una constante común a todos, no alterando en mayor manera la comparación de resultados. Se hace hincapié en el hecho de no generar presiones mayores, ya que Santiago y colaboradores en 2006, determinaron que al aumentar la presión en los túbulos, se genera una resistencia intratubular mayor a la normal, lo que finalmente genera una alteración de los resultados<sup>(13)</sup>

El sistema de medición de permeabilidad usado es simple, efectivo y barato, pero tiene algunos inconvenientes. Uno de ellos, es que las mediciones son hechas de manera visual, dependiendo entonces del criterio individual del evaluador, quien puede tomar decisiones conscientes o inconscientes que afecten el registro obtenido. Sin embargo, José de la Macorra y su grupo de investigadores compararon este modelo de medición con otro modelo de medición a base de registros electrónicos, llegando a la conclusión que ambos tipos de mediciones son estadísticamente comparables<sup>(57)</sup>. Además, no es menor el hecho de considerar la limitación dada por el capilar utilizado, cuya escala es de 0,001 ml, no pudiendo obtener mediciones más precisas que esta.

El hecho que el flujo dentinario tiende a ir de pulpar hacia afuera del diente, está dado por la diferencia entre la presión ambiental y la pulpar, por lo que esta última al ser mayor, genera un flujo expulsivo de fluidos desde la pulpa<sup>(6)</sup>. Sin embargo, el presente estudio fue realizado generando un flujo desde oclusal hacia pulpar, teniendo en cuenta los resultados de Pashley, quien señaló que el flujo tiende a disminuirse en dirección pulpar-oclusal debido al mayor riesgo de obliteración de los túbulos por productos pulpares. Pese a esto, la variación encontrada por este autor entre ambos sentidos de flujo no fue estadísticamente significativa<sup>(41)</sup>.

El grosor del disco dentinario utilizado en este estudio, fue de 1 mm realizado con los elementos de precisión otorgados por la misma cortadora. En estudios similares, el grosor del disco fue el mismo o muy similar<sup>(1)(24)(51)(58-60)</sup>, mientras algunos estudios decidieron usar discos de 0,5mm<sup>(61)</sup>. La idea de usar un grosor de disco de 1 mm, está dado porque a menores cortes, la dentina podría resultar fracturada dada su fragilidad y la cantidad de manipulaciones ejercidas sobre ella, mientras que en cortes mayores, la posibilidad de interceptar cuernos pulpares o

extensiones de esmalte eran mayores, además de que los tiempos usados para medir la permeabilidad debieron haber sido mucho mayores para obtener mediciones que luego se pudiesen comparar

En este estudio, se utilizó ácido ortofosfórico para tratar la dentina superficial, dado que este tiende a permear las superficies obliteradas, aumentando la permeabilidad en rangos que van desde 87% a 146%<sup>(62)</sup>. Así además, se intentó realizar el tratamiento ácido bajo condiciones y tiempos similares a las usadas en el trabajo clínico, además de desechar la idea de usar otro tipo de grabadores ácidos de poca aplicación clínica como lo es el ácido cítrico

Bajo el mismo parámetro, se utilizó agua destilada, en vez de suero para medir la tasa de permeabilidad, a fin de evitar cualquier precipitación de sales que pudiesen obliterar los túbulos dentinarios<sup>(1)(50)(60)</sup>.

Dentro de las variables existentes en los distintos estudios en que se mide permeabilidad dentinaria, está el del área de dentina expuesta en que la presión hidrostática es ejercida, y bajo la cual finalmente se mide la permeabilidad dentinaria. Muchos de estos estudios, utilizan un sistema de gomas O' Ring, a fin de estandarizar un área igual para todos los discos de dentina, y el resto de la superficie dentinaria quede sellado. Este sistema es al menos cuestionable, dado el hecho que si bien el área de diente es siempre la misma, el sistema O' Ring no siempre permite que la localización de esta área en el disco de dentina sea la misma. Esto es, que el área dentinaria varíe en localización, hecho que de por si cambiaría las condiciones de homogeneidad de medición, en vista que, en un mismo diente, la permeabilidad varía considerablemente en diferentes zonas del mismo. Incluso, el sistema O' Ring tendería a disminuir los valores obtenidos de permeabilidad, dada que el área de dentina que expone es la central, donde la tasa de flujo tiende a disminuir, y sella las zonas periféricas que es donde se encuentran las tasas más altas de flujo debido principalmente a la mayor cercanía de los cuernos pulpaes.

