

L.O Arely Gómez
Mosqueda

Cuantificación de interleucina 8 como marcador de respuesta celular ante el estímulo de cementos selladores endodónticos.

2021



Universidad Autónoma De Querétaro
Facultad De Medicina

Cuantificación de interleucina 8 como marcador de respuesta celular ante el estímulo de cementos selladores endodónticos.

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la Especialidad en Endodoncia.

Presenta

L.O Arely Gómez Mosqueda

Dirigido por:

Dra. en C. Rosa Martha Pérez Serrano

Querétaro, Qro, a Julio, 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE MEDICINA
ESPECIALIDAD DE ENDODONCIA

CUANTIFICACIÓN DE INTERLEUCINA 8 COMO MARCADOR DE RESPUESTA
CELULAR ANTE EL ESTÍMULO DE CEMENTOS SELLADORES
ENDODÓNTICOS

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Diploma de la

Especialidad en Endodoncia

Presenta:

L.O Arely Gómez Mosqueda

Dirigido por:

Dra. en C. Rosa Martha Pérez Serrano

Dra. Rosa Martha Pérez serrano

Presidente

Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez

Secretario

C.D.E.E. Luciano Tinajero Bueno

Vocal

E.E.M.O. Santiago Andaracua García

Suplente

C.D.E.E. Daniel Alberto de la Rosa Moreno

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Julio 2021, México

RESUMEN

El tratamiento de conductos es el procedimiento más eficaz y conservador en caso de que los órganos dentarios se encuentran afectados de una manera irreversible. Este consiste en la eliminación del tejido vital o necrótico, conformación de los conductos radiculares y la obturación de estos. Es muy común que los subproductos de los cementos selladores endodónticos o el mismo entre en contacto íntimo o directo con los tejidos periapicales lo que pudiendo desencadenar algún tipo de respuesta celular, ocasionando dolor y molestia en los pacientes; por lo cual es de suma importancia conocer el efecto de estos cementos selladores endodónticos con la finalidad de elegir materiales que posean mayor biocompatibilidad. **Objetivos:** Determinar que cemento sellador endodóntico induce una mayor producción de IL-8 en células mononucleares humanas *in vitro* expuestas a cuatro cementos selladores endodónticos (BioRoot RCS®, MTA Fillapex®, Pulp Canal Sealer®, Ah-Plus®). **Material y métodos:** Se estimularon células mononucleares humanas con eluidos obtenidos de los diferentes cementos selladores. Se recuperó el sobrenadante de los cultivos a las 3, 6, 12 y 24 horas de estimulación y se utilizó la técnica de ELISA para cuantificar la producción de IL-8 en el medio. **Resultados:** Los CSE AH-Plus® y Pulp Canal Sealer® estimularon la mayor producción de IL-8. Mientras que los cementos selladores endodónticos MTA Fillapex® y BioRoot RCS® se registró un incremento de ambos a las 12 y 24 horas, pero sin una diferencia significativa entre ellos ($p < 0.05$). **Conclusiones:** En general, todos los eluidos estimularon a la producción de IL-8. Sin embargo, el Pulp Canal Sealer® indujo la producción de la citocina en menos grado, mientras que los cementos selladores endodónticos AH Plus® y MTA Fillapex® fueron los que más estimularon.

Palabras clave: IL-8, cementos selladores endodónticos, células mononucleares humanas, ELISA.

SUMMARY

The endodontic root canals are the most effective and conservative treatment. Used in case if the dental organs are damaged in an irreversible way. This procedure consists in the elimination of necrotic or vital tissue, conformation of the root canals and the obturation of these. It is very common, that the by-products of the CSI or the same gets in contact in an intimate or direct contact with the periapical tissues, that can cause any kind of a cellular answer, causing pain and inconvenience in patients. Thus, it is very important to know the effect of the CSE, with the goals to chose materials that have more biocompatibility. **OBJECTIVES:** Determine that the CSE induce to a higher production of the IL-8 in human mononuclear cells *in vitro*, exposed to four CSE (BioRoot RCS®, MTA Fillapex®, Pulp Canal Sealer®, Ah-Plus®). **MATERIAL AND METHODS:** Human mononuclear cells got stimulated with eluted obtain from different sealing cements. The supernatant recovered from the crops after 3, 6, 12 y 24 hours of the stimulation and it was used ELISA to quantify the production of the IL-8 in the environment. **RESULTS:** The CSE AH-Plus and Pulp Canal Sealer, stimulated the higher production of IL-8. In the other hand, CSE MTA Fillapex® and BioRoot RCS®, both got an increase between 12 and 24 hours, without a significant difference between them ($p < 0.05$). **CONCLUSIONS:** In general, all the eluted stimulated the production of IL-8. However, the Pulp Canal Sealer, induced the production of cytokine in a minor grade. While the CSE AH Plus® and MTA Fillapex® were the ones that stimulated the most.

KEY WORDS: IL-8, endodontic sealing cements, mononuclear cells.

DEDICATORIA

A mamá, papá, Fernanda y abuelos; que sin su ayuda esto no hubiera sido posible. Este proyecto no fue fácil, pero estuvieron motivándome y ayudándome hasta donde sus posibilidades lo permitieron, fueron mis pilares para seguir creciendo como profesionalista y persona.

Gracias por su grandísimo e infinito amor

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de forjar este camino y recorrerlo con sabiduría, salud, amor y respeto; por cuidarme el tiempo que viví fuera de casa, por guiarme en lo que era correcto y darme la fortaleza para no rendirme.

A mi familia que fue parte fundamental para que yo pudiera estudiar; apoyándome a cada minuto y nunca dejarme sola.

A la Dra. María De Lourdes López González, por creer siempre en mi e impulsarme a estudiar un posgrado; por estar siempre pendiente de mis logros y fracasos estos dos años, además de enseñarme su amor y pasión por la endodoncia.

A todos mis docentes por compartir conmigo todos sus conocimientos y forjarme como una excelente endodoncista sin dejar a un lado el trato humano hacia mis pacientes, en especial a el Dr. Miguel Ángel Almanza Vega, Dr. Daniel de la Rosa Moreno, Dr. Santiago Andaracua García, Dra. Larissa Argentina Zavala, Dr. Rubén Abraham Domínguez Pérez y a la Dra. Rosa Martha Pérez Serrano, por su apoyo incondicional y por haber confiado en mí en todo momento, mis agradecimientos infinitos a ustedes.

A la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Querétaro por haberme permitido ser parte de ellos, acogerme estos dos años y hacerme sentir 100% UAQ.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT) por becarme e impulsarme a crecer más como profesionalista.

ÍNDICE

	Página
Resumen	li
Summary	lii
Dedicatorias	Iv
Agradecimientos	V
Índice	Vi
Índice de cuadros	Vii
I. Introducción	8
II. Antecedentes	14
III. Fundamentación teórica	17
IV. Hipótesis	23
IV.1. Hipótesis de trabajo	23
IV.2. Hipótesis nula	23
V. Objetivos	24
V.1. Objetivo General	24
V.2. Objetivo Específico	24
VI. Material y Métodos	25
VI.1. Tipo de investigación	25
VI.2 Población	25
VI.3. Muestra y tipo de muestra	25
VI.3.1. Criterios de inclusión	26
VI.3.2. Criterios de exclusión	26
VI.3.3. Criterios de eliminación	26
VI.4. Técnicas e instrumentos	26
VI.4.1 Definición de variables y unidades de medida	27
VI.5. Procedimiento	27
VI.5.1 Análisis estadístico	30
VI.5.2 Consideraciones éticas	37
VII. Resultados	37
VIII. Discusión	38
IX. Conclusiones	42
X. Propuestas	42
XI. Bibliografía	43

Abreviaturas y siglas

ELISA	Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas
IL-4	Interleucina 4
IL 6	Interleucina 6
IL 8	Interleucina 8
CMH	Células mononucleares Humanas
MTA	Mineral trióxido agregado
ZOE	Óxido de zinc y eugenol
CSE	Cemento sellador Endodóntico

I. Introducción

La Endodoncia se define como el campo de la odontología que estudia la morfología de la cavidad pulpar, la fisiológica y patología de la pulpa dental; así como el tratamiento de las alteraciones pulpares y de sus repercusiones sobre los tejidos periapicales tales como las infecciones, evitando dolor y daños irreversibles que provoquen la extracción del órgano dentario. De ahí la importancia de esta rama de la odontología que tiene como objetivo final la preservación y restauración dentaria tratada a su forma y función correcta dentro del aparato masticatorio, en un estado de salud (Wong et al.,2014; Baziar et al.,2014; Siqueira y Rôças 2008).

