



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

EVALUACIÓN MICROTOMOGRÁFICA E HISTOLÓGICA
DE BIOCERÁMICOS COMO AGENTE PULPAR DIRECTO
EN RATAS WISTAR.

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

ESPECIALISTA EN ENDODONCIA

P R E S E N T A:

DIANA ELDA TORRES FLAMENCO

TUTOR: DRA. JANETH SERRANO BELLO

ASESOR : Esp. RENEÉ JIMÉNEZ CASTELLANOS



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

EVALUACIÓN MICROTOMOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DE BIOCERÁMICOS COMO AGENTE PULPAR DIRECTO EN RATAS *WISTAR*.

INDICE

RESUMEN	2
INTRODUCCIÓN	3
RECUBRIMIENTO PULPAR DIRECTO	3
HIDRÓXIDO DE CALCIO	3
MATERIALES BIOCERÁMICOS	3
MTA	4
Biodentine®	5
NeoMTA®	6
MODELOS DE ANIMALES PARA ESTUDIOS DE RECUBRIMIENTO PULPAR DIRECTO	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
JUSTIFICACIÓN.....	7
HIPÓTESIS	8
OBJETIVO GENERAL.....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
MUESTRA.....	8
MÉTODOS:.....	9
EVALUACIÓN MICROTOMOGRÁFICA	10
EVALUACIÓN HISTOLÓGICA	11
RESULTADOS	11
MICRO-CT	11
IMÁGENES HISTOLÓGICAS	12
DISCUSIÓN.....	13
CONCLUSIÓN.....	17
REFERENCIAS.....	19

EVALUACIÓN MICROTOMOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DE BIOCERÁMICOS COMO AGENTE PULPAR DIRECTO EN RATAS *WISTAR*.

RESUMEN

Objetivo: Se hizo una evaluación por medio de imágenes microtomográficas e histológicas de la respuesta dentinopulpar inducida por dos materiales biocerámicos, utilizados como agente de recubrimiento pulpar directo, en primeros molares superiores de ratas *Wistar*. **Materiales y métodos:** Se realizaron comunicaciones pulpares estandarizadas en los primeros molares superiores de rata cepa *Wistar* y cubriendo la pulpa expuesta con NeoMTA y Biodentine. Después de 15, 45 y 90 días, se observó la respuesta dentinopulpar evaluando la radiodensidad en la zona del recubrimiento pulpar directo utilizando micro-CT. La reproducibilidad de los análisis de micro-CT se confirmó mediante la evaluación histológica de la misma muestra. **Resultados:** El análisis de la formación de minerales en el sitio de la comunicación pulpar muestra un comportamiento similar de las UH a los 15 y 45 días, tanto en los molares tratados con NeoMTA y Biodentine. Se observaron datos estadísticamente significativos en el análisis de 90 días, donde NeoMTA reveló un aumento de la mineralización. Las muestras histológicas muestran la formación de un puente dentinario a partir de los 15 días en ambos grupos, hay presencia de calcificaciones difusas en la cámara pulpar, la cuales son más evidentes a los 90 días en el grupo de molares tratado con NeoMTA. **Conclusiones:** Aunque hubo algunas diferencias en el grosor y la morfología del puente dentinario formado por NeoMTA y Biodentine; los resultados de este estudio sugieren que ambos materiales proporcionan un ambiente óptimo para la curación de la pulpa dental vital expuesta. **Palabras clave:** Recubrimiento pulpar directo. Microtomografía. NeoMTA. Biodentine.

INTRODUCCIÓN

RECUBRIMIENTO PULPAR DIRECTO

El recubrimiento pulpar directo es un procedimiento dental frecuentemente utilizado y forma parte de la Terapia Pulpar Vital (TPV), implica la colocación de un material dental directamente sobre la pulpa vital expuesta ya sea por motivos mecánicos, traumáticos o procesos cariosos^{1,2}. Los materiales dentales utilizados en este procedimiento deben ser biocompatibles y con una bioactividad adecuada para promover la formación de un puente dentinario a través de células similares a odontoblastos diferenciadas de las células troncales de la pulpa dental (DPSC); que permitan preservar la vitalidad del tejido pulpar evitando cambios patológicos³.

El recubrimiento pulpar directo se indica cuando se cumplen las siguientes cuatro condiciones: 1) la exposición pulpar debe ser rodeada por dentina sana; 2) el tejido pulpar presente en la superficie de la exposición debe presentar sangrado homogéneo color rojo brillante, sin áreas licuadas amarillentas o zonas oscuras sin sangrado; 3) ausencia de astillas de dentina desplazadas durante la excavación en la herida pulpar; y 4) la hemostasia debe lograrse dentro de 2 a 3 minutos aplicando una torunda de algodón estéril sobre la herida.

El objetivo es obtener una herida quirúrgica limpia en tejido conectivo pulpar no infectado que esté rodeado de dentina mineralizada no infectada. Si se alcanzan estos objetivos, se espera que el entorno sea propicio para la curación a través de la formación de un puente dentinario.

Si no se cumplen estas condiciones, se indican progresivamente procedimientos más invasivos, hasta que el aspecto clínico indique ausencia de infección en la dentina y la exposición pulpar. Para casos de infección avanzada, la pulpectomía representa la única opción de tratamiento¹.

HIDRÓXIDO DE CALCIO

El hidróxido de calcio se introdujo por primera vez en la profesión dental en la década de 1920, y ha sido reconocido durante mucho tiempo como el material estándar para el recubrimiento pulpar directo al inducir la formación de una barrera de tejido duro. Sin embargo, su uso en la terapia pulpar vital sigue siendo controvertido por presentar varias desventajas. Los apósitos hidróxido de calcio no crean un enlace con la dentina y se disuelven clínicamente en 1 a 2 años; por lo tanto, el problema más destacado que se ha observado en dicho material es la presencia de defectos de túnel en el 89% de los puentes dentinarios formados. Considerando que la disolución del apósito deja un vacío debajo de la restauración, estos "defectos de túnel" presentan un alto riesgo de microfiltración, lo que lleva a la reinfección bacteriana, la inflamación persistente de la pulpa y necrosis^{3,4}.

MATERIALES BIOCERÁMICOS

Históricamente los cementos catalogados como biocerámicos surgen a partir de la composición del Cemento Portland. Actualmente se considera que los biocerámicos desempeñan papeles

cruciales en la reparación del complejo dentinopulpar al facilitar la función biológica y mejorar inconvenientes de los materiales anteriormente utilizados. Están formados por elementos inorgánicos no metálicos que incluyen alúmina y zirconio, vidrio bioactivo, cerámica de vidrio, silicatos de calcio, hidroxiapatita y fosfatos de calcio reabsorbibles⁵.

Los biocerámicos se usan en contacto directo con los tejidos y una de las formas más simples de clasificarlos es la siguiente:

-Bioinertes: no reaccionan con el entorno con el que están en contacto (alúmina, zirconia)⁵.

-Biodegradables: soluble o reabsorbible, eventualmente reemplazado o incorporado en el tejido (fosfato tricálcico, vidrios bioactivos)⁵.

