

Luna Jaramillo Alejandra Elizabeth

Evaluación de la respuesta inflamatoria del tejido conectivo subcutáneo de ratas expuesto a diferentes prototipos de cemento a base de silicato de calcio"

2025



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina

"Evaluación de la respuesta inflamatoria del tejido conectivo subcutáneo de rata expuesto a diferentes prototipos de cemento a base de silicato de calcio."

Tesis

Que como parte de los requisitos para
obtener el Grado de

Maestra en Ciencias en Biomedicina

Presenta

ESP. Alejandra Elizabeth Luna Jaramillo

Dirigido por:

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Querétaro, Qro. Noviembre, 2025

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciatario no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:

 **Atribución** — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciatario.

 **NoComercial** — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).

 **SinDerivadas** — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Medicina
Maestría en Ciencias en Biomedicina

“Evaluación de la respuesta inflamatoria del tejido conectivo subcutáneo de rata expuesto a diferentes prototipos de cemento a base de silicato de calcio.”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias en Biomedicina

Presenta

ESP. Alejandra Elizabeth Luna Jaramillo

Dirigido por:

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez
Presidente

Dra. Rosa Martha Pérez Serrano
Secretario

Dr. Pablo García Solís
Vocal

Dr. Juan Carlos Solís Sáinz
Suplente

Mtro. Manuel López Rodríguez
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Noviembre, 2025
México

Dedicatorias

A mi hijo Óscar.

A todas las mujeres que, aun inmersas en la maternidad perseveran en el desarrollo de sus metas personales, académicas y profesionales.

Agradecimientos

Al Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez, por todo.

A mi hijo Oscar, por apoyarme y acompañarme en cada etapa de este camino.

A mis papás por su apoyo incondicional.

A la H. Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación.

Índice

Abreviaturas y siglas	6
Resumen.....	7
Abstract	8
I. Introducción	9
II. Antecedentes	11
La terapia pulpar vital (TPV)	11
Mineral Trióxido Agregado (MTA)	12
Desarrollo de prototipos CHSC	15
Evaluación de la biocompatibilidad de materiales odontológicos.....	17
Estudios previos	21
III. Hipótesis	25
3.1 Hipótesis de trabajo	25
3.2 Hipótesis nula	25
IV. Objetivos	26
4.1 Objetivo general.....	26
4.2 Objetivos específicos.....	26
V. Material y métodos	27
5.1 Aspectos bioéticos del proyecto.....	27
5.2 Procedimientos en los animales	28
5.4 Evaluación histopatológica	36
5.5 Análisis estadístico	37
VI. Resultados	38
VII. Discusión	47
VIII. Conclusión	52

Abreviaturas y siglas

CHSC: Cementos hidráulicos a base de silicato de calcio

HE: Hematoxilina y Eosina

ENT: Enfermedades no transmisibles

TPV: Terapia Pulpal Vital

OMS: Organización Mundial de la Salud

MTA: Trióxido Agregado Mineral

CP: Cemento Portland

CPM: Cemento Portland Modificado

FDA: Food and Drug Administration

TSC: Silicato tricálcico con Oxido de Circonio

RCE: Reacción a cuerpo extraño

BD: Biodentine

MMTA: Micro MTA

NOM: Norma Oficial Mexicana

FBGC: Células gigantes de cuerpo extraño

Resumen

Introducción: La terapia pulpar vital (TPV) es un procedimiento conservador e innovador que se basa en la remoción parcial del tejido pulpar afectado y la colocación directa de un material bioactivo, con el propósito de preservar la porción sana de la pulpa y mantener la vitalidad del órgano dental. El mineral trióxido agregado (MTA) es un cemento hidráulico a base de silicato de calcio (CHSC) que posee excelentes propiedades fisicoquímicas y biológicas, lo que ha permitido su aplicación en la TPV y en otros procedimientos odontológicos. Sin embargo, su elevado costo imposibilita su uso en el sector público de salud en México y en otros países. Debido a esto, se desarrollaron y caracterizaron cuatro prototipos de CHSC con propiedades fisicoquímicas similares a las del MTA. No obstante, sus propiedades biológicas, particularmente el potencial inflamatorio en tejido conectivo subcutáneo de rata, aún no han sido determinadas.

Objetivo: Determinar qué prototipo de CHSC induce la menor respuesta inflamatoria en tejido subcutáneo de la rata.

Métodos: Se utilizaron 20 ratas Wistar macho de 250 a 280 gramos; en cada una se implantaron seis tubos de polietileno estériles que contenían los cuatro prototipos de CHSC (w175, z175, w175z25 y w10z10), MTA-Angelus (control positivo) y un tubo vacío (control negativo). Después de 3, 7, 14 y 28 días, se seleccionaron aleatoriamente grupos de cinco ratas y se practicó eutanasia para recuperar los implantes y el tejido adyacente. Los tejidos fueron fijados en formalina, deshidratados, aclarados e incluidos en parafina para su corte y posterior tinción con hematoxilina-eosina. Se evaluaron el número de células inflamatorias, el grosor de la cápsula fibrosa, y la presencia de edema, necrosis o calcificaciones distróficas mediante el software ImageJ.

Resultados: Se observó una disminución progresiva en el número de células inflamatorias y del grosor de la cápsula fibrosa en todos los grupos a lo largo del periodo experimental, lo que refleja una adecuada respuesta tisular frente a los materiales evaluados. Los prototipos z125 y w10z10 mostraron diferencias significativas en el número de células respecto al control negativo en determinados intervalos. MTA-Angelus presentó la cápsula fibrosa más delgada a los 14 días y la más gruesa a los 28 días. El prototipo w175 presentó la menor respuesta inflamatoria entre los materiales evaluados. No se evidenció edema ni necrosis, y a los 28 días se observó calcificación distrófica en todos los grupos, excepto en el control negativo.

Conclusión: En términos generales, los cementos hidráulicos a base de silicato de calcio (CHSC) mostraron una biocompatibilidad comparable a la de MTA-Angelus, lo que indica su potencial como alternativa eficaz y de menor costo para su uso en terapias pulpares vitales.

Palabras clave: TPV, MTA, respuesta inflamatoria, tejido conectivo, ratas.

Abstract

Introduction: Vital pulp therapy (VPT) is an innovative, conservative, and alternative treatment that involves the partial removal of the affected dental pulp and the direct placement of a bioactive material to preserve the healthy pulp and maintain dental vitality. Mineral trioxide aggregate (MTA) is a calcium silicate-based hydraulic cement (CHSC) that has been extensively studied and has been shown to have excellent physicochemical and biological properties for use in VPT and other treatments. However, its high cost precludes its use in the public health sector in Mexico and other countries. Therefore, four CHSC prototypes with similar physicochemical properties were developed and characterized, but their biological properties, particularly their inflammatory potential in rat subcutaneous tissue, are still unknown.

Objective: To determine which CHSC prototype induces the least inflammatory response.

Methods: Twenty male Wistar rats weighing 250 to 280 grams were used. In each, six sterile polyethylene tubes containing the CHSCs (w175, z175, w175z25, w10z10), MTA-Angelus (positive control), and an empty tube (negative control) were implanted subcutaneously. After the experimental time of 3, 7, 14, and 28 days, a group of five rats was randomly selected and euthanized for the recovery of the implants and adjacent tissue. The tissues were fixed in formalin, dehydrated, rinsed, and embedded in paraffin for sectioning and subsequent hematoxylin-eosin staining. The number of inflammatory cells, capsule thickness, and the presence of edema, necrosis, and dystrophic calcifications were evaluated using ImageJ software.

Results: The number of inflammatory cells and the thickness of the fibrous capsule adjacent to the implants progressively decreased over time at all periods analyzed. The z125 and w10z10 prototypes showed differences in the number of inflammatory cells compared to the negative control at different time points. MTA Angelus presented the thinnest capsule at 14 days and the thickest at 28 days. No edema or necrosis was observed in any case. The w175 prototype induced a lower inflammatory response compared to the other prototypes. On 28 days, dystrophic calcification was observed in all groups except the empty control.

Conclusion: In general terms, calcium silicate-based hydraulic cements (CSHC) showed a biocompatibility comparable to that of MTA-Angelus, which indicates their potential as an effective and lower-cost alternative for use in vital pulp therapies.

Keywords: VPT, MTA, inflammatory response, connective tissue, rats.

I. Introducción

Las enfermedades bucodentales representan un grave problema de salud pública a nivel global; en la actualidad, se estima que afectan aproximadamente a 3.500 millones de personas en todo el mundo. Son consideradas las patologías más extendidas entre todas las que afectan al ser humano, superando incluso, en número de casos, a la suma de las cinco principales enfermedades no transmisibles: los trastornos mentales, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes Mellitus (tipo 1 y 2), las enfermedades respiratorias crónicas y el cáncer. Su distribución es desigual entre los grupos poblacionales y lamentablemente, evidencian una mayor carga de morbilidad en los grupos más desfavorecidos y vulnerables de la sociedad como niños y niñas, personas con discapacidad, personas en situación de calle y adultos mayores (OMS, 2022).

El Informe sobre la Situación Mundial de la Salud Bucodental de la OMS (2022) indica que el gasto público y privado destinado a estas enfermedades alcanza los 390 000 millones de dólares al año.

Entre las enfermedades que contribuyen significativamente a estas cifras, la caries dental ocupa un lugar destacado, afectando a más de un tercio de la población mundial. Esta patología está presente en todos los grupos etarios; afectando aproximadamente a 514 millones de personas en el mundo. Entre los factores de riesgo más relevantes se encuentran la higiene oral deficiente y el consumo elevado de azúcares(OMS, 2022).

Según Casals et al., (2014), la caries dental es una enfermedad infecciosa, multifactorial, crónica y dinámica que provoca la desmineralización progresiva de los tejidos duros del diente, como resultado del metabolismo bacteriano de los carbohidratos que, de no revertirse, puede provocar cavitación del esmalte y daño secundario a la dentina y la pulpa.

La pulpa dental es un tejido blando, no mineralizado, altamente vascularizado e inervado, localizado en el interior de los dientes. Sus principales funciones incluyen

la formación, nutrición e hidratación de la dentina, así como conferir al complejo dentario capacidades sensoriales y defensivas (Berutti et al, 2017).

Cuando la caries dental no se trata oportunamente, se generará una irritación microbiana en el tejido pulpar, lo que resultará en una pulpitis irreversible, aunque esta condición también puede desencadenarse por estímulos térmicos o mecánicos, por irritación química o como resultado de un traumatismo (Shafer et al., 1988).

Mediante un diagnóstico preciso del estado de la pulpa dental, en la mayoría de los casos se requiere realizar un tratamiento de conductos, comúnmente conocido como endodoncia, procedimiento que consiste en la eliminación completa del tejido pulpar (Cohen & Burns, 2016). Cuando este tratamiento se lleva a cabo de manera adecuada, presenta una alta tasa de éxito, ampliamente documentada en la literatura científica (Ng et al., 2008).

No obstante, también se ha demostrado que perder la función del tejido pulpar trae consigo múltiples desventajas, entre las que destacan; mayor riesgo a la fractura (Fuss et al., 2001), alteraciones morfológicas estructurales de la dentina, pérdida de los mecanismos propioceptivos protectores (Lertchirakarn et al., 2003), decoloración de la corona dental (Krastl et al., 2013), una mayor susceptibilidad a caries (Mehrdad et al., 2011) y la ausencia de la capacidad defensiva del complejo pulpa-dentina (Asgary et al., 2014).

Además, la endodoncia es un tratamiento costoso, debido a que es realizado por odontólogos especialistas que emplean equipos y materiales de alta precisión, lo que limita su accesibilidad para una gran parte de la población. Por esta razón, no suele estar incluido en la cobertura de los servicios de Salud Pública en México ni en muchos otros países (Sánchez-Lara y Tajonar et al., 2022).

II. Antecedentes

Gracias a los avances en el campo de la biología pulpar y el desarrollo de materiales bioactivos (Simon et al., 2013), algunas desventajas del tratamiento de conductos se pueden evitar si se mantiene la vitalidad de la pulpa mediante procedimientos innovadores y conservadores, los cuales pueden realizarse en menor tiempo y a un costo más accesible (Asgary et al., 2014).

La terapia pulpar vital (TPV)

Es un tratamiento alternativo que consiste en la remoción parcial del tejido pulpar afectado y en la colocación directa de un material bioactivo (Akhlaghi & Khademi, 2015). Su propósito principal es preservar la vitalidad de la pulpa y mantener la integridad del órgano dental comprometido. Presenta una serie de opciones en sus tratamientos como el recubrimiento pulpar directo o indirecto (Sena et al., 2020). Años atrás, dichos procedimientos solo se indicaban para la dentición primaria; sin embargo, recientes estudios han demostrado la capacidad regenerativa y reparadora del tejido pulpar en la dentición adulta (Taha & Khazali, 2017).

Para llevar a cabo un tratamiento de TPV es fundamental contar con un diagnóstico oportuno del estado de la pulpa dental y de los tejidos peri radiculares, así como la elección y aplicación de un material adecuado que garantice un sellado hermético para evitar la contaminación bacteriana, que sea capaz de promover la conservación de la vitalidad del tejido pulpar (Parisay et al., 2015), la cicatrización y regeneración tisular, además de ser biocompatible, no tóxico ni reabsorbible (Chaple Gil & Herrero Herrera, 2007).

En la actualidad la industria odontológica cuenta con una amplia variedad de cementos, los cuales pueden clasificarse según sus principales componentes químicos: óxido de cinc, hidróxido de calcio, ionómero de vidrio, silicona, resina o cementos biocerámicos (Viapiana et al., 2016).

