

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**COMPARACIÓN IN VITRO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS
CEMENTOS SELLADORES ENDODONTICOS SEALAPEX, AHPLUS, Y
CERASEAL**

**TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

PRESENTA

C.D. NEYVA GABRIELA GUTIERREZ MARTINEZ

PRESIDENTE

DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS

SINODAL

DR. JOSÉ ROMÁN CHÁVEZ MÉNDEZ

SINODAL

DR. LEONARDO DANIEL ACOSTA TORRES

VERY

SINODAL

DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO

GUTIERREZ

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO

JUNIO 2022

**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS
CEMENTOS SELLADORES SEALAPEX, AH PLUS Y
CERASEAL**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

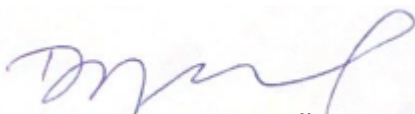
AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES ENDODONTICOS SEALAPEX, AHPLUS, Y CERASEAL.**

Propuesto por la C.D. NEYVA GABRIELA GUTIERREZ MARTINEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

ATENTAMENTE



DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS
PRESIDENTE

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

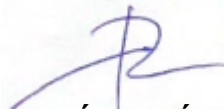
AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES ENDODONTICOS SEALAPEX, AHPLUS, Y CERASEAL.**

Propuesto por la C.D. NEYVA GABRIELA GUTIERREZ MARTINEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E



DR. JOSÉ ROMÁN CHÁVEZ MÉNDEZ
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES ENDODONTICOS SEALAPEX, AHPLUS, Y CERASEAL.**

Propuesto por la C.D. NEYVA GABRIELA GUTIERREZ MARTINEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

ATENTAMENTE



DR. LEONARDO DANIEL ACOSTA TORRES VER
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**
"2022, año de la erradicación de la violencia contra las mujeres en Baja California"

Tijuana, Baja California a, 25 de mayo de 2022

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **COMPARACIÓN IN VITRO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES ENDODONTICOS SEALAPEX, AHPLUS, Y CERASEAL.**

Propuesto por la C.D. NEYVA GABRIELA GUTIERREZ MARTINEZ, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E

DRA. EVA VIVIANA SARMIENTO GUTIERREZ
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS
CEMENTOS SELLADORES SEALAPEX, AH PLUS Y CERASEAL**

PRESENTA

C.D. NEYVA GABRIELA GUTIERREZ MARTINEZ

PRESIDENTE

(DIRECTORA DEL PROYECTO)

DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS

SINODALES

(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)

**DR. JOSÉ ROMÁN
CHÁVEZ MÉNDEZ**

**DRA. EVA VIVIANA
SARMIENTO
GUTIERREZ**

**DR. LEONARDO DANIEL
ACOSTA TORRES VERY**

Tijuana, Baja California, 03 junio de 2022

AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar este trabajo de investigación a mis padres.

Con admiración, gratitud, y amor incondicional.

Agradezco a mi familia, especialmente a mis padres por su apoyo incondicional a lo largo de este maravilloso camino que ha sido esta especialidad. Su ejemplo y su amor han sido piedra angular e inspiración en mi desarrollo profesional.

A mis hermanas, por siempre estar a mi lado acompañándome en todas mis decisiones, por ser mis mejores amigas y por siempre creer en mí. En especial a mi hermana Jaira por su apoyo total en el camino de la odontología.

También agradezco a mi tío Armando Martínez y a mi tía Mireya Martínez por su apoyo incondicional para emprender este gran camino.

Agradezco a la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, Co Directora de este proyecto, por su asesoría durante la realización del mismo, pero sobre todo por darme la oportunidad de ser parte de este posgrado. Gracias por la confianza, es un regalo que atesoraré siempre.

A la Dra. Dulce Yicel Magaña Mancillas, Directora de este proyecto, agradezco su apoyo incondicional, su disposición y su paciencia para guíarme a lo largo de este proyecto, y a quien admiro su dedicación, constancia y amor por su trabajo.

De igual manera a la Dra. Eva Viviana Sarmiento Gutiérrez, por su apoyo y asesoría durante la realización de esta investigación.

Al Dr. Gilberto Cárdenas y a su amada familia por brindarme siempre su apoyo, motivarme a seguir cumpliendo mis metas y a nunca dejar sueños truncados. Por ser mi inspiración en el campo odontológico y un gran guía.

AGRADECIMIENTOS

Finalmente quiero agradecer a mis compañeros de posgrado, por su amistad sincera y por recorrer juntos este camino.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Quiero agradecer a las siguientes instituciones por su apoyo durante la realización de este proyecto de investigación:

A CONACyT por la beca otorgada, No. CVU: 1082604.

A la Universidad Autónoma de Baja California y al Posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología Campus Tijuana, especialmente a la Dra. Ana Gabriela Carrilo Vázquez por permitirme formar parte de esta institución.

Al Laboratorio Microbiología, a la doctora Eva Viviana Sarmiento Gutiérrez por la donación de material, préstamo de equipo para esta investigación y orientación en este proyecto.

Al Bioterio de la Facultad de Odontología Campus Valle de las Palmas, al doctor José Román Chávez Méndez por la donación de material, préstamo de equipo para esta investigación y agradezco su apoyo incondicional, su disposición y su paciencia para guiarme a lo largo de este proyecto, y a quien admiro su dedicación, constancia y amor por su trabajo.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	i
CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
2.1. ENDODONCIA.....	2
2.1.1. Obturación.....	4
2.2. MATERIALES BIOCERÁMICOS	5
2.2.1. Biocompatibilidad de los materiales	7
2.2.2. Cementos endodónticos.....	8
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
IV. JUSTIFICACIÓN.....	22
V. HIPOTESIS.....	23
5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO	23
5.2. HIPÓTESIS NULA	23
5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA	23
VI. OBJETIVOS	24
6.1. OBJETIVO GENERAL.....	24
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
VII. VARIABLES	25
7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES	25
7.2. VARIABLE DEPENDIENTE	25

7.3 OPERACIÓN DE VARIABLES	25
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
8.1. TIPO DE ESTUDIO	26
8.2 UNIVERSO DE ESTUDIO	26
8.3 MATERIALES E INSTRUMENTAL	26
8.4 METODOLOGÍA	27
8.4.1 Toma de muestra sanguínea	27
8.4.2. Cultivo celular.....	29
8.4.3. Preparacion de solucion de eritrocitos	33
8.4.4. Preparación y colocación de los selladores	34
8.4.5. Tinción del sobrenadante	40
8.4.6. Evaluación de la morfología de los eritrocitos	41
8.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	43
IX. RESULTADOS	44
9.1 CITOTOXICIDAD POSTERIOR A LA INCUBACIÓN.....	44
9.2 COMPARACIÓN DE CITOTOXICIDAD ENTRE LOS CEMENTOS Y GRUPO CONTROL.....	45
X. DISCUSIÓN	48
XI. CONCLUSIONES	50
XII. RECOMENDACIONES	51
XIII. BIBLIOGRAFÍA	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tratamiento de conductos.....	2
Figura 2. Mezclado de cemento	8
Figura 3. Radiopacidad de cementos.....	9
Figura 4. Cemento Sealapex.....	12
Figura 5. Radiopacidad del cemento.....	14
Figura 6. Cemento AH Plus.....	14
Figura 7. Tabla de propiedades de cemento AH Plus.....	15
Figura 8. Obturación de conductos.	17
Figura 9. Cemento biocerámico. CeraSeal.....	19
Figura 10. Incubadora de convección.	27
Figura 11. Punción venosa.....	28
Figura 12. A) Tubo de vidrio con EDTA. B) Colocación de muestra sanguínea en tubos. C) Tubo de vidrio con muestra sanguínea.	29
Figura 13. Centrifuga DYNAC.	30
Figura 14. A) Disolución de suero y eritrocitos. B) Descartar el sobrenadante. C) Añadir solución salina.....	31
Figura 15. Agitador (LABQUAKE®).....	32
Figura 16. A) Lavado de eritrocitos. B) Separación de eritrocitos.	32
Figura 17. Preparación de 50 ml de solución de eritrocitos.....	34
Figura 18. Cementos endodónticos.....	35
Figura 19. Mezclado de cemento de acuerdo al fabricante.....	36
Figura 20. Balanza analítica	37
Figura 21. A) Tubo con cemento y eritrocitos. B) Muestras en incubadora.....	38
Figura 22. Muestras de cementos en incubación	39
Figura 23. A) Gradilla para tubos. B) Colocación de cemento en tubos.....	40
Figura 24. A) Barrido de eritrocitos B) Muestra en laminilla C) Tinción con eosina...	41
Figura 25. Sistema UV	42
Figura 26. Espectrofotómetro	43

CONTENIDO

Figura 27. Comparativo de los resultados en el UV de los grupos de estudio después de 3 horas de incubación con eritrocitos	44
Figura 28. Análisis gráfico comparativo de la citotoxicidad entre los cementos de estudio, grupo control para los eritrocitos.....	45
Figura 29. Resultados de cementos endodónticos.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Centígrados
ANOVA	Análisis de Varianza
Ca(OH) ₂	Hidróxido de Calcio
CAH	Calcio aluminato hidratado
CSH	Calcio silicato hidratado
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
ml	Mililitro
mm	Micrómetros
Mm / mm Al	Milímetros sobre milímetros de Aluminio
MTA	Agregado de Trióxido Mineral
pH	Potencial Hidrógeno
rpm	Revoluciones Por Minuto
UABC	Universidad Autónoma de Baja California

I. RESUMEN

El tratamiento de conductos es el principal procedimiento endodóntico para eliminar la enfermedad pulpar y/o periapical. Para que el tratamiento sea considerado exitoso deberá cumplir con los principios básicos de la Triada Endodóntica, por lo tanto, el tratamiento implica una serie de pasos para lograr una desinfección química y mecánica. Uno de estos pasos es la obturación del conducto para la cual existe una gran variedad de materiales para rellenar el sistema de conductos radiculares. Actualmente, los métodos empleados con mayor frecuencia en la obturación de los conductos radiculares se basan en el uso de conos semisólidos de gutapercha como material base. Sin embargo, este material no sella el conducto por sí solo; por ello, un cemento sellador es necesario para cubrir la dentina y para rellenar las irregularidades y discrepancias entre el material de obturación y las paredes del conducto logrando así el sellado.

El cemento sellador debe poseer ciertas características que son determinantes para asegurar el éxito del tratamiento endodóntico. Debido a que el sellador estará en contacto directo con los tejidos periapicales por un tiempo prolongado, su biocompatibilidad es un factor de gran importancia; ya que, si este resulta ser irritante en los tejidos tendrá un efecto tóxico que puede retardar la cicatrización de los tejidos periapicales o causar una reacción tisular inflamatoria. Por lo cual este estudio se realiza con la finalidad de evaluar los daños citotóxicos provocados por el cemento sellador en los tejidos perirradiculares.

El objetivo de este estudio es comparar el efecto de citotoxicidad de los cementos selladores endodónticos, Sealapex®, AH Plus®, y CeraSeal® mediante ensayos *in vitro*.

