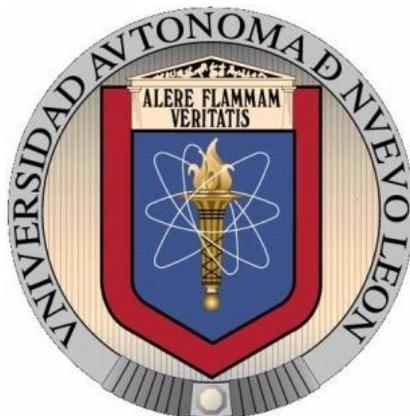


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**BIOCOMPATIBILIDAD DE UN CEMENTO POTENCIAL  
MEDIANTE  
MARCADORES INFLAMATORIOS**

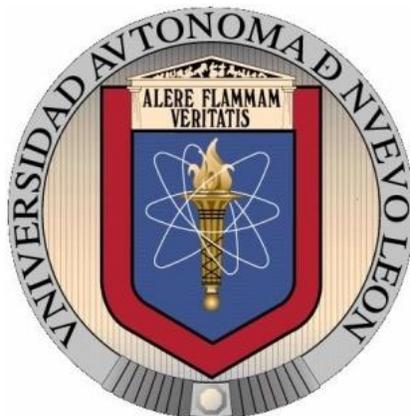
**POR**

**ADRIANA BRISEYDA PEÑA BOLAÑOS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL  
ÁREA DE ENDONCIA**

**AGOSTO, 2017**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**BIOCOMPATIBILIDAD DE UN CEMENTO POTENCIAL MEDIANTE  
MARCADORES INFLAMATORIOS**

**POR**

**ADRIANA BRISEYDA PEÑA BOLAÑOS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL  
ÁREA DE ENDODONCIA**

**AGOSTO, 2017**

**BIOCOMPATIBILIDAD DE UN CEMENTO POTENCIAL MEDIANTE  
MARCADORES INFLAMATORIOS**

**Comité de Tesis**

---

**DIRECTOR DE TESIS  
DRA. FANNY LOPEZ MARTINEZ**

---

**CO-DIRECTOR DE TESIS  
DR. JUAN MANUEL SOLIS SOTO**

**BIOCOMPATIBILIDAD DE UN CEMENTO POTENCIAL MEDIANTE  
MARCADORES INFLAMATORIOS**

---

**C. D. M. S JORGE JAIME FLORES TREVIÑO**  
COORDINADOR DEL POSGRADO DE ENDODONCIA

---

**C. D. M. E. O. SERGIO EDUARDO NAKAGOSHI CEPEDA PHD**  
SUBDIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE  
NUEVO LÉON

**BIOCOMPATIBILIDAD DE UN CEMENTO POTENCIAL MEDIANTE  
MARCADORES INFLAMATORIOS**

LOS MIEMBROS DEL JURADO ACEPTAMOS LA INVESTIGACIÓN Y  
APROBAMOS EL DOCUMENTO QUE AVALA LA MISMA COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIAS  
ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA DE ENDODONCIA

**HONORABLES MIEMBROS DEL JURADO**

---

**PRESIDENTE**

**Dr. (C.D.M.S) Jorge Jaime Flores Treviño**

---

**SECRETARIO**

**Dra. Idalia Rodríguez Delgado**

---

**VOCAL**

## TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. HIPÓTESIS.....	11
3. OBJETIVOS.....	12
4. ANTECEDENTES.....	13
4.1 Cementos Selladores.....	14
4.2 Cementos Selladores a base de silicato de calcio.....	14
4.3 Cementos selladores a base de Cemento Ionomero de Vidrio.....	15
4.4 MTA.....	15
4.5 Crest piso sobre piso.....	16
4.6 Biocompatibilidad.....	17
4.7 Pruebas de Biocompatibilidad.....	17
4.8 Pruebas In vitro.....	18
4.9 Pruebas In vivo.....	18
4.10 Pruebas de uso.....	18
4.11 Pruebas Histológicas.....	19
4.11.1 Hematoxilina y Eosina.....	19
4.11.2 Tricromico de Masson.....	20
4.11 Inflamación.....	20
4.12 CCl4.....	20
4.13 Sod1.....	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
5.1 Descripción del Procedimiento.....	22
5.1.2 Toma de Muestras.....	22
5.1.3 Técnica Histológica de Parafina.....	23
5.1.4 Obtención de los Cortes.....	24
5.2 Tinción del Corte Histológico.....	24
5.2.1 Hematoxilina y Eosina.....	25
5.3 Montaje de los Cortes.....	26
5.4 Técnica de Inmunohistoquímica.....	26

6. RESULTADOS .....	29
7. DISCUSIÓN.....	34
8. CONCLUSIONES.....	36
9. LITERATURA CITADA .....	37
10. RESUMEN BIOGRÁFICO .....	40

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** El tratamiento endodóntico tiene como objetivos principales la limpieza, desinfección y conformación adecuada del sistema de conductos radiculares. En muchos de los casos, existe el fallo del tratamiento de conductos, debido a un mal sellado coronal, la persistencia de la lesión periapical o la presencia de algún istmo apical. Siendo necesario la realización de una cirugía apical, y la colocación de un material de obturación el cual debe de tener una excelente biocompatibilidad. **OBJETIVO:** Evaluar la biocompatibilidad de un cemento potencial mediante marcadores inflamatorios. **METODOLOGÍA:** Se utilizaron 16 ratones de la especie *Mus musculus*, se inocularon los cementos en la piel de la región dorsal del ratón. Se recolectaron muestras a los 7 días, las cuales fueron teñidas con Hematoxilina & Eosina y Tricromico de Masson para evaluar la respuesta inflamatoria, así como la presencia de quimiocinas CCL4 y enzima Sod1 por medio de Inmunocitoquímica. **RESULTADOS:** Estadísticamente no se encontró diferencia en el grado de inflamación de los dos cementos. En comparación con el MTA el cemento Crest piso sobre piso mostro casi nula presencia de células inflamatorias a las 24 h y 7 días. **CONCLUSIONES:** Se encontró que el cemento Crest piso sobre piso muestra una muy buena biocompatibilidad e incluso demostró una biocompatibilidad similar a la del MTA.

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** Endodontic treatment has as main objectives the cleaning, disinfection and adequate conformation of the root canal system. In many cases, there is failure of the treatment of ducts, due to poor coronal sealing, persistent periapical lesion or the presence of some apical isthmus. Being necessary the accomplishment of an apical surgery, and the placement of a material of obturation which must have an excellent biocompatibility. **OBJECTIVE:** To evaluate the biocompatibility of a potential cement using inflammatory markers. **METHODS:** 16 *Mus musculus* mice were used, cements were inoculated on the skin of the dorsal region of the mouse. Samples were collected at 7 days, which were stained with Hematoxylin & Eosin and Masson Trichrome to evaluate the inflammatory response, as well as the presence of CCL4 chemokines and Sod1 enzyme by means of Immunocytochemistry. **RESULTS:** Statistically no difference was found in the degree of inflammation of the two cements. Compared to the MTA, the Crest cement floor on floor showed almost no presence of inflammatory cells at 24 h and 7 days. **CONCLUSIONS:** It was found that the Cement Crest floor on floor shows a very good biocompatibility and even demonstrated a biocompatibility similar to that of the MTA.

## 1. INTRODUCCIÓN

El tratamiento endodóntico tiene como objetivos principales la limpieza, desinfección y conformación adecuada del sistema de conductos radiculares, la principal meta universal de este tratamiento consiste en prevenir o curar la periodontitis apical causada por la infección de los conductos radiculares. Otro factor muy importante es la obturación total de este espacio tridimensional, una vez que ha sido preparado, con un material inerte, biológicamente compatible, estable dimensionalmente y con el menor grado de citotoxicidad posible.

En muchos de los casos, existe el fallo del tratamiento de conductos, debido a un mal sellado coronal, la persistencia de la lesión periapical o la presencia de algún istmo apical.

La cirugía endodóntica es el procedimiento para tratar estos casos, normalmente comprende de un curetaje periapical seguido de la resección apical y la retroobturación.

Se realiza una apicectomía que es la resección de los últimos 3-5 mm de la porción apical de la raíz, esto para poder eliminar todas las posibles aberraciones anatómicas. Es importante la parte de la retroobturación ya que ésta es la que estará en contacto directo con los tejidos periapicales, por lo tanto el material utilizado debe presentar una excelente biocompatibilidad.

El material más utilizado para colocar en el tercio apical al hacer la obturación retrógrada es el cemento sellador MTA (Mineral Trióxido Agregado), debido a sus excelentes propiedades en el sellado apical, su excelente biocompatibilidad y poco grado de citotoxicidad, se ha convertido en el material de primera elección para la cirugía apical. Pero, algunas de las desventajas de este material son su costo y su largo tiempo de fraguado.

