



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES  
UNIDAD**

**LEÓN**

**TÍTULO:**

**CITOCOMPATIBILIDAD DE DOS CEMENTOS  
SELLADORES A BASE DE HIDRÓXIDO DE CALCIO  
EN CULTIVOS CON CÉLULAS ORALES**

**FORMA DE TITULACIÓN: TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA**

**P R E S E N T A:**

**JORGE ARTURO SALAZAR JIMÉNEZ**

**TUTOR: DR. RENÉ GARCÍA CONTRERAS**

**LEÓN, GUANAJUATO, 2018.**





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.

## Dedicatoria

Con todo mi cariño y agradecimiento para todas las personas que hicieron posible que yo pudiera lograr mis sueños, a mis padres por motivarme cuando me sentía derrotado, a tener mano firme cuando era necesario, pero sobre todo por su incondicional amor y comprensión, gracias Jorge gracias Merari porque sin ustedes yo no existiría.

No pudo dejar de mencionar a mi hermana Alejandra, igualmente siempre estuvo en la mejor disposición de ayudarme en todos los aspectos posibles, al resto de mi familia a mis tíos que siempre estuvieron ahí para ayudarme a mi abuela que siempre ha sido para mí una fuente de sabiduría muy grande y compleja. Y finalmente gracias a todos aquellos que ya no están presentes, pero aún están aquí junto a mí.

A mi novia por estar conmigo a lo largo de esta etapa por su infinito amor y paciencia "yo solo sueño".

## **Agradecimientos**

Agradecimiento especial a la Escuela Nacional Estudios Superiores Unidad León formadora de carácter y de disciplina profesional.

Agradezco a todos los involucrados en este proyecto especialmente a mis asesores: Mtra. Paola Campos y la Esp. Gabriela Dávila, así como al Esp. Alejandro Nieto por su consejo y guía.

Gracias a mis revisores Esp. Erika Díaz, Ma. María de los Ángeles, Esp. Octavio de Alba por su ayuda buena disposición y su gran ejemplo como profesionales del área.

Finalmente, gracias a mi tutor el Dr. René García por su infinita paciencia, enseñanzas, así como inspirar en mí un gusto por las ciencias odontológicas.

# ÍNDICE

RESUMEN .....	1
CAPÍTULO 1 .....	2
1.INTRODUCCIÓN .....	2
CAPÍTULO 2 .....	3
2.1 Complejo dentino-pulpar .....	3
2.1.2 Zonas de la pulpa .....	3
2.1.3 Inervación .....	4
2.2 Tejidos perirradiculares .....	5
2.3 Enfermedades pulpo periapicales .....	7
2.3.1 Accidentes durante tratamientos de conductos .....	11
2.3.2 Materiales empleados .....	11
2.4 Características del cemento ideal .....	12
2.4.1 Propiedades químicas/biológicas de los cementos selladores .....	13
2.4.2 Tipos de cementos selladores .....	13
2.4.3 Cementos base hidróxido de calcio .....	18
CAPÍTULO 3 .....	21
ANTECEDENTES .....	21
CAPÍTULO 4 .....	23
4.1 Planteamiento del problema .....	23
4.2 Justificación .....	23
4.3 Objetivo general .....	23
4.4 Objetivos específicos .....	23
4.5 Hipótesis .....	24
CAPÍTULO 5 .....	25
5.1 Tipo de investigación .....	25
5.2 Universo de estudio .....	25
5.3 Variables dependientes .....	25
5.4 Variables independientes: .....	26
5.5 Criterios de inclusión .....	26
5.6 Criterios de exclusión .....	27

5.7 Método:.....	27
CAPÍTULO 6 .....	31
6.1 RESULTADOS .....	31
6.2 Discusión.....	39
CAPÍTULO 7 .....	41
CONCLUSIONES.....	41
BIBLIOGRAFÍA .....	42

# RESUMEN

El éxito de un tratamiento de conductos está relacionado con la conformación y el sellado a relación: cementos-gutapercha. Sin embargo, la bio compatibilidad de los cementos selladores en contacto con los tejidos y las células que coexisten en el periápice no se ha determinado completamente.

## Objetivo

Comparar la cito compatibilidad de dos cementos selladores a base de hidróxido de calcio en cultivo con células-pulpaes humanas (HPC), fibroblastos-gingivales-humanos (HGF) y osteoblastos-humanos (HBC).

## Materiales y métodos

Se realizó un estudio experimental in vitro. Las células fueron sub cultivadas en medio DMEM+10% de suero fetal bovino e incubadas a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub> durante 48 horas. Los cementos selladores (Acroseal® y Sealapex®) fueron preparados bajo las instrucciones del fabricante e inoculados directamente sobre el cultivo de 0 a 7% o los extractos 0-50% los cementos posteriores a la incubación por 24 horas a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>.

La viabilidad celular fue determinada con el método de MTT, se calculó la concentración de citotoxicidad media (CC50). Los datos fueron interpretados bajo la ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices—Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, de la misma manera, dichos datos fueron sometidos a pruebas de normalidad de Shapiro-Wilks, pruebas t de student con una significancia fijada a 0.05.

## Resultados

El contacto directo de los cementos con los extractos reducen significativamente ( $p < 0.05$ ) la viabilidad celular ubicándolos en un nivel de citotoxicidad severo al contacto directo y moderado, respectivamente, siendo el cemento Acroseal® más citotóxico: HBC-(0.42%)<HPC-(0.46%)<HGF-(1.5%); Sealapex® HBC-(5.1%)<HPC (6.1%)<HGF-(6.2%); mientras que en los extractos para Acroseal® muestran: HPC-(1.4%)<HGF-(3.3%)<HBC-(17.8%) y Sealapex®: HGF-(23.6%)<HPC (Indeterminado)<HBC (Indeterminado)

## Conclusiones

El cemento sellador Acroseal® no tiene citocompatibilidad en cultivo con HGF, HPC y HBC en comparación con Sealapex.®

Clínicamente se debe de tomar en cuenta que los usos de estos materiales pueden causar irritación en el periápice, por lo que se sugiere que su manipulación sea únicamente en conductos bien instrumentados.

# CAPÍTULO 1

## 1. INTRODUCCIÓN

La endodoncia es un procedimiento que tiene como finalidad la conformación física, química y mecánica del sistema de conductos que se encuentra en un diente, para poder eliminar de este modo la mayor cantidad de bacterias y derivados, siendo altamente efectiva cuando es ejecutada de forma óptima. Además, es fundamental la correcta obturación del conducto posterior a su conformación, si esta se realiza de manera incorrecta, puede traer como consecuencia el fracaso del tratamiento.

Particularmente la proyección del cemento sellador trae como consecuencia una reacción citotóxica en los tejidos circundantes (Soares, Goldberg, & Frydman, 2002), siendo esto reportado por diversos autores en distintas formulaciones de cementos (A. U. Eldeniz, Mustafa, Ørstavik, & Dahl, 2007; Matsumoto, Inoue, & Matsumoto, 1989; Tyagi, Tyagi, & Mishra, 2013; Zhou et al., 2013). Entre los más populares están cementos selladores a base de óxido de zinc, hidróxido de calcio y con base de silicona. Los selladores han sido empleados a lo largo de la historia, teniendo una amplia aceptación los cementos selladores a base de hidróxido de calcio.

Desde la primera vez que el hidróxido de calcio (HC) fue utilizado con finalidades terapéuticas pulpares en el año de 1920, (Tyagi et al., 2013) se han reportado grandes propiedades antibacterianas, esto desencadenó una serie de estudios y propuestas de modelos, debido a la reacción de liberación de iones de hidróxido (I) y Calcio (Ca) al aumento del pH que se genera un medio altamente alcalino, por otro lado, la gran solubilidad que presenta el cemento lo hace un material muy inestable y facilita el contacto con tejidos cercanos.

Existe controversia con relación al uso del hidróxido de calcio debido a un alto grado de incompatibilidad de este con los distintos tejidos, razón por la cual, se decide analizar distintas concentraciones en contacto para así poder determinar en qué concentración se expresa el mayor nivel de citotoxicidad y cuál de los dos materiales utilizados para el estudio representa un mayor riesgo al momento de ser empleados por estudiantes de la ENES UNAM Unidad León.

El objetivo del presente estudio consiste en determinar los niveles de bio compatibilidad de los dos materiales a evaluar en tres líneas celulares humanas (fibroblastos gingivales, células pulpares y células de hueso). Una vez realizada la inoculación de las células de manera directa y con extractos de ambos cementos selladores, se realizó el ensayo para medir su actividad metabólica celular MTT.

## CAPÍTULO 2

### 2.1 Complejo dentino-pulpar

El tejido pulpar está formado por células de tejido conectivo laxo, se encuentra delimitado en el interior de las paredes que conforman la dentina radicular, coronalmente formando los denominados cuernos pulpares al encontrarse con el techo de la cámara pulpar. En el tercio cervical se localiza el acceso al conducto radicular en caso de dientes unirradiculares y en dientes con una mayor cantidad de conductos se localiza el piso de la cámara pulpar para su posterior distribución, continuando en dirección apical se localiza el foramen apical, por medio del cual, el tejido pulpar entra en contacto con los paquetes vasculares y nerviosos (Hargreaves & Berman, 2016).

La pulpa está relacionada estrechamente con la dentina por lo que se le conoce como complejo dentino-pulpar, se pueden identificar poblaciones celulares importantes, así como estratificación de las mismas, dependiendo de la densidad pulpar. La pulpa posee además distintas funciones, entre ellas: inductiva, formadora, nutritiva, sensitiva y de protección. (Kaur, Shah, Logani, & Mishra, 2015).

#### 2.1.2 Zonas de la pulpa

La pulpa se encuentra conformada por distintos tipos de células, a pesar de ser una gran variedad, es posible identificar zonas con una densidad mayor de células semejantes, de este modo se clasifican las cuatro zonas pulpares (Hargreaves & Berman, 2016) (Pashley & Walton, 2002).

Zona de odontoblastos: Es la zona que cubre la periferia de la pulpa y la más externa, estas células se encuentran organizadas de manera perpendicular a la superficie previa a la dentina por medio de desmosomas entre otras. Los odontoblastos presentan proyecciones hacia la dentina, las cuales se alojan en los túbulos dentinarios, además localizamos células sub odontoblásticas (Hohl).

Los odontoblastos son células que varían su forma y agrupación conforme a la etapa funcional, entre más matriz secrete mejor definidos estarán sus componentes (organelos y núcleo). Los odontoblastos poseen prolongaciones citoplasmáticas las cuales entran en la dentina durante su formación y convergen en la porción más exterior, dando lugar a los túbulos dentinarios los cuales albergan líquido tisular y dentina intra tubular. Estas células se encuentran mayormente en la porción coronal, poseen una gran capacidad enzimática de síntesis de matriz de colágeno, lo que les permite la posterior secreción de matriz mineralizada, formada de partículas de apatita con una matriz colágena dando formación a la dentina. (Gómez de Ferraris & Campos Munõz, 2002).

Zona subodontoblástica (pobre en células): Esta zona se caracteriza por tener una presencia celular relativamente baja, localizada anterior a la capa odontoblástica, en ella podemos localizar fibroblastos subodontoblásticos, plexo nervioso y capilar.

Zona rica en células: Se caracteriza por su alta población celular, localizamos entre las más destacables las células ectomesenquimáticas, así como los fibroblastos, además de células defensivas.

Las células mesenquimáticas indiferenciadas, tienen la capacidad de diferenciarse en distintos tipos de células según los requerimientos del tejido pulpar.

Fibroblastos: Las células más abundantes en el tejido pulpar poseen por lo regular múltiples núcleos ovalados y numerosas prolongaciones citoplasmáticas, su función principal es la síntesis de colágeno I y III, la morfología de la célula se ve alterada al cursar por procesos inflamatorios. Los distintos componentes que secretan ayudan en la formación de fibras colágenas, sustancia

fundamental y fibras reticulares, así como la formación de matriz de colágeno fundamental para la formación de dentina (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).

Las células inmunes comprenden un grupo variado, macrófagos, linfocitos, leucocitos polimorfonucleares, mastocitos, células de Langerhans, células dendríticas, mismas que intervienen en procesos que implican preservar la vitalidad de la pulpa se encuentran presentes en distintos procesos inflamatorios, así como en la eliminación de células muertas.

**Macrófagos:** Son células que destacan por su capacidad de fagocitar distintos elementos extraños, bacterias, células muertas. Una vez que rodean por completo el elemento a fagocitar se libera el contenido enzimático del lisosoma de la célula. Poseen un potencial de quimiotaxis alto, lo que le permite transportarse con facilidad, además intervienen en los procesos inflamatorios y es capaz de producir distintos mediadores moleculares.

**Linfocitos:** Estas células están presentes en la pulpa y actúan tanto en el proceso inmune como en el proceso inflamatorio, estas tienen la posibilidad de procesar el antígeno para luego transmitir esa información a las células presentadoras de antígeno T, los cuales, a su vez, crean receptores propios desencadenando la *respuesta inmune*.