-Bioactivos: sí reaccionan con los componentes del tejido circundante⁵. El término bioactivo de acuerdo a la definición de Hench en el 2006, es aquel material que provoca una respuesta biológica específica en la interfaz del material; en los biocerámicos la bioactividad ocurre porque estos liberan iones de calcio e hidróxido. El alto pH de estos materiales hace que los iones de fosfato en los fluidos tisulares precipiten con los iones de calcio y formen una capa de hidroxiapatita. Esta propiedad permite que el material desempeñe un papel positivo como promotor de diferenciación celular y para estimular la reparación de tejidos, osteogénesis y cementogénesis^{6,7}.

Otro término utilizado para los materiales biocerámicos en endodoncia es cementos

hidráulicos bioactivos basados en silicato tricálcico (CSCH). El término hidráulico, se refiere a que el material puede establecerse en ambientes húmedos; es decir, que la reacción de curado tiene lugar cuando se mezcla con agua y puede endurecer en un ambiente húmedo y que sus propiedades mejoran cuando entra en contacto con fluidos (agua, sangre, líquido dentinal, saliva, etc). Se expanden en 0,2-6% del volumen inicial por la absorción de agua y contribuye de manera importante a la capacidad de sellado, aumentando la retención mecánica dentro de los túbulos dentinarios, mejorando la actividad biológica a lo largo de las paredes internas y la adaptación de la interfaz⁷. Son aceptados por tener un pH alcalino, porosidad y solubilidad que desafía los resultados de sellado, algunos están libres de decoloración, cuentan con partículas finas y características antimicrobianas⁸.

Los cementos hidráulicos bioactivos basados en silicato tricálcico involucran a toda la familia de cementos similares al Mineral Trióxido Agregado (MTA) y los cementos en base a silicato tricálcico puro⁷.

MTA

El cemento biocerámico de primera generación introducido en la endodoncia es el Mineral Trióxido Agregado (MTA) en la década de 1990 por el Dr. M. Torabinejad. MTA es una mezcla de grado médico de cemento Portland y óxido de bismuto; las principales fases constituyentes son el silicato tricálcico y

dicálcico y el aluminato tricálcico. El proceso de fabricación conduce a una mezcla que consiste en impurezas como trazas y óxidos metálicos. El óxido de bismuto se agrega para proporcionar radiopacidad. Estudios previos han demostrado que el MTA induce una mayor formación del puente dentinario en comparación con los materiales convencionales de hidróxido de calcio. Aunque el material es extremadamente biocompatible y tiene una excelente capacidad de sellado tiene algunos inconvenientes que limitan su aplicación: la posible liberación de sustancias peligrosas (pequeñas cantidades de arsénico), la pigmentación de los dientes (contiene hierro y manganeso), el retraso en el tiempo de fraguado, la inconsistencia de la mezcla y la falta de adhesión a la dentina^{2,6}.

En 2013, la patente original para el prototipo de MTA expiró, y desde entonces, se introdujeron varios cementos hidráulicos basados en silicato de calcio similares al MTA, con propiedades fisicoquímicas y biocompatibles comunes pero con características mejoradas⁴.

Biodentine®

Biodentine® (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francia), un cemento a base de silicato tricalcico, se introdujo como un sustituto permanente de la dentina en 2011, es producto de la innovación “Active Biosilicate Technology” que estimula las células de la pulpa para formar una dentina reactiva, posee propiedades mecánicas similares a la dentina sana y puede reemplazarla tanto a nivel coronario como a nivel radicular.

Según el fabricante, los componentes principales de Biodentine son mostrados en la Tabla 1⁷.

El líquido contiene cloruro de calcio como

Biodentine ®		
Polvo	Aditivos	Radiopacificador
Silicato Tricálcico (3CaO.SiO ₂)	Carbonato de Calcio, (CaCO ₃), Cloruro de calcio (acelerador), Polímero hidrosoluble basado en Policarboxilato. (Agente reductor de agua) (Alotaibi <i>et al.</i> , 2018).	Óxido de Zirconio de Hierro (Alotaibi <i>et al.</i> , 2018). (ZrO ₂)

Tabla 1: Principales componentes de Biodentine®⁷

acelerador de fraguado y un polímero hidrosoluble a base de carboxilato como agente reductor de agua. La presencia de un acelerador permite el fraguado del material en 12 minutos y la presencia de un agente reductor de agua evita la formación de grietas dentro del material. Cuando el polvo y el líquido de Biodentine se mezclan, el fraguado del material ocurre mediante una reacción de hidratación que conduce a la liberación de iones de calcio que son necesarios para la mineralización. Presenta actividad antibacteriana (pH 12.5) y una mejor resistencia a la compresión y capacidad de sellado que el MTA⁹.

Biodentine no es tóxico, no tiene efectos adversos sobre la diferenciación celular y tiene función celular específica. Aumenta la secreción del factor de Transformación Beta 1 (TGF-B1), factor de crecimiento de las células pulpares, que causa angiogénesis, reclutamiento de células

progenitoras, diferenciación celular odontoblástica y la mineralización⁵.

NeoMTA®

El óxido de bismuto (Bi_2O_3), un agente radiopacificador contenido en la mayoría de los cementos basados en MTA, juega un papel crucial en los procesos de hidratación de los silicatos de calcio así como en una posible decoloración dental, especialmente cuando está en contacto con hipoclorito de sodio¹⁰.

NeoMTA (NuSmile, Huston, EE. UU.) es un nuevo material de silicato tricálcico en polvo más fino y tiene óxido de tantalio (Ta_2O_5) como agente radiopacificante que se mezcla con un gel a base de agua que imparte buenas propiedades de manejo con una formulación que no pigmenta y un tiempo de fraguado rápido. El polvo se proporciona en un envase que se puede volver a sellar, lo que facilita el uso de solo la cantidad necesaria de NeoMTA en cada tratamiento, mejorando así la rentabilidad⁶.

MODELOS DE ANIMALES PARA ESTUDIOS DE RECUBRIMIENTO PULPAR DIRECTO

La norma ISO 7405 establece claramente que solo los mamíferos no roedores son especies adecuadas para la investigación animal en odontología. Aunque las ratas no figuran en la lista de animales adecuados, el trabajo más importante y fundamental sobre la infección bacteriana del tejido pulpar fue realizado hace más de 40 años por Kakehashi *et al.*¹¹ en molares de rata.

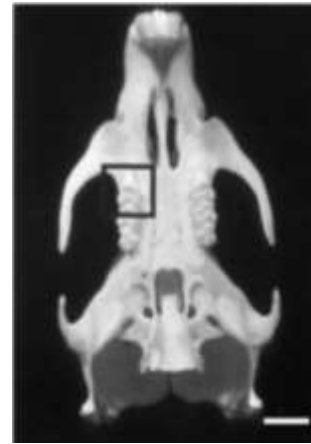


Fig.1 Plano coronal del paladar de rata *Wistar*. El recuadro indica el primer molar superior¹².