Los cementos biocerámicos se dividen en dos grupos: los cementos hidráulicos a base de silicato de calcio (CHSC) y los cementos a base de fosfato de calcio. Ambos, se consideran biocompatibles, ya que no inducen una respuesta inflamatoria crónica de los tejidos periapicales con los que entran en contacto. Además, presentan estabilidad en ambientes biológicos, poseen un pH alcalino, no presentan contracción durante el fraguado, son radiopacos e insolubles en fluidos bucales, y han demostrado la formación de hidroxiapatita durante su proceso de endurecimiento (Gandolfi et al., 2010).

Los más utilizados actualmente para la TPV son los CHSC como el cemento Portland, el mineral trióxido agregado (MTA), Biodentine y Endo CPM (Zordan-Bronzel et al., 2019).

Mineral Trióxido Agregado (MTA)

Se aprobó por la U.S. Food and Drug Administration (FDA) en 1988 (Fuentes & Carrasco, 2005) y, desde entonces, ha generado un interés creciente en su aplicación como cemento endodóntico, debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas superiores, que lo hacen altamente apropiado para terapias tanto en pulpa vital como en pulpas necróticas (Sirvent et al., 2010).

Este material ha sido ampliamente investigado por su eficacia como sellador de las vías de comunicación entre el sistema de conductos radiculares y los tejidos perirradiculares. Se ha empleado en tratamientos para dientes vitales como pulpotoromías, recubrimientos pulpares directos y apicoformaciones, así como en dientes no vitales, en procedimientos de cirugía endodóntica o en la reparación de perforaciones a nivel de furca, perforaciones laterales o procesos de reabsorción.

Estos cementos han demostrado favorecer la formación de hueso y cemento radicular, además de promover la regeneración del ligamento periodontal sin provocar inflamación (Sirvent et al., 2010).

Sus propiedades han sido ampliamente reportadas tanto *in vitro* como *in vivo* en la literatura; aún que son escasos los estudios a largo plazo. A pesar de ello, los resultados obtenidos a corto plazo indican que se trata de un material altamente prometedor para diversas aplicaciones clínicas (Miñana et al., 2002).

Está constituido por partículas finas de naturaleza hidrófila que fraguan en presencia de humedad, formando un gel coloidal que inicialmente presenta un pH de 10.2 que se eleva hasta 12.5 después de tres horas.

Sus principales componentes incluyen: silicato tricálcico (3CaO-SiO_2), silicato dicálcico (2CaO-SiO_2), aluminato tricálcico ($3\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$), aluminato férreo tetracálcico ($4\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-Fe}_2\text{O}_3$), sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4\text{-2H}_2\text{O}$) y sílice cristalina (SiO_2), además de restos insolubles como óxido de calcio (CaO), sulfato de potasio (K_2SO_4), sulfato de sodio (Na_2SO_4) y óxido de magnesio (MgO) (Chaple & Herrero, 2007).

Además, puede contener pequeñas cantidades de otros óxidos minerales, como el óxido de bismuto, que contribuyen a dotar al material de propiedades físicas y químicas para su uso clínico (Torabinejad & Chivian, 1999).

El comportamiento del MTA en el tejido conectivo es similar al del hidróxido de calcio. El trióxido de calcio presente en su composición, al mezclarse con agua, se transforma en óxido de calcio, el cual, al entrar en contacto con la humedad de los fluidos tisulares, se convierte en hidróxido de calcio. Este último se disocia en iones hidroxilo y calcio, que reaccionan con el dióxido de carbono del tejido conectivo para formar cristales de carbonato de calcio (calcita). Estos cristales liberan iones calcio e hidroxilos al microambiente tisular. Los iones Ca^{2+} interactúan con la membrana de los fibroblastos y activan sus rutas de señalización intracelular dependientes de calcio. Esta activación estimula la transcripción de genes asociados a la matriz extracelular, aumentando la síntesis y liberación de fibronectina. La fibronectina secretada favorece la adhesión, migración y proliferación celular, y actúa como sustrato que promueve la diferenciación de fibroblastos hacia células formadoras de

tejido duro, tales como osteoblastos, cementoblastos u odontoblastos (Seux et al., 1991).

La primera presentación comercial de este tipo de cementos fue ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK), introducida en 1998, en su versión de color gris. Posteriormente en el año 2000, se lanzó al mercado MTA Angelus, una versión en color blanco (Angelus Soluções Odontológicas, Londrina, Brasil) (Chaple Gil & Herrero Herrera, 2007), como una alternativa estética al MTA gris, especialmente en procedimientos donde la apariencia del diente es un factor relevante (Song et al., 2006).

A pesar de las excelentes propiedades fisicoquímicas y biológicas que caracterizan al MTA Angelus, su uso en instituciones públicas se ve considerablemente limitado por su elevado costo. Los presupuestos destinados al área suelen ser insuficientes para cubrir la demanda de tratamientos que requieren el empleo de materiales de alto costo, de importación o equipos de precisión. Esta situación limita la posibilidad de ofrecer la TPV como una alternativa de tratamiento la cual, aunque conservadora y altamente efectiva, dependen del uso de materiales de calidad que garanticen biocompatibilidad, sellado hermético y capacidad regenerativa. Como consecuencia, en muchas instituciones públicas se opta por tratamientos más invasivos como la exodoncia, ya que no se cuenta con los materiales necesarios para preservar la vitalidad pulpar y por ende la integridad del órgano dental.

Ante este panorama, surge la necesidad de desarrollar nuevos CHSC, que cuenten con las propiedades fisicoquímicas y biológicas necesarias para su aplicación en la TPV, y que sean de un costo significativamente menor, lo que hace posible su implementación en el sector público de salud en el estado de Querétaro, reduciendo las barreras económicas y contribuyendo a la equidad en la atención odontológica, en concordancia con las metas de salud pública orientadas a la prevención y conservación de la salud bucodental.

Desarrollo de prototipos CHSC

En el Laboratorio de Investigación Odontológica Multidisciplinaria (LIOM) de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro se desarrollaron y caracterizaron prototipos de CHSC, cuatro de estos han superado las pruebas físicas, químicas, mecánicas y biológicas y han demostrado las mejores condiciones en microestructura, composición, radiopacidad, tiempo de fraguado, solubilidad, pH y bioactividad (Vega-González et al., 2024).

Los CHSC que han sido desarrollados presentan la siguiente composición:

- 1) El prototipo w175 está compuesto por polvo de silicato de calcio con 17.5% de peso de tungstato de calcio.
- 2) El prototipo z175 está compuesto por polvo de silicato de calcio con 17.5% de peso de óxido de zirconio.
- 3) El prototipo w175z25 está compuesto por polvo de silicato de calcio con 17.5% de tungstato de calcio y 2.5% en peso de óxido de zirconio
- 4) El prototipo w10z10 está compuesto por polvo de silicato de calcio con 10% de tungstato de calcio y 10% de óxido de zirconio.

Todos los prototipos están compuestos principalmente de calcio, silicio y aluminio con un porcentaje significativo de radiopacificador (óxido de zirconio o tungstato de calcio).

El prototipo w175 es el único de los prototipos que presenta una composición química muy similar a la del MTA Angelus, tanto en el porcentaje de los elementos principales como en el tipo de agente radiopacificador (tungstato de calcio). En contraste, el prototipo z175, no contiene tungstato de calcio; en su lugar se incorpora óxido de zirconio. Por su parte, los prototipos w175z25 y w10z10, presentan una combinación de óxido de zirconio y tungstato de calcio en diferentes proporciones, además de mostrar mayores variaciones en su composición elemental en comparación con el MTA Angelus.

Debido a sus componentes químicos, presentan una radiopacidad superior a la establecida por la norma ISO 4049 equivalente a 3 mm de aluminio (ISO 4049:2019)

Una de las propiedades más relevantes de estos CHSC es su tiempo de fraguado, ya que los primeros materiales comerciales, como ProRoot MTA (Dentsply Tulsa Dental, Tulsa, OK, EE. UU.), presentaban tiempos de fraguado prolongados de hasta 2.5 horas, y el MTA Angelus aproximadamente de 80 minutos, mientras que estos prototipos tienen un tiempo de fraguado final que va desde 61 hasta 72 minutos dependiendo el prototipo. Presentan valores inferiores de solubilidad al límite recomendado del 3 % establecido por la norma ISO 9917-1:2012. A las 24 horas, los prototipos que tienen mayor cantidad de radiopacificador son más solubles; en este caso, el prototipo w175 es el que tiene una menor solubilidad. Estos cementos son capaces de promover un pH alcalino que va desde 10.5 hasta 12 en los primeros 7 días, el cual disminuye significativamente con el tiempo, presentan la capacidad de producir precipitados de calcio/fosfato, hidroxiapatita y calcita. Las propiedades físicas de los prototipos son comparables con el MTA Angelus; incluso algunos presentan un mejor rendimiento, mientras que otros cumplen con los requisitos mínimos para su aplicación en la TPV (Vega-González et al., 2024).

Es importante señalar que los prototipos desarrollados presentan un costo promedio de producción hasta 150 veces menor en comparación con el MTA Angelus, cuyo precio comercial en su presentación de un gramo, asciende aproximadamente hasta \$1,500 pesos. En contraste, el costo estimado de elaboración de cada prototipo es considerablemente inferior: el prototipo w175 tiene un costo aproximado de \$8.83, el z175 de \$2.71, el w175z25 de \$9.20 y el w10z10 de \$6.58 por gramo. Estos valores evidencian una reducción sustancial en los costos de fabricación sin comprometer el objetivo de obtener materiales con propiedades aptas para su evaluación biológica.

Al realizar una comparación directa, se observa que las diferencias económicas son extremadamente marcadas. Por ejemplo, el prototipo w175 resulta casi 170 veces

más económico que el MTA Angelus, mientras que el z175 supera incluso esta proporción al ser 550 veces más accesible. Los prototipos z175z25 y w10z10 mantienen también reducciones significativas, posicionándose como opciones considerablemente más costo-efectivas.

Si bien a estos montos deben añadirse gastos operativos asociados al proceso de fabricación (como electricidad, agua, alcohol, gas entre otros), dichos costos son marginales y no representan un incremento relevante en el costo final de cada prototipo (Vega-González et al., 2024).

Sin embargo, todo material usado en odontología que cumpla con las propiedades fisicoquímicas, también debe ser evaluado bajo los lineamientos de la Norma Internacional ISO 7405:2008 que especifica los métodos de ensayo utilizados en la evaluación de los efectos biológicos de los productos que se utilizan en odontología. Debido a que pueden presentar efectos adversos que pueden ir desde la toxicidad leve, hasta la inflamación, alergia y mutabilidad, la evaluación del potencial citotóxico puede tener como variables; el tiempo de exposición en boca, las fuerzas aplicadas sobre el material para obtener la respuesta biológica esperada y las fuerzas de fatiga a corto, mediano y largo plazo (Rojas.,1995).

Evaluación de la biocompatibilidad de materiales odontológicos

Para determinar la biocompatibilidad de un material, es necesario realizar una serie progresiva de pruebas que comprenden ensayos *in vitro*, seguidos de pruebas de uso en modelos animales y, finalmente, ensayos clínicos en humanos (Quintana et al., 2003).

Las pruebas iniciales, también llamadas primarias o *in vitro* consisten en exponer el material a un sistema biológico controlado (Costa et al., 1997) utilizando para este fin tubos de ensayo o placas de cultivo celular. Para ello, se emplean medios biológicos específicos como células de mamíferos, organelos celulares, tejidos, bacterias o enzimas, con la finalidad de analizar diferentes parámetros, entre ellos

la viabilidad, muerte celular, la actividad funcional de las células y, en algunos casos, la integridad del material genético (Kawahara, 1968).

Los ensayos *in vitro* resultan de gran utilidad para la evaluación preliminar de los efectos biológicos de los biomateriales ya que ofrecen rapidez en los resultados y una alta relación costo-efectividad. Sin embargo, las respuestas *in vitro* no siempre reflejan de manera precisa las reacciones biológicas *in vivo*, ya que las condiciones experimentales en el laboratorio representan únicamente una fracción de las que se presentan en un organismo vivo (Ríos et al., 2001).

Las pruebas *in vivo* constituyen una etapa fundamental en la evaluación biológica de los biomateriales, ya que permiten analizar las respuestas fisiológicas y tisulares que se producen cuando un material entra en contacto directo con un organismo vivo. Estas pruebas hacen posible la observación de procesos inflamatorios, de cicatrización y de respuesta inmunitaria, proporcionando información sobre el comportamiento del material en condiciones biológicas complejas (Anusavice, 2004).

Dentro de este tipo de evaluaciones se incluyen los ensayos de irritación en mucosas, que determinan la capacidad del material para provocar reacciones locales; las pruebas de sensibilidad cutánea, orientadas a detectar posibles respuestas alérgicas o de hipersensibilidad; y los ensayos de implantación mediante los cuales se examina la respuesta del tejido frente a la presencia del material, valorando su biocompatibilidad, grado de inflamación, encapsulamiento o integración tisular (Schmalz et al, 2017).

La reacción inflamatoria es un proceso biológico complejo mediante el cual se reclutan células y moléculas del sistema inmune innato desde el torrente sanguíneo hacia los tejidos, con el propósito de eliminar agentes patógenos o cuerpos extraños. Se caracteriza por cuatro signos: calor, dolor, rubor y tumor, los cuales reflejan la acción de citoquinas y otros mediadores inflamatorios sobre los vasos sanguíneos locales. Durante este proceso, la vasodilatación y el aumento de la

permeabilidad capilar incrementan el flujo sanguíneo y permiten la salida de líquido el tejido afectado, lo que explica el aumento de la temperatura, el enrojecimiento y la tumefacción. Además, las citoquinas y los fragmentos del complemento ejercen efectos significativos sobre el endotelio vascular, que a su vez puede secretar más mediadores inflamatorios en respuesta a la infección o al daño tisular, dichas citocinas modifican las propiedades adhesivas del endotelio, promoviendo la adherencia y migración de los leucocitos hacia sitio de lesión, donde son atraídos por quimiocinas específicas (Kenneth Murphy, 2008).

