

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

PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS
CEMENTOS SELLADORES DIA ROOT BIO SEALER, DIA-
PROSEAL Y TUBLI SEAL**

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

PRESENTA

C.D. KARLA DEYANIRA RAMIREZ MONTES

PRESIDENTE

DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS

SINODAL

SINODAL

MC. JOSÉ ROMAN CHÁVEZ MÉNDEZ

MC. LUIS HERNÁN CARRILLO VÁRGUEZ

SINODAL

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO

JUNIO 2023

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA
"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

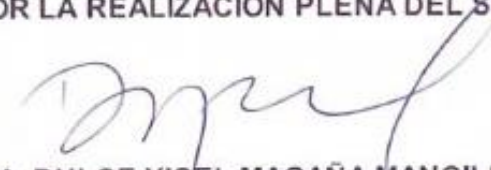
AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES DIA ROOT BIO SEALER, DIA-PROSEAL Y TUBLI SEAL

Propuesto por la C.D. KARLA DEYANIRA RAMIREZ MONTES, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

ATENTAMENTE
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"



DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS
PRESIDENTE

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA
"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

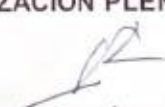
AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: *COMPARACIÓN IN VITRO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES DIA ROOT BIO SEALER, DIA-PROSEAL Y TUBLI SEAL*

Propuesto por la C.D. KARLA DEYANIRA RAMIREZ MONTES, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

ATENTAMENTE
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"


MC JOSÉ ROMÁN CHÁVEZ MÉNDEZ
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

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 DIA ROOT BIO SEALER, DIA-PROSEAL Y TUBLI SEAL**

Propuesto por la C.D. KARLA DEYANIRA RAMIREZ MONTES, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

**ATENTAMENTE
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**



MC LUIS HERNÁN CARRILLO VÁRGUEZ
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

"2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista"

Tijuana, Baja California a, 26 de mayo de 2023

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 DIA ROOT BIO SEALER, DIA-PROSEAL Y TUBLI SEAL**

Propuesto por la C.D. KARLA DEYANIRA RAMIREZ MONTES, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

**ATENTAMENTE
"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"**



DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ
SINODAL

Ccp.- Archivo.

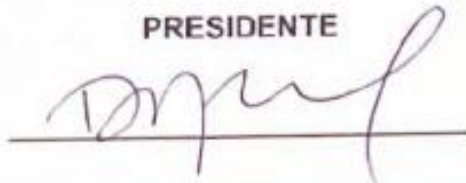
**COMPARACIÓN *IN VITRO* DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS
CEMENTOS SELLADORES DIA ROOT BIO SEALER,
DIA-PROSEAL Y TUBLI SEAL**

PRESENTA



C.D. KARLA DEYANIRA RAMIREZ MONTES

PRESIDENTE



DRA. DULCE YICEL MAGAÑA MANCILLAS

SINODALES



MC. JOSÉ ROMAN CHÁVEZ
MÉNDEZ



MC. LUIS HERNÁN CARRILLO
VÁRGUEZ



DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

Tijuana, Baja California, 10 de junio 2023

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer infinitamente a mis padres por todo el apoyo y cariño que me dieron durante toda mi formación académica, sin ustedes no hubiera logrado todo lo que hasta hoy he realizado. Gracias por siempre alentarme a superarme y por guiarme por el buen camino. A mi mamá por siempre ayudarme a atravesar los obstáculos que se me iban presentando. A mi padre por siempre estar incondicionalmente conmigo, por ayudarme a que todo fuera posible. Gracias papas por celebrar siempre conmigo mis logros.

A mi familia, en especial a mi abuelita, por ayudarme en esas noches de desvelo y por siempre creer en mí. Al resto de mi familia por estar a mi lado en toda esta travesía.

Quiero agradecer al Dr. Mario Vergara por estar al pendiente de mí y hacer todo lo posible para que no me faltara nada.

A la Dra. Ana Gabriela Carrillo, por creer en mí y darme la oportunidad de ser parte de este posgrado, gracias por su apoyo para llevar a cabo este gran sueño de ser especialista en el área que más me apasiona.

A la Dra. Dulce Yicel Magaña, le doy infinitas gracias por todo su apoyo incondicional, por su tiempo, paciencia y su cariño a lo largo de esta etapa. Gracias por guiarme, la admiro mucho y siempre la tendré en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

Al MC. José Roman Chávez por su entero compromiso, por ayudarme a llevar a cabo el proceso de experimentación, guiarme y estar siempre al pendiente.

Al Dr. Luis Hernán Carrillo por su apoyo durante todo el posgrado, su paciencia y su entrega como docente, gracias por orientarme y estar al pendiente de mi trabajo.

A Andrés García, mi novio, quien me llenó de palabras de aliento para llegar a mis metas, por brindarme su apoyo incondicional, por aplaudir mis logros y abrazarme en mis fallas, por enseñarme que es mejor recorrer este camino juntos.

Quiero agradecer a mis mejores amigas Mara Zaragoza y Raquel Tello por tantos años de amistad siendo incondicionales y por todo su amor.

Quiero agradecer a quienes me ayudaron y me alentaron para tomar este camino de la odontología, al Dr. Aaron Ávila y a la Dra. Vianeth Velarde quienes se convirtieron en una segunda familia para mí, gracias por su cariño y su apoyo incondicional. Gracias por abrirme las puertas de su consultorio e impulsarme a seguir con mi formación académica.

Al personal administrativo, a Vicky, por siempre ayudarnos a tener en orden lo que fuéramos necesitando.

Por último, quiero agradecer a mis compañeros de generación por compartir este camino, cada momento a su lado fue muy especial, me llevo muchas experiencias bonitas a su lado, muchas horas de diversión y trabajo. Siempre los llevaré en mi corazón y espero que nos podamos seguir frecuentando.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Quiero agradecer a la Universidad Autónoma de Baja California por permitirme formar parte de esta institución desde el pregrado hasta llegar al Posgrado de Endodoncia.

A CONACyT por la beca otorgada, No. CVU: 1141374

Al Laboratorio de Investigación Epidemiológica (LIE) del Programa Universitario de Prevención de Infecciones en Tijuana (PUPIT) de la Facultad de Ciencias de la Salud en Valle de las Palmas, por su compromiso en mejorar la calidad académica de los estudiantes de la Universidad Autónoma de Baja California.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	I
AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES	III
CONTENIDO	III
ÍNDICE DE FIGURAS	V
LISTA DE ABREVIATURAS	IV
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	3
2.1 ENDODONCIA	3
2.2. OBTURACIÓN DE LOS CONDUCTOS RADICULARES	5
2.3. CEMENTOS ENDODÓNTICOS.....	7
2.3.1. CEMENTO SELLADOR A BASE ÓXIDO DE ZINC-EUGENOL	10
2.3.2. CEMENTO SELLADOR A BASE DE RESINA EPOXI.....	11
2.4. CEMENTOS BIOCERÁMICOS	12
2.5. BIOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES.....	15
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
IV. JUSTIFICACIÓN.....	18
V. HIPÓTESIS	19
5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO	19
5.2. HIPÓTESIS NULA	19
VI. OBJETIVOS.....	20

ÍNDICE DE FIGURAS

6.1	OBJETIVO GENERAL.....	20
6.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
VII.	VARIABLES.....	21
7.1	VARIABLES INDEPENDIENTES	21
7.2	VARIABLES DEPENDIENTES.....	21
7.3	OPERACIÓN DE VARIABLES	21
VIII.	MATERIALES Y MÉTODOS	23
8.1.	TIPO DE ESTUDIO.....	23
8.2.	UNIVERSO DE ESTUDIO	23
8.3.	MATERIALES E INSTRUMENTAL.....	24
8.4.	METODOLOGÍA.....	27
8.4.1.	<i>OBTENCIÓN DE MUESTRA SANGUÍNEA</i>	<i>27</i>
8.4.2.	<i>SEPARACIÓN DE ERITROCITOS</i>	<i>28</i>
8.4.3.	<i>PREPARACIÓN DE ERITROCITOS.....</i>	<i>29</i>
8.4.4.	<i>PREPARACIÓN DE MUESTRAS</i>	<i>31</i>
8.4.5.	<i>COLOCACIÓN DE SELLADORES</i>	<i>31</i>
8.4.6.	<i>EVALUACIÓN CELULAR BAJO MICROSCOPIO</i>	<i>33</i>
8.4.7.	<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i>	<i>34</i>
IX.	RESULTADO	35
9.1.	EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD	35
X.	DISCUSIÓN	44
XI.	CONCLUSIONES	46
XII.	RECOMENDACIONES	47
XIII.	BIBLIOGRAFÍA	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tratamiento de conductos.....	3
Figura 2. Niveles de obturación de los conductos radiculares respecto al límite de la preparación	5
Figura 3. Sellado endodóntico	7
Figura 4 Cemento de óxido de zinc-eugenol	11
Figura 5 Cemento sellador a base de resina epoxi	12
Figura 6 Cemento sellador a base de silicato de calcio.....	14
Figura 7 Incubadora (Signature Benchtop Shaking Incubator).....	25
Figura 8 Centrifuga Thermo Scientific.....	26
Figura 9 Tubos BD Vacutainer morado®	28
Figura 10 Lavado de eritrocitos	30
Figura 11 Colocación de eritrocitos en los cementos	32
Figura 12 Equipo para medir absorbancia.....	34
Figura 13 Resultados de absorbancia a los 30 min, 60 min y 150 min.....	35
Figura 14 Porcentaje de hemólisis de los cementos Dia Root BIO Sealer, Tubli Seal y Dia-Proseal a los 30 min, 60 min y 150 min.	36
Figura 15 Porcentaje de viabilidad celular observada en microscopio óptico a 40x a los 30 min, 60 min y 150 min.	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 16 Gráfica del porcentaje de viabilidad celular observada en microscopio óptico a 40x a los 30 min, 60 min y 150 min.	38
Figura 17 Toma de muestra a los 30 min observada en microscopio óptico a 40X.....	40
Figura 18 Toma de muestra a los 60 min observada en microscopio óptico a 40x	41
Figura 19 Toma de muestra a los 150 min y observadas en microscopio óptico a 40x	42