Debido a que los componentes del MTA son muy similares a cementos de la industria, en el presente estudio evaluaremos la biocompatibilidad del cemento Crest piso sobre piso, comparándolo con el cemento sellador MTA, teniendo como hipótesis: que el cemento Crest piso sobre piso, tiene igual biocompatibilidad que el cemento sellador a base de MTA.

El estudio fue clasificado como experimental, ya que el investigador controla los eventos, abierto ya que todos los investigadores conocen las variables de la investigación, comparativo porque se estudiarán más de dos muestras, longitudinal ya que se obtendrán datos del mismo sujeto en más de una ocasión y prospectivo debido a que todos los datos obtenidos serán de eventos que ocurran en el futuro.

El cemento Crest piso sobre piso tiene propiedades similares al cemento MTA, por lo cual el objetivo de esta investigación fue evaluar la biocompatibilidad de este cemento potencial mediante marcadores inflamatorios, y evaluar la inflamación ocasionada por CREST piso sobre piso y MTA mediante Inmunocitoquímica con anticuerpos dirigidos a SOD1 y CCL4.

Se utilizaron 16 ratones de la especie *Mus musculus*, se inocularon los cementos en la piel de la región dorsal del ratón. Se recolectaron muestras a las 24 horas y a los 7 días, las cuales fueron teñidas con Hematoxilina & Eosina y Tricromico de Masson para evaluar la respuesta inflamatoria, así como la presencia de quimiocinas CCL4 y enzima Sod1 por medio de Inmunocitoquímica.

Estadísticamente no se encontró diferencia en el grado de inflamación de los dos cementos. En comparación con el MTA el cemento Crest piso sobre piso mostro casi nula presencia de células inflamatorias a las 24 h y 7 días. Teniendo como resultados que el cemento Crest piso sobre piso muestra una muy buena biocompatibilidad e incluso demostró una biocompatibilidad similar a la del MTA.

## 2. HIPOTESIS

El cemento Crest piso sobre piso, tiene igual biocompatibilidad que el cemento sellador a base de MTA

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo General**

Evaluar la biocompatibilidad de un cemento potencial mediante marcadores inflamatorios.

#### **3.1.2 Objetivos específicos**

Analizar la histopatología de CREST piso sobre piso en comparación con MTA en piel de ratones.

Evaluar la inflamación ocasionada por CREST piso sobre piso y MTA mediante Inmunocitoquímica con anticuerpos dirigidos a SOD1 y CCL4.

#### 4. ANTECEDENTES

El tratamiento endodóntico, o tratamiento del conducto radicular, implica la extracción de la pulpa dental y la posterior formación, limpieza y obturación de los conductos radiculares de un diente. La clave para el éxito endodóntico fue descrito por Gutmann como el desbridamiento y la neutralización de cualquier tejido, bacterias o productos inflamatorios dentro del sistema de conductos radiculares. (Wong et al., 2014).

El tratamiento endodóntico se realiza generalmente en dientes con lesiones periapicales. Sin embargo, en algunos casos la patología persiste. Por lo tanto, se realiza la cirugía periapical. Se considera que es la última opción de tratamiento antes de la extracción de un diente. El objetivo principal de la cirugía periapical es sellar el sistema del conducto radicular, permitiendo así la curación, formando una barrera entre los irritantes dentro de la raíz afectada y el tejido periapical. El éxito de la cirugía periapical se determina generalmente por los signos radiológicos, los signos y síntomas clínicos. (Serrano-Giménez M et al., 2015)

Se debe realizar una apicectomía de 3 mm para eliminar todas las ramificaciones apicales y conductos laterales y accesorios, para así evitar la reinfección del área periapical y por lo tanto, la recurrencia de la lesión. (Kim S et al., 2006)

El objetivo de la realización de una obturación retrograda es conseguir un cierre hermético y biocompatible en el ápice que impida la filtración de agentes irritantes del conducto radicular hacia los tejidos perirradiculares. (Cohen et al., 2004)

Las propiedades del material de relleno ideal para el extremo de la raíz son las siguientes:

- Biocompatibilidad.
- Promoción de la regeneración tisular sin causar inflamación.
- Facilidad de manejo,
- Baja solubilidad en los fluidos tisulares.
- Adhesión al tejido dental.
- No absorbible.
- Estabilidad dimensional.
- Radio opacidad.
- Sin manchas en los tejidos circundantes.

Se han utilizado numerosos materiales para el llenado de raíces, incluyendo amalgama, gutapercha, cementos a base de óxido de zinc-eugenol, cementos de ionómero de vidrio, resinas compuestas y silicatos.

Todos estos materiales han demostrado ser compatibles con la cicatrización de tejidos y la reconstitución del hueso alveolar perirradicular, pero ninguno de ellos es capaz de inducir la formación de cemento y la reparación completa del ligamento periodontal.

Se ha introducido Mineral Trióxido Agregado (MTA), un material a base de silicato cálcico desarrollado por la modificación del cemento Portland, y ha mostrado buenas propiedades de biocompatibilidad y sellado. (Grégory Caron et al., 2014).

Materiales como el IRM y el MTA son dos de los más adecuados, y dan mejores resultados al hacer la apicectomía. El MTA da mejores resultados en las pruebas de biocompatibilidad que el IRM, aunque ambos tienen la capacidad de inducción de tejido duro. (Grossman I et al., 2003).

#### **4.1 Cementos Selladores**

Existe interés en las interacciones entre los materiales y el tejido dental, donde el primero tiene una interacción más agresiva con este último, al tiempo que promueve la "bioactividad"; Se argumenta que materiales como cementos de ionómero de vidrio han tenido tales interacciones durante más de treinta años, pero sólo recientemente se han aclarado mecanismos de adhesión y adaptación que indican el potencial de interacciones químicas tanto con resina como con cemento a base de silicato de calcio. (Watson TF et al., 2014).

Al momento de elegir un cemento sellador es necesario analizar aparte de la biocompatibilidad la citotoxicidad y la genotoxicidad. Los materiales genotóxicos son aquellos con afinidad de interactuar con el ADN, pero los hacen potencialmente cancerígenos o mutagénicos. (Mohammadi Z et al., 2015).

#### **4.2 Cementos Selladores a base de Ionómero de Vidrio**

Desde que el ionómero de vidrio se introdujo en la práctica dental, sus aplicaciones han seguido creciendo. Estos cementos reducen la microfiltración debido a su capacidad para formar un enlace químico a la estructura del diente y se han utilizado como materiales de relleno de raíz desde los años 80. Los estudios in vivo e in vitro han demostrado que son biocompatibles y tienen una buena capacidad de sellado. (Hitesh Chohan et al., 2015)

El ionómero de vidrio modificado con resina ha mostrado resultados significativamente mejores que los cementos de ionómero de vidrio convencionales,

ya que son más fáciles de manejar que sus homólogos convencionales debido a un tiempo de fraguado más corto. Los compuestos modificados con poliácidos también han demostrado una buena biocompatibilidad intraósea y menos microfiltración cuando se utilizan como material de relleno de raíz. (Hitesh Chohan et al., 2015)

Se ha demostrado que el cemento de ionómero de vidrio proporciona un sello coronal aceptable por hasta 3 meses. (Gauri Malik. et al., 2013)

### **4.3 Cementos selladores a base de Silicato de Calcio**

Los cementos a base de silicato de calcio se introdujeron por primera vez a la odontología en 1993 cuando Torabinejad desarrolló una fórmula basada en el cemento Portland ordinario (CPO) para producir el Mineral Trióxido Agregado o el MTA gris. Este material se compuso principalmente de silicato tricálcico, silicato de dicalcio, aluminato tricálcico y alumino ferrita tetracálcica, además de sulfato de calcio y óxido de bismuto, añadido como radiopaco para aplicaciones clínicas. En 2002, se desarrolló una versión de MTA blanca, que era idéntica a la forma gris, pero carecía de la alumino ferrita tetracálcico y había reducido los niveles de aluminato. Desde su introducción, los MTA se han utilizado principalmente para aplicaciones endodónticas, tales como la reparación de las raíces perforadas, apexificación, o recubrimiento pulpar.

En el 2011, Biodentine, cemento dental a base de silicato cálcico de rápida fijación, fue introducido, se desarrolló como un material de reemplazo de dentina, funciona como una restauración coronal. El tiempo de fraguado es relativamente corto, puede permitir el uso de este cemento para procedimientos de restauración. (Watson TF et al., 2014).