**Leucocitos:** Generalmente intervienen en la respuesta inmune con su gran capacidad para fagocitar, por lo regular también dañan células y tejidos en buen estado, daño que contribuye a la inflamación.

**Células dendríticas:** Su función principal es trabajar como un activador inicial de la respuesta inmune del organismo ya que son las primeras células en entrar en contacto con los antígenos, éstas se localizan alrededor de los vasos (Gómez de Ferraris & Campos Muñoz, 2002).

**Pulpa:** Esta es la zona central y se encuentra compuesta por tejido conectivo laxo especializado, posee una población celular ligeramente menor a la zona rica en células, se encuentra cubierta por abundantes vasos sanguíneos y fibras nerviosas.

### **2.1.3 Inervación**

Las células nerviosas encargadas de la inervación de la pulpa pueden ser divididas en: mielínicas y amielínicas. El tamaño, forma, cantidad y disposición de los axones de éstas, varía dependiendo de su distribución en la pulpa.

El quinto par craneal conocido como el trigémino es el principal encargado de la transición y regulación de los estímulo-sensoriales al sistema nervioso central.

La división del nervio maxilar superior inerva a los dientes superiores y las ramificaciones del nervio alveolar superior, mientras que el nervio mandibular se encarga de los aspectos bucales y linguales de nervios alveolares inferiores.

Existen distintos tipos de fibras sensibles, las cuales son clasificadas en relación con el diámetro del axón que presenta (**Fig1**).

Las fibras mielínicas A, son responsables del dolor agudo, punzante (localizado en la región periférica de la pulpa) y las fibras nerviosas mielínicas C, responsables del dolor difuso, por ejemplo, producido en la pulpa por caries (se localizan en la zona profunda de la pulpa). (Walton & Ramachandran Nair, 1995).

La asociación del tejido pulpar con la dentina está altamente inervada por fibras nerviosas principalmente de dos tipos, sensoriales y simpáticas.

Tipo	Diámetro	Velocidad	Función
A $\alpha$	12-22nm	70-120 m/s	Motor: Propiocepción
- $\beta$	5-12nm	30-70 m/s	Sensitivo: Presión al contacto
- $\gamma$	3-6nm	15-30 m/s	Motor: Huesos y músculos
- $\delta$	2-5nm	12-30 m/s	Sensitivo: Dolor articular
B	$\leq$ 3nm	3 -15 m/s	Sensitivo: Dolor
C	$\leq$ 2nm	0.5-2 m/s	No definido

**Figura 1** Tipos de células nerviosas(Walton & Ramachandran Nair, 1995)

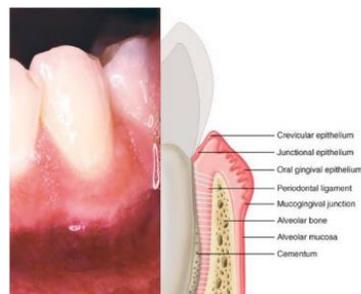
### 2.1.4 Vascularización

El tejido pulpar se encuentra altamente vascularizado, no obstante, no posee arterias ni venas verdaderas. Por medio del foramen apical acceden distintas arteriolas, éstas se abren paso entre las distintas fibras nerviosas en dirección coronal y logrando proyecciones hasta los odontoblastos formando una red que llega a la porción subodontoblástica (Plexo vascular), lo cual le permite brindar una serie de elementos nutritivos y de mediación del metabolismo.

El flujo sanguíneo de la pulpa está regulado por el sistema neuronal, así como por la tonalidad de los tejidos que le rodean. Procesos inflamatorios continuos exponen a la pulpa a una pérdida de presión, debido a la dilatación de los vasos sanguíneos (Soares et al., 2002; Walton & Ramachandran Nair, 1995).

### 2.2 Tejidos perirradiculares

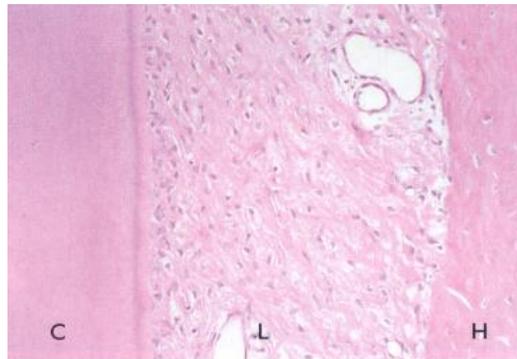
El conjunto de tejidos que se encuentran en la periferia de un diente, este se integra por: Hueso alveolar, encía, ligamento periodontal y cemento radicular (**Fig.2**). Estos se disponen de la siguiente manera: La dentina radicular, se encuentra cubierta por cemento radicular, al cual se integran los distintos tipos de proyecciones de ligamento periodontal, mismos que se encuentran unidos a la lámina dura del hueso alveolar (Rose L, Mealey B, Genco R, 2004).



**Figura 2** Distintos tejidos en boca(Rose L, Mealey B, Genco R, 2004)

### 2.2.1 Biología de los tejidos perirradiculares

El hueso alveolar es la porción de hueso tanto mandibular como maxilar que rodea, da forma y sostiene a los dientes. Se encuentra integrado por células del folículo dental, que se forma desde que el feto se encuentra en desarrollo por medio de osificación intramembranosa y termina cuando el diente erupciona, esto por medio de pequeñas aposiciones mesenquimatosas alrededor del diente por el cual es cubierto. La función primordial del hueso alveolar es brindar soporte al diente y limitar el espacio entre la raíz de un diente y otro (**Fig.3**).



**Figura 3** Vista microscópica de los tejidos que conforman el periodonto; (C) cemento, (L) ligamento, (H) hueso. (Soares & Goldberg, 2002)

La mucosa bucal recubre el hueso alveolar y contornea en su porción cervical a todos los dientes en boca, se divide en tres: Mucosa de revestimiento, mucosa masticatoria, especializada o sensitiva.

*Características clínicas:* Las características clínicas que obtiene la mucosa bucal en particular la encía, depende de dos factores: El primero, la erupción del diente y el segundo, la localización dentro de la boca, con relación a la función que va a realizar.

**Ligamento periodontal:** Son prolongaciones de tejido conectivo que rodean la periferia del diente, están altamente vascularizado y tienen por función dispersar las fuerzas generadas durante la masticación, permitir una ligera movilidad, además de fijar los dientes al hueso alveolar. Se localiza en el espacio entre el cemento radicular y el hueso alveolar, un milímetro debajo de la unión cemento, esmalte, dentina. Se dispone en forma de haces a lo largo de la raíz del diente, existen distintos tipos de fibras y son nombradas dependiendo de su posición: fibras crestalveolares, horizontales, oblicuas y apicales. La fibra se inserta del cemento radicular al hueso alveolar, estos haces de fibras se disponen de distintas maneras mientras el diente está en erupción.

Cuatro son los principales tipos de células que se encuentran en el ligamento periodontal: Células de tejido conectivo, que están comprendidas por fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos; células de restos de epitelio; células defensivas como neutrófilos, eosinófilos, macrófagos y células vasculares.

El ligamento periodontal tiene funciones muy variadas además de las ya descritas:

- a) **Dispersión de fuerzas masticatorias:** Se menciona que las fibras no sólo tienen como función principal la fijación del diente al alveolo, además, tienen la capacidad de tomar una posición más recta para así transferir la fuerza de la mordida al hueso alveolar.

- b) Función de transferencia de fuerza de oclusión: La fuerza realizada durante la oclusión tiene un sentido axial, esta tiende a impulsar el ápice hacia el alveolo, las fibras alveolares se comprimen en dirección del desplazamiento.
- c) Función sensitiva: el ligamento periodontal se encuentra constituido por diversas fibras nerviosas, tienen la capacidad de sentir dolor, presión y vibraciones.
- d) Función nutritiva: el ligamento periodontal se encarga de llevar los nutrientes a diferentes zonas de la boca por medio de los vasos sanguíneos (Hargreaves & Berman, 2016; Soares et al., 2002).

El cemento radicular es aquel tejido mineralizado con características semejantes al hueso, a diferencia de este, no posee una inervación, no se reabsorbe, ni se remodela, ya que todo el tiempo presenta sobre posición, este cubre toda la superficie radicular.

Existen dos tipos de cemento radicular, cemento radicular primario o acelular, que se forma desde antes de que el diente erupcione y entra en función oclusiva, y el cemento celular secundario, desarrollado a partir de que el diente entra en oclusión, contiene células como cementocitos, fibras de Sharpey. El cemento radicular es sumamente permeable pudiendo comunicar con los túbulos dentinarios, se encuentra en una ubicación de suma importancia pues en la unión amelocementaria. (Rose L, Mealey B, Genco R, 2004).

### 2.3 Enfermedades pulpo periapicales

La disposición en el que se encuentran las diferentes estructuras dentales permite que existan distintos tipos de condiciones que afecten de manera negativa a la salud. Con el paso del tiempo se han desarrollado distintos sistemas para diagnosticar de manera eficiente las distintas enfermedades, pero la mayoría de las investigaciones al estar enfocadas en estudios histopatológicos generaban una confusión entre los profesionales. Con la finalidad de evitar estas confusiones se realizó la estandarización de diagnósticos por medio de una reunión celebrada el año 2008 para que posteriormente la AAE (American Association of Endodontists) y (American Board of Endodontics) diera revisión y once meses después por medio de la Junta de Directores de AAE, bajo el cargo del presidente Louis E. Rossman en el 2009 es aprobada (**Tabla1**).

**Tabla 1.** Enfermedades pulpo periapicales (AAE, 2009; Glickman, 2009).

Pulpar	Características Clínicas	Características radiográficas
<b>Pulpa Normal</b>	Clínicamente está libre de síntomas y responde positivamente dentro de parámetros normales a las pruebas de sensibilidad.	Sin alteración periapical.
<b>Pulpitis Reversible</b>	Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos en donde la pulpa vital inflamada retornara a la normalidad. <ul style="list-style-type: none"> <li>• No existen antecedentes de dolor espontáneo.</li> <li>• Dolor transitorio de leve a moderado provocado por estímulos: frío, calor, dulce.</li> <li>• Pruebas de sensibilidad positivas, térmicas y eléctricas.</li> </ul>	No presenta cambios.

	•Obturaciones fracturadas o desadaptadas o caries.	
<b>Pulpitis Irreversible sintomática</b>	<p>Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos indicando que la pulpa vital inflamada es incapaz de repararse.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor a los cambios térmicos.</li> <li>• Dolor referido, espontaneo de moderado a severo</li> <li>• Dolor que disminuye con el frio y aumenta con calor.</li> <li>• Pruebas de sensibilidad positivas térmicas y eléctricas.</li> <li>• El dolor permanece después de retirado el estímulo.</li> <li>• Dolor a la percusión.</li> <li>• Puede presentar caries.</li> </ul>	<p>Posible engrosamiento del espacio del ligamento Periodontal.</p> <p>Zona radiolúcida de la corona compatible con caries.</p> <p>Imagen Radiopaca compatible con restauraciones profundas.</p>
<b>PULPITIS IRREVERSIBLE ASINTOMATICA</b>	<p>Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos indicando que la pulpa vital inflamada es incapaz de repararse.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• No hay síntomas clínicos La inflamación es producida por caries, trauma.</li> <li>• Exposición pulpar por caries, fractura coronal complicada sin tratamiento.</li> <li>• Pruebas de sensibilidad (+) con respuesta anormal prolongada, en ocasiones retardadas.</li> <li>• Sin alteración periapical. Posible engrosamiento del espacio del ligamento. Periodontal.</li> </ul>	<p>Zona radiolúcida en la corona compatible asociada a caries, restauraciones profundas o trauma.</p>
<b>NECROSIS PULPAR</b>	<p>Diagnóstico clínico que indica muerte pulpar.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Usualmente no responde a las pruebas de sensibilidad (-) puede dar falsos (+) en dientes multi radiculares donde no hay necrosis total de todos los conductos, por fibras nerviosas remanentes en apical y estimulación de fibras del periodonto a la prueba eléctrica.</li> <li>• Cambio de color coronal que puede ser de matiz par- do, verdoso o gris.</li> <li>• Presenta pérdida de la translucidez y la opacidad se extiende a la corona.</li> <li>• Puede presentar movilidad y dolor a la percusión.</li> <li>• Puede encontrarse el conducto abierto a la cavidad oral. Ligero ensanchamiento del espacio del espacio del ligamento Periodontal.</li> </ul>	<p>Radiolucidez de la corona compatible con caries.</p> <p>Radiopacidad compatible con restauraciones profundas.</p>
<b>PREVIAMENTE TRATADO</b>	<p>Diagnóstico clínico indicando que el diente ha sido endodónticamente tratado.</p>	<p>Conducto radicular obturado en calidad y longitud en diferentes materiales.</p>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No existen cambios en los tejidos de soporte circundantes.</li> </ul>	
<b>PREVIAMENTE INICIADO</b>	Diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido previamente iniciado como una pulpectomía o pulpotomía.	No existen cambios en los tejidos de soporte.