II. INTRODUCCIÓN

2.1. ENDODONCIA

La endodoncia clínica abarca varios tratamientos, pero quizás el más importante sea el tratamiento de la pulpa y del conducto radicular (con o sin patología perirradicular de origen pulpar) de forma que los pacientes conserven sus dientes naturales con una función plena y estética aceptable. El tratamiento de las lesiones dentales de origen traumático y la terapia profiláctica de la pulpa vital para conservar la vitalidad son diferentes de la pulpectomía la cual requiere instrumentación del conducto radicular. Sin embargo, el tratamiento endodóntico se dirige principalmente a un objetivo o un conjunto de objetivos específicos: curar o prevenir la periodontitis perirradicular (1).

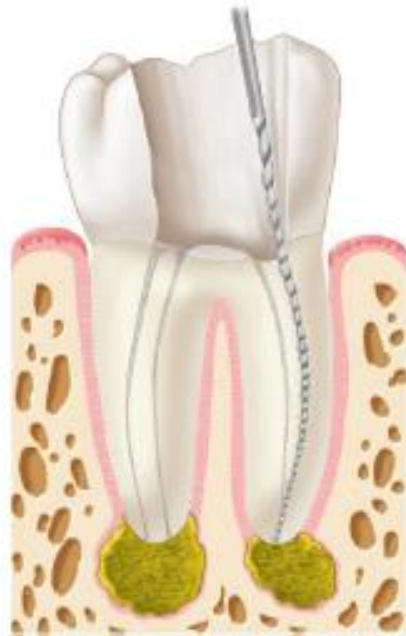


Figura 1. Tratamiento de conductos.

En la imagen se observa que el tratamiento de conductos tiene como objetivo eliminar el tejido pulpar y las bacterias del conducto, a fin de evitar lesiones periapicales (1).

II. INTRODUCCIÓN

Soares menciona que la endodoncia es el campo de la odontología que estudia la morfología de la cavidad pulpar, la fisiología y la patología de la pulpa dental, así como la prevención y el tratamiento de las alteraciones pulpares y de sus repercusiones sobre los tejidos peridentarios (2).

Como se observa en la imagen (Figura 1) la endodoncia tiene como objetivo eliminar el tejido pulpar (para detener el dolor) y las bacterias (para evitar que invadan los tejidos periapicales) del conducto. Además, permite ampliar el conducto, desde la región apical hasta la coronal para obtener una cavidad de forma cónica limpia y de fácil obturación (3).

A su vez la endodoncia se conduce como un conjunto de conocimientos metódicamente formado y ordenado, constituye una ciencia, integrada en el conjunto de las ciencias de la salud. Tiene por objetivo el estudio de la estructura, la morfología, la fisiología y la patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares (4).

Durante su aplicación y estudio podemos encontrar que la endodoncia se integra en diferentes ambientes odontológicos a fin de lograr el éxito del órgano dentario.

En su ámbito integra las ciencias básicas y clínicas que se ocupan de la biología de la pulpa, así como la etiopatogenia, el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de las enfermedades, lesiones de la misma, así como de los tejidos perirradiculares asociados (4).

Al momento de realizar un tratamiento de conductos es imprescindible realizar un diagnóstico correcto de la de la pieza a tratar, para lograr el éxito endodóntico. Por su parte el clínico debe contar con el conocimiento necesario para ello.

El dominio de la endodoncia por parte del clínico incluyen el diagnóstico diferencial y el tratamiento del dolor bucofacial de origen pulpar y periapical, los tratamientos para mantener la vitalidad de la pulpa, los tratamientos de conductos radiculares cuando es inviable conservar su vitalidad o cuando existe necrosis de la misma, con o sin complicación periapical, los tratamientos quirúrgicos para eliminar los tejidos

II. INTRODUCCIÓN

periapicales inflamatorios consecuencia de patología pulpar, así como la resección apical, la hemisección y la radicectomía (4).

Todos estos conocimientos deben ser de amplio saber para el clínico endodóntico.

2.1.1. Obturación

Una de las fases del tratamiento de conductos es la obturación, ésta se basa en el relleno tridimensional de todo el sistema de conductos radiculares. El material se coloca lo más cercano al límite de la unión cemento-dentinaria. Los elementos que se usan para la obturación son esencialmente la gutapercha, que cuenta con la característica particular de la biotolerancia comprobada en diferentes estudios y los selladores endodónticos. Por su parte, los selladores usados en tratamientos de conductos, son sustancias que idealmente facilitan la obtención de un sellado hermético (3).

La obturación endodóntica tiene como uno de sus objetivos limitar el intercambio de fluidos entre el conducto y el área perirradicular, este fenómeno se denomina filtración y determina en gran parte el éxito del tratamiento, por lo tanto, el sellado apical se explica en función de la filtración, pues si el material de obturación se vuelve soluble en el área apical, este sellado se perderá, y por consiguiente, no se logrará cumplir los objetivos establecidos (5).

Como se mencionó anteriormente si se da la filtración conlleva a un proceso de microfiltración que consiste, por tanto, en el paso de fluidos, bacterias y sustancias a través del relleno radicular, y esto ocurre debido a una adaptación deficiente de los materiales intrarradicales, a la solubilidad del cemento sellador, o a la contracción del relleno radicular durante la reacción de fraguado. Una forma de evitar este proceso es sellando la brecha entre paredes del conducto radicular y el relleno endodóntico, así evitar la microfiltración apical, promoviendo la curación periapical (5).

La Asociación Americana de Endodoncistas ha publicado una guía de endodoncia clínica en la que establecen las consideraciones básicas para incrementar la calidad del diagnóstico y del tratamiento endodóntico (4).

II. INTRODUCCIÓN

Esta menciona los objetivos principales de un tratamiento de conductos exitoso, que son la limpieza, conformación adecuada del conducto radicular y la obturación total del espacio preparado con un material inerte, dimensionalmente estable y biológicamente compatible con los tejidos adyacentes (6). De tal manera que la pulpectomía por su cuenta es un procedimiento por el cual el tejido de la pulpa (a menudo inflamada) es removido quirúrgicamente y reemplazado por un relleno radicular (7).

El tratamiento del conducto radicular tiene como objetivo principal eliminar la infección del conducto radicular, así como llenar completamente el espacio del conducto radicular para evitar la penetración apical y coronal de líquidos y microorganismo a fin de logara su éxito (8).

Para lograr el objetivo de una correcta obturación es necesario realizar una adecuada instrumentación; que consiste en crear un espacio dentro de las raíces de los órganos dentales, para posteriormente llevar a cabo la irrigación de conductos, la desinfección y el relleno de raíces. Todo el método y elección del tamaño de los elementos para su ampliación durante la instrumentación, dependiendo de la filosofía así como del conocimiento del odontólogo, de las limitaciones y requisitos que marca el equipo utilizado en cada fase, especialmente en el relleno radicular. Para lograr el relleno óptimo de las raíces se tienen muchos requisitos que han sido difíciles, si no imposibles, de cumplir. Uno de estos está en la gutapercha que ha sido y sigue siendo el material de núcleo de elección en los rellenos de raíces a nivel mundial, pero requiere el uso de un cemento sellador para obtener un mejor sellado a corto y largo plazo. Sin embargo, numerosos estudios sobre las fugas después del relleno radicular han sugerido que, por lo general, no se obtiene un sellado completo y permanente del conducto contra las fugas de la cavidad bucal (9).

2.2. MATERIALES BIOCERÁMICOS

En odontología clínica, siendo más específicos en el área de endodoncia, se utilizan varios tipos de materiales para rellenar los conductos radiculares. Estos elementos se basan en diversas fórmulas según la composición de cada casa comercial, pero en general se dividen en diferentes grupos según su componente principal, como por su

II. INTRODUCCIÓN

parte lo son el hidróxido de calcio, la resina epoxi y el óxido de zinc eugenol. Estos materiales están diseñados para usarse únicamente dentro del conducto radicular; sin embargo, con frecuencia pueden llegar a extruirse a través de la constricción apical (10).

Los materiales basados en el uso de la endodoncia se introdujeron en la década de 1990, primero como materiales de relleno retrógrado y luego como cementos de reparación de raíces, selladores de conductos radiculares, así como recubrimientos para conos de gutapercha. En años recientes surgen nuevos materiales biocerámicos aumentando las posibles ventajas de los materiales en endodoncia que están relacionadas con sus propiedades físico-químicas y biológicas. Los biocerámicos son biocompatibles con los tejidos con los que entren en contacto, no son tóxicos, no se encogen y, por lo general, son químicamente estables en el entorno biológico. Una ventaja adicional de estos materiales es su capacidad para formar hidroxiapatita y finalmente crear una unión entre la dentina y el material (9).

En el mercado dental existe una gran variedad de materiales para la obturación del sistema de conductos radiculares que han sido utilizados a través de los años por los especialistas en el área. Actualmente, los métodos empleados con mayor frecuencia en la obturación de los conductos radiculares se basan en el uso de conos semisólidos de gutapercha como material base. Sin embargo, este material no sella el conducto por sí solo; por ello, un cemento sellador es necesario para cubrir la dentina y para rellenar las irregularidades y discrepancias entre el material de obturación y las paredes del conducto a donde no le es posible llegar a la gutapercha por si sola y de este modo logrando así el sellado hermético (6).

Para un tratamiento exitoso del conducto radicular se requiere una limpieza y una configuración adecuadas del conducto a tratar, así como un sellado hermético del espacio del intrarradicular con un material inerte, dimensionalmente estable y biológicamente compatible. Buscando este objetivo a lo largo de los años se han recomendado muchos materiales de diferentes composiciones para el relleno del conducto radicular (6).

II. INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta los diferentes materiales de obturación para el correcto sellado apical siendo este un paso importante durante el tratamiento de conductos, se utilizan puntas de gutapercha y cemento sellador, de este último existen diversas formulaciones químicas en el mercado, por lo cual es importante tomar en cuenta los efectos que estas pueden tener en el proceso de cicatrización periapical (11).

Es importante el empleo correcto de estos materiales, para esto se ha propuesto que una de las causas de fracaso del tratamiento de conductos es el paso de bacterias a través del foramen apical, las que por acción directa o por activación del sistema inmune generan una respuesta inflamatoria. El sellado apical con conos de gutapercha y cemento sellador es lo que impide el paso de estas bacterias, pero en presencia de humedad sufre de solubilidad y permite la filtración bacteriana (5).

2.2.1. Biocompatibilidad de los materiales

La biocompatibilidad de diferentes selladores de conductos radiculares varía considerablemente de acuerdo a su composición. La mayoría de los productos ejercen algún efecto tóxico cuando están frescos y el efecto se reduce con el tiempo a medida que disminuye la concentración de componentes. Por tal motivo los materiales de relleno del conducto radicular se han formulado en un intento por obtener mejores propiedades físicas y biológicas (8).

Cuando los materiales llegan a ser extruidos de los conductos radiculares pueden acceder e inducir irritación de los tejidos periapicales. Dado que los selladores de conductos radiculares pueden entrar en contacto con el tejido periapical. En este caso su biocompatibilidad es uno de los factores decisivos que afectan su elección durante el tratamiento endodóntico. Es decir, que si los materiales de relleno radicular logran extruirse, pueden dañar potencialmente el tejido periapical, provocar inflamación o destrucción del tejido y afectar la cicatrización apical (12).