Las células de pulpa dental humana, son un modelo adecuado para evaluar la citotoxicidad de diferentes materiales dentales. Esta línea celular también se utiliza para estimar los efectos de MTA y varios cementos basados en silicato de calcio en cultivo celular, demostrando su biocompatibilidad y bioactividad in vitro. (Mestieri Lb et al., 2015).

### **4.4 MTA**

En las dos últimas décadas, la MTA se ha convertido en uno de los materiales endodónticos más estudiados. El MTA consiste en calcio, aluminio y selenio, tiene varias propiedades deseables en términos de biocompatibilidad, bioactividad, hidrofiliidad, radiopacidad, capacidad de sellado y baja solubilidad. La más importante de estas propiedades en odontología son su biocompatibilidad y capacidad de sellado. La alta biocompatibilidad estimula respuestas de curación óptimas. Esto se ha observado histológicamente con la formación de nuevo cemento

en el área de los tejidos perirradiculares y una baja respuesta inflamatoria con formación de puentes en el espacio pulpar.

El MTA es un cemento a base de silicato de calcio que se utiliza comúnmente en los procedimientos de endodoncia que implican la regeneración de la pulpa y la reparación de tejidos duros, tales como el recubrimiento pulpar, pulpotomía, apexogénesis, apexificación, reparación de perforación y llenado del extremo radicular. A pesar de ser superior en pruebas de laboratorio y de tener un rendimiento clínico mejor, el MTA en comparación con los cementos de reparación de endodoncia anteriores, tales como  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , el MTA tiene pobres propiedades de manejo y un largo tiempo de fraguado. Nuevos CSC se han lanzado y comercializado para superar las limitaciones del MTA (Dawood AE et al., 2015).

Fue introducido por primera vez en la literatura dental en 1993 y recibió la aprobación de la FDA en 1998. En 1999 Pro Root MTA (Dentsply Tulsa Dental Specialties, Johnson City, TN) fue el primer producto MTA disponible comercialmente en los Estados Unidos. (Tawil PZ et al., 2015).

El mineral trióxido agregado es un agente de taponamiento de pulpa relativamente nuevo. Muchos estudios histológicos demostraron que la MTA formó una barrera de tejido duro más gruesa en comparación con el hidróxido de calcio en animales o humanos. (Chenxi Zhu et al., 2015)

El material trióxido agregado tiene la capacidad de facilitar la cicatrización perirradicular induciendo la formación de tejido duro. (Ambica Khetarpal et al., 2013)

#### **4.5 Crest Piso sobre Piso**

Es un adhesivo a base de cemento blanco modificado con resinas látex en polvo, que incrementa la adhesividad de tal forma que se pueda instalar en pisos nuevos sobre los ya existentes sin necesidad de picarlos o removerlos, es ideal para remodelaciones por la comodidad y rapidez. Se mezcla únicamente con agua. Es un adhesivo que tiene un mayor grado de elasticidad y flexibilidad, ofrece excelentes propiedades adherentes para la instalación de losetas. Su presentación es un bulto de 10kg, el tiempo de almacenaje es de 6 meses en lugares secos en su empaque original, la proporción de la mezcla es de 2.0-2.5lt de agua limpia por bulto, la temperatura de aplicación es entre  $6^{\circ}\text{C}$  y  $39^{\circ}\text{C}$ , su resistencia a la compresión es de  $210\text{kg}/\text{cm}^2$  el tiempo que debe permanecer abierto puede ser más de 60 minutos. (Crest 2017).

## 4.6 Biocompatibilidad

Es una medida de como un dispositivo es compatible con un sistema biológico. El propósito de la realización de pruebas de biocompatibilidad es determinar la aptitud de un dispositivo para uso humano, y para ver si el uso del dispositivo puede tener efectos fisiológicos potencialmente dañinos. Según lo declarado por la Organización Internacional de Estándares (ISO): "el objetivo principal de esta parte de la norma ISO 10993 es la protección de los seres humanos de los posibles riesgos biológicos derivados de la utilización de los dispositivos médicos." (ISO 10993-1:2009) (Alaina P. Leindecker et al., 2012).

Históricamente, el avance técnico y científico de la odontología clínica; viene auspiciando el empleo de nuevos materiales que surgen día a día en concordancia con nuevas técnicas y procedimientos terapéuticos y, si antes eran simplemente evaluados en humanos para observar si eran biocompatibles, desde hace algún tiempo, los nuevos materiales deben ser sometidos a una serie de pruebas antes de que puedan justificar su empleo inocuo en los seres humanos. (Ángela M. Villegas et al., 2008).

## 4.7 Pruebas de Biocompatibilidad

Las pruebas en animales para la biocompatibilidad se usan habitualmente en mamíferos tales como ratones, ratas, hámsteres o cobayos, aunque se han utilizado muchos tipos de animales. Las pruebas en animales son distintas de las pruebas de uso (que también se hacen a menudo en animales) cuando el material no se coloca en el animal con respecto a su uso final. El uso de un animal permite muchas interacciones complejas entre el material y el sistema de funcionamiento biológico que pueden ocurrir. Junto a las pruebas de uso basado en animales, diferentes técnicas de cultivo de células se han descrito para probar las propiedades biológicas de los materiales de restauración dental. Los datos de estas pruebas pueden proporcionar información sobre las propiedades biológicas básicas (por ejemplo, la toxicidad de los componentes de un material y la influencia de diferentes condiciones de fraguado). (Gociu M et al., 2013)

Las pruebas de biocompatibilidad se han identificado como pruebas iniciales o primarias las cuales incluyen las pruebas de citotoxicidad (evaluación del efecto de los materiales sobre poblaciones celulares para evaluar la respuesta inflamatoria o inmunológica) y las de mutagenicidad o carcinogénesis (valoran los efectos de los materiales sobre el material genético celular); pruebas intermedias o secundarias las cuales permiten medir los niveles de reacciones inflamatorias o de respuestas inmunitarias frente a un material (pruebas de irritación de mucosas, sensibilidad cutánea e implantación); y las pruebas de uso o terciarias las cuales se realizan en

animales y humanos una vez se hayan realizado las pruebas primarias, las pruebas secundarias y la aprobación de un comité de ética certificado. (Ángela M. Villegas et al., 2008).

#### **4.8 Pruebas In vitro**

Se realizan con el material o un extracto de este que se pone en contacto (exposición) con algún sistema biológico; en este caso, dientes sanos obtenidos por razones terapéuticas como las que se aplican en ortodoncia. Para este fin, se emplean tubos de ensayo, placas de cultivo celular, muflas u otros recipientes, a través de medios biológicos específicos como células de mamíferos, organelas celulares, tejidos, bacterias o algún tipo de enzima que se ponen en contacto inmediato con la corona del o de los dientes cuyas raíces se protegen para que no entren en contacto con el material cuya capacidad de penetración se desea verificar. Además, la exposición se puede hacer por contacto directo o indirecto. En las pruebas In vitro se puede determinar la muerte o el crecimiento celular, la función celular y, en algunos casos, se puede evaluar la integridad del material genético de la célula. (Ángela M. Villegas et al., 2008).

#### **4.9 Pruebas In vivo**

Los animales de mayor uso por su similitud con el organismo humano en cuanto a respuesta de tejidos son los ratones, las ratas, los hámsteres, los hurones y los conejos. El test más utilizado es el del tejido subcutáneo en ratas, el cual se emplea con frecuencia para evaluar materiales dentales de uso en la terapia pulpar o la obturación radicular. (Ángela M. Villegas et al., 2008).

#### **4.10 Pruebas de uso**

Estas pruebas son realizadas en animales y en seres humanos. En estos últimos, dichos estudios se denominan “ensayos clínicos” y son los que proporcionan mayor y real evidencia científica. Las desventajas de estos son su complejidad (dificultad en términos de control experimental e interpretación, sometimiento al comité de ética y marco legal) además que son mucho más costosos. Por lo general, las pruebas de mayor empleo para evaluar los materiales dentales en humanos se realizan en cavidades clase V preparadas por vestibular o por oclusal en premolares que van a ser extraídos por motivos ortodónticos o periodontales y cuyos criterios de inclusión implican estar sanos, sin restauraciones, sin caries y sin lesiones no cariosas (abrasiones, abfracciones o erosiones). (Ángela M. Villegas et al., 2008)

## **4.11 Técnicas Histológicas**

Todo organismo vivo (animal o vegetal) está constituido por células. Un individuo puede estar formado por una sola célula (organismo unicelular o protozooario o por muchas células (organismo pluricelular o metazoario).

