



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA RESTAURADORA

**UN MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDIAR LA CONDUCTANCIA
HIDRÁULICA DE LA DENTINA HUMANA *EX VIVO*.**

Javier Alejandro Hevia Retamal

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Eduardo Fernández Godoy.

TUTORES ASOCIADOS
Prof. Dra. María Consuelo Fresno Rivas.
Prof. Dr. Gustavo Moncada Cortés

SANTIAGO - CHILE
2012



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA RESTAURADORA

**MODELO EXPERIMENTAL PARA ESTUDIAR LA CONDUCTANCIA
HIDRÁULICA DE LA DENTINA HUMANA *EX VIVO*.**

Javier Alejandro Hevia Retamal

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Eduardo Fernández Godoy.

TUTORES ASOCIADOS
Prof. Dra. María Consuelo Fresno Rivas.
Prof. Dr. Gustavo Moncada Cortés

SANTIAGO - CHILE
2012

... a mi novia, que siempre ha estado para apoyarme y nos preparamos para iniciar el resto de nuestras vidas juntos.

...a mis padres y hermanos, por su amor y apoyo incondicional, que aunque a la distancia siempre me han acompañado en estos 6 años lejos de la casa.

...a mis tíos y tías, que me adoptaron aquí en Santiago como un hijo más.

AGRADECIMIENTOS:

Agradezco a mis profesores guías, Prof. Dr. Eduardo Fernández, Prof. Dr. Gustavo Moncada y en especial a la Prof. Dra. María Consuelo Fresno. Por su apoyo, tiempo y disposición; y porque gracias a ellos, realizar este trabajo fue una experiencia grata y enriquecedora. Muchas gracias también al Dr. Javier Martin por su ayuda y apoyo.

Agradezco también al Prof. Dr. Rolando Schulz y la Dra. Bárbara Cerda, por sus consejos, cariño y cercanía; y por su tiempo y ayuda en la finalización de este proceso.

Gracias a mis padres, por su amor, apoyo y por guiarme hasta transformarme en la persona que soy ahora. Desde lejos siempre los extrañé, pero siempre los sentí conmigo a lo largo de este camino.

Gracias Pacita, Erwin, Iván, Lore, y sobrinos. Los quiero mucho.

Agradezco a mis Tíos por abrirme las puertas de sus casas y hacerme sentir como un hijo más.

Gracias a mis suegros, por sus consejos y cercanía desde el día en que nos conocimos.

Gracias a mis amigos, por hacer de estos años una época inolvidable.

Índice General

Introducción	1
Marco Teórico.....	3
I. Morfología y estructura dentaria.	3
II. Estudio de la conductancia hidráulica o permeabilidad dentinaria	4
III. Determinantes de la permeabilidad dentinaria:	5
Determinantes relacionados a la estructura del diente:	6
Determinantes relacionados al modelo experimental:.....	7
IV. Desinfección y almacenamiento de dientes:.....	9
Desinfección de Dientes:	9
Almacenamiento de dientes:.....	9
Objetivos:	11
Objetivo general:.....	11
Objetivos específicos:.....	11
Hipótesis:.....	12
Materiales y métodos	13
Resultados	20
Discusión	32
Conclusiones.....	35
Referencias bibliográficas.....	36
Anexos.....	39

RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue montar y probar un modelo experimental para medir la conductancia hidráulica de la dentina humana *ex vivo*.

Diecisiete terceros molares sanos, libres de caries con indicación de exodoncia, de donantes sanos de edades entre 15 y 30 años fueron obtenidos mediante consentimiento informado. Luego de limpiarlos, desinfectarlos, incluirlos en resina epóxica y cortarlos se obtuvieron 17 muestras de dentina, correspondiente a un disco de resina con un corte coronal de diente que presenta dentina expuesta en ambas caras de éste.

Tres máquinas para medir la conductancia hidráulica de la dentina fueron armadas siguiendo la descripción del modelo de Pashley y colaboradores, utilizando materiales simples y fáciles de obtener.

Las muestras fueron instaladas en una cámara de difusión, conectada mediante tubos de silicona a una pipeta graduada y una columna de agua de 20cm. Mediante el desplazamiento de una burbuja de agua al interior de la pipeta, se midió la conductancia hidráulica de cada muestra, 3 veces los días 14, 21, 28 y 35 postextracción. Los datos fueron tabulados y analizados estadísticamente.

No existe diferencia estadísticamente significativa en la tasa de flujo de una muestra medida en las tres máquinas. ($p=0,5937$). No existe diferencia estadísticamente significativa en las mediciones de la conductancia hidráulica de 13 muestras de dentina humana medida en los días 14, 21, 28 y 35 postextracción. ($p=0,0704$).

Es posible montar un modelo experimental para estudiar la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*, basado en el modelo de Pashley y colaboradores con materiales simples y fáciles de obtener. El modelo pareciera ser confiable, pero es necesaria más investigación para poder validar su confiabilidad.

INTRODUCCIÓN

La dentina forma la estructura central de los dientes. Su espesor está atravesado por túbulos que se extienden desde la pulpa hasta el límite amelodentinario o cementodentinario. Estos túbulos le confieren la característica física de permeabilidad.

La permeabilidad de un material puede ser definida como la capacidad para permitir el paso de un solvente o solución a través de él. Si bien la permeabilidad de un material puede ser total para el agua, solutos en ella pueden o no pasar a través del mismo material. Para distinguir esta diferencia, la conductancia hidráulica es definida como la capacidad de un material para permitir el paso de agua destilada a través de él.

La primera descripción de permeabilidad de sustancias a través de la dentina fue dada por Fritsch en 1914.(1) En la década de los 40, Lefkowitz observó como un colorante inyectado en la pulpa de un diente, penetró en toda la dentina en un poco más de media hora.(2) Algunos años después, Bodecker y Lefkowitz observaron como el colorante de un material de obturación puesto en una cavidad profunda, fue capaz de pasar a zonas adyacentes del esmalte, dentina y pulpa.(3) A partir de estos estudios se comienza a definir el concepto de “permeabilidad dentinaria”, que en la actualidad se define como el pasaje de fluidos, iones, moléculas, partículas y bacterias en y a través de la dentina bajo diferentes condiciones.(4)

Pashley y colaboradores han estudiado la relación de la permeabilidad de la dentina con su topografía, morfología y con distintas soluciones. También se ha investigado la permeabilidad de diversos componentes de los materiales dentales y su posible efecto citotóxico en las células pulpares.(5) Otra línea de investigación que nace de la permeabilidad dentinaria, es la prueba de sistemas adhesivos. Producto de la hidratación y naturaleza compleja de éste tejido, la adhesión a la dentina y el sellado de las superficies dentinarias expuestas continúa siendo una problemática a pesar de los avances en la odontología adhesiva. Modelos de permeabilidad han sido usados para calcular la capacidad de los sistemas

adhesivos para sellar la dentina y para determinar la fuerza de adhesión a ella de distintos sistemas adhesivos, cementos y otros materiales dentales. (6)(7)

A pesar de ser un campo con mucha investigación a la fecha, existe muy poca información acerca de la permeabilidad de la dentina en distintos estados de maduración o de variables sistémicas que pudieran afectar la maduración o composición de ella y su permeabilidad. La información existente acerca de cómo funcionan los modelos experimentales para estudiar la permeabilidad de la dentina *ex vivo*, es poca.

Para comenzar a estudiar la permeabilidad de la dentina es necesario montar un modelo experimental confiable y simple que permita estudiarla *ex vivo* y así poder usarlo en futuros trabajos destinados a estudiar variables intra individuo o variables sistémicas que pudiesen afectarla. Algunas de éstas son la edad, maduración del tejido dentinario o condiciones sistémicas como diabetes o tabaquismo.

El presente trabajo, tomará la descripción de un modelo experimental que se ha usado desde 1974. Será montado utilizando materiales comunes y fáciles de obtener, y puesto en marcha para establecer la confiabilidad de las mediciones de conductancia hidráulica (permeabilidad de agua destilada) de dentina humana *ex vivo*.

Este modelo tomado de trabajos anteriores podrá entonces, ser usado para futuros trabajos destinados a estudiar nuevos determinantes en la permeabilidad de la dentina de los dientes humanos *ex vivo*.

MARCO TEÓRICO

I. MORFOLOGÍA Y ESTRUCTURA DENTARIA.

La dentina es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que lo conforma en mayor volumen. En la porción coronaria está recubierta por el esmalte mientras que en la región radicular se encuentra tapizada por el cemento. Interiormente la dentina delimita una cavidad denominada cámara pulpar, que contiene a la pulpa dental.(8)

El grosor de la dentina en molares es de 3mm aproximadamente. Varía siendo mayor en los bordes incisales y menor hacia la raíz.(8) Está compuesta, en volumen, por 50% de matriz inorgánica de hidroxiapatita carbonatada, una matriz orgánica equivalente al 30% y un 20% de agua.(9)

La dentina es atravesada en todo su espesor por los túbulos dentinarios que contienen los procesos odontoblásticos, rodeados de líquido tisular.(8)

Hay mayor cantidad de túbulos por unidad de superficie en las capas de dentina próximas a la pulpa, en una densidad cercana a 45.000 por mm^2 , representando el 30% del volumen de ésta. En las regiones más externas existen 15.000 a 20.000 túbulos dentinarios por mm^2 , representando el 1% de su volumen.(8)

El grosor de los túbulos también varía, siendo más anchos en la proximidad de la pulpa ($4\mu\text{m}$ de diámetro) que en la zona periférica ($1,7\mu\text{m}$ de diámetro). Con la edad se produce la obliteración gradual de la luz tubular lo que modifica su capacidad permeable.(8)

La dentina posee permeabilidad debido a la presencia de los túbulos dentinarios, que permiten a distintos elementos, componentes orgánicos, inorgánicos y líquidos, penetrar con relativa facilidad hacia y desde el interior.(8)

II. ESTUDIO DE LA CONDUCTANCIA HIDRÁULICA O PERMEABILIDAD DENTINARIA

La conductancia hidráulica de un tejido expresa la facilidad con la que un fluido puede moverse a través de un área determinada bajo una presión constante por unidad de tiempo(10), que se explica en la siguiente ecuación. “La conductancia hidráulica equivale al flujo de fluido a través de una superficie determinada por unidad de tiempo a una presión constante”(10).

$$L_p = J_v / A t (P)$$

L_p : conductancia hidráulica $\mu\text{L} / \text{min} \cdot \text{cm}^2$. (cmH_2O)

J_v : flujo de fluido en μL .