La dentición de rata consta de dos incisivos, divididos por un diastema de tres molares tanto en la mandíbula, como en el arco maxilar (Figura 1). Los incisivos son afilados, de crecimiento permanente y con un ápice abierto; estas características no permiten que sean comparados con los dientes humanos. Por el contrario, los molares incluido el tejido pulpar, pueden considerarse como un molar humano reducido con características anatómicas, histológicas, biológicas y fisiológicas similares.

En los últimos 50 años se han publicado una gran cantidad de estudios que utilizan los molares de rata para evaluar el recubrimiento pulpar directo, las pulpotomías y las reacciones tisulares después de una exposición pulpar. Se ha demostrado que la curación del tejido pulpar en los molares de rata después de la colocación de un recubrimiento pulpar directo es histológicamente comparable con el tejido pulpar de humanos y otras especies animales. Por ejemplo, se ha observado que la secuencia de la reorganización celular del tejido pulpar expuesto después de la colocación de hidróxido de calcio (estándar de oro en

odontología) en ratas es comparable con el proceso de curación descrito en humanos e incluso se denota como idéntico. Por lo tanto, se puede argumentar que las reacciones biológicas esenciales del tejido pulpar en los molares de la rata así como su respuesta y/o curación ante una exposición son comparables a las de otros mamíferos, haciéndolos un modelo de investigación adecuado para este tipo de estudios¹².



Fig. 2 Micrografía de un molar superior de rata. Tinción de azul de toluidina. Ampliación 40x¹².

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las mayores controversias en el tratamiento de dientes permanentes con exposición pulpar debido a un tratamiento de caries profunda o traumatismo está en la decisión de realizar un tratamiento de Terapia Pulpar Vital (TPV) o un tratamiento convencional de conductos. La TPV ha sido sugerida como una

alternativa de tratamiento ante exposiciones pulpares vitales.

Con el advenimiento de los materiales Bioactivos hoy hay un cambio de paradigma en el tratamiento de la TPV. Está ampliamente demostrado en la literatura tanto en los estudios *in vitro* como *in vivo*, que estos materiales son más efectivos que el hidróxido de calcio para lograr cambios biológicos y microestructurales en el tejido pulpar y dentinario. El desarrollo de estos nuevos materiales en la odontología, también ha desencadenado nuevas líneas de investigación en el área de regeneración endodóntica.

La comprensión de la biología dental y de los fenómenos que la rodean es de fundamental importancia para la aplicación de los recursos de protección del complejo dentinopulpar.

JUSTIFICACIÓN

Aunque se ha demostrado que el tratamiento de conductos en dientes con pulpa vital da un resultado confiable, el pronóstico en términos de supervivencia de dientes tratados endodónticamente no es tan bueno como el de un diente vital; posiblemente por la pérdida de la sensibilidad dental, proporcionada por una pulpa vital, como un mecanismo de defensa ante los estímulos nocivos.

Los avances en los materiales de restauración deben impulsar el desarrollo de terapias y materiales específicos que estén diseñados para regenerar la pulpa dental incluso en situaciones clínicas difíciles. Es necesario comprobar y evaluar la formación de dentina terciaria así como la reparación y regeneración tisular generada por el potencial

terapéutico de los materiales bioactivos recientemente disponibles en el mercado. Se ha comprobado que los molares de rata son un modelo de estudio adecuado para este tipo de investigaciones ya que las reacciones biológicas esenciales del tejido pulpar en los molares de la rata así como su respuesta y/o curación ante una exposición son comparables a las del ser humano.

HIPÓTESIS

Los biocerámicos NeoMTA y Biodentine utilizados como recubrimiento pulpar directo, no producen una respuesta inflamatoria e inducen la reparación del complejo dentinopulpar.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar y comparar por medio de imágenes microtomográficas e histológicas la respuesta dentinopulpar, inducida por dos materiales biocerámicos, utilizados como agente de recubrimiento pulpar directo en primeros molares superiores de ratas *Wistar*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Evaluar la radiodensidad en la zona del recubrimiento pulpar directo con NeoMTA a diferentes tiempos (15, 45, 90 días) en primeros molares superiores derechos de rata *Wistar*.

-Evaluar la radiodensidad en la zona del recubrimiento pulpar directo con Biodentine a diferentes tiempos (15, 45, 90 días) en primeros molares superiores izquierdos de rata *Wistar*.

-Evaluar histológicamente la respuesta dentinopulpar inducida por NeoMTA y Biodentine.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este estudio fue aprobado por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) con número No.027-CIC-2019. Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con los parámetros establecidos en la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

Tipo de estudio: Estudio experimental

Población de estudio: Ratitas estirpe *Wistar*.

MUESTRA:

Se utilizaron los dos primeros molares maxilares (derecho e izquierdo) completamente sanos de 12 ratas macho *Wistar*. En cada molar se realizó una comunicación pulpar, donde:

- La comunicación pulpar realizada en el primer molar superior derecho fue sellada con **NeoMTA®** (NuSmile Ltd.)
- La comunicación pulpar realizada en el primer molar superior izquierdo se selló con **Biodentine®** (Septodont).
- Cumplidos los tiempos de fraguado tal como el fabricante lo indica para cada material biocerámico, los molares fueron grabados con ácido fosfórico (**3M™ Scotchbond™**) y obturados con resina fluida **Z350 XT™** (**3M™ ESPE**).

Las ratas fueron divididas aleatoriamente en 3 grupos:

-Grupo 1: Evaluación microtomográfica a los 15, 45 y 90 días y evaluación histológica a los 90 días.

-Grupo 2: Evaluación histológica a los 45 días

-Grupo 3: Evaluación histológica a los 15 días

Aspectos técnicos al tratar los molares de rata

El pequeño tamaño de los molares de rata requiere el uso de instrumentos especiales así como el uso de lupas o microscopio.

Los tejidos blandos, como la lengua y las mejillas, también pueden reducir considerablemente el acceso visual al área de operación. Por lo tanto, la colocación correcta de la cabeza de la rata, con acceso visual abierto a la faringe oral es piedra angular para llevar a cabo cualquier procedimiento con éxito. Debe lograrse la relajación completa del animal mediante anestesia profunda¹².

MÉTODOS:

Los animales fueron anestesiados por vía intramuscular con Ketamina (80mgr/Kg) y Xilacina (10mgr/Kg) y se colocaron en una tabla operatoria. Intentando mantener el mismo tamaño y bajo magnificación, en cada primer molar superior se preparó una cavidad clase I en la superficie oclusal con exposición pulpar utilizando una fresa de carburo en forma de bola de 0.4 mm de diámetro, la cual fue adaptada al motor Surgic AP® (NSK®); el procedimiento se realizó bajo una constante irrigación con solución salina estéril para evitar el deterioro pulpar debido al calor durante la preparación de la cavidad y por un operador experto para establecer una cavidad de tamaño similar

de diámetro y profundidad (Fig. 3). El tiempo de penetración para lograr un contacto pulpar fue aproximadamente de 10 segundos. La hemorragia producida tras la comunicación pulpar se controló haciendo presión ligera durante algunos segundos con torundas de algodón estériles.

Las cavidades realizadas en cada uno de los molares fueron selladas con un recubrimiento pulpar diferente, como se mencionó anteriormente (Fig. 4).