Los principales tipos de células observados durante la fase inicial de una respuesta inflamatoria son macrófagos y neutrófilos; se reclutan grandes números de estos últimos hacia el tejido infectado e inflamado. De esta manera, los macrófagos y los neutrófilos también se conocen como células inflamatorias. El flujo de neutrófilos hacia el sitio de la lesión va seguido poco tiempo después por monocitos, que rápidamente se diferencian hacia macrófagos, lo que refuerza y sostiene la respuesta inmunitaria innata (Kenneth Murphy, 2008).

Para las pruebas *in vivo*, los animales más utilizados por su similitud con el ser humano en cuanto a la respuesta tisular son los ratones, las ratas, los hurones y los conejos; sin embargo, también se emplean ovejas, monos, bovinos, cerdos, perros y gatos (Anusavice, 2004). Dentro de ellos, las ratas representan el modelo experimental por excelencia para la evaluación de la respuesta del tejido subcutáneo frente a la implantación de biomateriales, debido a su tamaño adecuado, fácil manipulación, bajo costo y control experimental, lo que permite obtener resultados confiables en períodos relativamente cortos (Domínguez-Pérez, 2015).

La implantación de biomateriales desencadena inevitablemente una reacción inflamatoria local, cuyo propósito es proteger del daño, aislar o eliminar el material extraño e iniciar la reparación tisular (Baumann & Gauldie, 1994). Este proceso se denomina reacción a cuerpo extraño (RCE) y se desarrolla en dos fases: aguda y crónica.

La fase aguda tiene una duración de horas a días (Nyska et al., 2014). Inicia con adsorción de proteínas sobre la superficie del biomaterial, formando una capa compuesta por albúmina, fibrinógeno, fragmentos del complemento y anticuerpos (Luttkhuizen et al., 2006). Al mismo tiempo, el procedimiento quirúrgico ocasiona daño microvascular y tisular, provocando la liberación de histamina y citoquinas proinflamatorias que llevan a cabo los mastocitos locales, estimulando la migración de neutrófilos y monocitos hacia el implante (Tang et al., 1998), generando una mayor expresión de moléculas de adhesión, lo que provoca la extravasación de neutrófilos del torrente sanguíneo y su migración al implante, potenciando la inflamación mediante la secreción de citocinas proinflamatorias adicionales e induce la angiogénesis mediante la secreción de factores angiogénicos (Rücker et al., 2006).

Posteriormente, durante la fase crónica, los neutrófilos son reemplazados por monocitos que se diferenciarán en macrófagos, y se pueden encontrar durante las primeras semanas tras la implantación y en la etapa final del proceso de adaptación (Rücker et al., 2006). Los macrófagos son considerados las células clave de esta etapa, ya que regulan una red de mediadores (Amini et al., 2011), pero cuando experimentan una fagocitosis frustrada (es decir, sus esfuerzos por eliminar el material extraño no son efectivos), se diferencian y se fusionan en células gigantes de cuerpo extraño (FBGC) (Shen & Horbett, 2001) formando una capa continua de FBGC que encapsula el biomaterial protegiendo al huésped, dando origen a una cápsula altamente fibrosa y avascular que aísla el biomaterial.

La evaluación de la biocompatibilidad consta de un proceso complejo que integra pruebas *in vitro* e *in vivo*, con el propósito de analizar de manera integral aspectos como la citotoxicidad, las reacciones alérgicas, la irritación local, la inflamación y la toxicidad sistémica y crónica (Katti et al., 2002).

Para garantizar que la evaluación de los biomateriales se realice de forma estandarizada y reproducible, se han establecido lineamientos internacionales recabados en la norma ISO 10993 de la Organización Internacional de

Normalización (ISO). Esta norma específica los procedimientos, criterios y requisitos para la evaluación biológica de dispositivos médicos y materiales destinados al contacto con tejidos humanos (ISO 10993-6:2016).

En el apartado No.6 “Pruebas de efectos locales después de la implantación subcutánea” se especifican los métodos de ensayo para la evaluación de los efectos locales después de la implantación de biomateriales previstos para utilización en productos sanitarios, indica que la muestra de ensayo se implanta en el sitio y en la especie animal apropiada para la evaluar las respuestas del tejido local y que estos ensayos de implantación no están previstos para evaluar o determinar el funcionamiento de la muestra de ensayo respecto a la carga mecánica o funcional (ISO 10993-6:2016).

Los efectos locales se evalúan comparando la respuesta tisular inducida por la muestra en estudio con la generada por los materiales de control, cuyas propiedades de aceptabilidad clínica y biocompatibilidad ya han sido establecidas. El objetivo de estos métodos de ensayo es caracterizar la evolución de la respuesta del tejido tras la implantación de un producto sanitario o biomaterial, incluyendo su integración final o la absorción/degradación del material (ISO 10993-6:2016).

Las pruebas de implantación *in vivo* representan el conjunto de procesos para determinar la biocompatibilidad de un material, y aunque no se puedan extrapolar los datos a humanos, son estrictamente necesarias y ampliamente válidas ya que proporcionan información sobre las respuestas inflamatorias e inmunológicas que son capaces de desencadenar los materiales evaluados (Watts & Paterson, 1992).

Estudios previos

Hace más de una década un grupo de investigadores se propusieron evaluar y comparar la biocompatibilidad del cemento Portland modificado (CPM) y el MTA implantando los cementos contenidos en tubos de silicona y un control (tubo vacío) en el tejido subcutáneo de rata. Reportaron la gravedad de la respuesta inflamatoria mediante parámetros de infiltrado inflamatorio crónico, asignándoles una

puntuación de leve, moderada o severa. Observaron un infiltrado inflamatorio crónico leve en todos los grupos a los 7 y 14 días, aunque en el grupo control se observaron pocas células inflamatorias. El tejido fibroso inmaduro observado a los 7 días evolucionó a una cápsula fibrosa madura a los 30 días y el grupo control presentó la cápsula fibrosa más delgada formada alrededor de los materiales implantados. También observaron células gigantes en el grupo MTA a los 7 y 14 días con una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo CPM (Martínez et al., 2009a).

Khashaba et al., (2011) evaluaron la biocompatibilidad de dos selladores a base de fosfato de calcio (CPS-1 Y CPS-2) con un sellador comercial a base de hidróxido de calcio (Acroseal), llenaron tubos de polietileno con los selladores experimentales y el comercial y los implantaron en tejido conectivo dorsal de ratas, utilizaron tubos vacíos como controles. Con exámenes histopatológicos a los 7,15,30, 60, y 90 días determinaron que el sellador CPS-1 indujo una respuesta inflamatoria grave que se mantuvo durante los 90 días, mientras el CPS-2 y Acroseal presentaron patrones de respuesta similares, con una reacción más grave inicialmente y que disminuyeron con el tiempo, creando una capsula fibrosa fina alrededor del implante con ausencia total de células inflamatorias.

En otro estudio se propusieron evaluar la reacción tisular promovida por un sellador de MTA experimental y compararla con la del cemento MTA, cemento Portland y un control (tubo vacío), a los 7, 14, 30 y 60 días. Evaluaron la densidad numérica de células inflamatorias, la presencia de osteopontina y la detección de estructuras calcificadas. Observaron un proceso inflamatorio moderado en todos los grupos a los 7 y 14 días, reportando una disminución significativa de células a los 60 días; sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos. La presencia de estructuras calcificadas se observó en la cápsula fibrosa adyacente a partir de los 7 días. Llegaron a la conclusión de que el material experimental indujo una respuesta tisular similar a la inducida por los otros cementos evaluados (Viana et al., 2012).

Un grupo de investigación utilizó el mismo método para evaluar la biocompatibilidad de Biodentine y lo comparó con el cemento MTA Angelus, un tubo de polietileno vacío estéril (grupo control) y con óxido de zinc a los 7, 14 y 30 días. Clasificaron la intensidad de la inflamación como no significativo, leve, moderado y severo. En los cortes histológicos del grupo MTA Angelus observaron una respuesta inflamatoria leve, a los 7 días observaron fibras de colágeno inmaduras, fibroblastos y vasos sanguíneos proliferantes, a los 14 y 30 días observaron una mejor organización del tejido conectivo con presencia de numerosos fibroblastos y fibras de colágeno. Tras su análisis sobre las puntuaciones de este grupo no encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al proceso inflamatorio entre los diferentes tiempos experimentales (Mori et al., 2014)

da Fonseca et al., (2016) compararon la respuesta inflamatoria de tejido conectivo subcutáneo de rata expuesta al cemento Biodentine, MTA Angelus un grupo control a los 7, 5, 30 y 60 días, realizaron el reporte del número de células inflamatorias teñidas con hematoxilina y eosina y la densidad numérica de células inmunomarcadas con interleucina-6 (IL-6). A los 7 días, observaron un alto número de células inflamatorias e inmunomarcadas con IL-6 en todos los grupos. Las cápsulas fibrosas de todos los grupos evaluados mostraron una reducción gradual y significativa con el tiempo. A los 60 días se observaron numerosos fibroblastos y haces de fibras de colágeno en ambos grupos.

Mena-Álvarez et al., (2021) realizaron un estudio para evaluar las diferencias en la respuesta tisular a los 15, 30 y 45 a la implantación en tejido conectivo de rata de MTA Angelus, Theracal LC, y MTA Angelus adicionado con un 25% de biovidrio G3, sus hallazgos demostraron que el cemento MTA Angelus indujo el doble de formaciones de calcificaciones distróficas en comparación con el Theracal LC®. La evaluación de la respuesta tisular la realizaron cuantificando el número de células inflamatorias y observaron que la densidad celular disminuyó con el tiempo del implante. En este estudio también se analizaron variables cualitativas, como el tipo de inflamación, el porcentaje de intensidad de la respuesta tisular, calcificación,

edema, necrosis y congestión, entre otras. También evaluaron el grosor de la cápsula fibrosa y reportaron diferencias estadísticamente significativas a los 45 días al comparar los tres grupos. En el cemento Theracal LC no se observaron células inflamatorias a los 45 días. Se concluyó que tanto Theracal LC como MTA Angelus fueron bien tolerados al implantarse en el tejido subcutáneo de rata, no reportaron edema ni necrosis, pero si la formación de calcificaciones distróficas. Según este estudio, los tres materiales presentan una buena biocompatibilidad, siendo MTA Angelus el que presenta la mayor.

Otros autores compararon tres marcas comerciales de CHSC. Los grupos experimentales fueron MTA Angelus, BioMTA, ROOT MTA y un grupo control, los colocaron en tubos de polietileno y los implantaron subcutáneamente en tejido conectivo de raras Wistar macho, pasado el tiempo experimental de 7, 15, 30 y 60 días realizaron la obtención de los tejidos y su procesamiento. La reacción inflamatoria de los tejidos la clasificaron en diferentes puntuaciones, reportando que el grupo BioMTA presentó la mayor respuesta inflamatoria entre los grupos, pero la diferencia no fue significativa, y MTA Angelus mostró la menor formación de cápsula fibrosa en todos los períodos, atribuyendo estos efectos a la variación entre la composición química de cada cemento. (Alimohammadi et al., 2021).

En otro estudio, se dieron a la tarea no solo de estudiar la respuesta del tejido, sino también la capacidad de biominerización de un cemento de agregado nano particulado experimental de trióxido mineral (Nano MTA) en comparación con MTA gris y Fillapex MTA implantados en tejido subcutáneo de ratas Wistar a los 7, 15, 30, 60 y 90 días. Entre los 7 y 15 días el cemento experimental recibió una puntuación de 3 (entre 25 y 125 células inflamatorias) clasificando la reacción tisular como moderada, mientras que Fillapex MTA se clasificó con una puntuación de 4 (125 o más células inflamatorias). A los 30, 60 y 90 días no se observaron diferencias en la respuesta tisular entre los grupos evaluados y todos formaron tejido mineralizado. Concluyeron que Nano MTA tiene una biocompatibilidad y biominerización similares a MTA gris (Dal-Fabbro et al., 2021).

Con base en los antecedentes mencionados, se destaca que el modelo de implantación en tejido conectivo subcutáneo de ratas constituye un método confiable y ampliamente utilizado para evaluar la respuesta inflamatoria frente a distintos biomateriales odontológicos. La presente investigación está encaminada a determinar las diferencias en la respuesta inflamatoria inducida por los cuatro diferentes prototipos de CHSC (w175, z175, w175z25 y w10z10), con el objetivo de establecer cuál de ellos presenta un desempeño más favorable en comparación con el cemento comercial MTA Angelus.

III. Hipótesis

3.1 Hipótesis de trabajo

El prototipo de CHSC w175 induce una respuesta inflamatoria menor que los prototipos z175, w175z25, w10z10 y el MTA Angelus en tejido subcutáneo de rata.

3.2 Hipótesis nula

El prototipo de CHSC w175 no induce una respuesta inflamatoria mayor que los prototipos z175, w175z25, w10z10 y el MTA Angelus en el tejido subcutáneo de rata.

IV. Objetivos

4.1 Objetivo general

Determinar cuál de los prototipos de CHSC (w175, z175, w175z25 o w10z10) induce la menor respuesta inflamatoria en tejido subcutáneo de rata.

4.2 Objetivos específicos

- 4.2.1. Evaluar a los 3, 7, 14 y 28 días la respuesta inflamatoria del tejido subcutáneo de rata posterior a la implantación de los prototipos de CHSC w175, z175, w175z25, w10z10 y MTA Angelus.
- 4.2.2. Comparar los resultados de todas las evaluaciones, en los diferentes tiempos experimentales y de todos los CHSC.