A : área de la superficie de dentina en cm^2 .

t : tiempo en min.

P : presión en cmH_2O

La medición de la conductancia hidráulica *ex vivo* entrega información acerca de los factores físicos que determinan el movimiento del fluido tubular y de la permeabilidad de la dentina. Outhwaite y colaboradores describieron por primera vez en 1974 un sistema para evaluar la tasa de flujo de fluido y la conductancia hidráulica a través de un disco de dentina usando una cámara de difusión.(11) Esta cámara fue creada por la necesidad de estudiar la dentina, eliminando previamente la capa de esmalte existente sobre ésta. La cámara de difusión aumenta el volumen de solución que puede ser puesta en contacto con la preparación y minimiza la evaporación de ella.(12) En este sistema, discos de cortes coronales de dentina son puestos en una cámara de difusión y sostenidos fuertemente entre dos anillos de goma. La porción superior de la cámara de difusión se encuentra abierta. Una micropipeta se interpone entre el reservorio de solución y la porción inferior de la cámara de difusión para permitir la cuantificación del movimiento de fluido en el sistema. El reservorio de solución se encuentra en altura para producir una presión de $20\text{cmH}_2\text{O}$ en la solución que fluye en la cámara de difusión a través de la dentina en dirección pulpo-adamantino del disco de dentina.(12)

Desde su desarrollo, y con ligeras modificaciones ha sido utilizado para evaluar la permeabilidad no solo de discos de dentina, sino también de dentina en preparaciones profundas y dientes restaurados, siendo así uno de los sistemas que ha permitido medir la capacidad de sello de los materiales restauradores.(6) Además se han podido investigar numerosos fenómenos de la permeabilidad dentinaria tanto en dientes completos como en discos de dentina. Gracias a ello se conocen los distintos determinantes de la permeabilidad dentinaria y el comportamiento del fluido dentinario cuando es sometido a sustancias externas al diente como primers y sistemas adhesivos.

Los valores de la conductancia hidráulica en diferentes preparaciones de especímenes de dentina varía entre $1,5 \times 10^{-3} \mu\text{l.cm}^2.\text{min.cmH}_2\text{O}$ a $8.97 \times 10^{-3} \mu\text{l.cm}^2.\text{min.cmH}_2\text{O}$. Estos resultados han sido obtenidos usando un amplio rango de gradientes de presión hidrostática, porque los diferentes grupos de investigación no han estandarizado ni la presión hidrostática ni, el tiempo de aplicación.(13)

Es sabido que la permeabilidad de la dentina depende de las características biológicas de cada diente(12)(13)(14)(15), pero no existe conocimiento acerca de condiciones sistémicas que puedan afectar la conductancia hidráulica y por consiguiente la permeabilidad de ésta.

III. DETERMINANTES DE LA PERMEABILIDAD DENTINARIA:

La permeabilidad de la dentina puede variar dependiendo de un número de determinantes. Está relacionada a un número de factores físicos: número de túbulos, diámetro funcional de los túbulos, grosor de la dentina, agua, concentración del fluido dentinario, presencia de barro dentinario y otros precipitados.(14) Otros factores que determinan la permeabilidad de la dentina en un modelo experimental como el que se propone en este estudio son: el grosor de la muestra, el área de la superficie de dentina sometida a difusión, el líquido a difundir y la temperatura de dicho líquido.

Para ordenarlos, serán divididos en dos grupos:

- Dependientes de la estructura dentaria.
- Dependientes del protocolo experimental.

DETERMINANTES RELACIONADOS A LA ESTRUCTURA DEL DIENTE:

i. Densidad y diámetro de los túbulos dentinarios:

La densidad y diámetro de los túbulos dentinarios aumenta al aumentar la profundidad desde el límite amelo dentinario a la cámara pulpar.

La permeabilidad aumenta rápidamente al acercarse a la cámara pulpar y es proporcional al producto entre el diámetro y número de túbulos.(15) A mayor diámetro de los túbulos, mayor es la tasa de flujo de fluido y consecuentemente el valor de la permeabilidad.(6)

ii. Edad y características de cada diente en particular:

Cada diente tiene sus propias características que lo hacen diferente de otros.(16)

Existen diferencias en la permeabilidad de la dentina de dientes de distintos grupos etarios(16), siendo menos permeables al aumentar la edad. Esto se debe a la obliteración gradual de los túbulos que ocurre fisiológicamente con la maduración de la dentina.

Otros factores que pueden reducir la permeabilidad de la dentina son la aposición normal de dentina intratubular; precipitación de materiales intratubulares como depósitos minerales, fibras colágenas o productos bacterianos; la coagulación de proteínas del plasma desde vasos sanguíneos pulpares en los túbulos dentinarios bajo una cavidad recientemente trabajada y formación de barro dentinario luego de la preparación de una cavidad.(17)

iii. Localización de la dentina en un mismo diente:

La permeabilidad de la dentina humana puede variar significativamente dependiendo de la localización en un mismo diente. Aumenta en dirección ápico-coronal y desde dentina superficial a profunda. En la superficie oclusal es considerablemente mayor en la cercanía de los cuernos pulpares que en la zona oclusal media. Por esto es necesario para poder comparar, que los discos dentinarios sean de grosores uniformes y de una proximidad similar a la pulpa.(18)

La diferencia en la permeabilidad de la dentina central y la dentina sobre los cuernos pulpares puede deberse a que hay menor densidad de túbulos y a que los túbulos en la dentina central pueden tener un menor diámetro al encontrarse éstos más alejados de la pulpa.(19)

iv. Tiempo postextracción:

Aunque en distinta magnitud, los datos muestran que la permeabilidad dentinaria aumenta con el tiempo postextracción de un diente (Pashley et al., 1978; Goodis et al., 1991). Después de la extracción del diente la permeabilidad puede duplicarse luego de una semana y continúa aumentando a medida que pasa el tiempo. Esto indica que incluso sin manipulación experimental, es esperable un cambio en la permeabilidad dentinaria que pueda alterar los resultados. Entre 7 y 9 días posteriores a la extracción, la permeabilidad dentinaria aumenta. Desde el día 9 y hasta el día 37 postextracción no se observan cambios sustanciales en la permeabilidad, indicando que se establece una fase de estabilidad de ésta.(20)

DETERMINANTES RELACIONADOS AL MODELO EXPERIMENTAL:

i. Grosor de la muestra de dentina:

El grosor de la dentina también hace variar los valores de la conductancia hidráulica o la permeabilidad dentinaria. Al reducir secuencialmente el grosor de las muestras y estandarizar el área, se ha demostrado que a medida que

disminuye el grosor de la dentina, la tasa de filtración o conductancia hidráulica de ésta aumenta en forma proporcional.(21)

ii. Área de dentina expuesta en el corte transversal:

El área de la superficie de dentina expuesta también tiene un efecto en la tasa de filtración. Cuando el área de dentina expuesta en preparaciones de dentina de un grosor constante aumenta, se evidencia un aumento lineal en la tasa de filtración o conductancia hidráulica de ésta.(18)

iii. Presencia de barro dentinario u otros precipitados:

El barro dentinario es capaz de reducir el flujo a cero. Su remoción aumenta el valor de la permeabilidad.(14) Éste se observa en todas las superficies de dentina preparada con instrumentos de corte y es el responsable de obliterar los túbulos dentinarios y disminuir la permeabilidad dentinaria en un 86%.(22) Usando ácido cítrico al 6% por intervalos de tiempo corto se logra la remoción secuencial del barro dentinario en la dentina humana y la permeabilidad dentinaria aumenta alcanzando un máximo valor después de gravar la dentina por 15 segundos con ácido cítrico al 6%.(23)

iv. Viscosidad y temperatura del fluido a difundir:

Existe relación entre la viscosidad del fluido de perfusión y la permeabilidad de la dentina. A medida que aumenta la viscosidad del fluido disminuye su perfusión a través de ella.(14)

Otra variable física que ha demostrado afectar la permeabilidad dentinaria es la temperatura del líquido. Se produce un aumento en la conductancia hidráulica a medida que aumenta la temperatura del líquido perfundido y es estadísticamente significativo cuando la temperatura aumenta desde los 10°C a 50°C.(12) Esto se explica por los efectos de la temperatura sobre la viscosidad del agua y sobre el diámetro de los túbulos dentinarios. La viscosidad del agua es mayor a bajas temperaturas y disminuye a medida que la temperatura aumenta. A medida que la dentina se calienta, los túbulos

dentarios se vuelven ligeramente más amplios debido al coeficiente de expansión lineal de la dentina.(12)

v. Tratamiento de superficie de la dentina:

La conductancia hidráulica varía al aplicar tratamientos como acondicionadores cavitarios, primers de sistemas adhesivos, y soluciones desinfectantes.(6)

IV. DESINFECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE DIENTES:

DESINFECCIÓN DE DIENTES:

La desinfección y la esterilización han progresado en forma importante en el último siglo gracias al descubrimiento y uso de agentes químicos y antibióticos. Estos agentes han sido muy estudiados para disminuir el riesgo de infección y transmisión de enfermedades durante procedimientos médicos o dentales. Sin embargo, el riesgo de infección no es exclusivo de la práctica clínica, también existe en procedimientos llevados a cabo para investigación. Por esto es necesario contar con una solución desinfectante para almacenar los dientes que se utilizan en investigación y ésta no debe alterar las propiedades de los tejidos dentarios. Está comprobado que una solución desinfectante de Timol al 0,1% no afecta las propiedades físicas de los dientes.(24)