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
°C	Centígrados
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
Gr	Gramos
ISO	Organización Internacional de Normalización
Min	Minuto
ml	mililitro
μL	microlitro
MTA	Agregado de Trióxido Mineral
NaCl	Cloruro de sodio

LISTA DE ABREVIATURAS

pH	Potencial Hidrógeno
p/v	Peso/Volumen
Rpm	Revoluciones por minuto
SDS	Dodecilsulfato sódico
UABC	Universidad Autónoma de Baja California

I. RESUMEN

Introducción: La endodoncia se encarga de los procesos que se llevan a cabo dentro de la cámara pulpar. En la actualidad, esta rama de la odontología se encarga de la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa dentaria, asimismo, de las repercusiones que podemos encontrar en la región periapical. **Objetivos:** Comparar el efecto citotóxico mediante el análisis de hemólisis ocasionada por tres cementos selladores endodónticos en ensayos in vitro utilizando eritrocitos extraídos mediante punción venosa de un paciente sano. **Materiales y métodos:** Se obtuvo una muestra de sangre periférica de un paciente, se colocó Tubos BD Vacutainer morado® para ser centrifugada y finalmente colocada en tubos de vidrio de fondo redondo de 14 ml. Se dividieron las muestras en cinco grupos, dos grupos controles, uno negativo y uno positivo para comparar con tres cementos selladores, Dia Root BIO Sealer™ (DiaDent Cheongju-si, Corea), Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA), Dia-Proseal™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea) para evaluar el efecto hemolítico por medio de ensayos in vitro. Se separaron en 5 tubos de vidrio estériles en los cuales se colocó 0.7 gr de cemento sellador, 700 µL de eritrocitos y 5.6 ml de NaCl, en el caso del control positivo se colocó 400 µL jabón (SDS) 5.9 ml solución NaCl y 700 µL de pellet eritrocitario (solución eritrocitaria al 10%). Se centrifugaron y se colocaron en la incubadora a diferentes tiempos (30 min, 60 min y 150 min), las muestras fueron analizadas en un microscopio óptico a 40x y en un espectrofotómetro PerkinElmer® para evaluar la absorbancia. **Resultados:** Los resultados arrojaron que

I. RESUMEN

comparando el grupo control negativo y positivo con los cementos no se encontró diferencia significativa. Sin embargo, los cementos selladores con el control negativo se observó citotoxicidad, entre estos el que más resultó ser citotóxico fue el cemento sellador a base de óxido de zinc-eugenol Tubli Seal. **Conclusión:** Es importante el tiempo que se maneja con cada cemento, ya que en un principio el cemento a base de óxido de zinc-eugenol no demostraba ser tan citotóxico, al contrario de los otros dos cementos, el cemento a base de resina epoxi y el cemento a base de silicato de calcio. Donde aparentemente demostraban ser más citotóxico, pero después de los 150 min, el cemento a base de óxido de zinc-eugenol resultó ser el más tóxico de los cementos a comparar.

II. INTRODUCCIÓN

2.1 ENDODONCIA

La endodoncia es una especialidad polifacética que insiste en la forma en la cual se tratan los casos clínicamente. Con el paso del tiempo los clínicos han ido mejorando la capacidad para realizar los procedimientos endodónticos. (1) Además, la endodoncia se encarga de los procesos que se llevan a cabo dentro de la cámara pulpar. (2) En la actualidad esta rama de la odontología se encarga de la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa dentaria, así como de las repercusiones que podemos encontrar en la región periapical. (3) Con este tratamiento podemos ayudar a que los pacientes puedan conservar sus dientes naturales el mayor tiempo posible, logrando así mantener la función del diente, así como la estética. (1)

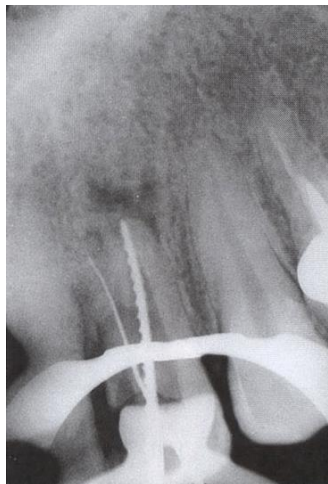


Figura 1. Tratamiento de conductos

II. INTRODUCCIÓN

En la figura 1 Se observa un tratamiento de conductos en un lateral superior con dos conductos. Se cumple el objetivo principal de la endodoncia. (4)

Según la Asociación Americana de Endodoncia, el objetivo principal de la endodoncia es encargarse del estudio de la estructura, morfología, fisiología y la patología de la pulpa dental humana, así como de los tejidos perirradiculares. Del mismo modo, integramos el tratamiento del dolor bucofacial de origen pulpar y periapical. (5)

La endodoncia como tal engloba los tratamientos para conservar la vitalidad pulpar, así como el tratamiento de conductos radiculares, el cual se emplea cuando es inevitable conservar su vitalidad, por otro lado, podemos emplear algunos tratamientos quirúrgicos los cuales nos ayudarán a eliminar los tejidos periapicales que se encuentren inflamados por consecuencia de alguna patología periapical, algunos ejemplos son la resección apical, la hemisección y la radicectomía. (6)

Uno de los principales propósitos del tratamiento de conductos es la eliminación completa de todos los microorganismos del sistema de conductos radiculares (**Figura 1**). Desafortunadamente, es imposible lograrlo debido a que en ocasiones nos encontramos en situaciones clínicas atípicas. Sin embargo, el uso de cementos endodónticos con propiedades antibacterianas puede ayudar a reducir las bacterias. (7)

2.2. OBTURACIÓN DE LOS CONDUCTOS RADICULARES

El éxito del tratamiento endodóntico se basa en el principio de la tríada endodóntica el cual incluye el desbridamiento, desinfección y obturación, cada una de estas fases llevan la misma importancia. (1)

El principal objetivo de la obturación es el rellenado hermético y tridimensional del conducto radicular, quiere decir, lograr sellar cualquier tipo de comunicación entre el conducto, el periodonto y el conducto con el medio bucal, el cual vamos a lograr utilizando materiales inertes, antisépticos y/o bioactivos que estimulen el proceso de reparación o no lo interfieran. (9)



Figura 2. Niveles de obturación de los conductos radiculares respecto al límite de la preparación

En la figura 2 Se puede observar los posibles niveles de obturación de los conductos radiculares; A) Obturación hasta la constricción apical, B) Obturación que alcanza el periodonto, C) Obturación que no alcanza la constricción. (6)

II. INTRODUCCIÓN

Entendamos también que parte del sellado del conducto hacia el medio bucal se va a lograr realizando un sellado coronal adecuado, el cual nos va a ayudar a evitar la filtración de microorganismos o nutrientes potenciales para apoyar su crecimiento en el espacio que pueda existir en el conducto radicular por consiguiente debemos tener en cuenta que este sellado también juega un papel importante en el éxito del tratamiento de conductos. (10) Por otro lado, es recomendable evitar que los fluidos periapicales y periodontales se filtren en los conductos radiculares, ya que estos fluidos pueden ayudar a nutrir los microorganismos que puedan residir en el conducto radicular. (10)

Con el paso del tiempo, los materiales empleados en la obturación se han ido mejorando y perfeccionando para su uso en el área odontológica. (8)

Cabe señalar que la gutapercha es utilizada para el sellado del conducto radicular completando con un sellador endodóntico, estos deben quedar restringidos en el espacio intrarradicular (**Figura 2-Figura 3**), ya que algunos estudios han demostrado que un tratamiento de conductos tiene mayor éxito cuando el tratamiento termina de antes del ápice radiográfico evitando así la extrusión del material al área periapical. La sobreobtusión puede afectar el pronóstico del tratamiento en los dientes infectados. (11)

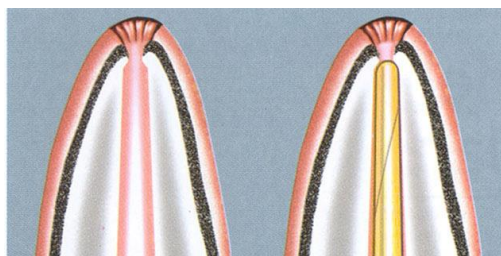


Figura 3. Sellado endodóntico

En la figura 3 Se puede observar el nivel de conformación (A) así como el nivel de obturación (B).

2.3. CEMENTOS ENDODÓNTICOS

Todos los materiales endodónticos deben de ser biocompatibles y tener una relación fisicoquímica satisfactoria. (12) La selección de un sellador endodóntico para fines clínicos es un asunto que juega un papel cada vez más importante en el resultado a largo plazo, ya que las propiedades de estos selladores van a influir en la obturación final. (13,14)

Con el paso del tiempo se han ido estudiando las propiedades de los selladores endodónticos, las cuales incluyen propiedades físicas, así como las químicas; esto ha sido evaluado según las normas establecidas, por ejemplo, la norma ISO 6876:2012, las cuales incluyen el tiempo de trabajo, el tiempo de fraguado, el flujo, el espesor de la película, la solubilidad, el cambio dimensional y la radiopacidad. (14,15) La fluidez de los selladores endodónticos puede determinar la eficacia con la que obturan los conductos accesorios y los espacios entre el cono maestro y conos accesorios. Si bien la capacidad de flujo suficiente permite el relleno de

II. INTRODUCCIÓN

irregularidades, así mismo, un sellador con demasiada fluidez puede provocar la extrusión apical y debido a la citotoxicidad de los selladores, esto puede ocasionar alguna lesión en los tejidos perirradiculares. (14)

Hasta el día de hoy contamos con una gran variedad de selladores endodónticos, dentro de los cuales encontramos los que son a base de óxido de zinc eugenol, resina epoxi, ionómero de vidrio, hidróxido de calcio y por último los que son a base de agregado de trióxido mineral, los cuales están disponibles en el mercado. (16)

Basándose en lo anterior podemos decir que el criterio para la selección de un cemento sellador endodóntico ideal se ha vuelto más complejo y debe de incluir las siguientes características: no debe de ser tóxico, insoluble, dimensionalmente estable, antibacteriano, entre otras. (17)

Los cementos selladores actúan, por una parte, como lubricantes durante el proceso de obturación. En términos de un cemento endodóntico ideal, Grossman proporcionó una descripción:

1. Al mezclar, debe ser pegajoso para asegurar una buena unión con la pared del conducto radicular y evitar que las bacterias se infiltren en la cavidad una vez fraguado.
2. Debe proporcionar un buen sellado hermético.
3. El cemento también debe ser radiopaco de modo que pueda ser observado radiográficamente.