En estas páginas dedicadas a las técnicas histológicas vamos a describir los procesos experimentales necesarios para obtener secciones teñidas y listas para observar al microscopio partiendo de tejidos vivos extraídos de un animal o de una planta. Por tanto, dedicaremos espacios a la obtención, fijación, inclusión, corte y tinción de los tejidos. Todos estos apartados seguirán el mismo esquema que los capítulos dedicados a los tejidos o a la célula, partir de un esquema básico y ampliar la información sucesivamente en páginas adicionales. No dedicaremos demasiado espacio a los instrumentos, desde el punto de vista operativo, pero sí a la conveniencia de su uso y a sus capacidades (Atlas de Histología Vegetal y Animal 2014).

### **4.11.1 Hematoxilina y Eosina**

La mayoría de las células y matrices extracelulares no poseen un color propio por lo que su observación directa al microscopio óptico no permite observar sus características morfológicas. Para poder observarlos se emplean colorantes, sustancias dotadas de color que se unen de manera más o menos específica a determinadas estructuras del tejido.

Las tinciones generales se usan habitualmente en los laboratorios de histología para obtener una visión general de las muestras de tejido. Normalmente combinan más de un colorante. La tinción más común es la que combina una sustancia como la hematoxilina y el colorante ácido eosina. La coloración de Hematoxilina y Eosina se considera como la técnica de tinción de uso más frecuente en el estudio de células y tejidos a través del microscopio fotónico (Atlas de Histología Vegetal y Animal 2014).

### **4.11.2 Tricromico de Masson**

Como su nombre indica esta tinción emplea tres colorantes, hematoxilina, fucsina y verde luz. Esta tinción es muy útil para poner de manifiesto las fibras de colágeno, y el conectivo en general, respecto a otros tipos celulares como el músculo o epitelios.

Se emplea mucho en la diagnosis de procesos tumorales. (Atlas de Histología Vegetal y Animal 2014).

Primeramente, se tiñen las secciones con un tinte ácido tal como la Escarlata de Biebrich. Todos los tintes acidófilos del tejido tales como el citoplasma, el músculo y el colágeno se unirán a los tintes ácidos. Las secciones entonces se tratan con ácido fosfotúngstico y/o fosfomolibdico.

Ya que el citoplasma es mucho menos permeable que el colágeno, los ácidos fosfotúngsticos y fosfomolibdicos permiten que la Escarlata de Biebrich difunda del colágeno pero no del citoplasma. Los ácidos fosfotúngsticos y fosfomolibdicos tienen numerosos grupos ácidos que probablemente actúen como medio de unión entre el colágeno y el azul de Alanina. Como resultado se obtendrá que las fibras de colágeno se teñirán de azul y de color rojo la queratina, los glóbulos rojos y el tejido muscular (Montalvo, 2010).

#### 4.11 Inflamación

La inflamación aparece como primera respuesta ante la invasión de microorganismos. Esta se inicia bajo diferentes condiciones diferentes, es necesario identificar los PAMP que actúan sobre los PRR de las células del hospedero. El PAMP mas estudiado es el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina de las bacterias gramnegativas y es el activador modelo de la inflamación. La inflamación es indispensable como mecanismo de defensa en la inmunidad innata, pues se sabía que los ratones C3H/HeJ eran resistentes a los efectos biológicos de inflamación del LPS e hipersensibles a la infección por bacterias gramnegativas. En 1985 se supo que el factor de necrosis tumoral (TNF) era el producto secretado más importante por macrófagos activados por LPS y que administrado en grandes cantidades en ratones de cepas sensibles producían choque séptico con coagulación diseminada. En 1990 se demostró primero que CD14 era un receptor probable del LPS; sin embargo, como era un glucosilfosfatidilinositol (GPI), le faltaba la cola citoplasmática para la señalización, por lo que era necesario que hubiera otra molécula que participara conjuntamente con ella. Fue hasta 1998 que se reconoció que era una molécula de superficie denominada receptor tipo toll 4 (TLR4) por su similitud con el receptor toll de *Drosophila melanogaster*, el cual estaba relacionado con el desarrollo embrionario y al respuesta inmune innata de la *Drosophila*. Actualmente se han descrito 10 TLR y se reconoce que son los principales inductores de señales a través de las cuales los mamíferos detectan las infecciones. (Salinas et al., 2008)

#### 4.12 CCL4

Las proteínas inflamatorias de los macrófagos  $1\alpha$  y  $\beta$  (MIP- $1\alpha$  y  $\beta$ ) y la proteína inflamatoria macrófaga 2 (MIP-2) son 6-8 kd, proteínas de unión a la heparina que exhiben una serie de actividades inflamatorias e inmunorregulatorias.

Las proteínas MIP son miembros de una súper familia de las citoquinas llamadas quimioquinas, muchas de las cuales han demostrado poseer actividad quimiotáctica para las células efectoras inflamatoria e inmune. Mientras que los MIPs fueron identificados originalmente como productos secretores de macrófagos de ratón estimulados con endotoxina, estas quimioquinas son producidas por una variedad de tipos de células incluyendo neutrófilos, Fibroblastos y células epiteliales. Además, se han identificado proteínas con un alto grado de homología estructural y funcional con MIP-1 $\alpha$  murino y  $\beta$  y MIP-2 en otras especies incluyendo seres humanos. MIP-1 $\alpha$  y  $\beta$  son quimiotácticos para monocitos y linfocitos. Los MIP probablemente también juegan un papel en la regulación de la hematopoyesis y la estimulación de la producción de otros mediadores inflamatorios tales como IL-1, TNF \ alpha, e histamina. Los estudios utilizando modelos animales de lesión pulmonar y la inflamación han implicado MIPs como mediadores importantes de la defensa pulmonar. Se ha observado una mayor expresión de MIP en modelos de sepsis bacteriana, silicosis y lesión pulmonar inducida por oxidante. Estudios en humanos indican que MIP-1 $\alpha$  contribuye a la respuesta inflamatoria celular asociada con sarcoidosis y fibrosis pulmonar idiopática. Dadas las bioactividades de MIP-1 $\alpha$  y  $\beta$  y MIP-2 y los estudios recientes que demuestran su asociación con la inflamación pulmonar, es probable que estas quimiocinas jueguen un papel significativo en las defensas del tracto respiratorio y puedan contribuir a la patogénesis de la enfermedad pulmonar inflamatoria. (Driscoll KE, 1994).

#### 4.13 SOD1

Las enzimas superóxido dismutasa (SOD) juegan un papel importante en el sistema antioxidante al catalizar la conversión de los radicales superóxido ( $O_2^-$ ) en peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y  $O_2$ . En los mamíferos, existen tres isoformas de SOD: CuZn-SOD (Sod1), que existe en el citoplasma; Mn-SOD (Sod2), que se distribuye en la matriz mitocondrial; Y extracelular SOD (Sod3), que se localiza en los fluidos extracelulares, como la linfa, el líquido sinovial y el plasma. (Kenji Watanabe et al., 2014).

La deficiencia de Sod1 aumenta la producción intracelular de  $O_2^-$  y el daño oxidativo, dando como resultado cambios patológicos globales relacionados con la edad, incluyendo cambios en el cerebro, los ojos, los oídos, la sangre y los huesos, piel, músculos, páncreas, hígado y ovarios durante el envejecimiento (Kenji Watanabe et al., 2014).

Los conjugados LMWP (protamina de bajo peso molecular) -SOD1 de penetración celular son eficaces para la atenuación de la senescencia celular y la inversión de la diferenciación osteoblástica de los DPSCs (células madre de la pulpa dental humana) causada por la inhibición de estrés oxidativo. (Choi YJ et al., 2012)

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

Se inició tomando muestras de la piel dorsal de 16 ratones de la especie *Mus musculus* de 8 semanas de nacidos. Fueron divididos en tres grupos para evaluar la biocompatibilidad presentada a los 7 días.

Los ratones incluidos en este estudio debieron cumplir con los requisitos que rige la NOM-062-ZOO-1999, que señala las técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

### 5.1 Descripción del Procedimiento.

Inoculación de los cementos: cada ratón fue anestesiado por separado con una mezcla de ketamina/xilacina (35 mg/Kg / 5 mg/Kg de peso). Una vez que el ratón estuviera anestesiado se procedió a la inoculación de los cementos en cada ratón, siendo conformado cada uno de los tres grupos por 4 ratones, 1 grupo control de suero fisiológico y 2 grupos experimentales de MTA y Crest piso sobre piso. Los cementos fueron preparados de acuerdo a las instrucciones del fabricante, y fueron diluidos en agua destilada para facilitar su colocación dentro del tejido de la parte dorsal de cada ratón. Habiendo realizado la inoculación de cada cemento se colocó un punto de color sobre la piel donde fue realizada la punción, para poder ser localizada el área con más facilidad cuando se llevó a cabo la toma de muestra.

#### 5.1.2 Toma de muestras

Antes de llevar a cabo la toma de muestra se procedió a rasurar la parte dorsal, la cual había sido previamente marcada con un plumón.