V. Material y métodos

El presente estudio es de diseño experimental *in vivo*, con una muestra conformada por 20 ratas sanas de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), de sexo masculino con peso aproximado de 250 a 280 g. Se utilizaron tubos de polietileno estériles de 3.0 mm de longitud por 1.6 mm de diámetro para contener a los diferentes prototipos de CHSC, el cemento MTA Angelus., (control positivo) y uno vacío (control negativo). El total de la muestra se dividió en 4 grupos experimentales de cinco ratas cada uno y definidos por el tiempo de exposición 3, 7, 14 y 28 días.

Los animales de laboratorio para la experimentación fueron obtenidos en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Unidad la Posta de la Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo y se resguardaron en las mismas instalaciones garantizando las condiciones de higiene, salud, control microbiológico y parasitológico necesarias.

5.1 Aspectos bioéticos del proyecto

El presente proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro, con número de aprobación: BIOM-017/2024-10. Se llevó a cabo bajo los lineamientos establecidos en los artículos 121 a 126 del Título Séptimo, Capítulo Único “De la Investigación que incluya la utilización de animales de experimentación” del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1987. Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (NOM 062-ZOO-1999) de especificaciones y técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y la guía de los institutos de salud de Norteamérica (NIH) para el cuidado y uso de los animales de laboratorio (publicación NIH N° 80-23,1996). Los animales utilizados en el presente proyecto estuvieron bajo los lineamientos y protocolos del Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria y

Zootecnia, Unidad La Posta de la Universidad Michoacana San Nicolás de Hidalgo, conceptuado como una Unidad Académica de apoyo a la investigación científica y a la docencia, que constituye un área prioritaria de recursos animales de interés. La metodología se dividió en tres principales fases:

1) Procedimientos en los animales

Todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron en el quirófano no. 1 bajo la supervisión del responsable del bioterio.

- i. Se anestesió a cada rata vía intraperitoneal con una combinación de ketamina (80mg/kg) y clorhidrato de xilacina (8mg/kg) de acuerdo con su peso. Una vez lograda la anestesia profunda, se corroboró la falta de reflejos y se colocó al animal sobre la mesa de trabajo.
- ii. Se eliminó el pelaje de la zona dorsal aproximadamente un área de 8x8 centímetros y se realizó limpieza con agua y jabón para posteriormente aplicar antisepsia con gasa y yodo.
- iii. Utilizando un bisturí Bard-Parker nº 15 (BD, Franklin Lakes, NJ, EE. UU.) se realizaron tres incisiones en la zona dorsal central de 1 cm cada una y separadas al menos por 1 cm una de otra como se observa en la **Figura 1**.

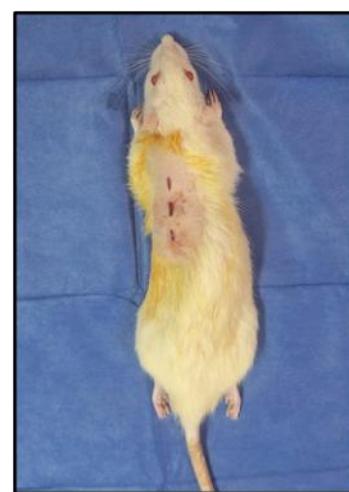


Figura 1. Incisiones en la zona dorsal para la creación de espacios subcutáneos.

iv. Se separaron los planos hacia la derecha y hacia la izquierda de la incisión con ayuda de unas pinzas hemostáticas hasta llegar al espacio “subcutáneo” creando dos “bolsillos”, como se observa en la **Figura 2**, en donde se implantó el tubo de polietileno con el cemento correspondiente en cada uno. Cada cemento se preparó en el momento y siguiendo las instrucciones del fabricante.



Figura 2. Creación de dos “bolsillos” subcutáneos en cada incisión.

v. Una vez implantados los cementos, se aproximaron los tejidos y se unieron con cianocrilato, como se observa en la

Figura 3.



Figura 3. Unión de tejidos con cianocrilato tras la implantación de los cementos, algunos se observan a la derecha de la imagen.

Las ratas se alojaron en una caja individual limpia como se observa en la **Figura 4**, en un ambiente con temperatura controlada, mantenido a 22 ± 1 °C con 55 % de humedad, con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas, y se les proporcionó agua y alimento *ad libitum*.



Figura 4. En la imagen se observan las 20 ratas Wistar, posterior a la implantación, aun bajo los efectos de la anestesia.

Todos los animales se mantuvieron en condiciones adecuadas de salud durante los periodos de implantación. No se registraron complicaciones post operatorias y las zonas quirúrgicas cicatrizaron sin presentar signos de infección como se observa en la **Figura 5**.



Figura 5. Zonas quirúrgicas sin signos de infección a los 7 días.

- vi. Transcurrido el tiempo experimental de 3, 7, 14 y 28 días, en cada rata se practicó eutanasia con pentobarbital (Sedalphorte 100 mg/kg), administrado vía intraperitoneal. Una vez perdidos los signos vitales, se procedió a la recuperación de los tejidos.
- vii. Se colocó el cadáver en la mesa de trabajo; se identificaron las zonas donde se encontraban cada uno de los tubos que contenían los cementos y se recuperaron, junto con los tejidos adyacentes, utilizando unas tijeras de disección, como se observa en la **Figura 6**.



Figura 6. Extirpación de los cementos y del tejido adyacente.

- viii. Cada porción de tejido se colocó en un frasco con solución de formalina tamponada al 10%, se tapó y se identificó, como se observa en la **Figura 7**.



Figura 7. Muestra identificada en un frasco con solución de formalina tamponada al 10%.

Los cadáveres de las ratas fueron colocados en una bolsa amarilla de RPBI y se manejaron y desecharon de acuerdo con los protocolos del Laboratorio Universitario de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UMSNH basados en las Normas Oficiales NOM-062-200-1999 y la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

2) Procedimientos histológicos

Posteriormente los tejidos se colocaron en cassetes de plástico debidamente identificados, después se sometieron a los procesos de deshidratación,

aclaramiento e inclusión en parafina en el procesador de tejidos Van Wessell, bajo la siguiente programación:

Tabla 1. Protocolo de procesamiento histológico de los tejidos

Proceso	Solución	Tiempo/ horas
Deshidratación	Alcohol 70%	1:00
	Alcohol 80%	1:00
	Alcohol 90%	1:00
	Alcohol 100%	1:00
Aclaramiento	Xileno	2:00
	Xileno	2:00
	Xileno	1:00
	Acetona	4:00
Inclusión en parafina	Parafina	4:00
	Parafina	4:00

Una vez procesados los tejidos, se colocaron en láminas como se observa en la **Figura 8**, donde posteriormente se vertió parafina líquida con la finalidad de formar un bloque.



Figura 8. Secuencia de la conformación de los tejidos en bloques de parafina.

Se dejaron enfriar a temperatura ambiente hasta solidificarse, para su conservación en refrigeración. De cada bloque se obtuvieron cortes seriados de 6 micrómetros de espesor como se puede observar en la **Figura 9**.



Figura 9. Cortes seriados en el micrótomo

Estos cortes fueron recolectados en laminillas mediante un baño de flotación (**Figura 10**).

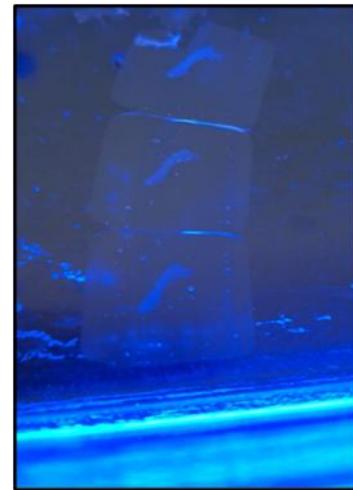


Figura 10. Cortes de 6 micrómetros de espesor en un baño de flotación

Se realizó el desparafinado de los cortes en una estufa a 60 °C durante 30 min y se dejaron a temperatura ambiente para proceder con la tinción.

Cada laminilla se sometió a tinción por el método convencional de hematoxilina-eosina de acuerdo con el siguiente protocolo:

Tabla 2. Protocolo de tinción con Hematoxilina-eosina

Reactivos	Tiempo
Xileno	5 min
Xileno	5 min
Xileno	5 min
Etanol absoluto	7 min
Etanol al 90%	7 min
Etanol al 70%	7 min
Agua destilada	5 min
Hematoxilina de Harris	5 min
Agua corriente	5 min
Ácido acético	10 seg
Agua corriente	5 min
Etanol 90%	1 min
Eosina amarillenta	5 min
Etanol al 70%	1 min
Etanol al 80%	20 seg
Etanol al 96%	20 seg
Etanol absoluto:	20 seg
Xileno	20 seg + 5 min secado
Xileno	5 min + 5 min secado

Tras la tinción, los cortes se montaron con resina sintética y un cubreobjetos, y se secaron durante 48 horas.

3) Evaluación histopatológica

Se obtuvieron imágenes del tejido adyacente a la abertura de los tubos implantados mediante una cámara digital (Axiocam 105, Zeiss) acoplada a un microscopio óptico (Axiolab 5, Zeiss). Para el análisis, se emplearon magnificaciones de 100x para la medición del grosor de la cápsula fibrosa y de 400x para el recuento celular. En ambos casos, el análisis de las imágenes se efectuó con el software ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>). El recuento de células inflamatorias se llevó a cabo en tres secciones no seriadas, teñidas con hematoxilina-eosina, de cada muestra. En cada imagen se analizaron dos campos de $70 \times 70 \mu\text{m}$, situados junto al extremo abierto de los tubos, registrando el número de células inflamatorias para estimar su densidad en un área aproximada de $10\,000 \mu\text{m}^2$ como se observa en la **Figura 11**.

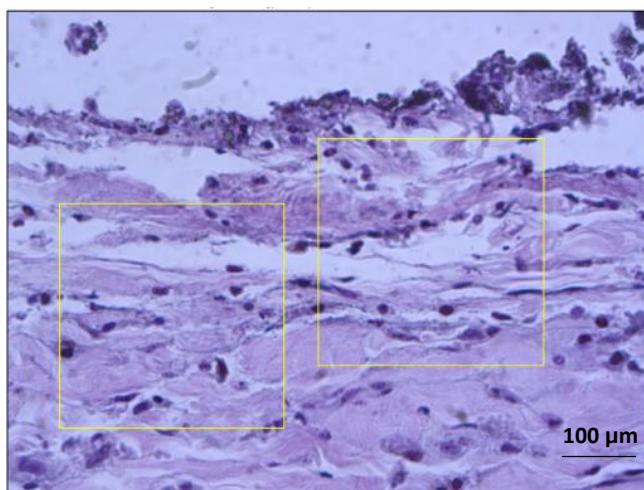


Figura 11. Micrografía representativa del registro de área para el conteo de células inflamatorias. Tinción con hematoxilina-eosina; magnificación de 400x.

Para la evaluación del grosor de la cápsula fibrosa, se realizaron tres mediciones en las zonas centrales y laterales de cada cápsula fibrosa como se observa en la **Figura 12**, obteniendo posteriormente un valor promedio por espécimen y por grupo.

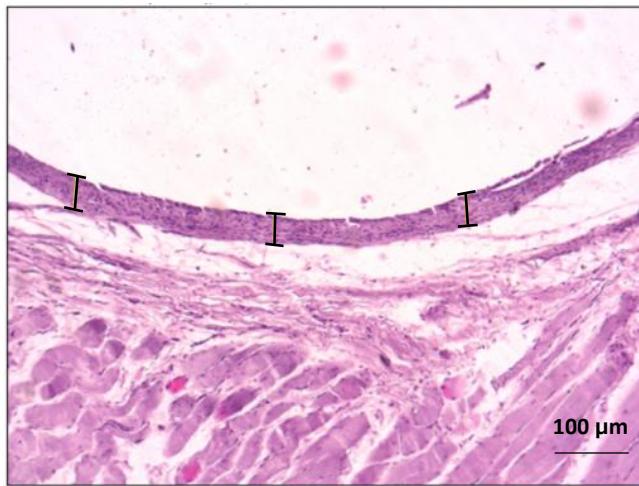


Figura 12. Micrografía representativa de la medición del grosor de la cápsula fibrosa. Tinción con hematoxilina-eosina; magnificación de 100x.

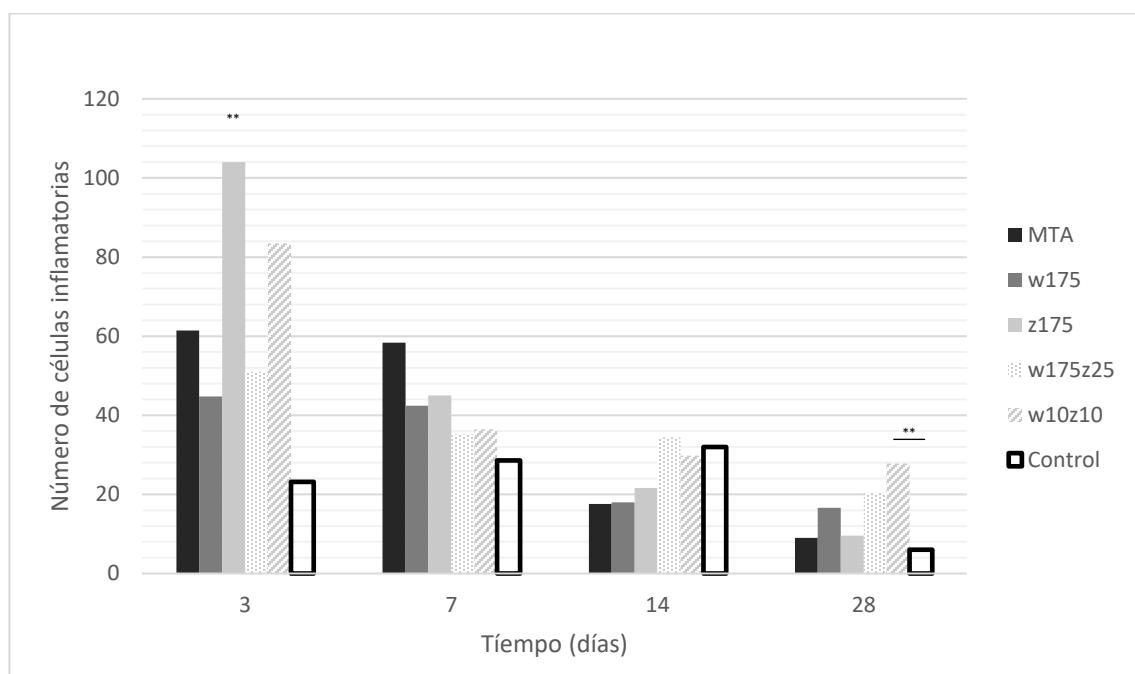
Asimismo, las imágenes obtenidas a una magnificación de 100x permitieron identificar y documentar la presencia de edema, necrosis y calcificaciones distróficas, las cuales se registraron como variables dicotómicas (presencia/ausencia). Todos los cortes histológicos fueron examinados al microscopio por dos observadores, y uno de ellos obtuvo imágenes de todos los grupos en “ciego”.

