

## RESPUESTA INFLAMATORIA A CUATRO CEMENTOS ENDODONTICOS DIFERENTES INOCULADOS EN EL TEJIDO SUBCUTANEO DE RATAS – TACNA 2011

### INFLAMMATORY RESPONSE TO FOUR DIFFERENT ENDODONTIC INOCULATED CEMENT IN THE SUBCUTANEOUS TISSUE OF RATS. TACNA 2011

Carlos Valdivia Silva<sup>(1)</sup>, Juana Rubin de Celis Vicente<sup>(2)</sup>

(1) Cirujano Dentista. Docente Escuela Odontología / UNJBG.

(2) Cirujano Dentista. Odontólogo Serums Puerto Maldonado.

#### RESUMEN

**Objetivo:** observar el grado de reacción inflamatoria que se produce en el tejido conectivo subcutáneo de ratas, Cuando se pone en contacto con cuatro diferentes cementos para endodoncia, Endofill, Endomethasone, Sealer 26 y Apexit. **Material y Metodo:** Fueron establecidos cuatro grupos experimentales y un grupo control de cinco animales cada uno, en los periodos de 7, 21 y 60 días. Los cortes histológicos obtenidos fueron coloreados con Hematoxilina & Eosina y con tricrómico de Masson, para posteriormente evaluar la reacción inflamatoria adyacente y la formación de tejido fibroso. Los datos obtenidos fueron sometidos al test estadístico de Kruskall-Wallis y Miller con 5% de nivel de significancia. El análisis microscópico mostró reacción inflamatoria más intensa en los periodos de 7 y 21 días. A los 60 días hubo formación de una cápsula fibrosa densa para el cemento Endomethasone y parcialmente densa para los demás cementos. **Resultados:** El análisis estadístico mostró diferencia estadísticamente significativa con mayor intensidad de reacción inflamatoria solamente para el grupo II (Endofill) en el periodo de 60 días en relación a los grupos I (control) y grupo III (Endomethasone). **Conclusión:** En el periodo inicial todos los materiales presentaron reacción inflamatoria de moderada a intensa destacándose la mayor intensidad en el caso del Apexit, en el periodo intermedio mostraron una reacción discreta, obteniéndose en el periodo final mejores resultados con el Endomethasone. **Palabras clave:** Respuesta inflamatoria, cementos endodonticos, tejido subcutaneo.

#### ABSTRACT

**Objective:** Observe the degree of inflammatory reaction that occurs in the subcutaneous connective rats, when it gets in contact with four different cements for Endodontics, Endofill, Endomethasone, 26 Sealer and Apexit. **Material and method:** Four experimental groups and a control group of five animals were established each, in periods of 7, 21 and 60 days. The histological sections obtained were colored with Hematoxylin & eosin and Masson, trichrome to later assess the adjacent inflammatory reaction and the formation of fibrous tissue. The data were subjected to statistical test Kruskal-Wallis and Miller with 5% significance level. **Results:** Microscopic analysis showed inflammatory reaction more intense periods of 7 and not received. 60 Days there was formation of a fibrous capsule dense for cement Endomethasone and partially dense to other cements. The statistical analysis showed statistically significant difference with greater intensity of inflammatory reaction only for Group II (Endofill) in the period of 60 days in relation to the groups I (control) and group III (Endomethasone).

#### INTRODUCCIÓN

Los objetivos de un tratamiento endodóntico exitoso son la limpieza y conformación adecuadas del conducto radicular y la obturación total del espacio preparado con un material inerte, dimensionalmente estable y biológicamente compatible.

Una gran variedad de materiales para rellenar el sistema de conductos han sido utilizados a través de los años. Actualmente, los métodos empleados con mayor frecuencia en la obturación de los conductos radiculares se basan en el uso de conos semisólidos de gutapercha como material base. Sin embargo, este material no sella el conducto por sí solo; por ello, un cemento sellador es necesario para cubrir la dentina y para rellenar las irregularidades y discrepancias entre el material de obturación y las paredes del conducto logrando así el sellado.