A los 7 días de haber realizado la inoculación de los cementos, se sacrificaron a dos ratones de cada grupo, esto se realizó mediante la dislocación cervical de cada uno.

Para llevar a cabo la toma de la muestra se cortó la zona en donde se realizó la inoculación del cemento.

Después de haber sido recolectada cada muestra fue colocada en un frasco de vidrio el cual contenía formaldehído al 10% para ser fijadas.

### **5.1.3 Técnica Histológica de Parafina**

Después de que las muestras fueron fijadas con formalina al 10%, se realizó el proceso de inclusión, este paso tuvo como finalidad rodear las muestras en un material suficientemente rígido para poder ser cortadas, como medio de inclusión se usó la parafina. Pero debido a que la parafina no es miscible en agua, se llevó a cabo el proceso llamado deshidratación, en donde se emplean alcoholes de menor a mayor concentración, se colocaron las muestras en alcohol al 50% hasta llegar al 100%, las muestras se deben dejar durante una hora en cada concentración de alcohol. Sin embargo, el alcohol tampoco es miscible en parafina y para ello se realizó el proceso de aclaración, en donde se colocaron las muestras en alcohol + xilol (250 ml. de alcohol con 250 ml. de xilol) durante una hora, después se coloca en xilol tres veces. Todo esto se llevó a cabo en frascos de vidrio. Ya que estuvieron aclaradas se realizó la infiltración del medio de inclusión por toda la muestra; para ello se utilizó el horno del Laboratorio de Morfología de la Facultad de Odontología, UANL, el horno se mantuvo a 60° para que la parafina llegara a su punto de fusión, esto sucede aproximadamente después de 6 horas.

Se colocaron las muestras en los frascos de vidrio con parafina líquida durante tres horas.

Después de esto se sacaron los frascos y cada una de las muestras fue cortada por la mitad con la ayuda de una navaja de doble filo, esto basándose en la ubicación del cemento inoculado.

Una vez que todas las muestras fueron cortadas por la mitad, cada una se colocó dentro de un vasito de plástico previamente identificado los cuales contenían parafina, y fueron introducidas al horno durante 1 hora.

Ya transcurrido el tiempo de espera, se sacaron del horno las muestras una por una, para llevar a cabo la orientación de las mismas, esto con la ayuda de pinzas

de curación ya que las muestras deberían quedar paralelas una al lado de la otra hasta que la parafina se solidificara a temperatura ambiente.

#### **5.1.4 Obtención de los cortes**

Una vez que la parafina solidificara se cortaron los excesos hasta que solo quedara un cubo el cual contenía la muestra.

Después se precedió a realizar los cortes de cada muestra utilizando el micrótopo rotatorio de la marca Microm modelo HM340E, el cual fue facilitado por el Departamento de Inmunología de la Facultad de Medicina, UANL.

En donde mediante una navaja se fueron realizando cortes de 6 micras, las cuales una vez que fueron obtenidas se colocaron en un baño de agua destilada a 40° para estirar los cortes, esto con la ayuda de un pincel y pinzas delgadas.

El corte obtenido se recoge del agua con el portaobjeto previamente identificado con el número de muestra, en donde se deja secar para después llevar a cabo las tinciones histológicas necesarias.

### **5.2 Tinción del corte Histológico**

#### **5.2.1 Hematoxilina y Eosina**

Para este procedimiento, cada sustancia a utilizar fue colocada en un recipiente de vidrio previamente identificado.

Los portaobjetos se colocaron en una gradilla de vidrio la cual se fue introduciendo en cada uno de las diferentes sustancias, de acuerdo al siguiente orden:

- Xilol durante 10 minutos.
- Alcohol al 100% durante 3 minutos.
- Alcohol al 70% durante 3 minutos.
- Alcohol al 50 % durante 3 minutos.
- Hematoxilina durante 5 minutos.
- Enjuague con agua hasta que salga limpia.
- Eosina durante 3 minutos.

- Enjuague con alcohol al 70% hasta que este salga limpio.
- Alcohol al 90% por un minuto.
- Alcohol al 100% durante 2 minutos.
- Alcohol-Xilol durante 5 minutos.
- Xilol durante 5 minutos.
- Xilol hasta que las muestras se monten.

#### **6.1.5.2 Tricromico de Masson**

En esta tinción, cada sustancia a utilizar fue colocada en un recipiente de vidrio previamente identificado y los portaobjetos se colocaron en una gradilla de vidrio la cual se fue introduciendo en cada uno de las diferentes sustancias, de acuerdo al siguiente orden:

- Xilol durante 10 minutos.
- Alcohol al 100% durante 5 minutos.
- Alcohol al 80% durante 5 minutos.
- Alcohol al 60% durante 5 minutos.
- Alcohol al 50% durante 5 minutos.
- Agua destilada 5 minutos.
- Bouin 1 hora a temperatura ambiente.
- Agua corriente, hasta quitar el exceso de tinción amarilla.
- Agua destilada, realizar 3 cambios.
- Hematoxilina de Weigert durante 10 minutos.
- Agua corriente durante 10 minutos.
- Agua destilada, realizar 3 cambios.
- Fucsina ácida - Escarlata de Biebrich durante 5 minutos.
- Agua destilada, realizar 2 cambios.
- Ácido fosfotúngstico-fosfomolibdico durante 15 minutos.
- Agua destilada, realizar tres cambios.
- Azul de Alanina durante 6 minutos.

- Agua destilada, realizar 3 cambios.
- Ácido acético glacial 1% durante 3 minutos.
- Agua destilada durante 5 minutos.
- Alcohol a 70% durante 3 minutos.
- Alcohol al 96% durante 6 minutos.
- Alcohol al 100% durante 6 minutos.
- Alcohol-Xilol durante 3 minutos.
- Xilol durante 3 minutos.
- Xilol hasta que las muestras se monten.

### **5.3 Montaje de los cortes**

Los portaobjetos se retiraron del xilol y se colocaron dos gotas de resina sintética en cada uno, para después situar el cubreobjetos sobre el corte, una vez que el cubreobjetos estuviera bien situado se retiraron los excesos de resina y se dejaron secar durante 24 horas, para poder ser observados en el microscopio y llevar a cabo la evaluación de las reacciones inflamatorias.

### **5.4 Técnica de Inmunohistoquímica**

Se realizó de la siguiente manera:

1. Los portaobjetos se colocaron en el horno a 70° aproximadamente durante 5 minutos, hasta que se disolviera la parafina.
2. Se desparafiniza con xilol durante 15 minutos 2 veces.
3. Se coloca en alcohol + xilol (250 ml. de alcohol más 250 ml. de xilol) durante 5 minutos.
4. Hidratar con alcoholes de grado decreciente.
  - Alcohol al 100% durante 5 minutos.
  - Alcohol al 90% durante 5 minutos.
  - Alcohol al 70% durante 5 minutos.
  - Alcohol al 50% durante 5 minutos.

5. Para eliminar la peroxidasa endógena, los cortes se colocan en una solución de 500 ml de Metanol + 4.95 ml. de Peróxido de Hidrogeno al 30% durante 20 minutos.
6. Colocar en alcohol al 50% durante 5 minutos.
7. Lavar con solución Buffer PBS sin tritón pH 7.2 - 7.4 durante 5 minutos.  
Para 2 litros de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Fosfato de Sodio Dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>): 43.6 gr.  
Fosfato de Sodio Monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O): 12.8 gr.
8. Lavar con solución Buffer PBS con tritón pH 7.2 - 7.4 durante 10 minutos. •  
Para 2 litros de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  - Fosfato de Sodio Dibásico (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>): 43.6 gr.
  - Fosfato de Sodio Monobásico (NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O): 12.8 gr.
  - Tritón X-100: 2 ml.
9. Lavar con solución Buffer PBS sin tritón pH 7.2 - 7.4 durante 5 minutos.
10. Colocar pap-pen sobre la laminilla alrededor del corte histológico.
11. Incubación de los primeros anticuerpos
  - 11.1 Solución 1:600, se colocaron 1600 µl. de Buffer PBS con tritón en cada de los tres tubos Eppendorf y después se colocó cada anticuerpo (CCl<sub>4</sub> y Sod1) por separado.
  - 11.2 Se utilizaron un total de 24 laminillas, por lo cual fueron 8 laminillas por cada anticuerpo, en cada laminilla se colocó 160 µl. del anticuerpo utilizado y se dejó incubando por 24 horas a temperatura ambiente.
12. Lavar por separado las laminillas de cada anticuerpo en solución Buffer PBS con tritón pH 7.2-7.4 durante 15 minutos.  
Incubación del segundo anticuerpo (Goat F(ab')<sub>2</sub> Polyclonal secondary antibody to rabbit IgG (Fab')<sub>2</sub> (HRP) pre-adsorbed ab6112, 1.000 mg/ml, liquido marca Abcam, se preparó con 5 ml. de Buffer PBS sin tritón en combinación con 15 µl. del anticuerpo).
13. Se colocó 160 µl. del segundo anticuerpo en cada laminilla (total 24) y se dejó incubar por 2 horas a temperatura ambiente.