Fig. 3 Cavidad y comunicación pulpar

Los animales permanecieron durante el tiempo del estudio en el Bioterio de la DEPeI, FO UNAM, a una temperatura de 20-25°C y con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas diarias.

Después de la colocación de los recubrimientos pulpares todas las ratas

fueron evaluadas clínicamente durante 8 días consecutivos y posteriormente cada 15 días hasta cumplir los tiempos establecidos.

También, antes de cada estudio imagenológico se realizaron revisiones minuciosas tanto del estado general y peso de los animales como de los molares tratados previamente, donde se tomó en cuenta la presencia de un aumento de volumen, sangrado, fistulización, movilidad dental.

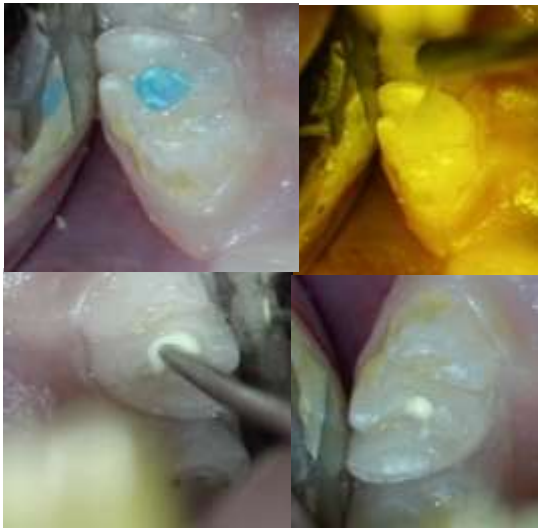


Fig.4 Colocación de biocerámico como recubrimiento pulpar directo y obturación con resina.

EVALUACIÓN MICROTOMOGRÁFICA

Las ratas del **Grupo 3** fueron evaluadas mediante imágenes de micro-CT antes del tratamiento y a los 15, 45 y 90 días posteriores al procedimiento. El estudio se realizó bajo anestesia vía inhalatoria con isoflurano en una concentración de 2/100 de oxígeno (Fig. 5). Las imágenes microtomográficas fueron adquiridas con

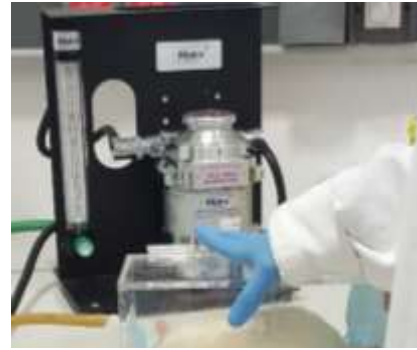


Fig.5 Anestesia con isoflurano.



Fig. 6 Estudio Micro-Tomográfico; INCan.

el equipo Albira ARS, Oncovisión (Fig. 6), en el Instituto Nacional de Cancerología (INCan). El campo de visión fue la zona del maxilar con una magnitud de corriente de 0.4 miliamperes (mA), un voltaje de 45 Kilovoltios (kV) y 1000 proyecciones para obtener imágenes de alta resolución (CT-High-Res. HD-HV). Posteriormente en las imágenes se trazó una región de interés en la zona de la cavidad y se compararon las unidades de atenuación a los tiempos establecidos.

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

Concluidos los tiempos establecidos para cada uno de los grupos las ratas se sometieron a eutanasia; los molares fueron recuperados y fijados en formol al 10% para su evaluación histológica. Posteriormente las muestras se desmineralizaron con la solución de Evans y Krajian durante 5 días para luego ser incluidas en parafina.

Los cortes de las muestras fueron teñidos con H&E y se observaron con microscopio óptico para determinar la respuesta dentinopulpar ante los materiales biocerámicos.

Los parámetros a evaluar en cada muestra fueron los siguientes:

- Presencia/ausencia de células inflamatorias.
- Estado de vitalidad/ necrosis pulpar.
- Formación del puente dentinario.
- Presencia de dentina reparativa (*calcificaciones*) dentro de la cámara pulpar y conductos radiculares.
- Presencia y regularidad de la capa odontoblástica.
- Presencia de fibrosis en la pulpa.

RESULTADOS

MICRO-CT

La Micro Tomografía Computarizada (Miro-CT) es un método de análisis por rayos X donde se representa la imagen interna y externa de un objeto en 3D. Es el mismo método usado en medicina con los escáneres CT, pero a una escala mucho más pequeña y con una resolución más alta, sus datos ofrecen una

morfología interna detallada, realmente lo que se llega a representar es una imagen microscópica en 3D¹³.

La reconstrucción y análisis de las imágenes se realizó mediante el programa OsiriX MD DICOM Viewer (Fig. 7).

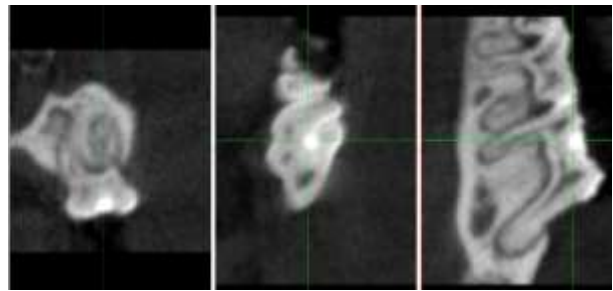


Fig. 7 Micro-CT molar de rata con recubrimiento pulpar directo. Cortes: (A) coronal, (B) axial y (C) sagital. OsiriX MD DICOM Viewer.

Las microtomografías tomadas a lo largo del estudio (Fig. 8) fueron útiles para verificar la presencia de los materiales en la región de la cámara pulpar así como el sellado proporcionado por los mismos en la porción coronal de los molares. En ninguna de las imágenes se observa alguna región radiodensa anormal que indique el desarrollo de una lesión periapical.

Así como la CT, la Micro-CT brinda la posibilidad de medir los coeficientes de atenuación de diferentes tejidos examinados mediante una escala de grises determinado por las Unidades Hounsfield (UH). En esta escala al hueso cortical se le asigna un valor de +1000 (blanco absoluto), al aire -1000 (negro absoluto) y al agua 0 (gris central)¹⁴.