El cemento sellador debe poseer ciertas características que son determinantes para asegurar el éxito del tratamiento endodóntico. Debido a que el sellador estará en contacto directo con los tejidos periapicales por un tiempo prolongado, su biocompatibilidad es de gran importancia. La intensidad de la respuesta inflamatoria causada por un sellador puede retardar la cicatrización de los tejidos periapicales.

Actualmente, existen varios tipos de cementos endodónticos con diferentes composiciones disponibles en el mercado. Estudios realizados tanto in vitro como in vivo han aportado evidencias de que la mayoría de los materiales que los componen, tienen efectos inflamatorios sobre el tejido periapical.

El potencial inflamatorio es particularmente mayor antes del fraguado del material, mientras que una liberación lenta de componentes del sellador puede ocurrir durante largos periodos dependiendo de la solubilidad del material en los fluidos tisulares y el grado de exposición al organismo.

El Presente trabajo pretende establecer la intensidad de respuesta inflamatoria de cuatro de los cementos selladores más utilizados en Endodoncia actualmente.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio experimental laboratorial. Realizado en la UNJBG/Tacna – Bioterio de la Facultad de Ciencias. Se tomaron 21 ratas Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), con edades comprendidas entre los 3 y 4 meses y con un peso entre los 250 y 350 gramos, sanas. Se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNJBG y se alimentaron con concentrado para conejos y agua a voluntad. La población total de animales de experimentación fue de 21 ratas.

Para la inoculación de los cuatro tipos diferentes de cemento endodóntico se cortó un tubo de polietileno (teflón) a una longitud de 7 mm. Los cementos se prepararon de acuerdo con las instrucciones de la casa manufacturera; el cemento recién mezclado se llevó al tubo hasta el nivel del extremo abierto por medio de una jeringa de tuberculina, retirando la aguja a medida que se vaya inyectando para evitar vacíos dentro del tubo y contaminación de su parte externa con el material inyectado.

Las ratas fueron introducidas una por una en una campana en cuyo interior se colocó una torunda de algodón impregnada con éter dietílico hasta lograr el adormecimiento. Se afeitó el dorso en las zonas elegidas para la inoculación (Dos anteriores laterales y una posterior lateral). Cada rata recibió cinco implantes, uno con cada material y otro vacío como control.

Se sacrificaron 6 ratas a los 7 días, 7 a los 21 y las ocho restantes a los 60 días, mediante una sobredosis de éter en la campana de eutanasia. Con una hoja de bisturí N° 15 se realizó la disección de los implantes con 1 cm. De tejido alrededor aproximadamente, de tal manera que se incluya tejido subcutáneo y piel. Las muestras así obtenidas se fijaron en Formol al 10% hasta el momento de su procesamiento histológico. Las placas fueron observadas en un microscopio de luz a 40, 100 y 400 aumentos. Se registro la frecuencia y la localización de los tejidos (inflamado, necrótico y fibroso). La reacción tisular se clasificó en discreta, moderada e intensa.

Los datos obtenidos se sometieron al Test Estadístico Kruskal–Wallis y Miller con 5% de nivel de Significancia.

## RESULTADOS

**TABLA 1**  
*Intensidad de la reacción inflamatoria por periodos de estudio.*

MATERIAL	7 DIAS	21 DIAS	60 DIAS
CONTROL	1	1	0
ENDOFILL	2	1	1
ENDOMETHASONE	1	1	0
SEALER 26	2	1	1
APEXIT	3	1	1

*Marcadores: (0) no significativa, (1) Discreta, (2) moderada (3) intensa.*

Todos los cementos analizados se mostraron irritantes al tejido subcutáneo de ratas.

La reacción inflamatoria en el tejido subcutáneo fue más intensa en los periodos de 7 y 21 días. Hubo diferencia estadísticamente significativa, en la intensidad de la reacción inflamatoria, solamente en el grupo II (Endofill) en el periodo de 60 días en relación a los grupos I (control) y el grupo III (Endomethasone).

El cemento Endomethasone fue el menos irritante de todos los materiales evaluados.

## DISCUSIÓN

El uso de ratas en investigaciones biológicas se basa en su fácil manipulación, con ciclos de vida relativamente cortos, anatomía, fisiología y variaciones genéticas conocida (6,20). Este estudio mostró que todos los cementos endodónticos analizados mostraron algún efecto irritante sobre el tejido subcutáneo de ratas, lo que parece estar relacionado con la composición de cada material y del periodo experimental, siendo concordante con otras investigaciones similares en la literatura. (3, 4, 6, 12, 18, 20).