PERIAPICAL		Características Clínicas	Características radiográficas
<b>TEJIDOS APICALES SANOS</b>		Periodonto perirradicular sano. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Negativo a palpación y percusión.</li> </ul>	Espacio del ligamento periodontal uniforme.  Lamina dura intacta.
<b>PERIODONTITIS SINTOMÁTICA</b>	<b>APICAL</b>	Dolor espontáneo o severo <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor localizado persistente y continuo.</li> <li>• Dolor tan severo que puede interrumpir actividades cotidianas.</li> <li>• Dolor a la percusión y palpación.</li> <li>• Sensación de presión en la zona apical del diente.</li> <li>• Se puede o no observar cambios en los tejidos de soporte circundante.</li> </ul>	Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal.  Puede o no estar asociada a radio lucidez apical.
<b>PERIODONTITIS ASINTOMÁTICA</b>	<b>APICAL</b>	Generalmente asintomática o asociada a molestia leve. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tejidos circundantes dentro de parámetros normales.</li> <li>• Respuesta positiva a percusión.</li> <li>• Sensibilidad a la palpación, si existe compromiso de la tabla ósea vestibular.</li> <li>• Pruebas de sensibilidad y eléctricas negativas.</li> </ul>	Zona radiolúcida apical de origen pulpar.

<b>ABSCESO APICAL AGUDO</b>	<p>Proceso infeccioso por una necrosis pulpar.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• De comienzo rápido.</li> <li>• Dolor espontaneo, dolor a la presión, percusión y palpación.</li> <li>• Exudado purulento.</li> <li>• Inflamación intra o extraoral.</li> <li>• Dolor localizado y persistente.</li> <li>• Dolor constante y/o pulsátil.</li> </ul> <p>Dolor a la presión (sensación de diente extruido).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dolor localizado o difuso de tejidos blandos intraorales.</li> <li>• Movilidad aumentada.</li> <li>• Dolor a la percusión.</li> <li>• Malestar general.</li> <li>• Puede o no revelar cambios en el tejido circundante periapical.</li> </ul>	<p>Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal o una zona de reabsorción ósea apical, asociada a una periodontitis apical asintomática.</p>
<b>ABSCESO APICAL CRÓNICO</b>	<p>Proceso infeccioso por una necrosis pulpar caracterizado por un comienzo gradual.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ligera sensibilidad.</li> <li>• Presencia de fistula.</li> <li>• Asintomática.</li> <li>• Pruebas de sensibilidad negativas.</li> </ul>	<p>Zona radiolúcida apical.</p> <p>Se debe realizar una fistulografía con cono de gutapercha.</p>
<b>OSTEITIS CONDENSANTE</b>	<p>Proceso inflamatorio crónico de baja intensidad.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Puede o no responder a pruebas de sensibilidad.</li> <li>• Puede o no ser sensible a palpación y/ o percusión.</li> </ul>	<p>Presencia de una zona radiopaca apical difusa concéntrica alrededor del tercio apical radicular.</p> <p>Se observa presencia del espacio del ligamento periodontal.</p>

### 2.3.1 Accidentes durante tratamientos de conductos

Al momento de realizar un tratamiento de conductos, el operador está expuesto a cometer errores que tienen como consecuencia el comprometer el pronóstico del diente tratado. Estos errores pueden ser cometidos durante el acceso al diente, durante la instrumentación o bien, durante la fase obturación del conducto (Duigou, 2004).

Los errores que ocurren al momento de la obturación son más frecuentes que los errores cometidos durante el acceso y la conformación del conducto. (Haji-Hassani, Bakhshi, & Shahabi, 2015).

*La sobre extensión:* Consiste en la expulsión del material de relleno más allá de la constricción apical, esta suele producirse debido a la instrumentación excesiva del conducto o más allá del foramen apical, selección incorrecta del cono maestro, creación de escalones en el conducto, fuerza exagerada al momento de la compactación del material de relleno, demasiado material de relleno, así como un posicionamiento muy apical de los espaciadores (Duigou, 2004).

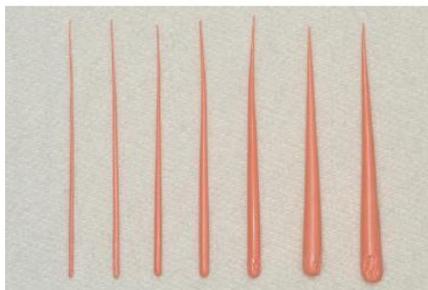
Diferentes estudios realizados in-vitro e in-vivo se han realizado para medir los efectos que producen los distintos tipos de materiales en contacto con los tejidos, en particular los cementos selladores con base a hidróxido de calcio in-vitro presentan una buena compatibilidad inicial, in-vivo estos cementos producen una inflamación inicial pero, aun así, esta reacción es menor a los cementos con base de óxido zinc (Badole et al., 2013; Kaur et al., 2015) (Siqueira, 2005).

### 2.3.2 Materiales empleados

Los materiales empleados para la endodoncia principalmente son utilizados con la finalidad de alcanzar una correcta desinfección en el sistema de conductos, así como para disminuir la probabilidad de que este sea infectado.

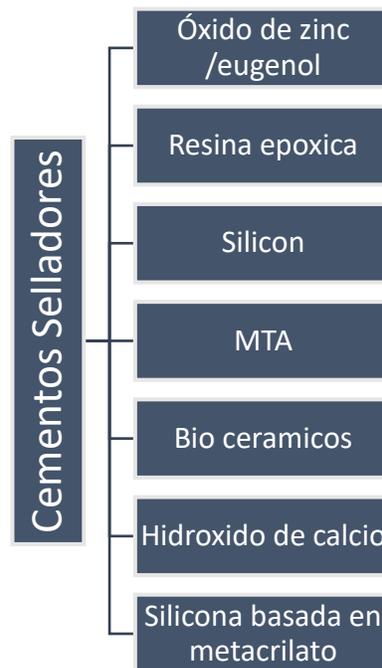
**Materiales de obturación:** Los materiales empleados para el relleno de los conductos radiculares son empleados una vez que se ha logrado una correcta desinfección y conformación del mismo, para evitar una posterior recolonización bacteriana estos materiales deben de presentar la mayor compatibilidad con los tejidos para promover una correcta reparación. Los podemos clasificar en relación a sus propiedades físicas en sólidos y semisólidos o plásticos (Anusavice & Phillip, 2004; Grossman, 1976).

**Materiales sólidos:** La gutapercha (**Fig.4**) es un material ampliamente utilizado debido a las propiedades que posee, al ser un polímero cristalino en temperatura ambiente presenta un estado sólido, pero si se aumenta su temperatura este se plastifica y se hace amorfo, lo cual permite acceso a espacios más pequeños. Su función inicial es la de ocupar la mayor cantidad de espacio dentro del conducto para evitar la filtración de material indeseado, la gutapercha cuenta con una radiopacidad aceptable, facilitando al operador distinguir zonas con un relleno deficiente.



**Figura 4** Diferentes conos de gutapercha estandarizados (Soares & Goldberg, 2002)

Material semisólido: Encontramos todos los cementos y selladores, estos se encargan de cubrir y rellenar espacios inaccesibles al material de relleno principal, al igual que los espacios que quedan entre un cono de gutapercha y otro en técnicas que lo requieran, se debe de remarcar que el cemento sellador no debe de ser utilizado en cantidades excesivas, ya que se incrementa el riesgo de expulsarlo al periápice además existe una gran variedad de los mismos (**Tabla 2**).



**Tabla 2** Distintos tipos de cementos selladores (Tyagi et al., 2013)

## 2.4 Características del cemento ideal

Los cementos selladores idealmente tienen que contar con propiedades específicas, las cuales fueron descritas por Groosman en 1982 y serán numeradas a continuación (Desai & Chandler, 2009).

- 1- Tiene que ser pegajoso para poder tener una mayor adhesión a las paredes del conducto a obturar.
- 2- Producir un sellado hermético.

- 3- Radio opacidad.
- 4- De tener polvo, debe de tener partículas finas para facilitar su incorporación.
- 5- No tiene que disminuir su volumen al momento de fraguar.
- 6- No debe de producir pigmentación a la estructura dental.
- 7- Tienen que evitar la proliferación bacteriana.
- 8- Tiempo de fraguado lento para facilitar su uso.
- 9- No ser soluble en medio bucal.
- 10-Tiene que ser biocompatible con tejidos periapicales.
- 11-Tiene que ser soluble a ciertos componentes para poder ser retirado.

### **2.4.1 Propiedades químicas/biológicas de los cementos selladores**

Compatibilidad Histológica: los cementos selladores deben de presentar un nivel de citotoxicidad bajo, debido a que los posibles contactos con tejidos periapicales provocan una respuesta por parte del sistema inmune hacia el cemento. Todos los cementos deben de presentar una compatibilidad adecuada a los tejidos perirradiculares y para poder ser eliminado por el organismo (Desai & Chandler, 2009).

Citotoxicidad: Hace referencia la capacidad que tiene el material de producir un efecto negativo sobre las células que tiene contacto llegando a producir dolor intenso. Se ha investigado ampliamente las distintas capacidades que tienen estos materiales por medio de diferentes pruebas, dosis mediana de toxicidad así como alteraciones de la membrana del DNA RNA y alteraciones de síntesis de las proteínas (Dahl, 2005).

Propiedades antimicrobianas de los cementos selladores: Dependen de su composición, es decir, de la capacidad que tienen de inhibir la reproducción de bacterias, de destruirlas o bien producir un halo de inhibición bacteriana. Estos efectos se pierden paulatinamente tras el endurecimiento completo del cemento (Kaur et al., 2015; Sousa, Montes, Pascon, Loyola, & Versiani, 2006).

### **2.4.2 Tipos de cementos selladores**

Existen distintos tipos de cementos, estos varían dependiendo de la fórmula con la que fueron realizados y la comercializadora que los distribuye, entre estas se incluyen (**Tabla 3**) materiales base de óxido de zinc y eugenol, con aditivos, base hidróxido de calcio, resinas sintéticas, base ionómero de vidrio, resinas polivinílicas, cementos de policarboxilatos y silicona (Anusavice & Phillip, 2004; Hargreaves & Berman, 2016; Soares & Goldberg, 2002).

**Tabla3.** Cementos selladores características (Desai & Chandler, 2009; Hargreaves & Berman, 2016; Tyagi et al., 2013).

Tipo de cemento	Marca	Composición	Ventajas/Desventajas
<b>Óxido de zinc / Eugenol</b>	Roth sealer. Kerr PCS. Procoseal. Endomethasone.	Polvo: Óxido de zinc. Resina estabilizada de bismuto. Carbonato de bario. Sulfato de bario. Borato de sodio.  Líquido: Eugenol.	1. Menor encogimiento en comparación con los selladores a base de resina. 2. Los selladores de Óxido de Zinc Eugenol (ZOE) han demostrado propiedades antimicrobianas en una variedad de microorganismos 7 días después de mezclar. 3. Los selladores basados en ZOE son fáciles de manejar. 4. La relación polvo / líquido de 1: 3 causa la expansión volumétrica. 5. Los cambios dimensionales son muy inferiores en comparación con otros selladores.
<b>Resina epoxica</b>	AH Plus. AH26. TopSeal. 2-Seal.	AHPlus: Pasta epoxica. Diepoxi de calcio. Tugteno. Óxido de zirconia. Aerosil: Pigmento. Amina pasta.Adamantano amina N. N'-Dibencil5. OxanonandiaminaTCD. Diamina. Tungstato de calcio. Óxido de circonio. Aerosil: Aceite de silicona Para AH26 AH 26. Polvo: Óxido de bismuto. Metenamina. Plata. Dióxido de titanio.	1. AH-26 y AH Plus son capaces de fluir en los orificios de los túbulos dentinarios, lo cual es la razón de la adhesión comparativamente buena de AH-26 a la dentina. 2. Las propiedades de manipulación suelen considerarse buenas. 3. Liberación de formaldehído-Sólo se observó una liberación mínima para AH Plus AH Plus produjo una ligera inhibición de Streptococcus mutantes a los 20 días y Actinomyces israelii en cada intervalo de tiempo.