II. INTRODUCCIÓN

4. Además, debe ser un polvo muy fino para que pueda mezclarse fácilmente con el líquido cuando el cemento lo requiera.
5. No debe contraerse al fraguar.
6. No debe teñir la estructura dental.
7. El cemento debe ser bacteriostático o al menos no propicio para el crecimiento de bacterias.
8. Muestra un fraguado lento.
9. Lograr ser insoluble a los fluidos tisulares.
10. También debe ser tolerado por los tejidos, con esto nos referimos a que no debe de producir ninguna irritación hacia el tejido perirradicular.
11. Debe ser soluble en un disolvente común, si se precisa desobturar el conducto radicular.
12. El cemento no debe ser mutagénico ni carcinogénico. (18,19)

Considerando su aplicación clínica-terapéutica, podemos clasificar los cementos como: cementos a base de óxido de zinc-eugenol, cementos a base de hidróxido de calcio, cementos selladores a base de ionómero de vidrio, cementos a base de resina epoxi, cementos a base de siliconas y, por último, los cementos que han causado revolución, los cementos biocerámicos. (6,20–23)

A continuación, describiremos un poco cada grupo de cementos.

II. INTRODUCCIÓN

2.3.1. CEMENTO SELLADOR A BASE ÓXIDO DE ZINC-EUGENOL

Estos cementos son los más antiguos en el mercado. La combinación de sus componentes (óxido de zinc con eugenol) provoca el endurecimiento de la mezcla por un proceso de quelación, formando así eugenolato de zinc. Este componente se utiliza en numerosas preparaciones, ya que posee un efecto antimicrobiano. (6) Este sellador puede ser reabsorbido con el tiempo en caso de ser extruido hacia los tejidos perirradiculares. (11)

Este cemento puede venir en diferentes presentaciones, dependiendo de la casa comercial. En base a lo anterior, tenemos cemento de Grossman, cemento de Rickert entre otros. El Tubli seal® (**Figura 4**) es un cemento de la casa comercial Kerr (Kerr, Corporation, CA, USA); sus componentes principales son óxido de zinc, trióxido de bismuto, oleorresinas, yoduro de timol, aceites y modificadores. Dentro de sus características encontramos que vienen en una presentación de dos tubos, uno base y otro catalizador, el cual va a facilitar la mezcla al momento de colocar las proporciones adecuadas. Su radiopacidad es media y su fluidez es elevada, lo cual facilita la adherencia a las paredes dentinarias. (6) El tiempo de trabajo es de 150 minutos (2 horas y media) a una temperatura de 23 °C y a una humedad relativa del 50 %, los cuales se pueden ver modificados por los cambios de temperatura, por lo cual se convierte en una desventaja al fraguar rápido en presencia de humedad. (24,25)



Figura 4 *Cemento de óxido de zinc-eugenol*

En la figura 4 Se observa el cemento a base de óxido de zinc-eugenol de la marca Kerr Endodontics.

2.3.2. CEMENTO SELLADOR A BASE DE RESINA EPOXI

Estos cementos fueron creados en Europa con la finalidad de conseguir un preparado estable en el interior de los conductos radiculares. Estos cementos tienen la ventaja de adherirse más a la estructura dentaria, poseen un largo tiempo de trabajo, fácil manipulación y poseen un buen sellado, además de sus propiedades físicas y biológicas aceptables. (16,20) El tiempo de fraguado de estos selladores depende de los productos, por lo general demoran horas o días para endurecer por completo. Dentro de los selladores a base de resina encontramos el Dia-Proseal™ (Figura 5) (DiaDent, Cheongju-si, Corea) el cual, sus ventajas son que ofrece una excelente capacidad de sellado, adherencia a la gutapercha y la dentina, excelente actividad antimicrobiana, preparación sencilla, 1:1, baja

II. INTRODUCCIÓN



Figura 5 Cemento sellador a base de resina epoxi

En la figura 5 Se observa el cemento Dia-Proseal de la casa comercial DiaDent, una empresa coreana.

solubilidad, altamente biocompatible, buena radiopacidad y consistencia y un excelente tiempo de trabajo (3-4 horas). Su composición es base: bisfenol A-co-epiclorhidrina, resina epoxi bifesnoI-F, óxido de zirconio, siliconas, siloxanos, óxido de hierro e hidróxido de calcio; catalizador: hexametilentetramina, óxido de zirconio, siliconas, siloxanos, hidróxido de calcio y tungstato de calcio. (16,26)

2.4. CEMENTOS BIOCERÁMICOS

Los biocerámicos, están ganando popularidad en odontología debido a su versatilidad. Algunos ejemplos de los materiales incluyen alúmina, zirconio, vidrio bioactivo, vidrio cerámico y los que son a base de silicato de calcio o fosfato de calcio. (27)

II. INTRODUCCIÓN

Estos materiales han sido objeto de estudio en los últimos años, ya que cuentan con una capacidad para estimular la reparación de los tejidos a través de la deposición de tejido mineralizado y su biocompatibilidad; no son tóxicos, no se reabsorben y no se ven afectados por la contaminación de la sangre. (28)

Estos materiales entran en contacto con el tejido periapical, esto puede ocurrir en algunas ocasiones, es por eso, que su compatibilidad biológica es importante. Los materiales que son citotóxicos pueden causar la muerte celular en el periápice. (29)

El agregado de trióxido mineral (MTA por sus siglas en inglés) es un cemento hidráulico a base de silicato de calcio. Este cemento ha ganado gran popularidad y una aceptación por el área de odontología, desde sus inicios en la década de los 90's; se descubrió por primera vez por el Dr. Torabinejad y desde entonces se ha ido modificando su uso. Inicialmente, se utilizaba como material de obturación del extremo de la raíz y ahora en la actualidad se utiliza para recubrimientos pulpaes, pulpotomías, apexogénesis, formación de barrera apical en dientes que presentan ápices abiertos, así como para la reparación de perforaciones radiculares y en la actualidad como cemento para el conducto radicular. (30)

El cemento biocerámico Dia-Root BIO Sealer™ (**Figura 6**) (DiaDent, Cheongju-si, Corea) de la casa comercial DiaDent salió al mercado recientemente, es un sellador a base de MTA el cual viene en una presentación premezclado. Su característica de no contraerse y su fuerte unión lo convierte en el cemento perfecto para la obturación permanente y es adecuado para todas las técnicas de obturación. Es altamente biocompatible, presenta una rápida recuperación y cicatrización de los

II. INTRODUCCIÓN

tejidos sin provocar inflamación, libera iones de calcio: hidróxido de calcio e hidrato de silicato de calcio, también presenta un pH alto, lo cual favorece a una acción antibacteriana (pH 12), induce la regeneración del tejido duro en sitios con alguna lesión ósea, presenta un sellado perfecto, baja solubilidad (0.95%), es resistente al lavado evitando así microfugas, tiempo de trabajo de 6 horas y es radiopaco. (31)



Figura 6 *Cemento sellador a base de silicato de calcio*

En la figura 6 Se observa un cemento biocerámico a base de silicato de calcio, el cual fue introducido al mercado relativamente hace poco tiempo, este cemento es de la casa comercial DiaDent, una empresa coreana que además ha fabricado otros elementos.

2.5. BIOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES

La biocompatibilidad es el término utilizado para describir la capacidad que posee un biomaterial para realizar de manera ideal la función deseada bajo tratamiento médico sin crear efectos locales o sistémicos indeseables en el receptor, al mismo tiempo que produce una respuesta celular o tisular óptima. Además, puede mejorar el resultado clínico de dicho tratamiento.(32)

Para evaluar la biocompatibilidad es necesario seguir una serie de pasos y guías estipuladas por la ISO (Organización Internacional de Estandarización) la cual es una federación mundial de organismos nacionales. Por otro lado, debemos tener en cuenta la selección y el diseño de métodos de prueba para las interacciones de los dispositivos o en este caso los materiales que tengan contacto con la sangre. (33)

La necesidad de materiales seguros en endodoncia ha llevado a la obligación de realizar pruebas experimentales para identificar formulaciones y caracterizar los posibles efectos nocivos de estos materiales sobre los tejidos bucales antes de su uso clínico, es decir, evaluar su biocompatibilidad. Aunque los efectos secundarios son raros dada la cantidad de procedimientos de endodoncia realizados, muchos pacientes podrían verse afectados. (34)

Los materiales biocompatibles exhiben respuestas estables y beneficiosas del huésped durante la aplicación, al mismo tiempo que evitan el desarrollo de respuestas inmunológicas o tóxicas a través del contacto con el tejido. (35)

II. INTRODUCCIÓN

La toxicidad de los selladores o de sus ingredientes se pueden evaluar observando las alteraciones morfológicas en los cultivos celulares y estos pueden ser analizados bajo microscopía óptica. (12)

Existen diferentes pruebas para evaluar la compatibilidad de cualquier material con el cuerpo humano, como:

Pruebas in vitro: Este tipo de pruebas ocurren fuera del organismo utilizando cultivos celulares; son pruebas para determinar la respuesta biológica a los materiales. El objetivo de este tipo de prueba es poder controlar el entorno de las células y su interfaz con los materiales, así como, la capacidad de medir la respuesta celular.

Pruebas en animales: este tipo de prueba es más complicado de realizar debido a sus altos costos además de sus controversias. Las pruebas en animales son críticas para evaluar la respuesta biológica a un nuevo material antes de ser usado el producto en humanos.