Es por este motivo, que en este trabajo se decidió exponer completamente la superficie dentinaria de los discos, para lo cual posteriormente se debió medir, con un software especial(ImageJ), el área de dentina de cada disco. Esta medición, se vio además facilitada por el hecho de obtener imágenes de los discos de dentina mediante el uso de scanner, dado que el uso de fotografías lleva implícito una

mayor probabilidad de obtener imágenes con distorsión

El motivo de utilizar la solución de Hank en este estudio, es el de introducir a estudios de permeabilidad dentinaria una solución que ha demostrado mantener tejidos dentinarios en el tiempo, conservando gran parte de sus características mecánicas, químicas e incluso fisiológicas. Todo lo anterior, es en gran parte debido a sus similitudes tanto en pH como en osmolaridad, aparte de poseer iones similares a las de las fases minerales del diente. Además de estudios sobre la conservación de tejidos en el tiempo, se propone también el hecho de realizar estudios sobre la compatibilidad de este material con materiales dentales, como agentes desensibilizantes, a fin de determinar cuál es la interacción entre ellos, y si eventualmente podrían alterar los resultados en estudios de permeabilidad tanto a corto como a largo plazo

La idea de realizar el almacenamiento de muestras durante casi un mes, es debido a que se quiere estudiar el comportamiento de la dentina y posibles materiales aplicados a la misma, durante el corto, mediano y largo plazo. Por lo mismo, y tomando como referencia estudios similares, se decidió almacenar las muestras durante un plazo de 28 días, con mediciones intermedias para estudiar cómo variaba la permeabilidad durante el proceso.

Obtenidos los resultados de este estudio, es posible inferir algunos hechos. Una vez que las muestras comenzaron a ser analizadas, esto es, que fueron puestas en solución de almacenamiento y se midió su permeabilidad en el tiempo, la conductancia hidráulica de las mismas aumentó conforme al paso de los días, situación similar a lo recopilado bibliográficamente. Así además, y teniendo en cuenta el gráfico 1, el grupo que presentó un aumento comparativamente mayor al resto, en especial en los primeros días de estudio, fue el de las muestras almacenadas en Suero Fisiológico. La contrapartida a esta situación, fueron las muestras almacenadas en Formalina al 10%, las cuales si bien tuvieron un incremento de su permeabilidad con respecto al tiempo, fueron las muestras que presentaron menor variación en comparación a su condición basal. Para Goodis y sus colaboradores, esto muy probablemente se debe a la propiedad fijadora de la formalina, hecho que conservaría estructuralmente los túbulos dentinarios, determinando un cambio menor de la conductancia hidráulica<sup>(9)</sup>.

Por otra parte, y con respecto a la hipótesis del trabajo, vemos que en la tabla 8, al

hacer comparaciones múltiples, no existe diferencia significativa entre las conductancias hidráulicas de los diferentes días de las muestras almacenadas en solución de Hank. Si bien existe una variación dada por el incremento de la permeabilidad, los cambios de esta no son significativos a la hora de hacer el balance de la influencia de la solución de Hank y su impacto en la permeabilidad dentinaria

En los resultados, podemos ver que existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre las muestras de Formalina y Suero para el día 2 ( $p = 0,014$ ) y para el día 7 ( $p = 0,018$ ), y también entre las muestras de Formalina y Solución de Hank para el día 14 ( $p = 0,038$ ). Esto se suma al análisis del Test post hoc de Tukey en cada solución, donde se aprecian diferencias significativas en las muestras almacenadas en Formalina entre los días 0 y 28 ( $p = 0,027$ ), y para las muestras almacenadas en Suero Fisiológico entre los días 0 y 6 ( $p = 0,045$ ) y 0 y 7 ( $p = 0,007$ ). Todos estos resultados, nos llevan a la conclusión que los medios estudiados entre sí, poseen diferencias significativas en algunos tramos de análisis, no pudiendo hacerse homologable, al menos en lo que a conductancia hidráulica se refiere, el hecho de almacenar muestras en cualquier solución de almacenamiento. Por otra parte, las variaciones en las muestras tanto en Suero Fisiológico como en Formalina al 10% mostraron algunos tramos en que presentaron diferencias significativas, hecho que concuerda con la literatura en lo difícil que resulta predecir el comportamiento de la permeabilidad dentinaria, incluso en soluciones estimadas como buenos preservantes como la formalina.