Se calcula que aproximadamente el 85% de todas las urgencias dentales a nivel mundial son el resultado de una enfermedad pulpar (pulpitis irreversible sintomática y/o asintomática) o periapical (periodontitis apical sintomática y/o asintomática, absceso crónico o agudo) y que se necesita realizar una extracción dental o bien un tratamiento endodóntico para aliviar los síntomas (Cohen y Hargreaves, 2008); Este último está indicado cuando la pulpa esta inflamada o necrótica, provocando su extracción o bien manteniéndola bajo tratamientos conservadores (Rodríguez, 2016). A la fecha se han dividido principalmente en dos tratamientos o grupos (Goldberg, 2002).

1.-Tratamientos conservadores: Enfocados en proteger la pulpa de forma indirecta y directa, el curetaje pulpar y la pulpotomía que tienen por objetivo primordial conservar la pulpa dental o parte de ella, viva y en condiciones funcionales.

2.- Tratamientos radicales: Engloba la pulpectomía y el tratamiento de conductos, ambos procuran conservar los dientes cuya pulpa se encuentra afectada y está no puede repararse o ha perdido la capacidad de mantenerse con vitalidad.

El tratamiento de conductos: Es el procedimiento más eficaz y conservador en caso de que los órganos dentarios se encuentran afectados de una manera irreversible

(Torabinejad et al., 2005). Este consiste en la eliminación del tejido vital o necrótico, conformación de los conductos radiculares y la obturación de estos, con una tasa de éxito funcional del 97% evaluando el tiempo de permanencia en boca, en función, con o sin lesión periapical (Hilù, 2009).

Es de suma importancia seguir cada una de las fases que comprende el tratamiento de conductos, que va desde la esterilización hasta la correcta obturación tridimensional de los conductos radiculares, para que de esta forma obtengamos el éxito que deseamos en nuestro tratamiento. A continuación, se mencionan cada una de las fases operatorias que deben seguirse en el tratamiento de conductos (Goldberg, 2002).

1.- Procedimientos preoperatorios

- Esterilización y desinfección del instrumental de uso endodóntico
- Preparación del paciente
- Anestesia
- Preparación de la corona
- Aislamiento del campo operatorio

2.- Acceso al conducto radicular

- Apertura coronaria
- Limpieza de la cámara pulpar

- Localización y preparación de la entrada de los conductos radiculares

3.- Preparación del conducto radicular.

4.- Medicación intraconducto entre sesiones.

5.- Obturación del conducto radicular.

Siendo esta última fase operatoria la más importante para el tratamiento; buscando lograr la preservación del diente como una unidad funcional sana (Giudice et al., 2016).

Obturación del conducto radicular

De acuerdo con la Asociación Americana de Endodoncia (AAE), una obturación se define por el llenado impermeable a lo largo de todo el conducto radicular, lo más cercano posible de la unión cemento-dentina (Leonardo et al., 2009). Durante esta fase, es importante considerar diversos aspectos que garantizan el éxito del tratamiento como (Giudice et al., 2016):

- Evitar y prevenir la colonización y microfiltración hacia los tejidos periapicales del contenido del sistema de conducto radicular y también en sentido contrario, conseguido mediante la realización de una buena técnica de obturación.
- Radiográficamente el relleno debe extenderse lo más cerca posible de la unión cemento-dentina y observarse denso.
- Utilizar la mínima cantidad de cemento sellador, el cual debe ser biológicamente compatible al igual que el material de relleno sólido, y químicamente entre sí para

establecer una unión de estos y así un selle adecuado.

En esta fase del tratamiento de conductos requiere del uso de distintos materiales con diferentes composiciones químicas. Durante años estos materiales se han ido modificando y a la fecha los podemos clasificar en dos grupos principales (Cohen y Hargreaves, 2008)

1.- Materiales sólidos: En este grupo se encuentra la gutapercha y las puntas de plata.

2.- Materiales en estado plástico: Cementos Selladores endodónticos (CSE) y pastas.

La mayoría de las técnicas de obturación emplean un núcleo central y CSE. Como núcleo central el material más utilizado es la gutapercha. Históricamente, la gutapercha ha demostrado ser el material de elección para el mejor llenado del conducto, desde la corona hasta la porción apical (Jang et al., 2010). La gutapercha puede presentarse en tres formas distintas: dos formas esteáricas cristalinas (α y β) y una forma amorfa o fundida. Las tres forman parte de la obturación de conductos radiculares (Leonardo et al., 2009). En cambio, los CSE son necesarios para sellar el espacio entre la pared dentinaria y el material obturador sólido; además de llenan los huecos y las irregularidades del conducto radicular, conductos laterales/accesorios, y los espacios que quedan entre las puntas de gutapercha, actúa como lubricante durante el proceso de obturación (Cohen y Hargreaves, 2008).

Se menciona como una de las características esenciales para un CSE óptimo es la biocompatibilidad, donde se espera una baja respuesta inmune o irritante a los tejidos periapicales. Esta particularidad depende completamente de la composición química del CSE.

En la actualidad, en el mercado odontológico existen muchos tipos y marcas con diferentes componentes y, por ende, variadas propiedades físicas, químicas y

biológicas; entre los que se encuentran:

1.-Cementos a base de resina epoxi.

2.- Cementos a base de hidróxido de calcio.

3.- Cementos a base de ionómero vítreo.

4.- Cementos bioceánicos.

5.- Cementos a base de óxido de zinc y eugenol.

Todas las características y propiedades deben tomarse en cuenta para la selección del cemento sellador. Los autores consideran que todos los CSE reconocidos por la ciencia y la clínica como adecuados poseen cierto grado de toxicidad e irritación cuando entran en contacto con los tejidos periapicales (Goldberg, 2002); desencadenando una respuesta inflamatoria aguda o crónica de los tejidos lo que provocara una cicatrización tardía de la herida que se manifiesta como dolor y sensibilidad del área afectada (Nassri et al., 2003).

Por tanto, se define a la inflamación como una respuesta del sistema inmunológico al daño causado a las células y tejidos vascularizados por acción de microorganismos patógenos y/o cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica, promoviendo la liberación de un gran número de mediadores inflamatorios, incluyendo una amplia variedad de citocinas producidas por distintos tipos celulares como monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos, neutrófilos, células endoteliales y fibroblastos (Robles G., 1967).

Las citocinas son polipéptidos reguladores que intervienen en la comunicación

intercelular con una amplia gama de funciones relacionadas con el proceso inflamatorio. Son producidas por diversos tipos de células en la región de la lesión y por células del sistema inmunológico influyendo en la actividad, diferenciación, proliferación y supervivencia de la célula inmune, así como también regulan la producción y la actividad de otras citocinas, que pueden aumentar (proinflamatorias) o disminuir (antiinflamatorias) la respuesta inflamatoria (Caio et al., 2011). La liberación de estas citocinas puede ser desencadenada de forma directa mediante contacto antigénico o indirecta mediante moléculas de señalización expresadas por células inmunes antígeno-reactivas (Elias., 1997; Dongari., 1996; Harold et al. 2011).

