

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO AGREGADO DE ÁCIDO PAQUÍMICO
EN LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS AH PLUS, MTA
FILLAPEX Y TUBLISEAL EN FIBROBLASTOS L929 – UN ESTUDIO IN
VITRO. ”**

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

PRESENTA:

CD ALAN RAÚL HERNÁNDEZ MENDOZA

DIRECTOR - PRESIDENTE:

ANA GABRIELA CARRILLO VARGUEZ

SINODAL- CO DIRECTOR:

EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

SINODAL CO-DIRECTOR:

HORACIO EUSEBIO ALMANZA REYES

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA

JUNIO, 2018

**EVALUACIÓN DEL EFECTO AGREGADO DE ÁCIDO PAQUÍMICO EN LA
CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS AH PLUS, MTA FILLAPEX Y
TUBLISEAL EN FIBROBLASTOS L929 – UN ESTUDIO IN VITRO**

Presenta:

C.D. Alan Raúl Hernández Mendoza

Directora:

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

Co-Directores:

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

Dr. Horacio Eusebio Almanza Reyes

Tijuana, Baja California, 23 de mayo de 2018

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN DEL EFECTO AGREGADO DE ÁCIDO PAQUÍMICO EN LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS AH PLUS, MTA FILLAPEX Y TUBLISEAL EN FIBROBLASTOS L929 – UN ESTUDIO IN VITRO.**

Propuesto por el C.D. **Alan Raúl Hernández Mendoza**, 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. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

PRESIDENTE
(DIRECTORA DEL PROYECTO)

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN DEL EFECTO AGREGADO DE ÁCIDO PAQUÍMICO EN LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS AH PLUS, MTA FILLAPEX Y TUBLISEAL EN FIBROBLASTOS L929 – UN ESTUDIO IN VITRO.**

Propuesto por el C.D. **Alan Raúl Hernández Mendoza**, 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. Eustolia Rodríguez Velázquez

**SINODAL
(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN DEL EFECTO AGREGADO DE ÁCIDO PAQUÍMICO EN LA CITOTOXICIDAD DE LOS CEMENTOS AH PLUS, MTA FILLAPEX Y TUBLISEAL EN FIBROBLASTOS L929 – UN ESTUDIO IN VITRO.**

Propuesto por el C.D. **Alan Raúl Hernández Mendoza**, 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. Horacio Eusebio Almanza Reyes

**SINODAL
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

ABSTRACT

Endodontics is the field of dentistry that studies the morphology of the pulp cavity, the physiology and pathology of the dental pulp, as well as the prevention, diagnosis and treatment of pulpal alterations and their repercussions on periapical tissues. The general objective of this research work is to know if the addition of pachynic acid to the sealing cements AH Plus, MTA Fillapex and Tubliseal increases the cellular viability of the mouse L929 fibroblasts.

In this study. Tubliseal, a zinc oxide based cement, exhibited greater cytotoxicity than AH Plus and MTA Fillapex. It was also found that the cytotoxicity of AH Plus, an epoxy resin-based cement was significantly lower than that of Tubliseal, these results agree with those of Azar et al, who demonstrated that the cytotoxicity of AH Plus is no longer detectable after 4 hours of mixing, while the Tubliseal cytotoxicity associated with ZOE remains even after 5 weeks.

When comparing the subgroups with and without PA, the addition of pachynic acid decreased the severity of the cytotoxicity induced by the sealant cements. RESULTS The addition of pachynic acid significantly increased ($p < 0.05$) the percentage of cell viability in AH PLUS (Material 1) at 24 hours. The addition of pachynic acid did not significantly increase ($p > 0.05$) the percentage of cell viability in the MTA FILLAPEX (Material 2) at 24 hours. The addition of pachynic acid significantly increased ($p < 0.05$) the percentage of cell viability in the TUBLISEAL (Material 3) at 24 hours.

RESUMEN

ENDODONCIA

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, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones pulpares y sus repercusiones sobre los tejidos periapicales.

Los avances en el campo de la endodoncia iniciaron sin pausa, pero especialmente después de Pierre Fauchard (1678-1761) considerado el padre de la odontología moderna, quien escribió el libro "Le Chirurgien dentiste" precisamente describió la pulpa dental y desenmascara la leyenda del diente problema el cual fue considerado la causa de las caries y dolores dentales desde los tiempos de los Asirios.

Debido a su desarrollo científico y tecnológico, la endodoncia es considerada actualmente como una de las ramas más importantes de la odontología, constituyendo una parte integral de diversos tratamientos restauradores y protésicos. El desarrollo de esta disciplina ha involucrado la práctica, adaptación y evolución de distintos conceptos y filosofías a lo largo del tiempo.

Podemos mencionar, por ejemplo, avances tecnológicos relativos a los instrumentos y materiales utilizados. Sin embargo, el verdadero adelanto técnico/científico de esta especialidad se produjo cuando el profesional buscó la solución de los problemas clínicos en los principios biológicos, de ahí que el éxito de cualquier tratamiento endodóntico en el largo plazo deberá considerar tanto los aspectos operacionales de la técnica como los aspectos y características biológicas de los tejidos a tratar y sus tejidos adyacentes.

El objetivo de una endodoncia es conservar el diente limpiando los conductos, mantener su función en la masticación y dejar el diente apto para su posterior restauración. Los tratamientos de endodoncia no siempre consiguen los objetivos deseados y, en algunas ocasiones, debido a infecciones o a la destrucción de la pieza dentaria, ésta debe ser extraída.

AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar este trabajo de tesis a mi familia, mis padres, a mi hermana por el apoyo incondicional que me ha brindado.

A la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, directora y presidenta de esta tesis, por encaminarme y prepararme para esta etapa en mi vida, por su paciencia y así como por creer en mi desde el proceso de selección.

Un especial agradecimiento a mi Co-Director de tesis el Dr. Horacio Eusebio Almanza Reyes por su comprensión, paciencia, tiempo y esfuerzo invertido en este trabajo.

A la Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez por su aportación en encaminar este proyecto desde el inicio y siempre motivarme.

Al MO Hernán Carrillo por su valiosa y paciente participación, así como su esfuerzo para promover este trabajo

A la Dra. Verónica Mata por proveer el cultivo celular y guiar este proyecto desde el inicio.

A Daniela Toledano por la paciencia, la fuerza y el cariño que me otorgo durante esta investigación, creyendo en ella desde el inicio hasta su apoyo durante la investigación y obtención de materiales.

Quiero agradecer a mis compañeros de posgrado, mis amigos por todos los ánimos y por acompañarme todo el camino.

A la facultad de medicina por permitirme el uso de las instalaciones y al equipo de trabajo que colaboró en este proyecto.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
Pulpa dental.....	2
Cemento radicular.....	3
Ligamento periodontal.....	4
Hueso Alveolar.....	4
APLICACIONES DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS: GENERALIDADES.....	4
Descripción de AH Plus.....	5
Descripción de MTA Fillapex.....	5
Descripción de Tubliseal.....	6
ÁCIDO PAQUÍMICO.....	6
Funcionamiento de ácido paquímico.....	7
Componentes bioquímicos.....	7
Aplicación terapéutica.....	7
Propuesta de estudio.....	9
JUSTIFICACIÓN.....	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	11
HIPÓTESIS.....	12
Hipótesis nula.....	12
Hipótesis alternativa.....	12
OBJETIVOS.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivo Específico.....	13
VARIABLES.....	14
Variables independientes.....	14
Variables dependientes.....	14

MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
Tipo de estudio.....	15
Universo de estudio.....	15
METODOLOGÍA.....	16
MATERIALES.....	16
PREPARACIÓN DE LOS MATERIALES.....	16
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	19
RESULTADOS.....	37
DISCUSIÓN.....	40
CONCLUSIONES.....	42
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	43

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Fig. 1 Compuestos lanostanos tipo triterpenos y triterpenoides.....	8
Absorbancias promedio 530 6 640 a las 6 horas.....	20
Medias de absorbancias 340 y 640 - 6 horas.....	21
Porcentaje de viabilidad celular – 6 horas.....	22
Absorbancias promedio 530 y 640 a las 24 horas.....	23
Medias de absorbancias 340 y 640 - 24 horas.....	23
Porcentaje de viabilidad celular – 24 horas.....	23
Prueba de homogeneidad de varianzas.....	24
Prueba Anova.....	25
Comparaciones múltiples.....	26
Comparación Anova entre 0 hrs y 24 hrs.....	28
Tabla de diferencias emparejadas.....	36
Fig 2. Evolución de materiales a las 6 y 24 horas donde se observa diferencia significativa en la viabilidad celular de los materiales 1 y 3 a las 24 horas.....	38
Fig 3. Comparación de agregado de ácido paquímico a las 6 horas.....	39
Fig 4. Comparación de agregado de ácido paquímico a las 24 horas.....	39

INTRODUCCIÓN

citotoxicidad celular se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a un daño que puede ser detectado. Diferentes autores han desarrollado baterías de pruebas in vitro para predecir los efectos tóxicos de drogas y compuestos químicos, utilizando como modelos experimentales cultivos primarios y órganos aislados como líneas celulares establecidas.

El éxito del tratamiento endodóntico depende en parte de la biocompatibilidad de los materiales de obturación usados. La mayoría de los cementos disponibles comercialmente están hechos a base de resina, óxido de zinc, hidróxido de calcio y MTA y aunque estos están diseñados para permanecer dentro del conducto radicular, estos materiales como tal o sus degradados son frecuentemente extruidos a los tejidos periapicales por el foramen principal o sus salidas laterales y accesorias, resultando en respuestas biológicas negativas.

Existe una constante búsqueda de un cemento sellador biocompatible que sea menos tóxico o con toxicidad nula a los tejidos periapicales. La incorporación de antioxidantes tales como el ácido páchimico pudiera ser un agente terapéutico viable para superar la citotoxicidad asociada con los cementos selladores.

La endodoncia se ha convertido en un complemento total e indispensable de las restantes disciplinas dentales: de hecho, es difícil imaginar la práctica de la periodoncia y de la odontología restauradora (prótesis, operatoria dental, etc.) sin el aporte de la endodoncia.

Indicaciones y contraindicaciones

Hay cuatro situaciones fundamentales en las que debe realizarse un tratamiento endodóntico, suponiendo que la habilidad clínica del profesional y su amplitud en tratar al paciente sean proporcionadas con dicha labor:

- Cuando la pulpa está en un estado de inflamación irreparable, necrosis o cuando no existe pulpa.
- Cuando el diente no puede ser reconstruido adecuadamente sin eliminar la pulpa.
- Cuando las medidas preventivas dictaminan la eliminación de la pulpa como cuando los dientes se interponen en el trayecto de la radioterapia.
- En consecuencia, con terapia periodontal, incluyendo amputaciones de la raíz y hemisecciones.