14. Lavar por separado las laminillas de cada anticuerpo en solución Buffer PBS sin tritón pH 7.2-7.4 durante 15 minutos.
15. Aplicación del DAB al 0.05% + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.04%
  - 5 mg. DAB
  - 13 µl. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  - 10ml. Buffer sin tritón
- 15.1 Aplicar 166 µl. En cada laminilla. 15.2 Dejarlo durante 40 a 50 segundos.
16. Lavar con Buffer PBS sin tritón pH 7.2-7.4 durante 5 minutos.
- 16.1 Contrastar con Hematoxilina de Harris 2 minutos
17. Deshidratar con alcoholes de menor a mayor concentración.
  - OH 50% durante 5 minutos.
  - OH 60% durante 5 minutos.
  - OH 70% durante 5 minutos.
  - OH 100% durante 5 minutos.
18. Se coloca en alcohol + xilol (250 ml. De alcohol + 250 ml. De xilol) durante 5 minutos.
19. Aclarar con xilol durante 15 minutos 2 veces.
20. Montaje con resina sintética y cubreobjetos.

#### ANÁLISIS MORFOMÉTRICO

En 4 laminillas, se analizaron 5 campos de 400 micras cuadradas, y se contaron las células inmunoreactivas a SOD1 y a CCL4.

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó la prueba t de Student para analizar las diferencias entre los diferentes grupos.

## 6. RESULTADOS

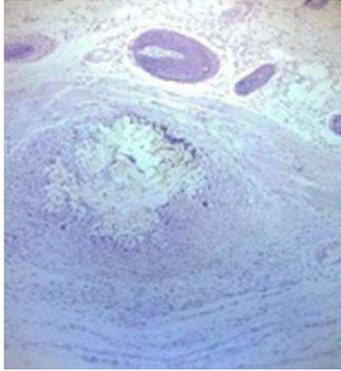
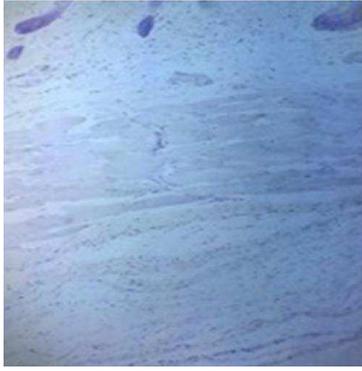
Imagen N° 1 Tinción con H & E	
MTA	CONTROL
	
Figura 1.- Fotomicrografia de piel de ratón teñido con HyE, se observa la región donde fue inoculado el cemento MTA. Se observa la dermis con tejido inflamatorio.	Figura 2.- Fotomicrografia de piel de raton teñido con HyE, se observa la region donde fue inoculado suero fisiologico. Se observa la dermis sin tejido inflamatorio

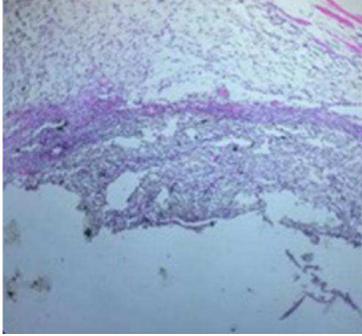
Imagen N° 2 Tinción con H & E	
Crest piso sobre piso	CONTROL
	
Figura 3.- Fotomicrografia de piel de raton teñido con HyE, se observa la region donde fue inoculado el cemento Crest piso sobre piso. Se observa la dermis con tejido inflamatorio.	Figura 4.- Fotomicrografia de piel de raton teñido con HyE, se observa la region donde fue inoculado suero fisiologico. Se observa la dermis sin tejido inflamatorio.

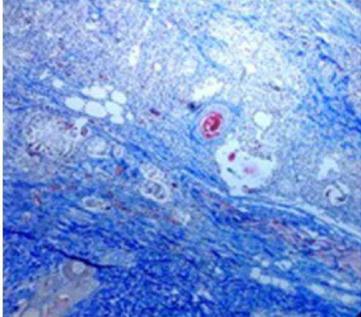
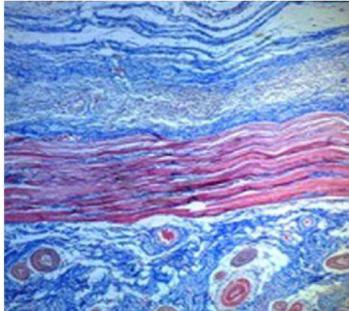
Imagen N° 3 Tinción con Tricromico de Masson	
MTA	CONTROL
	
Figura 5.-Fotomicrografia de piel de raton teñido con Tricromico de Masson, se observa la region donde fue inoculado el cemento MTA. Se observa con tejido inflamatorio.	Figura 6.- Fotomicrografia de piel de raton teñido con Tricromico de Masson, se observa la region donde fue inoculado suero fisiologico. Se observa la dermis sin tejido inflamatorio.

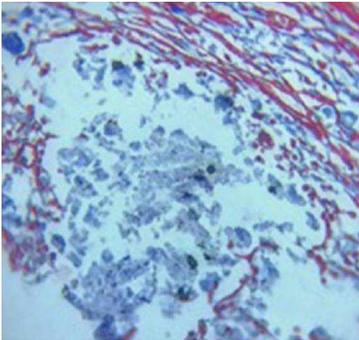
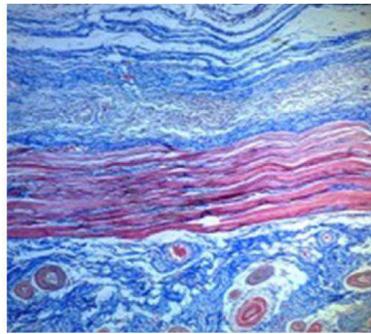
Imagen N° 4 Tinción con Tricromico de Masson	
Crest piso sobre piso	CONTROL
	
Figura 7.- Fotomicrografia de piel de raton teñido con Tricromico de Masson, se observa la region donde fue inoculado el cemento Crest piso sobre piso. Se observa con tejido inflamatorio.	Figura 8.- Fotomicrografia de piel de raton teñido con Tricromico de Masson, se observa la region donde fue inoculado suero fisiologico. Se observa la dermis sin tejido inflamatorio.

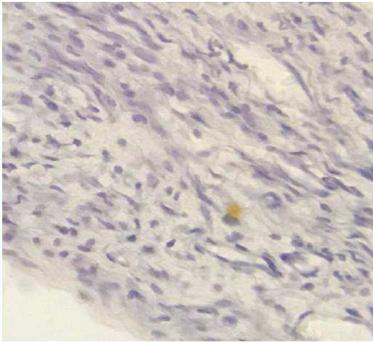
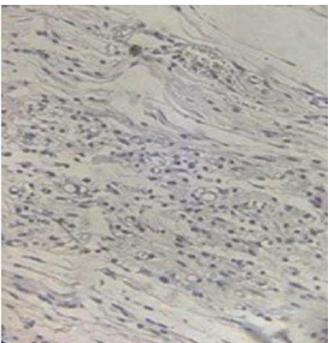
Imagen N° 5 SOD1	
MTA	CONTROL
	
<p>Figura 9.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a Sod1, inoculado con MTA, se observa celula inmunoreactiva a Sod1.</p>	<p>Figura 10.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a Sod1, inoculado con suero fisiologico.</p>

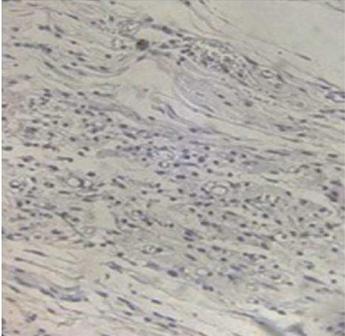
Imagen N° 6 SOD1	
Crest piso sobre piso	CONTROL
	
<p>Figura 11.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a Sod1, inoculado con Crest piso sobre piso, se observa celula inmunoreactiva a Sod1.</p>	<p>Figura 12.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a Sod1, inoculado con suero fisiologico.</p>