Con respecto a la Solución de Hank, no existe diferencia significativa entre los diferentes días de estudio de las muestras, comprobándose por tanto la hipótesis nula de este estudio.

Sin embargo, se sugiere realizar estudios sobre la permeabilidad dentinaria y el comportamiento de la Solución de Hank, como medio de almacenamientos, en estudios aún más prolongados en el tiempo que el actual. Así además, se recomienda previo a analizar cualquier material en esta solución, comprobar cualquier tipo de reacción del material con la Solución de Hank.



## **CONCLUSIONES**

- Hay diferencia estadísticamente significativa en los distintos tipos de almacenamiento de muestras dentarias para 4 de los 9 días en que se estudio la conductancia hidráulica de las muestras
- Las muestras almacenadas en Formalina al 10% fueron las que mostraron menores variaciones de su conductancia hidráulica durante el estudio
- Las muestras almacenadas en Suero Fisiológico fueron las que mostraron mayores variaciones de su conductancia hidráulica durante el estudio
- Las muestras almacenadas en Solución de Hank no mostraron diferencia significativa en su conductancia hidráulica entre los días de estudio
- La cámara de difusión utilizada en el trabajo, derivada del modelo de Pashley, es un instrumento simple y confiable para el estudio de la Difusión en Dentina.
- Dado los resultados del presente estudio, se acepta la Hipótesis Nula del mismo

## **BIBLIOGRAFÍA**

(1) Reeder Jr OW, Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. (1978) Dentin Permeability: Determinants of Hydraulic Conductance. J Dent Res 57: 187-193

(2) Mjör I. (2009) Dentin Permeability: The basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. Braz Dent J 20: 3-16

(3) Pratti C. (1994) What is the clinical relevance of in vitro dentine permeability tests? J Dent 22: 83-88

(4) Letelier et al. (2009) "Efecto del Ácido Oxálico bajo Restauraciones Cervicales Adhesivas de Metacrilato y Silorano en dientes sensible. Tesis para optar al Título de Cirujano Dentista. Facultad de Odontología. Universidad de Chile.

(5) Brannstrom (1986) "The hydrodynamic theory of dentinal pain: sensation in preparations, caries and the dentinal crack syndrome". J Endod 12 (10): 453-7.

(6) Pashley DH. (1994) Dentine Permeability and its role in the pathobiology of dentine sensitivity. Arch oral Biol 39: 73S-80S

(7) Hahn CL, Overton B (1997), "The effect of immunoglobulins on the convective permeability of human dentin *in vivo*". Arch Oral Biol 42:835.

(8) E.J. Swift, Jr. (1998), "Bonding Systems for restorative materials – a comprehensive review". Ped. dent. 20: 80-84.

(9) Goodis H.E., Marshall Jr, G.W., White JM. (1991) The effects of storage after extraction of the teeth on human dentine permeability in vitro. Arch Oral. Biol. 36: 561-566

- (10) Habelitz S, Grayson W, Marshall Jr, Balooch M, Marshall S. (2002) Nanoindentation and storage of teeth. *J. Biomech* 35: 995-998
- (11) Sultana S, Nikaido T, Asafujjoha M, Tagami J, Matin K. (2006) Storage media to preserve dentin and their effects on surface properties. *Int Chin J Dent* 6:123-129
- (12) Anjum A, Otsuki M, Matin K, Tagami J.(2009) Preservation in the liquid media produces alterations in enamel surface properties. *J Dent* 37:884-890
- (13) Mendes B, Antunes E, Silveira C, Tadeu W, Oliveira C, Santos M. (2010) Effect of HBSS storage time on human periodontal ligament fibroblast viability. *Dent traumatology* 26: 481-483
- (14) Blomlof L. (1981). Milk and saliva as possible storage media for traumatically exarticulated teeth prior to replantation. *Swed Dent J* 8: 1-26
- (15) Lindskog S, Blomlof L, Hammerstorm L. (1983) Mitosis and microorganism in the periodontal membrane after storage in milk or saliva. *Scand J Dent Periodont* 91: 465-472
- (16) Thomas T, Gopikrishna V, Kandaswamy D.(2008) Comparative evaluation of maintenance of cell viability of an experimental transport media “coconut wáter” with Hank’s balanced salt solution and milk, for transportation of an avulsed tooth: An in vitro cell cultura study. *J Conserv Dent* 11: 22-29
- (17) Oyarzún A, Cordero A, Whittle M.(2002) Immunohistochemical evaluation of the effects of sodium hypochlorite on dentin collagen and glycosaminoglycans. *J Endod.*28: 152-6.
- (18) Gillam DG, Mordan NJ, Newman HN.(1997) The dentin disc surface: a plausible model for dentin physiology and dentin sensitivity evaluation. *Adv Dent*