Aunque no existen contraindicaciones absolutas para realizar un tratamiento endodóntico, debe actuarse con buen criterio, ya que hay situaciones en las cuales no es recomendable el tratamiento:

- Enfermedades periodontales no tratables
- Condición del resto de la dentadura en deterioro absoluto
- Fractura vertical
- Diente no restaurable
- Diente no apto para ayudar a la prótesis
- Diente no estratégico
- Integridad del arco dentario
- Fijación de prótesis
- Estética
- Morfología aberrante
- Fracaso predecible
- Limitada accesibilidad

Pulpa dental y tejidos perirradiculares

Pulpa dental

La pulpa dental es un tejido conjuntivo laxo especializado de origen mesenquimatoso que se localiza en la cámara pulpar y el conducto radicular de los dientes. Su especialización se debe a que tiene odontoblastos dispuestas en su periferia que son responsables de la formación de la matriz orgánica de la dentina que la recubre. Otros elementos tisulares que componen a la pulpa incluyen axones, tejido vascular, fibras del tejido conectivo, sustancia fundamental, fluido intersticial, fibroblastos, células inmunocompetentes, etc. ^{1,6}.

La dentina es un tejido duro calcificado y en continua formación, que permite a la pulpa reaccionar y protegerse de agentes agresores, aunque provoca la progresiva disminución de su volumen y limita su capacidad para expandirse durante los episodios de vasodilatación y filtración aumentada. La pulpa y la dentina tienen características histológicas distintas, pero su relación de interdependencia hace que estos tejidos sean entendidos y reconocidos como integrantes de un mismo complejo, denominado complejo dentino-pulpar ^{1,6}.

La pulpa se comunica con el ligamento periodontal a través del foramen apical por donde pasan elementos vasculares y nerviosos y, en ocasiones, por medio de eventuales conductos laterales ^{1,6}. La pulpa está constituida por un sistema microcirculatorio cuyos componentes vasculares principales son las arteriolas y vénulas. La microvascularización se establece en la región de los odontoblastos y proporciona un flujo sanguíneo elevado, constituyendo la base funcional de la nutrición y de la capacidad reactiva del complejo dentino-pulpar ^{1,6}.

La pulpa es un órgano sensorial único que contiene nervios sensitivos a lo largo de toda su extensión, estos hacen anastomosis del centro hacia la periferia dando lugar a un plexo rico en nervios denominado plexo de Raschkow, situado en la zona

subodontoblástica. Desde esta zona, las fibras de los nervios sensitivos se insinúan en la capa de odontoblastos y eventualmente penetran en los túbulos dentinarios. Estas terminaciones nerviosas desnudas provocan la sensación de dolor ante los diversos estímulos aplicados sobre el complejo dentino-pulpar^{1,6}.

La pulpa es un tejido que cambia con el tiempo. A medida que avanza la edad, el volumen pulpar se reduce a causa de la producción de dentina secundaria y la generación eventual de dentina terciaria. El contenido de células disminuye, mientras aumenta en forma proporcional la cantidad de colágeno. La circulación se reduce debido al estrechamiento de los accesos a través de los forámenes y por procesos degenerativos vasculares. La degeneración de nervios y el aumento de calcificaciones distróficas completan el cuadro de envejecimiento del órgano pulpar, reduciendo su capacidad metabólica y su potencial de reparación^{1,6}.

El complejo dentino-pulpar está envuelto por distintos tejidos: en la corona por esmalte dentario y en la raíz por cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. No es de extrañarse, por tanto, que la armonía del complejo pueda ser comprometida si los tejidos circundantes sufren alguna forma de agresión, que pueda llegar a la pulpa por el sistema de conductos radiculares y por el sistema de túbulos dentinarios. Asimismo, patologías pulpares de naturaleza inflamatoria o degenerativa pueden comprometer a sus tejidos circundantes¹.

TEJIDOS PERIRRADICULARES

El periodonto de inserción es el aparato de sostén del diente en el alveolo y está constituido por los tejidos perirradiculares. Estos tejidos, originados del mismo componente embrionario, conforman una unidad funcional mantenida, en el diente adulto, por la actividad metabólica del ligamento periodontal. Los tejidos perirradiculares constan de cemento radicular, ligamento periodontal y hueso alveolar^{1,2,7}.

El **cemento radicular** es un tejido calcificado muy semejante al hueso, que recubre la dentina radicular y la protege reduciendo así su permeabilidad. Asimismo, provee un medio de anclaje a las fibras periodontales en la raíz del diente. Es menos dinámico que el hueso, no se remodela, pero crece de manera continua por aposición de nuevas capas. Es más resistente que el hueso a los procesos de reabsorción. Con su crecimiento continuo, proporciona la reparación fisiológica y anatómica de las reabsorciones radiculares^{7,9}.

Después del tratamiento de conductos, puede promover el sellado parcial o total del foramen apical por formación hipertrófica^{1,10}. El cemento radicular puede ser de 3 tipos: i) cemento celular afibrilar (cubre los dientes en toda la unión amelocementaria), ii) cemento acelular extrínseco fibroso (confinado en la mitad coronal radicular) y iii) cemento celular intrínseco fibroso (en la mitad apical radicular)^{1,4,10}.

En la matriz de cemento pueden encontrarse muchos factores de crecimiento, como el factor de crecimiento 1 insulinoide (IGF-1), los factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), las proteínas morfogénicas óseas (BMP), el factor B transformante de crecimiento (TGF-B) y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). Estos factores de crecimiento se asocian a la proliferación, migración y diferenciación de los cementoblastos durante la cicatrización de la lesión del cemento y pueden ser liberados en determinadas circunstancias⁶.

El **ligamento periodontal** es tejido conjuntivo con fibras de colágeno que establecen la inserción del diente en la pared alveolar. Entre sus características principales, se puede destacar que es un tejido rico en células, vasos y nervios, que posee un metabolismo intenso y que tiene el índice de renovación más rápido de todos los tejidos conjuntivos del cuerpo. Interacciona con el cemento y el hueso alveolar, presentando en su superficie las células formadoras y de reabsorción de ambos tejidos^{1,7,9}

El ligamento periodontal contiene varias poblaciones celulares heterogéneas y matriz extracelular (MEC). Las células presentes en el ligamento periodontal son: osteoblastos, osteoclastos, fibroblastos, restos epiteliales de Malassez (REM), macrófagos, cementoblastos y células mesenquimatosas indiferenciadas^{1,6,9}.

El **hueso alveolar** e inserción o lámina dura es producido por los osteoblastos del ligamento y fija los haces de fibras periodontales, que en su otro extremo se insertan en el cemento. Es un tejido plástico que experimenta remodelaciones, incluidas las alteraciones promovidas por el tratamiento ortodóntico^{7,9}. En las patologías perirradiculares es reabsorbido por los osteoclastos estimulados por los mediadores químicos de la inflamación y por las endotoxinas, entre otros. Su reparación, después de la eliminación de los agentes agresores, la realizan los osteoblastos del ligamento periodontal y de la medula ósea circundante¹.

APLICACIONES DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS: GENERALIDADES

Los materiales dentales han sido parte importante en el diario evolucionar de la estomatología. En el área de endodoncia, diversos materiales han sido utilizados para la reparación de procesos radiculares. Idealmente, un material de reparación debe ser no-tóxico, bacteriostático, no reabsorbible, además de ser capaz de asegurar un sellado hermético óptimo y promover, en la medida de lo posible, la cicatrización y regeneración tisular¹⁴.

Dentro de los diferentes materiales que se han empleado para este propósito se encuentran: amalgamas, ionómeros de vidrio, hidróxido de calcio, hidroxiapatita, cemento de óxido de zinc y eugenol, gutapercha, cementos zinquenólicos y de óxido de zinc mejorados, cementos de oxifosfato de zinc, cementos MTA, etc. Como ya se ha

mencionado, los cementos MTA han generado un interés creciente para su uso como cementos endodónticos, presentando, entre otros, propiedades físicas, químicas y biológicas mejoradas, lo que los habilita como materiales muy apropiados para terapias tanto en pulpa vital como en pulpas necróticas ^{11,12,14}.

DESCRIPCIÓN DE AH PLUS

AH-PLUS de Dentsply es un cemento sellador de conductos basado en un polímero de epoxi-amina con alta radiopacidad. Indicado para el sellado permanente de acuerdo a los estándares más elevados. Esta mezcla de pasta-pasta aporta mayor fluidez ofreciendo un mayor tiempo de trabajo de hasta 4 horas. Totalmente biocompatible y libre de plata.

El kit AH Plus de Dentsply incluye: 1 tubo 4ml de base + 1 tubo de 4ml de catalizador.

CARACTERISTICAS

- Cemento sellador.
- Para el sellado permanente de conductos radiculares.
- Mayor fluidez.
- Mayor tiempo de trabajo.
- Biocompatible.
- Libre de plata.

CONTENIDO

- 1 tubo de 4ml de base.
- 1 tubo de 4ml de catalizador.

DESCRIPCION DE MTA FILLAPEX

El MTA Fillapex es un cemento de obturación de conductos radiculares a base de MTA (Mineral de trióxido Agregado). Esta composición proporciona según el fabricante las siguientes características:

CARACTERISTICAS

- Biocompatible: recuperación del tejido sin causar reacciones inflamatorias.
- Alta radiopacidad: mejor visualización radiográfica.
- Excelente fluidez: permite la obturación de conductos accesorios.
- Expansión de fraguado: perfecto sellado.
- Liberación de iones calcio: ayuda en la rápida recuperación de la formación de hueso y cemento.
- Sistema pasta X pasta: facilidad de uso.
- Tiempo de trabajo adecuado: permite el trabajo de endodoncistas y clínicos generales.

- Base de resina: facil remocion con solventes de gutapercha

CONTENIDO

- 1 tubo de pasta base (18 g)
- 1 tubo de pasta catalizadora (12 g)
- 1 bloque de mezcla
- Pad de mezcla.

DESCRIPCION DE TUBLI-SEAL

Tubli-Seal de Kerr SybronEndo es un cemento endodóntico de óxido de zinc y eugenol indicado para el sellado del canal radicular. Su presentación en pasta de color claro, no oscurece y es radiopaco. Es una resina oleosa que posee un tiempo de trabajo reducido, en especial en presencia de calor y humedad. La presentación pasta-pasta permite una mezcla más homogénea. Su radiopacidad, corrimiento y capacidad selladora se consideran adecuados. Hay una versión denominada Tubli-Seal EWT con tiempo de trabajo más prolongado.

El envase de **Tubli-Seal de Kerr** contiene 2 tubos de: 10gr. base + 3,5gr. catalizador.

CARACTERISTICAS

- Cemento endodóntico de óxido zinc.
- Contiene Eugenol.
- Indicado para el sellado del canal radicular.
- Pasta de color claro, no oscurece.
- Radiopaco.

CONTENIDO

- 1 tubo de 10gr base.
- 1 tubo de 3,5gr. Catalizador

ÁCIDO PAQUÍMICO

Poria cocos es un hongo perteneciente al orden *Polyporales* de la división *Basidiomycota*, y su esclerocio forma parte aproximadamente del 10% de las prescripciones de la medicina tradicional china. Sus propiedades medicinales se conocen en China desde hace miles de años, y se describieron por primera vez en el *Shen Nong Ben Cao Jing*¹².