Por último, existen las pruebas clínicas, esto quiere decir, pruebas realizadas en humanos. Estas pruebas se realizan con el fin de evaluar cualquier dimensión del rendimiento de cualquier material. Para realizar esta prueba es necesario aplicar una serie de encuestas.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad existen diversos materiales para obturar, al momento de escoger el sellador endodóntico existe la interrogante, ¿Qué sellador posee una menor citotoxicidad cuando llega a ser extruido hacia el tejido periapical? Por lo cual, en este estudio se compararon diferentes tipos de cementos materiales, incluidos el cemento a base de óxido de zinc-eugenol Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA), el cemento a base de resina epoxi Dia-Proseal™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea) y por último el cemento a base de silicato de calcio Dia Root BIO Sealer™ (DiaDent Cheongju-si, Corea).

IV. JUSTIFICACIÓN

Hoy en día, existen numerosos materiales que se pueden utilizar en la obturación del tratamiento de conductos radiculares. Estos materiales se encuentran en íntimo contacto con el área periapical y una extrusión de este puede provocar un retraso en la cicatrización del área e inclusive una leve inflamación dependiendo del grado de citotoxicidad que maneje. De manera que contamos con una variedad de estudios para verificar la toxicidad del material, por lo cual este estudio se realiza con la finalidad de evaluar la citotoxicidad del material mediante hemólisis en las células sanguíneas.

V. HIPÓTESIS

5.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los cementos selladores endodónticos seleccionados para este estudio, Dia Root BIO Sealer™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea), Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA) y Dia-Proseal™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea), ocasionan citotoxicidad mediante hemólisis de eritrocitos por contacto a temperatura corporal.

5.2. HIPÓTESIS NULA

Los cementos selladores endodónticos seleccionados para este estudio, Dia Root BIO Sealer™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea), Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA) y Dia-Proseal™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea), no ocasionan citotoxicidad mediante hemólisis de eritrocitos por contacto a temperatura corporal.

VI. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar el efecto citotóxico mediante el análisis de la hemólisis ocasionada por tres cementos selladores endodónticos en ensayos in vitro utilizando eritrocitos extraídos mediante punción venosa de un paciente sano.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtención de muestra sanguínea por medio de venopunción en tubos con EDTA.
2. Evaluar mediante microscopia óptica y espectrofotometría el porcentaje de hemólisis por contacto de los cementos endodónticos DIA-Root Bio Sealer™ (DiaDent Cheongju-si, Corea) , Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA) y Dia-Proseal™ (DiaDent Cheongju-si, Corea) sobre eritrocitos en incubación a 37°C y mezclado de 22 RPM a 30 min, 60 min y 150 min.

VII. VARIABLES

7.1 VARIABLES INDEPENDIENTES

Cemento a base de Óxido de zinc-eugenol; Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA)

Cemento a base de resina epoxi Dia-Proseal™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea)

Cemento a base de silicato de calcio; Dia Root BIO Sealer™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea)

Tiempo de incubación: 30 min, 60 min y 150 min.

7.2 VARIABLES DEPENDIENTES

Citotoxicidad de los cementos, observando la hemólisis ocasionada por los cementos selladores endodónticos sobre células sanguíneas.

7.3 OPERACIÓN DE VARIABLES

Se evaluó, por medio de ensayos in vitro, el efecto hemolítico de los cementos selladores endodónticos de diferente grupo, determinando la absorbancia (la cantidad de luz absorbida por la muestra) espectrofotométrica a 540 nm de la hemoglobina y la ruptura de la membrana celular eritrocitaria. Se evaluó un cemento compuesto por óxido de zinc-eugenol (Tubli Seal) un cemento a base de resina (Dia-

VII. VARIABLES

Proseal) y por último un cemento base de silicato de calcio (Dia Root BIO Sealer)

Para su análisis, se utilizó un análisis estadístico descriptivo.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Análisis *in vitro* experimental sobre el efecto hemolítico de los cementos endodónticos.

8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

Se evaluaron 3 grupos de estudio y dos controles.

Grupo 1: 0.7 gr de Dia Root BIO Sealer (10% p/v) + 5.6 ml NaCl (cloruro de sodio) + 700 µL de pellet eritrocitario

Grupo 2: 0.7 gr de Tubli Seal (10% p/v) + 5.6 ml de NaCl (cloruro de sodio) + 700 µL de pellet eritrocitario

Grupo 3: 0.7 gr de Dia-Proseal + 5.6 ml de NaCl (cloruro de sodio) + 700 µL de pellet eritrocitario

Grupo control negativo: 6.3 ml NaCl (cloruro de sodio) + 700 µL de pellet eritrocitario (solución eritrocitaria al 10%)

Grupo control positivo: 5.9 ml NaCl (cloruro de sodio) + 400 µL de SDS al 10% (dodecilsulfato sódico) + 700 µL de pellet eritrocitario.

8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

El presente estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación Epidemiológica (LIE) del Programa Universitario de Prevención de Infecciones en Tijuana (PUPIT) de la Facultad de Ciencias de la Salud en Valle de las Palmas.

Para este procedimiento fueron necesarios materiales para desinfectar la piel como alcohol o toallitas yodadas, guantes, torniquete de un solo uso, jeringa hipodérmica estéril, Tubos BD Vacutainer morado® para la recolección de sangre y frascos para realizar el hemocultivo, material para el vendaje posterior a la extracción sanguínea, una base para colocar las muestras, una centrífuga **Figura 8** (Thermo SCIENTIFIC CL2 Centrifuge) y rotuladores para etiquetar las muestras. Se utilizaron los cementos selladores Dia Root BIO Sealer™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea), Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA) y Dia-Proseal™ (DiaDent, Cheongju-si, Corea)

Se utilizó un espectrofotómetro (PerkinElmer® EnSpire®) para leer la absorbancia de las muestras. Se utilizó una incubadora **Figura 7** (Signature Benchtop Shaking Incubator).

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS



Figura 7 Incubadora (Signature Benchtop Shaking Incubator)

En la figura 7 Podemos observar la incubadora, la cual se utilizó a 37 °C por diferentes tiempos (Signature Benchtop Shaking Incubator).



Figura 8 Centrifuga Thermo Scientific

En la figura 8 Se observa la centrífuga Thermo Scientific localizada en el Laboratorio de Investigación Epidemiológica (LIE) del Programa Universitario de Prevención de Infecciones en Tijuana (PUPIT) de la Facultad de Ciencias de la Salud en Valle de las Palmas, por su compromiso en mejorar la calidad académica de los estudiantes de la Universidad Autónoma de Baja California

8.4. METODOLOGÍA

8.4.1. OBTENCIÓN DE MUESTRA SANGUÍNEA

Para la obtención de la muestra, se requirió de un paciente mayor de edad que no hayan presentado alguna enfermedad infecciosa o contagiosa que activara el sistema inmune dentro de los 60 días previos a la toma de muestra, ya que es necesario que los eritrocitos no muestren reacción inmune alguna, que no sean fumadores o que consuman alguna sustancia tóxica para el organismo. Además, se realizó un cuestionario para asegurar que el paciente no presentaba sintomatología relacionada con patologías que puedan inducir alguna respuesta inmunológica. Se realizó la toma de muestra por método de venopunción posterior al consentimiento informado del voluntario que donó la muestra.

Se examinó la muestra sanguínea del paciente antes de empezar a dividirla en los diferentes grupos a evaluar, esto para verificar que la morfología de las células de defensa no se encontrase alteradas.

Del donante se obtuvieron 10 ml de sangre periférica, la cual fue colocada en Tubos BD Vacutainer morado® con EDTA para evitar la coagulación sanguínea, posterior a esto fueron mezclados levemente para evitar la hemólisis de las células. **Figura 9**

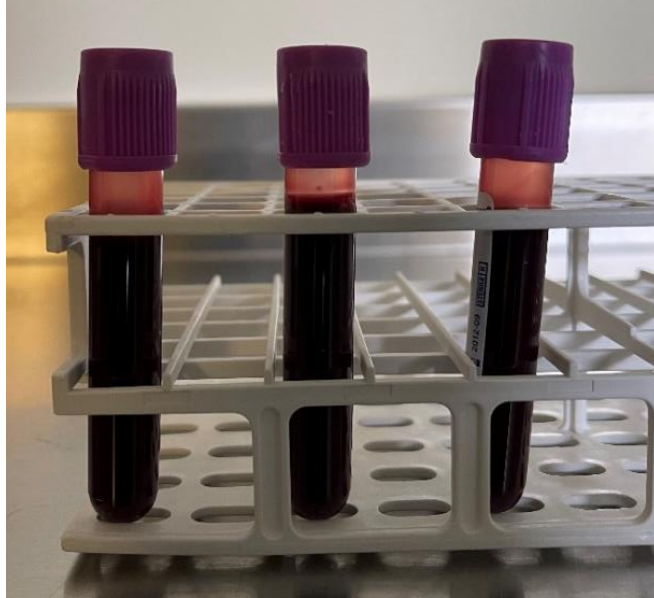


Figura 9 Tubos BD Vacutainer morado®

En la figura 9 Podemos observar la mezcla sanguínea con EDTA para evitar la coagulación.

8.4.2. SEPARACIÓN DE ERITROCITOS

Todos los procedimientos fueron realizados bajo condiciones estériles en una cabina de flujo laminar (SterilGARD Hood, the BAKER COMPANY, inc). Una vez obtenida la muestra sanguínea por medio de venopunción con una jeringa de plástico, estéril y desechable (DL®) fue colocada en 3 Tubos BD Vacutainer morado® con EDTA de 3 ml para posteriormente llevarlos a la centrífuga y lograr la separación de los eritrocitos. Se colocaron en la centrífuga a 2.000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente con el fin de lograr la separación de los eritrocitos.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

Una vez centrifugados los eritrocitos , se extrajo con una micropipeta el plasma de cada tubo, tratando de arrastrar la menor cantidad de eritrocitos, posterior a esto, se colocaron 7 ml de eritrocitos en un tubo de centrífuga de polipropileno con tapa azul cónica (Globe Scientific 6285) de montaje de tornillo para ser lavados.