Res. 11: 487-501

(19) Katz JL, (1971) Hard tissue as a composite materials, bounds on the elastic behavior. J Biomech 4: 455-473

(20) Marshall GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. (1997)The dentin substrate:structure and properties related to bonding. J Dent. 25: 441–458

(21) Schilke R, Lisson J, Bauß O, Geurtsen W. (2000) Comparision of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentin by scanning electron microscopic investigation. Archs Oral Biol 45: 355-361

(22) Mjör IA, Nordahl I(1996) The density and branching of dentinal tubules in human teeth. Arch Oral Biol 41: 401-412

(23) Schlleberg U., Krey G., Bosshardt D. (1992), “Numerical density of dentinal tubules at the pulpal wall of human”. J. Endodont 18: 104-109.

(24) Maroli S, Khera SC, Krell KV. (1992) Regional variation in Permeability of Young dentin. Oper Dent, 17: 93-100

(25) Pashley DH. (1990) “Mechanisms of dentin sensitivity” Dent Clin N Am. 34: 449-473

(26) Trowbridge Ho, Kim S. (1988), “Estructura y función de la pulpa. En.: Cohen S: Los caminos de la pulpa” Ed.: Panamericana 10:391- 450.

(27) Gayrson W. Marshall Jr, Sally J. Marshall, John H. Kinney, Mehdi Balooch. (1997), “The dentin substrate: Structure and properties related to bonding”. J Dent 25:441–458.

(28) Pashley DH, Matthews WG, Zhang Y, Johnson M. (1996), “Fluid shifts across human dentin in vitro in response to hydrodynamic stimuli”. Arch Oral Biol 41:

1065-1072.

(29) Hahn CL, Overton B (1997), "The effect of immunoglobulins on the convective permeability of human dentin *in vivo*". Arch Oral Biol 42:835

(30) Pashley DH, Nelson R, Williams EC. (1981) Dentin Hydraulic Conductance: Changes produced by Red Blood Cells. J Dent Res 69: 1797-1802

(31) Pashley DH, Nelson R, Kepler EE. (1982) The effects of plasma and salivary constituents on dentin permeability. J Dent Res 61: 978-981

(32) Fawzy AS (2010). Variations in collagen fibrils network structure and surface dehydration of acid demineralized intertubular dentin: effect of dentin depth and air-exposure time. Dent Mater. 26: 35-43.

(33) Anderson DJ, Curwen MP, Howard LV (1958) The sensitivity of Human Dentin. J Dent Res 37:669-677.

(34) Brännström M(1963) "Dentin sensitivity and aspiration of odontoblasts" J Am Dent Assoc 66: 366-370

(35) Conejo B., Del Nero M, de la Macorra J.C. (1995), "Medida de la Conductancia Hidráulica en terceros molares humanos. Un estudio *in vitro*". Arch. Odontoestomatol 11: 76-81.

(36) Pashley DH, Thompson SM, Stewart FP (1983), "Dentin Permeability: Effects of Temperature on Hydraulic Conductance". J Dent Res 62: 956-9.

(37) Pashley DH, Livingston MJ. (1978), "Effect of molecular size on permeability coefficients in human dentine". Arch oral Biol 23: 391-395.

(38) Pashley DH, Andringa HJ, Derkson GD, Derkson ME, Kalathoor SR. (1987), "Regional variability in the permeability of human dentine". Arch oral Biol 32: 519-

523.