Se analizaron las reacciones a tres cementos endodónticos: Endofill, Endomethasone y Sealer 26, que fueron escogidos con base en estudios ya realizados, donde no fueron encontrados resultados definitivos (27). La pobre biocompatibilidad de los cementos a base de OZE es ampliamente conocida (3, 28, 29). Leonardo et al. 30, analizando la respuesta en tejidos provocada por el cemento FillCanal, de composición similar al Endofill, después de la obturación del conducto radicular en dientes de perros, observó que este material provoca una reacción inflamatoria de moderada a intensa después de un periodo de 90 días. En 1988, Leal et al. (3) utilizaron 15 ratones divididos en tres grupos experimentales, de acuerdo con los periodos de observación de 7, 21 y 60 días. El FillCanal fue el cemento más irritante en ese estudio, concordando con los resultados de este trabajo. Veloso et al. 6 afirmaron que la biocompatibilidad de estos cementos es perjudicada por la presencia de eugenol, con sus propiedades citotóxicas.

Otros estudios revelaron que el comportamiento biológico inadecuado de los cementos a base de óxido de zinc y eugenol está relacionado con la liberación tardía y prolongada de eugenol (7,31) y de iones de zinc (32) que pueden participar en el desarrollo de la inflamación periapical o ser responsables por la persistencia de una lesión periapical pre-existente (14). En este estudio, el Endofill promovió el mayor grado de irritación, de intensidad moderada a intensa. Estos resultados están de acuerdo con el estudio de Batista et al. (26) que también evaluaron la reacción en tejidos provocada por este cemento obturador en tejido subcutáneo de ratones. Por otro lado, Queiroz et al. (15), en estudio empleando cultivo de macrófagos peritoneales, encontraron mejores resultados de citotoxicidad para el Endofill comparado con el Sealer 26, en lo que se refiere a la inducción de producción de óxido nítrico.

Entre los cementos estudiados, el Endomethasone presentó el mejor comportamiento biológico en los períodos experimentales iniciales, concordando con otros estudios que también relatan la baja citotoxicidad de este material (23.) Ya el cemento Sealer 26 indujo una reacción inflamatoria moderada inicialmente que decreció después de 60 días. Este estudio mostró que la inflamación causada en el tejido subcutáneo de ratones por el Endomethasone disminuyó con el tiempo, lo que está de acuerdo con Kaplan et al. (7) y Zafalon et al. (19) probablemente por la neutralización del eugenol liberado inicialmente (33,34) y por la liberación local de corticoides, tales como, dexametasona e hidrocortisona (7,22). El paraformaldehído, que es uno de los componentes del Endomethasone, causa reacción alérgica y necrosis del tejido subcutáneo (7,35), sin embargo, esta reacción depende de la concentración de este producto liberado (36). Cabe destacar que la presencia de los paraformaldehídos en su composición torna este material contraindicado por muchos autores. Se verificó que en subcutáneo de ratones, a los 60 días el Endomethasone formó una densa cápsula fibrosa estructuralmente mejor que el Sealer26, (5).

El cemento Sealer 26 provocó una reacción inflamatoria moderada inicialmente que disminuyó en los períodos experimentales más largos, coincidiendo con Figueiredo et al. (28), quienes relataron que, en contacto con el tejido subcutáneo de ratones, el Sealer 26 indujo una reacción inflamatoria discreta en períodos experimentales más largos, 30 a 90 días. Batista et al. 26 también demostraron

que la reacción inflamatoria inicial (7 días) causada por el Sealer 26 decrece después de 30 días.

El Sealer 26 surgió a partir del cemento AH 26, en que fue substituida la plata de la fórmula inicial por la adición de hidróxido de calcio (28), en la tentativa de obtener mejores propiedades biológicas (12). Existen varios estudios que relatan la irritación a los tejidos (32), la citotoxicidad (23) y el potencial mutagénico (37) del AH 26. Esta irritación es más intensa en los períodos iniciales en razón de la presencia del amino, de la resina epóxica bisfenol (Tetramino hexametileno) (15) y del óxido de titanio (38) en su composición. De acuerdo con Figueiredo et al. (28), la adición del hidróxido de calcio contribuyó para la disminución de la intensidad de la reacción inflamatoria provocada por los cementos a base de resina epóxica.