8.4.3. PREPARACIÓN DE ERITROCITOS

Una vez colocados los eritrocitos en un tubo de centrífuga se llevó a cabo la separación de plasma sobrante. Se inició con el lavado de los eritrocitos eliminando las proteínas que iban saliendo en cada lavado. El lavado se realizó con solución salina estéril, colocando 7 ml en cada lavado. Se realizaron 5 ciclos de lavado colocándolo en la centrífuga a 1.500 rpm por 6 minutos con el fin de eliminar toda proteína (plasma) del pellet eritrocitario. **Figura 10**

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

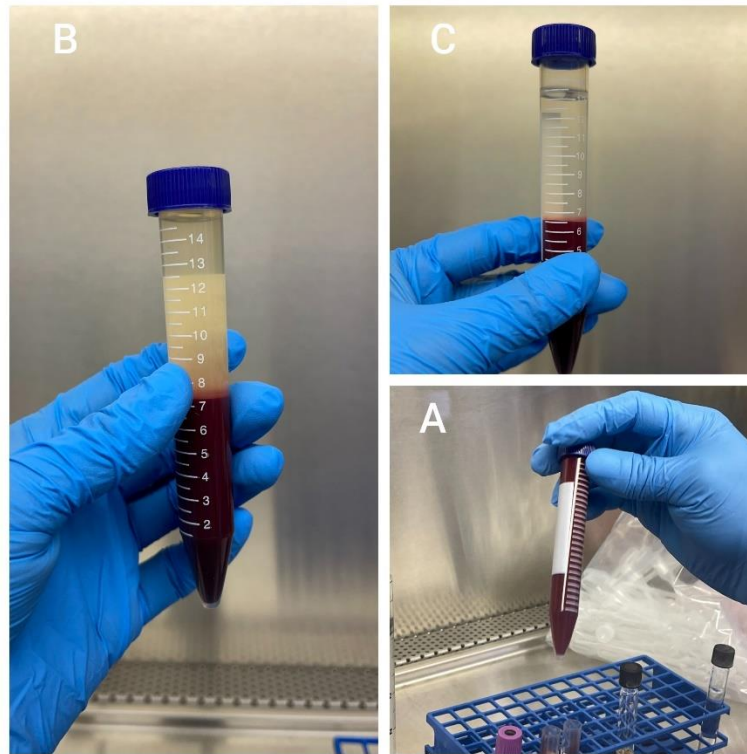


Figura 10 Lavado de eritrocitos

En la figura 10 Podemos observar el lavado de eritrocitos A) Colocación inicial de los eritrocitos con NaCl para iniciar el lavado, B) Conforme se realizaban los lavados, se observó la solución más clara, C) Lavado final de eritrocitos, podemos observar un tono transparente el cual nos indica que está listo para continuar con el siguiente paso.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.4.4. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Una vez obtenidos los eritrocitos lavados, se homogeneizaron y se continuó a la separación en tubos de vidrio para posteriormente colocar los materiales según las especificaciones siguientes.

Se utilizó una concentración eritrocitaria del 10% y una concentración de p/v del 10% de cada uno de los materiales. En el tubo control de lisis eritrocitaria se utilizaron 400 μ L de SDS al 10% para producir la hemólisis completa de los eritrocitos en la muestra y utilizarlo como referencia del 100% de hemólisis.

8.4.5. COLOCACIÓN DE SELLADORES

Para la evaluación se utilizaron los cementos selladores Tubli Seal™ (Kerr, Corporation, CA, USA) Dia-Proseal™ (DiaDent Cheongju-si, Corea) y Dia Root BIO Sealer™ (DiaDent Cheongju-si, Corea). Estos cementos fueron mezclados según las indicaciones del fabricante y fueron colocados en un frasco estéril, el cual fue previamente pesado en la báscula analítica. Después de esto se les agregó 5.6 ml de NaCl y se mezclaron, se dejaron reposar por 1 min y se extrajo la solución con una pipeta de transferencia. La solución extraída fue colocada en tubos de vidrio previamente estériles y posterior a esto se agregaron 700 μ L de eritrocitos a cada muestra, al control positivo se le agregó 400 μ L de SDS además de los eritrocitos y al control negativo se le agregó 6.3 ml de NaCl y 700 μ L de eritrocitos. Se rotuló cada muestra con nombre. **Figura 11**

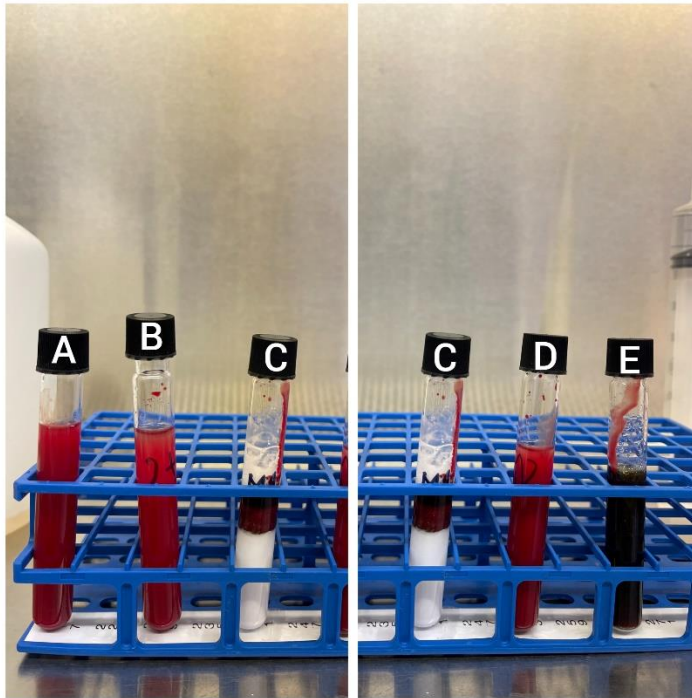


Figura 11 Colocación de eritrocitos en los cementos

En la figura 11 Se observa la colocación de los materiales y los eritrocitos, A) En este tubo tenemos el control negativo donde solo se colocó eritrocitos, B) Eritrocitos con SDS, C) Eritrocitos con el cemento sellador Dia Root BIO Sealer, D) Eritrocitos con el cemento sellador Tubli Seal y el E) Eritrocitos con el cemento sellador Dia-Proseal.

Posteriormente, se colocaron en la incubadora de convección por gravedad durante 30 min a una temperatura de 37 °C; se retiraron de la incubadora y se tomaron muestras de cada grupo para ser colocados en portaobjetos, después se llevaron a la centrífuga por 3 min a 2.000 rpm; una vez centrifugados se colocaron 200 µL de cada grupo en una placa de 96 pocillos para ser evaluados por medio de

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

espectrofotometría. Una vez colocados en los pocillos, se mezclaron y se colocaron en la incubadora por 60 min y se repitió el procedimiento anterior descrito. Se colocaron una vez más en la incubadora por 150 min y se repitió lo anteriormente mencionado.

Todos los procedimientos fueron realizados bajo condiciones estériles.

8.4.6. EVALUACIÓN CELULAR BAJO MICROSCOPIO

Para evaluar la citotoxicidad de los cementos selladores y evaluar cambios en la morfología o cantidad celular, se colocaron en portaobjetos a los 30 min, 60 min y 150 min. Estos cultivos fueron observados en un microscopio a 40x (Petunia MCX50) en el Laboratorio de Investigación Epidemiológica (LIE) del Programa Universitario de Prevención de Infecciones en Tijuana (PUPIT) de la Facultad de Ciencias de la Salud en Valle de las Palmas. **Figura 17, Figura 18, ¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

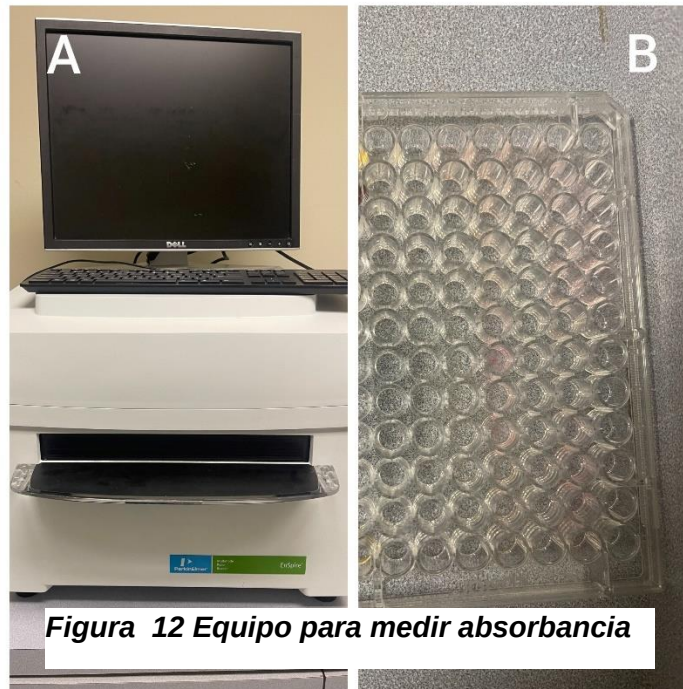


Figura 12 Equipo para medir absorbancia

En la figura 15 Podemos observar el equipo que se utilizó para medir la absorbancia de las muestras.

Para evaluar la absorbancia se utilizó una placa de 96 pocillos en el equipo PerkinElmer® Multimode Plate Reader de la marca EnSpire® el cual introduce la placa a la computadora y lee la absorbancia que se encuentra.

8.4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleo un análisis estadístico descriptivo en donde solo se calculó el porcentaje de células sin lisis.

IX. RESULTADO

9.1. EVALUACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD

Para evaluar la citotoxicidad de los cementos selladores Dia Root BIO Sealer™, Tubli Seal™ y Dia-Proseal por medio de análisis de hemólisis, las muestras de los cementos selladores se colocaron en un espectrofotómetro que evalúa la absorbancia. Estas muestras fueron colocadas a los 30 min, 60 min y 150 min y se muestran en la figura 13 y figura 14.

El porcentaje de hemólisis se obtuvo por medio de un análisis descriptivo, los resultados obtenidos se muestran en la

	CONTROL -	CONTROL +	DIAROOT	TUBLISEAL	DIAPROSEAL
30 min	0.063	1.008	2.846	1.258	3.252
60 min	0.055	3.004	3.388	3.477	3.42
150 min	0.049	3.035	2.541	3.473	3.416

Figura 13 Resultados de absorbancia a los 30 min, 60 min y 150 min.