ALMACENAMIENTO DE DIENTES:

Las muestras preparadas para modelos experimentales que buscan medir propiedades mecánicas de los dientes, deben ser almacenadas en medios acuosos para mantener la hidratación de los tejidos. El almacenamiento de las muestras puede tener efectos tan relevantes en la estructura de los tejidos dentarios como el grabado ácido o la disolución de sus componentes. Es por esto que se hace necesario contar con un medio de almacenamiento que sea capaz de mantener las propiedades mecánicas de ellos. Las propiedades mecánicas de los tejidos mineralizados son sensibles a su contenido mineral. Pruebas para medir propiedades mecánicas como el módulo elástico en tejidos mineralizados pueden usarse para determinar cambios en su contenido mineral.(25) La nanoindentación

se ha vuelto una técnica habitual para determinar las propiedades mecánicas de tejidos duros. En 2002, Habelitz *et. al.* usó la nanoindentación para medir las características mecánicas del esmalte y de la dentina, y encontró que la solución de Hank, (Hank's Balanced Saline Solution) HBSS, no altera la dureza del esmalte ni de la dentina al ser usado como medio de almacenamiento durante 14 días.(25) Por eso para mantener las propiedades físicas de los tejidos dentales se recomienda el almacenamiento de las muestras en HBSS.(25)

OBJETIVOS:

OBJETIVO GENERAL:

Montar y probar un modelo experimental confiable para medir la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Obtener un disco de dentina de 1mm (+/- 0,1mm) de cada diente.
- Montar 3 máquinas para medir la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*.
- Medir la conductancia hidráulica de una muestra de dentina en las 3 máquinas y determinar si ellas entregan mediciones sin diferencias estadísticamente significativas.
- Medir la conductancia hidráulica de las muestras de dentina humana los días 14, 21 y 28 y 35 postextracción.
- Determinar si las mediciones de conductancia hidráulica obtenidas mediante el modelo experimental presentan diferencias estadísticamente significativas entre sí.
- Determinar si el modelo experimental montado permite estudiar la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*.
- Determinar si el modelo experimental montado es confiable para estudiar la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*.

HIPÓTESIS:

Es posible montar un modelo experimental para estudiar la conductancia hidráulica de la dentina humana *ex vivo*.

El modelo experimental montado y probado es confiable para medir la conductancia hidráulica de la dentina humana *ex vivo*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio correspondió a un estudio observacional *ex vivo*.

La muestra correspondió a 17 terceros molares humanos superiores e inferiores. Los criterios de inclusión fueron: dientes sanos, libres de caries, con indicación de exodoncia, de pacientes adultos sanos ASA I, de edades entre 15 y 30 años, que fueron extraídos en una sola pieza sin la necesidad de realizar odontosección. Todos los participantes del estudio donaron sus molares previa firma de un consentimiento informado (Anexo 1). En el caso de menores de edad, dicho consentimiento fue firmado por su representante legal.

Inmediatamente después de la exodoncia, cada espécimen fue limpiado con gasa y suero fisiológico, e identificado para almacenar en forma individual durante todo el transcurso del estudio. Cada uno fue desinfectado sumergiéndolo durante 24 horas en una solución de timol al 0,1%. Posteriormente, cada molar fue enjuagado y mantenido inmerso en solución de Hank HBSS (Sigma® Hanks' Balanced salt solution).(20)

Entre el día 2 y 4 postextracción, cada molar fue sacado del medio de conservación para ser incluido en un bloque cilíndrico de resina epóxica de 25mm de diámetro. Para esto cada molar fue limpiado para eliminar todos los restos de ligamento periodontal usando curetas (HuFriedy® 5-6). Luego, y para asegurar un sellado hermético e íntimo contacto entre la superficie de la resina epóxica y del molar, el esmalte coronal de cada molar fue sometido a tratamiento de superficie con ácido fosfórico al 35% (Coltène® Etchant Gel S) por 30 segundos, lavado con agua destilada por 60 segundos, secado con aire y pincelado con cianoacrilato (Ceys® Super Ceys Pincel).

Los molares fueron situados en el interior de un molde cilíndrico de 25mm de diámetro, apoyados sobre la cara oclusal en el centro del molde haciendo coincidir su eje mayor con el eje del cilindro. Cada molde fue vaciado con resina epóxica, esperando la polimerización durante 48 horas. Posteriormente, los bloques de resina epóxica fueron sacados de sus moldes y se obtuvieron cilindros

de 25mm de diámetro, en cuyo interior se encontraba un molar (Cilindro). (Imagen 1, Imagen 2)



Imagen 1: Tercer Molar, Desinfectado y limpio, listo para su inclusión en resina epóxica.



Imagen 2: Cilindro. Tercer Molar incluido en resina epóxica.

Con el objetivo de obtener discos de dentina de 1mm de grosor, se realizaron 2 cortes perpendiculares al eje mayor usando la recortadora Isomet 1000 (Buehler Ler Lakebuff®). Un primer corte coronal para eliminar las cúspides y exponer la dentina y un segundo corte 1mm hacia cervical. Los cortes se realizaron a 700rpm y 500gr de presión, bajo abundante refrigeración por agua. Una vez realizado el primer corte todos los cilindros fueron observados con lupa, para asegurarse que el esmalte oclusal hubiese sido completamente eliminado. La superficie fue lijada con papel abrasivo (n. 600 Silicon carbide) bajo agua circulando para regularizarla y eliminar los surcos dejados por la recortadora previo a realizar el segundo corte. Luego de ambos cortes se obtuvo un disco cilíndrico de 1mm (+/- 0,1mm) de grosor con una muestra de dentina en el centro (muestra) (Imagen 3, Imagen 4). La cara pulpar del corte fue lijada para regularizar la superficie usando papel abrasivo (n. 600 Silicon carbide) bajo agua circulando. Cada disco fue rotulado usando un marcador permanente identificando el número de muestra y las caras pulpar y oclusal de cada una. Cada muestra fue luego etiquetada de acuerdo a la fecha de exodoncia y conservada sumergida en solución de Hank hasta su utilización.

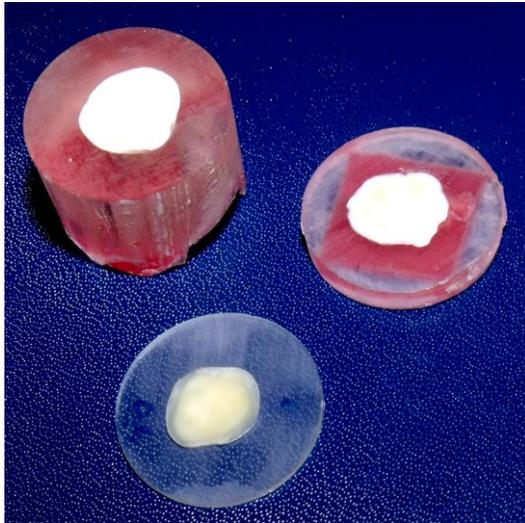


Imagen 3: Cilindro recortado; Corte de esmalte oclusal; Muestra

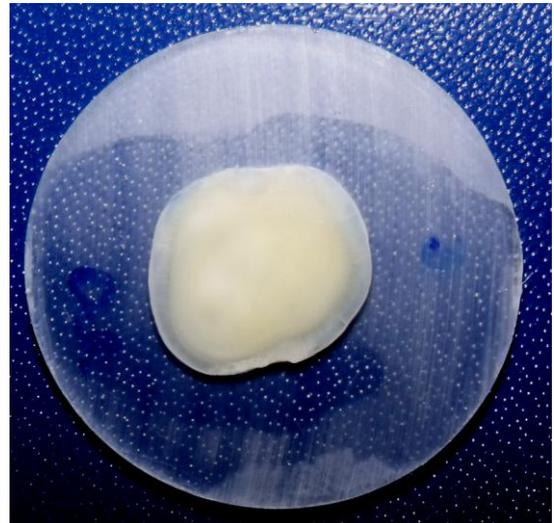


Imagen 4: Muestra.

Para medir la conductancia hidráulica de los discos de dentina tres máquinas fueron montadas usando como referencia el modelo original de Pashley.(12) Éstas estaban constituidas por las siguientes partes. (Imagen 6)

- **Columna de Agua:** Se montó una bureta sostenida por una pinza de bureta sobre un soporte universal. En el soporte universal se montó además una regla milimetrada. La bureta se llenó de agua destilada y el espejo de agua en el interior de ésta se hizo coincidir con el nivel 40cm desde la base del soporte universal medido por la regla montada en él.
- **Capilar Milimetrado:** La bureta se conectó en su extremo mediante tubos de silicona a una pipeta de 0,1ml en posición horizontal para ser usada como capilar milimetrado. En su interior se ingresó una burbuja de aire de 10ul usando una microjeringa, la cual permitió la medición visual de tasa de difusión, medido en relación al desplazamiento de la burbuja en el interior del capilar.
- **Cámara de Difusión:** En el otro extremo de la pipeta, usando capilares de silicona, se conectó un portafiltro atornillable de 25mm de diámetro (Millipore® Swinnex), el cual se sostuvo en su lugar usando una pinza y otro soporte universal. En el soporte universal se adicionó una regla

milimetrada. El portafiltro se posicionó en el nivel 20cm desde la base del soporte universal medido por la regla montada en éste. (Imagen 5)



Imagen 5: Cámara de difusión.

La máquina completa se llenó con agua, evitando que quedaran burbujas en el interior de los tubos de silicona.