Para llegar a la conclusión si un material es citotóxico, se debe determinar el tipo de muerte celular que ocurre, y sería beneficioso para estimar la biocompatibilidad de un material. Por lo tanto, la exposición de las células a agentes citotóxicos provoca

II. INTRODUCCIÓN

necrosis o apoptosis. Se deduce que durante la necrosis, las células primero se hinchan, la membrana plasmática colapsa y luego las células se lisan rápidamente, por su parte en la muerte celular apoptótica se caracteriza generalmente por un colapso hacia adentro de los organelos, una 'formación de ampollas' de la membrana plasmática en cuerpos apoptóticos vesiculares y la destrucción de material genético. La muerte y eliminación de células por apoptosis pasa desapercibida para el sistema inmunológico del cuerpo, mientras que la liberación del contenido intracelular de células necróticas al espacio extracelular induce una respuesta inflamatoria (13).

2.2.2. Cementos endodónticos



Figura 2. Mezclado de cemento

En la imagen se observa el mezclado de los cementos endodonticos que se endurece a través de una reacción química (14).

Los selladores tienen una función importante en el relleno del conducto radicular. Rellena todo el espacio que la gutapercha es incapaz de obturar, debido a sus limitaciones físicas. Por ende, un buen sellador debe adherirse con fuerza a la dentina y al material central. Además, el cemento sellador endodóntico debe poseer una resistencia cohesiva para mantener unida la obturación de la gutapercha, las paredes dentales y el cemento. Idealmente estos materiales deben ser antimicrobianos, papel

II. INTRODUCCIÓN

importante en el éxito del tratamiento de los conductos radiculares. Los selladores suelen ser una mezcla que se endurece a través de una reacción química (Figura 2). Tal reacción incluye la liberación de materiales tóxicos, lo que convierte al sellador en menos biocompatible. En general, el sellador es la parte más crítica cuando se valora la toxicidad de los materiales usados (1).

Una de las características deseables es que el sellador tenga algún grado de radiopacidad para ser visible con claridad en las radiografías adecuadamente expuestas. Para esto, como aditivos en aumentar la radiopacidad se usan la plata, el plomo, el yodo, el bario (Figura 3) y el bismuto. En comparación con los conos de gutapercha, la mayoría de los selladores tienen una radiopacidad ligeramente menor y puede distinguirse de la gutapercha sola o combinada con el sellador. En el mercado actual existen diversos selladores entre los que elegir, y el clínico debe ser cuidadoso para evaluar todas las características de un sellador antes de seleccionarlo para sus tratamientos (1).



Figura 3. Radiopacidad de cementos.

En la imagen se observa la obturación de los conductos radiculares con cemento y gutapercha, que radiográficamente son visibles, por sus características de radiopacidad (9).

II. INTRODUCCIÓN

El cemento sellador debe poseer ciertas características que son determinantes para asegurar el éxito del tratamiento endodóntico. Debido a que el sellador estará en contacto directo con los tejidos periapicales por un tiempo prolongado, su biocompatibilidad es de gran importancia. Ya que la toxicidad de un sellador puede retardar la cicatrización de los tejidos periapicales o causar una reacción tisular inflamatoria (15).

Actualmente, existen varios tipos de selladores endodónticos con diferentes composiciones disponibles en el mercado. Estudios realizados tanto in vitro como in vivo han aportado evidencias de que la mayoría de los materiales de uso común, destinados a sellar los conductos radiculares, causan efectos citotóxicos sobre el tejido periapical (15). Por lo tanto un sellador no debe obstaculizar la reparación del tejido, sino ayudar o estimular la reorganización de las estructuras lesionadas (16).

La función de los cementos selladores endodónticos es cerrar los espacios que podrían quedar en el conducto, sin ser extruidos hacia los tejidos perirradiculares. Aún con los cuidados necesarios, existen situaciones en las que los selladores sobrepasan el conducto radicular incrementando el riesgo de irritación del tejido o retraso en la cicatrización, el cual puede ser mayor si no son altamente biocompatibles (11).

Hay muchos parámetros caracterizan la biocompatibilidad de los selladores endodónticos, como la genotoxicidad, mutagenicidad, carcinogenicidad, histocompatibilidad y efectos inmunológicos. Varios estudios se han centrado en la citotoxicidad de los selladores endodónticos, como lo es en este caso (17).

Los materiales endodónticos que se colocan permanentemente en el conducto radicular deben bloquear las vías de comunicación entre el sistema del conducto radicular y los tejidos circundantes para garantizar el éxito de la endodoncia a largo plazo. Por lo tanto, el criterio para el material ideal para uso en endodoncia se ha vuelto integral e incluye las siguientes características: no tóxico, insoluble en fluidos tisulares, dimensionalmente estable, antibacteriano, conductor de tejido duro, biocompatible, radiopaco y fácil de manejar entre otras características (18).

II. INTRODUCCIÓN

Grossman enumero los requisitos y características para un buen cemento endodóntico de conductos radiculares (2):

1. Debe ser pegajoso cuando se mezcla para proporcionar buena adhesión entre la gutapercha y la pared del conducto, formando un selle hermético que no permita la filtración.
2. Ser radiopaco.
3. Las partículas de polvo deben ser muy finas para que puedan mezclarse fácilmente con el líquido.
4. No debe presentar contracción volumétrica al fraguar.
5. No debe pigmentar la estructura dentaría.
6. Debe ser bacteriostático o al menos no favorecer la reproducción de bacterias.
7. Debe fraguar lentamente.
8. Debe ser insoluble en líquidos bucales.
9. Ser bien tolerado por tejidos periapicales.
10. Ser soluble en un solvente común por si fuera necesario retirarlo del conducto.
11. No provocar una reacción inmunológica en tejidos periapicales.
12. No ser mutagénico ni carcinogénico.

2.2.2.1. Cemento sellador a base de hidróxido de calcio

Uno de los materiales base en los cementos endodónticos es el hidróxido de calcio, que es considerado un agente Inductor de tejidos calcificados en los procedimientos de recubrimiento pulpar indirecto y directo. Es un potente agente bacteriostático y bactericida, para el control de microorganismos, cuando es usado como medicamento dentro del conducto radicular (19).

II. INTRODUCCIÓN

También actúa como agente catalizador en la modificación del pH en los tejidos periapicales, para favorecer el proceso de cicatrización de tejidos (19).

Se han comercializado varios selladores de hidróxido de calcio, como Sealapex (Sybron Endo), RealSeal (Sybron Endo), Apexit y Apexit Plus (Ivoclar Vivadent). Y se menciona que estos selladores tienen un gran efecto terapéutico debido a que contienen $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Se piensa que el efecto antimicrobiano del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se produce por su capacidad de liberar iones hidroxilo y por tener un pH alto. Las pruebas de contacto directo a corto plazo demuestran que Sealapex (Figura 4) y Apexit son antimicrobianos medianamente eficaces según estudios previos (1).

En años pasados se han propuesto el uso de selladores "biológicos" mejorados a base de hidróxido de calcio para el sellado permanente del sistema de conductos radiculares. Los compuestos que contienen hidróxido de calcio tienen una excelente acción bactericida debido a su alto pH, mediar en la degradación de lipopolisacáridos bacterianos, inducir la curación mediante la formación de tejido duro, y controlar la reabsorción de raíces inflamatorias (6).



Figura 4. Cemento Sealapex.

En la imagen se observa el cemento a base de hidroxido de calcio Sealapex de la casa comercial Kerr (20).

II. INTRODUCCIÓN

Los selladores a base de hidróxido de calcio pueden promover la formación de tejido duro y disminuir la osteoclastogénesis, pero una de sus desventajas es que tienden a disolverse con el tiempo y, por lo tanto, pueden comprometer el sello endodóntico. Después de diversas investigaciones se han comercializado selladores endodónticos a base de hidróxido de calcio, como lo es Sealapex (2).

Este es un sellador ideal, es insuperable por un excelente sellado, estable dimensionalmente, menos soluble, biocompatible, radiopaco, ha logrado adherirse a la dentina, actúa junto con la gutapercha para crear un adhesivo entre las paredes de la dentina, la gutapercha y el sellador, es bacteriostático y antiinflamatorio (21). Una de sus tantas características es que es un sellador con un tiempo de trabajo y endurecimiento muy prolongado, que se endurece en el conducto con presencia de humedad (20).

Por su parte, su plasticidad y corrimiento son adecuados para su manipulación por el clínico, mientras que su radiopacidad (Figura 5) es escasa. Tiene alta solubilidad, por lo tanto, poca estabilidad. Esta solubilidad es la que le permite liberar el hidróxido de calcio en el medio en que se encuentra (20).

Los componentes del cemento endodóntico Sealapex son (1):

Base: Hidróxido cálcico (25%), Óxido de cinc (6.5%).

Catalizador: Sulfato bórico (18.6%), Dióxido de titanio (5.1%).

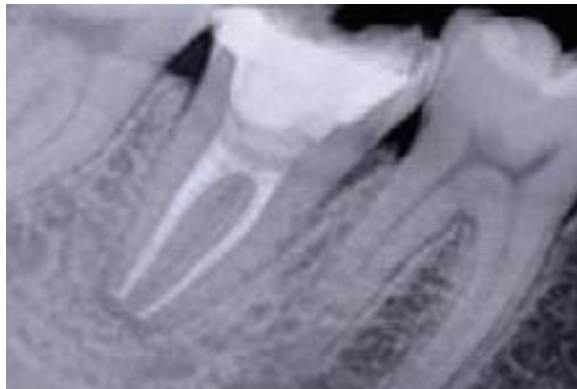


Figura 5. Radiopacidad del cemento.

En la imagen se observa la radiopacidad el cemento a base de hidroxido de calcio (22).

2.2.2.2. Cemento sellador a base de resina

Los polímeros son macromoléculas de 10,000 o más átomos. En la naturaleza existen ciertas materiales uno de ellos es la goma que tiene una estructura polimérica basada en un isopreno repetido (monómero). Las moléculas poliméricas, descubiertas en la naturaleza (goma), que han dado lugar a análogos sintéticos con diversas propiedades y aplicaciones, como lo son los adhesivos (selladores de conductos radiculares). Al considerar la adhesividad de un sellador, este debe ser capaz de adherirse a la pared de la dentina preparada y el material de obturación de núcleo sólido utilizado. Por tanto, la adhesividad es muy fundamental para la capacidad del material de sellar el sistema de conductos radiculares preparado desde coronal así como apicalmente (1).



Figura 6. Cemento AH Plus.

En la imagen se observa el cemento a base de resina AH Plus, de la casa comercial Dentsply Sirona (23).

II. INTRODUCCIÓN

Otros elementos sobresalientes a considerar son la biocompatibilidad, así como su radiopacidad, citotoxicidad y fuerza de unión del sellador. En la actualidad muchos de los selladores más nuevos son polímeros, como AH26 y AH Plus (Figura 6), (DENTSPLY Caulk), Epiphany (Pentron Clinical Technologies) y EndoRez (Ultradent) (1).

Para ello se describe que AH Plus es un cemento sellador de conductos basado en un polímero de epoxi-amina y es empleado para sellado permanente conforme a los estándares más elevados. También AH Plus es una versión mejorada, perfecta del tradicional cemento para endodoncia de DENTSPLY De Trey, el AH 26. Que nos ofrece incluso una mejor biocompatibilidad, mejor radiopacidad y estabilidad de color así mismo, es más fácil de eliminar en caso de ser necesario. Su manejo también es más fácil y rápido (23).

Datos técnicos	
<u>Radiopacidad</u>	13.6 mm/ mm Al
Tiempo de trabajo	4 horas
Tiempo de fraguado	8 horas (37 °C)
Fluidez	36 mm
Espesor de capa	26
Contracción	1.76 %
Solubilidad (después de una semana)	0.31 %

Figura 7. Tabla de propiedades de cemento AH Plus.