P. cocos también está presente como ingrediente en el 30% de las fórmulas de la denominada *Kampo*¹⁶, que es como se llama a la medicina tradicional china introducida

en Japón entre los siglos VI y VIII. Además, se usa como ingrediente en algunas formulaciones en la medicina tradicional coreana. *P. cocos* se consume en oriente desde hace mucho tiempo por sus valores medicinales; sin embargo, no es un hongo muy conocido en occidente. Es por ello que proponemos una revisión de los artículos que inciden en su potencial terapéutico.

FUNCIONAMIENTO DEL ÁCIDO PAQUÍMICO

La citotoxicidad inducida por cementos selladores resulta en la formación de Especies reactivas de oxígeno, la cual lleva a un estrés oxidativo en los tejidos. Este estrés oxidativo activa una respuesta inflamatoria en los tejidos, la cual es seguida por destrucción de hueso alveolar^{14,16}.

Aunque la citotoxicidad resulta en una reacción inflamatoria en los tejidos, también se observó que el ácido pachímico actúa principalmente en las Especies reactivas de oxígeno, eliminándolas vía factor nuclear kappa de las células B activadas, por lo tanto, reduciendo la citotoxicidad inducida por cementos selladores¹⁴.

COMPONENTES BIOQUÍMICOS

Se han aislado distintos polisacáridos del micelio de *P. cocos* denominados PCM1, PCM2, PCM3 y PCM4. PCM1 y PCM2 consisten en D-ramnosa, D-fucosa, D-xilosa, D-manosa, D-galactosa, D-glucosa y ácido D-glucurónico; PCM4 en D-glucosa y ácido glucurónico y PCM3 se corresponde con la mayor fracción de polisacáridos (55,8%), que consiste en cadenas de β -(1 \rightarrow 3)-D-glucanos con ramificaciones β -(1 \rightarrow 2) y β -(1 \rightarrow 6), lo que se denomina *pachyman*¹¹. La composición en polisacáridos del esclerocio es muy similar a la del micelio¹⁶.

El pachymaran y el carboximetil pachymaran son derivados del pachyman²⁷. *P. cocos* contiene 15 aminoácidos, incluyendo ácido aspártico, serina y valina^{14,16}. A partir del esclerocio de *P. cocos* se han aislado distintos compuestos lanostanos tipo triterpenos y triterpenoides (figura 1), muchos de ellos con capacidad terapéutica.

APLICACIÓN TERAPÉUTICA

El esclerocio seco de *P. cocos* se ha usado de modo tradicional en la medicina tradicional china como diurético y sedativo, y la parte interna se ha tomado como vigorizante. Farmacológicamente los polisacáridos tienen actividad anticancerígena e inmunomoduladora^{8,11,14}. Los polisacáridos que contiene *P. cocos* podrían ser una alternativa en terapias contra el cáncer, ya que in vitro han demostrado tener una potente actividad antitumoral en células leucémicas humanas. Se ha demostrado actividad antitumoral de los polisacáridos del micelio en células tumorales de sarcoma en 180 de ratones. Igualmente, se ha indicado que el denominado *poriatin* (una mezcla de varios compuestos extraída con cloroformo de *P. cocos*) tiene poder inhibitorio sobre

la biosíntesis de ADN en células con leucemia¹⁶. Recientemente se ha visto que los glucanos del micelio tienen un efecto inhibitorio sobre células cancerosas cultivadas in vitro procedentes de mamas afectadas.

También algunos de los lanostanos tipo triterpenos encontrados en el esclerocio se han revelado como inhibidores del crecimiento de células tumorales^{9,11,19}. El ácido dehidroeburicónico es capaz de inhibir la ADN topoisomerasa II y de prevenir el crecimiento de células cancerígenas en humanos¹⁸ y el ácido paquímico tiene capacidad para inducir la apoptosis (muerte celular) de células cancerígenas de próstata¹⁴. Se han demostrado efectos antitumorales con el ácido poricoico C y el ácido 16-deoxiporicoico B procedentes de la parte externa del esclerocio¹⁹ y se ha purificado una proteína que es capaz de estimular el sistema inmune en ratones. Recientemente, el ácido paquímico, el ácido 3-epi-dehidrotumulósico y el recién aislado ácido 29-hidroxipoliporénico C han mostrado citotoxicidad hacia células cancerígenas de pulmón de la línea A549 y células cancerígenas de próstata de la línea DU14574.

Nombre del compuesto	Cita bibliográfica
Ácido dehidroabiético metil éster	60
Ácido dehidroeburicónico	39
Ácido dehidroeburicoico	55, 71
Ácido dehidroeburicónico	1, 56
Ácido dehidropachímico	54, 70
Ácido dehidrotrametenólico	39, 70
Ácido dehidrotrametenónico	1
Ácido dehidrotumulósico	52, 56, 60
Ácido eburicoico	55, 71
Ácido paquímico	70, 71
Ácido pinicólico	71
Ácido poliporénico	60
Ácidos poricoicos A y B	53, 60, 70
Ácidos poricoicos C, D, DM y AM	2, 55
Ácidos poricoicos G y H	60
Ácidos poricoicos E y BM	56
Ácido trametenólico	55
Ácido tumulósico	60, 71
Ácido 3-epidehidrotumulósico	56, 60
Ácido 3 β - <i>p</i> -hidroxibenzoilhidrotumulósico	70
Ácido 3- <i>o</i> -acetil-16 α -hidroxitrametenólico	57
Ácido 3- <i>o</i> -acetil-16 α -hidroxidehidro-trametenólico	57
Ácido 3-epidehidropachimico	57
Ácido 3 β -hidroxilanosta-7,9(11),24-trien-21-oic	55
Ácido 25-hidrox-i-3-epidehidrotumulósico	60
Ácido 16-deoxiporicoico B	2
Dimetil poricoato F	56
Metil 25-hidrox-i-3-epidehidrotumulósato	56

Fig. 1 Compuestos lanostanos tipo triterpenos y triterpenoides.

PROPUESTA DE ESTUDIO

El presente estudio pretende comprender e identificar el comportamiento de un agente antioxidante, tal como el ácido paquímico en conjunto con los cementos selladores convencionales para disminuir los niveles citotóxicos sobre cultivo celular L929.

Este estudio propone una nueva alternativa – En el ácido paquímico - para mejorar la viabilidad celular en los cementos MTA FILLAPEX, AH PLUS y TUBLISEAL.

Diferentes autores han desarrollado baterías de pruebas in vitro para predecir los efectos tóxicos de drogas y compuestos químicos, utilizando como modelos experimentales cultivos primarios y órganos aislados como líneas celulares establecidas.

JUSTIFICACIÓN

Dentro de la amplia comercialización de los cementos selladores disponibles al público hasta hoy. Encontramos diversos estudios en sus efectos citotóxicos a los tejidos periapicales. Sin embargo, la constante búsqueda de disminuir o eliminar estos efectos negativos nos llevan a experimentar con diferentes agentes que potencialicen un resultado positivo.

Considerando lo anterior, el presente estudio pretende identificar el comportamiento de un agente antioxidante, tal como el ácido paquímico en conjunto con los cementos selladores convencionales para disminuir los niveles citotóxicos sobre cultivo celular L929.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La citotoxicidad constituye uno de los mecanismos desencadenados a causa de extrusión de cementos selladores a la población celular de los tejidos periapicales.

La mayoría de los cementos disponibles comercialmente están hechos a base de resina, óxido de zinc, hidróxido de calcio y MTA y aunque estos están diseñados para permanecer dentro del conducto radicular, estos materiales como tal o sus degradados son frecuentemente extruidos a los tejidos periapicales por el foramen principal o sus salidas laterales y accesorias, resultando en respuestas biológicas negativas.

Por esto nos planteamos la siguiente pregunta: ¿Será el ácido paquímico una nueva alternativa para reducir los niveles citotóxicos de tres cementos selladores mediante un antioxidante natural?

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS NULA

Las células en cultivo en presencia de los tres cementos endodónticos no cambian su porcentaje de viabilidad celular en presencia de ácido paquímico.

HIPÓTESIS ALTERNATIVA

Las células en cultivo en presencia de un cemento endodóntico y ácido paquímico presentan un porcentaje de viabilidad celular distinto al de las células libres de ácido paquímico.

OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar si el agregado de ácido paquímico a los cementos selladores AH Plus, MTA Fillapex y Tubliseal aumenta la viabilidad celular de los fibroblastos L929 de ratón.

Objetivos específicos

1. Caracterizar la citocompatibilidad de los cementos selladores en función de diversas diluciones.
2. Conocer si la viabilidad celular de al menos un cemento sellador es potencializada por el agregado de ácido paquímico en alguna de los porcentajes de dilución utilizados.

VARIABLES

Variables independientes

1. Tipo de cemento endodóntico.
2. Porcentaje de dilución en contacto con cultivo.

Variables dependientes

2. Composición química y elemental de los cementos endodónticos.
3. Citocompatibilidad de los cementos endodónticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Experimental

Universo de estudio

Cementos endodónticos AH Plus, MTA Fillapex y Tubliseal.

METODOLOGÍA

Preparación del ácido paquímico

5mg de ácido paquímico fueron diluidos en 1ml de agua bidestilada.

Preparación de los cementos selladores

Todo el experimento fue desarrollado con cementos recién mezclados. Todos los cementos fueron preparados de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

MATERIALES

Todos los cementos fueron de origen comercial. El cemento AH Plus Root Canal Sealer de Dentsply Maillefer, el cemento MTA Fillapex de la casa comercial Angelus, Londrina – Brasil y el cemento Tubliseal de la casa comercial Kerr, Romulus, MI.

Las células L929 fueron adquiridas de los laboratorios American Type Culture Collection (ATCC). Todos los medios y agentes de cultivo celular fueron adquiridos de Invitrogen. Los cementos fueron preparados siguiendo las indicaciones del fabricante.

PREPARACIÓN DE LOS MATERIALES

Todo el experimento fue desarrollado con cementos recién mezclados. Todos los cementos fueron preparados de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Estos fueron machacados en morteros con pistilo hasta obtener un polvo fino. Se colocaron en medio DMED y se esterilizaron en autoclave de laboratorio Market Forge Sterilmatic.

Se utilizaron 8 tubos eppendorf por cemento (24 tubos) y 8 tubos eppendorf para cada cemento sellador, más el ácido paquímico (24 tubos). En cada tubo se colocó 1ml de medio DMED, con las siguientes concentraciones:

Concentración de cemento sellador Concentración de cemento sellador y AP

Tubo A. 5 mg/mL

Tubo B. 2.5 mg/mL

Tubo C. 1.25 mg/mL

Tubo D. 0.625 mg/mL

Tubo E. 3.125 mg/mL

Tubo F. 15.625 mg/mL

Tubo G. 0.78125 mg/mL

Tubo H. 0.390625 mg/mL

Tubo A. 5 mg/mL más 2.5mg/mL

Tubo B. 2.5 mg/mL más 1.25mg/mL

Tubo C. 1.25 mg/mL más 0.625mg/mL

Tubo D. 0.625 mg/mL más 0.3125mg/mL

Tubo E. 3.125 mg/mL más 0.15625mg/mL

Tubo F. 15.625 mg/mL más 0.078125 mg/ml

Tubo G. 0.78125 mg/mL más 0.0390625 mg/ml

Tubo H. 0.390625 mg/mL más 0.01953125 mg/ml

CONDICIONES DEL CULTIVO CELULAR

Las células L929 fueron cultivadas en medio de cultivo DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS), 0.1 mM de aminoácidos no esenciales (NEAA), 2 mM de L-Glutamina (L-Glu), 1 mM piruvato de sodio y 1% de penicilina-estreptomicina (pen-strep) e incubadas a condiciones estándar de cultivo (37 °C, 5% CO₂, atmósfera húmeda).