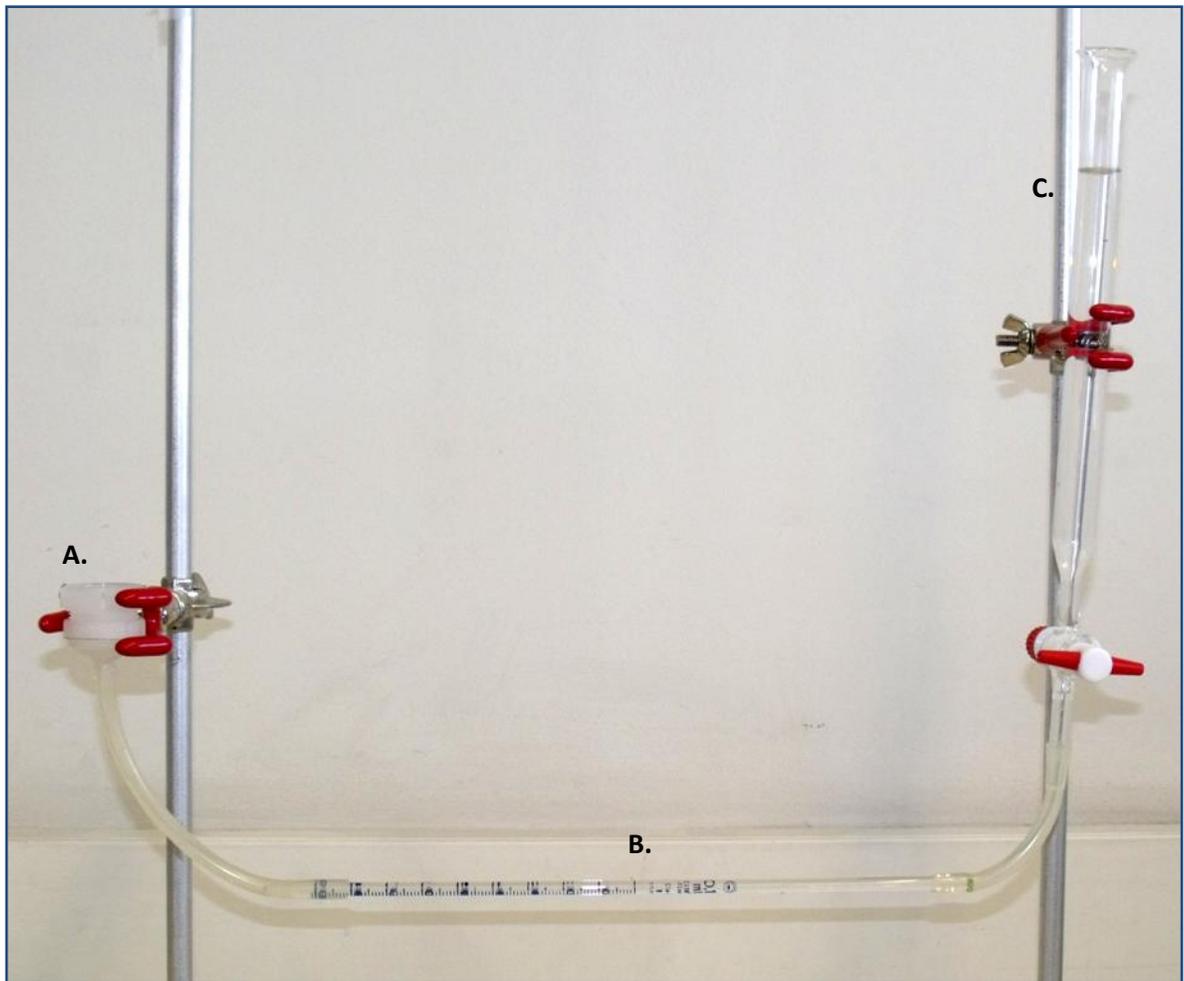


Imagen 6: Máquina de Difusión; A: Cámara de Difusión; B: Capilar Milimetrado; C: Columna de Agua.

Para asegurar que las tres máquinas funcionaran de la misma manera y evitar errores en los resultados producto del uso indistinto de ellas, la muestra número uno se utilizó para controlar su correcto funcionamiento.

Previo a medir por primera vez la tasa de filtración de cada muestra, éstas fueron sometidas a tratamiento de superficie tanto en su cara oclusal como pulpar con el objetivo de eliminar la capa de barro dentinario que obliteraba los túbulos dentinarios y que se produjo durante el corte y la regularización de la superficie de cada muestra. Ambas caras fueron grabadas por 30 segundos con ácido fosfórico en gel al 35% (Coltène® Etchant Gel S). Luego cada muestra fue lavada con agua destilada por un minuto.

Para medir la tasa de flujo de las muestras de dentina, cada muestra fue instalada al interior de la cámara de difusión, sellando la muestra utilizando o-rings de silicona. A través de la máquina, la muestra fue sometida a una presión de 20cm de agua destilada en su lado pulpar, midiendo indirectamente gracias al desplazamiento de la burbuja al interior del capilar, la tasa de difusión desde el lado pulpar al lado oclusal de cada muestra. Usando un cronómetro, se registró el tiempo que demoró en difundir a través de la dentina un volumen de 10ul / 0,01ml.

La muestra número uno se usó como control para comprobar el correcto funcionamiento de las tres máquinas y que éstas entregaran el mismo resultado. Para esto, la muestra número uno fue instalada en las tres máquinas y medida su tasa de filtración 3 veces en cada una el mismo día. Estos valores fueron tabulados y analizados estadísticamente.

Además se usó un disco sólido de resina epóxica como control negativo y se dejó la cámara de difusión sin interponer ninguna muestra como control positivo.

Las muestras 2 a la 17 fueron instaladas y medida su tasa de filtración 3 veces en los días 14, 21, 28 y 35 postextracción. Así se obtuvo para cada muestra 12 medidas independientes tomadas en 4 tiempos distintos. Una vez utilizada, cada muestra fue retirada de la cámara de difusión y almacenada debidamente identificada, sumergida en solución de Hank hasta su próximo uso.

En cada medición, las muestras fueron observadas durante el tiempo que fuese necesario para que la burbuja al interior del capilar milimetrado se desplazara indicando un volumen de líquido difundido a través de la muestra de 10ul. El tiempo fue registrado y tabulado utilizando el programa computacional Microsoft Excel 2007(©2007 Microsoft Corporation)

Una vez finalizada la etapa de mediciones del día 35 postextracción, cada muestra fue fotografiada en forma estandarizada sobre una hoja milimetrada a 30 cm de distancia con una máquina fotográfica Nikon coolpix D90 (2009 Nikon® Corporation). Las imágenes digitales de las muestras fueron procesadas usando el programa de Procesamiento y Análisis de imagen ImageJ

(©National Institute of Health 2010). (26) De esta forma, fue posible calcular el área de dentina de cada muestra. Estos datos fueron tabulados.

Usando la tasa de filtración obtenida en las mediciones de cada muestra y el área de cada muestra, se calculó la conductancia hidráulica de la dentina de cada una de ellas. Los datos fueron tabulados usando el programa computacional Microsoft Excel 2007(©2007 Microsoft Corporation) y analizados estadísticamente mediante el programa computacional Stata 11 (©2009 StataCorp LP) usando las pruebas estadísticas de Shapiro-Wilk y Kruskal-Wallis.

El Test de Shapiro–Wilk se usa para contrastar la normalidad de un conjunto de datos.

El Test ANOVA se utiliza en las situaciones en las que nos interesa analizar una respuesta cuantitativa, llamada habitualmente variable dependiente, medida bajo ciertas condiciones experimentales, llamadas variables independientes. El objetivo principal del ANOVA es contrastar si existen diferencias entre las diferentes medias de los niveles de las variables. Cuando el análisis de la varianza no es aplicable debido a incumplimientos de las suposiciones del modelo (distribución normal) es necesario aplicar la prueba de Kruskal-Wallis.

La prueba de Kruskal-Wallis es el método más adecuado para comparar poblaciones cuyas distribuciones no son normales.

RESULTADOS

De los 17 terceros molares utilizados en el estudio se obtuvo una muestra o disco de dentina de 1mm (+/-0,1mm) identificado con números correlativos.

La tasa de flujo del control negativo fue 0.

La tasa de flujo del control positivo fue 6338 μ L/min.

La muestra 1 fue utilizada para comprobar el funcionamiento de las 3 máquinas. Se sometió a medición de tasa de flujo 3 veces en cada máquina en el mismo día. Los resultados se presentan en la siguiente tabla y gráfico (Tabla 1, Gráfico 1).

	Medición 1	Medición 2	Medición 3
Máquina 1	0,65075	0,63761	0,64034
Máquina 2	0,65430	0,64864	0,64102
Máquina 3	0,64864	0,64446	0,64239

Tabla 1: Tasa de Flujo (μ L/min) de la muestra 1 en las 3 máquinas.

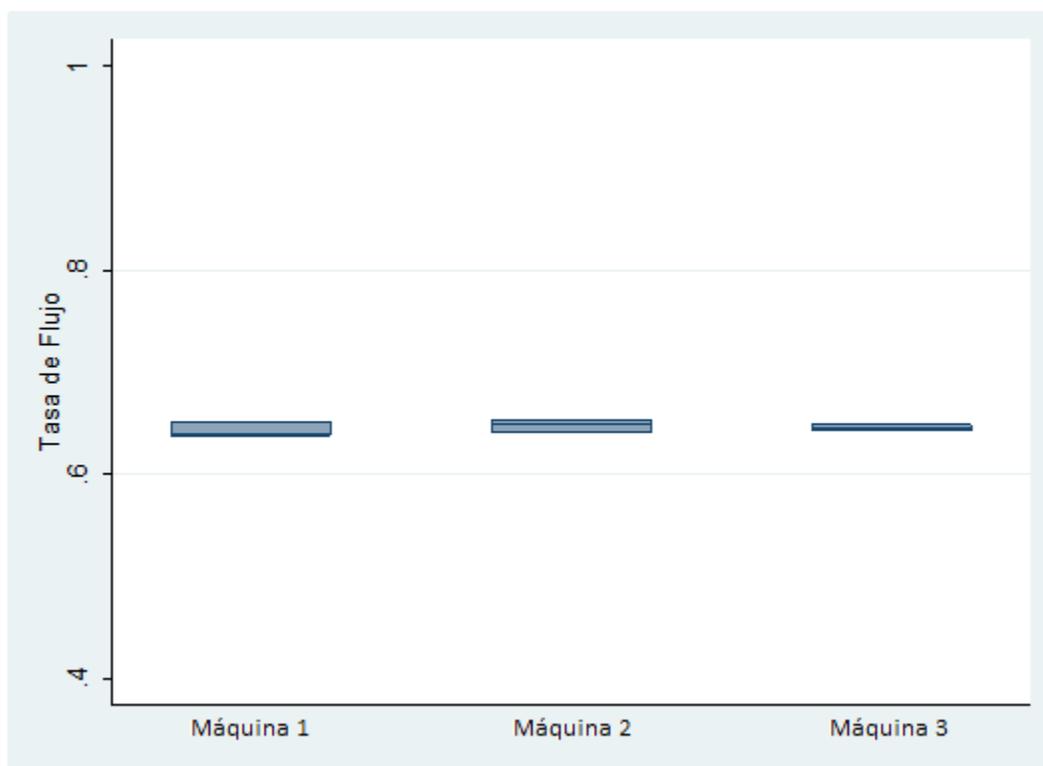


Gráfico 1: Distribución medidas de Tasa de flujo en las 3 máquinas.