II. INTRODUCCIÓN

En la figura se observa la tabla de datos técnicos del cemento endodóntico AH Plus (23).

La presentación comercial del sistema es pasta/pasta que permite un trabajo más limpio, ya que al ser dispensado por dos componentes mezclados a 1:1. La consistencia proporciona a la mezcla una óptima viscosidad para su manipulación. (Figura 7) (23).

La presentación de las pastas es de la siguiente manera (24):

- Pasta A: Resina epoxica, Tungstenato de calcio, Oxido de circonio Aerosol, Óxido de hierro.
- Pasta B: Amina adamantina. N, N-Dibencil-5-oxa nonano-diamina-1,9 TCD-Diamina, Tungstenato de circonio Aerosol, Aceite de silicona.

Las características del AH PLUS son las siguientes (24):

- Tiene excelente tolerancia histica, escaso efecto mutagénico y nula actividad genotóxica y carcinogénica.
- AH Plus no libera formaldehído.
- Rápido tiempo de fraguado.
- La alta radioopacidad.
- La fácil remoción.
- Baja solubilidad.
- Aceptable biocompatibilidad.
- Algunos estudios demuestran que el Ah Plus es el mejor sellador a base de resinas que sella apicalmente los conductos a nivel apical.

II. INTRODUCCIÓN

2.2.2.3. Cemento sellador a base de biocerámicos

Las tres formas de biocerámicas son similares en composición química (silicatos de calcio, óxido de circonio, óxido de tantalio, fosfato de calcio monobásico y cargas), todas tienen excelentes propiedades mecánicas, así como biológicas, cuentan con buenas propiedades de manipulación al momento de ser empleadas por el clínico. Estos biocerámicos tienen diferentes características, como lo son las siguientes: son hidrófilos, insolubles, radiopacos, libres de aluminio, de pH alto y requieren humedad para fraguar y endurecer. También su tiempo de trabajo es de más de 30 minutos y el tiempo de fraguado es de 4 horas en condiciones normales (Figura 8) dependiendo de la cantidad de humedad disponible (9).

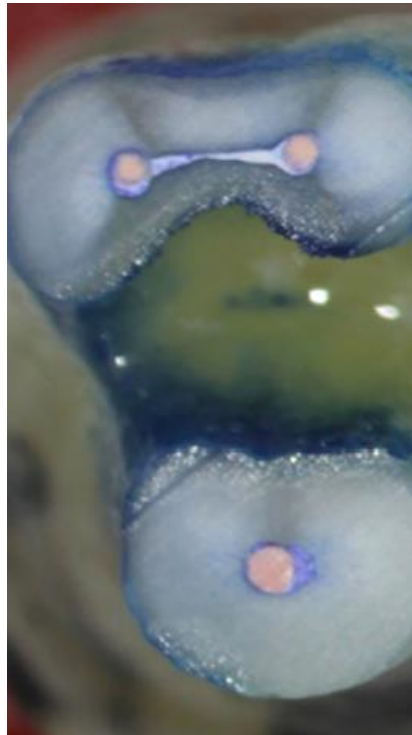


Figura 8. Obturación de conductos.

En la imagen se observa el relleno tridimensional de los conductos con gutapercha y cemento endodóntico a base de biocerámico (9).

II. INTRODUCCIÓN

Uno de los materiales usados en el área de endodoncia como cemento endodóntico es el Ceraseal, que es un cemento sellador de conductos radiculares biocerámico a base de silicato de calcio (Figura 9). Entre sus beneficios están; ser antimicrobiano, biocompatible, excelente capacidad de sellado y su estabilidad única. Una de las funciones de este biocerámico+ es cuando el silicato de calcio que produce gel CAH (calcio aluminato hidratado) y CSH (calcio silicato hidratado) al absorber la humedad de los tejidos circundantes en el conducto radicular y algo de cristalización de hidróxido de calcio, evitan las proliferaciones bacterianas (22).

Una de las tantas características ya mencionadas con anterioridad es que cuenta con una estabilidad única ya que, nunca se encoge ni se expande en el conducto radicular, previene la odontoclasia manteniendo su volumen estable y es recomendable para la obturación con técnica de cono único. Otra de sus cualidades es el menor tiempo de fraguado, evitando el fenómeno de lavado; este fenómeno de lavado puede ocurrir si el sellador a base de MTA no está lo suficientemente curado o si se produce exudado en el conducto radicular. En consecuencia, el sellador del conducto radicular es arrastrado por las fuerzas físicas, CeraSeal previene este fenómeno al tener un fraguado más rápido que otros selladores endodónticos de diferente composición. Es un sellador a base de Silicato de Calcio con un tiempo de fraguando 3.5 horas y un pH -12 y cuenta con una radiopacidad de 8mm (22).



Figura 9. Cemento biocerámico. CeraSeal.

En la imagen se observa el cemento a base biocerámico de la casa comercial Meta Biomed (22).

Las características principales de CeraSeal son las siguientes (22):

- Excelente capacidad de sellado
- La humedad en los túbulos dentinarios y la reacción química del silicato de calcio producen la cristalización del hidróxido de calcio.
- CeraSeal es perfecta y completamente hermética en el conducto radicular.
- Evita la propagación de bacterias.
- Estabilidad única
- CeraSeal nunca se contrae o se expande en el conducto radicular
- Mantiene su volumen estable.
- La técnica de obturación de cono único es ideal. Por lo tanto, el tratamiento es las veloz.

II. INTRODUCCIÓN

- Menor tiempo de fraguado.
- Evita el fenómeno de lavado.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen en el mercado diferentes materiales de obturación para el sistema de conductos radiculares, siendo algunos más biocompatibles con los tejidos adyacentes, por lo cual surge la interrogante de cuál cemento es menos citotóxico al ser extruido sobre el tejido periapical; para lo cual se comparan cementos selladores endodónticos de diferente naturaleza; siendo el primero a base de hidróxido de calcio Sealapex®, el segundo a base de resina AH Plus® y el tercero un biocerámico CeraSeal®.

IV. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existe una amplia variedad de materiales restaurativos con los cuales se puede obturar el sistema de conductos. Estos están en íntimo contacto con los tejidos periapicales, e incluso en algunos casos, se produce extrusión del cemento sellador hacia el periápice, cuando el cemento sellador no es biocompatible retrasa la cicatrización de los tejidos perirradiculares y puede causar una inflamación de los tejidos, por lo cual este estudio se realiza con la finalidad de evaluar los daños citotóxicos provocados por el cemento sellador en los tejidos perirradiculares.

V. HIPOTESIS

5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La experimentación planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar diferencias si es que existen en el efecto citotóxico – si las hay- en los cementos selladores endodónticos Sealapex, AH Plus y CeraSeal.

5.2. HIPÓTESIS NULA

No se encuentra diferencia significativa del efecto citotóxico (con un nivel de confianza del 95%) entre los cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio Sealapex, el cemento endodóntico resinoso AH Plus, y el cemento endodóntico biocerámico *CeraSeal*, al ser extruidos a tejidos perirradiculares.

5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA

Existe una diferencia significativa del efecto citotóxico (con un nivel de confianza del 95%) entre los cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio Sealapex, el cemento endodóntico resinoso AH Plus, y el cemento endodóntico biocerámico *CeraSeal*, al ser extruidos a tejidos perirradiculares

VI. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Comparar el efecto de citotoxicidad en tres cementos selladores mediante ensayos *in vitro*.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar el efecto citotóxico del cemento sellador endodóntico *Sealapex* al ser extruido a los tejidos perirradiculares mediante un ensayo de cultivos celulares *in vitro* a las 3 horas.
2. Evaluar el efecto citotóxico del cemento sellador endodóntico *AH Plus* al ser extruido a los tejidos perirradiculares mediante un ensayo de cultivos celulares *in vitro* a las 3 horas.
3. Evaluar el efecto citotóxico del cemento sellador endodóntico *CeraSeal* al ser extruido a los tejidos perirradiculares mediante un ensayo de cultivos celulares *in vitro* a las 3 horas.

VII. VARIABLES

7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

1. Cementos Sealapex (Sybron Endo®)
2. Cemento AH Plus (Dentsply®)
3. Cemento CeraSeal (Meta Biomed®)
4. Tiempo de incubación: 3 horas.

7.2. VARIABLE DEPENDIENTE

1. Citotoxicidad de los cementos selladores endodónticos.

7.3 OPERACIÓN DE VARIABLES

Se evaluará el efecto citotóxico *in vitro* de los cementos selladores endodónticos de diferente naturaleza. El cemento endodóntico a base de hidróxido de calcio Sealapex, el cemento endodóntico resinoso AH Plus, y el cemento endodóntico biocerámico *CeraSeal*. Se analizará dichos efectos en contacto con las muestras celulares de eritrocitos a las 3 horas de incubación; finalmente se evaluará el daño celular a través de un Análisis de ANOVA y la prueba comparativa de Tukey.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental.

8.2 UNIVERSO DE ESTUDIO

Se evaluaron 3 grupos y un control (n=10):

Grupo 1: Muestra de cultivo de células sanguíneas expuestas a cemento *Sealapex*®.

Grupo 2: Muestra de cultivo de células sanguíneas expuestas a cemento *AH Plus*®.

Grupo 3: Muestra de cultivo de células sanguíneas expuestas a cemento *CeraSeal*®

Grupo Control: Muestras de cultivo de células sanguíneas (eritrocitos) sin tratamiento.

8.3 MATERIALES E INSTRUMENTAL

En el laboratorio de microbiología de la Facultad de Odontología de UABC Tijuana y en el bioterio de Facultad de Odontología de UABC Valle de las Palmas, se realizó el cultivo y observación de la citotoxicidad de los cementos endodónticos *Sealapex* (Sybron Endo®, Italia), *AH Plus* (Dentsply®, Alemania), *CeraSeal* (*Meta Biomed, Korea*), estos fueron utilizados siguiendo las instrucciones del fabricante. La muestra de eritrocitos, fue colocada en tubos de vidrio de 4 ml (BD Vacutainer®, K2 EDTA, USA). Como parte del equipo principal se utilizó la incubadora de convección por gravedad de precisión (THELCO, Estados Unidos) (Figura 10), incubadora Symphony (VWR 414004-624). el agitador (LABQUAKE®, Barnstead Thermolyne), y la separación de eritrocitos con la centrifuga (Clay Adams Dynac, Rotor de 0101 W).



Figura 10. Incubadora de convección.

En la figura se observa la incubadora en la cual se colocaron las muestras de eritrocitos con los cementos endodónticos como parte de la metodología.

8.4 METODOLOGÍA

8.4.1 Toma de muestra sanguínea

La toma de la muestra sanguínea se realizó por medio de venopunción a partir de sangre completa para la posterior separación de eritrocitos (Figura 11), previo al consentimiento informado de cada voluntario que donó la muestra.