Las células fueron subcultivadas al alcanzar una confluencia óptica del 80–90%. Para su subcultivo, las células confluentes fueron tratadas con una solución 0.25% de tripsina-EDTA e incubadas por 4 min a condiciones estándar de cultivo. Las células fueron desprendidas de los frascos de cultivo, resuspendidas en medio de cultivo fresco y sembradas en las placas de cultivo para su experimentación.

AGREGADO DE MATERIALES AL CULTIVO CELULAR

Una vez cultivadas y crecidas las células L929, estas fueron colocadas en pocillos de microplacas de 96 pocillos de 50µm. Utilizando pipetas calibradas SoftGrip se colocaron las concentraciones arriba mencionadas, de mayor a menor.

Una vez aplicados los materiales, las microplacas se colocaron en incubación a atmósfera húmeda 100% con 5% de CO₂ por 6 horas y 24 horas.

MATERIALES

Todos los cementos fueron de origen comercial. El cemento AH Plus Root Canal Sealer de Dentsply Maillefer, el cemento MTA Fillapex de la casa comercial Angelus, Londrina – Brasil y el cemento Tubliseal de la casa comercial Kerr, Romulus, MI. Las células HeLa fueron adquiridas de los laboratorios American Type Culture Collection (ATCC). Todos los medios y agentes de cultivo celular fueron adquiridos de Invitrogen. El reactivo de proliferación celular cck-8 fue de la marca Dojindo. Los cementos fueron preparados siguiendo las indicaciones del fabricante.

DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR

Para determinar el efecto del material sobre la viabilidad de las líneas celulares se utilizó el ensayo del bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) (Mosmann, 1983). Con este objetivo, al concluir el tiempo de exposición, se adicionaron 5 µl de una solución de MTT (5 mg/ml en solución salina tamponada (PBS)) a cada pocillo y se incubaron bajo las mismas condiciones durante 4 h.

Al concluir este intervalo de tiempo, el medio se decantó cuidadosamente y se adicionaron posteriormente 100 µl/pozo de una solución de dimetilsulfóxido (DMSO).

Tras incubar nuevamente a 37°C durante 30 min, la absorbancia a 560 nm se midió a través de un lector de microplacas MRX Revelation Dynex Technologies.

Se utilizó como referencia la lectura a una longitud de onda de 630 nm. Con los valores de absorbancia determinados, se calculó el porcentaje de viabilidad celular, utilizando la siguiente expresión:

$$\% = (\text{abs}_{\text{tratados}} / \text{abs}_{\text{control}}) \times 100.$$

Los experimentos fueron realizados en triplicado

Concentraciones de cementos selladores con diluciones de ácido paquímico.

- A. 5mg/mL más 2.5mg/mL
- B. 2.5mg/mL más 1.25mg/mL
- C. 1.25mg/mL más 0.625mg/mL
- D. 0.625 mg/mL más 0.3125mg/mL
- E. 0.3125mg/mL más 0.15625mg/mL
- F. 0.15625mg/mL más 0.078125 mg/ml
- G. 0.078125 mg/mL más 0.0390625 mg/ml
- H. 0.0390625 mg/mL más 0.01953125 mg/ml

Los experimentos fueron realizados en triplicado.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los ensayos biológicos fue llevado a cabo empleando el test ANOVA (análisis de la varianza) de un factor. La diferencia estadística fue considerada como significativa a $p < 0.05$.

Se utilizaron las absorbancias promedio 530 y 640 a las 6 y 24 horas.

Absorbancias promedio 530 6 640 a las 6 horas.

A	0.183	0.203	0.155	0.174	0.079	0.376	0.153	0.061
B	0.174	0.127	0.087	0.115	0.1	0.067	0.133	0.061
C	0.138	0.121	0.136	0.124	0.115	0.091	0.15	0.059
D	0.151	0.106	0.135	0.132	0.135	0.144	0.161	0.059
E	0.147	0.138	0.138	0.134	0.141	0.152	0.148	0.058
F	0.141	0.121	0.142	0.13	0.134	0.092	0.127	0.059
G	0.132	0.135	0.132	0.137	0.119	0.145	0.145	0.06
H	0.143	0.145	0.127	0.137	0.131	0.139	0.152	0.056
	M1	M2	M3	M1A	M2A	M3A	C_pos_Cel	DMSO

A	0.143	0.211	0.121	0.209	0.086	0.268	0.128	0.067
B	0.137	0.123	0.077	0.133	0.11	0.063	0.122	0.059
C	0.14	0.139	0.122	0.137	0.142	0.13	0.137	0.063
D	0.147	0.141	0.14	0.14	0.166	0.146	0.143	0.059
E	0.152	0.135	0.141	0.134	0.185	0.14	0.13	0.058
F	0.142	0.14	0.14	0.14	0.143	0.135	0.137	0.059
G	0.132	0.15	0.137	0.134	0.117	0.118	0.14	0.06
H	0.145	0.146	0.132	0.141	0.133	0.139	0.136	0.063
	M1	M2	M3	M1A	M2A	M3A	C_pos_Cel	DMSO

A	0.218	0.273	0.121	0.125	0.051	0.141	0.153	0.07
B	0.2	0.143	0.111	0.127	0.11	0.068	0.147	0.063
C	0.139	0.13	0.133	0.144	0.128	0.126	0.159	0.063
D	0.155	0.127	0.112	0.147	0.129	0.091	0.151	0.063
E	0.155	0.133	0.152	0.159	0.128	0.125	0.145	0.065
F	0.143	0.141	0.137	0.139	0.126	0.134	0.152	0.062
G	0.159	0.129	0.152	0.15	0.14	0.137	0.158	0.062
H	0.15	0.179	0.17	0.148	0.162	0.152	0.16	0.064
	M1	M2	M3	M1A	M2A	M3A	C_pos_Cel	DMSO

Medias de absorbancias 340 y 640 - 6 horas

Medias	1	2	3	4	5	6
A	0.1813	0.2290	0.1323	0.1693	0.0720	0.2617
B	0.1703	0.1310	0.0917	0.1250	0.1067	0.0660
C	0.1390	0.1300	0.1303	0.1350	0.1283	0.1157
D	0.1510	0.1247	0.1290	0.1397	0.1433	0.1270
E	0.1513	0.1353	0.1437	0.1423	0.1513	0.1390
F	0.1420	0.1340	0.1397	0.1363	0.1343	0.1203
G	0.1410	0.1380	0.1403	0.1403	0.1253	0.1333
H	0.1460	0.1567	0.1430	0.1420	0.1420	0.1433

Porcentaje de viabilidad celular – 6 horas

%VIAB	1	2	3	4	5	6
A	125.53	158.52	91.61	117.22	49.84	181.14
B	117.91	90.68	63.46	86.53	73.84	45.69
C	96.22	89.99	90.22	93.45	88.84	80.07
D	104.53	86.30	89.30	96.68	99.22	87.91
E	104.76	93.68	99.45	98.53	104.76	96.22
F	98.30	92.76	96.68	94.38	92.99	83.30
G	97.61	95.53	97.14	97.14	86.76	92.30
H	101.07	108.45	98.99	98.30	98.30	99.22

MEDIA DE MEDIAS 0.14445833

= 100%

Absorbancias promedio 530 y 640 a las 24 horas.

A	0.352	0.375	0.277	0.391	0.219	0.274	0.247	0.069
B	0.394	0.364	0.216	0.326	0.215	0.213	0.265	0.061
C	0.349	0.263	0.218	0.333	0.223	0.292	0.258	0.063
D	0.327	0.301	0.299	0.339	0.292	0.217	0.256	0.062
E	0.364	0.27	0.263	0.284	0.249	0.218	0.189	0.064
F	0.341	0.256	0.246	0.315	0.279	0.249	0.194	0.1
G	0.364	0.367	0.228	0.317	0.25	0.252	0.199	0.088
H	0.339	0.398	0.216	0.343	0.219	0.265	0.186	0.107

M1	M2	M3	M1A	M2A	M3A	Con_pos_C	DMSO
----	----	----	-----	-----	-----	-----------	------

A	0.186	0.214	0.274	0.224	0.212	0.246	0.072	0.058
B	0.137	0.134	0.12	0.097	0.125	0.062	0.076	0.056
C	0.126	0.082	0.109	0.136	0.127	0.054	0.074	0.058
D	0.133	0.1	0.127	0.094	0.065	0.058	0.097	0.056
E	0.131	0.121	0.11	0.08	0.07	0.062	0.103	0.057
F	0.131	0.094	0.147	0.117	0.117	0.112	0.074	0.084
G	0.137	0.142	0.126	0.09	0.147	0.101	0.096	0.079
H	0.125	0.147	0.168	0.085	0.164	0.126	0.113	0.082

M1	M2	M3	M1A	M2A	M3A	Con_pos_C	DMSO
----	----	----	-----	-----	-----	-----------	------

A	0.378	0.355	0.302	0.212	0.261	0.228	0.206	0.085
B	0.306	0.234	0.207	0.205	0.21	0.206	0.202	0.075
C	0.292	0.287	0.209	0.259	0.212	0.102	0.205	0.096
D	0.277	0.299	0.212	0.268	0.21	0.216	0.22	0.067
E	0.286	0.267	0.22	0.252	0.231	0.216	0.206	0.066
F	0.271	0.248	0.265	0.257	0.21	0.212	0.203	0.058
G	0.263	0.26	0.275	0.286	0.216	0.203	0.183	0.076
H	0.244	0.226	0.217	0.202	0.218	0.206	0.177	0.084

M1	M2	M3	M1A	M2A	M3A	Con_pos_C	DMSO
----	----	----	-----	-----	-----	-----------	------

Medias de absorbancias 340 y 640 - 24 horas

	1	2	3	4	5	6
A	0.336	0.340	0.274	0.303	0.246	0.249
B	0.306	0.273	0.221	0.255	0.219	0.210
C	0.286	0.259	0.220	0.272	0.217	0.204
D	0.273	0.269	0.253	0.281	0.241	0.215
E	0.289	0.247	0.241	0.251	0.233	0.216
F	0.275	0.238	0.247	0.260	0.234	0.226
G	0.281	0.278	0.244	0.270	0.234	0.223
H	0.265	0.276	0.219	0.252	0.233	0.226

Porcentaje de viabilidad celular – 24 horas

	1	2	3	4	5	6
A	160.255	162.323	130.973	144.500	117.605	118.878
B	146.250	130.336	105.351	121.902	104.396	100.259
C	136.384	123.652	104.874	130.018	103.441	97.235
D	130.495	128.586	120.947	134.156	115.059	102.646
E	138.134	117.764	115.218	119.992	111.080	102.964
F	131.291	113.626	117.764	124.289	111.558	107.897
G	133.996	132.564	116.491	128.745	111.876	106.624
H	126.676	131.928	104.555	120.469	111.239	107.897

MEDIA DE MEDIAS 0.209458333

=100

NOMENCLATURA PARA EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Material 1: AH Plus
Material 2: MTA Fillapex
Material 3: Tubliseal
AP: Ácido paquímico

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó una subdivisión de 3 pares para el estudio de los materiales:

Par 1: Material 1 con y sin AP
Par 2: Material 2 con y sin AP
Par 3: Material 3 con y sin AP

El análisis estadístico de los ensayos biológicos fue llevado a cabo empleando el test ANOVA (análisis de la varianza) de un factor. La diferencia estadística fue considerada como significativa a $p < 0.05$.