Entre las citocinas consideradas proinflamatorias, tenemos las interleucinas IL-1, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8 y FNT (factor de necrosis tumoral). Las antiinflamatorias son IL-4, IL-10, IL-13 y TGF β (factor transformador de crecimiento β) (García et al., 2006). Se menciona a la IL-8 como una de las citocinas más importantes por ser un potente quimioatrayente y activador de neutrófilos (Baggiolini et. Al., 1989). Su función principal es la atracción de neutrófilos para que se fijen al endotelio para el inicio de la diapedesis. Además, pueden atraer linfocitos T, queratinocitos, basófilos y posee actividad angiogénica. La síntesis de esta interleucina está descrita en monocitos, linfocitos T, células endoteliales, células epiteliales, fibroblastos y neutrófilos (Baggiolini et al., 1994).

En la actualidad existe poca evidencia que describa los efectos de los CSE del conducto radicular en la respuesta inmunológica más específicamente en relación con la síntesis de la IL-8 en tejidos periapicales de órganos dentarios que han sido sometidos a tratamiento de conductos.

II. ANTECEDENTES

Ricucci (2002) menciona que, aunque los selladores endodónticos están diseñados para usarse solo dentro del conducto radicular durante la terapia endodóntica, con frecuencia se extruyen a través de la constricción apical. Por lo tanto, a menudo se colocan en contacto íntimo con los tejidos periapicales durante períodos prolongados de tiempo.

David Coon (2006) señaló que la extrusión de cementos selladores endodóntico puede conducir a una disminución en la tasa de recambio óseo general y la presencia persistente de lipopolisacaridos pueden contribuir el retraso en la cicatrización de la lesión perirradicular.

Huang y Chou (2003) manifestaron que los materiales de obturación endodóntica afectan la expresión de citoquinas; en su estudio confirmaron que confirman que los componentes de los CSE que se llegaban a filtran a los tejidos periapicales después de períodos prolongados causaron reacciones tóxicas moderadas o graves.

Fu-Mei Huang (2004) demostró que varios CSE del conducto radicular principalmente los cementos a base de resina epoxi indujeron la expresión de ciclooxigenasa-2 (COX-2) en una línea celular osteoblástica jugando un papel muy importante en la patogenia de la inflamación. Así como la activación de ciertas citocinas como la IL-6 y IL-8.

Maria Ciasca et al. (2012) en el estudio que realizaron observaron que el MTA inducía una capacidad de expresión de citocinas principalmente la IL-6 y I IL-1 al entrar en contacto con los tejidos perirradiculares.

Sedigheh Khedmat et al., (2014) en su estudio demostró la citotoxicidad de los cementos endodónticos biocerámicos, en el que demostró que a pesar de que son materiales considerados como biocompatibles indican cierto grado de citotoxicidad en monocitos.

Kuo-Wei Tai (2000) demostró en su estudio realizado en ratones que los CSE histológicamente inducían a una respuesta inflamatoria de la región periapical, principalmente aquellos compuestos de resina epoxi debido a la liberación de formaldehídos durante el fraguado y la mezcla.

Huang y Tai (2002) mostraron que los selladores del conducto radicular a base de resina, óxido de zinc y eugenol eran citotóxicos para cultivos primarios de células de ligamento periodontal humanas. La sensibilidad de la toxicidad dependía de los materiales probados y del sistema de cultivo celular utilizado. Resultando en una mejor biocompatibilidad el cemento Sealapex ®. Concluyendo que la biocompatibilidad del material de relleno es extremadamente importante porque la biocompatibilidad estimula la reorganización de los daños tejido apical que permanece en contacto directo con el material.

Lodiene G et al. (2008) comprobó la toxicidad del CSE epiphany ® el cual es a base de resina epoxi probando que recién mezclado mostro un efecto citotóxico de severo a moderado, esto posiblemente relacionado deberse a la liberación de monómeros sin curar y las condiciones de fraguado. Encontrando que los posibles efectos citotóxicos y mutagénicos desaparecen una vez finaliza el proceso de endurecimiento.

Saziye Sari et al. (2007) el CSE AH- Plus ® extruido no previene la curación periapical, pudiendo ser un factor de retraso para la curación de lesiones periapicales.

Schweikl y Schmalz (2000) mencionan que el CSE AH- Plus ® recién mezclado tiene efectos mutogénicos y citotóxicos, estos efectos desaparecerán una vez que se complete el proceso de endurecimiento.

Dartar Öztan et al. (2003) informaron en su estudio que el CSE AH- Plus ® no es citotóxico en condiciones in vitro siendo probados en fibroblastos de ratones y fibroblastos de piel, además de no encontrar una diferencia significativa cuando se

compararon con los CSE a base de silicona.

Khabbaz y Papadopulos (1999) han declarado que la curación de las lesiones periapicales no se ve afectado por la presencia de CSE en el tejido perirradicular, debido a que causan un proceso inflamatorio en las células.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

III. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Los CSE son necesarios para sellar el espacio entre la pared dentinaria y el material obturador solido; además de llenan los huecos y las irregularidades del conducto radicular, conductos laterales/accesorios, y los espacios que quedan entre las puntas de gutapercha, actúa como lubricante durante el proceso de obturación (Cohen y Hargreaves, 2008). Las propiedades de un CSE ideal son las siguientes (Grossman y Louis, 1981):

- Consistencia viscosa durante la mezcla para proporcionar buena adherencia a la pared del conducto una vez fraguado.
- Proporcionar un sellado hermético.
- Ser radiopaco.
- No teñir la estructura dental.
- Ser bacteriostático.
- Biocompatible.
- Ser insoluble en los tejidos tisulares.
- Ser soluble en un solvente común.

Mientras que el Dr. Bergenholtz (2011) menciona que las propiedades ideales del cemento sellador son:

- **Técnicos:** Sin contracción, no soluble en los líquidos tisulares, que su endurecimiento no sea interrumpido por la presencia de humedad, buena adhesión y adaptación a la dentina o a los materiales combinados (puntas, selladores), sin poros y que no absorba agua, sin decoloración dental.
- **Biológicos:** Sin problemas para la salud general o alergias en pacientes y en el odontólogo, sin irritación de tejidos locales, estéril, antimicrobiano y que provea la estimulación de los procesos de recuperación periapical.
- **Manipulación:** Radiopaco, endurecimiento en un tiempo adecuado, permitir tiempo suficiente para la obturación y para el control radiográfico, fácil de aplicar y eliminar.

La literatura menciona que una de la característica esencial para un CSE óptimo es la biocompatibilidad, donde se espera una baja respuesta inmune o irritante a los tejidos periapicales. Esta particularidad depende completamente de la composición química del cemento sellador endodóntico.

Tipos de cementos

En la actualidad, en el mercado odontológico existen muchos tipos y marcas con diferentes componentes y, por ende, variadas propiedades físicas, químicas y biológicas; entre los que se encuentran:

- **Cementos a base de resina epoxi:** Debido a sus características positivas de manipulación, se ha utilizado extensamente como CSE; debido a que fluye bien, se adhiere a las paredes de dentina y tiene suficiente tiempo de trabajo (Jang et al., 2010). La desventaja más grande es el grado de toxicidad antes del fraguado. Nombres comerciales: Ah- Plus, TopSeal, Thermaseal Plus (Cohen y Hargreaves, 2008)

- **Cementos a base de hidróxido de calcio:** Se dice que estos CSE tienen un gran efecto terapéutico debido a que contienen $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Se piensa que el efecto antimicrobiano del $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se produce por su capacidad de liberar iones hidroxilo y por tener un pH alto. Estos selladores tienen poca fuerza de cohesión. No existen pruebas objetivas de que un sellador de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ proporcione ventajas para las obturaciones de los conductos radiculares, ni de que tenga los efectos biológicos deseables de la pasta de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. La única desventaja de estos cementos es su alta solubilidad ante los fluidos tisulares (Cohen y Hargreaves 2008). Nombres comerciales: CRCS – Calcibiotic Root Canal Sealer, vitapex, sealapex.