5.5 Análisis estadístico

Los datos cuantitativos fueron analizados en cuanto a su distribución mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Dependiendo de la distribución de los datos, se aplicó un ANOVA (distribución normal) con análisis *post hoc* de Tukey o una prueba de Kruskal-Wallis (distribución anormal) con análisis *post hoc* de Dunn. Para los datos cualitativos, se aplicó la prueba de Fisher. Todos los análisis se realizaron con el programa GraphPad Prism versión 10.5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE. UU.). La significancia estadística se definió como $p < 0.05$.

VI. Resultados

La evaluación de la respuesta inflamatoria se realizó cuantificando el número de células inflamatorias presentes en $10,000 \mu\text{m}^2$ (magnificación de 400x). Se observó que el número de células inflamatorias disminuyó con el tiempo en todos los grupos evaluados. No se observaron diferencias significativas ($p<0.05$) al comparar el número de células inducidas por cada cemento evaluado en cada periodo. Solo se presentaron diferencias significativas ($p<0.05$) entre el control vacío y el prototipo z175 a los 3 días, y entre el control y el prototipo w10z10 a los 28 días. En la gráfica 1 se muestra el promedio y desviación estándar del número de células inflamatorias presentes en el tejido conectivo a los 3, 7, 14 y 28 días en cada uno de los cementos evaluados y el control (tubo vacío).



Gráfica 1. Número de células inflamatorias por cada $10,000 \mu\text{m}^2$ presentes en secciones de tejido proximales a la implantación de los cementos y el control (tubo vacío). $n=10$ por grupo. Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para las comparaciones estadísticas, seguida de una prueba post hoc de Tukey. ** $p < 0.01$.

En la **Figura 13** se puede observar una alta densidad celular en el tejido conectivo adyacente al extremo abierto de los tubos de polietileno en todos los grupos experimentales expuestos durante tres días, con los datos registrados en la gráfica es más evidente que en los prototipos z175 y w10z10 alcanzaron valores más elevados de células (más de 80 células), en contraste con el grupo control que presentó el menor número de células inflamatorias en este periodo (menos de 25).

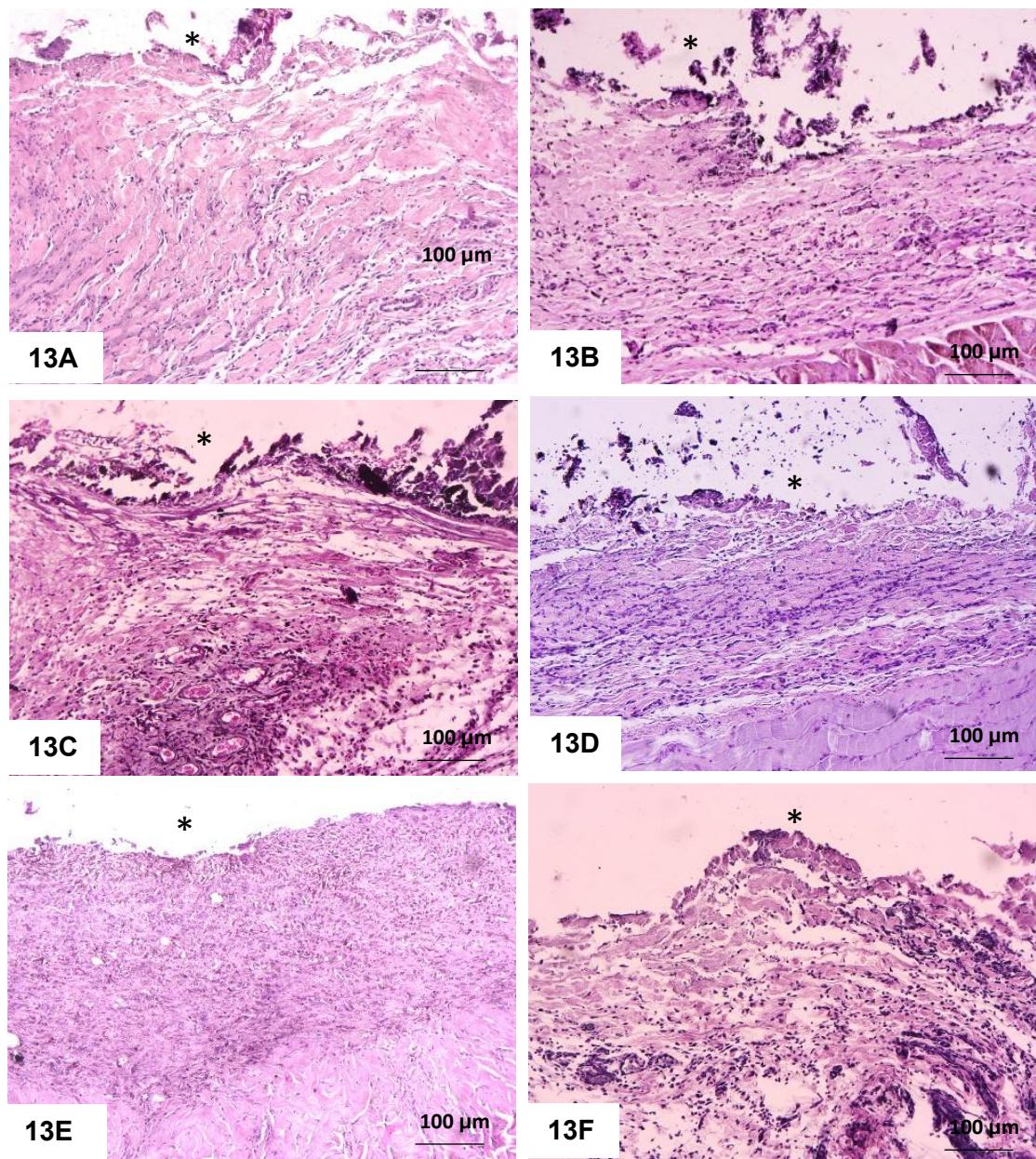


Figura 13. Micrografías representativas de tejido conectivo subcutáneo en el sitio de implantación a

los 3 días. **14A.** MTA Angelus, **14B.** w175, **14C.** z175, **14D.** W175Z25, **14E.** w10z10, **14F.** Control. * indica el espacio en donde se encontraban los cementos. Tinción con hematoxilina-eosina; magnificación de 100x.

La evaluación de la respuesta inflamatoria a los 7 días muestra una disminución del número de células en todos los grupos. El cemento MTA Angelus, el prototipo w175 y el prototipo z175 registraron los valores más altos del grupo (más de 40 células), mientras que el resto de los prototipos y el control registraron menos de 40 células. En la **Figura 14** se observa la disminución de la densidad celular en el tejido conectivo de todos los grupos evaluados, en comparación con las micrografías representativas del primer periodo (3 días).

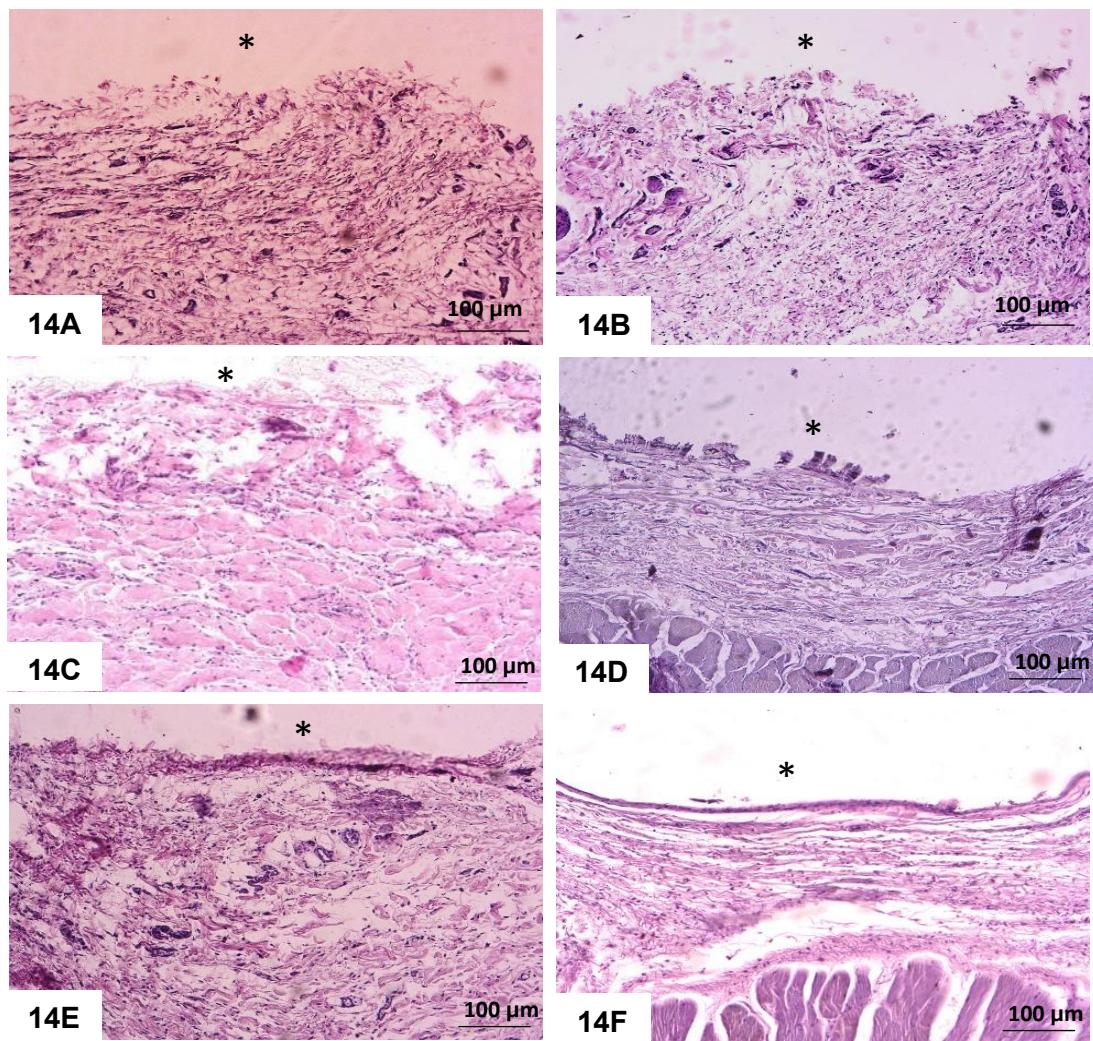


Figura 14. Micrografías representativas de tejido conectivo subcutáneo en el sitio de implantación a los 7 días. **14A.** MTA Angelus, **14B.** w175, **14C.** z175, **14D.** W175Z25, **14E.** w10z10, **14F.** Control. * indica el espacio en donde se encontraban los cementos. Tinción con hematoxilina-eosina; magnificación de 100x.

En el día 14, la tendencia decreciente del número de células inflamatorias fue clara para el MTA Angelus y los prototipos w175 y z175, siendo los dos grupos con el menor número de células (menos de 20) registradas en este periodo. En la **Figura 15** se observan los cortes histológicos representativos de este periodo.