Estos valores de tasa de flujo fueron analizados estadísticamente. (Tabla 2, Tabla 3)

Variable	N°	Mean	Std. Dev.	Min.	Max.
Tasa de Flujo	9	0,64535	0,00552	0,63761	0,65430

Tabla 2: Análisis descriptivo medidas de tasa de flujo de la muestra 1 en las 3 máquinas.

En total fueron 9 mediciones de tasa de flujo. El promedio de la tasa de flujo de la muestra en las 3 máquinas fue de 0,6454575 $\mu\text{L}/\text{min}$, con una desviación estándar de 0,005526 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Number of obs = 9 R-squared = 0,1595
 Root MSE= 0,00585 Adj. R-squared = -0,1206

Source	Partial SS	df	MS	F	Prob>F
Model	.000038974	2	.000019487	0.57	0.5937
Máquina	.000038974	2	.000019487	0.57	0.5937
Residual	.000205319	6	.00003422		
Total	.000244293	8	.000030537		

Tabla 3: ANOVA de los datos de tasa de flujo de la muestra 1 en las 3 máquinas.

El análisis ANOVA nos muestra que el valor de “p” para la tasa de flujo de la muestra 1 en las 3 máquinas es “p=0,5937”. Esto significa que no existe diferencia significativa en las medidas realizadas en las 3 máquinas.

Las muestras de la 2 a la 17, fueron medidas 3 veces los días 14, 21, 28 y 35 postextracción. La conductancia hidráulica de las muestras se presenta en la siguiente tabla. (Tabla 4)

Conductancia hidráulica. ($\mu\text{L}/\text{min. cm}^2$)						
Muestra.	Día 14.			Día 21.		
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
2	0,57954216	0,57920145	0,55914965	0,93297507	1,00124154	0,98325516
3	1,52998776	1,51998784	1,51750825	1,37405105	1,262188	1,23865853
4	0,90906336	0,91130427	0,9143094	1,16131655	1,2268333	1,17236501
5	1,09809864	1,11794923	1,12441671	1,02837809	0,9767008	0,91928663
6	1,43535519	2,0006869	1,46218426	4,03231226	3,81594429	3,97090649
9	1,3053467	1,76497582	2,05431612	2,30167255	2,22889239	2,22011722
10	4,48095594	4,48095594	3,23624595	5,27648797	5,35408338	5,10986203
11	3,23944346	2,65270753	2,16187391	1,69911986	1,56370128	1,39018897
12	2,29510454	2,48083555	2,49525901	2,54708931	2,49525901	2,39767905
13	0,71179021	0,68019807	0,68205147	1,50187735	1,44134102	1,51398926
14	0,63918185	0,60938947	0,62027813	1,34228188	1,22620147	1,19137445
15	0,45386054	0,46670307	0,46307873	1,24629228	1,10583994	1,1871268
16	15,6188989	16,374652	17,2072615	1,80967634	1,86966561	1,77177736
17	0,83718205	0,83382436	0,81743201	1,48323573	1,40631482	1,36926591
Muestra.	Día 28.			Día 35.		
	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Medición 1	Medición 2	Medición 3
2	0,99316701	1,00124154	1,00430344	1,06051849	1,03598494	1,03816826
3	1,21124031	1,24031008	1,22077764	1,07293259	1,04403205	1,05349101
4	1,19898087	1,2094409	1,23640725	1,10244265	1,10025526	1,11575181
5	0,96219534	0,99237361	1,01155704	1,03071532	0,93701392	0,96219534
6	3,8535398	3,95085141	3,89188348	2,71621034	2,51533305	2,66985863
9	2,27382974	2,16472082	2,2157555	1,88283731	1,7271356	1,71401147
10	5,18260028	5,21975154	5,09199538	5,47485218	6,55995802	6,27720121
11	1,52696234	1,64535024	1,69911986	1,41670484	1,40711956	1,36823862
12	3,32701201	3,50354734	3,54697975	2,89013165	2,77789352	2,64113569
13	0,45594334	0,47199162	0,46758323	0,88345726	0,89504014	0,88138342
14	0,64408919	0,64991053	0,64781944	1,06983147	1,0475665	1,07784947
15	1,99278611	1,98259283	2,01349039	1,22270315	1,24031008	1,2543589
16	7,63329644	6,72336706	7,41042647	14,1003948	10,686615	13,7193031
17	0,9065416	0,9000009	0,82445555	0,89227557	0,90130148	0,89676581

Tabla 4: Conductancia hidráulica de las muestras en los días 14, 21, 28 y 35 postextracción, expresada en $\mu\text{L}/\text{min. cm}^2$ a $20\text{cmH}_2\text{O}$.

Las muestras 7 y 8 presentaron una tasa de filtración de 0. Al analizar las muestras, éstas presentaban esmalte en la superficie oclusal de la muestra, por lo tanto la dentina no estaba expuesta, impidiendo la filtración a través de esta. Producto de esta situación, ambas muestras fueron eliminadas y no se presentan en la tabla.

En los siguientes gráficos se presentan las dispersiones de datos para cada muestra. (Gráfico 2, Gráfico 3, Gráfico 4, Gráfico 5, Gráfico 6)

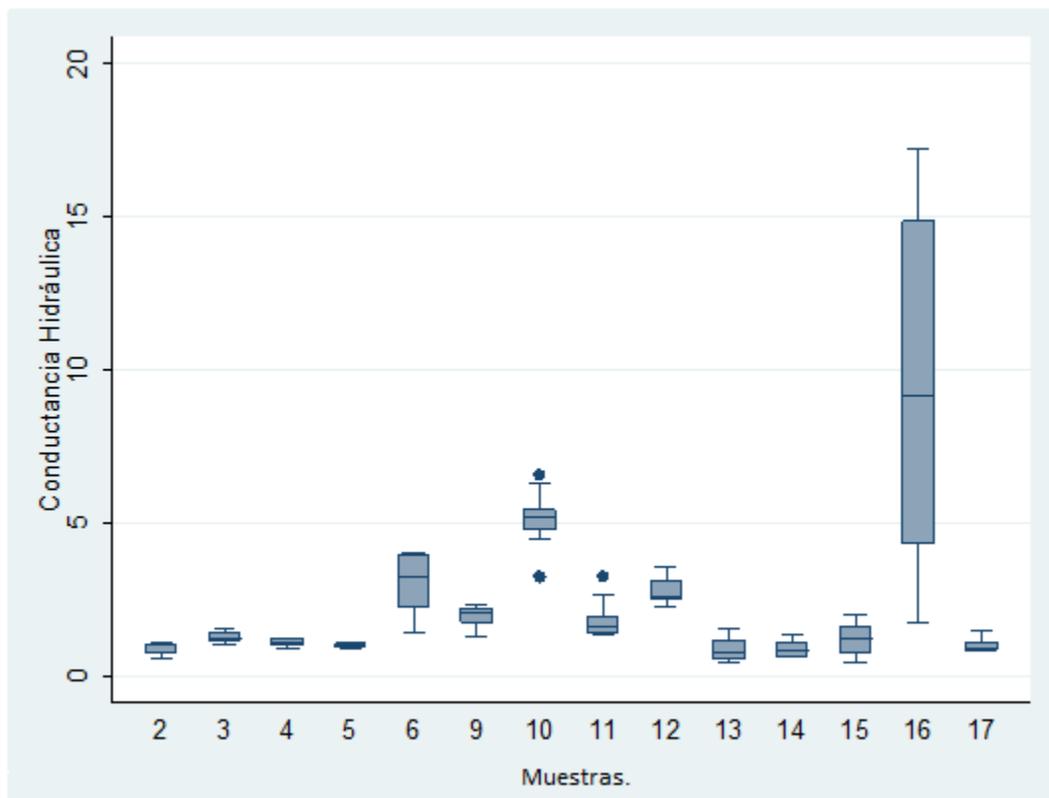


Gráfico 2: Conductancia hidráulica ($\mu\text{L}/\text{min}.\text{cm}^2$ a $20\text{cmH}_2\text{O}$) de las muestras.

En el Gráfico 2 se observa la dispersión de todas las mediciones de conductancia hidráulica ordenadas por cada disco.