- **Cementos biocerámicos:** Los CSE a base de biocerámicos solo han estado disponibles para su uso en endodoncia durante los últimos treinta años. Son materiales cerámicos diseñados específicamente para uso médico y uso dental. Incluyen alúmina, zirconio, vidrio bioactivo, cerámica de vidrio, hidroxiapatita y fosfatos de calcio. Estos materiales se pueden clasificar en bioactivos o bioinertes. Los bioactivos, como vidrio y fosfato de calcio, interactúan con el entorno para favorecer el crecimiento de tejidos más duraderos y los materiales bioinertes, como la circonita y la alúmina, producen una respuesta mínima inmune exacerbada del tejido circundante, efectivamente sin efecto biológico o fisiológico. Hay dos ventajas principales asociadas con el uso de materiales biocerámicos como selladores del conducto radicular; en primer lugar, su biocompatibilidad y, en segundo lugar, los materiales biocerámicos contienen fosfato de calcio que mejora las propiedades de fraguado de la biocerámica y da como resultado una composición química y cristalina estructura similar a los materiales de apatita de hueso y diente, mejorando así la unión a la dentina. Sin embargo, una desventaja importante de estos materiales es la dificultad al retirarlos del conducto radicular una vez que están configurados para retratamiento endodóntico. (Al-Haddad et al., 2016). Nombres comerciales: Bioroot, MTA fillapex, MTA flow.

- **Cementos a base de óxido de zinc y eugenol:** En estos cementos por lo general se emplea el eugenol como vehículo para ayudar durante la mezcla. El polvo contiene partículas finas de óxido de zinc para potenciar el flujo de cemento. El tiempo de

fraguado se ajusta para permitir un tiempo de trabajo adecuado. Estos CSE se prestan con facilidad a la adición de sustancias químicas, y muchas veces se les añade paraformaldehído para obtener un efecto antimicrobiano aumentando su acción antiséptica, además de resina o bálsamo de Canadá para mejorar la adherencia a la dentina, y en ocasiones corticosteroides para suprimir las reacciones inflamatorias (Arai et al., 2008). Históricamente, el formaldehído se mezclaba en selladores endodónticos, pero es un aditivo peligroso por el efecto tóxico del eugenol que impide o retrasa la curación (Cohen y Hargreaves 2008). Nombres comerciales Pulp Canal Sealer, EndoSeal, Bioseal.

Dentro de todas las propiedades de los cementos endodónticos que se mencionaron, la biocompatibilidad juega un papel importante, ya que podría estimular el proceso de reparación de los tejidos periapicales o perjudicarlo, contribuyendo al fracaso del tratamiento (Al-Haddad et al., 2016).

Biocompatibilidad de los cementos

Todas estas características y propiedades deben tomarse en cuenta para la selección del cemento sellador. Los autores consideran que todos los selladores endodónticos reconocidos por la ciencia y la clínica como adecuados poseen cierto grado de toxicidad e irritación cuando entran en contacto con los tejidos periapicales (Goldberg, 2002); desencadenando una respuesta inflamatoria aguda o crónica de los tejidos promoviendo la liberación de un gran número de mediadores inflamatorios, incluyendo una amplia variedad de citocinas (Robles Gil, 1967). Lo que provocara una cicatrización tardía de la herida que se manifiesta como dolor y sensibilidad del área afectada (Nassri et al., 2003).

Las citocinas representan un grupo multifuncional de sustancias mensajeras que transportan información de una célula a otra, responsable de la inducción de varias enzimas, pertenecen a una familia de proteínas secretadas por las células de inmunidad

innata y adaptativa que median muchas de sus funciones. Se ha identificado más de 100 miembros de la familia de citocinas y sus receptores específicos. Generalmente las citoquinas pueden ser clasificadas como pro o anti-inflamatorias dependiendo de la vía en la que participen en la inflamación; por ejemplo, en el grupo de las citoquinas pro-inflamatorias tenemos la IL-1, TNF-ALFA, IL6 y la IL8, involucradas en la iniciación y amplificación de los procesos inflamatorios, estas favorecen la expresión de moléculas de adhesión (integrinas, selectinas y adherinas) para monocitos y neutrófilos, permitiendo su posterior migración tisular. Un grupo de citocinas, como son: IL8 tiene la habilidad de incrementar la llegada de leucocitos al sitio de inflamación vía interacción con receptores acoplados (Grisham et al., 1999; Szekanecz et al., 2006).

Aunque la inflamación suele ser dolorosa, es normalmente una respuesta reparadora; coordinándose mediante señales que inician el proceso; activan sensores especializados que inician la producción de mediadores específicos. Estos, a su vez, alteran los estados funcionales de células, tejidos y órganos que son los efectores de la inflamación, de manera que permitan su adaptación primero y reparación después del daño (Caio Marcio et al., 2011). Es de suma importancia conocer las características de cada CSE y sus posibles secuelas a nivel periapical, debido a que en la actualidad es muy importante no generar ninguna reacción indeseada a los tejidos periapicales. Se sabe que los CSE a base de óxido de zinc y eugenol; cuando se colocan y entran contacto con tejidos vivos, causan una respuesta inflamatoria de leve a severa (Arai et al., 2008).

Desai y Chandler (2001) realizaron una revisión de literatura de los CSE a base de hidróxido de calcio para determinar las propiedades biológicas y características físicas que poseen, destacando que un factor muy importante es la biocompatibilidad, debido a que los cementos inadvertidamente pueden extravasarse a los tejidos periapicales; mostrando que los CSE a base de hidróxido de calcio mostraron ser materiales con efectos antimicrobianos variables y que la citotoxicidad que presentan parece ser menor comparada con otros grupos de cementos (Dartaret et al., 2003). En cuanto a los CSE a base de resina epoxi se les considera ligeramente irritantes para los tejidos

periapicales cuando estos entran en contacto con dichos tejidos. Por su parte los cementos bioceramicos se conoce que tienen una excelente biocompatibilidad con los tejidos periapicales (Huang et al., 2002)

Dirección General de Bibliotecas UAQ

IV. HIPÓTESIS

IV.1 HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los CSE Pulp Canal Sealer ® y AH- Plus ® promoverán una mayor producción de IL- 8 en células mononucleares humanas *in vitro* en comparación con los CSE BioRoot RCS ®, MTA Fillapex ®.

V. OBJETIVOS

V.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar que CSE induce una mayor producción de IL-8 en células mononucleares humanas *in vitro* expuestas a cuatro CSE (BioRoot RCS ®, MTA Fillapex ®, Pulp Canal Sealer ®, Ah- Plus ®).

V. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar la concentración de IL-8 posterior a la estimulación de CMH con eluidos de cemento sellador BioRoot RCS ®.
- Cuantificar la concentración de IL-8 posterior a la estimulación de CMH con eluidos de cemento sellador MTA Fillapex ®.
- Cuantificar la concentración de IL-8 posterior a la estimulación de CMH con eluidos de cemento sellador Pulp Canal Sealer ®.
- Cuantificar la concentración de IL-8 posterior a la estimulación de CMH con eluidos

de cemento sellador AH Plus ®.

- Comparar los valores de concentración de IL-8 producida por las CMH estimuladas con elúidos de cementos selladores BioRoot RCS ®, MTA Fillapex ®, Pulp Canal Sealer ® y AH Plus ®.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI. 1 DISEÑO

Experimental *in vitro*

VI.2 UNIVERSO

Cultivo de células mononucleares humanas expuestas a eluidos de CSE: AH- Plus[®], Pulp Canal Sealer[®], MTA Fillapex[®] y BioRoot RCS[®].

VI.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA

48 pozos de placas de cultivo de 24 pozos con 500,000 células cada uno. Cada placa de 24 pozos con CMH procedentes de un individuo sano (dos individuos para los 48 pozos). Divididos de acuerdo con el CSE y a los grupos control, así como también de acuerdo con las horas de exposición al eluido de cada cemento.

VI.3.1 DEFINICIÓN DEL GRUPO CONTROL

Grupo control positivo: 4 pozos estimulados con lipopolisacarido

Grupo control negativo: 4 pozos adicionados con medio de cultivo sin exposición a los cementos.