IX. RESULTADO

En la tabla anterior se puede observar los datos arrojados por el espectrofotómetro, midiendo la absorbancia de cada grupo.

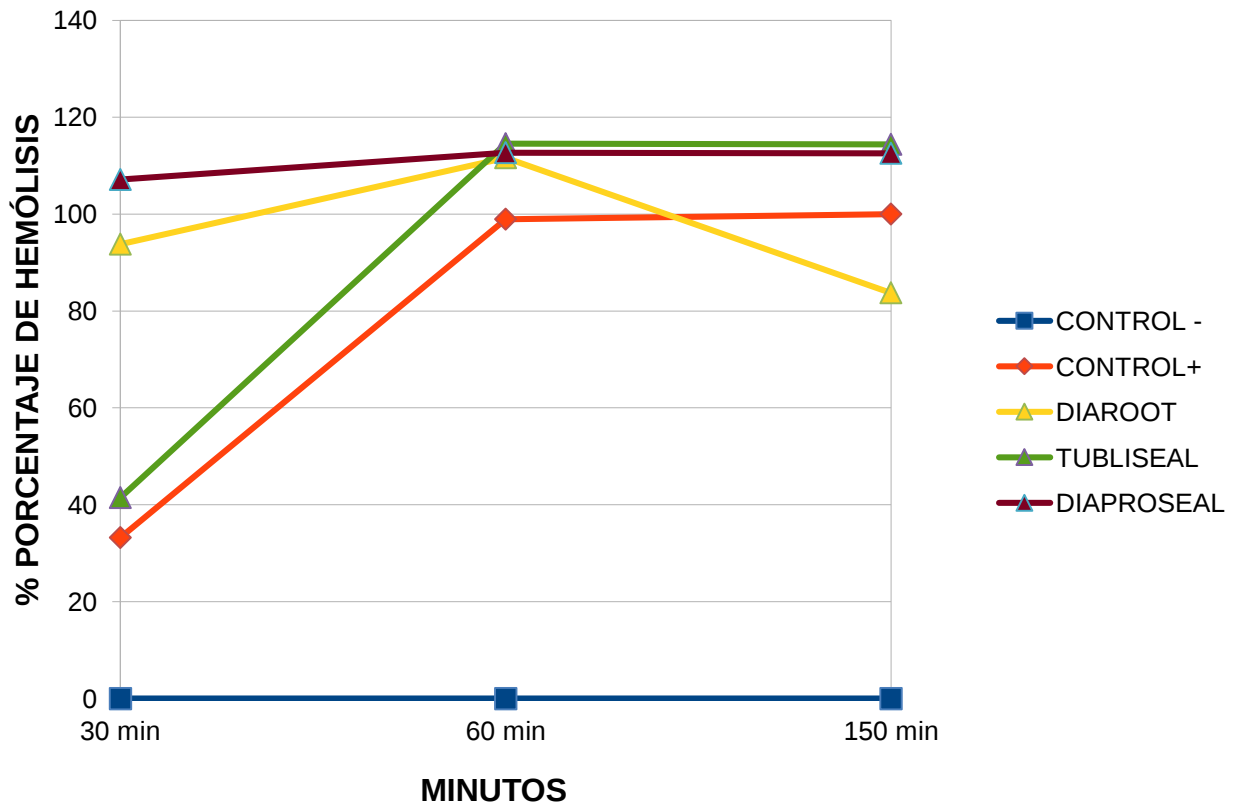


Figura 14 Porcentaje de hemólisis de los cementos Dia Root BIO Sealer, Tubli Seal y Dia-Proseal a los 30 min, 60 min y 150 min.

En la gráfica anterior se observa el cambio hemolítico al pasar el tiempo

En la gráfica se puede observar un cambio en cuestión de la cantidad de eritrocitos, el cemento que más nos dio una lisis celular fue el Tubli Seal.

El control negativo se mantuvo sin presentar algún cambio; el control positivo presentó una lisis severa desde el minuto 60; el cementor sellador Dia Root BIO Sealer al principio presentaba una lisis celular moderada y al minuto 150 disminuyó

IX. RESULTADO

un poco su toxicidad; el cemento sellador Tubli Seal aparentemente en un principio no presentaba una lisis severa, se consideraba leve pero, al minuto 150 presento una lisis celular severa; el cemento sellador Dia-Proseal tuvo resultados parecidos al cemento sellador Dia Root BIO Sealer.

Para evaluar de forma cuantitativa de la citotoxicidad de los cementos selladores Dia Root BIO Sealer, Tubli Seal y Dia-Proseal, fueron observados en un microscopio óptico a 40x a los 30 min, 60 min y 150 min de incubación.

Para evaluar los resultados obtenidos sobre la citotoxicidad de los cementos selladores de este estudio en presencia de eritrocitos, se utilizó el programa ImageJ

TIEMPO	CONTROL -	CONTROL +	DIAROOT	TUBLISEAL	DIAPROSEAL
30 min.	100%	1%	30%	55%	40%
60 min	90%	0.50%	20%	2%	30%
150 min	90%	0%	15%	0%	25%

Figura 15 Porcentaje de viabilidad celular observada en microscopio óptico a 40x a los 30 min, 60 min y 150 min.

IX. RESULTADO

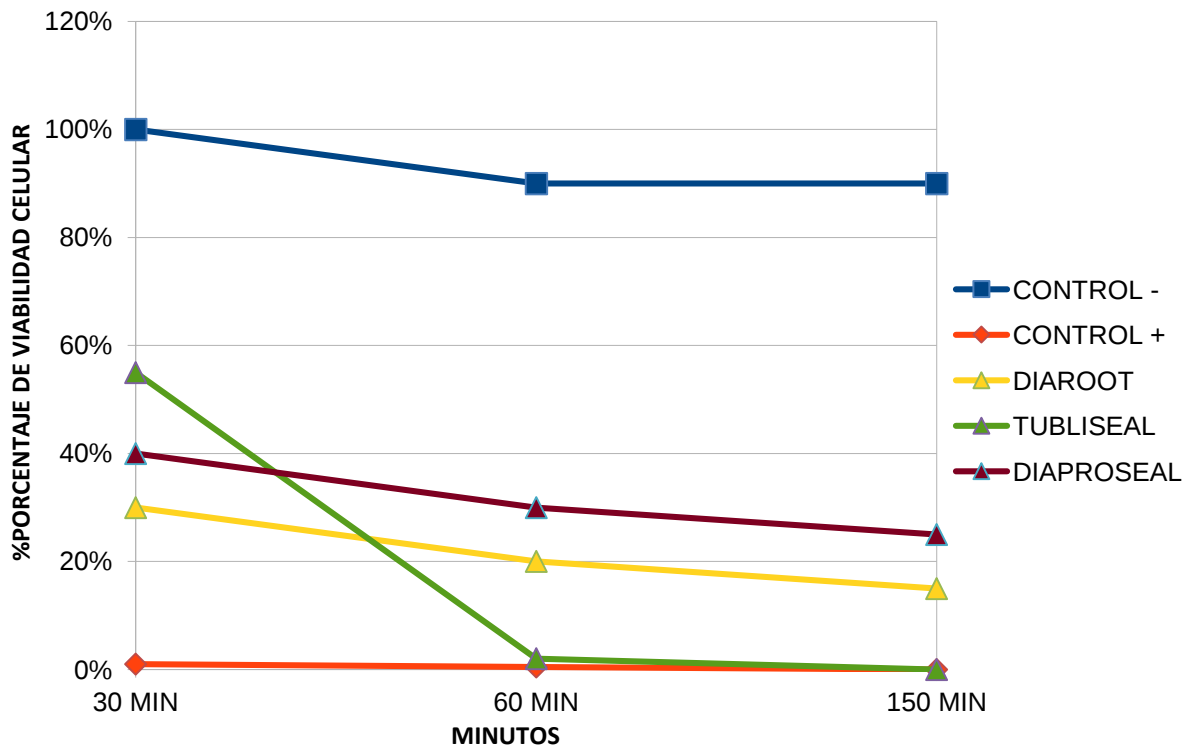


Figura 16 Gráfica del porcentaje de viabilidad celular observada en microscopio óptico a 40x a los 30 min, 60 min y 150 min.

Estos resultados demuestran de forma cuantitativa que existió alteración celular tras la exposición a células sanguíneas a los 30 min, 60 min y 150 min de incubación.

El grupo control negativo, que era el grupo con 6.3 ml de NaCl y 700 μ L de pellet eritrocitario, sin contacto al cemento sufrió un cambio a los 60 min de incubación, debido al procedimiento hubo una cantidad mínima de muerte celular. El control positivo con 5.9 ml de NaCl, 400 μ L de SDS al 10% y 700 μ L de peller eritrocitario, demostró que a los 30 min de incubación presentaba una severa muerte celular llegando así, al minuto 150 sin células vivas.

En cuanto al grupo de los cementos, el grupo 1, Dia Root BIO Sealer, presentó un cambio inmediato, al momento de ser observado a los 30 min, al minuto 60 presentó

IX. RESULTADO

una leve disminución celular y continuó así hasta el minuto 150. El grupo 2, Tubli Seal, presentó un cambio leve al minuto 30, pasando 60 min de incubación el cemento ya presentaba cambios en las células, provocando una lisis severa que continuó hasta el minuto 150. El grupo 3, Dia-Proseal, presentaba un cambio leve al minuto 30, llegando al minuto 60 continuó presentando cambios que mantuvo hasta el minuto 150 de exposición.