(39) Pashley DH, Livingston MJ, Outhwaite WC. (1977) Rate of permeation of isotopes through human dentin, in vitro. *J Dent Res* 56: 83-88

(40) Trowbridge HO (1987) Model systems for determining biologic effects of microleakage. *Oper Dent* 12: 164-172

(41) Pashley DH, Livingston MJ, Greenhill JD (1978) "Regional resistances to fluid flow in human dentine in vitro" *Arch Oral Biol* 23: 807-810

(42) Outhwaite WC, Livingston MJ Pashley DH (1976) Effects of changes in surface area, thickness, temperature and post-extraction time on human dentin permeability. *Arch Oral Biol* 21: 599-603

(43) Perdigao, J. (2007). "New developments in dental adhesion". *Dent Clin N Am.* 51 (2): 333-57.

(44) Breschi L, Perdigao J, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Lopez M. (2003) "Immunocytochemical identification of type I collagen on etched human dentin". *J Dent Res* 66: 764-9.

(45) Nagaoka S., Miyazaki Y. Liu HJ. Iwamoto Y. Kitano M. Kawagoe M (1995) Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth. *J Endodont* 21: 70-3

(46) Puapichartdumrong P, Ikeda H, Suda H. (2005) Influence of the pulpal components on human dentine permeability in vitro. *Int End J* 38: 152-159

(47) Hanks C, Wataha J, Sun Z. (1996) In vitro models of biocompatibility: A review. *Dent Mater* 12:186-193

(48) Che Ghazali, F (2003) Permeability of dentine. *Malaysian Journal of Medical*

Sciences, 10: 27-36

(49) Retief DH, Mandras RS, Smith LA, Marchman JL, Bradley EL y Rusell CM (1990) Shear bond strenghts of the tenure dentin bonding systems. Am J Dent 3: 138-142

(50) Goodis HE, Marshall GW Jr, White JM, Gee L, Hornberger B, Marshall SJ. (1993) Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths. Dent Mater 9: 79-84

(51) Ozok AR, Wu MK, Wesselink PR.(2001) The effects of post-extraction time on the hydraulic conductance of human dentine in vitro. Arch Oral Biol. 47:41-46

(52) DeWald JP. (1997) The use of extracted teeth for in vitro bonding studies: a review of infection control considerations. Dent Mater 13: 74-81

(53) Gopikrishna V, Singh Baweja P, Venkateshbabu N, Thomas T, Kandaswamy D. (2008). Comparison of Coconut Water, Propolis, HBSS, and Milk on PDL Cell Survival. J Endodont. 34: 587-589

(54) Ashkenazi M, Marouni M, Saranat H. (2000) In vitro viability, mitogenicity and clonogenic capacity of periodontal ligament cells after storage in four media at room temperature. Endod Dent Traumatol 16: 63-70

(55) American association of endodontics.(1995) Recommended guidelines for the treatment of avulsed permanent tooth. Chicago, IL: American asociation of endodontics,

(56) Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley DH. (1995) Dentinal Fluid Dynamics in Human Teethe, In Vivo. J Endodont. 21: 191-194

(57) De La Macorra J, Escribano N. (2002) Comparison of two methods to measure permeability of dentin. J Biomed Mater Res. 63: 531-534

- (58) Pradelle-Plasse N, Wenger F, Colon P. (2002) Effect of conditioners on dentin permeability using an impedance method. *J Dent* 20: 243-250
- (59) Pashley DH, Livingston MJ, Reeder OW, Horner J. (1978) Effects of the degree of tubule occlusion on the permeability of human dentine in vitro. *Arch Oral Biol* 23 1127-1133
- (60) Camps J, Martin P, Ladeque P, Rieu R, Fusari J. (1994) Influence of tooth cryopreservation on human dentin permeability, in vitro. *Dent Mater* 10: 210-214
- (61) Özok A.R., M.-K. Wu, Wesselink P.R. (2002) Comparison of the in vitro permeability of human dentine according to the dentinal region and the composition of the simulated dentinal fluid. *J Dent*. 30: 107-111
- (62) Tagami J, Tao L, Pashley DH, Hosoda H, Sano H. (1991) Effects of high-speed cutting on dentin permeability and bonding. *Dent Mater* 7: 234-239
- (63) Pashley DH, Carvalho RM. (1997) Dentine permeability and dentine adhesion. *J Dent* 25: 355-372



## ANEXO 1

### **Consentimiento Informado para Participar en el Estudio de Evaluación de Permeabilidad Dentinaria en Terceros Molares Extraídos**

Título del Protocolo : Donación de dientes para el estudio de Materiales Odontológicos y Técnicas Restauradoras.