Algunos cementos a base de hidróxido de calcio poseen capacidad de auxiliar en la reparación y estimular la deposición de tejido mineralizado, además de la preservación de los tejidos periapicales, provocando menor reacción inflamatoria cuando están en contacto (4,18). Muchos estudios vienen siendo realizados para la evaluación de estos cementos (6, 12, 1 8), analizando las reacciones en tejidos subcutáneos de ratones para el uso de estos materiales. Valera et al. (12) evaluaron la biocompatibilidad de tres cementos a base de hidróxido de calcio, entre ellos el Sealer 26 y un cemento a base de ionómero de vidrio (Ketac Endo); mostrando que todos los cementos presentaron, después de 90 días, una reducción de la reacción inflamatoria, formación de cápsula fibrosa en contacto con la abertura del tubo que contenía el material de relleno y reducción de la proliferación fibroblástica. La menor respuesta inflamatoria fue encontrada en el grupo del Sealer 26. En contraposición, Veloso et al. (6) evaluaron histológicamente el comportamiento de tejidos subcutáneos de 60 ratones después de los implantes de tubo de polietileno rellenos con Sealapex, Apexit y Sealer 26, concluyendo que el cemento Sealapex fue más biocompatible, coincidiendo con los hallados de Nassri et al. 18 que concluyeron que el Sealapex presentó menor agresividad, obteniendo mejores resultados en relación al Apexit. Comparando el Sealer 26 con el cemento Endofill, Queiroz et al. (15) en el 2005, hallaron que el Sealer 26 causó significativamente mayor toxicidad a los macrófagos, posiblemente debido a sus componentes como la resina epóxica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Araki, K.; Suda, H.; Spangberg, L.; (1994). Indirect longitudinal cytotoxicity of root canal sealers L929 cells and human periodontal ligament fibroblasts. *J. Endod.* 20:67-70.
2. Azar, N.; Heidari, M.; Bahrami, Z.; Shokri, F.; (2000). In vitro cytotoxicity of a new epoxy resin root canal sealer. *J. Endod.*, 26:462-5.
3. Bellizzi, R.; Cruse, W.; (1980). A historic review of Endodontics, 1689-1963, part 3. *J. Endod.* 6:576-85.
4. Beltes, P.; Koulaouzidou, F.; Kotoula, V.; Kortsaris, AH.; (1995). In Vitro evaluation of the cytotoxicity of calcium hydroxide-based root canal sealers. *Endod. Dent. Traumatol.* 11:245-9.
5. Beltes, P.; Koulaouzidou, E.; Kolokouris, I.; Kortsaris, AH.; (1997). In vitro evaluation of the cytotoxicity of two glass-ionomer root canal sealers. *J. Endod.* 23:572-4.
6. Bezerra, L.; Leonardo, M.; Faccioli, L.; Figueiredo, F.; (1997). Inflammatory response to calcium hydroxide based root canal sealers. *J. Endod.* 23:86-90.
7. Briseño, B.; Willershausen, B.; (1990). Root canal sealer cytotoxicity on human gingival fibroblasts. I. Zinc oxide-eugenol-based sealers. *J. Endod.* 16:383-6.
8. Briseño, B.; Willershausen, B.; (1991). Root canal sealer cytotoxicity on human gingival fibroblasts. II. Silicone and resin-based sealers. *J. Endod.* 17:537-40.
9. Briseño, B.; Willershausen, B.; (1992). Root canal sealer cytotoxicity on human gingival fibroblasts. III. calcium hydroxide-based sealers. *J. Endod.* 16:110-19.
10. Cohen, B.; Pagnillo, M.; Musikant, B. Deutsch, A.; (2000). An in vitro study of the cytotoxicity of two root canal sealers. *J. Endod.* 26:228-9.
11. Crane, D.; Heuer, M.; Kaminski, E.; Moser, J.; (1980). Biological and physical properties of an experimental root canal sealer without eugenol. *J. Endod.* 6:438-42.