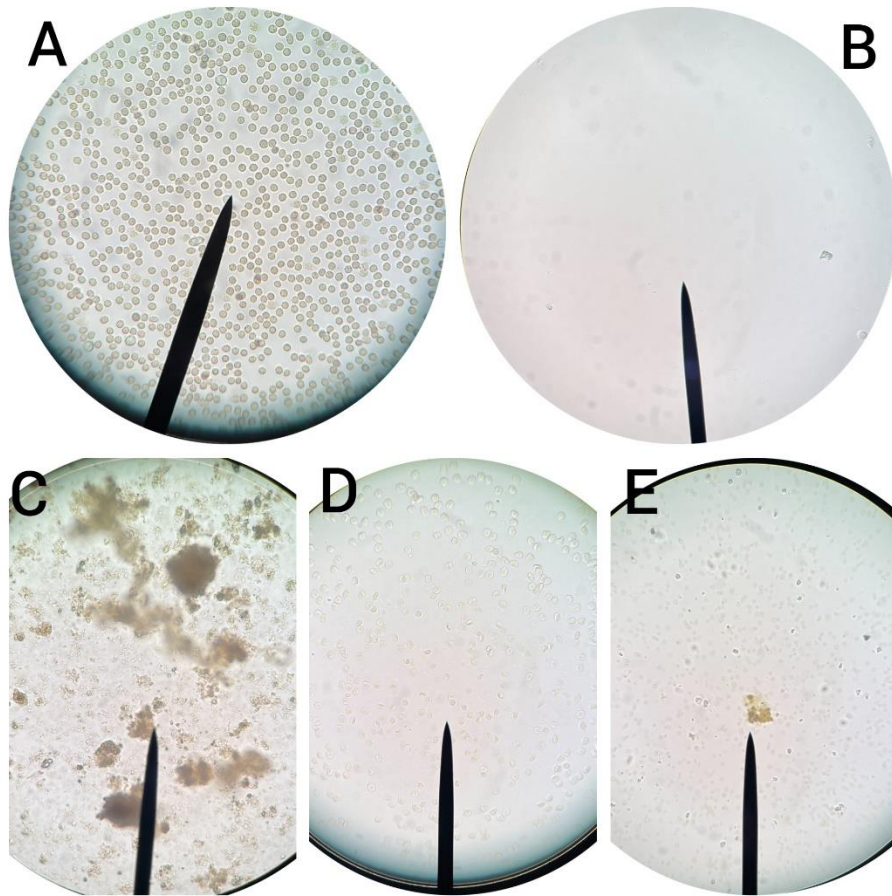


Figura 17 Toma de muestra a los 30 min observada en microscopio óptico a 40X

En la figura 12 Podemos observar una toma de muestra de los cementos y controles a los 30 min de incubación. A) control negativo, B) control positivo, en el cual podemos observar una lisis severa celular, C) el cemento sellador Dia Root BIO Sealer, D) cemento sellador Tubli Seal, E) cemento sellador Dia-Proseal.

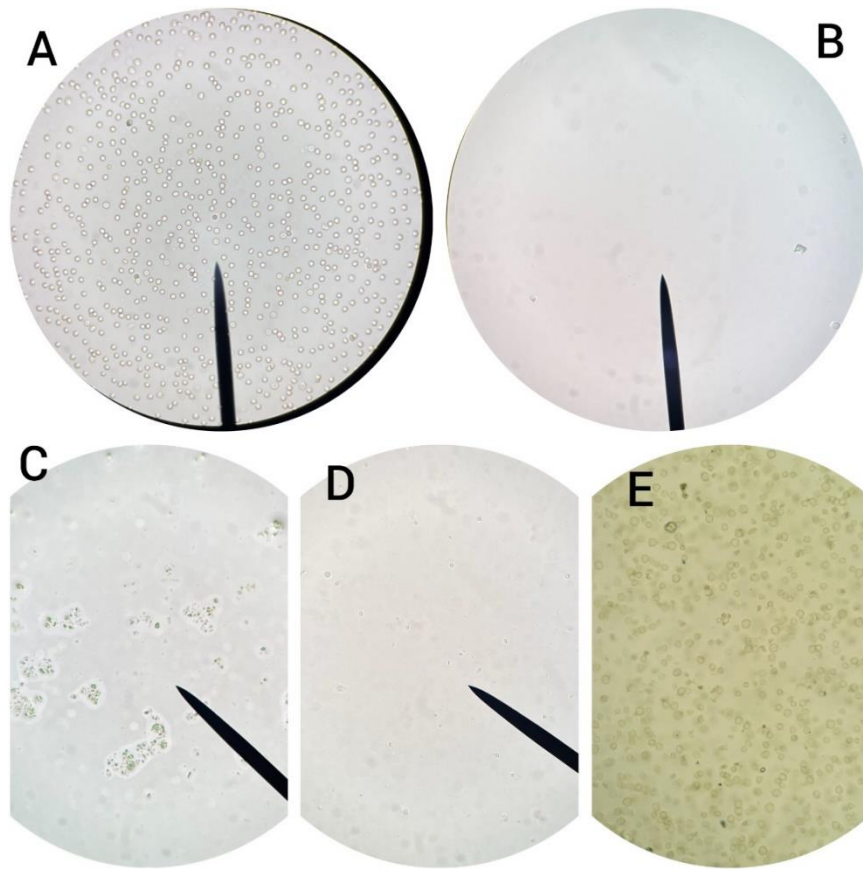


Figura 18 Toma de muestra a los 60 min observada en microscopio óptico a 40x

En la figura 13 Podemos observar la toma de muestra a los 60 min y se puede observar un cambio celular, A) se observa el control negativo, B) encontramos el control positivo donde se continua con una lisis severa, C) el cemento sellador Dia Root BIO Sealer aún se alcanzan a observar células, D) el cemento sellador Tubli Seal ya no presenta tantas células como en la primera toma, E) en el cemento sellador Dia-Proseal se alcanza a observar un cambio en la morfología de los eritrocitos.

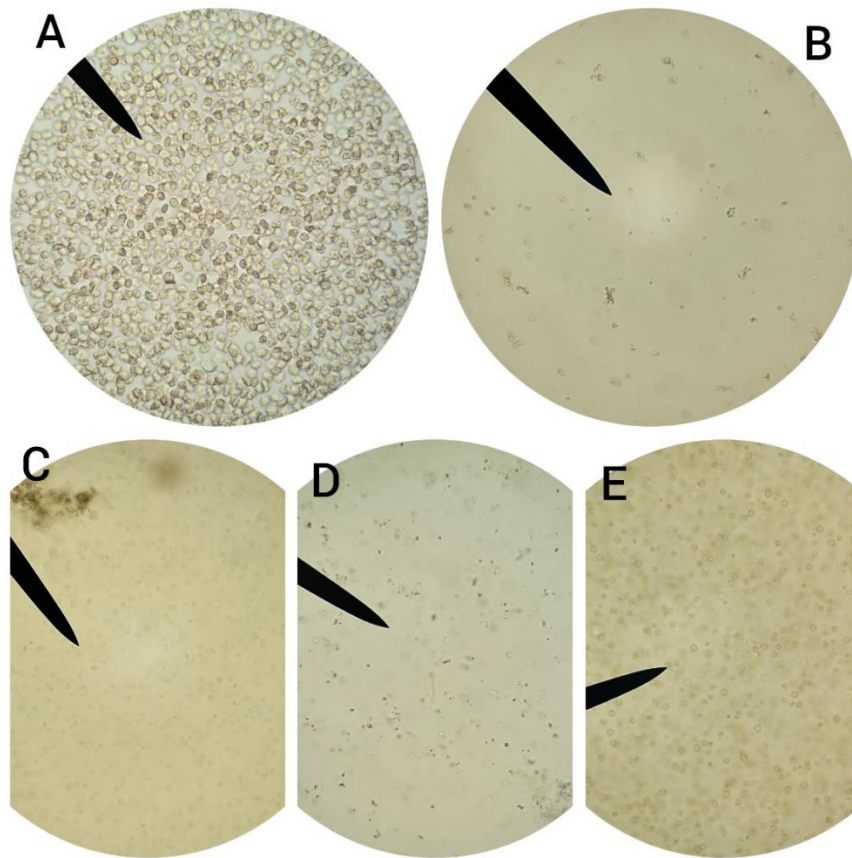


Figura 19 Toma de muestra a los 150 min y observadas en microscopio óptico a 40x
En la figura 14 Se observa una toma de muestra a los 150 min y lo cual, lo vuelve más notorio en cuanto a su tamaño y su morfología, en la imagen A) se observa el control negativo como hay un cambio en el tamaño celular después de estar en la incubadora por dos horas y medias a 37 °C, B) en la imagen B se observa el control positivo como hay una lisis completa celular, C) el cemento sellador Dia Root BIO Sealer provocó un pequeño cambio en la morfología de las células y muy poco un cambio en la cantidad de células, D) el cemento sellador Tubli Seal continuo con una lisis severa de eritrocitos, E)

IX. RESULTADO

el cemento sellador Dia-Proseal provocó un cambio leve en la cantidad de células vivas pero provocó un cambio en la morfología celular.

X. DISCUSIÓN

En este estudio se evaluó *in vitro* el efecto citotóxico de los cementos selladores por medio de hemólisis, de diferentes naturaleza, utilizando así, células sanguíneas; el objetivo final de este estudio fue evaluar los cementos endodónticos, esto con el fin de lograr una simulación de la respuesta de los tejidos perirradiculares empezando así, con las bases de la evaluación de la citotoxicidad, en el cual, según la ISO, es recomendable iniciar por pruebas de hemólisis para determinar si un material es tóxico o no para el organismo. Sabemos que cuando el cemento sellador no es biocompatible con el organismo, este puede provocar un retraso en la cicatrización del tejido.(33)

De acuerdo con Muhammad Tala *et. al.* en un estudio que realizaron donde utilizaban los de diferentes selladores endodónticos. Evaluaron el cemento sellador AHPlus, Dia-Proseal, Guttaflow 2 y Pulpdent root canal sealer. En el cual revelaron una citotoxicidad de moderada a leve. El cemento sellador que menos mostró una reacción fue el Guttaflow 2. (8)

En este estudio se eligió tener dos grupos controles, uno negativo y otro positivo; el control positivo fue para demostrar la lisis de las células por sustancias citotóxicas, que fue colocado SDS.