VI.3.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de Inclusión del paciente donador de monocitos: Clínicamente sano, sin tratamiento de antiinflamatorios tanto AINES o esteroideos.

Criterios de Inclusión de los cultivos celulares: Cultivos celulares que cumplan con viabilidad celular.

Criterios de Exclusión del paciente donador de monocitos: Personas que estén bajo tratamiento antimicrobiano, analgésico y antiinflamatorio.

Criterios de Exclusión de los cultivos celulares: Cultivos que no cumplan con criterios de calidad.

Criterios de Eliminación del paciente donador de monocitos: Personas que decidan retirar su muestras e información biológica obtenida del experimento.

Criterios de Eliminación de los cultivos celulares: Todas las muestras que durante el procesamiento sufrieron algún daño, contaminadas y/o mal etiquetadas.

VI.3.2 VARIABLES ESTUDIADAS

Independiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Eluído Cemento Sellador BioRoot®	Medio de cultivo que ha sido expuesto al cemento sellador y ha absorbido compuestos químicos que son liberados después del fraguado.	Mezcla del cemento sellador según fabricante. Elaboración de Eluídos	Cuantitativa	Continua	μl
Eluído Cemento Sellador MTA Fillapex®	Medio de cultivo que ha sido expuesto al cemento sellador y ha absorbido compuestos químicos que son liberados después del fraguado.	Mezcla del cemento sellador según fabricante. Elaboración de Eluídos	Cuantitativa	Continua	μl

Eluído Cemento Sellador Pulp Canal Sealer ®	Medio de cultivo que ha sido expuesto al cemento sellador y ha absorbido compuestos químicos que son liberados después del fraguado.	Mezcla del cemento sellador según fabricante. Elaboración de Eluídos	Cuantitativa	Continua	µl
Eluído Cemento Sellador AH Plus ®	Medio de cultivo que ha sido expuesto al cemento sellador y ha absorbido compuestos químicos que son liberados después del fraguado.	Mezcla del cemento sellador según fabricante. Elaboración de Eluídos	Cuantitativa	Continua	µl

--	--	--	--	--	--

Dependiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medida
Concentración IL-8	Cantidad de citocina secretada por CMH en cultivo y cuantificada.	Cuantificación de IL-8 por medio de Kit ELISA ABTS Catalog #900-M16	Cuantitativa	Continua de Razón	Pg/ml

VI.5 PROCEDIMIENTO

La fase experimental del estudio se dividió en cinco fases:

Fase I: Obtención de CMH a partir de sangre venosa periférica de un sujeto sano.

Fase II: Preparación de Eluidos Cementos Selladores.

Fase III: Estimulación de las células con los eluidos.

Fase IV: Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA).

Fase V: Análisis de los resultados

Fase I:

Toma de sangre por punción venosa.

Se obtuvieron 25ml de sangre periférica de un individuo para cada uno de los ensayos, participando en total dos individuos a través de la siguiente técnica:

- 1- Se colocó el brazo izquierdo del individuo sobre la mesa de trabajo mientras este se encontraba sentado. Se palpó la vena para identificar la zona de posible punción y se procedió a colocar un torniquete.
- 2- Se desinfectó la zona, y se procedió a realizar la punción ingresando la aguja paralelamente al curso de la vena elegida con el bisel de la aguja hacia arriba.

3- Inmediatamente después de haber puncionado la vena y empezara a salir sangre se introdujeron uno a uno 5 tubos vacutainer de 5 ml cada uno con anticoagulante y los cuales fueron etiquetados adecuadamente.

4- Durante la toma del último tubo, se retiró el torniquete y se colocó un algodón sobre la zona de punción. Se desechó tanto la aguja como el algodón en los contenedores adecuados, y se pidió al sujeto que presionara el algodón durante unos min.

Aislamiento de Células Mononucleares Humanas por gradiente de Ficoll.

Una vez recolectados los tubos con sangre se llevó a cabo siguiente protocolo dentro del laboratorio:

1.- Con una pipeta serológica se colocaron 3 mL de Ficoll-1077 en un tubo cónico de 15 mL.

2. Se mezcló gentilmente la muestra de sangre entera contenida en el vacutainer hasta homogeneizarla.

3. Se retiró la tapa del vacutainer y con una pipeta serológica de 10 mL se dispensaron 5 mL de sangre entera anticoagulada hacia un tubo cónico de 15 mL previamente cargado con 5 mL de PBS, pH 7.4 estéril.

4. Se homogeneizó gentilmente por inversión la mezcla de sangre y PBS.

5. Utilizando la misma pipeta serológica de 10 mL se tomaron 10 mL de la mezcla de sangre entera y PBS y se colocó cuidadosamente sobre la superficie del Ficoll-

1077 sin perturbar la interfase escurriendo la mezcla lentamente por la pared del tubo inclinado. Al terminar este paso el tubo cónico presentó dos estratos, uno inferior con Ficoll-1077 y uno superior con la mezcla de sangre y PBS.

6. Los tubos con dos estratos fueron colocados en la centrifuga durante 20 min. a 1,500 RPM. Se retiraron de la centrifuga con cuidado de no perturbar los estratos que se han formado. En este momento existían cuatro estratos diferentes: el primero, de abajo hacia arriba, contenía eritrocitos y granulocitos, el inmediatamente superior contenía Ficoll-1077, el inmediatamente superior al Ficoll es el estrato más discreto y contenía tanto a las células mononucleares humanas como a las plaquetas y, por último, el estrato superior que contenía el plasma.

7.- Empleando una micropipeta de hasta 1000 μ l se transfirió el estrato correspondiente a las células mononucleares humanas a un tubo de cultivo de fondo redondo de 12 mL. Se aforaron los tubos de cultivo de fondo redondo a 10 mL con PBS, pH 7.4 y se homogeneizaron gentilmente por inversión.

8.- Se colocaron los tubos de cultivo de fondo redondo en la centrifuga y se centrifugaron a 760 RPM, 10 min.

9.- Se retiraron tus tubos de la centrifuga y se descartó el sobrenadante por decantación hacia una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 0.5%.

10.- Se resuspendieron las CMH en el volumen remanente de PBS dando pequeños golpes a la punta del tubo con el dedo índice. Se aforó el tubo a 10 mL con PBS, pH 7.4 nuevamente y se homogeneizó gentilmente por inversión.

11.- Se colocaron nuevamente los tubos de cultivo de fondo redondo en la centrifuga y se centrifugaron a 760 RPM por 10 min.

12. Se retiraron de la centrífuga y se descartó el sobrenadante por decantación hacia una solución de hipoclorito de sodio (NaOCl) al 0.5%.

13. Se resuspendieron las CMH en el volumen remanente de PBS dando pequeños golpes a la punta del tubo con el dedo índice. Y se agregó a cada tubo con cCMH 1 mL de medio de cultivo DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal (FBS) y se resuspendieron a las células mononucleares humanas con golpeteo digital.

14.- Se procedió a realizar el conteo celular e identificación de viabilidad celular, para lo que la suspensión de CMH fue mezclada con una solución al 0.4% de azul tripán antes de ser observada bajo el microscopio haciendo uso de un hemocitómetro de Neubauer.

Fase II:

Preparación de Eluidos Cementos Selladores.

Se utilizaron los siguientes selladores: AH Plus®, Pulp Canal Sealer®, MTA Fillapex® y BioRoot RCS®.

1.- Todos los selladores se mezclaron según la instrucción de los fabricantes y fueron aplicados en 4 moldes de silicona cada uno (diámetro 4 mm, altura 1.5 mm). Para garantizar el fraguado completo de todos los cementos selladores, las muestras se sumergieron en solución fisiológica (solución salina equilibrada de Hank) a 37 °C. durante 48 horas.

2.- Después del fraguado, los materiales fueron pesados tres veces y se registró el peso promedio. Los pesos promedio fueron: AH Plus 47.6 mg, MTA-Fillapex® 31.6 mg, Pulp Canal Sealer® 49.4 mg y para BioRoot RCS® 37.3 mg. Cada "pastilla"

de material sin el molde de silicona fue colocada en una placa de 48 pozos y se le agregó 1ml de medio de cultivo RPMI sin suplementos ni antibióticos.