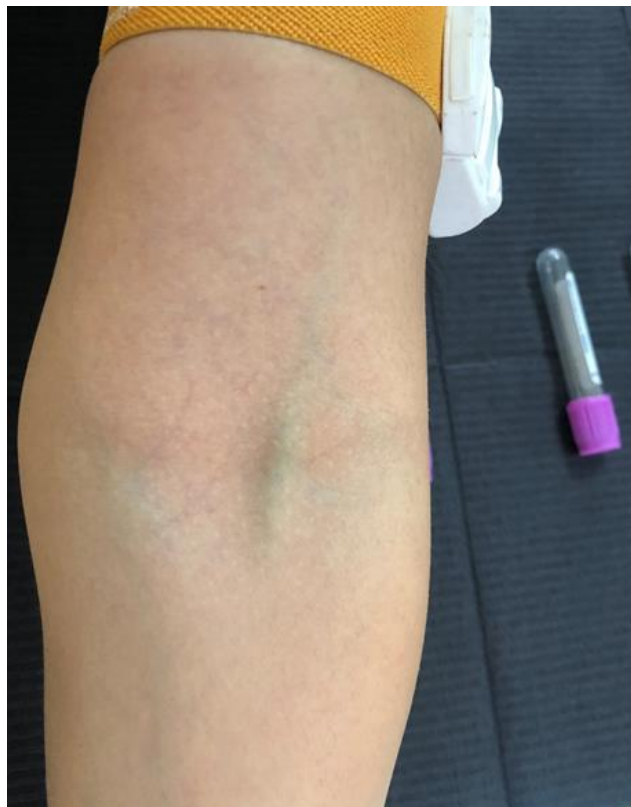


Figura 11. Punción venosa.

Preparación de donador para realizar la venopunción, a fin de extraer la sangre completa para su posterior estudio.

Al momento de la obtención de la sangre fue indispensable garantizar que los voluntarios no presentarán alguna enfermedad infecciosa o contagiosa que activará el sistema inmune dentro de los 60 días previos a la toma de muestra, ya que se necesitó que la serie no tuviera reacción inmune alguna.

Además de preguntar específicamente por sintomatología relacionada con patologías que pudieran inducir respuesta inmunológica para incluir al voluntario, se examinó cada muestra de sangre antes de iniciar el procesamiento de ella para verificar que la morfología de las células no se encontrará alterada.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta verificación se realizó montando un extendido de sangre periférica teñido con coloración de eosina que se observó al microscopio óptico. Se incluyeron voluntarios sin distinción de género y en todo caso mayores de edad (mayores de 18 años). De cada voluntario donante de sangre se obtuvo una muestra de 10 ml de sangre periférica, que una vez obtenida será colocada en un tubo usando EDTA como anticoagulante.

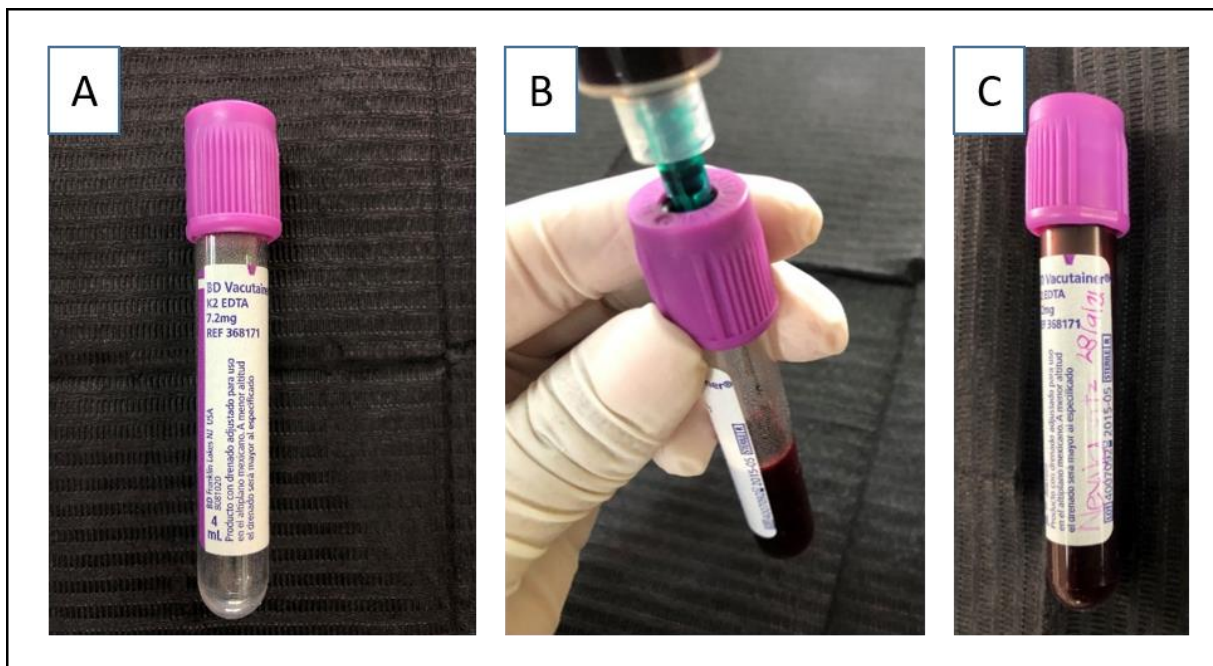


Figura 12. A) Tubo de vidrio con EDTA. B) Colocación de muestra sanguínea en tubos. C) Tubo de vidrio con muestra sanguínea.

En la figura se observa A) el tubo de vidrio con EDTA que se utilizó para la B) colocación de la sangre completa que fue empleada en el estudio de esta investigación, C) los tubos fueron membretados con la fecha de extracción.

8.4.2. Cultivo celular

Para lograr la separación de los eritrocitos y posteriormente el cultivo de éstos, todos los procedimientos se realizaron en condiciones estériles.



Figura 13. Centrifuga DYNAC.

En la figura se observa la centrífuga con la que se separaron los eritrocitos del suero.

Una vez obtenida la muestra sanguínea en los tubos de vidrio, se colocaron en el agitador (LABQUAKE®), durante 2 horas con el fin de evitar la coagulación de los eritrocitos. Posteriormente se dividieron las muestras sanguíneas en 6 tubos de 4 ml con K2 EDTA, añadiendo los 5 ml de sangre periférica obtenidos anteriormente por punción venosa en cada tubo, a estos se les agregó 4 ml de solución salina y se realizó la homogenización 5 veces de manera manual.

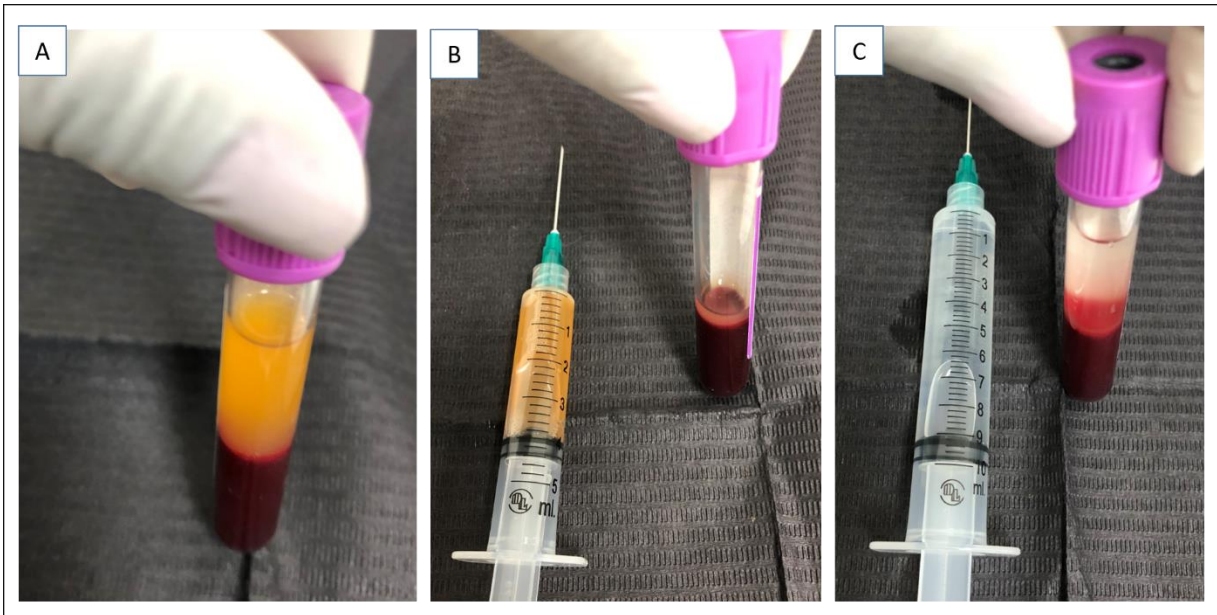


Figura 14. A) Disolución de suero y eritrocitos. B) Descartar el sobrenadante. C) Añadir solución salina.

En la figura se observa A) la muestra celular recién extraída de la centrifuga donde ocurrió la disolución de suero y eritrocitos, B) se descartó el sobrante de suero con una jeringa de 10 ml dejando solo los eritrocitos al fondo del tubo, C) posteriormente se le agregó solución salina para realizar los lavados.

Aunado a esto se continuó con la centrifugación de los tubos con las muestras sanguíneas, a 85 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente (27 °C) con el objetivo de separar los eritrocitos.

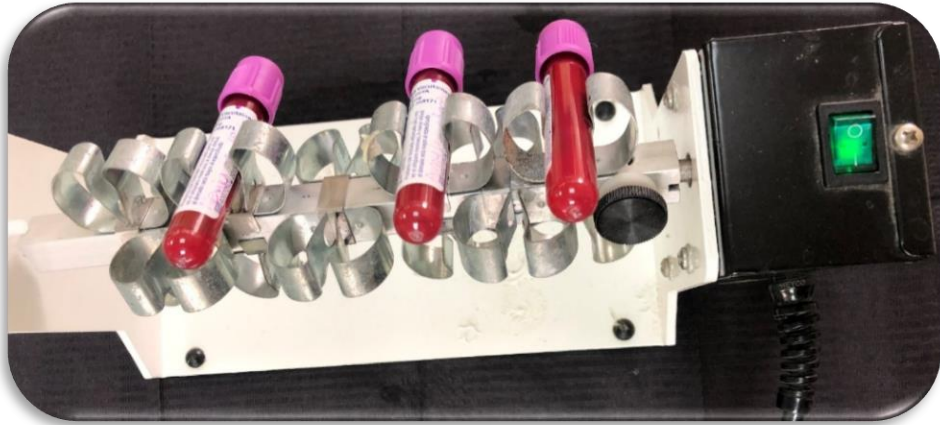


Figura 15. Agitador (LABQUAKE®).

En la figura se observa el agitador en el cual se colocaron las muestras sanguíneas recién extraídas del donador, a fin de evitar la coagulación y lisis de los eritrocitos. Permaneciendo en el agitador hasta el momento de ser lavados.

Una vez centrifugados los tubos, se extrajo con una micropipeta el suero que fue separado durante el procedimiento, tratando de arrastrar la menor cantidad posible del reactivo. Se repitió este procedimiento durante 5 lavados con solución salina a fin de eliminar las proteínas de los eritrocitos y retirar los restos de suero.