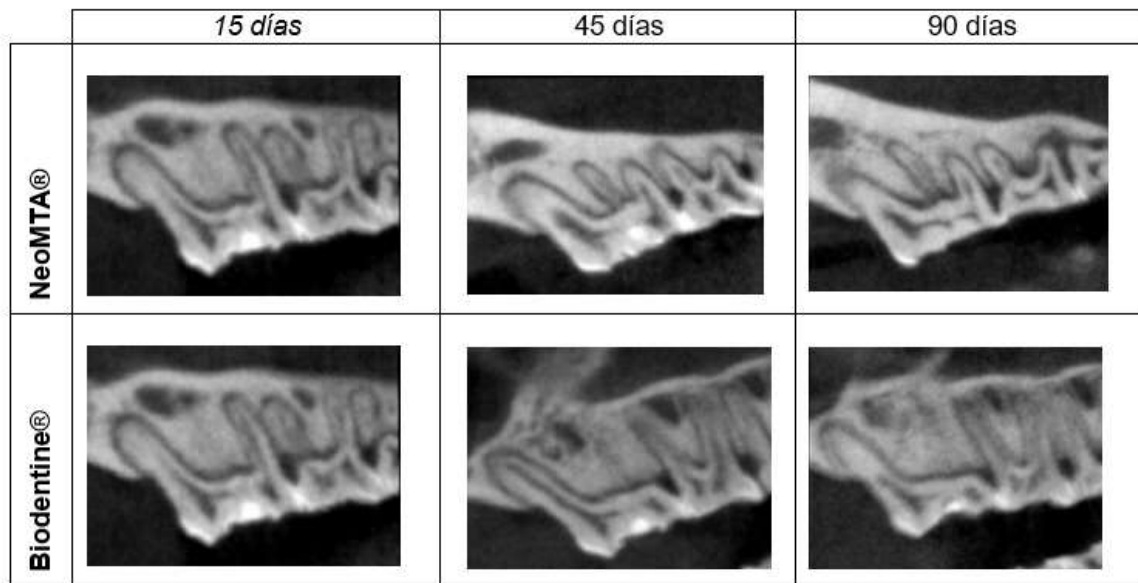


Fig. 8 Imágenes microtomográficas de los recubrimientos pulpaes directos realizados con NeoMTA y Biodentine a los 15, 45 y 90 días. Se observa la presencia de los materiales en la región de la cámara pulpar y el sellado coronal.

Las áreas de la cavidad pulpar y del sitio de formación del puente dentinario se midieron a través de UH y fueron promediadas para cuantificar la deposición de minerales en el sitio de la perforación.

Al comparar los datos obtenidos con las Micro-CT iniciales y posteriores al procedimiento se observa un aumento paulatino de UH haciendo evidente la presencia y acción de los materiales biocerámicos utilizados como recubrimiento pulpar directo.

El análisis de la formación de minerales en el sitio de la comunicación pulpar muestra un comportamiento similar de las UH a los 15 y 45 días, tanto en los molares tratados con NeoMTA (lado derecho) como en los molares tratados con Biodentine,(lado izquierdo).

Se observaron resultados estadísticamente significativos en el

análisis de 90 días, donde NeoMTA reveló un aumento de la mineralización en comparación con Biodentine (Fig. 9).

IMÁGENES HISTOLÓGICAS

El análisis histológico de las muestras se realizó por observación morfológica cualitativa de los efectos que tanto NeoMTA y Biodentine provocaron al ser colocados sobre el tejido pupar vital. Para tal fin se empleó microscopía digital a través del software AmScope.

Los resultados de los análisis histológicos mostraron desde los 15 días puentes dentinarios completos y calcificados, adyacentes a ambos materiales biocerámicos que obliteraron la herida de la cámara pulpar en los grupos experimentales (Fig. 10 y 13). En las muestras se observaron pocas células

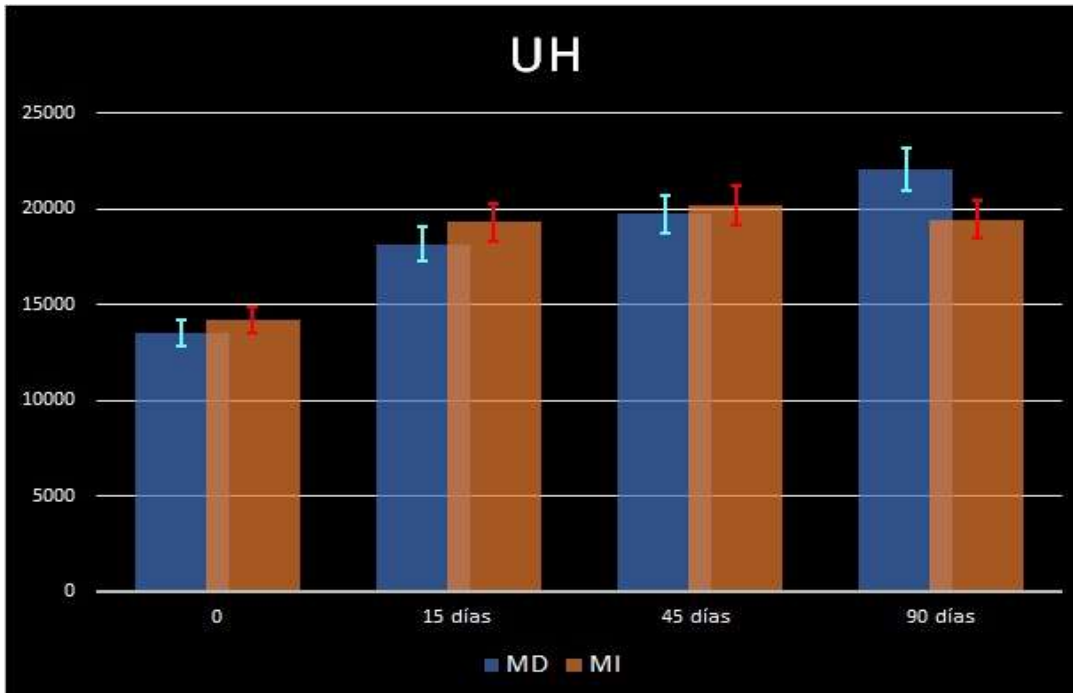


Fig. 9 El promedio de UH en el sitio de la comunicación pulpar y formación del puente dentinario muestra un comportamiento similar tanto de NeoMTA como de Biodentine a los 15 y 45 días. A los 90 días se observa un aumento significativo de UH en los molares derechos, donde NeoMTA fue utilizado como agente de recubrimiento pulpar directo. *MD-molares derechos, MI- molares izquierdos, UH-Unidades Hounsfield.

inflamatorias debajo del sitio de la exposición pulpar así como a nivel periapical.

El tejido pulpar adyacente evidencia vitalidad, pocas células inflamatorias debajo del sitio de la exposición y una capa odontoblástica intacta adyacente a la dentina de reparación y a lo largo de las paredes de los conductos radiculares.

No se observaron diferencias en la inflamación, la organización del tejido pulpar o la formación del puente dentinario entre los materiales experimentales.

La presencia de calcificaciones difusas fue relevante ya que a los 15 días post tratamiento, independientemente del material que se tratara, presentaba

calcificaciones difusas en la pulpa adyacente al material y conductos radiculares, éstas fueron en aumento a los 45 y 90 días (Fig. 11, 14, 15). De hecho, al término del estudio (90 días) el grupo con NeoMTA mostró calcificaciones pulpares generalizadas en la mayor parte de la cámara pulpar (Fig. 12). Estos hallazgos confirmaron los datos microtomográficos que muestran un aumento significativo en las UH a los 90 días en los molares derechos tratados con NeoMTA.