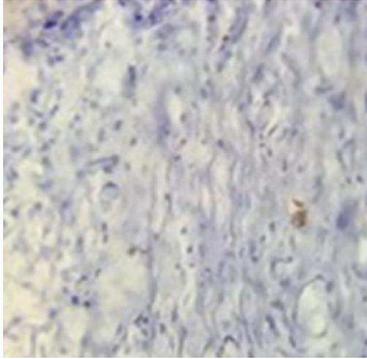
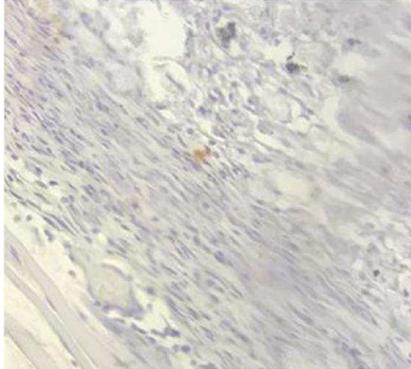
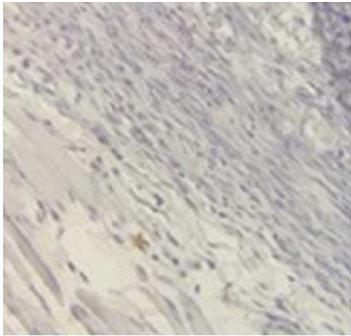
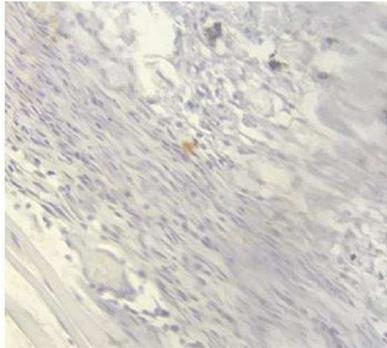
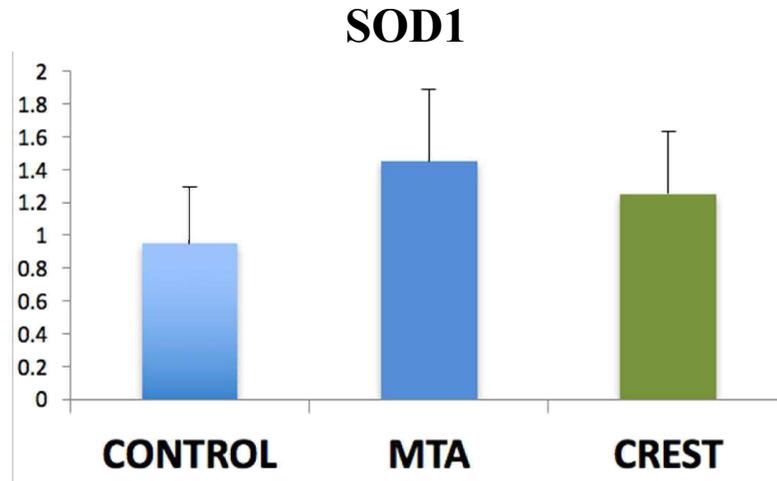
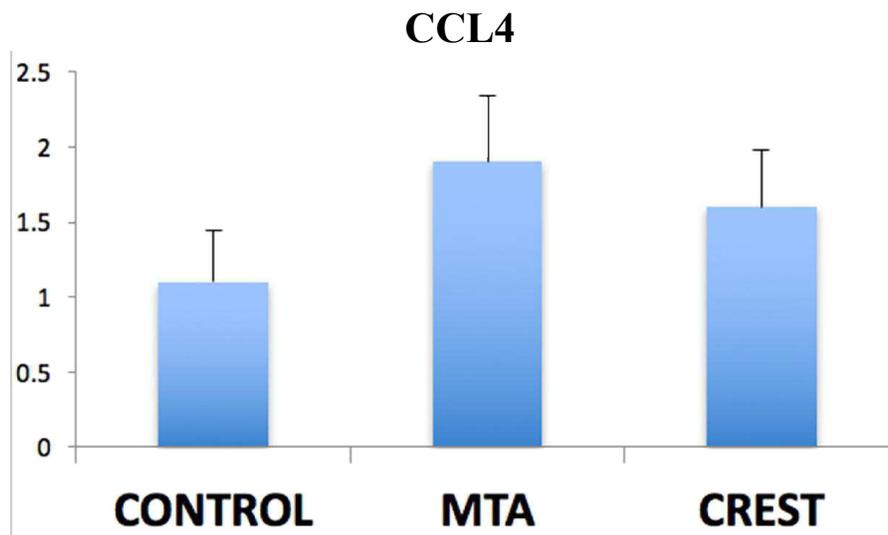
Imagen N° 6 CCl4	
MTA	CONTROL
	
<p>Figura 13.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a CCl4, inoculado con MTA, se observa celula inmunoreactiva a CCl4.</p>	<p>Figura 14.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a CCl4, inoculado con suero fisiologico.</p>

Imagen N° 6 CCl4	
Crest piso sobre piso	CONTROL
	
<p>Figura 15.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a CCl4, inoculado con Crest piso sobre piso, se observa celula inmunoreactiva a CCl4</p>	<p>Figura 16.- Fotomicrografia de piel de raton con anticuerpo dirigido a CCl4, inoculado con suero fisiologico</p>



La gráfica muestra la media y desviación estándar de células inmunoreactivas a SOD1.

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO**  
**CONTROL VS MTA p=0.056**  
**CONTROL VS CREST p=0.267**  
**MTA VS. CREST p=0.358**



La gráfica muestra la media y desviación estándar de células inmunoreactivas a CCL4.

**ANÁLISIS ESTADÍSTICO**  
**CONTROL VS MTA p=0.07613**  
**CONTROL VS CREST p=0.2601**  
**MTA VS. CREST p=0.6513**

## 7. DISCUSION

Se encontró que el cemento Crest piso sobre piso presenta semejante biocompatibilidad al ser comparado con el cemento sellador MTA.

Estudios que evaluaron la biocompatibilidad y bioactividad de MTA Fillapex en células osteoblásticas mostraron un efecto citotóxico de este sellador en los primeros períodos de exposición celular. Sin embargo, durante periodos prolongados, la viabilidad celular y la actividad de la enzima ALP han aumentado sustancialmente. También se observó la producción de nódulos mineralizados por coloración Alizarina Roja, demostrando la biocompatibilidad del cemento y la bioactividad después del tiempo de fraguado (Mestieri Lb. et al., 2015).

En un estudio de histocompatibilidad se evaluó la capacidad de dos materiales a base de silicato de calcio, (ProRoot MTA y MMTA), obteniendo como resultados que ambos materiales produce respuestas positivas en la pulpa al usarlas para recubrimientos pulpares, ya que induce la curación en un modelo de lesión de la pulpa de ratas, esto se observó a las 2 y 4 semanas. Las muestras de biopsia se tiñeron y se observaron por microscopía óptica para determinar la formación de puentes dentinarios (Khalil IT et al., 2013).

En otro tipo de estudio se observó que el MTA tiene una mejor capacidad de sellado bacteriano, que puede estar relacionado con menor solubilidad inicial observada para estos materiales en relación con ZOE (Espir CG et al., 2016).

En un estudio parecido al nuestro, compararon el Mineral Trióxido Agregado y un sellador biocerámico Endo Sequence (ERRM), encontraron resultados no satisfactorios para el MTA, los hallazgos del estudio sugieren que tanto el ERRM como el MTA causan un efecto perjudicial cuando se implantan en tejidos subcutáneos de rata después de 7 y 30 días. ERRM es significativamente menos perjudicial para los tejidos que el MTA (Khalil WA et al., 2015).

De los dos cementos evaluados en la presente investigación, se obtuvo como resultado que el cemento Crest piso sobre piso tiene una muy buena biocompatibilidad con los tejidos, demostrando generar una baja respuesta inflamatoria y tener una alta biocompatibilidad, incluso muy igual a la del Mineral Trióxido Agregado (MTA).

El cemento que investigamos Crest piso sobre se utiliza en la industria de la construcción como un cemento sobre pisos o azulejos ya existentes, es un material excelente para llevar a acabo remodelaciones en menos tiempo, sin complicaciones. Cumple con las especificaciones de la Norma ANSI-118.4 para adhesivos de su tipo.

Por la parecida composición con el MTA es que lleva varios años en investigaciones de biocompatibilidad, sin embargo hasta hoy en día no es usado como sustituto del MTA.