Se realiza prueba de homogeneidad de varianzas con el *estadístico de Levene*

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD DE VARIANZAS

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
% VIABILIDAD CELULAR	Se basa en la media	2.175	6	49	.061
	Se basa en la mediana	1.922	6	49	.096
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	1.922	6	24.877	.117
	Se basa en la media recortada	2.137	6	49	.066

Dado que $p > 0.05$ se acepta que las varianzas son homogéneas. Debido a que no se pueden comparar todas las medias en una sola prueba, se realizó un ANOVA.

ANOVA

% VIABILIDAD CELULAR

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	9496.189	6	1582.698	19.986	.000
Dentro de grupos	3880.341	49	79.191		
Total	13376.531	55			

Se realiza un ANOVA, cuyo resultado muestra que si hay diferencia estadísticamente entre algún o algunos de los grupos ($p < 0.05$).

Por lo anterior se realizaron comparaciones múltiples hasta agotar las combinaciones. Se utilizó una prueba HSD Tukey para comparaciones múltiples.

COMPARACIONES MÚLTIPLES

Variable dependiente: % VIABILIDAD CELULAR A LAS 24 HRS

	(I) MATERI AL	(J) MATERIAL	Diferenci a de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	MAT 1	MAT 2	7.838	4.449	.579	-5.84	21.52
		MAT 3	23.414*	4.449	.000	9.74	37.09
		MAT 1 + A	9.926	4.449	.298	-3.75	23.60
		MAT 2 + A	27.153*	4.449	.000	13.48	40.83
		MAT 3 + A	32.385*	4.449	.000	18.71	46.06
		Control	37.935*	4.449	.000	24.26	51.61
	MAT 2	MAT 1	-7.838	4.449	.579	-21.52	5.84
		MAT 3	15.576*	4.449	.016	1.90	29.25

	MAT 1 + A	2.089	4.449	.999	-11.59	15.77
	MAT 2 + A	19.316*	4.449	.001	5.64	32.99
	MAT 3 + A	24.547*	4.449	.000	10.87	38.23
	Control	30.097*	4.449	.000	16.42	43.78
MAT 3	MAT 1	-23.414*	4.449	.000	-37.09	-9.74
	MAT 2	-15.576*	4.449	.016	-29.25	-1.90
	MAT 1 + A	-13.487	4.449	.056	-27.17	.19
	MAT 2 + A	3.740	4.449	.979	-9.94	17.42
	MAT 3 + A	8.972	4.449	.418	-4.71	22.65
	Control	14.522*	4.449	.031	.84	28.20
MAT 1 + A	MAT 1	-9.926	4.449	.298	-23.60	3.75
	MAT 2	-2.089	4.449	.999	-15.77	11.59
	MAT 3	13.487	4.449	.056	-.19	27.17
	MAT 2 + A	17.227*	4.449	.006	3.55	30.90
	MAT 3 + A	22.459*	4.449	.000	8.78	36.14
	Control	28.009*	4.449	.000	14.33	41.69
MAT 2 + A	MAT 1	-27.153*	4.449	.000	-40.83	-13.48
	MAT 2	-19.316*	4.449	.001	-32.99	-5.64
	MAT 3	-3.740	4.449	.979	-17.42	9.94
	MAT 1 + A	-17.227*	4.449	.006	-30.90	-3.55
	MAT 3 + A	5.232	4.449	.900	-8.45	18.91
	Control	10.782	4.449	.211	-2.90	24.46
MAT 3 + A	MAT 1	-32.385*	4.449	.000	-46.06	-18.71
	MAT 2	-24.547*	4.449	.000	-38.23	-10.87
	MAT 3	-8.972	4.449	.418	-22.65	4.71

		MAT 1 + A	-22.459*	4.449	.000	-36.14	-8.78
		MAT 2 + A	-5.232	4.449	.900	-18.91	8.45
		Control	5.550	4.449	.872	-8.13	19.23
	Control	MAT 1	-37.935*	4.449	.000	-51.61	-24.26
		MAT 2	-30.097*	4.449	.000	-43.78	-16.42
		MAT 3	-14.522*	4.449	.031	-28.20	-.84
		MAT 1 + A	-28.009*	4.449	.000	-41.69	-14.33
		MAT 2 + A	-10.782	4.449	.211	-24.46	2.90
		MAT 3 + A	-5.550	4.449	.872	-19.23	8.13
T de Dunnett (bilateral) ^b	MAT 1	Control	37.935*	4.449	.000	26.10	49.77
	MAT 2	Control	30.097*	4.449	.000	18.27	41.93
	MAT 3	Control	14.522*	4.449	.010	2.69	26.35
	MAT 1 + A	Control	28.009*	4.449	.000	16.18	39.84
	MAT 2 + A	Control	10.782	4.449	.086	-1.05	22.61
	MAT 3 + A	Control	5.550	4.449	.653	-6.28	17.38

RESULTADOS

A LAS 24 HORAS:

No existe diferencia significativa entre el Mat 1 y Mat 1 + A ($p > 0.05$)

El Mat 2 es menos tóxico significativamente que el Mat 2 + A ($p < 0.05$)

No existe diferencia significativa entre el Mat 3 y Mat 3 + A ($p > 0.05$)

El Mat 1 + A es menos tóxico significativamente que el Mat 2 + A y que el Mat 3 + A ($p < 0.05$)

COMPARACIÓN ENTRE 0 HRS Y 24 HRS

ANOVA

% VIABILIDAD CELULAR

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	23548.543	12	1962.379	7.908	.000
Dentro de grupos	22581.948	91	248.153		
Total	46130.491	103			

Debido a que no se pueden comparar todas las medias en una sola prueba, se realizó un ANOVA, cuyo resultado muestra que si hay diferencia estadísticamente entre algún o algunos de los grupos ($p < 0.05$).

Por lo anterior se realizaron comparaciones múltiples hasta agotar las combinaciones. Se utilizó una prueba HSD Tukey para comparaciones múltiples.

COMPARACIONES MULTIPLES

Variable dependiente: % VIABILIDAD CELULAR

	(I) MATERIAL	(J) MATERIAL	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	MAT 1	MAT 2	7.83775	7.87644	.999	-18.9616	34.6371
		MAT 3	23.41350	7.87644	.151	-3.3858	50.2128
		MAT 1 + A	9.92625	7.87644	.988	-16.8731	36.7256
		MAT 2 + A	27.15337*	7.87644	.044	.3541	53.9527
		MAT 3 + A	32.38512*	7.87644	.005	5.5858	59.1844
		Control	37.93513*	7.87644	.000	11.1358	64.7344

	MAT 1 0 HRS	32.19388*	7.87644	.006	5.3946	58.9932
	MAT 2 0 HRS	35.94637*	7.87644	.001	9.1471	62.7457
	MAT 3 0 HRS	47.07888*	7.87644	.000	20.2796	73.8782
	MAT 1 + A 0 HRS	40.15638*	7.87644	.000	13.3571	66.9557
	MAT 2 + A 0 HRS	51.11638*	7.87644	.000	24.3171	77.9157
	MAT 3 + A 0 HRS	42.20388*	7.87644	.000	15.4046	69.0032
MAT 2	MAT 1	-7.83775	7.87644	.999	-34.6371	18.9616
	MAT 3	15.57575	7.87644	.744	-11.2236	42.3751
	MAT 1 + A	2.08850	7.87644	1.000	-24.7108	28.8878
	MAT 2 + A	19.31562	7.87644	.418	-7.4837	46.1149
	MAT 3 + A	24.54737	7.87644	.107	-2.2519	51.3467
	Control	30.09738*	7.87644	.014	3.2981	56.8967
	MAT 1 0 HRS	24.35613	7.87644	.113	-2.4432	51.1554
	MAT 2 0 HRS	28.10862*	7.87644	.031	1.3093	54.9079
	MAT 3 0 HRS	39.24113*	7.87644	.000	12.4418	66.0404
	MAT 1 + A 0 HRS	32.31863*	7.87644	.006	5.5193	59.1179
	MAT 2 + A 0 HRS	43.27863*	7.87644	.000	16.4793	70.0779
	MAT 3 + A 0 HRS	34.36613*	7.87644	.002	7.5668	61.1654
MAT 3	MAT 1	-23.41350	7.87644	.151	-50.2128	3.3858
	MAT 2	-15.57575	7.87644	.744	-42.3751	11.2236
	MAT 1 + A	-13.48725	7.87644	.884	-40.2866	13.3121
	MAT 2 + A	3.73987	7.87644	1.000	-23.0594	30.5392

	MAT 3 + A	8.97162	7.87644	.995	-17.8277	35.7709
	Control	14.52163	7.87644	.822	-12.2777	41.3209
	MAT 1 0 HRS	8.78038	7.87644	.996	-18.0189	35.5797
	MAT 2 0 HRS	12.53287	7.87644	.928	-14.2664	39.3322
	MAT 3 0 HRS	23.66537	7.87644	.140	-3.1339	50.4647
	MAT 1 + A 0 HRS	16.74288	7.87644	.646	-10.0564	43.5422
	MAT 2 + A 0 HRS	27.70288*	7.87644	.036	.9036	54.5022
	MAT 3 + A 0 HRS	18.79038	7.87644	.463	-8.0089	45.5897
MAT 1 + A	MAT 1	-9.92625	7.87644	.988	-36.7256	16.8731
	MAT 2	-2.08850	7.87644	1.000	-28.8878	24.7108
	MAT 3	13.48725	7.87644	.884	-13.3121	40.2866
	MAT 2 + A	17.22712	7.87644	.603	-9.5722	44.0264
	MAT 3 + A	22.45887	7.87644	.198	-4.3404	49.2582
	Control	28.00887*	7.87644	.032	1.2096	54.8082
	MAT 1 0 HRS	22.26763	7.87644	.208	-4.5317	49.0669
	MAT 2 0 HRS	26.02012	7.87644	.066	-.7792	52.8194
	MAT 3 0 HRS	37.15262*	7.87644	.001	10.3533	63.9519
	MAT 1 + A 0 HRS	30.23013*	7.87644	.013	3.4308	57.0294
	MAT 2 + A 0 HRS	41.19012*	7.87644	.000	14.3908	67.9894
	MAT 3 + A 0 HRS	32.27763*	7.87644	.006	5.4783	59.0769
MAT 2 + A	MAT 1	-27.15337*	7.87644	.044	-53.9527	-.3541
	MAT 2	-19.31562	7.87644	.418	-46.1149	7.4837