DISCUSIÓN

Se han utilizado una amplia gama de animales para estudiar el comportamiento

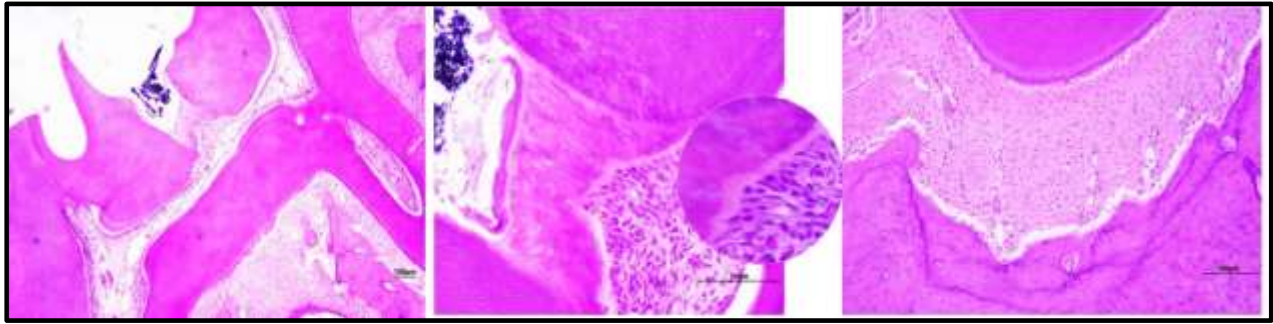


Fig.10 Fotomicrografía teñida con H&E donde se colocó NeoMTA, 15 días posteriores al tratamiento: (A) Visión general de la comunicación pulpar totalmente cubierta por un puente dentinario ancho, 4x. (B) Residuos del material, dentina, predentina, capa de células parecidas a odontoblastos y tejido pulpar adyacente de apariencia normal; 20 y 40x. (C) Zona periapical, 20x.

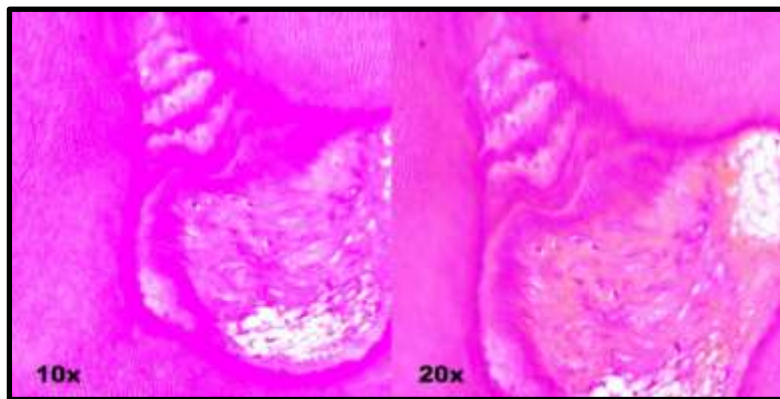


Fig.11 Microfotografía a los 45 días del recubrimiento pulpar directo con NeoMTA. Hay presencia de dentina de reparación en la porción de la cámara pulpar donde fue realizada la herida pulpar. Se observa la presencia de tejido mineralizado difuso en el interior del tejido pulpar. 10x y 40x, H&E.

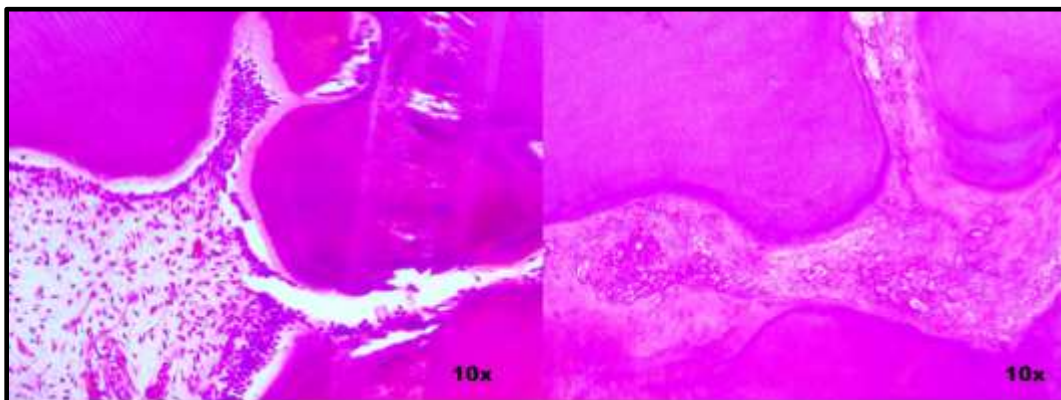


Fig 12. Secciones tomadas de la cámara pulpar de molares tratados con NeoMTA a los 90 días: (A) Calcificación pulpar ovalada presente en el área de la herida pulpar y dentro del tejido pulpar *libre de inflamación*; 10x. (B) Obliteración completa de la cámara y área de la comunicación por tejido mineralizado, 10x. Tinción con H&E.

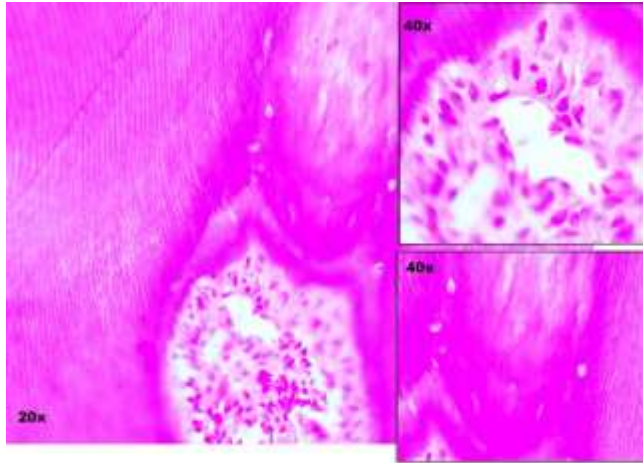


Fig.13 Microfotografía de molar de rata *Wistar* tratado con Biodentine, 15 días posteriores al tratamiento y teñido con H&E: (A) Visión general de la comunicación pulpar cubierta por dentina de reparación; 20x. (B) Células parecidas a odontoblastos; 40x. (C) Banda ancha de dentina de reparación; 40x.

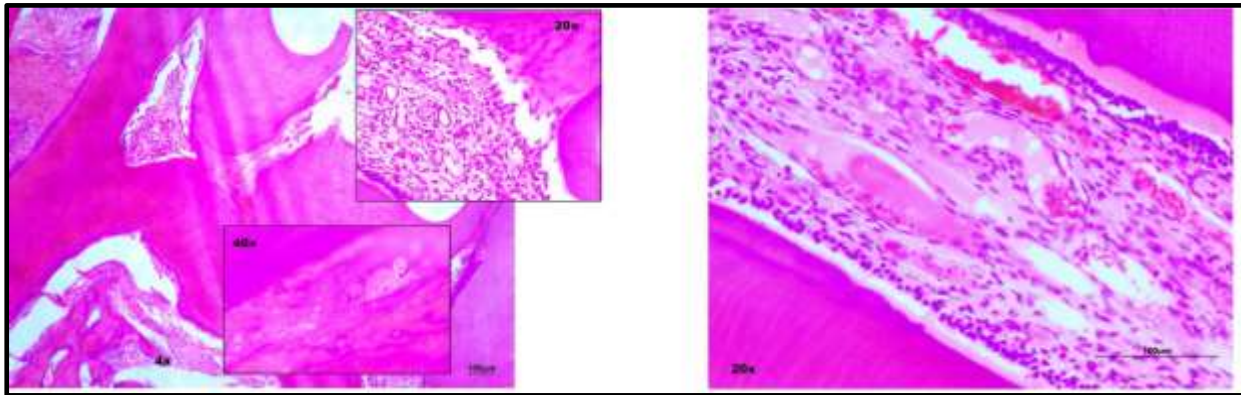


Fig.14 Recubrimiento pulpar directo de 45 días con Biodentine: (A) Vista general donde se evidenciaba la presencia de un puente dentinario en el sitio de la exposición y tejido mineralizado obliterando parte de la cámara pulpar (C); 4x y 40x. (B) Calcificaciones difusas presentes en el tejido pulpar sano? y conductos radiculares (D); 20x. Tinción H&E.