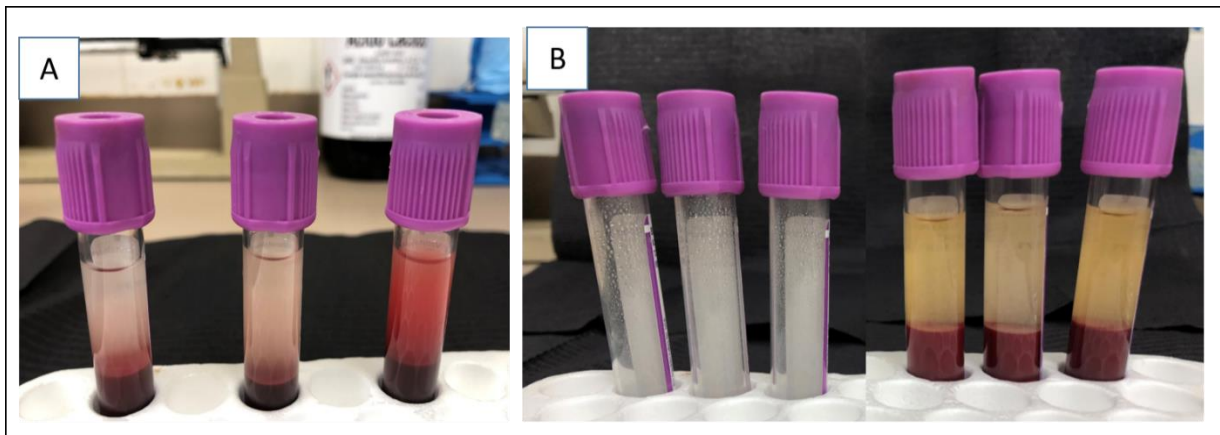


Figura 16. A) Lavado de eritrocitos. B) Separación de eritrocitos.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

En la figura se observa A) la muestra de los eritrocitos con la solución salina después del lavado, B) para su posterior centrifugación, este paso se repitió en 5 ocasiones para retirar las proteínas de la muestra.

Por último, se descartó el sobrenadante de cada uno de los tubos de vidrio y se repitió el lavado una vez más.

8.4.3. Preparación de solución de eritrocitos

Se realiza la preparación de 50 ml de solución de eritrocitos: (Figura 17).

En la cual se colocó 44 ml de solución salina y 6 ml de eritrocitos anteriormente preparados (la extracción de eritrocitos fue obtenida de los tubos morados, que anteriormente fueron centrifugados y lavados 5 veces) y extraídos de los botones finales. La preparación de solución de eritrocitos de 50 ml se homogenizó en 5 ocasiones para lograr un mezclado homogéneo de la preparación.



Figura 17. Preparación de 50 ml de solución de eritrocitos.

En la figura se observa la solución preparada para las muestras, que contiene 44 ml de solución salina y 6 ml de eritrocitos.

8.4.4. Preparación y colocación de los selladores

Para evaluar la citotoxicidad de los selladores endodónticos en cultivos celulares. Se utilizaron cementos, *Sealapex* (Sybron Endo®), *AH Plus* (Dentsply®), *CeraSeal* (Meta Biomed).



Figura 18. Cementos endodónticos.

En la figura se observan los tres cementos endodónticos empleados en el estudio, Sealapex (Sybron Endo®), CeraSeal (Meta Biomed), AH Plus (Dentsply®).



Figura 19. Mezclado de cemento de acuerdo al fabricante.

En la imagen se observa el cemento endodóntico AH Plus (Dentsply®) previo a su preparación de acuerdo al fabricante.

Estos fueron mezclados según las instrucciones del fabricante (Figura 19). Posteriormente se colocó una gota en la parte central e inferior de los tubos de vidrio, el cual fue previamente pesado en la báscula analítica (Figura 20). Los tubos fueron rotulados con fecha, nombre del cemento y número de muestra de cada cemento. Los eritrocitos (1.5 ml) fueron agregados en los tubos sobre los cementos previamente colocados. (Figura 23).

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS



Figura 20. Balanza analítica

En la imagen se observa la balanza analítica para pesar el cemento endodóntico.



Figura 21. A) Tubo con cemento y eritrocitos. B) Muestras en incubadora.

En la figuras se observa A) un de las muestras de cemento con los eritrocitos antes de ser incubados, y en la imagen B) Se observan ya todas las muestras colocadas en la incubadora durante 3 horas.

Una vez realizado el paso anterior, se colocaron en la incubadora de convección por gravedad de precisión (SYMPHONY) durante 3 horas, con una temperatura de 27 °C. (Figura 22, Figura 21). Terminado este lapso de tiempo se colocaron las muestras en la centrífuga por 3 minutos a 90 rpm y se tomó el sobrenadante para dar lectura en el UV.

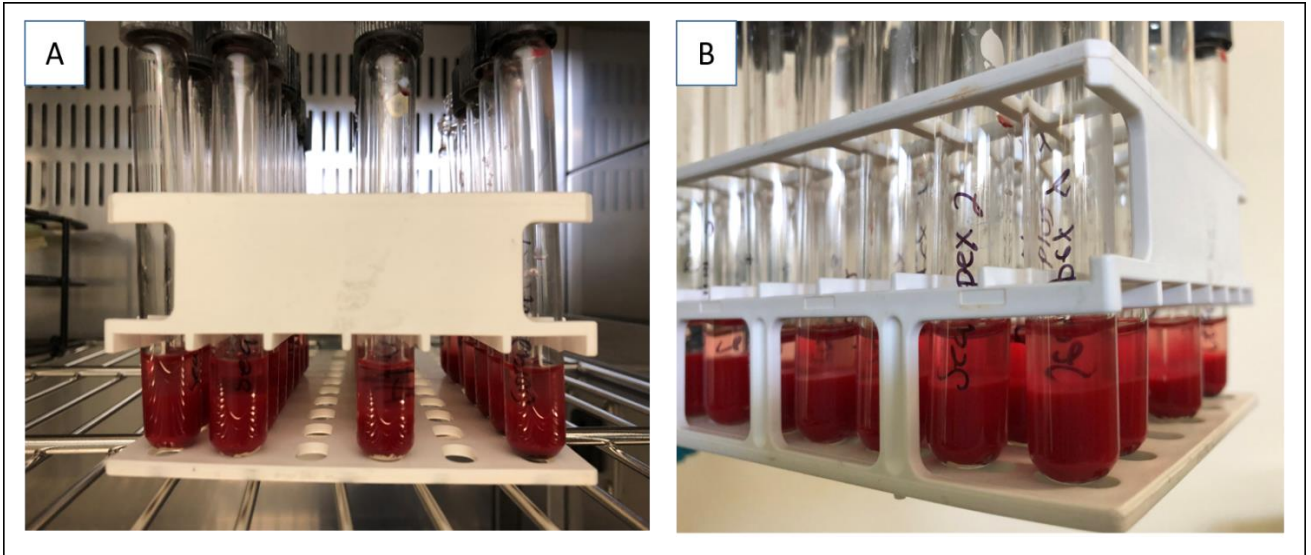


Figura 22. Muestras de cementos en incubación

En la imagen se observa las muestras de los cementos endodónticos en la incubadora.

Todos los procedimientos se realizan bajo condiciones estériles.

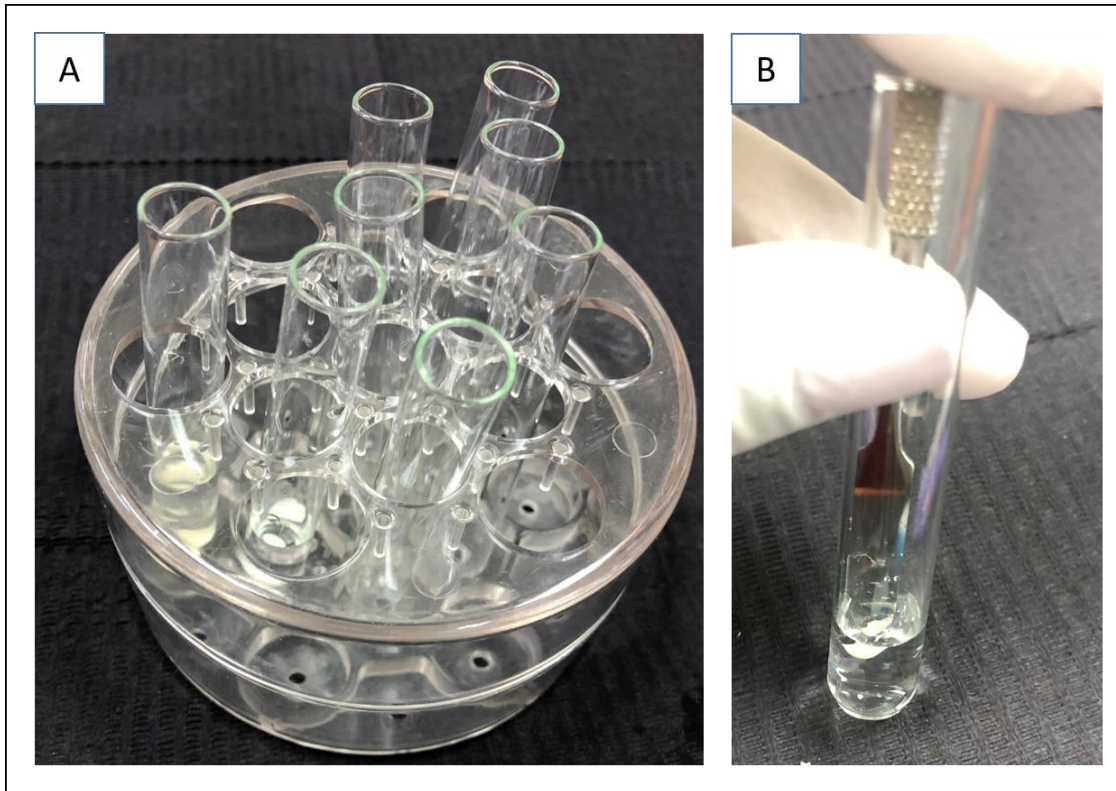


Figura 23. A) Gradilla para tubos. B) Colocación de cemento en tubos.

En la figura se observa A) la gradilla donde se B) colocaron los tubos de vidrio con el cemento endodóntico al fondo para agregar posteriormente los eritrocitos.

La citotoxicidad de los cementos fue evaluada microscópicamente en busca de cambios morfológicos en eritrocitos a las 3 horas. Se analizaron estadísticamente variables de citotoxicidad de los cementos selladores endodónticos.

8.4.5. Tinción del sobrenadante

Extracción del sobrenadante de los tubos con las muestras de cada cemento y de la prueba control. Se obtuvo cuidadosamente el botón de cada tubo, y se colocó una gota de cada de las muestras en la laminilla de vidrio.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Se continuó con el barrido de la muestra, esta se dejó secar durante 10 minutos. Posteriormente se realizó la inmersión en alcohol de 70 grados, de las laminillas durante 1 segundo, dejando secar nuevamente durante 10 minutos más.

Para la tinción de las laminillas se utilizó la eosina, la cual se dejó por 1 minuto y se retiró bajo el chorro de agua durante 2 segundos y se dejó secar durante 10 minutos (Figura 24).