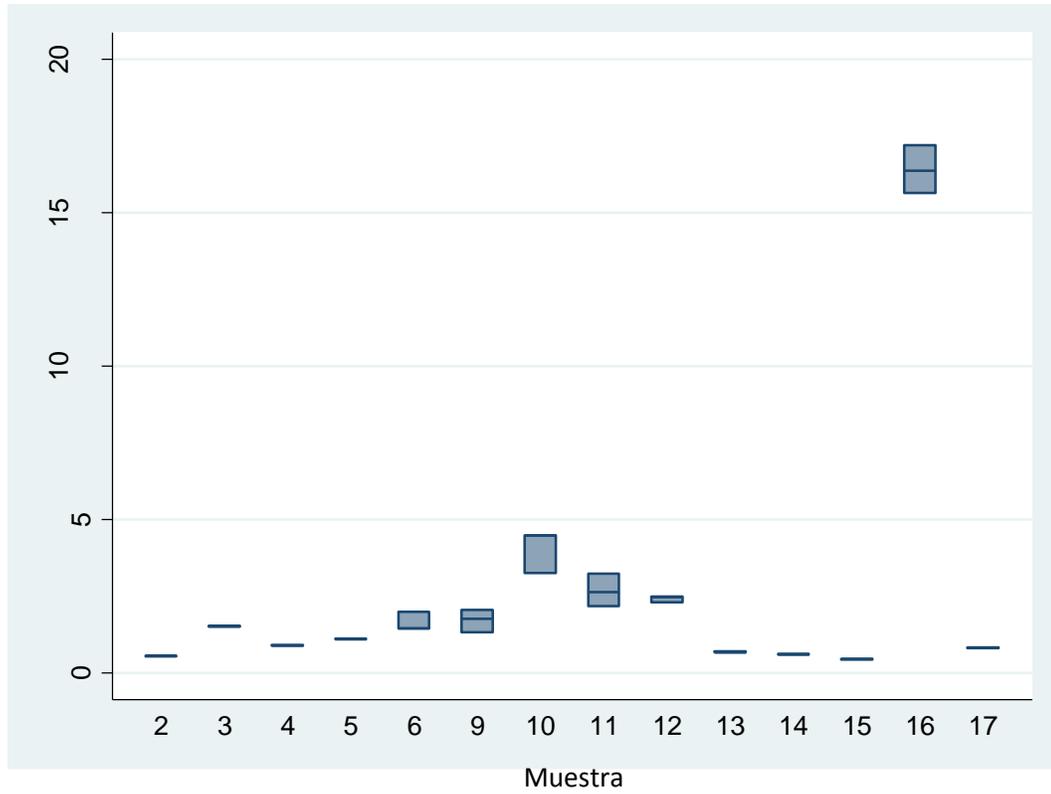


Gráfico 3: Conductancia hidráulica de las muestras en el día 14 postextracción.

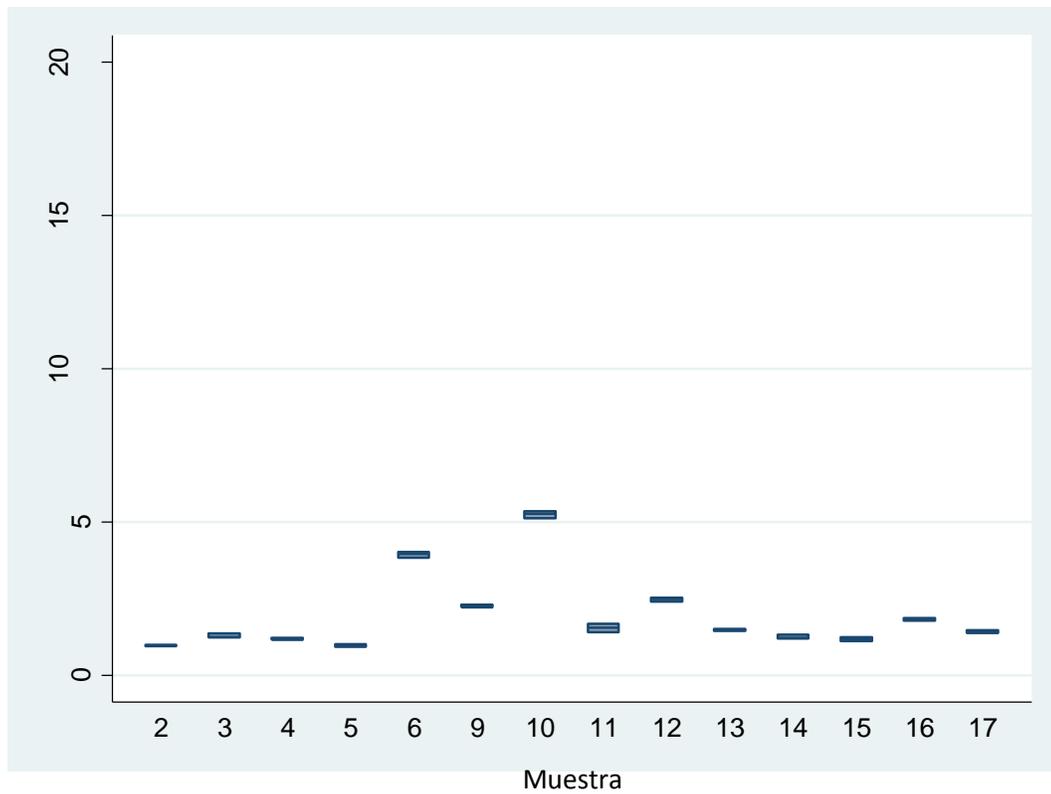


Gráfico 4: Conductancia hidráulica de las muestras en el día 21 postextracción.

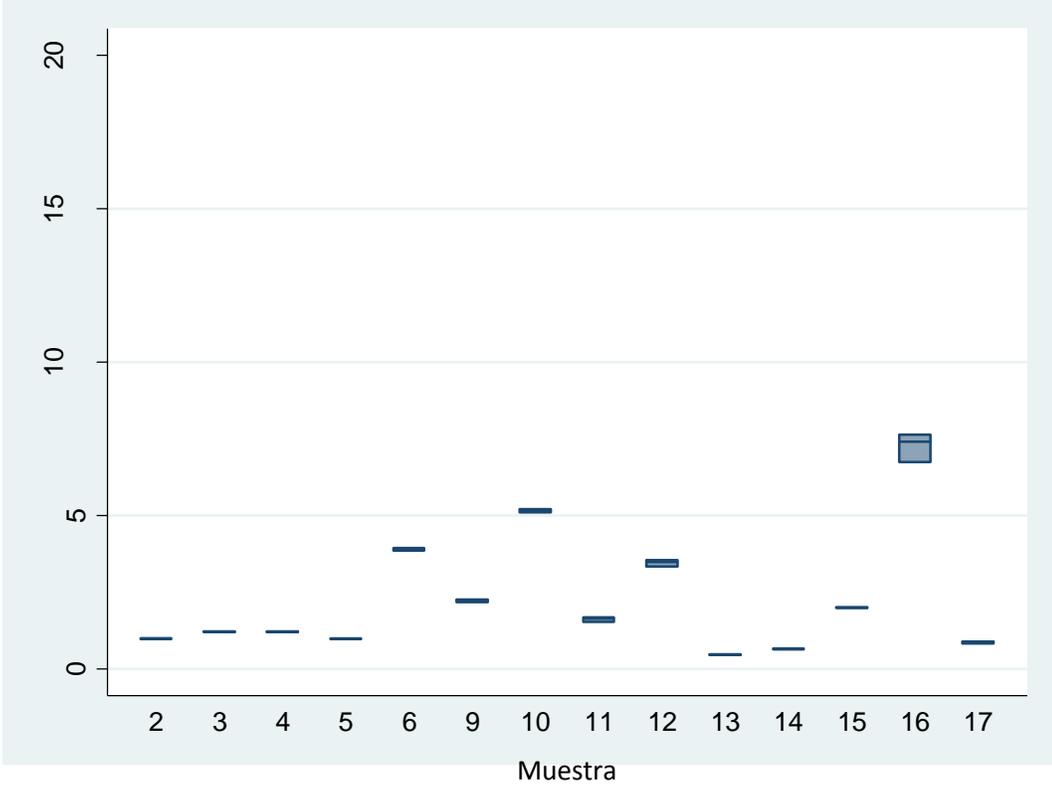


Gráfico 5: Conductancia hidráulica de las muestras en el día 28 postextracción.

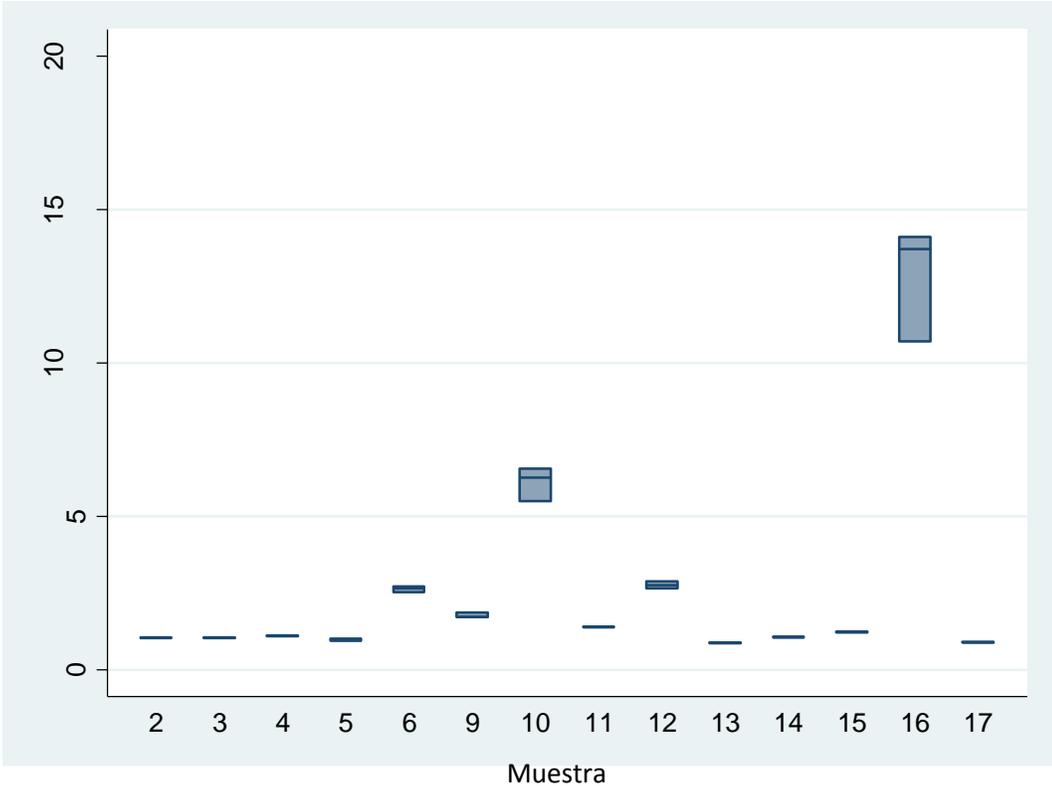


Gráfico 6: Conductancia hidráulica de las muestras en el día 35 postextracción.