12. Economides, N.; Kotsaki, V.; Pouloupoulos, A. Rozos, G.; Shore, R.; (1995). Experimental study of the biocompatibility of four root canal sealers and their influence on the zinc and calcium content of several tissues. *J. Endod.* 21:122-7.
13. Ersev, H.; Schmalz, G.; Bayirli, G.; Schweikl, H.; (1999). Cytotoxic and mutagenic potencies of various root canal filling materials in eukaryotic and prokaryotic cells in vitro. *J. Endod.* 25:359-63.
14. Erasquin, J.; Murizabal, M.; (1968). Tissue reaction to root canal cements in the rat molar. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 26:360-73.
15. Feiglin, B.; (1987). Effect of some endodontic sealers on cell migration in experimental granulomas. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 63:371-4.
16. Gerosa, R.; Manegazzi, G.; Borin, M.; Cavalleri, G.; (1995). Cytotoxicity evaluation of six root canal sealers. *J. Endod.* 21:446-8.
17. Geurtsen, W.; Leinenbach, F.; Krage, T.; Leyhausen, G.; (1998). Cytotoxicity of four root canal sealers in permanent 3T3 cells and primary human periodontal ligament fibroblast cultures. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 85:592-7.
18. Grossman, L.; (1958). An improved root canal cement. *J. Am. Dent. Assoc.* 56:381-5.
19. Hashieh, I.; Pommel, L.; Camps, J.; (1999). Concentration of eugenol apically released from zinc oxide-eugenol based sealers. *J. Endod.* 25:713-19.
20. Holland, R.; de Souza, V.; Nery M.; Otoboni, J.; Estrada B.; Dezan, E.; (1999). Reaction of dogs teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. *J. Endod.* 25:728-30.
21. Huang, T.; Lili, Ch.; Chou, M.; Kao, C.; (2000). Lactate dehydrogenase leakage of hepatocytes with AH26® and AH Plus® sealer treatments. *J. Endod.* 26:509-511.
22. Ingle, J.; West, J.; (1996). Obturación del espacio radicular. En *Endodoncia (Ingle y Backland Editores) 4ta. Edición.* Edit. McGraw-Hill. México. Capítulo 4, pp: 239-323.
23. Kettering, J.; Torabinejad, M.; (1984). Cytotoxicity of root canal sealers: a study using HeLa cells and fibroblasts. *Int. Endod. J.* 17:60-6.
24. Kolokouris, I.; Beltes, P.; Economides, N.; Viemmas, I.; (1996). Experimental study of the biocompatibility of a new glass-ionomer root canal sealer (Ketac-Endo®). *J. Endod.* 22:395-8.
25. Kolokouris, I.; Economides, N.; Beltes, P.; Viemmas, I.; (1998). In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. *J. Endod.* 24:82-5.
26. Koulaouzidou, E.; Papazisis, K.; Beltes, P.; Geromichalos, G.; (1998). Cytotoxicity of three resin-based root canal sealers: an in vitro evaluation. *Endod. Dent. Traumatol.* 14:182-185.
27. Lee, C.; Harandi, L.; Cobb, C.; (1997). Evaluation of glass ionomer as an endodontic sealant: an in vitro study. *J. Endod.* 23:209-11.
28. Leonardo, M.; Silva, L.; Utrilla, L.; Assed, S.; Ether, S.; (1997). Calcium hydroxide root canal sealers--histopathologic evaluation of apical and periapical repair after endodontic treatment. *J. Endod.* 23:428-32.
29. Leonardo, M.; Almeida, W.; Silva, L.; Utrilla, L.; (1998). Histological evaluation of the response of apical tissues to glass ionomer and zinc oxide-eugenol based sealers in dog teeth after root canal treatment. *Endod. Dent. Traumatol.* 14:257-61.
30. Leonardo, M.; Silva, L.; Almeida, W.; (1999). Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. *Endod. Dent. Traumatol.* 15:28-32.
31. Leonardo, M.; Bezerra, L.; Tanomaru, M.; Santana, R.; (1999). Release of formaldehyde by 4 endodontic sealers. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 88:221-5.

## CORRESPONDENCIA

carlovaldivia@hotmail.com

Recibido: 19/07/2013

Aceptado: 29/08/2013