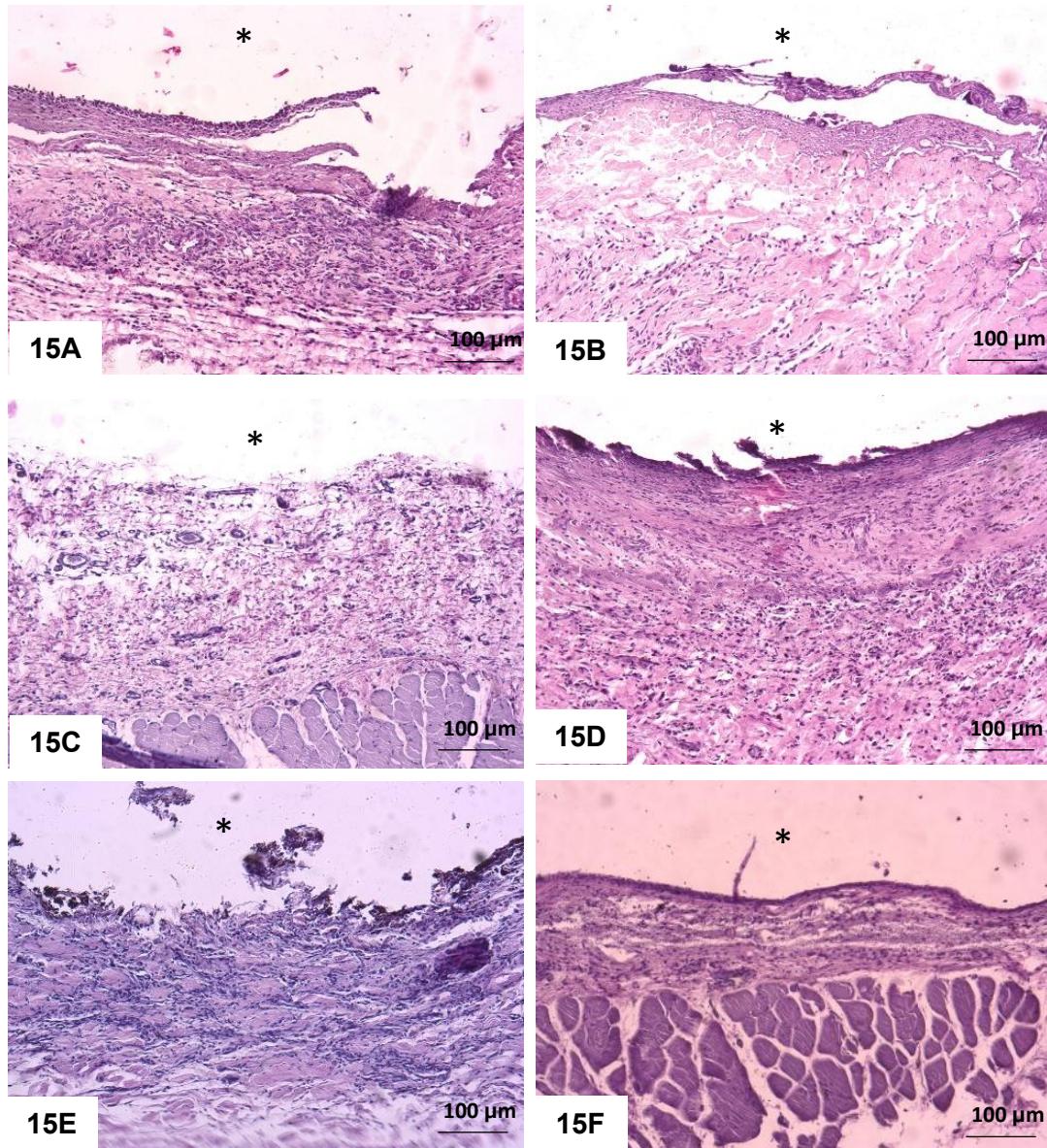
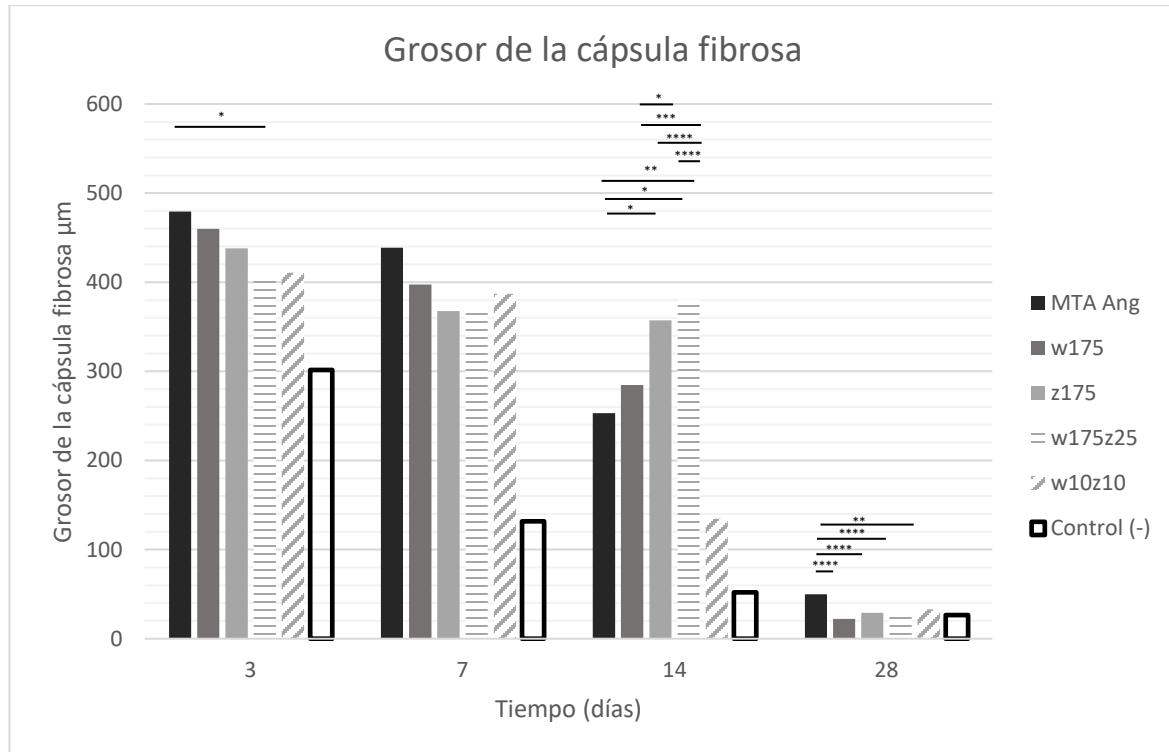


Figura 15. Micrografías representativas de tejido conectivo subcutáneo en el sitio de implantación a los 14 días. **17A.** MTA Angelus, **17B.** w175, **17C.** z175, **17D.** W175Z25, **17E.** w10z10, **17F.** Control. * indica el espacio en donde se encontraban los cementos. Tinción con hematoxilina-eosina; magnificación de 100x.

Finalmente, a los 28 días se observó el nivel mínimo de infiltrado inflamatorio en todos los grupos. El control y el cemento MTA Angelus presentaron los valores más bajos de células inflamatorias (menos de 20 células) y el más alto lo presentó el prototipo w10z10 con más de 20 células. De todos los prototipos, el z175 es el que presentó menor número de células inflamatorias en este periodo.

La evaluación del grosor de la cápsula fibrosa se realizó midiendo el grosor en tres secciones del tejido y se obtuvo un valor promedio. En la gráfica 2 se muestra el promedio y la desviación estándar del grosor de la cápsula fibrosa formada alrededor de los diferentes materiales evaluados, a los 3, 7, 14 y 28 días posteriores a la implantación.



Gráfica 2. Grosor de la cápsula fibrosa en secciones de tejido conectivo proximal a la implantación de los cementos y el control (tubo vacío). n=15 por grupo. Se utilizó la prueba ANOVA para las comparaciones estadísticas, seguida de una prueba post hoc de Dunn para los resultados significativos. Se observaron diferencias significativas entre los prototipos de CHSC y el control, así como entre diferentes prototipos de CHSC a los 3, 7 y 14 días. Solo a los 28 días se observó una diferencia significativa entre MTA Angelus y el control. Ninguno de los prototipos de CHSC mostró diferencias significativas en comparación con el control (las significancias no se muestran en el gráfico. *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001, ****p < 0.0001.

En general se observó que el grosor de la capsula fibrosa disminuyó de forma gradual y significativa ($p<0.05$) con el tiempo en todos los grupos evaluados.

A los 3 días, los valores fueron altos para todos los materiales, especialmente para el MTA Angelus y los prototipos w175 y w175z25, con grosores superiores a los 400 μm . Posteriormente a los 7 días todos los grupos mantuvieron un grosor de cápsula

fibrosa elevado, aunque ligeramente menor en comparación con el observado a los 3 días. En este periodo MTA Angelus y los prototipos w175 y w10z10 presentaron los grosores más elevados sin diferencias significativas entre el resto de los grupos. En el grupo control se observó una marcada disminución del grosor de la cápsula fibrosa con valores inferiores 200 μm .

A los 14 días, los prototipos z175 y w175z25 presentaron cápsulas fibrosas con un grosor superior a los 300 μm , siendo los dos grupos los con valores más altos. En el cemento MTA Angelus se observó una gran disminución del grosor de la cápsula fibrosa en comparación con el periodo anterior; el mismo comportamiento se observó en el prototipo w10z10, el cual presentó el menor grosor de cápsula fibrosa en este periodo, con un valor promedio de 140 μm .

En el último periodo evaluado se evidenció una marcada disminución del grosor de la cápsula fibrosa en todos los grupos, con valores inferiores a 100 μm . En este punto solo se observó diferencia significativa entre el cemento MTA Angelus y el control, mientras que todos los prototipos de CHSC mostraron un comportamiento homogéneo y sin diferencias significativas entre sí.

Finalmente, a los 28 días, todos los grupos evaluados mostraron cápsulas fibrosas muy delgadas, con diferencias mínimas entre sí y cercanas a los valores del control, como se observa en la **Figura 16**.

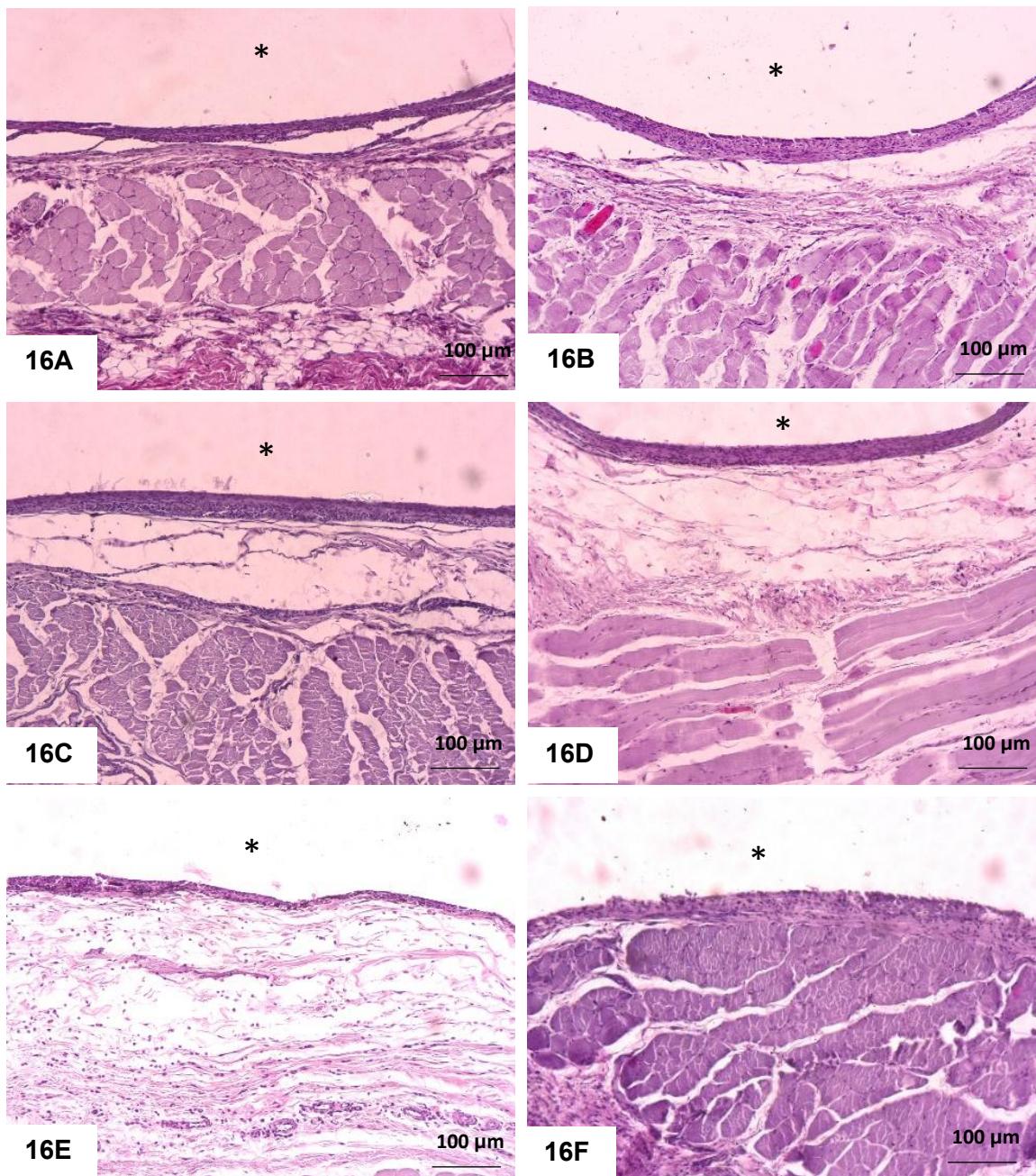


Figura 16. Micrografías representativas de tejido conectivo subcutáneo en el sitio de implantación a los 28 días. **16A.** MTA Angelus, **16B.** w175, **16C.** z175, **16D.** W175Z25, **16E.** w10z10, **16F.** Control. * indica el espacio en donde se encontraban los cementos. Tinción con hematoxilina-eosina; magnificación de 100x.

No se observó edema ni necrosis en ninguno de los grupos. En cambio, se detectó la presencia de calcificaciones distróficas (**Figura 17**), la cual apareció desde el día 7 en algunos grupos y estuvo presente en todos los prototipos de CHSC y el MTA Angelus a los 28 días.