	MAT 3	-3.73987	7.87644	1.000	-30.5392	23.0594
	MAT 1 + A	-17.22712	7.87644	.603	-44.0264	9.5722
	MAT 3 + A	5.23175	7.87644	1.000	-21.5676	32.0311
	Control	10.78175	7.87644	.976	-16.0176	37.5811
	MAT 1 0 HRS	5.04050	7.87644	1.000	-21.7588	31.8398
	MAT 2 0 HRS	8.79300	7.87644	.996	-18.0063	35.5923
	MAT 3 0 HRS	19.92550	7.87644	.368	-6.8738	46.7248
	MAT 1 + A 0 HRS	13.00300	7.87644	.908	-13.7963	39.8023
	MAT 2 + A 0 HRS	23.96300	7.87644	.128	-2.8363	50.7623
	MAT 3 + A 0 HRS	15.05050	7.87644	.785	-11.7488	41.8498
MAT 3 + A	MAT 1	-32.38512*	7.87644	.005	-59.1844	-5.5858
	MAT 2	-24.54737	7.87644	.107	-51.3467	2.2519
	MAT 3	-8.97162	7.87644	.995	-35.7709	17.8277
	MAT 1 + A	-22.45887	7.87644	.198	-49.2582	4.3404
	MAT 2 + A	-5.23175	7.87644	1.000	-32.0311	21.5676
	Control	5.55000	7.87644	1.000	-21.2493	32.3493
	MAT 1 0 HRS	-.19125	7.87644	1.000	-26.9906	26.6081
	MAT 2 0 HRS	3.56125	7.87644	1.000	-23.2381	30.3606
	MAT 3 0 HRS	14.69375	7.87644	.810	-12.1056	41.4931
	MAT 1 + A 0 HRS	7.77125	7.87644	.999	-19.0281	34.5706
	MAT 2 + A 0 HRS	18.73125	7.87644	.469	-8.0681	45.5306
	MAT 3 + A 0 HRS	9.81875	7.87644	.989	-16.9806	36.6181

Control	MAT 1	-37.93513*	7.87644	.000	-64.7344	-11.1358
	MAT 2	-30.09738*	7.87644	.014	-56.8967	-3.2981
	MAT 3	-14.52163	7.87644	.822	-41.3209	12.2777
	MAT 1 + A	-28.00887*	7.87644	.032	-54.8082	-1.2096
	MAT 2 + A	-10.78175	7.87644	.976	-37.5811	16.0176
	MAT 3 + A	-5.55000	7.87644	1.000	-32.3493	21.2493
	MAT 1 0 HRS	-5.74125	7.87644	1.000	-32.5406	21.0581
	MAT 2 0 HRS	-1.98875	7.87644	1.000	-28.7881	24.8106
	MAT 3 0 HRS	9.14375	7.87644	.994	-17.6556	35.9431
	MAT 1 + A 0 HRS	2.22125	7.87644	1.000	-24.5781	29.0206
	MAT 2 + A 0 HRS	13.18125	7.87644	.900	-13.6181	39.9806
	MAT 3 + A 0 HRS	4.26875	7.87644	1.000	-22.5306	31.0681
	MAT 1 0 HRS	MAT 1	-32.19388*	7.87644	.006	-58.9932
MAT 2		-24.35613	7.87644	.113	-51.1554	2.4432
MAT 3		-8.78038	7.87644	.996	-35.5797	18.0189
MAT 1 + A		-22.26763	7.87644	.208	-49.0669	4.5317
MAT 2 + A		-5.04050	7.87644	1.000	-31.8398	21.7588
MAT 3 + A		.19125	7.87644	1.000	-26.6081	26.9906
Control		5.74125	7.87644	1.000	-21.0581	32.5406
MAT 2 0 HRS		3.75250	7.87644	1.000	-23.0468	30.5518
MAT 3 0 HRS		14.88500	7.87644	.797	-11.9143	41.6843
MAT 1 + A 0 HRS		7.96250	7.87644	.998	-18.8368	34.7618

	MAT 2 + A 0 HRS	18.92250	7.87644	.452	-7.8768	45.7218
	MAT 3 + A 0 HRS	10.01000	7.87644	.987	-16.7893	36.8093
MAT 2 0 HRS	MAT 1	-35.94637*	7.87644	.001	-62.7457	-9.1471
	MAT 2	-28.10862*	7.87644	.031	-54.9079	-1.3093
	MAT 3	-12.53287	7.87644	.928	-39.3322	14.2664
	MAT 1 + A	-26.02012	7.87644	.066	-52.8194	.7792
	MAT 2 + A	-8.79300	7.87644	.996	-35.5923	18.0063
	MAT 3 + A	-3.56125	7.87644	1.000	-30.3606	23.2381
	Control	1.98875	7.87644	1.000	-24.8106	28.7881
	MAT 1 0 HRS	-3.75250	7.87644	1.000	-30.5518	23.0468
	MAT 3 0 HRS	11.13250	7.87644	.970	-15.6668	37.9318
	MAT 1 + A 0 HRS	4.21000	7.87644	1.000	-22.5893	31.0093
	MAT 2 + A 0 HRS	15.17000	7.87644	.776	-11.6293	41.9693
	MAT 3 + A 0 HRS	6.25750	7.87644	1.000	-20.5418	33.0568
MAT 3 0 HRS	MAT 1	-47.07888*	7.87644	.000	-73.8782	-20.2796
	MAT 2	-39.24113*	7.87644	.000	-66.0404	-12.4418
	MAT 3	-23.66537	7.87644	.140	-50.4647	3.1339
	MAT 1 + A	-37.15262*	7.87644	.001	-63.9519	-10.3533
	MAT 2 + A	-19.92550	7.87644	.368	-46.7248	6.8738
	MAT 3 + A	-14.69375	7.87644	.810	-41.4931	12.1056
	Control	-9.14375	7.87644	.994	-35.9431	17.6556
	MAT 1 0 HRS	-14.88500	7.87644	.797	-41.6843	11.9143

	MAT 2 0 HRS	-11.13250	7.87644	.970	-37.9318	15.6668
	MAT 1 + A 0 HRS	-6.92250	7.87644	1.000	-33.7218	19.8768
	MAT 2 + A 0 HRS	4.03750	7.87644	1.000	-22.7618	30.8368
	MAT 3 + A 0 HRS	-4.87500	7.87644	1.000	-31.6743	21.9243
MAT 1 + A 0 HRS	MAT 1	-40.15638*	7.87644	.000	-66.9557	-13.3571
	MAT 2	-32.31863*	7.87644	.006	-59.1179	-5.5193
	MAT 3	-16.74288	7.87644	.646	-43.5422	10.0564
	MAT 1 + A	-30.23013*	7.87644	.013	-57.0294	-3.4308
	MAT 2 + A	-13.00300	7.87644	.908	-39.8023	13.7963
	MAT 3 + A	-7.77125	7.87644	.999	-34.5706	19.0281
	Control	-2.22125	7.87644	1.000	-29.0206	24.5781
	MAT 1 0 HRS	-7.96250	7.87644	.998	-34.7618	18.8368
	MAT 2 0 HRS	-4.21000	7.87644	1.000	-31.0093	22.5893
	MAT 3 0 HRS	6.92250	7.87644	1.000	-19.8768	33.7218
	MAT 2 + A 0 HRS	10.96000	7.87644	.973	-15.8393	37.7593
	MAT 3 + A 0 HRS	2.04750	7.87644	1.000	-24.7518	28.8468
MAT 2 + A 0 HRS	MAT 1	-51.11638*	7.87644	.000	-77.9157	-24.3171
	MAT 2	-43.27863*	7.87644	.000	-70.0779	-16.4793
	MAT 3	-27.70288*	7.87644	.036	-54.5022	-.9036
	MAT 1 + A	-41.19012*	7.87644	.000	-67.9894	-14.3908
	MAT 2 + A	-23.96300	7.87644	.128	-50.7623	2.8363
	MAT 3 + A	-18.73125	7.87644	.469	-45.5306	8.0681

	Control	-13.18125	7.87644	.900	-39.9806	13.6181
	MAT 1 0 HRS	-18.92250	7.87644	.452	-45.7218	7.8768
	MAT 2 0 HRS	-15.17000	7.87644	.776	-41.9693	11.6293
	MAT 3 0 HRS	-4.03750	7.87644	1.000	-30.8368	22.7618
	MAT 1 + A 0 HRS	-10.96000	7.87644	.973	-37.7593	15.8393
	MAT 3 + A 0 HRS	-8.91250	7.87644	.995	-35.7118	17.8868
MAT 3 + A 0 HRS	MAT 1	-42.20388*	7.87644	.000	-69.0032	-15.4046
	MAT 2	-34.36613*	7.87644	.002	-61.1654	-7.5668
	MAT 3	-18.79038	7.87644	.463	-45.5897	8.0089
	MAT 1 + A	-32.27763*	7.87644	.006	-59.0769	-5.4783
	MAT 2 + A	-15.05050	7.87644	.785	-41.8498	11.7488
	MAT 3 + A	-9.81875	7.87644	.989	-36.6181	16.9806
	Control	-4.26875	7.87644	1.000	-31.0681	22.5306
	MAT 1 0 HRS	-10.01000	7.87644	.987	-36.8093	16.7893
	MAT 2 0 HRS	-6.25750	7.87644	1.000	-33.0568	20.5418
	MAT 3 0 HRS	4.87500	7.87644	1.000	-21.9243	31.6743
MAT 1 + A 0 HRS	-2.04750	7.87644	1.000	-28.8468	24.7518	
MAT 2 + A 0 HRS	8.91250	7.87644	.995	-17.8868	35.7118	

RESULTADOS

El % de viabilidad celular aumentó significativamente en el Mat 1 a las 24 hrs ($p < 0.05$)

El % de viabilidad celular aumentó significativamente en el Mat 2 a las 24 hrs ($p < 0.05$)

No hay diferencia significativa ($p > 0.05$) en el % de viabilidad celular a las 24 hrs del Mat 3.

El % de viabilidad celular aumentó significativamente en el Mat 1 + A a las 24 hrs ($p < 0.05$)

No hay diferencia significativa ($p > 0.05$) en el % de viabilidad celular a las 24 hrs del Mat 2+A.

No hay diferencia significativa ($p > 0.05$) en el % de viabilidad celular a las 24 hrs del Mat 3+A.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO MUESTRAS EMPAREJADAS

Debido a que queremos saber si hay diferencias en el material antes y después del tratamiento (adición del ácido paquímico), se realiza una prueba *t de student para muestras emparejadas* para comparar las absorbancias sin tratamiento inmediatas con las absorbancias tratadas a las 24 horas.