En los Gráficos 3, 4, 5 y 6 se observa la dispersión de las medidas de conductancia hidráulica de las muestras en los días 14, 21, 28 y 35 postextracción respectivamente. Se ve una gran variabilidad en la muestra 16.

Se realizó un análisis descriptivo de las mediciones de conductancia hidráulica. (Tabla 5)

Variable	N°	Mean	Std. Dev.	Min.	Max.
Conductancia	168	2,330541	2,802809	0,4538606	17,20726

Tabla 5: Análisis descriptivo de las mediciones de conductancia hidráulica.

En total fueron 168 mediciones de conductancia hidráulica. El promedio de la conductancia hidráulica de las muestras fue de 2,330541, con una desviación estándar de 2,802809.

Para establecer si los datos presentan una distribución normal, fueron sometidos a la prueba de Shapiro-Wilk W. (Tabla 6)

Variable	N°	W	V	Z	Prob>z
Conductancia	168	0,56893	55,291	9,151	0

Tabla 6: Test Shapiro-Wilk W para datos normales.

El test de Shapiro-Wilk indica que la variable conductancia no tiene distribución normal.

Para mostrar de forma más clara la distribución de la variable conductancia se graficó la densidad de los datos. (Gráfico 7)

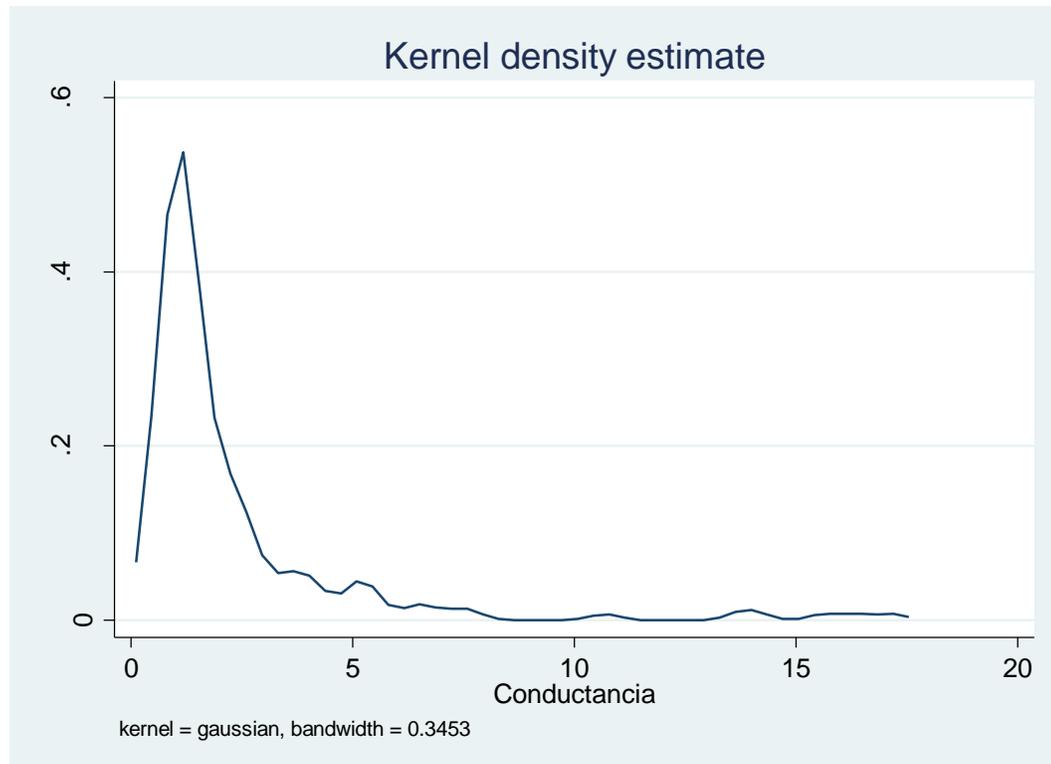


Gráfico 7: Gráfico de la densidad de los datos de la variable conductancia hidráulica.

En el gráfico 7, se aprecia claramente una franca desviación a la izquierda de los datos y que la muestra no tiene una distribución normal. Esto significa que no se pueden realizar pruebas paramétricas como el t-test o ANOVA. Por lo tanto se procedió a analizar los datos de conductancia mediante el test de Kruskal-Wallis. (Tabla 7)

Día	Obs.	RankSum
14	42	3073,5
21	42	3959,5
28	42	3636,0
35	42	3527,0

chi-squared = 4,052 with 3 d.f.
probability = 0,2559.

Tabla 7: Resultados Test Kruskal-Wallis para pruebas no paramétricas.

En la tabla 7, la prueba Kruskal-Wallis entregó un valor de “ $p= 0,2559$ ”, lo que indica que no hay diferencia significativa en las medias de conductancia hidráulica de las muestras en las 4 semanas. Sin embargo la conductancia hidráulica de la muestra 16 presentó valores muy extremos.

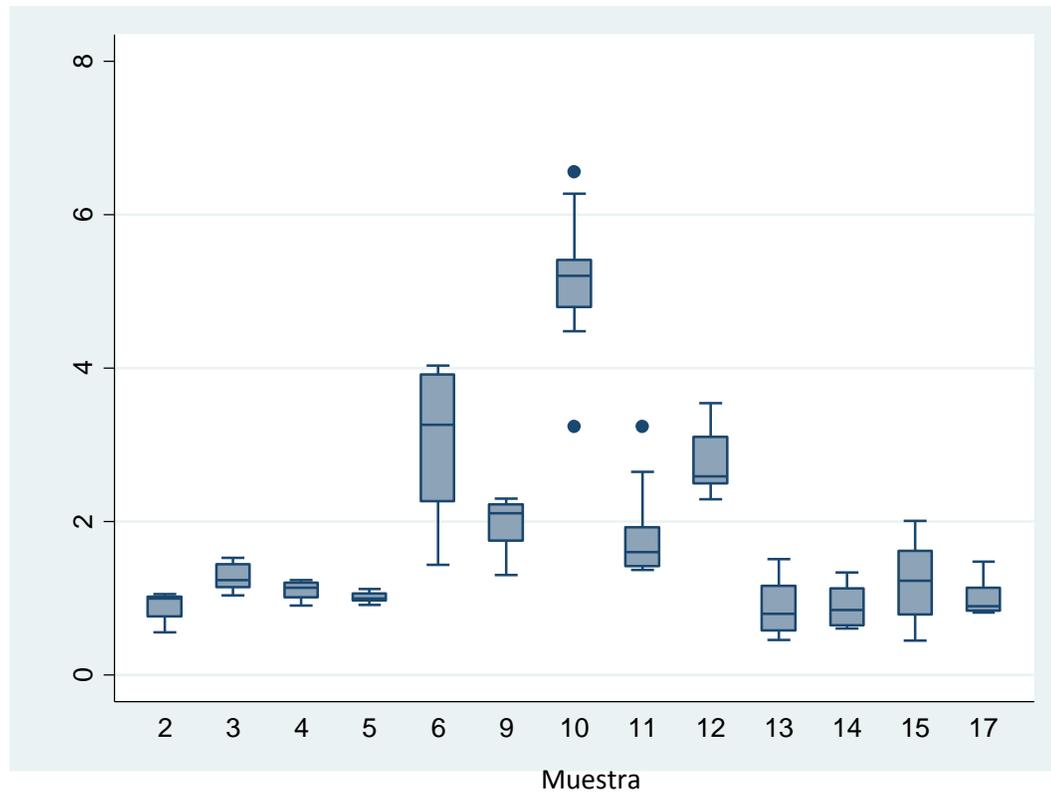


Gráfico 8: Conductancia hidráulica de las muestras, eliminada la muestra 16.

En el gráfico 8 se muestra la dispersión de las medidas de conductancia hidráulica de las muestras, luego de eliminar los datos de la muestra 16 que presento valores muy extremos.

Luego de eliminar los datos de la muestra 16 se repitió el análisis de Kruskal-Wallis. (Tabla 8)

Día	Obs.	RankSum
14	39	2539,5
21	39	3593,5
28	39	3108,0
35	39	3005,0

chi-squared = 7,046 with 3 d.f.
probability = 0,0704

Tabla 8: Resultados Test Kruskal-Wallis para pruebas no paramétricas, luego de eliminar los datos de la muestra 16.

Al eliminar los datos extremos correspondientes a la conductancia hidráulica de la muestra 16, la prueba Kruskal-Wallis entregó un valor de “ $p=0,0704$ ”, lo que indica que no hay diferencia significativa en las medias de conductancia hidráulica de las muestras en las 4 semanas. Este valor de “ p ” es menor que en la prueba anterior.

DISCUSIÓN

El modelo experimental utilizado, está basado en los estudios de difusión de Pashley y colaboradores.(11)(12) Este modelo ha sido ampliamente usado para estudios de este tipo, pero en ninguna publicación aparecen especificaciones técnicas de cómo debe montarse la máquina para medir la difusión a través de la dentina.

La maquina usada en este trabajo, fue montada en base a las descripciones encontradas en la literatura, pero con materiales fáciles obtener y de bajo costo. La mayor diferencia con el modelo propuesto por Pashley y colaboradores, y otros descritos en la literatura, corresponde a la cámara de difusión.(6)(10)(11)(12)(15)(16)(18)(21) En este estudio la cámara de difusión corresponde a un porta filtro, el cual es capaz de sostener muestras y mantener el sello perimetral, pero tiene la limitación que no permite asegurar en su interior muestras mayores a 1,3mm de grosor. Esta limitación no tuvo influencia en el presente estudio, pero puede llegar a ser un factor importante en el tipo de investigación que se quiera llevar a cabo en el futuro.