3.- La placa de cultivo con todos los cementos fue incubado a 37°C y 5% de CO₂ por 24 horas.

4.- Una vez concluido el tiempo, se recuperó el medio de cultivo (eluído) utilizando una micropipeta. Esta solución fue filtrada y centrifugada a 10,000 RPM durante 5 min y posteriormente se almacenó a -20°C hasta su uso.

Fase III:

Estimulación de las células con los eluídos

1.- Se realizaron dos ensayos de estimulación por separado (dos individuos donadores), y cada uno por duplicado en cajas de cultivo de 24 pozos.

2.- En cada pozo se sembraron 500,000 células inmediatamente después de haber sido aisladas junto con 960 µl de medio de cultivo celular RPMI suplementado con 10% de suero autólogo, 1% de aminoácidos no esenciales y 1% de penicilina/estreptomicina y 40 µl de cada uno de los eluídos o 40 µl de LPS para el caso de los controles.

3.- La placa fue colocada en incubación a 37°C con 5% de CO₂ y se extrajo de la incubadora al cumplir 3 horas. El sobrenadante correspondiente a 3 horas de exposición fue recuperado utilizando una micropipeta y colocado en microtubos previamente rotulados. Todos los sobrenadantes se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento.

4.- Concluidas 6, 12 y 24 horas de exposición se recuperaron los sobrenadantes de los pozos restantes y todos fueron almacenados.

Fase IV:

Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA)

Se utilizó el Kit comercial ELISA ABTS developmet kit (Peprotech, EU) para cuantificación de IL-6 y su correspondiente kit de soluciones amortiguadoras siguiendo estrictamente las indicaciones del fabricante:

1.- Se diluyó el anticuerpo de captura en PBS a una concentración de 1.0 µg/ml. Inmediatamente se agregaron 100 µl a cada uno de los pozos de una placa de 96 pozos proporcionada en el mismo kit. Se selló la placa y se incubó durante toda la noche a temperatura ambiente.

2. Al día siguiente, se aspiró cada uno de los pozos para remover el líquido y se lavó cada uno cuatro veces utilizando 300 µl de solución de lavado en cada ocasión.

3.- Se diluyó la solución estándar desde 1ng/ml a cero utilizando solución diluyente e inmediatamente se agregaron 100 µl de la solución estándar de cada una de las muestras en un pozo previamente identificado.

4.- Se incubó a temperatura ambiente por al menos 2 horas.

5.- Se aspiró y lavó la placa cuatro veces y se diluyó el anticuerpo en diluyente a una concentración de 0.50 µg/ml.

6.- Se agregaron 100 μ l por pozo y se incubaron a temperatura ambiente por al menos 2 horas.

7.- Se aspiró y lavó cada pozo cuatro veces y se diluyó la alícuota de 5.5 μ l de Avidin Peroxidasa en una proporción 1:2000 en diluyente para obtener un volumen total de 11ml y se agregaron 100 μ l a cada pozo.

8.- Se incubó durante 45 min a temperatura ambiente y se aspiró y lavo cada pozo cuatro veces.

9.- Se agregaron 100 μ l de solución de ABTS a cada pozo y se incubó a temperatura ambiente hasta observar cambio de color.

10.- El cambio de color se monitoreó constantemente y se llevó a un lector de placas programado a 405 nm de longitud de onda.

11.- Se realizaron lecturas cada 5 min durante 30 min, los valores de densidad óptica fueron almacenados en una hoja de Excel para su posterior análisis.

Fase V:

Análisis de los resultados.

Se realizó la importación de valores de absorbancia a una base de datos de Excel, en donde se analizaron los datos y se calcularon medias, desviaciones estándar y se obtuvieron rangos, además de realizar graficas.

VI.5.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El efecto de los eluidos y del tiempo de exposición sobre la producción de la IL-8, fue determinado a través del análisis de varianza de dos factores (ANOVA de dos vías) con el análisis Post hoc de Tukey. Esto corresponde a un modelo factorial completo (se realizaron todas las posibles combinaciones entre valores y variables) y completamente al azar (los grupos se formaron mediante asignación completamente aleatoria). El análisis estadístico se realizó utilizando el software Grap Pad Prism y se consideró significancia estadística cuando p fue ≤ 0.05

VI.5.2 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para el desarrollo de este trabajo de investigación se obtuvo el consentimiento informado de los sujetos sanos que donaron 25ml de sangre periférica venosa. La extracción de esta sangre se realizó siguiendo estrictos estándares de calidad, asepsia y antisepsia que garantizaron la seguridad de este. La información personal del paciente está protegida y se respeta la privacidad de esta. Todos los desechos biológicos e infecto-contagiosos derivados de esta investigación se desecharon en contenedores adecuados para ese fin.

VII. RESULTADOS

En la figura 1 se representa la comparación de la concentración de IL-8 cuantificada por medio del análisis de las placas del ELISA en los sobrenadantes de las CMH estimuladas con los eluidos de los 4 diferentes CSE a las 3, 6, 12 y 24 horas.

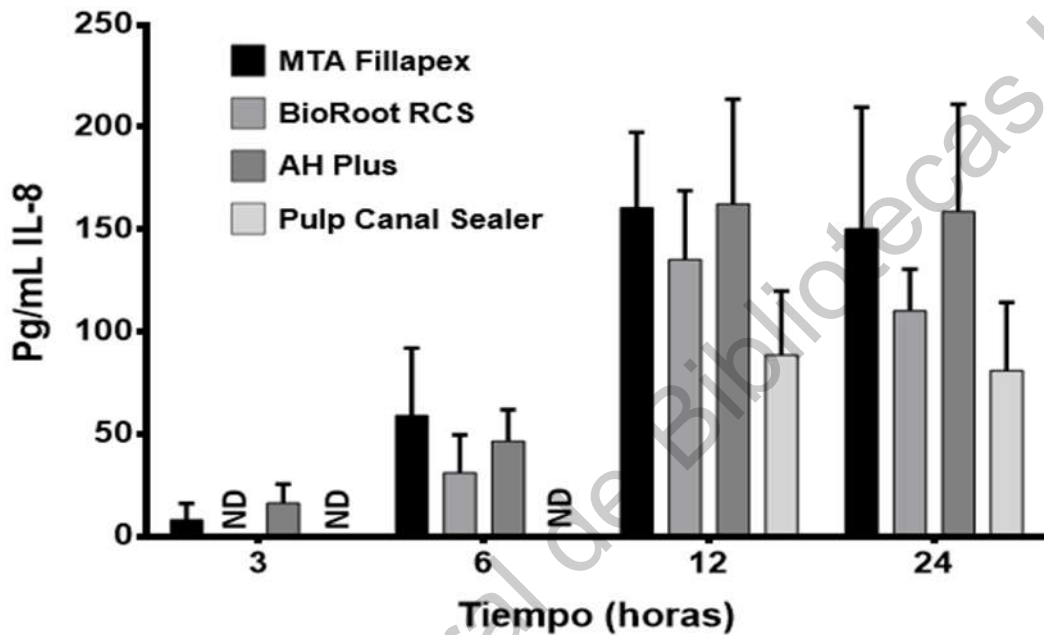


Figura 1. Comparación de la concentración de IL-8 producida por las CMN tras la estimulación con eluidos de los 4 CSE en los 4 tiempos experimentales. No existieron diferencias significativas ($p > 0.05$) en la comparación entre eluidos de los selladores endodónticos en cada tiempo experimental

Al analizar el efecto del tiempo sobre la producción de IL-8 al estimular con cada CSE (tabla 1), se pudo observar que si existen diferencias de producción en los diferentes tiempos experimentales ($p < 0.05$) y ($p < 0.01$), en el caso del CSE MTA Fillapex® se observó un incremento 12 horas y 24 horas ($p < 0.01$), mientras que para el CSE BioRoot® y AH Plus® se observó un incremento a las 12 horas ($p < 0.01$) y a las 24 horas ($p < 0.05$) y por último el CSE Pulp Canal Sealer® se observó un aumento gradual a través del tiempo ($p < 0.05$).