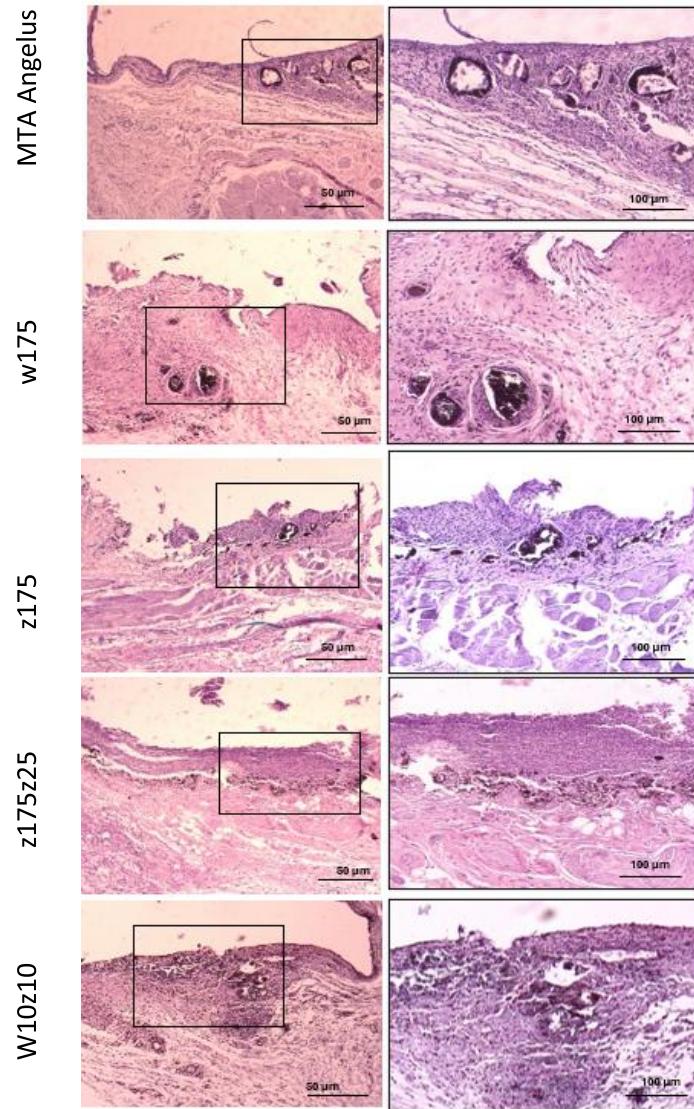


Figura 17. Micrografías representativas que ilustran secciones de tejido conectivo proximales a la implantación de los cementos evaluados en cada punto temporal designado. Se observan calcificaciones distróficas en múltiples regiones con intensidades variables. Un asterisco (*) indica el espacio en donde se encontraban los cementos. Tinción con hematoxilina y eosina; la columna izquierda presenta imágenes con una magnificación de 50x, mientras que la columna derecha muestra imágenes con una magnificación de 100x.

VII. Discusión

El desarrollo de prototipos de CHSC representa un gran desafío, pero también un gran aporte en el ámbito odontológico, no solo por sus propiedades biológicas y reparadoras, sino también por su posible impacto en la reducción de costos de adquisición, lo que facilitaría su incorporación al sistema de salud pública en México. En este contexto, la evaluación de la respuesta inflamatoria frente a estos prototipos resulta fundamental para garantizar su biocompatibilidad y seguridad, ya que permite determinar si el contacto del material con el tejido induce reacciones adversas o, por el contrario, favorece los procesos de reparación y regeneración tisular.

El modelo de implantación subcutánea en rata empleado en este estudio constituye una de las estrategias experimentales más consolidadas y ampliamente aceptadas para evaluar la respuesta tisular local frente a materiales odontológicos (Langeland, 1978). Este enfoque cumple con las recomendaciones internacionales de la norma ISO 10993-6 y ha sido utilizado de manera consistente por diversos grupos de investigación para determinar la biocompatibilidad y el potencial inflamatorio de materiales a base de silicato de calcio (Dal-Fabbro et al., 2021; Delfino et al., 2021; Talabani et al., 2019). Entre sus principales ventajas se encuentra la posibilidad de analizar la evolución temporal de la inflamación, lo que permite distinguir entre una respuesta aguda autolimitada y una reacción crónica persistente (Shahi et al., 2006). En el presente estudio, las mediciones realizadas a los 3, 7, 14 y 28 días permitieron observar la transición dinámica del proceso inflamatorio y la posterior organización del tejido de reparación. No obstante, se reconoce que los resultados obtenidos con este modelo no pueden extrapolarse directamente a los tejidos dentales para los que están destinados, por lo que serán necesarios estudios complementarios que validen estos hallazgos en contextos clínicos.

A diferencia de otros estudios que limitan la evaluación histológica a clasificaciones cualitativas o subjetivas de la inflamación (leve, moderada, severa) (Martínez et al., 2009; Mori et al., 2014;), una de las fortalezas del presente estudio es la

implementación de una metodología cuantitativa basada en el conteo de células inflamatorias presentes en un área estandarizada y la medición del grosor de la cápsula fibrosa, aportando mayor objetividad y validez comparativa entre los materiales evaluados. Adicionalmente, se reportaron variables como edema, necrosis y calcificación distrófica, como se ha reportado en otros estudios (Mena-álvarez et al., 2021; Taha et al., 2016).

Los hallazgos del presente estudio evidenciaron que todos los prototipos de CHSC y el MTA Angelus indujeron una respuesta inflamatoria inicial que disminuyó progresivamente con el tiempo, tendencia que coincide con el proceso normal de la respuesta tisular aguda, el cual constituye la primer fase del mecanismo de reparación frente a un cuerpo extraño (Anderson, 2001), a medida que los cementos demuestran su potencial bioactivo y estabilidad química, la fase aguda se reemplaza por una respuesta crónica leve y organizada, que promueve la formación de tejido de granulación y la maduración de una cápsula fibrosa (Varanasi et al., 2020).

Los resultados concuerdan con los hallazgos de investigaciones previas (Andrade et al., 2018a; Talabani et al., 2019) que evaluaron la respuesta del tejido conectivo de rata expuesto a diferentes CHSC. En la mayoría de los casos se observó una disminución progresiva del infiltrado inflamatorio y una maduración gradual de la cápsula fibrosa, así como la presencia de calcificaciones distróficas a lo largo del tiempo.

Se ha demostrado que estos materiales generalmente inducen una respuesta celular de moderada a severa durante los primeros días, caracterizada por abundantes células inflamatorias en los tejidos circundantes. Esta respuesta inicial se asocia con los procedimientos quirúrgicos empleados para la implantación, así como la reacción al pH elevado de los materiales, el aumento de la temperatura durante el fraguado y la producción de citocinas (Koh et al., 1998).

Las propiedades fisicoquímicas particulares de cada prototipo de CHSC desempeñan un papel determinante en su interacción con los tejidos circundantes.

Todos los prototipos tanto en su forma en polvo como en su forma fraguada tienen una microestructura comparable a la del cemento MTA Angelus, sin embargo, existen diferencias en cuanto a su composición química, a pesar de que todos están compuestos principalmente de calcio, silicio y aluminio, cada uno contiene un porcentaje diferente de radiopacificador (tungstato de calcio u óxido de zirconio) con el propósito de garantizar su visibilidad radiográfica sin comprometer su desempeño biológico (Vega-González et al., 2024). Tradicionalmente, el óxido de bismuto ha sido el aditivo más empleado para conferir esta propiedad; sin embargo, se ha demostrado que puede interferir con el proceso de hidratación del silicato de calcio, incrementar la porosidad y provocar cambios de coloración en los tejidos dentales (Asgary et al., 2005). Por esa razón, se han propuesto alternativas más estables y biocompatibles como el óxido de zirconio, el tungstato de calcio y el óxido de tantalio (Ochoa-Rodríguez et al., 2019). Estos compuestos químicamente inertes, mantienen una radiopacidad adecuada y no alteran la liberación de iones de calcio ni la formación de apatita, preservando así la bioactividad y la capacidad de integración tisular del material (Camilleri et al., 2013; Duarte et al., 2009). Los prototipos evaluados contienen tungstato de calcio y óxido de zirconio en diferentes porcentajes y combinaciones, demostrando ser biológicamente compatibles con los tejidos implantados. La similitud en la composición entre los prototipos y el MTA Angelus explica la respuesta inflamatoria comparable observada entre ambos. En el caso del prototipo W175, que comparte porcentajes similares del mismo radiopacificador con MTA Angelus (20 % de tungstato de calcio) (Vega-González et al., 2024) podría explicar por qué la respuesta es tan similar entre ambos.

Otra propiedad que comparten los cementos evaluados en este estudio es el pH, el cual está directamente relacionado con la liberación de hidróxido de calcio durante el proceso de hidratación (Gandolfi et al., 2010b), un pH alto es capaz de generar un ambiente altamente alcalino que neutraliza endotoxinas bacterianas, inhibe microorganismos, y modula la expresión de mediadores inflamatorios reduciendo la

persistencia de la respuesta inflamatoria (Andrade et al., 2018; Torabinejad et al., 1995).

Uno de los hallazgos importantes de este estudio fue la presencia de calcificaciones distróficas en los tejidos circundantes de los cementos evaluados a partir de los 7 días, evidenciando una actividad de mineralización localizada, hallazgo que coincide con lo descrito en estudios previos (Dal-Fabbro et al., 2021; Viana Viola et al., 2012) sobre materiales a base de silicato de calcio, donde la liberación de iones de calcio y la formación de núcleos de apatita inducen procesos de biomineralización tisular en la interfase material-tejido considerados un indicador de bioactividad.

Por otro lado, la formación y el adelgazamiento graduales de una cápsula fibrosa se han reconocido como indicadores de biocompatibilidad (Parirokh et al., 2011; Sanders & Rochefort, 2003). Este desempeño se ha registrado progresivamente en esta investigación y, a los 28 días, todos los CHSC estaban rodeados por una cápsula bien definida, con una respuesta inflamatoria mínima, lo que coincide con estudios previos (Mena-álvarez et al., 2021). Cabe resaltar que, a los 28 días no hubo diferencias significativas en el grosor de la cápsula fibrosa entre los cementos prototípico y el grupo control, lo que sugiere que todos los materiales son bien tolerados por los tejidos circundantes.

Entre las variables histológicas examinadas en este estudio, no se observaron las variables de edema o necrosis; esto concuerda también con informes previos para MTA Angelus (Delfino et al., 2021).

Los cortes obtenidos de cada grupo experimental permiten visualizar los cambios morfológicos y la evolución temporal de la respuesta inflamatoria de todos los grupos evaluados lo que aporta evidencia sólida sobre la naturaleza transitoria de la inflamación, la capacidad de mineralización y la biocompatibilidad de los materiales evaluados. La ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre los materiales evaluados a través del tiempo sugiere que los prototípos

presentan una biocompatibilidad comparable a la del MTA Angelus, considerado el estándar de referencia para materiales bioactivos utilizados en odontología.

En conjunto, estos hallazgos demuestran que los prototipos de CHSC evaluados son capaces de inducir una respuesta tisular biocompatible y bioactiva. La metodología cuantitativa empleada aporta una herramienta más precisa y reproducible para evaluar la respuesta inflamatoria en modelos *in vivo*, y el desarrollo de materiales bioactivos a costos accesibles resalta su potencial aplicación en el sector de salud pública en México, donde se requiere garantizar seguridad, efectividad y accesibilidad de los materiales odontológicos.

VIII. Conclusión

Con los resultados obtenidos en la presente investigación, se puede concluir que los cuatro prototipos de CHSC son capaces de inducir una respuesta inflamatoria en el tejido conectivo subcutáneo de rata, comparable a la inducida por el cemento comercial MTA Angelus, la cual disminuyó progresivamente con el tiempo.

Entre los materiales evaluados, el prototipo w175 indujo la menor cantidad de células inflamatorias a los 3, 7 y 14 días, mientras que, a los 28 días, fue el prototipo z175.

Estos prototipos representan una alternativa eficaz y de menor costo para su uso en la terapia pulpar vital, no obstante, se requieren estudios complementarios que permitan confirmar estos hallazgos y evaluar su seguridad y eficacia en modelos biológicos más complejos antes de recomendar su uso clínico.

II. Bibliografía o referencias

- Alimohammadi, M., Mirzaee-Rad, S., Feizi, F., Shirzad Juybari, H., Saeidi, A., & Gholinia, H. (2021). Comparison of Rat Connective Tissue Response to BioMTA, Angelus MTA, and Root MTA. In *International Journal of Biomaterials* (Vol. 2021). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2021/7415302>
- Amini, A. R., Wallace, J. S., & Nukavarapu, S. P. (2011). Short-term and long-term effects of orthopedic biodegradable implants. *Journal of Long-Term Effects of Medical Implants*, 21(2).
- Anderson, J. M. (2001). Biological responses to materials. *Annual Review of Materials Research*, 31(1), 81–110.
- Andrade, A. S., Silva, G. F., Camilleri, J., Cerri, E. S., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Cerri, P. S., & Tanomaru-Filho, M. (2018a). Tissue response and immunoexpression of interleukin 6 promoted by tricalcium silicate–based repair materials after subcutaneous implantation in rats. *Journal of Endodontics*, 44(3), 458–463.
- Andrade, A. S., Silva, G. F., Camilleri, J., Cerri, E. S., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Cerri, P. S., & Tanomaru-Filho, M. (2018b). Tissue response and immunoexpression of interleukin 6 promoted by tricalcium silicate–based repair materials after subcutaneous implantation in rats. *Journal of Endodontics*, 44(3), 458–463.
- Anusavice, K. J. (2004). *PHILLIPS. Ciencia de los materiales dentales*. Elsevier Espana.
- Asgary, S., Eghbal, M. J., & Ghoddusi, J. (2014). Two-year results of vital pulp therapy in permanent molars with irreversible pulpitis: an ongoing multicenter randomized clinical trial. *Clinical Oral Investigations*, 18, 635–641.
- Asgary, S., Parirokh, M., Eghbal, M. J., & Brink, F. (2005). Chemical differences between white and gray mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 31(2), 101–103.
- Baumann, H., & Gauldie, J. (1994). The acute phase response. *Immunology Today*, 15(2), 74–80. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0167-5699\(94\)90137-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0167-5699(94)90137-6)