TABLA DE DIFERENCIAS EMPAREJADAS

Par		Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio	95% de intervalo de confianza de la diferencia		T	gL	Sig. (bilateral)
					Inferior	Superior			
Par 1	MAT1SINACOH RS - MAT1CONACIDO	- 22.267 63	9.87186	3.49023	- 30.5207 1	- 14.0145 4	- 6.38 0	7	.000
Par 2	MAT2SINACOH RS - MAT2CONACIDO	- 8.7930 0	21.32315	7.53887	- 26.6196 0	9.03360	- 1.16 6	7	.282
Par 3	MAT3SINACOH RS - MAT3CONACIDO	- 14.693 75	11.37187	4.02056	- 24.2008 7	- 5.18663	- 3.65 5	7	.008

RESULTADOS

- El material 3 + ácido es más tóxico que el material 1 ($p < 0.05$)
- El material 2 + ácido es más tóxico que el material 1 ($p < 0.05$)
- El material 3 es más tóxico que el material 1 ($p < 0.05$)
- El material 2 es más tóxico que el material 1 ($p < 0.05$)

- El material 1 + ácido no disminuye el % de células viables ($p > 0.05$)
- El material 2 + ácido no disminuye el % de células viables ($p > 0.05$)
- El material 3 + ácido no disminuye el % de células viables ($p > 0.05$)

- La adición de ácido al material 1 no disminuye el % de células viables ($p > 0.05$)
- La adición de ácido al material 2 no disminuye el % de células viables ($p > 0.05$)
- La adición de ácido al material 3 no disminuye el % de células viables ($p > 0.05$)

La adición de ácido paquímico aumentó significativamente ($p < 0.05$) el porcentaje de viabilidad celular en AH PLUS (Material 1) a las 24 horas.

La adición de ácido paquímico no aumentó significativamente ($p > 0.05$) el porcentaje de viabilidad celular en el MTA FILLAPEX (Material 2) a las 24 horas.

La adición de ácido paquímico aumentó significativamente ($p < 0.05$) el porcentaje de viabilidad celular en el TUBLISEAL (Material 3) a las 24 horas.

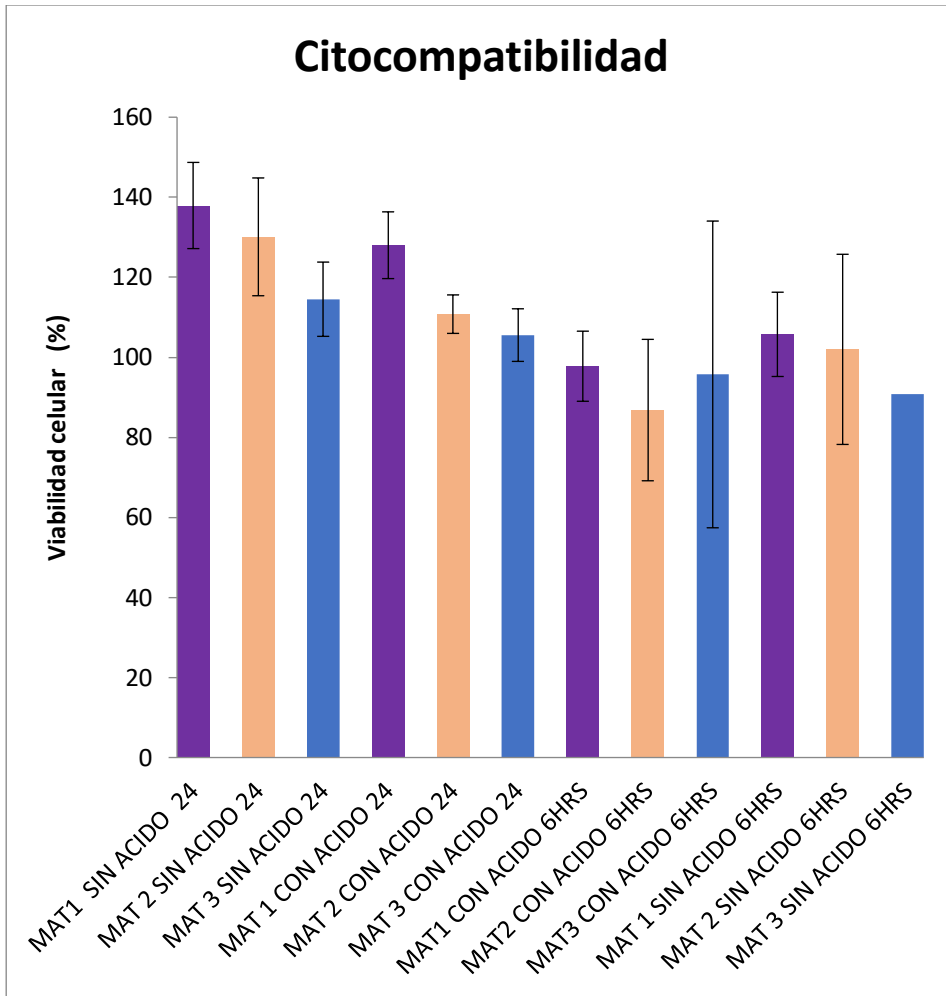


Fig 2. Evolución de materiales a las 6 y 24 horas donde se observa diferencia significativa en la viabilidad celular de los materiales 1 y 3 a las 24 horas.

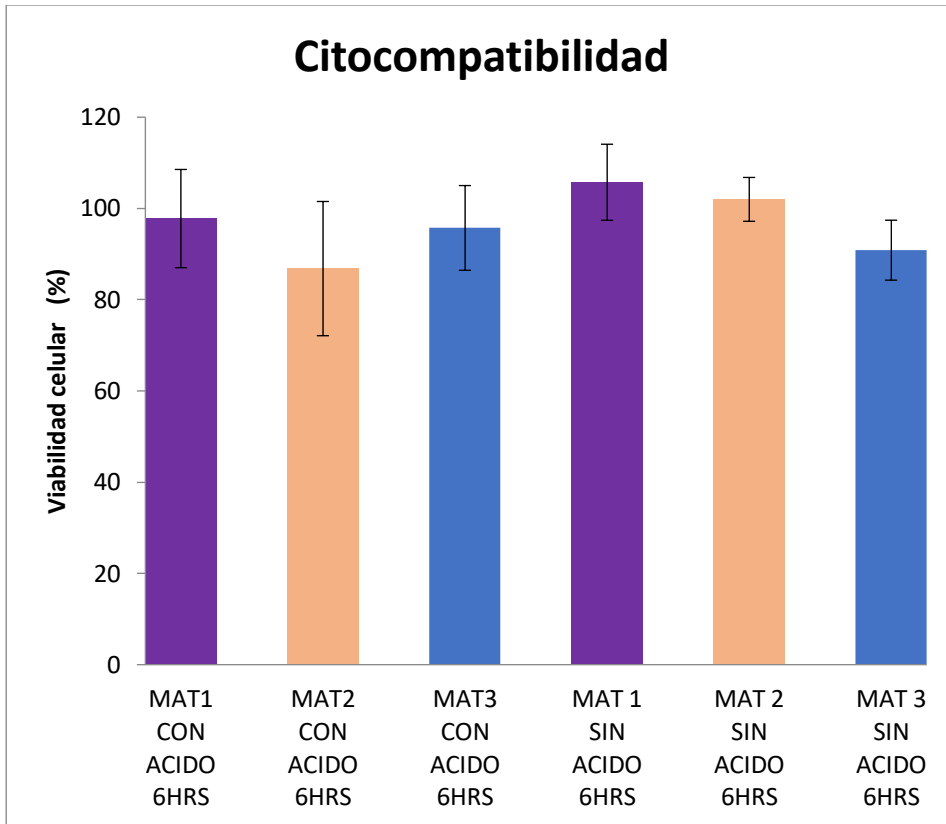


Fig 3. Comparación de agregado de ácido paquímico a las 6 horas.

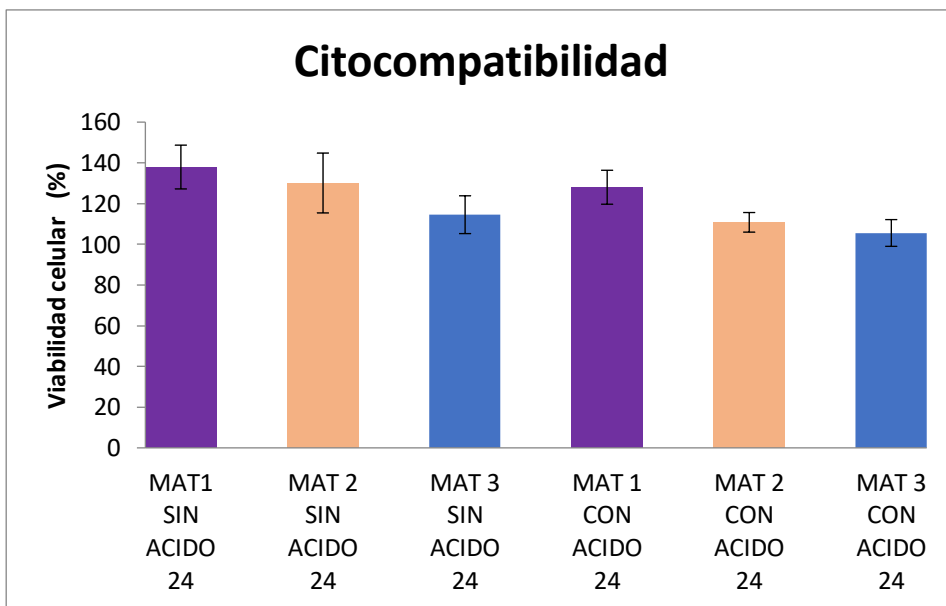


Fig 4. Comparación de agregado de ácido paquímico a las 24 horas.

DISCUSIÓN

En este estudio. Tubliseal, a base de óxido de zinc, exhibió una citotoxicidad mayor que AH Plus y MTA Fillapex. Esta citotoxicidad se atribuye al eugenol libre que se presenta en la mezcla fresca, así mismo el que se libera durante la hidrólisis de la mezcla. Esta interfiere con la membrana citoplasmática, inhibiendo la respiración celular. (11)

Cuando el cemento fraguado entra en contacto con los tejidos periapicales, ocurre una disolución invariable del material, más aún con los materiales que fraguan con una reacción ácida, tales como Tubliseal. La liberación de ácido metil salicílico, alcohol bencílico, iones de zinc y colofonia del sellador ZOE también podría contribuir a su naturaleza citotóxica.

En este estudio se encontró que la citotoxicidad de AH Plus, un cemento a base de resina epóxica fue significativamente menor que la de Tubliseal, estos resultados concuerdan con los de Azar y cols, quienes demostraron que la citotoxicidad de AH Plus ya no es detectable después de 4 horas del mezclado, mientras que la citotoxicidad de Tubliseal asociada con ZOE permanece aún después de 5 semanas.