	MTA Fillapex	BioRoot	AH Plus	Pulp Sealer	Canal
3 h vs. 6 h	-	-	-	-	-
6 h vs. 12 h	-	-	*	*	*
12 h vs. 24 h	-	-	-	-	-
3 h vs. 12 h	**	**	**	*	*
3 h vs. 24 h	**	*	**	*	*
6 h vs. 24 h	-	-	*	*	*

Tabla 1 Diferencias significativas ($p < 0.05$) en la comparación entre eluidos de los selladores endodónticos y entre eluidos

VIII. DISCUSIÓN

De acuerdo con la Asociación Americana de Endodoncia (AAE), una obturación se define por el llenado hermético de todo el conducto radicular, lo más cercano posible de la unión cemento-dentina (Leonardo et al., 2009). En esta fase del tratamiento de conductos se requiere del uso de distintos materiales con diferentes composiciones químicas (Cohen y Hargreaves, 2008). Entre los que encontramos: la gutapercha y los CSE, estos últimos son necesarios para sellar el espacio entre la pared dentinaria y el material obturador sólido; además de llenan los huecos y las irregularidades del conducto radicular, conductos laterales/accesorios, y los espacios que quedan entre las puntas de gutapercha (Cohen y Hargreaves, 2008). De manera inadvertida estos materiales o sus eluidos pueden llegar a estar en contacto con los tejidos perirradiculares (Covo-Morales et al., 2016), ocasionando un cierto grado de inflamación y citotoxicidad demostrando su mayor grado de toxicidad cuando se encuentran recién mezclados (Schweikl et al., 2000).

Estudios previos en ratones (Kuo-Wei Tai, 2000), demostró que los CSE histológicamente inducían a una respuesta inflamatoria de la región periapical, principalmente aquellos compuestos de resina epoxi debido a la liberación de formaldehidos durante el fraguado y la mezcla. Señalando que los eluidos de los cementos selladores recién mezclados eran más citotóxicos que los eluidos de los cementos selladores completamente fraguados, los cuales con el paso del tiempo

en el que se evaluaron disminuían su citotoxicidad. En el presente estudios se utilizaron eluidos de cementos selladores completamente fraguados para poder simular cuando un CSE extruido permanece en el organismo. Mientras que en los resultados obtenidos se observó un incremento gradual con el tiempo en la producción de IL-8. Diferentes tipos de células en estudios *in vitro* han sido utilizados para estudiar la biocompatibilidad de materiales dentales. Los CSE a base de óxido de zinc y eugenol han presentado altos índice de citotoxicidad cuando se encuentran en contacto con tejidos vitales (Ørstavik, 2005) de la misma forma (Huang y Tai, 2002) en su estudio mostraron que los selladores del conducto radicular a base de resina, óxido de zinc y eugenol eran citotóxicos para cultivos primarios de células de ligamento periodontal humanas. En el presente estudio en los periodos de prueba experimental de los CSE Pulp Canal Sealer ® y AH- Plus ® aumentaron la producción de IL-8 gradualmente conforme se cumplían los tiempos, lo que sugiere un aumento en la toxicidad a las CMH, siendo estos resultados consecuentes a los encontrados por Huang y Chou quienes manifestaron que los materiales de obturación endodóntica afectan la expresión de citoquinas (Huang y Chou, 2003). Estudios en células mesenquimales (Alsubait et al., 2018), osteoblastos (Jung et al., 2018) y células de ligamento periodontal (Jung et al., 2018) estimuladas con eluidos de cemento sellador AH Plus ® confirman su efecto citotóxico coincidiendo con los resultados presentados en este estudio en cual se demostró que fue el cemento sellador que producía mayor cantidad de IL-8 en los diferentes intervalos de tiempo.

Los CSE BioRoot ® y MTA Fillapex ® han demostrado ser más biocompatibles y menos citotóxicos en comparación a otros 4 CSE (Jung et al., 2018) Sedigheh Khedmat (2014) demostró que a pesar de ser materiales altamente biocompatibles inducen cierto grado de citotoxicidad en monocitos; estos hallazgos fueron comprobados con los resultados del presente estudio en el cual el CSE MTA fillapex ® registro una mayor producción de IL-8 que el CSE BioRoot ® en todos los intervalos de tiempo, a pesar de no haber diferencia entre ellos de una forma muy similar al producido por el CSE AH- Plus ®. La cuantificación de citocinas producidas

por CMH posterior a su estimulación con eluidos de CSE a través de la prueba ELISA, ha sido reportada en una única ocasión (Souza *et al.* 2019), mostrando diferencia significativa entre cementos selladores a base de resina epóxica y biocerámicos, reflejando discrepancia con los resultados obtenidos en el estudio presente el cual no encontró diferencias entre los CSE.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

IX. CONCLUSIONES

El presente estudio *in vitro* mostró que todos los CSE estimularon la producción de IL-8 en todos los intervalos de tiempo analizados teniendo alcanzado el mayor registro a las 12 h que disminuyó considerablemente a las 24 h en todos los CSE.

La defensa del organismo conlleva una serie de respuestas entre ellas la inflamatoria que se encuentra modulada por la producción de diversas citocinas y quimiocinas. La IL-8 es una citocina proinflamatoria y se conoce especialmente porque es capaz de promover la adhesión de los monocitos y neutrófilos que se encuentran en el torrente sanguíneo, a las células endoteliales que forman los vasos sanguíneos, ayudándoles así a pasar de la sangre a los tejidos dañados e inflamados, para que así puedan ejercer su acción. Por lo que se sabe, que esta molécula es imprescindible en una infección bacteriana, para atraer los neutrófilos al lugar de infección y eliminar así las bacterias. Se requiere más estudios que contemplen otras citocinas, diferentes células y una variedad de tiempos experimentales para lograr comprender de mejor manera la influencia de estos materiales en el organismo.

X. PROPUESTAS

Se recomienda realizar más estudios con mayor diversidad de citocinas de citocinas y el uso de nuevos CSE que están saliendo actualmente en el mercado. Estudios *in vitro* que involucren diferentes células que se encuentran presentes en la respuesta inmune para tratar de simular una respuesta *in vivo*. De igual manera se recomienda considerar la realización de estudios *in vivo*.

XI. BIBLIOGRAFÍA

A, García Kass y Bascones Martínez a. Papel de La IL-6 y TNF- α En La Enfermedad periodontal. *Enfermedad Periodontal.Medicina*. 2006; 83–89.

Alsubait, Sara A., Reem Al Ajan, Hala Mitwalli, Nour Aburaisi, Amer Mahmood, Manikandan Muthurangan, Randa Almadhri, Musaad Alfayez, and Sukumaran Anil. 2018. "Cytotoxicity of Different Concentrations of Three Root Canal Sealers on Human Mesenchymal Stem Cells." *Biomolecules* 8.

Al-Haddad, Afaf, and Zeti A. Che Ab Aziz. "Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review." *International Journal of Biomaterials* 2016.

Baggiolini, M., A. Walz, and S. L. Kunkel. Neutrophil activating peptide1/interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J. Clin. Invest.* 1989; 84: 1045

Baggiolini, M., B. Moser, I. Clark-Lewis. Interleukin-8 and related chemotactic cytokines: the Giles Filley lecture. *Chest*. 1994; 105:95S

Baziar, Hani, Farzaneh Daneshvar, Abbas Mohammadi, and Hamid Jafarzadeh. "Endodontic Management of a Mandibular First Molar with Four Canals in a Distal Root by Using Cone-Beam Computed Tomography: A Case Report." *Journal of Oral and Maxillofacial Research* 5 (1). 2004; 1–5.