Por otro lado en otro estudio se evaluó la citotoxicidad y la adhesión celular de Mineral Trióxido Agregado (MTA) y Biodentine (BD) sobre los fibroblastos del ligamento periodontal. Los resultados exhibieron que tanto el MTA como el Biodentine mostraron células vivas hasta 7 días. Se demostraron más expresiones de Integrina  $\beta 1$  y Vinculina en el grupo control, seguido de Biodentine y MTA, que también mostraron pérdida celular y cambios morfológicos. Hubo una diferencia significativa en los grupos experimentales cultivados durante 5 y 7 días en comparación con el control, pero no hubo diferencia estadística significativa entre ambos cementos. Ninguno de los materiales fue citotóxico durante el tiempo evaluado y hubo un aumento de la adhesión celular a través de la expresión de contactos focales observados en el caso de Biodentine, seguido de MTA, pero no significativamente. (Escobar-García DM et al., 2016)

Los resultados mostrados publicados por Escobar-Garcia et al., en el 2016, están de acuerdo con la presente investigación, ya que tanto el cemento MTA y el Crest piso sobre piso presentan una excelente biocompatibilidad. Estos resultados pueden ser un argumento adicional para apoyar el uso de los cementos a Portland en la práctica odontológica. Observando que el cemento Crest piso sobre piso podría ser otra alternativa además del cemento MTA.

## 8. CONCLUSIONES

En este estudio se encontró que el material Crest piso sobre piso muestra buena biocompatibilidad e incluso demostró una biocompatibilidad similar a la del MTA.

Se encontró que el material Crest piso sobre piso presenta una muy buena biocompatibilidad, siendo muy semejante a la del MTA, probada mediante la expresión de Sod1 y de la quimiocina CCL4.

El presente estudio nos demuestra que ambos cementos son materiales que pueden utilizarse para los procedimientos dentales clínicos, por su excelente biocompatibilidad, encontrando una atractiva alternativa al MTA. Sin embargo son necesarios más estudios acerca de su citotoxicidad, tiempos de fraguado, capacidad bactericida y adhesión.

## 9. LITERATURA CITADA

1. Ambica Khetarpal, Sarika Chaudhry, Sangeeta Talwar, and Mahesh Verma. Endodontic management of open apex using MTA and platelet – rich fibrin membrane barrier: A newer matrix concept. *J Clin Exp Dent*. 2013;5(5):291-294.
2. Ángela M. VILLEGAS, Everaldo NARANJO, Diana M. GÓMEZ. Tests of biocompatibility for dental materials. Review of the literature. *Rev. Estomat*. 2008;16(2):38-44.
3. Chenxi Zhu, Bin Ju, and Rong Ni. Clinical outcome of direct pulp capping with MTA or calcium hydroxide: a systematic review and meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(10):17055–17060.
4. Choi YJ, Lee JY, Chung CP, Park YJ. Cell-penetrating superoxide dismutase attenuates oxidative stress-induced senescence by regulating the p53-p21(Cip1) pathway and restores osteoblastic differentiation in human dental pulp stem cells. *Int J Nanomedicine*. 2012;7:5091-106.
5. Cohen S, Burns RC, Endodoncia las vias de la pulpa, 8° edición, 2004; pp.257-279
6. Dawood AE, Parashos P. Wong RH, Reynolds EC, Manton DJ. Calcium Silicate based cements: composition, properties, and clinical applications. *J Investig ClinDent*. 2015.
7. Driscoll KE. Macrophage inflammatory proteins: biology and role in pulmonary inflammation. *Exp Lung Res*. 1994;20(6):473-90.
8. Escobar-García DM, Aguirre-López E, Méndez-González V, Pozos-Guillén A. Cytotoxicity and Initial Biocompatibility of Endodontic Biomaterials (MTA and Biodentine™) Used as Root-End Filling Materials. *Biomed Res Int*. 2016;(4):792-961.
9. Espir CG, Guerreiro-Tanomaru JM, Spin-Neto R, Chávez-Andrade GM, Berbert FL, Tanomaru-Filho M. Solubility and bacterial sealing ability of MTA and root-end filling materials. *J Appl Oral Sci*. 2016;24(2):121-5.
10. Gauri Malik, Poonam Bogra, Simranjeet Singh, and Rupandeep K Samra. Comparative evaluation of intracanal sealing ability of mineral trioxide aggregate and glass ionomer cement: An *in vitro* study. *J Conserv Dent*. 2013;16(6):540–545.

11. Gociu M, Pătroi D, Prejmerean C, Păstrăv O, Boboia S, Prodan D, Moldovan M. Biology and cytotoxicity of dental materials: an *in vitro* study. *Rom J Morphol Embryo*. 2013;54(2):261-5.
12. Grégory Caron, Jean Azérad, Marie-Odile Faure, Pierre Machtou, and Yves Boucher. Use of a new retrograde filling material (Biodentine) for endodontic surgery: two case reports. *Int J Oral Sci*. 2014;6(4):250–253.
13. Grossman I, Abu el Naag A, Peled M. Root-end filling materials in apicectomy—a review. *Refuat Hapeh Vehashinayim (1993)*. 2003;20(2):49-54,80.
14. Hitesh Chohan, Harisha Dewan, B. M. Annapoorna and M. K. Manjunath. Comparative evaluation of sealing ability of glass ionomer-resin continuum as root-end filling materials: An *in vitro* study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2015;5(6):488–493.
15. Kenji Watanabe, Shuichi Shibuya, Yusuke Ozawa, Hidetoshi Nojiri, Naotaka Izuo, Koutaro Yokote, and Takahiko Shimizu. Superoxide Dismutase 1 Loss Disturbs Intracellular Redox Signaling, Resulting in Global Age-Related Pathological Changes. *Biomed Res Int*. 2014;2014:140165.
16. Khalil IT, Sarkis T, Naaman A. MM-MTA for direct pulp capping: a histologic comparison with ProRoot MTA in rat molars. *J Contemp Dent Pract*. 2013;14(6):1019-23.
17. Khalil WA, Abunasef SK. Can Mineral Trioxide Aggregate and Nanoparticulate EndoSequence Root Repair Material Produce Injurious Effects to Rat Subcutaneous Tissues?. *J Endod*. 2015 Jul;41(7):1151-6.
18. Kim S<sup>1</sup>, Kratchman S. Modern endodontic surgery concepts and practice: a review. *J Endod*. 2006;32(7):601-23.
19. Leiendecker AP<sup>1</sup>, Qi YP, Sawyer AN, Niu LN, Agee KA, Loushine RJ, Weller RN, Pashley DH, Tay FR. Effects of calcium silicate based materials on collagen matrix integrity of mineralized dentin. *J Endod*. 2012;38(6):829-33.
20. Leticia Boldrin MESTIERI, Ana Lívia GOMES-CORNÉLIO, Elisandra, Márcia RODRIGUES, Loise Pedrosa SALLES, Roberta BOSSO-MARTELO, Juliane Maria GUERREIRO-TANOMARU, Mário TANOMARU-FILHO. Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based endodontic sealers in human dental pulp cells. *J. Appl. Oral Sci*. vol.23 no.5 Bauru.2015.
21. Mario Cesar Salinas Carmona. *Inmunologia Medica*, 1º edición, 2008;pp17-18.

22. Mohammadi Z, Shalavi S, Jafarzadeh H, Bhandi S, Patil S. Genotoxicity of Endodontic Materials: A Critical Review. *J Contemp Dent Pract.* 2015;16(8):6926.
23. Ogasawara T, Yoshimine Y, Yamamoto M, Akamine. Biocompatibility of an experimental glass-ionomer cement sealer in rat mandibular bone. *A Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003;96(4):458-65.
24. Peter Z Tawil, DMD, MS, FRCDC(C), Dip. ABE, Derek J. Duggan, BDentSc, MS, Dip. ABE, and Johnah C. Galicia, DMD, MS, PhD. MTA: A Clinical Review. *Compend Contin Educ Dent.* 2015;36(4):247–264.
25. Serrano-Giménez M, Sánchez-Torres A, Gay-Escoda C. Prognostic factors on periapical surgery: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2015 1;20(6):715-22.
26. Watson TF, Atmeh AR, Sajini S, Cook RJ, Festy F. Present and future of glass-ionomers and calcium-silicate cements as bioactive materials in dentistry: biophotonics-based interfacial analyses in health and disease. *Dent Mater.* 2014;30(1):50-61.
27. Wong AW, Zhang C, Chu CH. A systematic review of nonsurgical single-visit versus multiple-visit endodontic treatment. *Clin Cosmet Investig Dent.* 2014,8;6:45-5.

## RESUMEN BIOGRÁFICO

Adriana Briseyda Peña Bolaños  
Candidato para el Grado de  
Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia

Tesis: BIOCMPATIBILIDAD DE UN CEMENTO POTENCIAL MEDIANTE  
MARCADORES INFLAMATORIOS

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacido en Río Bravo, Tamaulipas el 23 de Enero de 1991, hijo de Jesús Armando Peña Hinojosa y María Guadalupe Bolaños Carmona.

Educación: Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Cirujano Dentista en 2014.