<b>Basada en Silicon</b>	RoekoSeal. Gutta Flow.	Odi dimetilsiloxano. Aceite de silicona. Óxido de zirconio. Polidimetilsiloxano. Aceite de silicona. Óxido de zirconio. Gutapercha.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Gutta-Flow mostró una buena capacidad de propagación.</li> <li>2. Contiene nanopartículas de plata que evita la propagación de bacterias.</li> <li>3. Facilidad de manejo.</li> <li>4. Buena adaptabilidad.</li> <li>5. Sistema de llenado en frío fluido.</li> <li>6. Dos en uno-combina sellador y gutapercha.</li> <li>7. Excelente propiedades de flujo.</li> <li>8. Solubilidad es virtualmente cero</li> <li>9. Sellado apretado del canal de la raíz.</li> <li>10. Muy buena biocompatibilidad.</li> <li>11. Protección óptima contra reinfección.</li> <li>12. Excelente radio opacidad.</li> </ol>
<b>MTA</b>	Endo-CPM-sealer. ProRoot. Endo Sealer. MTA Fillapex.	MTA: (SiO <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> O, Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , SO <sub>3</sub> , CaO and Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub> SiO <sub>2</sub> ). CaCO <sub>3</sub> . Bi <sub>2</sub> O <sub>3</sub> . BaSO <sub>4</sub> . Propilenglicol alginato. Propilenglicol Citrato de sodio. Cloruro de calcio.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. No se adhiere a la dentina ni al material del núcleo.</li> <li>2. MTA tuvo los valores de adhesión más bajos a la dentina radicular en comparación con otros selladores.</li> <li>3. Tiempo de fraguado reducido, MTA Fillapex®, que tiene resina en su composición reduciendo consecuentemente la alcalinización media, por lo tanto, menos mineralización que otros selladores MTA.</li> <li>4. La alcalinidad del MTA puede debilitar teóricamente la dentina de la raíz.</li> <li>5. En los casos de materiales a base de MTA, la extrusión fuera del conducto radicular está asociada con dolor intenso.</li> </ol>
<b>Biocerámicos</b>	Endosequence. iroot SP. Iroot BP. Bio aggregat.	Silicato tricálcico. Dicálcico silicato. Fosfatos de calcio. Sílice coloidal. Hidróxido de calcio.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Biocompatibles y no inducen efectos citotóxicos críticos.</li> <li>2. Formación de una red nano-compuesta de</li> </ol>

		<p>Óxido de zirconio como el radio opacador.</p>	<p>hidrato de silicato cálcico similar al gel forma un sello hermético cuando se aplica dentro del conducto radicular.</p> <p>3.Precipita el fosfato de calcio en la hidratación con la misma fuerza que el hueso humano.</p> <p>4.No es mutagénico, no causa un potencial alergénico después de múltiples usos y tiene una buena tolerancia por el tejido subcutáneo.</p> <p>5. Alta alcalinidad aumenta su proceso de mineralización también sus propiedades bactericidas (pH 12.8).</p> <p>6.Hidrófilo ayuda a la formación de fosfato de calcio.</p> <p>7.Ángulo de contacto bajo, por lo tanto, estas características permiten que se propaguen fácilmente sobre las paredes de la dentina del conducto radicular.</p> <p>8.Estos nuevos selladores biocerámicos también forman enlace químico con las paredes dentinarias del conducto, es por eso por lo que no queda espacio entre el sellador y las paredes de la dentina.</p> <p>9.También son osteoinductores.</p> <p>10.Buena radio opacidad</p> <p>11.El tiempo de fraguado es de 3 a 4 horas, por lo que proporciona una amplia cantidad de tiempo para la colocación en el conducto radicular.</p> <p>12.Los biocerámicos no se encogen al ajustar.</p>
<b>Hidróxido de calcio</b>	<p>Sealapex. CRCS. Apexit. Acroseal.</p>	<p>Sealapex Base: Hidróxido cálcico. Óxido de cinc. Catalizador: Sulfato bórico. Dióxido de titanio.</p>	<p>1. El hidróxido de calcio es considerado un agente inductor de tejidos calcificados.</p> <p>2. Es un agente bacteriostático y</p>

		<p>Estearato de cinc. CRCS. Polvo: Hidróxido cálcico Óxido de cinc. Dióxido de bismuto. Sulfato de bario. Líquido: Eugenol. Eucaliptol. Apexit. Base: Hidróxido cálcico. Óxido de cinc. Óxido de calcio. Dióxido de silicio. Estearato de cinc. Colofonia hidrogenada. Fosfato tricálcico. Polidimetilsiloxano. Activador: Trimetil. Hexanedioldiasalicilato. Carbonato de bismuto básico. Óxido de bismuto. Dióxido de silicio. Butanedioldisalicilato. Colofonia hidrogenada. Fosfato tricálcico. Estearato de zinc. Acroseal: Pasta base: Ácido glicirrético. Metenammina. Excipiente radiopaco q.s.p. Pasta catalizadora: Hidróxido de calcio. Bisfenol A. Diglicidil éter. Excipiente radiopaco q.s.p.</p>	<p>bactericida, para el control de microorganismos. 3. Actúa como agente catalizador en la modificación del pH en los tejidos periapicales, para favorecer el proceso de cicatrización. 4. Es un excelente agente higroscópico en el control del exudado en conductos radiculares. 5. Actúa como una barrera apical, cuando es colocado como tapón dentro del conducto radicular, para obtener el sellado apical y permitir la obturación convencional. 6. Potencial osteogénico y osteoinductor.</p>
<b>Silicona basada en metacrilato</b>	<p>Hydron-First generation. EndoREZ-Second generation. Realseal Epiphany-Third generatio. Fibrefill-Third generation Realseal. SE Metaseal.</p>	<p>Bisfenol A glicidildimetacrilato (BisGMA). Metacrilato de uretano etoxilado (UDMA) e hidrofílico difuncional. Metacrilatos. Hidróxido de calcio. Bario. Sulfato. Geles de bario y silicato. El cebador-un primer autograbado que contiene monómero funcional, terminado en ácido</p>	<p>1. Cuando se utiliza con formas de monobloque mejora aún más el sellado. 2. Realseal tiene mayor resistencia a la fractura de raíz en comparación con AH Plus. 3. Buena radiopacidad pero menos que AH Plus. 4. La polimerización lenta de los selladores de doble curación mejoraría la posibilidad de aliviar el estrés de contracción a través del flujo de resina.</p>

	SEFourth generation. Smartseal.	sulfónico, hidroxietilmetacrilato (HEMA). Agua y un iniciador de polimerización. Smartpoint, un núcleo radio-opaco de gutapercha con un revestimiento de polímero hidrófilo radiolúcido (copolímero de vinilpirrolidona y acrilonitrilo. Metacrilato de metilo o HEMA). Pasta Smart. Un sellador radiolúcido que contiene Fosforo activo.	5. Se demostró que las raíces rellenas con Resilon / Epiphany exhibían valores de carga de fractura significativamente mayores. 6. EndoREZ fue bien tolerado por los tejidos conectivos y el tejido óseo. 7. Los selladores basados en resina de metacrilato utilizados con Resilon o gutapercha se eliminaron más eficazmente, con menos material de relleno remanente que el sellador convencional. 8. Smartpoint se expande sólo lateralmente absorbiendo agua del diente, adoptando la forma del conducto.
--	---------------------------------	---	---

### 2.4.3 Cementos base hidróxido de calcio

Cemento con base de hidróxido de calcio.

En el año de 1920 se introduce el hidróxido de calcio como un agente de recubrimiento (Desai & Chandler, 2009; Tyagi et al., 2013) pulpar, posteriores estudios demostraron su efectividad como un agente antimicrobiano, por lo que su uso fue ampliado principalmente como medicación intraconducto, entre sesiones de tratamientos de conducto.

En general, el hidróxido de calcio es un polvo blanco carente de olor, que se utiliza para eliminar los microorganismos remanentes tras la preparación mecánica del conducto radicular, debido a que la eliminación mecánica del tejido pulpar no es completa.

Propiedades biológicas a considerar, actividad anti microbiana, habilidad de disolver tejidos, inhibición de reabsorción radicular, formación de tejido duro (Desai & Chandler, 2009).

#### Características físicas

Tiempo de endurecimiento: El tiempo de endurecimiento de los cementos con base a hidróxido de calcio varía dependiendo de su composición, pero estos sólo fraguan al estar en contacto con humedad desde el exterior hacia el interior, en general esto brinda un buen tiempo de trabajo, cementos como el Sealapex® fraguan por completo de dos a tres semanas después de su colocación.

Estabilidad dimensional: Estos cementos selladores presentan una expansión volumétrica considerable debido a la absorción de líquido que presentan.

Características químicas: El hidróxido de calcio posee una característica que lo hace soluble en contacto con agua, liberando partículas de calcio e hidrógeno de manera periódica pero lenta, esta poca solubilidad le permite permanecer en contacto con tejidos periapicales y ser reabsorbido

lentamente. Cuentan con un pH básico (12.5 – 12.8), debido a esto, la mayoría de las bacterias mueren incluso al entrar en contacto con el hidróxido de calcio, esto se debe a que no son capaces de sobrevivir en medios tan alcalinos y la acción antimicrobiana, debido a la liberación de iones hidroxilo (OH) que al momento de entrar en contacto con el agua libera radicales altamente oxidantes, los cuales tiene una reactividad extremadamente alta con moléculas biológicas (Zhou et al., 2013).

Radiopacidad: Dependiente directamente de los metales adicionados a su formulación.

Mecanismo de acción sobre bacterias: Se han atribuido distintos mecanismos por los cuales se afecta una bacteria, daño al DNA, destrucción o daño de la membrana citoplasmática.

Diversos estudios se realizaron con relación al efecto antibacteriano del hidróxido de calcio con lo cual se pudo comprobar su efectividad (Orstavik, 1981).

### Sealapex® (Sybron/Kerr) (Fig.5)

Hidróxido de calcio.

Sulfato de bario.

Óxido de zinc.

Dióxido de titanio.

Estearato de zinc.

Mezcla de etil-tolueno-sulfonamida, -metil-salicilato, isobutil-salicilato y pigmento.

Características: Posee un tiempo de trabajo prolongado así como de preparación, es altamente soluble y con una radiopacidad moderada (Soares & Goldberg, 2002). Como característica negativa podemos mencionar la mala adhesión que presenta en presencia de barrillo dentinario, así como una capacidad de sellar inferior respecto a otros cementos con hidróxido de calcio, además de que el tiempo de fraguado total es de 2 a 3 semanas (Desai & Chandler, 2009; Tyagi et al., 2013).



**Figura 5** Cemento sellador Sealapex® (“Sealapex™ Polymeric Calcium Hydroxide Root Canal Sealer | Kerr Dental,” n.d.).

Acroseal® (Septodont) **(Fig. 6)**

Pasta base:

Ácido glicirrético.

Metenammina.

Excipiente radiopaco q.s.p.

Pasta catalizadora:

Hidróxido de calcio.

Bisfenol A.

Diglicidil éter.

Excipiente radiopaco q.s.p.

Características: Baja solubilidad, baja viscosidad, tiempo de trabajo prolongado y tiempo de fraguado 24 horas posterior a su colocación, alta absorción del material así como, una expansión volumétrica significativa (Desai & Chandler, 2009; “Sealapex™ Polymeric Calcium Hydroxide Root Canal Sealer | Kerr Dental,” n.d.; Tyagi et al., 2013).



**Figura 6** Cemento sellador Acroseal®(Acroseal, n.d.).

## CAPÍTULO 3

### ANTECEDENTES

Desde que el hidróxido de calcio fue empleado por primera vez como cemento sellador de conductos en el año de 1940, distintos cementos selladores con base a hidróxido de calcio han sido empleados, idealmente un cemento sellador debería de ser biocompatible, no debería de provocar destrucción de los tejidos.

Tomando en cuenta esto, diversos han sido reproducidos en diferentes modelos (Leonardo, Consolaro, Carlos, & Leonardo, 2000) realizó una investigación en líneas celulares recolectadas de modelos animales (ratas albinas), inyectando solución al tejido para su posterior recolección, evaluando la toxicidad de los elementos por medio de las diferencias morfológicas encontradas en las células tras el contacto directo con los diferentes cementos selladores, cuatro de ellos con base a hidróxido de calcio y uno con óxido de zinc eugenol, teniendo como resultados el nivel máximo de toxicidad en relación a los cinco, el Sealapex® presentando ruptura celular y fragmentación muy marcadas en los cuatro tiempos evaluados en el mismo año.

En contraste, (Willers hausen, Marroquín, Schäfer, & Schulze, 2000) realiza una investigación en tres líneas celulares humanas, las cuales comprendían dos líneas de fibroblastos y una de tumores epiteliales con el objetivo de verificar si existía un efecto negativo en el metabolismo o el desarrollo de las células. Para este estudio se emplearon cinco cementos selladores, dos a base de ionómero; endion® ketak endo®, uno con base de hidróxido de calcio Sealapex®, uno con base a resina AH plus, uno base óxido de zinc eugenol y dos tipos de gutapercha regular y con hidróxido de calcio agregado. Se estudiaron las muestras durante 6 días cambiando el medio cada 2 días, la valoración de los datos se realizó por medio de la liberación de prostaglandina PGE2 y la actividad celular por medio de la medición de liberación de proteínas por medios de tinción fluorescentes.

A pesar de tener una marcada diferencia, cada uno de los distintos tipos de cementos selladores en ambas líneas celulares de fibroblastos, se encontró una notable disminución en los valores de las proteínas, mientras que las células epiteliales se presentaron menos susceptibles con valores más altos de proteína con el 75% de los controles, el Sealapex®, además presentó una citotoxicidad baja con relación a la medición del mediador PGE2.

Estudios posteriores demostraron que en comparación a cementos a base de resina y oxido zinc eugenol, el Acroseal® pudo estimular células y en comparación con la muestra control, no presentó una reducción significativa de células, resultando además el menos citotóxico de los 5 cementos evaluados (Huang, Tai, Chou, & Chang, 2002).