El modelo se ve limitado también en cuanto a sensibilidad, ya que el capilar milimetrado fue reemplazado por una pipeta y no permite realizar mediciones menores a 1µl o 0,001ml. De necesitar una escala de medida que permita mayor sensibilidad, esta pipeta puede ser fácilmente reemplazada por otro tipo de capilar graduado.

Se utilizó una presión hidrostática de 20cmH₂O, siguiendo el modelo propuesto por Pashley y colaboradores en 1974.(11) Sin embargo distintos autores han utilizado distintas presiones hidrostáticas y no existe un consenso al respecto.(13)

El tamaño de la muestra correspondió a 17 molaes, número adecuado al tratarse éste de un estudio observacional, pero de querer validar el método, este “n” sería insuficiente.

Al montar 3 máquinas para medir la tasa de flujo de agua de las muestras de dentina, fue necesario primero saber si las 3 registraban lo mismo. Es por esto

que una muestra se instaló en las 3 máquinas y fue medida su tasa de flujo. Las mediciones no presentaron diferencia significativa (Tabla 3). Con este resultado, se procedió a utilizar indistintamente cualquiera de ellas para medir la conductancia hidráulica del resto de las muestras.

Tres de las diecisiete muestras fueron eliminadas y no consideradas para los análisis estadísticos de este estudio. Las muestras 7 y 8, no presentaron flujo de fluido. Al ser analizadas y observadas con lupa, se evidenció la presencia de esmalte remanente en la superficie oclusal de la muestra. No presentaban dentina expuesta en la superficie, por lo que no permitían evaluar la tasa de flujo a través de ésta. Distinto es lo que ocurrió con la muestra 16. Ésta, presentó resultados muy dispares y que no seguían ninguna tendencia. Por lo tanto se presumió que el diente no quedó sellado en la resina epóxica, permitiendo el paso de líquido por la interface de la resina y el diente.

La conductancia hidráulica de las muestras no tiene distribución normal, por lo que se realizó la prueba de Kruskal Wallis. Al analizar todas las mediciones, el valor “p” fue igual a 0,2559. Este resultado significa que las mediciones de conductancia hidráulica obtenidas con este modelo experimental no presentan diferencia estadísticamente significativa entre ellas. Sin embargo, al observar los gráficos de conductancia hidráulica de cada muestra ordenados por día de observación, se evidenció que la muestra 16, presentaba mucha variabilidad. Esta variabilidad y la dispersión de los datos de esta muestra, al ser analizados en conjunto con los otros, hace que la diferencia entre el resto de las muestras sea menor, actuando los datos de la muestra 16, como confundentes. Esto sumado a la presunción que la muestra estaba defectuosa, hizo que fuera eliminada y se repitiera el análisis estadístico sin ésta.

Al eliminar la muestra 16 y volver a realizar la prueba de Kruskal-Wallis, el valor “p” cambió, y fue 0,0704. Este resultado significa que la diferencia entre las mediciones de conductancia hidráulica obtenidas con este modelo experimental no presenta diferencia estadísticamente significativa entre ellas. Sin embargo la fuerza de este valor es menor a la obtenida anteriormente.

El posible defecto en la muestra 16, hace reflexionar sobre el método para obtener las muestras de dentina. La resina epóxica no tiene unión química con la superficie del diente, y no es lo suficientemente fluida como para producir una unión micromecánica con la superficie del diente grabado con ácido ortofosfórico al 35%. Se usó cianoacrilato para intentar lograr una unión micromecánica con el diente, pero no se tuvo la certeza que ésta lograra sellar la interface entre el diente y la resina epóxica. Se sugiere estudiar microscópicamente esta interface y modificar si fuese necesario, los procedimientos para obtener las muestras de dientes.

Otra debilidad que tiene este modelo experimental es la falta de control adecuado de la procedencia de los molares. Hay otras variables que influyen en la calidad y maduración de la dentina y presumiblemente en la conductancia hidráulica de ella. Algunas de estas podrían ser la edad, el grado de erupción el contacto con el antagonista u otros. Es necesario por lo tanto, tomar en cuenta estas variables para estandarizar de mejor forma la muestra en futuras investigaciones.

De acuerdo a los resultados obtenidos, el modelo experimental permite estudiar la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*. Sin embargo sería necesario aumentar el "n" de las muestras para poder validar la confiabilidad este modelo experimental, y así poder utilizarlo en estudios de otras variables tales como enfermedades sistémicas, tratamientos de superficie, efectos de instrumental de corte u otros y su influencia en la conductancia hidráulica de la dentina.

CONCLUSIONES

- Es posible montar un modelo experimental para estudiar la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*, basado en el modelo de Pashley y colaboradores, con materiales simples y fáciles de obtener.
- No existe diferencia estadísticamente significativa en las mediciones de la conductancia hidráulica de una muestra de dentina humana medida en las 3 máquinas montadas.
- No existe diferencia estadísticamente significativa en las mediciones de la conductancia hidráulica de 13 muestras de dentina humana medida en los días 14, 21, 28 y 35 postextracción.
- La máquina utilizada en éste estudio, construida en base al modelo de Pashley y sus colaboradores es un instrumento simple y permite medir la conductancia hidráulica de la dentina *ex vivo*.
- No es posible determinar la confiabilidad del modelo experimental.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 Fritsch, C. Untersuchungen über den Bau und die innervierung des Dentins. Arch. Mikorsc. Anat., 1914; 84: p307.
- 2 Lefkowitz W. Further Observations of Dental Limph in the Dentin. J Dent Res 1943; 22: 287-296.
- 3 Bodecker CF, Lefkowitz W, Vital staining of dentin and enamel. J Dent Res 1946; 25: 357-359.
- 4 Mjör I. Dentin Permeability: Te basis for understanding pulp reactions and adhesive technology. Braz Dent J 2009; 20(1): 3-16.
- 5 Turrioni AP, et al. Correlation between light transmission and permeability of human dentin. Lasers Med Sci. 2012; 27(1):191-6
- 6 Ozok AR, Wu MK, De Gee AJ, Wesselink PR. Effect of dentin perfusion on the sealing ability and microtensile bond strengths of a total-etch versus an all-in-one adhesive. Dent Mater. 2004; 20(5): 479-86.
- 7 Hiraishi N, Yiu CK, King NM, Tay FR. Effect of pulpal pressure on the microtensile bond strength of luting resin cements to human dentin. Dent Mater 2009; 25(1):58-66.
- 8 Gómez de Ferraris M.E. Histología y Embriología Bucodental. Ed. Médica Panamericana Madrid España 1999.
- 9 Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: structure, composition and mineralization. Front Biosci. 2011; 1(3): 711-735.
- 10 Pashley D.H., Dentine Permability: Theory and practice. Experimental endodontics. (Ed. Spangberg L) CRC press inc., Boca Raton, Fl. 1990: p19-49.
- 11 Outhwaite, W.C., Mc Kennzie D.M., Pashley D.H. A versatile split chamber device for studying dentine permeability. J. Dent. Res. 1974; 57: 1503.

- 12 Pashley DH, Thompson SM, Stewart FP. Dentin permeability: effects of temperature on hydraulic conductance. *J Dent Res.* 1983; 62(9): 956-9.
- 13 Che Ghazali F.B. Permeability of Dentine, Review Article. *Malaysian Journal of Medical Sciences.* 2003; 10(1) :27-36.
- 14 Patri C. What is the clinical relevance of *in vitro* dentine permeability tests? *J Dent.* 1994; 22(2): 83-8.
- 15 Pashley D.H., Livingston M.J., Greenhill J. D. Regional resistance to fluid flow in human dentine *in vitro*. *Archs oral Biol.*, 1978; 23: 807-10.
- 16 Outhwaite W.C., Livingstone M.J., Pashley D. H. Effects of changes in surface area, thickness, temperature and post extraction time on dentine permeability. *Archs oral Biol.*, 1976; 21: 599-603.
- 17 Pashley D.H., Galloway S.E., Stewart F. Effects of fibrinogen *in vivo* on dentine permeability in the dog. *Archs oral Biol.*, 1984; 29: 725.
- 18 Ozok A.R., Wu M.K., Wesselink P.R. Comparison of the *in vitro* permeability of human dentine according to the dentinal region and the composition of the simulated dentinal fluid. *J Dent.* 2002; 30(2-3): 107-11.
- 19 Pashley D. H., Andringa H. J., Derkson G. D., Derkson M. E., Kalathoor S.R. Regional variability in the permeability of human dentine. *Archs oral Biol.* 1987; 32(7): 519-523.
- 20 Ozok AR, Wu MK, Wesselink PR. The effects of post-extraction time on the hydraulic conductance of human dentine *in vitro*. *Arch Oral Biol.* 2002; 47(1): 41-6.
- 21 Reeder OW Jr, Walton RE, Livingston MJ, Pashley DH. Dentin permeability: determinants of hydraulic conductance. *J Dent Res.* 1978; 57(2): 187-93.
- 22 Pashley DH, Depew DD. Effects of the smear layer, Copalite, and oxalate on microleakage. *Oper Dent.* 1986; 11(3): 95-102.

23 Pashley DH, Michelich V, Kehl T. Dentin permeability: effects of smear layer removal. *J Prosthet Dent.* 1981; 46(5): 531-7.

24 Moura J, Rodrigues L, Del Bel Cury A, Lima E, Garcia R. Influence of storage solution on enamel demineralization submitted to pH cycling. *J Appl Oral Sci* 2004; 12(3): 205-8.

25 Habelitz S, Grayson W. Marshall Jr., Balooch M, Marshall S. Nanoindentation and storage of teeth. *Journal of Biomechanics* 2002; 35: 995–8.

26 Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, imagej.nih.gov/ij/, 1997–2011.

ANEXOS

ANEXO 1:

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

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

Investigador Principal : Prof. Dr. Eduardo Fernández 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 ortodóncica 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 utilizarán en el presente estudio dientes extraídos por indicación ortodóncica 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