- Camilleri, J., Sorrentino, F., & Damidot, D. (2013). Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dental Materials*, 29(5), 580–593.
- Casals Peidró, E., & Pereiro, G. (2014). Guía de práctica clínica para la prevención y tratamiento no invasivo de la caries dental. *RCOE. Revista Del Consejo General de Colegios de Odontólogos y Estomatólogos de España, 2014, Vol. 19, Num. 3, p. 189-248.*
- Chaple Gil, A. M., & Herrero Herrera, L. (2007). Generalidades del Agregado de Trióxido Mineral (MTA) y su aplicación en Odontología: Revisión de la Literatura. *Acta Odontológica Venezolana*, 45(3), 467–472.
- Cohen, S., & Burns, R. C. (2016). *Vías de la pulpa*. Elsevier.
- da Fonseca, T. S., da Silva, G. F., Tanomaru-Filho, M., Sasso-Cerri, E., Guerreiro-Tanomaru, J. M., & Cerri, P. S. (2016). In vivo evaluation of the inflammatory response and IL-6 immunoexpression promoted by Biodentine and MTA Angelus. *International Endodontic Journal*, 49(2), 145–153. <https://doi.org/10.1111/iej.12435>
- Dal-Fabbro, R., Cosme-Silva, L., de Azevedo Queiroz, I. O., Duarte, P. C. T., Capalbo, L. C., Santos, A. D., Moraes, J. C. S., & Gomes-Filho, J. E. (2021). Biocompatibility and biomineralization of the experimental nanoparticulate mineral trioxide aggregate (MTA). *Research, Society and Development*, 10(5), e27710514866–e27710514866.
- Delfino, M. M., de Abreu Jampani, J. L., Lopes, C. S., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Tanomaru-Filho, M., Sasso-Cerri, E., & Cerri, P. S. (2021). Comparison of Bio-C Pulpo and MTA Repair HP with White MTA: effect on liver parameters and evaluation of biocompatibility and bioactivity in rats. *International Endodontic Journal*, 54(9), 1597–1613.
- Domínguez-Pérez, R. (2015). *La rata como modelo experimental en la evaluación de biomateriales dentales. pasado, presente y futuro*.
- Duarte, M. A. H., D'arc de Oliveira El, G., Vivan, R. R., Tanomaru, J. M. G., Tanomaru Filho, M., & de Moraes, I. G. (2009). Radiopacity of portland cement associated with different radiopacifying agents. *Journal of Endodontics*, 35(5), 737–740.
- Fuentes, E. E., & Carrasco, E. E. (2005). *Eduardo Ensaldo Fuentes, et al. "Mineral trióxido agregado".*
- Fuss, Z., Lustig, J., Katz, A., & Tamse, A. (2001). An evaluation of endodontically treated vertical root fractured teeth: impact of operative procedures. *Journal of Endodontics*, 27(1), 46–48.
- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Tinti, A., De Stefano Dorigo, E., Rossi, P. L., & Prati, C. (2010a). Kinetics of apatite formation on a calcium-silicate cement for root-end filling during ageing in physiological-like phosphate solutions. *Clinical Oral Investigations*, 14, 659–668.

- Gandolfi, M. G., Taddei, P., Tinti, A., De Stefano Dorigo, E., Rossi, P. L., & Prati, C. (2010b). Kinetics of apatite formation on a calcium-silicate cement for root-end filling during ageing in physiological-like phosphate solutions. *Clinical Oral Investigations*, 14(6), 659–668.
- Katti, D. S., Lakshmi, S., Langer, R., & Laurencin, C. T. (2002). Toxicity, biodegradation and elimination of polyanhydrides. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(7), 933–961.
- Kenneth Murphy. (2008). *Inmunobiología de Janeway*.
- Khashaba, R. M., Moussa, M. M., Chutkan, N. B., & Borke, J. L. (2011). The response of subcutaneous connective tissue to newly developed calcium phosphate-based root canal sealers. *International Endodontic Journal*, 44(4), 342–352. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2010.01836.x>
- Koh, E. T., McDonald, F., Ford, T. R. P., & Torabinejad, M. (1998). Cellular response to mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 24(8), 543–547.
- Krastl, G., Allgayer, N., Lenherr, P., Filippi, A., Taneja, P., & Weiger, R. (2013). Tooth discoloration induced by endodontic materials: a literature review. *Dental Traumatology*, 29(1), 2–7.
- Langeland, K. (1978). Correlation of screening tests to usage tests. *Journal of Endodontics*, 4(10), 300–303.
- Lertchirakarn, V., Palamara, J. E. A., & Messer, H. H. (2003). Patterns of vertical root fracture: factors affecting stress distribution in the root canal. *Journal of Endodontics*, 29(8), 523–528.
- Luttkhuizen, D. T., Harmsen, M. C., & Luyn, M. J. A. Van. (2006). Cellular and molecular dynamics in the foreign body reaction. *Tissue Engineering*, 12(7), 1955–1970.
- Martínez Lalís, R., Esaín, M. L., Kokubu, G. A., Willis, J., Chaves, C., & Grana, D. R. (2009a). Rat subcutaneous tissue response to modified Portland cement, a new mineral trioxide aggregate. *Brazilian Dental Journal*, 20, 112–117.
- Martínez Lalís, R., Esaín, M. L., Kokubu, G. A., Willis, J., Chaves, C., & Grana, D. R. (2009b). Rat subcutaneous tissue response to modified Portland cement, a new mineral trioxide aggregate. *Brazilian Dental Journal*, 20, 112–117.
- Mena-álvarez, J., Rico-Romano, C., Gutiérrez-Ortega, C., Arias-Sanz, P., & Castro-Urdá, J. (2021). A comparative study of biocompatibility in rat connective tissue of a new mineral trioxide compound (Theracal) versus mta and a bioactive g3 glass. *Journal of Clinical Medicine*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/jcm10122536>
- Merdad, K., Sonbul, H., Bukhary, S., Reit, C., & Birkhed, D. (2011). Caries susceptibility of endodontically versus nonendodontically treated teeth. *Journal of Endodontics*, 37(2), 139–142.

- Mori, G. G. arrido, Teixeira, L. M. oraes, de Oliveira, D. L. ouzada, Jacomini, L. M. enegucci, & da Silva, S. R. (2014). Biocompatibility evaluation of biodentine in subcutaneous tissue of rats. *Journal of Endodontics*, 40(9), 1485–1488. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2014.02.027>
- Mori, G. G., Teixeira, L. M., de Oliveira, D. L., Jacomini, L. M., & da Silva, S. R. (2014). Biocompatibility evaluation of biodentine in subcutaneous tissue of rats. *Journal of Endodontics*, 40(9), 1485–1488.
- Ng, Y., Mann, V., Rahbaran, S., Lewsey, J., & Gulabivala, K. (2008). Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature—Part 2. Influence of clinical factors. *International Endodontic Journal*, 41(1), 6–31.
- Nyska, A., Schiffenbauer, Y. S., Brami, C. T., Maronpot, R. R., & Ramot, Y. (2014). Histopathology of biodegradable polymers: Challenges in interpretation and the use of a novel compact MRI for biocompatibility evaluation. *Polymers for Advanced Technologies*, 25(5), 461–467.
- Ochoa-Rodríguez, V. M., Tanomaru-Filho, M., Rodrigues, E. M., Guerreiro-Tanomaru, J. M., Spin-Neto, R., & Faria, G. (2019). Addition of zirconium oxide to Biodentine increases radiopacity and does not alter its physicochemical and biological properties. *Journal of Applied Oral Science*, 27, e20180429.
- OMS. (2022). *Informe sobre la situación mundial de la salud bucodental*.
- Parirokh, M., Mirsoltani, B., Raooof, M., Tabrizchi, H., & Haghdoost, A. A. (2011). Comparative study of subcutaneous tissue responses to a novel root-end filling material and white and grey mineral trioxide aggregate. *International Endodontic Journal*, 44(4), 283–289.
- Parisay, I., Ghoddusi, J., & Forghani, M. (2015). A review on vital pulp therapy in primary teeth. *Iranian Endodontic Journal*, 10(1), 6.
- Ríos, M., Cepero, J., Davidenko, N., Krael, R., González, A., Pérez, K., & Bello, J. L. (2001). Evaluación toxicológica in vitro de materiales poliméricos de restauración dental compuestos por BIS-GMA. *Anuario Toxicología*, 1(1), 65–72.
- Rücker, M., Laschke, M. W., Junker, D., Carvalho, C., Schramm, A., Mülhaupt, R., Gellrich, N.-C., & Menger, M. D. (2006). Angiogenic and inflammatory response to biodegradable scaffolds in dorsal skinfold chambers of mice. *Biomaterials*, 27(29), 5027–5038.
- Sánchez-Lara y Tajonar, R. G., Vergara-Tinoco, J. V., Dammaschke, T., & Domínguez-Pérez, R. A. (2022). A pilot feasibility study to establish full pulpotomy in mature permanent teeth with symptomatic irreversible pulpitis as a routine treatment in mexican public healthcare services. *Healthcare*, 10(12), 2350.
- Sanders, J. E., & Rochefort, J. R. (2003). Fibrous encapsulation of single polymer microfibers depends on their vertical dimension in subcutaneous tissue. *Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for*

- Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 67(4), 1181–1187.
- Schmalz, G., & Galler, K. M. (2017). Biocompatibility of biomaterials—Lessons learned and considerations for the design of novel materials. *Dental Materials*, 33(4), 382–393.
- Sena, R., Castro, R., & Contardo, S. (2020). Terapia Pulpal Vital: ¿ Una Nueva Alternativa al Tratamiento Endodóntico? *Canal Abierto*.
- Seux, D., Couble, M. L., Hartmann, D. J., Gauthier, J. P., & Magloire, H. (1991). Odontoblast-like cytodifferentiation of human dental pulp cells in vitro in the presence of a calcium hydroxide-containing cement. *Archives of Oral Biology*, 36(2), 117–128.
- Shafer, W. G., Hine, M. K., Levy, B. M., & Tomich, C. E. (1988). *Tratado de patología bucal*. Nueva Editorial Interamericana. <https://books.google.com.mx/books?id=QxlqAAAAMAAJ>
- Shahi, S., Rahimi, S., Lotfi, M., Yavari, H., & Gaderian, A. (2006). A comparative study of the biocompatibility of three root-end filling materials in rat connective tissue. *Journal of Endodontics*, 32(8), 776–780.
- Shen, M., & Horbett, T. A. (2001). The effects of surface chemistry and adsorbed proteins on monocyte/macrophage adhesion to chemically modified polystyrene surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 57(3), 336–345.
- Simon, S., Perard, M., Zanini, M., Smith, A. J., Charpentier, E., Djole, S. X., & Lumley, P. J. (2013). Should pulp chamber pulpotomy be seen as a permanent treatment? Some preliminary thoughts. *International Endodontic Journal*, 46(1), 79–87.
- Song, J.-S., Mante, F. K., Romanow, W. J., & Kim, S. (2006). Chemical analysis of powder and set forms of Portland cement, gray ProRoot MTA, white ProRoot MTA, and gray MTA-Angelus. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 102(6), 809–815.
- Taha, N. A., Safadi, R. A., & Alwedaie, M. S. (2016). Biocompatibility evaluation of EndoSequence root repair paste in the connective tissue of rats. *Journal of Endodontics*, 42(10), 1523–1528.
- Talabani, R. M., Garib, B. T., & Masaeli, R. (2019). Biocompatibility of three calcium silicate based materials implanted in rat subcutaneous tissue. *Biomedical Research (0970-938X)*, 30(4).
- Tang, L., Jennings, T. A., & Eaton, J. W. (1998). Mast cells mediate acute inflammatory responses to implanted biomaterials. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(15), 8841–8846.
- Torabinejad, M., & Chivian, N. (1999). Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*, 25(3), 197–205.

- Torabinejad, M., Hong, C. U., Ford, T. R. P., & Kettering, J. D. (1995). Antibacterial effects of some root end filling materials. *Journal of Endodontics*, 21(8), 403–406.
- Varanasi, S. K., Kumar, S. V., & Rouse, B. T. (2020). Determinants of tissue-specific metabolic adaptation of T cells. *Cell Metabolism*, 32(6), 908–919.
- Vega-González, M., Domínguez-Pérez, R. A., Higareda-Mendoza, A. E., Domínguez-Pérez, R., Espinosa-Cristóbal, L. F., & Sánchez-Lara y Tajonar, R. G. (2024). The microstructure, composition, physical properties, and bioactivity of calcium silicate cement prototypes for vital pulp therapies. *Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials*, 22. <https://doi.org/10.1177/22808000241296663>
- Viana Viola, N., Maria Guerreiro-Tanomaru, J., Ferreira Da Silva, G., Sasso-Cerri, E., Tanomaru-Filho, M., & Cerri, P. S. (2012). Biocompatibility of an experimental MTA sealer implanted in the rat subcutaneous: Quantitative and immunohistochemical evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, 100 B(7), 1773–1781. <https://doi.org/10.1002/jbm.b.32744>
- Viana Viola, N., Maria Guerreiro-Tanomaru, J., Ferreira da Silva, G., Sasso-Cerri, E., Tanomaru-Filho, M., & Cerri, P. S. (2012). Biocompatibility of an experimental MTA sealer implanted in the rat subcutaneous: Quantitative and immunohistochemical evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 100(7), 1773–1781.
- Viapiana, R., Moinzadeh, A. T., Camilleri, L., Wesselink, P. R., Tanomaru Filho, M., & Camilleri, J. (2016). Porosity and sealing ability of root fillings with gutta-percha and BioRoot RCS or AH Plus sealers. Evaluation by three ex vivo methods. *International Endodontic Journal*, 49(8), 774–782.
- Watts, A., & Paterson, R. C. (1992). Initial biological testing of root canal sealing materials—A critical review. *Journal of Dentistry*, 20(5), 259–265.
- Zordan-Bronzel, C. L., Torres, F. F. E., Tanomaru-Filho, M., Chávez-Andrade, G. M., Bosso-Martelo, R., & Guerreiro-Tanomaru, J. M. (2019). Evaluation of physicochemical properties of a new calcium silicate–based sealer, Bio-C Sealer. *Journal of Endodontics*, 45(10), 1248–1252.