Desde el primer contacto que tuvieron los eritrocitos con las diferentes sustancias, se empezó a observar alteraciones. En el grupo donde se empleó el cemento sellador Dia Root BIO Sealer, se presentó un cambio inmediato cuando en cuanto

X. DISCUSIÓN

entro en contacto con los eritrocitos, se observaba una separación marcada entre el nivel del cemento y los eritrocitos, lo cual nos hizo pensar que había provocado una ruptura inmediata de eritrocitos, al momento de mezclar el cemento, se observó las partículas del cemento con un ligero cambio de color. En cuanto al cemento sellador Dia-Proseal se notaba un cambio de color, pero se presentaba una mezcla heterogénea del cemento y los eritrocitos.

Para continuar, el cemento Tubli Seal fue el que más tardo en presentar un cambio de color, pero después de las dos horas y media este ya presentaba una lisis severa de las células.

De acuerdo con Gutiérrez *et.al.* en un estudio que realizó colocando cementos selladores de diferentes grupos en eritrocitos, se determinó que el cemento sellador Sealapex fue el más citotóxico de los cementos que analizo, llevándonos a descartar lo de este estudio. En cuanto a los otros dos cementos que analizó, el AH Plus resultó ser el menos citotóxico de los cementos. (36)

XI. CONCLUSIONES

En la actualidad la biocompatibilidad de los cementos selladores endodónticos es un tema de suma importancia, debido a que la mínima extrusión de estos nos puede llevar a una lenta cicatrización dependiendo del grupo de cemento que utilizemos.

Con esta metodología podemos evaluar de una manera sencilla si un cemento es citotóxico para el cuerpo humano y que tanto nos puede llegar a perjudicar.

Finalmente, podemos decir que los cementos selladores en comparación unos con otros no demostraron diferencia significativa entre Dia Root BIO Sealer, Tubli Seal y Dia-Proseal en presencia de eritrocitos, sin embargo, cuando fueron comparados con el grupo control negativo nos dimos cuenta de que existe una diferencia significativa.

También es importante el tiempo que se maneja con cada cemento, ya que en un principio el cemento a base de óxido de zinc-eugenol no demostraba ser tan citotóxico, pero después de las dos horas y media resultó ser el más citotóxico de los cementos a comparar.

XII. RECOMENDACIONES

Dentro de las recomendaciones para poder enriquecer nuestros conocimientos, es necesario realizar ensayos sobre genotoxicidad y mutagenicidad, su capacidad de adhesión a las paredes dentinarias, así como la fluidez de los cementos selladores previamente evaluados, en especial del cemento biocerámico a base de silicato de calcio, ya que este cemento al ser prácticamente nuevo en el mercado no cuenta con varios estudios de investigación.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Kenneth M. Hargreaves, Louis H. Berman. Cohen's Pathways of the Pulp 11. 11th ed. Vol. 11 edición. ELSEVIER; 2016.
2. Bergenholtz G., Bindsvlev P., Reit C. Endodoncia (2a. ed.) [Internet]. Available from: <https://laodontologiaunacosadelocos.blogspot.com/>
3. Mario Roberto Leonardo. ENDODONCIA TRATAMIENTO DE CONDUCTOS RADICULARES TOMO 1. Vol. 1. 2005.
4. Soares Jose GF. Endodoncia: Técnica y Fundamentos. 1ra ed. Vol. 1. Buenos Aires, Argentina : Panamericana; 2002. 3–317 p.
5. Eleazer PD, Glickman GN, Scott JD, Mcclanahan B, Terry MS, Webb D, et al. Special Committee on Cracked Tooth Initiative (2015) Special Committee to Develop Position Statement on Maxillary Sinusitis of Endodontic Etiology (2018).
6. Canalda Carlos, Brau Esteban. Endodoncia Técnicas clínicas y bases científicas. 3rd ed. ELSEVIER; 2014.
7. Ruiz-Linares M, Bailón-Sánchez ME, Baca P, Valderrama M, Ferrer-Luque CM. Physical properties of AH plus with chlorhexidine and cetrimide. J Endod. 2013 Dec;39(12):1611–4.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

8. Khan MT, Moeen F, Safi SZ, Said F, Mansoor A, Khan AS. The structural, physical, and in Vitro biological performance of freshly mixed and set endodontic sealers. *Eur Endod J*. 2021;6(1):98–109.
9. Alberdi JC, Martín G. SELLADORES BIOCERÁMICOS Y TÉCNICAS DE OBTURACIÓN EN ENDODONCIA. *Rev Fac Odontol Univ Nac (Cordoba)*. 2021 Jun 11;14(1):17.
10. Tomson RME, Polycarpou N, Tomson PL. Contemporary obturation of the root canal system. *Br Dent J*. 2014 Mar 21;216(6):315–22.
11. Ricucci D, Rôças IN, Alves FRF, Loghin S, Siqueira JF. Apically Extruded Sealers: Fate and Influence on Treatment Outcome. *J Endod*. 2016 Feb 1;42(2):243–9.
12. De R, Leonardo T, Consolaro A, Carlos Z, Leonardo MR. Evaluation of Cell Culture Cytotoxicity of Five Root Canal Sealers. Vol. 26. 2000.
13. Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. Vol. 39, *Dental Materials Journal*. Japanese Society for Dental Materials and Devices; 2020. p. 703–20.
14. Zhou HM, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng YF, Haapasalo M. Physical properties of five root canal sealers. *J Endod*. 2013 Oct;39(10):1281–6.
15. Zordan-Bronzel CL, Esteves Torres FF, Tanomaru-Filho M, Chávez-Andrade GM, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of

XIII. BIBLIOGRAFÍA

- Physicochemical Properties of a New Calcium Silicate–based Sealer, Bio-C Sealer. *J Endod*. 2019 Oct 1;45(10):1248–52.
16. Kim M, Hayashi M, Yu B, Lee TK, Kim RH, Jo DW. Cytotoxicity and Genotoxicity of Epoxy Resin-Based Root Canal Sealers before and after Setting Procedures. *Life*. 2022 Jun 1;12(6).
 17. Wang Z. Bioceramic materials in endodontics. *Endodontic Topic*. 2015;
 18. Bernman LH, Hergreaves KM. Cohen´s Pathways of the Pulp. 2020;12 edition.
 19. Fonseca DA, Paula AB, Marto CM, Coelho A, Paulo S, Martinho JP, et al. Biocompatibility of root canal sealers: A systematic review of in vitro and in vivo studies. *Materials*. 2019 Dec 1;12(24):1–34.
 20. Gómez PA. CEMENTOS SELLADORES EN ENDODONCIA. 2004.
 21. Alvarado A, Melany C, Melara L, Enrique M, Escobar N, Reynaldo F, et al. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES DE LOS CONOS DE GUTAPERCHA Y CEMENTOS SELLADORES UTILIADOS EN LA OBTURACIÓN DE CONDUCTOS RADICULARES. El Salvador; 2004.
 22. Chang SW, Lee SY, Kang SK, Kum KY, Kim EC. In vitro biocompatibility, inflammatory response, and osteogenic potential of 4 root canal sealers: Sealapex, sankin apatite root sealer, MTA Fillapex, and iroot SP root canal sealer. *J Endod*. 2014 Oct 1;40(10):1642–8.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

23. Nia S, De T, Mendes O, Nio Paulino A, Sobrinho R. In Vitro Evaluation of the Cytotoxicity of Two Root Canal Sealers on Macrophage Activity. 2003.
24. Kerr Endodontics. Tubli-Seal_IFU_41259_20161229_Rev0_Multi-Language. Glendora;
25. Kerr corporation. Tubli Seal [Internet]. 2023 [cited 2022 Jun 2]. p. 1. Available from: <https://www.kerrdental.com/kerr-endodontics/tubli-seal-zinc-oxide-eugenol-root-canal-sealer>
26. DiaDent Dental Group. DiaDent [Internet]. Dia-Proseal. 2023 [cited 2022 Jun 2]. p. 1. Available from: <https://diadent.com/products/dia-proseal-16g>
27. Benetti F, de Azevedo Queiroz ÍO, de Oliveira PHC, Conti LC, Azuma MM, de Oliveira SHP, et al. Cytotoxicity and biocompatibility of a new bioceramic endodontic sealer containing calcium hydroxide. Braz Oral Res. 2019;33.
28. Wongwatanasanti N, Jantararat J, Sritanaudomchai H, Hargreaves KM. Effect of Bioceramic Materials on Proliferation and Odontoblast Differentiation of Human Stem Cells from the Apical Papilla. J Endod. 2018 Aug 1;44(8):1270–5.
29. 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 Jul;44(7):652–61.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

30. Zhou HM, Du TF, Shen Y, Wang ZJ, Zheng YF, Haapasalo M. In Vitro Cytotoxicity of Calcium Silicate-containing Endodontic Sealers. J Endod. 2015 Jan 1;41(1):56–61.
31. DiaDent Group International. Dia Root BIO Sealer [Internet]. 2023 [cited 2022 Jun 2]. p. 1. Available from: <https://diadent.com/collections/frontpage/products/dia-root-bio-sealer>
32. González R, Vega J, Hernández K. Ingeniería de tejidos y biocompatibilidad: nanomateriales biomiméticos, agua, mineralización y respuesta celular [Internet]. Revista Digital Universitaria. 2015 [cited 2022 Jun 8]. Available from: <https://www.revista.unam.mx/vol.16/num9/art74/>
33. INTERNACIONAL ESTÁNDAR Evaluación biológica de equipos médicos. ISO [Internet]. 2002; Available from: www.onlinedoctranslator.com
34. Hosseinpour S, Gaudin A, Peters OA. A critical analysis of research methods and experimental models to study biocompatibility of endodontic materials. Vol. 55, International Endodontic Journal. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 346–69.
35. Özdemir O, Kopac T. Cytotoxicity and biocompatibility of root canal sealers: A review on recent studies. Vol. 20, Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials. SAGE Publications Ltd; 2022.
36. Gutierrez N., Magaña D., Chávez J., Acosta L., Sarmiento E. COMPARACIÓN IN VITRO DE LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES

XIII. BIBLIOGRAFÍA

ENDODONTICOS SEALAPEX, AHPLUS, Y CERASEAL TRABAJO
TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN
ENDODONCIA SINODAL SINODAL [Investigación]. Universidad Autónoma
de Baja California; 2022.