Por otro lado, el cemento sellador Acroseal de una creación relativamente nueva, ha sido probado en comparación con distintos tipos de cementos selladores (A. U. Eldeniz et al., 2007) se puso a prueba el nivel de citotoxicidad del Acroseal en comparación con otros cuatro cementos selladores a base de resina y cuatro con base de hidróxido de calcio: Epiphany, EndoREZ, RCSealer, Acroseal, GuttaFlow, Apexit y RoekoSeal AH Plus. Estos cementos fueron separados en dos grupos dependiendo de su composición, fueron preparados en bloques dejando que cada cemento seicara en tiempo de fabricante, posteriormente este bloque fue colocado en placas petri, las cuales contenían cultivos de células humanas, fibroblastos.

Para medir el nivel de toxicidad se tomaron en cuenta dos criterios, la morfología celular posterior al contacto con el cemento y el ensayo MTT. Tras el análisis estadístico se determinó, de los ocho

cementos selladores evaluados, cuatro resultaron altamente citotóxicos, tres moderadamente citotóxicos y solo uno no citotóxico.

Resultado ser el Acroseal altamente citotóxico, este resultado concuerda con otros obtenidos por Camargo en el 2009, probando una línea celular diferente fibroblastos humanos (HPC). Se analizaron cuatro materiales para sellar conductos radiculares AH Plus, Epiphany, Acroseal y COP. Una vez inoculados los distintos cementos en platos de 96 pocillos y diluidos de manera consecutiva por medio de las diferencias percibidas de manera óptica, se realizó el análisis estadístico. Acroseal resultó ser el material más citotóxico llegando a reducir la viabilidad celular de manera drástica, aún en altas diluciones.

Los autores señalan además, que la alta citotoxicidad de este cemento sellador puede estar relacionado con la liberación del formaldehído, en consecuencia a la hidrólisis de las metaminas en medios ácidos (Camargo et al., 2009).

La escasez de estudios comparativos entre estos dos cementos resulta de particular interés al encontrarse en una clasificación similar, con base a su componente base el hidróxido de calcio. Se han realizado estudios comparativos respecto a este tema tomando en cuenta que una de las características que mejor definen a estos cementos es su efecto antimicrobiano, en el año 2007 (Ayce et al) sometió a prueba la capacidad que presentan tres cementos selladores con base a hidróxido de calcio Acroseal en comparación con Apexit y Sealapex, resultando ser el Sealapex el material que contó con la mayor liberación de iones de calcio y el Acroseal el que menor liberación presento en relación a los otros dos, mencionando además que la posible baja liberación de iones de calcio fuera debido a la baja solubilidad del Acroseal y a la alta solubilidad del Sealapex respectivamente (Ayce Unverdi Eldeniz, Erdemir, Kurtoglu, & Esener, 2007).

## **CAPÍTULO 4**

### **4.1 Planteamiento del problema**

En pacientes sometidos a tratamientos de conductos, es posible encontrar problemas posteriores a la finalización del mismo. Generalmente y a pesar de ser muy variadas las causas, implica que el pronóstico del diente se vea comprometido.

Entre las causas más comunes por las cuales puede fracasar un tratamiento de conductos se encuentran problemas durante la instrumentación, mal sellado coronal, inadecuadas técnicas de desinfección, mala calidad de la obturación, iatrogenias y sobre extensión de materiales de relleno.

La sobre extensión con materiales de relleno tiene implicaciones sobre los tejidos periapicales, la mayoría actúa como un irritante químico, sobre todo antes de fraguar por completo, entre mayor sea la cantidad y la extensión del material expulsado, mayor serán los problemas y riesgo de que el paciente experimente dolor.

El principal objetivo de esta investigación es evaluar cuál de los dos cementos selladores empleados con base a hidróxido de calcio (Sealapex-Acroseal) resulta tener una reacción menos citotóxica en diferentes concentraciones.

### **4.2 Justificación**

La necesidad de conocer la biocompatibilidad y la biotolerancia de cada cemento sellador nos lleva a la realización del presente estudio, donde compararemos la adaptación celular a nivel periapical de dos cementos endodóncicos a base de hidróxido de calcio (Sealapex y Acroseal). Existen estudios In vitro en líneas celulares humanas y estudios In vivo en animales que muestra el grado de toxicidad de los selladores endodóncicos. El ensayo de MTT para cuantificar In vitro la viabilidad y proliferación celular (Mossman T 1983) es rápido y confiable para dichos propósitos, es por ello por lo que se propone para el presente estudio comparativo.

### **4.3 Objetivo general**

Comprobar el grado de citotoxicidad de los cementos selladores a base de hidróxido de calcio.

### **4.4 Objetivos específicos**

- 1.-Determinar la citotoxicidad de dos cementos selladores y su biocompatibilidad (Sealapex® y Acroseal®).
- 2.-Determinar la biocompatibilidad que existe en el cemento Acroseal® y Sealapex® en contacto directo con HBC, HPC y HGF.
- 3.-Identificar la viabilidad celular de los extractos de dos cementos selladores (Sealapex® y Acroseal®) en contacto directo con HBC, HPC y HGF.

4.-Estimar la curva dosis respuesta y la concentración de citotoxicidad media (CC50) de los cementos en las tres líneas celulares. Identificar la concentración citotóxica mayor en el cemento Sealapex®.

5.-Identificarla concentración citotóxica mayor en el cemento Acroseal®.

#### **4.5 Hipótesis**

El cemento sellador Sealapex® presenta menores efectos citotóxicos que el cemento sellador Acroseal®.

Hipótesis nula ( $H_0$ ): No hay diferencias citotóxicas entre el cemento sellador Acroseal® y el cemento sellador Sealapex®.

Hipótesis alternativa: El cemento sellador Acroseal® presenta menores efectos citotóxicos que el cemento sellador Sealapex®.

## CAPÍTULO 5

### 5.1 Tipo de investigación:

Estudio experimental, transversal comparativo.

### 5.2 Universo de estudio

Materiales semisólidos de relleno de conductos radiculares con composición en base de hidróxido de calcio Sealapex, Acroseal.

Distintas líneas celulares: células humanas pulpares, fibroblastos, gingivales y células humanas de hueso.

### 5.3 Variables dependientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadístico
Cementos selladores	Un cemento radio opaco utilizado generalmente en combinación con materiales sólidos o semi sólidos para rellenar espacios en los conductos radiculares durante la obturación estos incluyen materiales: biocerámicos, resinas, hidróxido de calcio, zinc eugenol, ionómero de vidrio, etc.	Cementos selladores empleados en las clínicas odontológicas de la ENES UNAM León	Nominal	1=Sealapex 2=Acroseal	T student.
Células humanas	Unidad anatómica fundamental de todos los organismos vivos, generalmente	Las células de las tres líneas celulares de manera independiente; células pulpares	Nominal	1: HGF 2: HPC 3: HBC	ANOVA TUKEY

	microscópica, formada por citoplasma, uno o más núcleos y una membrana que la rodea.	humanas (HPC), fibroblastos gingivales humanos (HGF) y osteoblastos células humanas de hueso(HBC).			
Citotoxicidad (Dependiente)	Potencial relacionado con la dosis de un material que causa la muerte celular o tisular.	Por medio de ensayo MTT	Cuantitativa a razón	Razón 0-n% viabilidad celular	T student pareada. ANOVA YUKEY
Concentración	La concentración de una solución, la proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto y la cantidad de disolución o de disolvente, donde el soluto es la sustancia que se disuelve, el disolvente es la sustancia que disuelve al soluto, y la disolución es el resultado de la mezcla homogénea de las dos anteriores.	Por medio de una micropipeta graduada se colocaron cantidades proporcionales en cada pocillo y en la misma razón se colocaron porciones diluidas con respecto a la anterior.	Cuantitativa a razón	Razón 0 mgr	Los datos fueron analizados con pruebas de normalidad de Saphiro-Wilks, t-student pareada y t-student de medias. La significancia estadística fue fijada con un valor $p < 0.05$

#### 5.4 Variables independientes:

Concentraciones de cemento sellador.

#### 5.5 Criterios de inclusión

- Cultivos celulares con un número de división menor a 12.
- Cultivos celulares uniformes de células pulpares humanas, fibroblastos gingivales humanos, células humanas de hueso.

- Cementos celulares base hidróxido de calcio.

## 5.6 Criterios de exclusión

- Cultivos celulares distintos a HPC, APC, HGF y HBC.
- Cultivos celulares contaminados.
- Densidad celular insuficiente.
- Cemento sellador no mezclado de manera uniforme.
- Cementos selladores con formulación distinta (eugenol, silicona, etc.)
- Cementos selladores base a hidróxido de calcio no empleados en la ENES-UNAM León.

## 5.7 Método:

Los ensayos se realizaron en las instalaciones del laboratorio de biomateriales de la ENES-UNAM León.

Cultivo celular:

Se realizó el cultivo celular primario obtenido de biopsias de pacientes. El protocolo fue evaluado por el Comité de Bioética de la Escuela Nacional de Estudios Superiores (ENES) Unidad León, UNAM. Las células de las tres líneas celulares de manera independiente; células pulpares humanas (**Fig.7**), fibroblastos gingivales humanos (**Fig.8**) y osteoblastos células humanas de hueso (**Fig9**).

Las muestras se procesaron por explantes para las HGF y HPC y disgregación enzimática con tripsina para HBC. Para la técnica de disgregación enzimática se realizaron explantes de hueso esponjoso, separando el hueso trabecular del cortical, de 1x1 mm aproximadamente y se depositaron en tubos falcon de 15 ml, a los cuales se les agregó 1 ml de tripsina al 0.05% y se incubaron a 37° C con 5% de CO<sub>2</sub> y 95% de humedad durante 60 minutos con agitación en Vortex (micro-centrifuge II MC-110, The Griffin Group INC, Sylvania Ohio, EUA) cada 20 minutos durante 1 min.

La técnica explantes consistió en colocar las muestras en una caja Petri estéril (Thermo Scientific Rochester, NY, EUA) de 60 x15mm, donde se realizaron explantes de 1x1 mm aproximadamente, con una hoja de bisturí nº 20, para ambas técnicas, las muestras se inocularon en medio de cultivo  $\alpha$ -MEM suplementado con 20% de SFB, sin inactivación por calor, antibiótico al 2% +1% de Glutamax (Gibco® by Life Technologies corporation, Gran Island, NY, EUA) y se incubaron a 37°C con el 5% de CO<sub>2</sub> y en atmósfera húmeda del 95%.

El plato se dejó inalterado durante siete días, posterior a este periodo, se realizó la visualización de la migración de células adherentes sobre la caja de Petri y se procedió a reemplazar el medio inicial por un volumen igual de medio fresco, prestando especial cuidado en no desalojar los explantes. Tras la semana inicial y el primer cambio del medio de cultivo éste fue reemplazado dos veces por semana. Cuando las células proliferaron en la totalidad de la superficie de la placa, de aproximadamente el 80%, se consideró que ya estaba formada la monocapa de células. Los subcultivos para cada experimento se realizaron al desprender las células del plato de cultivo con tripsina y la inoculación en platos de 96 pocillos.

Preparación de los cementos

Ensayo de citotoxicidad: Contacto directo y extractos.

Las HPC, HGF y HBC fueron subcultivadas en platos de 96 pocillos a una densidad celular de  $2 \times 10^5$  células/ml de medio de cultivo DMEM suplementado con el 10% de suero fetal bovino, antibiótico y glutamina.

Las células fueron incubadas durante 48 horas, posteriormente, los cementos fueron inoculados a diferentes concentraciones de extractos de los cementos e incubados durante 24 horas a  $37^\circ\text{C}$  con 5% de  $\text{CO}_2$  y 95% de humedad. La viabilidad celular se determinó por el método de MTT (Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide, 98% Sigma Aldrich) a una concentración de 0.2mg/ml en DMEM. Se colocaron 100  $\mu\text{l}$  de MTT en cada pocillo y se incubaron durante cuatro hrs. Los cristales fueron disueltos con 100  $\mu\text{L}$  de dimetilsulfoxido [(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO, DMSO, J.T Baker]. La placa fue analizada en espectrofotómetro de microplaca (Multiskan go, ciudad, estado, país) a 570nm y agitación a 10seg.

Sobre 3.5 ml de medio para cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10%(sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina. El cultivo fue colocado en incubadora a  $37^\circ\text{C}$  con atmosfera humificada de  $\text{CO}_2$  al 5 % durante 24 horas, posteriormente se retiró el medio de cultivo para desprender las células del plato se agregó 1ml de pbs.

Para recolectar las células, se agregó 1ml de tripsina -EDTA al 0.05% al plato y se almacenó en la incubadora cinco minutos, posteriormente se agregó medio de cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10% (sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina a cada plato, realizando un pipeteo suave para distribuir las células.

Finalmente, se colocaron las tres líneas celulares en un plato de 96 pocillos. 150  $\mu\text{l}$  en cada poso, colocando las células en 4 columnas en el siguiente orden; HGF, HPC; HBC dejando las dos primeras para uso exclusivo de Acroseal y las siguientes dos para Sealapex, se colocó en incubadora  $37^\circ\text{C}$  con atmosfera humificada de  $\text{CO}_2$  al 5 % durante 24.