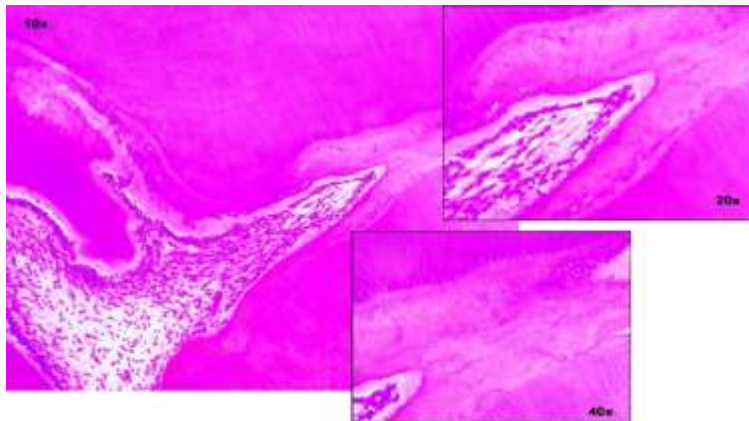


Fig.15 Fotomicrografía teñida con H&E a los 90 días de la colocación de Biodentine como material de recubrimiento pulpar directo: (A) Vista general de la cobertura total de la exposición pulpar a través de un puente dentinario, 10x. (B y C) Presencia de tejido mineralizado en diferentes zonas de la cámara pulpar, sin presentar su obliteración total.

de la pulpa dental; sin embargo, el trabajo más importante y fundamental sobre la infección bacteriana del tejido pulpar fue realizado en molares de rata por Kakehashi en 1965¹¹.

Ante el auge y la constante innovación de los materiales biocerámicos; en general, los molares de rata son un modelo útil para realizar pruebas biológicas preclínicas de toxicidad local y verificar la regeneración de los tejidos dentales dada por un agente de recubrimiento pulpar directo¹². Las pruebas en animales de mayor desarrollo deberían limitarse a experimentos que aclaren resultados inconsistentes.

Específicamente la corona del primer molar mandibular de la rata tiene un diámetro mesiodistal de aproximadamente 3 mm y un diámetro bucolingual de 2 mm, que es aproximadamente un cuarto de las dimensiones del primer molar mandibular humano¹⁵. A pesar del pequeño tamaño de los molares de rata y las dificultades técnicas asociadas, éstos tienen ventajas considerables con respecto a consideraciones éticas y económicas, ya que son capaces de proporcionar información valiosa sobre las reacciones del tejido pulpar después del recubrimiento pulpar directo ya que por la similitud en sus características anatómicas, histológicas y biológicas, pueden considerarse como un molar humano con dimensiones reducidas, incluido el tejido pulpar. El contar con el equipo necesario que permitiera optimizar el tiempo clínico y el uso de magnificación fue fundamental para realizar los tratamientos pulpares en los molares de rata; el uso del microscopio nos permitió observar con precisión el interior de la cavidad, el sitio de la comunicación pulpar y la colocación de los diferentes

recubrimientos pulpares; aminorando las dificultades que pueden presentarse al tratar dientes de dimensiones reducidas.

Desde un punto de vista histológico, el tiempo para la formación del puente dentinario debajo de los materiales de recubrimiento pulpar varía; en estudios con animales ésta puede ocurrir apenas 1 semana después de la colocación del recubrimiento pulpar¹⁶. Sin embargo, en estudios en humanos, no se ha informado que se formen barreras en menos de 2 semanas. De hecho, en la mayoría de los estudios, se ha informado que el tiempo necesario para la formación del puente de dentina en humanos es de 30 a 42 días^{17,18}. Las muestras histológicas revelaron la presencia de un puente de dentina de reparación desde los 15 días ante la colocación de Biodentine y NeoMTA.

El examen histológico del estado y la respuesta pulpar después de la colocación de un recubrimiento directo con Biodentine y MTA en dientes humanos reveló una ausencia de inflamación y la formación de un puente de dentina completo debajo de ambos materiales después de 6 semanas. Datos tomográficos evaluaron la densidad y el volumen de dentina reparadora, estos valores eran más altos para Biodentine¹⁹. En el presente estudio Biodentine y NeoMTA presentaron un comportamiento microtomográfico similar a los 15 y 45 días, fue hasta los 90 días donde NeoMTA mostró un aumento en las UH, confirmado en las muestras histológicas donde este grupo presentó calcificaciones en la mayor parte de la cámara pulpar. Tomando en cuenta que a medida que las ratas envejecen, la calcificación de la pulpa y conductos radiculares también avanza, no se descarta la posibilidad de

que esto pudo contribuir en el aumento en las UH en los molares derechos, tratados con NeoMTA; para confirmar o descartar esta posibilidad, las investigaciones futuras podrían ser complementadas mediante exámenes inmunohistoquímicos³.

Es importante mencionar que a pesar de los resultados favorables que reportan un gran número de investigaciones previas en la utilización de molares de rata como un modelo de respuesta pulpar humana y que se ha comprobado que los resultados podrían ser transferibles a humanos y otras especies¹², una de las limitaciones más importantes es el tratar el tejido pulpar en dientes sanos e intactos mientras que, en la realidad clínica, la pulpa está cubierta por dientes cariados o traumatizados que están expuestos a microorganismos. Ante una exposición pulpar por caries donde la pulpa ya ha sido influenciada por bacterias y sus subproductos y el grado de inflamación e irritación pulpar no está claro o estandarizado, el éxito de un recubrimiento pulpar directo a través de biocerámicos no puede ser garantizado.

La falla temprana después del recubrimiento pulpar directo tiene una fuerte relación con la condición de la pulpa antes del procedimiento²⁰.

Por lo tanto, se debe desarrollar un modelo de recubrimiento pulpar directo en molares de rata que proporcione un entorno más cercano a las condiciones clínicas reales.