Investigador Principal : Prof. Dr. Eduardo Fernandez Godoy

Sede de Estudio : Facultad de Odontología, Universidad de Chile – Olivos 943 – Santiago.

Nombre del Paciente :.....

A Usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación odontológica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender los aspectos siguientes. Este proceso se conoce como consentimiento informado y siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme este formulario.

Los aspectos de este formulario tratan los siguientes temas: Justificación del estudio, Objetivos del estudio, Beneficios del estudio, Riesgos asociados al Estudio y Aclaraciones.

#### **Justificación del Estudio.**

Algunos pacientes sufren molestias en sus dientes con posterioridad a los tratamientos de obturaciones odontológicas, se ha observado que este efecto puede relacionarse con algunos materiales dentales utilizados frecuentemente en dichos tratamientos y que puedan perturbar los tejidos al interior de los dientes.

#### **Objetivo del Estudio**

El objetivo del presente estudio es evaluar las posibles variaciones que presente la permeabilidad dentinaria de dientes tratados *in vitro* (en un laboratorio), luego de ser sometidos a diferentes procesos.

#### **Beneficios del Estudio**

La permeabilidad dentinaria, se basa en la perfusión de diferentes materiales a través de la dentina, generando por tanto un canal de comunicación entre la pulpa dental y el medio externo. Es así, como dicha perfusión de materiales, generará diferentes tipos de reacciones en la pulpa, pudiendo tener desde una insignificancia en la generación de síntomas y signos, hasta incluso llegar a sensibilidad y compromiso del estado pulpar.

De esta manera, resulta importante conocer los diferentes factores implicados en la permeabilidad dentinaria, para lo cual es necesario su estudio tanto en modelos *in vivo*, como *in vitro* (que es el caso de este estudio)

#### **Procedimientos del Estudio**

En el caso que usted acepte participar en el estudio se le efectuarán preguntas sobre sus antecedentes sobre salud médica y dental y que los dientes que le serán extraídos por indicación ortodoncica u otra, serán utilizados en el presente estudio.

#### **Riesgos Asociados con el Estudio**

Los posibles efectos adversos del procedimiento de extracción y los medicamentos indicados son los mismos que ocurrirían si sus dientes extraídos no fueran entregados para el estudio.

Como no se efectuará ninguna maniobra adicional destinada solo al estudio, los efectos adversos predecibles o impredecibles son los mismos que si usted no donara sus dientes para el estudio.

En caso que presente algún efecto adverso secundario o requiera de otro tipo de atención por dicho motivo, esta se le entregará en los términos que siempre se le han brindado.

#### **Aclaraciones**

La participación en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.

Si usted decide participar puede retirarse cuando lo desee.  
 No tendrá que efectuar gasto alguno como consecuencia del estudio.  
 No recibirá pago por su participación.  
 Usted podrá solicitar información actualizada sobre el estudio, al investigador responsable.  
 La información obtenida del estudio respecto de la identificación de los pacientes, será mantenida con estricta confidencialidad por los investigadores.  
 Si considera que no existen dudas ni preguntas acerca de su participación, puede si lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado anexa al documento.  
 Solo se utilizaran en el presente estudio dientes extraídos por indicación ortodóntica o de otra especialidad.

**Carta de Consentimiento Informado**

Yo..... he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Estoy de acuerdo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de este formulario de consentimiento.

---

Firma del participante – Padre o Tutor	CI	Fecha
--	----	-------

---

Testigo	CI	Fecha
---------	----	-------

---

Testigo	CI	Fecha
---------	----	-------

**Sección a llenar por el Investigador o su representante:**

He explicado al Sr(a)..... la naturaleza de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que conozco la normativa vigente para realizar investigación con seres humanos y declaro mi apego a ella.  
 Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento

---

Firma del Investigador	CI	Fecha
------------------------	----	-------