## **Preparación de cementos sellador**

Se colocaron 100ml de medio de cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10% (sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina en dos tubos eppendorf, a cada tubo se agregó una porción de cemento sellador conforme las indicaciones del fabricante en proporción 1/1 base y catalizador, después de ser marcados SEA (Sealapex®), ACR (Acroseal®) y verificar que se encontraran sellados, éstos fueron colocados en tina de ultrasonido a temperatura ambiente durante 20 minutos, seguido de 10 minutos de mezcla en dispositivo vortex. Las muestras se colocaron en incubadora a  $37^\circ\text{C}$  con atmosfera humificada de  $\text{CO}_2$  al 5 % durante 24 horas.

## **Incorporación de cemento sellador**

Se realizó el cultivo de manera independiente; células pulpares humanas (HPC), fibroblastos gingivales (HGF) y células humanas de hueso(HBC), sobre 3.5ml de medio para cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10%(sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina. El cultivo fue colocado en incubadora a  $37^\circ\text{C}$  con atmosfera humificada de  $\text{CO}_2$  al 5 % durante 24 horas. Posteriormente se retiró el medio de cultivo para desprender las células del plato se agregó 1ml de pbs.

Para recolectar las células se agregó 1ml de tripsina -EDTA al 0.05% al plato y se almacenó en la incubadora 5 minutos, posteriormente se agregó medio de cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10%(sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina a cada plato, realizando un pipeteo suave para distribuir las células.

Finalmente se colocaron las tres líneas celulares en un plato de 96 pocillos. 150  $\mu\text{l}$  en cada poso con ayuda de la micropipeta multicanal, por medio de líneas verticales colocadas, se dividió en seis

porciones iguales, a cada línea celular corresponden cuatro filas, las dos primeras correspondientes a Acroseal y las siguientes dos Sealapex. Se colocó en incubadora a 37°C con atmósfera humificada de CO<sub>2</sub> al 5 % durante veinticuatro horas.

Se colocaron 15ml de medio de cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10%(sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina, adicionado de cemento sellador conforme las indicaciones del fabricante en proporción 1/1 base y catalizador. En los primeros dos experimentos se tomó el cemento sellador directamente del tubo eppendorf y los dos siguientes únicamente la suspensión posterior a la inoculación.

La dilución de la muestra se realizó partir de la línea B del plato dejando la línea A como control en las 3 distintas líneas celulares, con la micropipeta calibrada multicanal se procede a diluir en sentido vertical 100ml, para así obtener una dilución del 50 respecto a la muestra anterior finalmente en incubadora a 37°C con atmósfera humificada de CO<sub>2</sub> al 5 % durante veinticuatro horas.

### **Determinación de la viabilidad celular**

Por medio de ensayo MTT, se colocaron 0.2mm de Thiazly Blue Tetrazolium medido con balanza analítica por ml de medio de cultivo DMEM, suplementado con suero fetal bovino al 10%(sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina) colocados en vaso precipitado y mezclados con agitador magnético hasta disolver completamente, posteriormente fueron colocados en los noventa y seis e introducidos a incubadora a 37°C con atmósfera humificada de CO<sub>2</sub> al 5 % durante cuatro horas, finalmente se colocó el plato en el lector(multi escan) espectrofotómetro.

### **Medición de pH**

En la solución previamente preparada 100ml de medio de cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10% (sfb), antibiótico (100 unidades de penicilina ml) y glutamina en dos tubos eppendorf con una porción de cemento sellador conforme las indicaciones del fabricante en proporción 1/1 base y catalizador de los dos cementos a evaluar; Sealapex®, Acroseal®. Se midió el pH impregnando por completo las tiras de papel de pH en la solución de Acroseal® y Sealapex® esperando 10 a 15 segundos se repitió esta operación al momento inmediato de la incorporación del cemento y cuarenta y ocho horas posteriores en incubación para evaluar si el pH aumentaba o disminuía.

### **Análisis estadístico**

La estadística descriptiva consistió en determinar el promedio, desviación estándar, porcentajes y el análisis de varianza. Los datos fueron analizados con pruebas de normalidad de Saphiro-Wilks, t-student pareada y t-student de medias. La significancia estadística fue fijada con un valor  $p < 0.05$ . Las reproducibilidades de los experimentos se realizaron por triplicado de tres experimentos independientes.

### **Implicaciones Éticas**

El proceso de obtención de las muestras se llevó a cabo previo el consentimiento informado, aprobado por la Comisión de Bioética y Seguridad de la ENES Unidad León, entregado a cada paciente previo a cada intervención, en el que se explicaron de manera clara, breve y concisa los propósitos de la investigación. De esta forma los extractos primarios fueron obtenidos.

Dicho consentimiento se realizó en concordancia con la versión revisada de la declaración de Helsinki (2008) y en estricto apego a las Leyes y reglamentos vigentes en nuestro país, promulgados en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de la disposición de

órganos, tejidos y cadáveres humanos (1984) y la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud (1984).

Teniendo como ejes rectores el respeto a cada individuo que desee participar en el proyecto, así como, la protección a la integridad física y psicológica de los pacientes, la confidencialidad de los datos proporcionados y el uso adecuado de las muestras obtenidas para fines de investigación y docencia.

De acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud y al Título Segundo: de los aspectos éticos de la Investigación en Seres Humanos, Artículo 13, en toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberán prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar.

Para esta investigación prevalecerá lo antes mencionado de los pacientes que aceptaron donar sus dientes y tejidos orales. El Artículo 16: En las investigaciones en seres humanos se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados lo requieran y éste lo autorice, Artículo 17: Se considera como riesgo de la investigación a la probabilidad de que el sujeto de investigación sufra algún daño como consecuencia inmediata o tardía del estudio.

Categoría II: II. Investigación con riesgo mínimo: Estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o tratamiento rutinarios, entre los que se consideran: pesar al sujeto, pruebas de agudeza auditiva; electrocardiograma, termografía, colección de excretas y secreciones externas, obtención de placenta durante el parto, colección de líquido amniótico al romperse las membranas, obtención de saliva, dientes residuales y dientes permanentes extraídos por indicación terapéutica, placa dental y cálculos removidos por procedimiento profilácticos no invasores, corte de pelo y uñas sin causar desfiguración, extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml en dos meses, excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos, pruebas psicológicas a individuos o grupos en los que no se manipulará la conducta del sujeto, investigación con medicamentos de uso común, amplio margen terapéutico, autorizados para su venta, empleando las indicaciones, dosis y vías de administración establecidas y que no sean los medicamentos de investigación que se definen en el Artículo 65 de este Reglamento, entre otros.

Para esta investigación, se basó en los aspectos bioéticos antes mencionados ya que la investigación se clasifica dentro de un riesgo mínimo para el paciente.

## CAPÍTULO 6

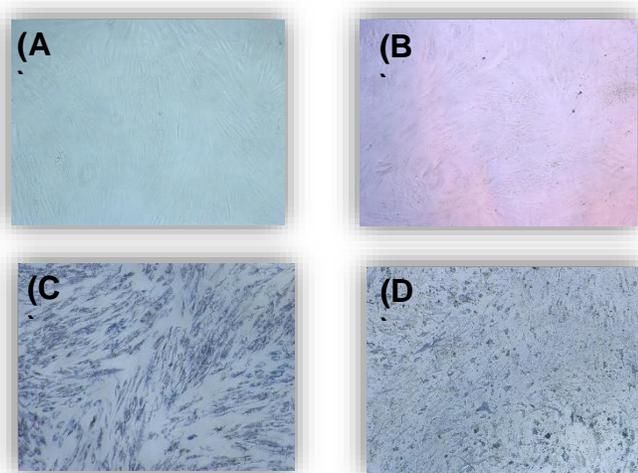
### 6.1 RESULTADOS

El resultado del ensayo MTT está reflejado en las tablas presentadas a continuación las cuales contienen imágenes capturadas en microscopio electrónico de las tres distintas líneas celulares empleadas (HGF, HPC; HBC.) para la investigación (Tablas 4, 5, 6) presentan imágenes en contacto directo de los cementos selladores (Sealapex®, Acroseal®). Mientras que las (Tablas 7, 8, 9) imágenes de los extractos de los cementos selladores ambos con base a hidróxido de calcio.

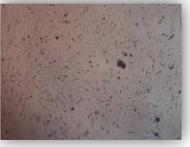
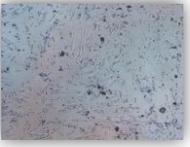
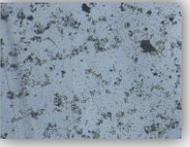
Ambos cementos selladores resultaron ser significativamente citotóxicos, al tener contacto directo con las células alcanzaron un nivel severo, de igual manera los extractos resultaron con un nivel moderado. El cemento sellador Acroseal® resulto ser significativamente más toxico para las células en comparación con el cemento sellador Sealapex®.

La medición de pH fue realizada mediante tiras reactivas al momento de realizar la homogenización de los cementos y a las 24 horas teniendo como resultados: Acroseal® contacto directo 1=pH 10, 24Hr 7 pH. Sealapex 1=pH 7, 24Hr pH 7.5.

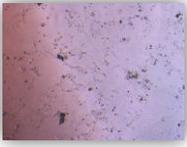
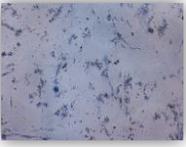
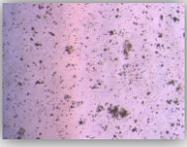
Morfológicamente las células presentaron cambios significativos en su estructura tas ser expuestos a los distintos cementos (Figura 7).



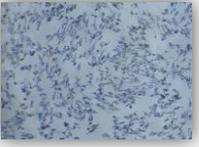
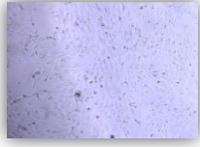
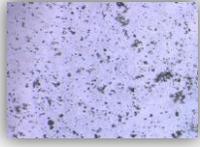
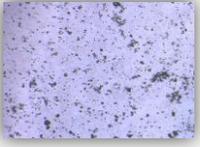
**Figura 7** Diferentes imágenes microscópicas de fibroblastos humanos gingivales. (A)Forma típica de fibroblastos gingivales: núcleo ovoide bien definido, así como sus prolongaciones. (B)Fibroblastos gingivales en contacto directo con Sealapex®, afectando la morfología y distribución de células cercanas. (C) El MTT (Bromuro de dimetil-tiazolil difeniltetrazólico) produce la pigmentación característica observada al ser sintetizado en la mitocondria de la célula siendo esta característica empleada como medidor de viabilidad celular. (D)Células afectadas con una importante disminución de actividad mitocondrial incapaces de reducir el MTT a formazán.

<i>HGF (Contacto directo)</i>				
<i>Concentración</i>	<i>Imagen microscópica (SEA)</i>	<i>Imagen microscópica MTT(SEA)</i>	<i>Imagen microscópica (ACRO)</i>	<i>Imagen microscópica MTT(ACRO)</i>
<i>A)0</i>				
<i>D)0.5</i>				
<i>F)1.9</i>				
<i>H)7.5</i>				

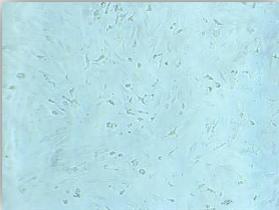
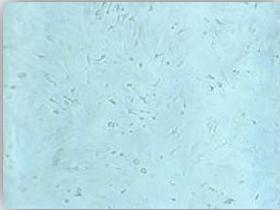
**Tabla 4** Cementos selladores en contacto directo con fibroblastos gingivales humanos, imagen microscópica electrónica y ensayo MTT.

Concentración	HBC(Contacto directo)			
	Imagen microscópica (SEA)	Imagen microscópica MTT(SEA)	Imagen microscópica (ACRO)	Imagen microscópica MTT(ACRO)
A)0				
D)0.5				
F)1.9				
H)7.5				

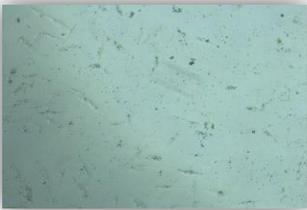
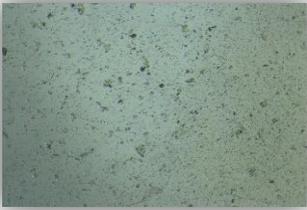
**Tabla 5** Cementos selladores en contacto directo con células humanas de hueso, imagen microscópica electrónica y ensayo MTT.

Concentración	HPC(Contacto directo)			
	Imagen microscópica (SEA)	Imagen microscópica MTT(SEA)	Imagen microscópica (ACRO)	Imagen microscópica MTT(ACRO)
A)0				
D)0.5				
F)1.9				
H)7.5				

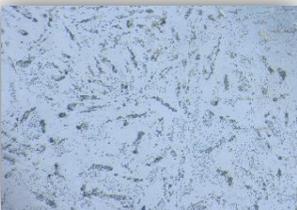
**Tabla 6** Cementos selladores en contacto directo con células humanas pulpaes, imagen microscópica electrónica y ensayo MTT.