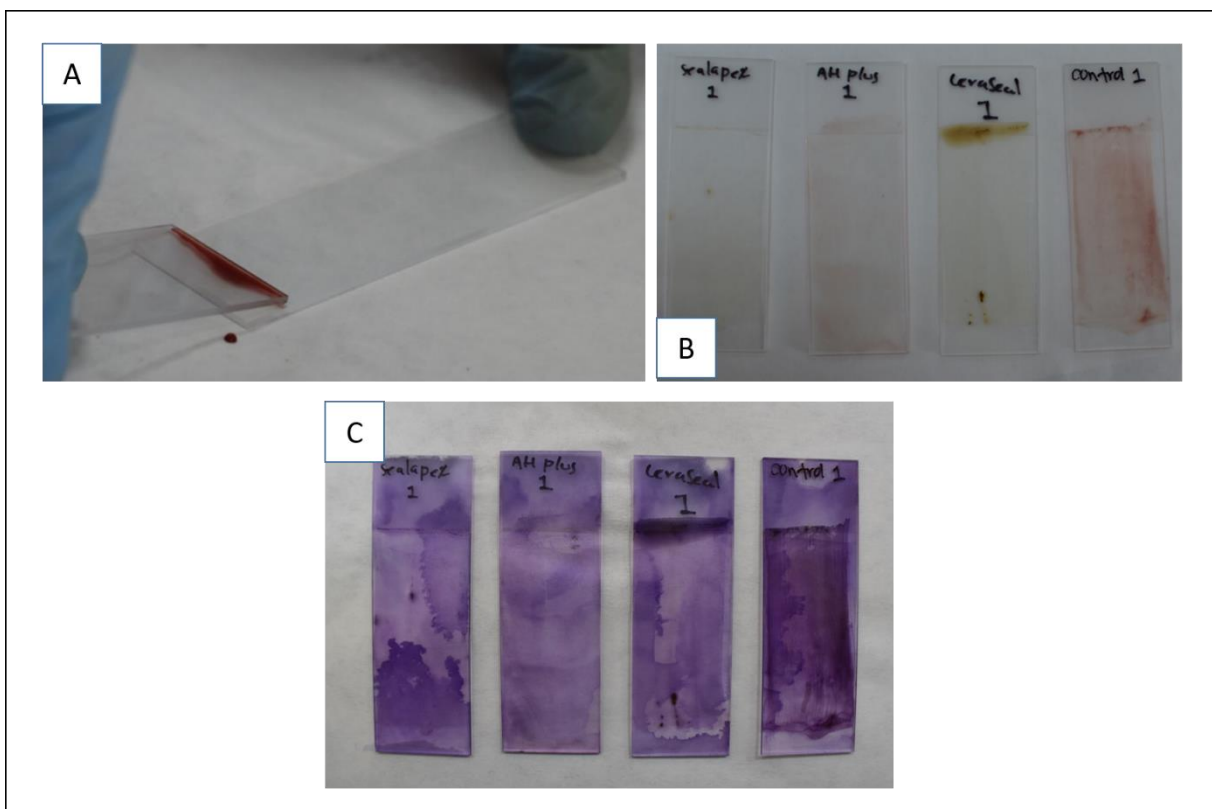


Figura 24. A) Barrido de eritrocitos B) Muestra en laminilla C) Tinción con eosina.

En la imagen se muestra A) el barrido de los eritrocitos sobre las laminillas una vez pasado el tiempo de incubación, B) Laminillas con las muestras listas para la tinción, C) laminillas con tinción de eosina.

8.4.6. Evaluación de la morfología de los eritrocitos

Los cultivos se observaron en un UV a 540 nanómetros (Figura 25, Figura 26. Espectrofotómetro y con un microscopio óptico con un objetivo de proyección de 40 X.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Y se tomaron fotografías de los cultivos al momento de colocar los insertos (hora cero), y después del tiempo (3 horas), para finalmente evaluar la morfología y su lisis celular.



Figura 25. Sistema UV

En la imagen se observa el sistema UV para el conteo de la hemólisis de las muestras obtenidas.



Figura 26. Espectrofotómetro

En la imagen se observa el sistema UV para el conteo de la hemólisis de las muestras obtenidas en la unidad de Valle de las Palmas.

8.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los registros fue realizado a través del programa Prism® utilizando el método de Análisis de Varianza (ANOVA), y a través del Método de Tukey para comparaciones múltiples. Se consideraron resultados significativos niveles iguales o menores al 5% ($p \leq 0,05$).

IX. RESULTADOS

9.1 CITOTOXICIDAD POSTERIOR A LA INCUBACIÓN.

Las muestras del estudio realizado para conocer el efecto citotóxico de los cementos endodónticos Sealapex®, AH Plus®, y CeraSeal®, en presencia de eritrocitos arrojaron los siguientes resultados los cuales se muestran en las tablas de ANOVA y prueba de Tukey.

En la siguiente tabla podemos observar un comparativo de la absorbancia de los cementos y el grupo de control en las muestras de eritrocitos después de 3 horas de incubación; donde podemos observar que solo en el grupo control (sin algún tipo de cemento) el valor de p fue menor que 0.05 en la comparativa de 3 horas.

Prueba de comparación múltiple de Tukey	Media diferencial	95 % CI de Diferencia	Significancia	Sumatoria	Ajuste de valor P
Sealapex vs. Control	10.20	5.458 a 14.94	Si	***	0.0006
AH Plus vs. Control	6.433	1.691 a 11.18	Si	*	0.0106
CeraSeal vs. Control	7.467	2.725 a 12.21	Si	**	0.0044
AH Plus vs. Sealapex	-3.767	-8.509 a 0.9754	No	ns	0.1265
CeraSeal vs. Sealapex	-2.733	-7.475 a 2.009	No	ns	0.3210
CeraSeal vs. AH Plus	1.033	-3.709 a 5.775	No	ns	0.8951

Figura 27. Comparativo de los resultados en el UV de los grupos de estudio después de 3 horas de incubación con eritrocitos

9.2 COMPARACIÓN DE CITOTOXICIDAD ENTRE LOS CEMENTOS Y GRUPO CONTROL.

Los datos obtenidos del comparativo para la prueba de Tukey, demostraron que no existe diferencia significativa entre la citotoxicidad que mostraba Sealapex®, AH Plus®, y CeraSeal® en presencia de eritrocitos, sin embargo, al comparar la citotoxicidad del grupo control contra cada uno de estos cementos se observó que existe una diferencia muy significativa. (Figura 29).

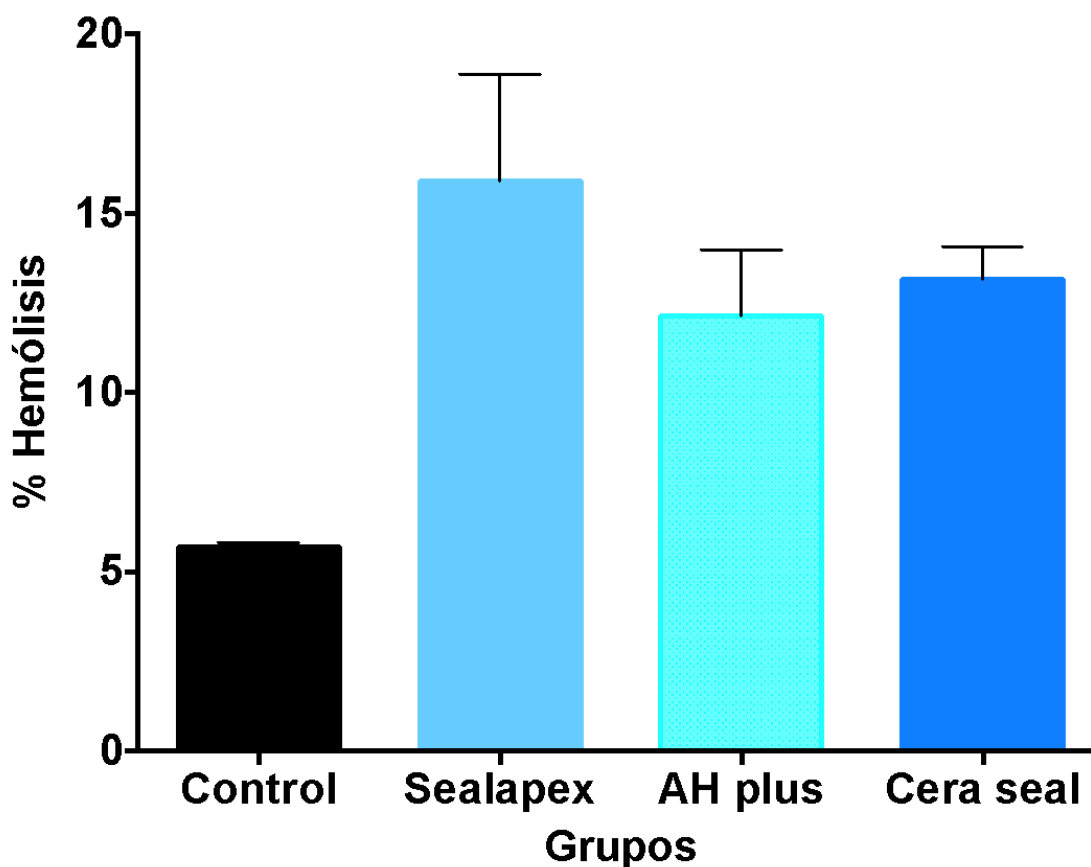


Figura 28. Análisis gráfico comparativo de la citotoxicidad entre los cementos de estudio, grupo control para los eritrocitos

Siendo todos los cementos citotóxicos, pero el más tóxico de acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba ANOVA y Tukey, fue la muestra del cemento Sealapex, continuada por el CeraSeal y por último el cemento con menor citotoxicidad es el AH Plus (Figura 28).