Los materiales utilizados en el presente estudio: Biodentine y NeoMTA cuentan con una excelente capacidad de sellado, lo que previene la microfiltración bacteriana y la inflamación pulpar y, por lo

tanto, proporcionaron una barrera predecible. Los informes de sus propiedades biológicas y mecánicas, así como estudios previos, indican que su rendimiento como agentes de recubrimiento pulpar pueden ser comparables al MTA sin presentar las desventajas de este último⁶.

Hay varios informes que confirman que los dentistas evitan el uso de biocerámicos para controlar la caries profunda porque no son conscientes del potencial de estos materiales o no están capacitados y / o porque estos materiales son más difíciles de manejar que los revestimientos convencionales²¹. Por lo tanto, la capacitación de estudiantes de pregrado y posgrado y dentistas para usar materiales biocerámicos debe enfatizarse tanto en las escuelas como en los programas de educación continua, recordemos que la colocación de un recubrimiento pulpar directo, tomando en cuenta los parámetros biológicos, clínicos y radiográficos indicados para este procedimiento, puede evitar un tratamiento dental más invasivo como el tratamiento de conductos.²².

CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio sugirieron que Biodentine y NeoMTA podrían proporcionar un ambiente óptimo para la curación y reparación de la pulpa dental. Aunque hubo algunas diferencias en el grosor y la morfología del tejido duro formado, los dos materiales mostraron una biocompatibilidad aceptable. Se requieren más estudios a largo plazo para una evaluación exhaustiva de la respuesta pulpar a estos materiales.

Por lo tanto, es importante el desarrollo de modelos pulpares que asemejen condiciones clínicas y nos permitan optimizar las técnicas de recubrimiento pulpar directo, mejorar la biocompatibilidad de los materiales y conocer y entender las respuestas biológicas de los tejidos pulpares en la formación de dentina de reparación.

AGRADECIMIENTOS

A UNAM-PAPIIT-DGAPA-IN221020 por el apoyo financiero.

A la Mtra. Lucía Sánchez Pérez y personal del Laboratorio de Bioingeniería de Tejidos de la División de Estudio de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM.

Al Físico Roberto Adrián de los Santos Irra y al Laboratorio de Física Médica del Instituto Nacional de Cancerología.

Al Sr. Juan Manuel Trejo Ramírez, encargado del Bioterio de la División de Estudio de Posgrado e Investigación de la Facultad de Odontología, UNAM.

REFERENCIAS

-
- ¹ Ricucci D. Siqueira J. Li Y. Tay F. Vital Pulp therapy: histopatology and histobacteriology- based guidelines to treat teeth with deep caries and pulp exposure. *J. Dent.* 2019; 86: (41-52).
- ² Okamoto M. Takahashi Y. Komichi S. Ali M. Yoneda N. Ishimoto T. Nakano T. Hayashi M. Novel Evaluation method of dentin repair by direct pulp capping using high-resolution micro—computed tomography. *Clin. Oral Investig* 2018; 22: (2879-2887)
- ³ Kim J. Young-Sang S. Kyung-San M. Sun-Hun K. Jeong-Tae K. Bin-Na L. Hoon-Sang C, *et all.* Evaluation of reparative dentin formation of ProRoot MTA, Biodentine and BioAggregate using micro-CT and immunohistochemistry. *Restor Dent Endod* 2016;41(1):29-36
- ⁴ Song M. Yu B. Kim S. Hayashi M. Smith C. Sohn S. Kim E. Lim J. Stevenson R. Kim R. Clinical and Molecular Perspectives of Reparative Dentin Formation. *Dent Clin N Am.* 2017; 61: 93-110.
- ⁵ Raghavendra S. Jadhav G. Gathani K. Kotadla P. Bioceramics in Endodontics- A Review. *J Istanbul Univ Fac Dent* 2017; 51: (S128-S137)B
- ⁶ Haapasalo M. Parhar M. Huang X. Wei X. Lin J. Shen Y. Clinical use of bioceramic materials. *Endod Topics* 2015; 32: (97-117)
- ⁷ Llanos M. Evolución de los cementos biocerámicos en endodoncia. *Conocimiento para el desarrollo.* 2019; 10(1): 151-162
- ⁸ Primus C. Tay F. Niu L. Bioactive tri/dicalcium cements for treatment of pulpal and periapical tissues. *Acta Biomater* 2019: 96: 35-54.
- ⁹ About I. Biodentine: from biochemical and bioactive properties to clinical applications. *G Ital Endod* 2016; 30: (81-88)
- ¹⁰ Siboni F. Taddei P. Gandolfi. Properties of NeoMTA Plus and MTA Plus cements for endodontics. *Int. Endod J.* 2017; 50: e83-e94.
- ¹¹ Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20:340–9
- ¹² Dammaschke T. Rat molar teeth as a study model for direct pulp capping research in dentistry. *Lab Anim* 2010 Jan; 44: (1-6)
- ¹³ Microtomografía. Aplicaciones avanzadas. BRUKER Centro Nacional de Investigaciones Metalúrgicas. Madrid. Junio de 2016.
- ¹⁴ Dellán A. Villarroel M. Hernández A. Aplicación e las Unidades Hounsfield en

Tomografía Computarizada como herramienta diagnóstica de las lesiones intra-óseas del complejo maxilo-mandibular: Estudio clínico de diagnóstico. Rev. Odontol. Univ. Cid. Sao Paulo. 2015; 27 (2): 100-111.

¹⁵ Yoneda N. Noiri Y. Matsui S. Kuremoto K. Maezono H. Ishimoto T. Nakano T. Ebisu S. Hayashi M. Development of a root canal treatment model in the rat. Sci. Rep. 2017; 7: 1-9

¹⁶ Parirokh M. Asgary S. Eghbal MJ et al. A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth. Dent Traumatol 2005; 21: 150-4.

¹⁷ Eskandarizadeh A. Shahpasandzadeh M. Shahpasandzadeh M. Torabi M. Parirokh M. A comparative study on dental pulp response to calcium hydroxide, white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents. J Conserv Dent 2011; 14: 351-5

¹⁸ Banava S. Fazlyab M. Heshmat H. Mojtahedzadeh F. Motahhary P. Histological evaluation of single and

double-visit direct pulp capping with different materials on sound human premolars, a randomized controlled clinical trial. Iran Endod J 2015; 10:82-8.

¹⁹ Nowicka A. Wilk G. Lipski M. Kołdecki J. Buczkowska-Radlin´ska J. Tomographic evaluation of reparative dentin formation after direct pulp capping with Ca(OH)₂, MTA, Biodentine, and dentin bonding system in human teeth. J Endod 2015; 41:1234-40.

²⁰ Parirokh M. Torabinejad M. Dummer P. Mineral trioxide aggregate and other bioactive endodontic cements: an updated overview-part I: vital pulp therapy. Int. Endod J 2018; 51: 177-205

²¹ Chin J. Thomas M. Locke M. Dummer P. A survey of dental practitioners in Wales to evaluate the management of deep carious lesions with vital pulp therapy in permanent teeth. Br Dent J 2016; 221: 331-8.

²² Ng Y. Mann V. Rahbaran S. Lewsey J. Gulabivala K. Outcome of primary root canal treatment: systematic review of the literature - Part 2. Influence of clinical factors. Int. Endod. J 2008; 41: 6-31.