<i>HPC(Extractos)</i>		
<i>Concentración</i>	<i>Imagen microscópica (SEA)</i>	<i>Imagen microscópica (ACRO)</i>
<i>A)0</i>		
<i>D)0.5</i>		
<i>F)1.9</i>		
<i>H)7.5</i>		

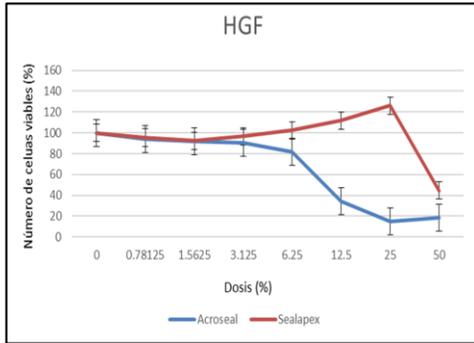
**Tabla 7** Cementos selladores en contacto indirecto con células humanas pulpaes, imagen microscópica electrónica.

<i>HGF (Extractos )</i>		
<i>Concentración</i>	<i>Imagen microscópica (SEA)</i>	<i>Imagen microscópica (ACRO)</i>
<i>A)0</i>		
<i>D)0.5</i>		
<i>F)1.9</i>		
<i>H)7.5</i>		

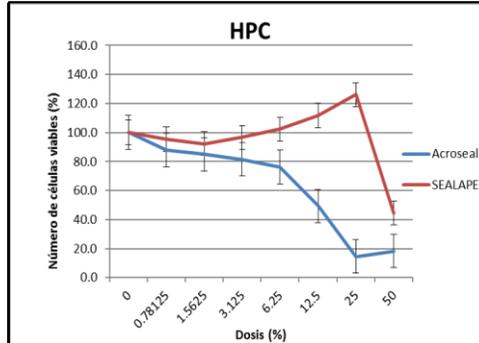
**Tabla 8** Cementos selladores en contacto indirecto con fibroblastos gingivales humanas, imagen microscópica electrónica.

<i>Concentración</i>	<i>Imagen microscópica (SEA)</i>	<i>Imagen microscópica (ACRO)</i>
A)0		
D)0.5		
F)1.9		
H)7.5		

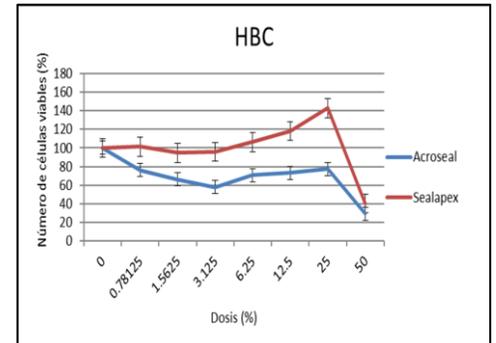
**Tabla 9** Cementos selladores en contacto indirecto con células humanas óseas, imagen microscópica electrónica.



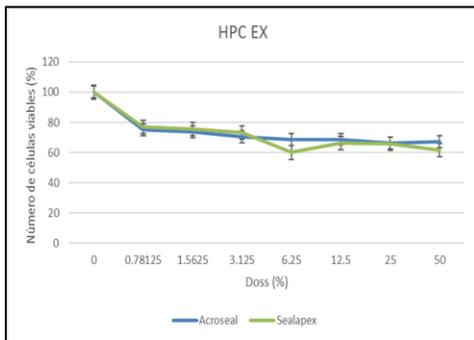
**Figura 8.** Imagen representativa del ensayo contacto directo con células gingivales.



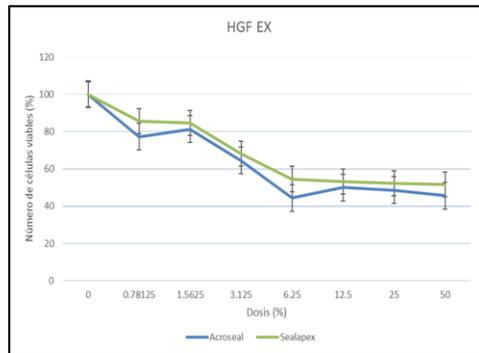
**Figura 9.** Imagen representativa del ensayo contacto directo células pulpares.



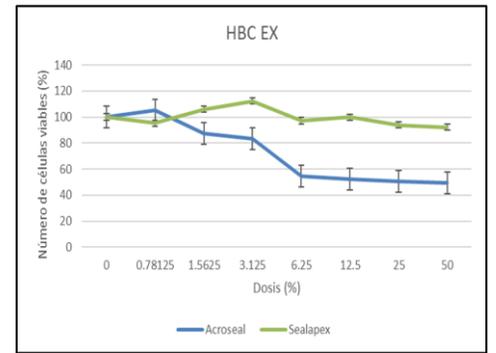
**Figura 10.** Imagen representativa del ensayo contacto directo células óseas.



**Figura 11.** Imagen representativa del ensayo contacto indirecto con células gingivales.



**Figura 12.** Imagen representativa del ensayo contacto indirecto células pulpares.



**Figura 13.** Imagen representativa del ensayo contacto indirecto células óseas.

El contacto directo de los cementos o con los extractos reducen significativamente prueba t student ( $p < 0.05$ ) la viabilidad celular ubicándolos en un nivel de citotoxicidad severo al contacto directo y moderado, respectivamente.

El CC para Acroseal® en contacto directo (Fig.8, 9, 10) fue: en orden ascendente las líneas celulares más afectas HBC, HPC, HGF y Sealapex® HBC, HPC, HGF.

Mientras que el contacto indirecto (Fig. 11, 12, 13) para Acroseal® en orden ascendente fue: HPC, HGF, HBC y Sealapex®: HGF, HPC, HBC.

Es apreciable un ligero efecto de hormesis con el cemento sellador Sealapex®, logrando una ligera estimulación en las tres líneas celulares y para posteriormente mostrar efectos negativos en todas las líneas celulares.

## 6.2 Discusión

La sobre extensión de los materiales de relleno resulta ser uno de los dos errores más cometidos durante la realización de un tratamiento de conductos (Haji-Hassani et al., 2015). Los tejidos que son directamente afectados son: los tejidos perirradiculares, ligamento periodontal, hueso alveolar, así como las estructuras anatómicas adyacentes a ésta, como el seno maxilar, al estar en contacto directo, el organismo reacciona con una respuesta inmune, la cual provoca al paciente episodios de dolor agudo, inflamación e inclusive retrasar la reparación del tejido, esto se debe al grado de toxicidad que presenta el material empleado (Siqueira, 2005).

En el presente estudio se emplearon dos cementos selladores utilizados por los estudiantes en la Escuela Nacional de Estudios Superiores unidad León, ambos materiales con una composición en base a hidróxido de calcio; Sealapex® Acroseal®, los cuales, fueron puestos a prueba invitro en tres líneas celulares distintas.

Las propiedades atribuidas a los cementos selladores en base a hidróxido de calcio son variadas, entre las más representativas se encontró un potente efecto bacteriostático y bactericida atribuido por la liberación de iones de hidróxido de calcio, así como, la modificación del pH a nivel apical. Además, se atribuyen propiedades osteogénicas (Desai & Chandler, 2009), se debe de tener cuidado con la selección del cemento sellador a emplear para los tratamientos de conductos, ya que su uso inadecuado, así como una falta de experiencia por parte del operador, aumenta el riesgo de que este sea extendido a tejidos periapicales.

La composición del Sealapex® ha demostrado el efecto citotóxico en diversas investigaciones. (A. U. Eldeniz et al., 2007; Leonardo et al., 2000; Willershausen et al., 2000) causando graves efectos citotóxicos entre los más destacables las alteraciones morfológicas como la ruptura y fragmentación de las mismas, inclusive llegando a generar un halo de citólisis el cual alteraba la membrana celular inclusive sin estar en contacto (Desai & Chandler, 2009). Un aspecto importante que mencionar es el tiempo de fraguado de este cemento al contar con un tiempo extremadamente largo pudiendo este prolongarse de entre 2 a tres semanas estando en un ambiente húmedo (Ingle, Bakland, Baumgartner, & Ingle, 2008), debido a esto las posibilidades de que el cemento se vea filtrado son mayores. Para finalizar debemos de tomar en cuenta las propiedades citotóxicas reportadas con anterioridad. Sealapex® ha reportado reacciones citotóxicas de moderadas comparado con otros cementos con base a hidróxido de calcio teniendo reacciones toxicas la cuales se resolvían pasados los 90 días (Matsumoto et al., 1989), pero aun así la reacción citotóxica que generada en comparación con otros cementos con composiciones distintas como el óxido de zinc eugenol.

El cemento sellador Acroseal ha demostrado tener también propiedades citotóxicas categorizadas como fuertemente toxicas así como efectos en la morfología de las células con las que tiene contacto alterando su morfología como el largo de sus prolongaciones o el redondeado de sus membranas, también cambiando su organización, además las mayoría de las células presentaban problemas para reducir el MTT a formazán indicando la disminución de la actividad mitocondrial, resultados concordantes a los planteados en la presente investigación (A. U. Eldeniz et al., 2007). La reacción toxica más alta puede estar relacionado con los componentes de la pasta epoxi las cuales contienen aminas.

Los resultados obtenidos en la investigación concuerdan con investigaciones realizadas con anterioridad ambos cementos selladores presentan efectos citotóxicos sobre las tres líneas celulares investigadas. Acroseal presenta los efectos citotóxicos más altos en comparación al Sealapex aun en las concentraciones más bajas. Como ya fue mencionado con anterioridad la composición de la pasta base del Acroseal puede ser el factor que aumenta la toxicidad, basado en investigaciones de otros cementos selladores con base de resina. Sería conveniente realizar más pruebas agregando cementos selladores con composiciones distintas al hidróxido de calcio, con la finalidad de poder discernir cual es el componente que aumenta la toxicidad. Además, sería conveniente replicar los ensayos realizados empleado bloques de cementos selladores debido a los tiempos de fraguado tan distantes. Una de las mayores complicaciones que se presento fue la manipulación de los cementos selladores la consistencia viscosa de los mismos limitaba su manipulación y medición efectiva.

## CAPÍTULO 7

### CONCLUSIONES

La necesidad de crear un cemento sellador de conductos radiculares lo más similar a las características descritas de Grossman han sido impulsor de la investigación e innovación en los materiales dentales. Con la finalidad de determinar cuál es el cemento con mayor similitud a dichas características se realizó el presente estudio, demostrando que es imperativo tener el dominio tanto de sus características clínicas y biológicas, para poder así elegir de acuerdo con el caso clínico el cemento más idóneo para el mismo. Es importante destacar que todos los cementos selladores presentan distintos grados de citotoxicidad, sería conveniente tomar en cuenta propiedades adicionales a las ya estudiadas para decidir que material puede ser empleado con menor riesgo. Con base en los resultados obtenidos bajo las condiciones específicas empleadas en esta investigación se puede concluir que el cemento sellador Acroseal® resultó ser más citotóxico en contacto directo con células pulpares, gingivales y óseas. Así como una composición y comportamiento más similar a un cemento sellador a base de resina epoxi. Se propone la distribución de la presente investigación entre clínicos especialistas en endodoncia que laboran en las clínicas odontológicas de ENES-UNAM León con la finalidad de comparar los distintos enfoques empleados por los mismos para la selección de un material sobre otro, así como discutir su uso por parte de los estudiantes. Finalmente, como se mencionó con anterioridad la selección de un material sobre otro no debería de estar limitada únicamente a una propiedad si no a la gama completa de propiedades que presentan.