Este estudio revela que otros componentes aparte del silicato de calcio pueden afectar directamente la citotoxicidad inducida por cementos selladores, De hecho, los niveles de citotoxicidad del MTA Fillapex pudiera ser resultado de las resinas que este contiene o de algún otro de sus componentes. En este aspecto, otros estudios han revelado que MTA Fillapex reduce los rangos de supervivencia celular. (11) (12)

Al comparar los subgrupos con y sin AP, la adición de ácido paquímico disminuyó la severidad de la citotoxicidad inducida por los cementos selladores. Así como la investigación de Kim con células osteoblásticas de ratón MS-3T3 E1 la cual demostró que el ácido paquímico ayudó significativamente a las células tratadas a recuperarse de la citotoxicidad inducida por AH Plus. (11)

El efecto del ácido paquímico fue comparado con medio DMEM como control y con dimetilsulfóxido (DMSO) para la inducción de apoptosis. La citotoxicidad inducida por los cementos selladores resulta en formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) de estrés en los tejidos periapicales. Este estrés oxidativo activa una reacción inflamatoria en los tejidos, lo que conlleva a una reabsorción ósea. Aunque esta citotoxicidad desencadena una cascada de reacciones inflamatorias en los tejidos, también se observó que el ácido paquímico actúa principalmente en la formación de ROS, eliminándola por vía nuclear factor kappa B. Esto lleva a una disminución de la citotoxicidad inducida por los cementos selladores. (11) (12)

También ha sido probado en el estudio de Kim y cols que los disturbios óseos inducida por inflamación a AH Plus. Al lograr una regulación descendente, el ácido paquímico reduce la expresión de citoquinas pro-inflamatorias, tales como el óxido nítrico, factor

alfa de necrosis tumoral, Interleucina 1 β y moléculas inflamatorias, tales como el receptor activador de factor nuclear kappa-B ligando, la ciclooxigenasa -2 (COX-2) matriz metaloproteinasa-2 y matriz metaloproteinasa-9. (11)

CONCLUSIONES

A pesar de la presunción común que la citotoxicidad disminuye con el tiempo, los estudios actuales demuestran que aún después de 72 hrs esta sigue presente. Similar a algunos de los estudios pasados, nuestros resultados demuestran que todos los materiales eran más biocompatibles a las 24 horas que a las 6 horas.

Dentro de las limitaciones de este estudio in vitro, podemos concluir que la adición de ácido paquímico reduce el grado de citotoxicidad de los cementos AH Plus y Tubliseal, a excepción de MTA Fillapex. AH Plus fue el menos citotóxico y Tubliseal el más citotóxico.

Las diferencias encontradas entre los cementos AH Plus y Tubliseal alcanzaron niveles significativos, no así el caso de MTA Fillapex. Se recomiendan más estudios in vitro con diferentes concentraciones de ácido paquímico para conocer de una manera más amplia su comportamiento como antioxidante terapéutico en líneas celulares. Asimismo, con nuestros resultados se puede lograr promover la investigación del ácido paquímico como una alternativa prometedora para la disminución de la citotoxicidad inducida por la extrusión de cementos selladores.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Canalda Sahli C, Brau Aguadé E. Endodoncia: técnicas clínicas y bases científicas: Barcelona, España: Masson; 2014.
2. Soares IJ, Goldberg F, González M. Endodoncia: técnica y fundamentos: Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana; 2012.
3. Song Z, Bi K, Luo X, Chan K. The isolation, identification and determination of dehydrotumulosic acid in *Poria cocos* Analytical Sci, 18 (2002), pp. 529-531
4. Leung AY, Foster S. Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics. 2nd ed New Jersey: John Wiley & Sons, Inc, 2003
5. Plotnikoff GA. *Poria cocos* (Schwein.) F.A. Wolf in Japanese Traditional Herbal Medicines: insights from Kampo case studies and implications for contemporary research Int J Med Mush, 7 (2005), pp. 447-448
6. Park WH, Kim SH, Chang YC, Lee YC, Kim CH. The antiplatelet activity of Danggiljakyaksan by inhibition of phospholipase C Immunopharmacol Immunotoxicol, 25 (2003), pp. 561-571 <http://dx.doi.org/10.1081/IPH-120026441> Medline
7. Ding Q, Zhang L, Cheung PCK. Isolation and structural analysis of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia Acta Polymer Sin, 2 (2000), pp. 224-227
8. Zhang M, Cui SW, Cheung PC, Wang Q. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity Trends Food Service Technol, 18 (2007), pp. 4-19
9. Huang Q, Jin Y, Zhang L, Cheung PC, Kennedy JF. Structure, molecular size and antitumor activities of polysaccharides from *Poria cocos* mycelia produced in fermenter Carbohydr Polym, 70 (2007), pp. 324-333
10. Chen YY, Chang HM. Antiproliferative and differentiating effects of polysaccharide fraction from fu-ling (*Poria cocos*) on human leukemic U937 and HL-60 cells Food Chem Toxicol, 42 (2004), pp. 759-769 <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2004.01.018> Medline
11. Kim TG, Lee YH, Bhattari G, et al. PPAR α Inhibits inflammation and RANKL expression in epoxy resin-based sealer induced MC-3T3 E1 cells. Arch Oral Biol 2013;58:28-34.
12. Arun S, Sampath V, Mahalaxmi S, Rajkumar k, A Comparative Evaluation of the Effect of the Addition of Pachymic Acid on the Cytotoxicity of 4 Different Root Canal Sealers—An In Vitro Study. joen.2016.09.004
13. Yamaguchi S, Matsubara M, Kobayashi S. Event-related brain potential changes after Choto-san administration in stroke patients with mild cognitive impairments. Psychopharmacol. 2004;171:241-249.
14. Zhang M, Cui SW, Cheung PCK, Wang Q. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity. Trends Food Service Technol. 2007;18:4-19.
15. Zhou L., Zhang Y, Gapter LA, Ling H, Agarwal R, Ng KY. Cytotoxic and anti-oxidant activities of lanostane-type triterpenes isolated from *Poria cocos*. Chem Pharm Bull. 2008;56:1459-1462.

16. Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Mordujovich de Buschiazzo P, Ríos JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci.* 2002;70:1023-1033.
17. Wang XJ, Feng P. Antioxidant activity of Qizhu Tang. *Acta Pharm Sin.* 2000;21:1141-1144.
18. Wang Y, Zhang M, Ruan D, Shashkov A, Kilcoyne M, Savage A, Zhang L. Chemical components and molecular mass of six polysaccharides isolated from the sclerotium of *Poria cocos*. *Carbohydr Res.* 2004;339:327-334.
19. Wang Y, Zhang L, Li Y, Hou X, Zeng F. Correlation of structure to antitumor activities of five derivatives of a β -glucan from *Poria cocos* sclerotium. *Carbohydr Res.* 2004;339:2567-2574.
20. Weber G. The occurrence of Tuckahoes and *Poria cocos* in Florida. *Mycologia.* 1929;21:113-130.
21. Wolf FA. The fruiting stage of the tuckahoe, *Pachyma cocos*. *J Elisha Mitchell Sci Soc.* 1922;38:127-137.
22. Wolf FA. Tuckahoe on maize. *J Elisha Mitchell Sci Soc.* 1926;41:288-290.
23. Xu XY, Yi ZH, Zheng YM, Fu SQ. Study on quality standard of *Poria cocos*. *Zhong Yao Cai.* 2008;31:597-599.
24. Yamada H, Saiki I. Juzen-taiho-to (Shi-Quan-Da-Bu-Tang): Scientific evaluation and clinical applications. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis; 2005.
25. Yamaguchi S, Matsubara M, Kobayashi S. Event-related brain potential changes after Choto-san administration in stroke patients with mild cognitive impairments. *Psychopharmacol.* 2004;171:241-249.
26. Yasukawa K, Kaminaga T, Kitanaka S, Tai T, Nunoura Y, Natori S, Takido M. 3,4-dihydroxybenzoyldehydroxymucic acid from *Poria cocos*, and its anti-inflammatory effect. *Phytochemistry.* 1998;48:1357-1360.
27. Ying J, Mao X, Ma Q, Zong Y, Wen H. *Icones of medicinal fungi from China.* Beijing: Science Press; 1987.
28. Park WH, Joo ST, Park KK, Chang YC, Kim CH. Effects of the Geiji-Bokryung-Hwan on carrageenan-induced inflammation in mice and cyclooxygenase-2 in hepatoma cells of HepG2 and Hep3B. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2004;26:103-112.
29. Park WH, Lee SK, Oh HK, Bae JY, Kim CH. Tumor initiation inhibition through inhibition COX-1 activity of a traditional Korean Herbal Prescription, Geiji-Bokryung-Hwan, in human hepatocarcinoma cells. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2005;27:473-483.
30. Plotnikoff GA. *Poria cocos* (Schwein.) F.A. Wolf in Japanese Traditional Herbal Medicines: insights from Kampo case studies and implications for contemporary research. *Int J Med Mush.* 2005;7:447-448.
31. Prieto JM, Recio MC, Giner RM, Mániz S, Giner-Larza EM, Ríos JL. Influence of traditional Chinese anti-inflammatory medicinal plants on leukocyte and platelet functions. *J Pharm Pharmacol.* 2003;55:1275-1282.

32. Ryvar den L, Gilbertson RL. Type studies in the Polyporaceae 15, species described by L.O. Overholts, either alone or with J.L. Lowe. *Mycotaxon*. 1984;19:137-144.
33. Sakamoto S, Yoshino H, Shirahata Y, Shimodairo K, Okamoto R. Pharmacotherapeutic effects of kwei-chih-fu-ling-wan (keishi-bukuryo-gan) on human uterine myomas. *Amer J Chin Med*. 1992;20:313-317.
34. Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Mordujovich de Buschiazso P, Ríos JL. Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. *Life Sci*. 2002;70:1023-1033.
35. Shen AY, Wang TS, Huang MH, Liao CH, Chen SJ, Lin CC. Antioxidant and antiplatelet effects of Dang-Gui-Shao-Yao-San on human blood cells. *Amer J Chin Med*. 2005;33:747-758.
36. Smith J, Rowan N, Sullivan R. Medicinal mushrooms: their therapeutic properties and current medical usage with special emphasis on cancer treatments. University of Strathclyde, 2002:1-256. Disponible en: http://www.icnet.uk/labs/med_mush/med_mush.html
37. Song Z, Bi K, Luo X, Chan K. The isolation, identification and determination of dehydrotumulosic acid in *Poria cocos*. *Analytical Sci*. 2002;18:529-531.
38. Tai T, Akahori A, Shingu T. Triterpenoids from *Poria cocos*. *Phytochemistry*. 1991;30:2796-2797.
39. Tai T, Akahori A, Shingu T. A lanostane triterpenoid from *Poria cocos*. *Phytochemistry*. 1992;31:2548-2549.
40. Tai T, Akahori A, Shingu T. Triterpenes of *Poria cocos*. *Phytochemistry*. 1993;32:1239-1244.
41. Tai T, Shingu T, Kikuchi T, Tezuka Y, Akahori A. Triterpenes from the surface layer of *Poria cocos*. *Phytochemistry*. 1995;39:1165-1169.