Bergenholtz G, Hørsted-Bindslev P, Reit C. *Endodoncia*. 2a ed. México: 2011
Manual Moderno.

Caio Marcio Barros de Oliveira, Rioko Kimiko Sakata, Adriana Machado Issy, Luis Roberto Gerola y Reynaldo Salomão. 2011. "Citocinas y Dolor." *Rev Bras Anestesiol Revista Brasileira de Anestesiologia* 61 (2): 137–42.

Cantú, SM, JH Lee, Donoso A y Peredo HA. 2017. "El Ácido Araquidónico Y Sus Derivados. Generalidades De Los Prostanoides En Relación Con Procesos Inflamatorios." *Ciencia E Investigación* 67 (4).

Ciasca, Maria, Anita Aminoshariae, Ge Jin, Thomas Montagnese, and Andre Mickel. 2012. "Comparación de la producción de citocinas proinflamatorias del material de reparación radicular EndoSequence y el agregado de trióxido mineral ProRoot en cultivo de células de osteoblastos humanos mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa." *Journal of Endodontics* 38 (4):

Cohen S and Hargreaves KM. 2008. *Pathways of the Pulp*. 9th ed. Madrid: Elsevier Mosby: 2

Coon, David, Ajay Gulati, Cameron Cowan, and Jianing He. 2007. "The Role of Cyclooxygenase-2 (COX-2) in Inflammatory Bone Resorption." *Journal of Endodontics* 33 (4): 432–36.

Dartar Öztan M, Yılmaz S., Kalaycı A, Zaimog˘lu L. A comparison of the in vitro cytotoxicity of two root canal sealers. *J Oral Rehabil* 2003;30:426-9.

Desai, Shalin, and Nicholas Chandler. 2009. "Calcium Hydroxide-Based Root Canal Sealers: A Review." *Journal of Endodontics* 35 (4): 475–80.

Dongari Bagtzoglou AI, Ebersole JL. Production of inflammatory mediators and cytokines by human gingival fibroblasts following bacterial challenge. *J Periodontal Res.* 1996;31(2):90–8

Elias JA, Zitnik RJ, Ray P. Fibroblast immune-effector function. RP Phipps, ed. *Pulmonary Fibroblast Heterogeneity* 295. CRC Press, Rochester; 1992.

Giudice, Andrea, and John Torres. 2016. "Obturación En Endodoncia - Nuevos Sistemas de Obturación." *Revista Estomatológica Herediana* 21 (3): 166–74.

Goldberg F. 2002. Endodoncia técnicas y Fundamentos, 2ª ed. Buenos Aires: Panamericana: 15.

Grisham MB, Jour'd'Heuill D, Wink, DA. 1999. Nitric oxide. I. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 276: G315 - G321

Grossman, Louis I. endodontic practice. 4a ed. Buenos Aires. 1981: 501

Hilú R., F. Balandrano Pinal. 2009. "success in endodontics." 27 (3): 131–38.

Huang FM, Tai KW, Chou MY, Chang YC (2002) Cytotoxicity of resin-, zinc oxide-eugenol, and calcium hydroxide-based root canal sealers on human periodontal ligament cells and permanent V79 cells. *International Endodontic Journal* 35, 153–8.

Huang, Fu Mei, Ming Yung Chou, and Yu Chao Chang. 2003. "Induction of Cyclooxygenase-2 mRNA and Protein Expression by Epoxy Resin and Zinc Oxide-Eugenol Based Root Canal Sealers in Human Osteoblastic Cells." *Biomaterials* 24 (11): 1869–75.

Huang, Fu Mei, Chung Hung Tsai, Shinn Jyh Ding, and Yu Chao Chang. 2005. "Induction of Cyclooxygenase-2 Expression in Human Pulp Cells Stimulated by Dentin Bonding Agents." *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 100 (4): 501–6.

Jang, Jin-Ah, Hee-Lyang Kim, Mi-Ja Her, Kwang-Won Lee, and Mi-Kyung Yu. 2010. "Effect of Moisture on Sealing Ability of Root Canal Filling with Different Types of Sealer through the Glucose Penetration Model." *Journal of Korean Academy of Conservative Dentistry* 35 (5): 335.

Khabbaz MG, Papadopoulos PD. Deposition of calcified tissue around an overextended gutta-percha cone: case report. *Int Endod J* 1999;32:232-5

Khedmat, Sedigheh, Somayyeh Dehghan, Jamshid Hadjati, Farimah Masoumi, Mohammad Hossein Nekoofar, and Paul Michael Howell Dummer. 2014. "In Vitro Cytotoxicity of Four Calcium Silicate-Based Endodontic Cements on Human Monocytes, a Colorimetric MTT Assay ." *Restorative Dentistry & Endodontics* 39 (3): 149. 9.

Leonardo MR, Leonardo RT. 2009. Endodoncia: Conceptos biológicos y recursos tecnológicos. Sao Paulo: Editorial Artes Médicas; 2009: 91, 95

Lodiene G, Morisbak E, Bruzell E, Orstavik D. Toxicity evaluation of root canal sealers in vitro. *Int. Endod. J.* 2008; 41: 72–7

Nassri, Maria Renata Giazzi, Raphael Carlos Comelli Lia, and Antonio Carlos Bombana. 2003. "Análise Da Resposta Tecidual de Dois Cimentos Endodônticos." *Journal of Applied Oral Science* 11 (1): 9–14.

Ørstavik, D A G. 2005. "Materials Used for Root Canal Obturation : Technica Biological and Clinical Testing," no. 3: 25–38.

Ørstavik, Dag, and T R Pitt Ford. 2008. *Essential Endodontology: Prevention and Treatment of Apical Periodontitis*. Am Dental Educ Assoc.Reviews, Integrated Mini. 2009. "Evidence-Based Review of Clinical Studies on Restorative Dentistry." *Journal of Endodontics* 35 (8): 1111–15.

Oztan, M. D., Yilmaz, S., Kalayci, A., & Zaimoglu, L. (2003). A comparison of the in vitro cytotoxicity of two root canal sealers. *Journal of Oral Rehabilitation*, 30(4), 426–429.

Ricucci D. 2002. Apical limit of root canal instrumentation and obturation, part 1. Literature review. *Int. Endod. J.* 31 (6): 384.

Robles Gil, J. 1967. "Inflamación." *Gaceta Medica de Mexico* 97 (5): 535–38.

Rodríguez Ponce A. Endodoncia. Consideraciones actuales. Amolca. Caracas. 2003. 317-320.

S. Arai, A Fujimori. 2008. *Materials Letters* 62: 3545–3548.

Sari S, Duruturk L. Radiographic evaluation of periapical healing of permanent teeth with periapical lesions after extrusion of AH Plus sealer. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2007 Sep;104(3):e54-9.

Schweikl H, Schmalz G. The induction of micronuclei in V79 cells by the root canal filling material AH Plus. *Biomaterials* 2000; 21:939-44.

Siqueira, José F., and Isabela N. Rôças. 2008. "Clinical Implications and Microbiology of Bacterial Persistence after Treatment Procedures." *Journal of Endodontics* 34 (11).

Szekanecz Z, Szucs G, Szanto S, Koch AE. 2006. Chemokines in rheumatic diseases. *Curr Drug Targets* 7: 91 - 102.

Tai, Kuo Wei, Fu Mei Huang, Min Sheng Huang, and Yu Chao Chang. 2002. "Assessment of the Genotoxicity of Resin and Zinc-Oxide Eugenol-Based Root Canal Sealers Using an in Vitro Mammalian Test System." *Journal of Biomedical Materials Research* 59 (1): 73–77.

Torabinejad M y cols. 2005. Levels of Evidence for the Outcome of Nonsurgical Endodontic Treatment. *J Endod.* (31):637-46.

Wong, Amy W.Y., Chengfei Zhang, and Chun Hung Chu. 2014. "A Systematic Review of Nonsurgical Single-Visit versus Multiple-Visit Endodontic Treatment." *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry* 6: 45–56.

Dirección General de Bibliotecas UAQ