## BIBLIOGRAFÍA

- AAE. (2009). AAE Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. *Journal of Endodontics*, 35(12), 1625–33. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.034>
- Acroseal, G. (n.d.). Sellador de Conductos Radiculares a base de Matriz de Resina Epoxi e Hidróxido de Calcio. Retrieved from <http://www.coadental.com/uploads/Archivo336.PDF>
- Anusavice, K. J., & Phillip, R. W. (2004). *Phillips ciencia de los materiales dentales*. Elsevier. Retrieved from [https://books.google.com.mx/books/about/Phillips\\_ciencia\\_de\\_los\\_materiales\\_denta.html?id=4UnIFbmAUqEC](https://books.google.com.mx/books/about/Phillips_ciencia_de_los_materiales_denta.html?id=4UnIFbmAUqEC)
- Badole, G. P., Warhadpande, M. M., Meshram, G. K., Bahadure, R. N., Tawani, S. G., Tawani, G., & Badole, S. G. (2013). A comparative evaluation of cytotoxicity of root canal sealers: an in vitro study. *Restorative Dentistry & Endodontics*, 38(4), 204–9. <https://doi.org/10.5395/rde.2013.38.4.204>
- Camargo, C. H. R., Camargo, S. E. A., Valera, M. C., Hiller, K.-A., Schmalz, G., Schweikl, H., & al., et. (2009). The induction of cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity by root canal sealers in mammalian cells. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 108(6), 952–960. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.07.015>
- Dahl, J. O. N. E. (2005). Toxicity of endodontic filling materials, (2), 39–43.
- Desai, S., & Chandler, N. (2009). Calcium Hydroxide-Based Root Canal Sealers: A Review. *Journal of Endodontics*, 35(4), 475–480. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.11.026>
- Duigou, C. (2004). Discuss the prevention and management of procedural errors during endodontic treatment. *Australian Endodontic Journal*, 30(2), 74–78. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00188.x>
- Eldeniz, A. U., Erdemir, A., Kurtoglu, F., & Esener, T. (2007). Evaluation of pH and calcium ion release of Acroseal sealer in comparison with Apexit and Sealapex sealers. *Oral*

- Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 103(3), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2006.10.018>
- Eldeniz, A. U., Mustafa, K., Ørstavik, D., & Dahl, J. E. (2007). Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide- and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva and L929 cell lines. *International Endodontic Journal*, 40(5), 329–337. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2007.01211.x>
- Glickman, G. N. (2009). AAE Consensus Conference on Diagnostic Terminology: Background and Perspectives. *Journal of Endodontics*, 35(12), 1619–1620. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.029>
- Gómez de Ferraris, M. E., & Campos Munõz, A. (2002). *Histología y embriología bucodental*. Médica panamericana.
- Grossman, L. I. (1976). Physical properties of root canal cements. *Journal of Endodontics*, 2(6), 166–175. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(76\)80059-3](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(76)80059-3)
- Haji-Hassani, N., Bakhshi, M., & Shahabi, S. (2015). Frequency of Iatrogenic Errors through Root Canal Treatment Procedure in 1335 Charts of Dental Patients. *Journal of International Oral Health: JIOH*, 7(Suppl 1), 14–7. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4516079&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hargreaves, K. M., & Berman, L. (2016). *Cohen. Vías de la pulpa*. Elsevier. Retrieved from <https://tienda.elsevier.es/cohen-vias-de-la-pulpa-expertconsult-acceso-web-9788491130567.html>
- Huang, F. M., Tai, K. W., Chou, M. Y., & Chang, Y. C. (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(2), 153–158. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2002.00459.x>
- Ingle, J. I., Bakland, L. K., Baumgartner, J. C., & Ingle, J. I. (2008). *Ingle's Endodontics 6*. BC Decker.
- Kaur, A., Shah, N., Logani, A., & Mishra, N. (2015). Biototoxicity of commonly used root

- canal sealers: A meta-analysis. *Journal of Conservative Dentistry : JCD*, 18(2), 83–8. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.153054>
- Leonardo, R. T., Consolaro, a, Carlos, I. Z., & Leonardo, M. R. (2000). Evaluation of cell culture cytotoxicity of five root canal sealers. *Journal of Endodontics*, 26(6), 328–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11199748>
- Matsumoto, K., Inoue, K., & Matsumoto, a. (1989). The effect of newly developed root canal sealers on rat dental pulp cells in primary culture. *Journal of Endodontics*, 15(2), 60–7. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(89\)80109-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(89)80109-8)
- Orstavik, D. (1981). Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. *International Endodontic Journal*, 14(2), 125–33. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6940584>
- Pashley, D., & Walton, R. (2002). Histology and physiology of the dental pulp. *5th Ed. Ingle JI, Bakland LK ...* Retrieved from <http://faculty.ksu.edu.sa/dr.hanan/booksingle/ch02.pdf>
- Rose L, Mealey B, Genco R, C. D. (2004). *Periodontics: Medicine, Surgery, and Implants By Louis F. Rose, Brian L. Mealey, Robert J. Genco, and D. Walter Cohen Elsevier Mosby; Philadelphia: 2004. 990 pp. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology (Vol. 99).* <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2004.11.025>
- Sealapex™ Polymeric Calcium Hydroxide Root Canal Sealer | Kerr Dental. (n.d.). Retrieved September 13, 2017, from <https://www.kerrdental.com/kerr-endodontics/sealapex-polymeric-calcium-hydroxide-root-canal-sealer>
- Siqueira, J. F. J. (2005). Reaction of periradicular tissues to root canal treatment: benefits and drawbacks. *Endodontic Topics*, 10(1), 123–147. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2005.00134.x>
- Soares, I. J., Goldberg, F., & Frydman, J. (2002). *Endodoncia : técnicas y fundamentos. Medica Panamericana.* Retrieved from <https://books.google.com.mx/books/about/Endodoncia.html?id=P6W48Hf6tggC>

- Soares, & Goldberg. (2002). Endodoncia : Técnica y fundamentos.
- Sousa, C. J. A., Montes, C. R. M., Pascon, E. A., Loyola, A. M., & Versiani, M. A. (2006). Comparison of the Intraosseous Biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany Root Canal Sealers. *Journal of Endodontics*, 32(7), 656–662. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.12.003>
- Tyagi, S., Tyagi, P., & Mishra, P. (2013). Evolution of root canal sealers: An insight story. *European Journal of General Dentistry*, 2(3), 199. <https://doi.org/10.4103/2278-9626.115976>
- Walton, R. E., & Ramachandran Nair, P. N. (1995). Neural elements in dental pulp and dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and*, 80(6), 710–719. [https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(05\)80256-2](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(05)80256-2)
- Willershausen, B., Marroquín, B. B., Schäfer, D., & Schulze, R. (2000). Cytotoxicity of root canal filling materials to three different human cell lines. *Journal of Endodontia*, 26, 703–707.
- Zhou, H., Shen, Y., Zheng, W., Li, L., Zheng, Y., & Haapasalo, M. (2013). Physical properties of 5 root canal sealers. *Journal of Endodontics*, 39(10), 1281–6. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.06.012>
- AAE. (2009). AAE Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. *Journal of Endodontics*, 35(12), 1625–33. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.034>
- Acroseal, G. (n.d.). Sellador de Conductos Radiculares a base de Matriz de Resina Epoxi e Hidróxido de Calcio. Retrieved from <http://www.coadental.com/uploads/Archivo336.PDF>
- Anusavice, K. J., & Phillip, R. W. (2004). *Phillips ciencia de los materiales dentales*. Elsevier. Retrieved from [https://books.google.com.mx/books/about/Phillips\\_ciencia\\_de\\_los\\_materiales\\_denta.html?id=4UnIFbmAUqEC](https://books.google.com.mx/books/about/Phillips_ciencia_de_los_materiales_denta.html?id=4UnIFbmAUqEC)

- Badole, G. P., Warhadpande, M. M., Meshram, G. K., Bahadure, R. N., Tawani, S. G., Tawani, G., & Badole, S. G. (2013). A comparative evaluation of cytotoxicity of root canal sealers: an in vitro study. *Restorative Dentistry & Endodontics*, *38*(4), 204–9. <https://doi.org/10.5395/rde.2013.38.4.204>
- Camargo, C. H. R., Camargo, S. E. A., Valera, M. C., Hiller, K.-A., Schmalz, G., Schweikl, H., & al., et. (2009). The induction of cytotoxicity, oxidative stress, and genotoxicity by root canal sealers in mammalian cells. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, *108*(6), 952–960. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.07.015>
- Dahl, J. O. N. E. (2005). Toxicity of endodontic filling materials, (2), 39–43.
- Desai, S., & Chandler, N. (2009). Calcium Hydroxide-Based Root Canal Sealers: A Review. *Journal of Endodontics*, *35*(4), 475–480. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2008.11.026>
- Duigou, C. (2004). Discuss the prevention and management of procedural errors during endodontic treatment. *Australian Endodontic Journal*, *30*(2), 74–78. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4477.2004.tb00188.x>
- Eldeniz, A. U., Erdemir, A., Kurtoglu, F., & Esener, T. (2007). Evaluation of pH and calcium ion release of Acroseal sealer in comparison with Apexit and Sealapex sealers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, *103*(3), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2006.10.018>
- Eldeniz, A. U., Mustafa, K., Ørstavik, D., & Dahl, J. E. (2007). Cytotoxicity of new resin-, calcium hydroxide- and silicone-based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingiva and L929 cell lines. *International Endodontic Journal*, *40*(5), 329–337. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2007.01211.x>
- Glickman, G. N. (2009). AAE Consensus Conference on Diagnostic Terminology: Background and Perspectives. *Journal of Endodontics*, *35*(12), 1619–1620. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2009.09.029>
- Gómez de Ferraris, M. E., & Campos Muñoz, A. (2002). *Histología y embriología bucodental*. Médica panamericana.

- Grossman, L. I. (1976). Physical properties of root canal cements. *Journal of Endodontics*, 2(6), 166–175. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(76\)80059-3](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(76)80059-3)
- Haji-Hassani, N., Bakhshi, M., & Shahabi, S. (2015). Frequency of Iatrogenic Errors through Root Canal Treatment Procedure in 1335 Charts of Dental Patients. *Journal of International Oral Health: JIOH*, 7(Suppl 1), 14–7. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4516079&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Hargreaves, K. M., & Berman, L. (2016). *Cohen. Vías de la pulpa*. Elsevier. Retrieved from <https://tienda.elsevier.es/cohen-vias-de-la-pulpa-expertconsult-acceso-web-9788491130567.html>
- Huang, F. M., Tai, K. W., Chou, M. Y., & Chang, Y. C. (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(2), 153–158. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2002.00459.x>
- Ingle, J. I., Bakland, L. K., Baumgartner, J. C., & Ingle, J. I. (2008). *Ingle's Endodontics 6*. BC Decker.
- Kaur, A., Shah, N., Logani, A., & Mishra, N. (2015). Biototoxicity of commonly used root canal sealers: A meta-analysis. *Journal of Conservative Dentistry: JCD*, 18(2), 83–8. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.153054>
- Leonardo, R. T., Consolaro, a, Carlos, I. Z., & Leonardo, M. R. (2000). Evaluation of cell culture cytotoxicity of five root canal sealers. *Journal of Endodontics*, 26(6), 328–30. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11199748>
- Matsumoto, K., Inoue, K., & Matsumoto, a. (1989). The effect of newly developed root canal sealers on rat dental pulp cells in primary culture. *Journal of Endodontics*, 15(2), 60–7. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(89\)80109-8](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(89)80109-8)
- Orstavik, D. (1981). Antibacterial properties of root canal sealers, cements and pastes. *International Endodontic Journal*, 14(2), 125–33. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6940584>

- Pashley, D., & Walton, R. (2002). *Histology and physiology of the dental pulp. 5th Ed. Ingle JI, Bakland LK ...* Retrieved from <http://faculty.ksu.edu.sa/dr.hanan/booksingle/ch02.pdf>
- Rose L, Mealey B, Genco R, C. D. (2004). *Periodontics: Medicine, Surgery, and Implants By Louis F. Rose, Brian L. Mealey, Robert J. Genco, and D. Walter Cohen Elsevier Mosby; Philadelphia: 2004. 990 pp. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology (Vol. 99).* <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2004.11.025>
- Sealapex™ Polymeric Calcium Hydroxide Root Canal Sealer | Kerr Dental. (n.d.). Retrieved September 13, 2017, from <https://www.kerrdental.com/kerr-endodontics/sealapex-polymeric-calcium-hydroxide-root-canal-sealer>
- Siqueira, J. F. J. (2005). Reaction of periradicular tissues to root canal treatment: benefits and drawbacks. *Endodontic Topics, 10*(1), 123–147. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1546.2005.00134.x>
- Soares, I. J., Goldberg, F., & Frydman, J. (2002). *Endodoncia : técnicas y fundamentos. Medica Panamericana.* Retrieved from <https://books.google.com.mx/books/about/Endodoncia.html?id=P6W48Hf6tggC>
- Soares, & Goldberg. (2002). *Endodoncia : Tecnica y fundamentos.*
- Sousa, C. J. A., Montes, C. R. M., Pascon, E. A., Loyola, A. M., & Versiani, M. A. (2006). Comparison of the Intraosseous Biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany Root Canal Sealers. *Journal of Endodontics, 32*(7), 656–662. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2005.12.003>
- Tyagi, S., Tyagi, P., & Mishra, P. (2013). Evolution of root canal sealers: An insight story. *European Journal of General Dentistry, 2*(3), 199. <https://doi.org/10.4103/2278-9626.115976>
- Walton, R. E., & Ramachandran Nair, P. N. (1995). Neural elements in dental pulp and dentin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and, 80*(6), 710–719. [https://doi.org/10.1016/S1079-2104\(05\)80256-2](https://doi.org/10.1016/S1079-2104(05)80256-2)

Willershausen, B., Marroquín, B. B., Schäfer, D., & Schulze, R. (2000). Cytotoxicity of root canal filling materials to three different human cell lines. *Journal of Endodontia*, 26, 703–707.

Zhou, H., Shen, Y., Zheng, W., Li, L., Zheng, Y., & Haapasalo, M. (2013). Physical properties of 5 root canal sealers. *Journal of Endodontics*, 39(10), 1281–6. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2013.06.012>