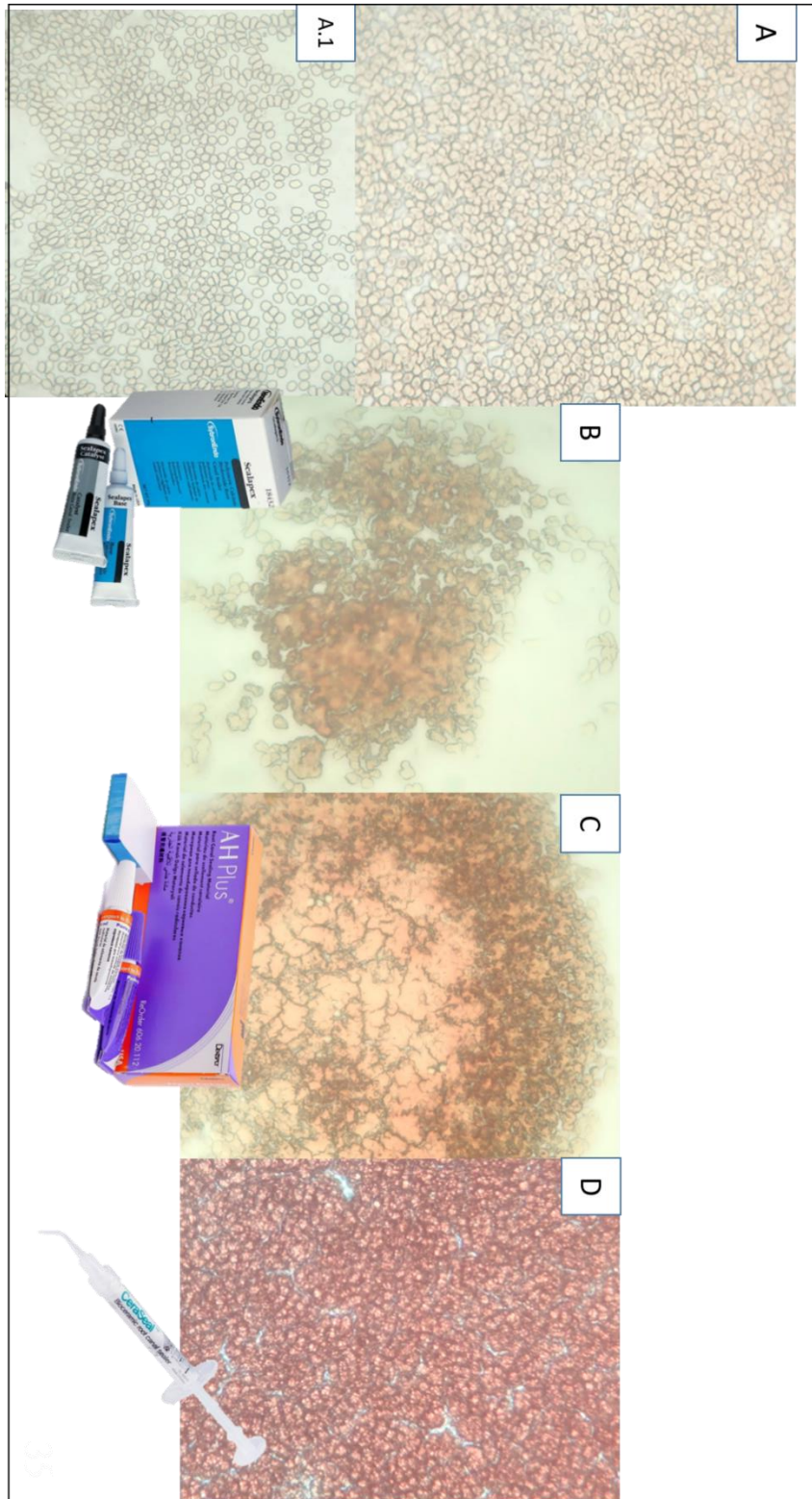


Figura 29. Resultados de cementos endodónticos.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

En la imagen se observa cementos endodónticos observados al microscopio con un aumento del 40x. A y A.1.) grupo control observado con un aumento al 40x, B) Muestra de cemento endodóntico Sealapex observado con un aumento al 40x, C) Muestra de cemento endodóntico AH Plus observado con un aumento al 40x, D) Muestra de cemento endodóntico CeraSeal observado con un aumento al 40x.

X. DISCUSIÓN

El propósito del presente estudio fue evaluar *in vitro* el efecto citotóxico de los cementos selladores endodónticos de diferente naturaleza Sealapex®, AH Plus® y CeraSeal®, utilizando eritrocitos, esto con la finalidad de simular *in vitro* el efecto del cemento si fuese extruido a las células de los tejidos periapicales. En algunos casos, se produce extrusión del cemento sellador hacia el periápice. Cuando el cemento sellador no es biocompatible retrasa la cicatrización de los tejidos perirradiculares y puede inducir una inflamación de los tejidos, por lo cual este estudio se realiza con la finalidad de evaluar los daños citotóxicos provocados por el cemento sellador en los tejidos perirradiculares.

Cualquier material irritante extruido más allá del foramen apical puede causar inflamación, retrasando la cicatrización. Varios estudios han informado que los selladores compuestos a base de resinas causan citotoxicidad de moderada a grave. La exposición de las células a agentes citotóxicos provoca necrosis o apoptosis (13).

Al-Hiyasat y colaboradores mencionan en su estudio que todos los materiales utilizados fueron citotóxicos en diferentes grados. Pero AHPlus fue el menos citotóxico seguido de EndoRez, Epiphany y por último Metaseal, que fue el más citotóxico. La comparación de seguimiento mediante la prueba de Tukey mostró que todos los materiales eran significativamente diferentes entre sí. AH Plus fue el material más biocompatible probado porque mostró baja citotoxicidad, seguido por EndoRez, que fue moderadamente citotóxico; Epiphany, que era muy citotóxico; y Metaseal, que era severamente citotóxico (10).

Bajo la metodología que se eligió para este estudio, en el cual se evaluaron los cementos selladores endodónticos de diferente naturaleza, a base de hidróxido de calcio, resinoso, biocerámicos y un grupo control de eritrocitos para analizar la presencia de hemólisis, en un medio *in vitro*; los datos obtenidos de la investigación

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

demonstraron que el grupo control tuvo un efecto citotóxico nulo, demostrando la capacidad que tienen los cementos de toxicidad. Se observó que no existe diferencia significativa en la citotoxicidad que genera la comparación de cualquiera de los cementos entre sí pasadas las 3 horas. Sin embargo, en el grupo control se observó una variación al compararlo con los cementos a la medición de las 3 horas (Figura 27).

XI. CONCLUSIONES

Después de llevar a cabo la experimentación planteada para analizar la citotoxicidad de los cementos selladores endodónticos, *Sealapex*®, *AH Plus*® y *CeraSeal*® en presencia de eritrocitos y así poder demostrar cuál de los cementos es más tóxico al contacto con los tejidos periapicales, mediante el ensayo in vitro, podemos concluir lo siguiente:

Los cementos endodónticos selladores demostraron que no existe diferencia significativa entre la citotoxicidad que mostraba *Sealapex*®, *AH Plus*®, y *CeraSeal*® en presencia de eritrocitos, sin embargo, al comparar la citotoxicidad del grupo control contra cada uno de estos cementos se observó que existe una diferencia muy significativa.

Para los cuatro grupos de estudio, el análisis realizado a las 3 horas de incubación las muestras, demostraron tener hemólisis en sus eritrocitos y en el suero de cada uno de ellos, es determinante el tiempo en el cual se trabaja con los distintos selladores de endodoncia ya que la capacidad de toxicidad aumenta con el tiempo.

A pesar de que el grupo control demostró tener los mejores resultados en todas las pruebas, es importante tomar en cuenta que el cemento a base de hidróxido de calcio posee una mayor citotoxicidad frente a otros cementos a base de resinas y biocerámicos.

XII. RECOMENDACIONES

Después de haber analizado los resultados obtenidos y con el objetivo de enriquecer aún más nuestros conocimientos sobre el tema, se recomienda para futuros estudios de investigación sobre la citotoxicidad de cementos selladores el empleo de otras células sanguíneas como los leucocitos obtenidos de muestras sanguíneas mediante una centrífuga con mayor velocidad para su obtención y también el uso de cultivos celulares de fibroblastos.

Tomando en cuenta el relativamente poco tiempo que lleva uno de estos cementos en el mercado y los pocos estudios que existen comparándolos, se recomienda realizar estudios donde se incluyan cementos demás naturalezas (a base de hidróxido de calcio, resina epóxica, óxido de zinc y eugenol, etc.) y evaluar el efecto citotóxico que tienen cada uno de ellos.

Como estudios paralelos se recomienda también analizar además del efecto antimicrobiano, su capacidad de adhesión, fluidez, entre otros.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Bernman LH, Hergreaves KM. Cohen's Pathways of the Pulp. 12 EDITION. Cohen's Pathway of The Pulp. Elsevier; 2020.
2. Soares G. Endodoncia, técnicas y fundamentos. Panamericana M, editor. España; 2002.
3. Peralta Perez M, Uribe Querol E, Garcia Aranda RL, Gutierrez Ospina G. Evaluación in vitro de la citotoxicidad de tres selladores endodóncicos sobre fibroblastos de ratón de la línea celular L929. Rev Odontológica Mex [Internet]. 2006;10(2):63–8. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/odon/uo-2013/uo133d.pdf>
4. Canalda Carlos BE. Endodoncia, Técnicas clínicas y bases científicas. ELSEVIER. España; 2014.
5. Monardes Cortés H, Abarca Reveco J, Castro Hurtado P. Microfiltración Apical de Dos Cementos Selladores: Un Estudio in vitro. Int J Odontostomatol. 2014;8(3):393–8.
6. Eldeniz AU, Erdemir A, Kurtoglu F. Evaluación del pH y la liberación de iones de calcio del sellador Acroseal en comparación con los selladores Apexit y Sealapex. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007;86–91.
7. Bergenholtz Gunnar HP. Endodoncia. Ed. Segund. Manual EM, editor. México; 2011.
8. Eldeniz AU, Mustafa K, Ørstavik D, Dahl JE. Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide- and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva and L929 cell lines. Int Endod J. 2007;40(5):329–37.
9. Trope M, Bunes ALF, Debelian YG. Materiales y técnicas de relleno de raíces : ¿la biocerámica es una esperanza ? 2015;86–96.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

10. Al-Hiyasat AS, Tayyar M, Darmani H. Cytotoxicity evaluation of various resin based root canal sealers. *Int Endod J.* 2010;43(2):148–53.
11. Ramos-López M, Silva-Benítez EL, Aguilar-Medina M, Ayala-Ham AR, Romero-Quintana JG, Soto-Sainz JE, et al. Evaluación in Vitro de la Biocompatibilidad de Cuatro Cementos Selladores con Osteoblastos Humanos. *Int J Odontostomatol.* 2019;13(1):64–8.
12. Chang MC, Lin LD, Chen YJ, Tsai YL, Cheng YA, Kuo CS, et al. Citotoxicidad comparativa de cinco selladores de conductos radiculares en fibroblastos cultivados del ligamento periodontal humano. *Int Endod J.* 2010;251–7.
13. Baraba A, Želježić D, Kopjar N, Mladinić M, Anić I, Miletić I. Evaluation of cytotoxic and genotoxic effects of two resin-based root-canal sealers and their components on human leucocytes in vitro. *Int Endod J.* 2011;44(7):652–61.
14. Torabinejad M. Principios y prácticas endodónticas. Sexta edic. Elsevier, editor. USA; 2021.
15. Boveda C. Efecto Citotóxico de los Cementos Selladores Utilizados en Endodoncia Sobre el Tejido Periapical. Venezuela; 2002.
16. Lodiene G, Morisbak E, Bruzell E, Ørstavik D. Toxicity evaluation of root canal sealers in vitro. *Int Endod J.* 2008;41(1):72–7.
17. Palareti G, Legnani C, Cosmi B, Antonucci E, Erba N, Poli D, et al. Comparación de citotoxicidad, genotoxicidad y actividad de biomarcadores inflamatorios inmunológicos de varios selladores endodónticos contra células pulpares humanas inmortalizadas. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(1):42–9.
18. Wang Z. Materiales biocerámicos en endodoncia. *Endod Top.* 2015;3–30.
19. Giani A, Cedrés C. Avances en protección pulpar directa con materiales bioactivos. *Actas Odontológicas.* 2017;14(1):4.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

20. Sealapex. Sellador de conductos radiculares de hidróxido de calcio [Internet]. [citado el 2 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.kerrdental.com/kerr-endodontics/sealapex-polymeric-calcium-hydroxide-root-canal-sealer>
21. Leonardo RDT, Consolaro A, Carlos IZ, Leonardo R. Evaluation of Cell Culture Cytotoxicity of Five Root Canal Sealers. J Endod. 2000;26:328–30.
22. CeraSeal Calcium Silicate-based Bioceramic Root Canal Sealer [Internet]. [citado el 1 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://metabiomedamericas.com/products/ceraseal/#type>
23. Dentsply. AH Plus™ Cemento sellador de conductos radiculares la combinación de la seguridad probada con óptimas propiedades [Internet]. [citado el 1 de septiembre de 2021]. Disponible en: <http://www.dentsplyargentina.com.ar/ahplusfolleto.pdf>
24. Sirona D. AH Plus [Internet]. 2021 [citado el 7 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://www.dentsplysironachile.cl/producto/ah-plus/>