

**Universidad Autónoma De Sinaloa**

**Facultad de Odontología**

**Especialidad en Endodoncia**



**Evaluación del efecto inflamatorio de cementos selladores endodónticos  
sobre la expresión de citocinas en un cultivo primario de monocitos**

**No. De registro 2023-2**

**Tesis que presenta**

**C.D. Crisbel Ayala Armenta**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN ENDODONCIA**

Directores:

Dra. Gloria Yolanda Castro Salazar

Dra. Mariana Melisa Avendaño Félix

Culiacán, Sinaloa, México.



Dirección General de Bibliotecas



U n i v e r s i d a d   A u t ó n o m a   d e   S i n a l o a

## REPOSITORIO INSTITUCIONAL

UAS- Dirección General de Bibliotecas Repositorio Institucional Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.



## **FINANCIAMIENTO**

Este proyecto fue financiado por la Universidad Autónoma de Sinaloa y el Sistema de Gestión de la Dirección General de Investigación y Posgrados PROFAPI 2022 con clave PRO\_A3\_009, bajo la dirección de Dra. Gloria Yolanda Castro Salazar.

Beca Conahcyt: 1143633

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo especialmente a mis papás que han sido el pilar de mi vida y de mi formación académica y han creído en mí desde el inicio de este sueño, sin ellos definitivamente no sería lo que soy ahora, gracias por impulsarme a crecer y ser siempre mi apoyo firme e incondicional, para ustedes es este trabajo que representa todo mi esfuerzo, tiempo, entrega y amor.

Dentro de este apartado dirijo también este escrito a mis doctores, que siempre estuvieron para brindarme sus conocimientos y su ayuda en cualquier momento; es también dedicada a mis amigos y compañeros que hicieron que mi aventura en el posgrado fuera más a mena, con sus risas y bromas, además de su compañía en los momentos que todo parecía imposible.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco principalmente a Dios por poner los medios para ingresar a este posgrado y darme las fuerzas para culminarlo, además del apoyo incondicional de mi familia, que fueron parte importante con su ayuda económico y moralmente.

Gracias a mis compañeros de posgrado, que a lo largo del tiempo después de vivir tantas cosas juntos, se convierten en familia, cada uno ocupa un lugar especial en mi corazón, como nos llamamos en un primer momento ENDOLOVERS, y hoy en día amigos de vida.

También agradezco a mis compañeros y ahora amigos de otros posgrados con los cual tuve la fortuna de convivir y vivir grandes experiencias, a mi novio Jesús Eduardo quien me impulsó a terminar esta tesis y brindarme su apoyo en los días que parecía todo más difícil, por cada detalle realizado para que yo tuviera una sonrisa en mi cara, te agradezco amor, te amo.

Por último, quiero reconocer a cada uno de los maestros que fueron parte de mi formación académica, gracias por todo lo que aprendí de ustedes y por impulsarme a ser una especialista de calidad. Especialmente quisiera mencionar a la Dra. Mariana Melissa Avendaño Félix, quien inició conmigo esta investigación y me guio durante gran parte del estudio, así mismo agradezco las contribuciones de mis asesores, directores de tesis y lectores críticos que formaron parte de esta investigación, gracias al apoyo de todos ustedes esta tesis pudo culminarse.

# ÍNDICE

ÍNDICE.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
RESUMEN.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1. INTRODUCCIÓN.....	16
1.1 MARCO TEÓRICO.....	18
1.1.1 Tejido pulpar.....	18
1.1.2 Enfermedades pulpares y periapicales.....	21
1.1.3 Tratamiento de conductos.....	32
1.1.4 Acceso coronal.....	33
1.1.5 Preparación biomecánica.....	35
1.1.6 Obturación.....	35
1.1.7 Inflamación.....	45
1.1.8 Macrófagos.....	45
1.1.9 Citocinas proinflamatorias.....	47
1.1.10 IL-4.....	47

1.1.11	IL-6 .....	47
1.1.12	IL-10 .....	48
1.1.13	IL-12 p70 .....	48
1.1.14	TNF .....	49
1.1.15	IFN- $\gamma$ .....	50
1.1.16	Proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1).....	50
1.2	ANTECEDENTES .....	52
1.3	JUSTIFICACIÓN .....	54
1.4	HIPÓTESIS .....	55
1.5	OBJETIVOS .....	56
1.5.1	Objetivo General.....	56
2.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	57
2.1.1	Lugar de recolección de muestra .....	57
2.1.2	Diseño experimental.....	57
2.1.3	Población de estudio .....	57
2.2	Diseño metodológico.....	57
2.2.1	Criterios de Inclusión .....	57
2.3	METODOLOGÍA.....	58
2.3.1	Obtención de sangre periférica y aislamiento celular: .....	58

2.3.2	Preparación de medios condicionados:.....	58
2.3.3	Cultivo celular.....	58
2.3.4	Estimulación.....	59
2.3.5	Citometría de flujo.....	59
2.4	Análisis estadístico.....	59
3.	RESULTADOS.....	60
3.1	Aislamiento de monocitos a partir de sangre periférica.....	60
3.2	Ensayos con cementos endodónticos: Biodentine® y MTA Blanco®.	62
3.3	El Biodentine® promueve la producción y secreción de IL-6.....	64
3.4	Biodentine® y MTA Blanco® promueven la producción y secreción de IL-10	66
3.5	MTA Blanco® promueve la producción y secreción de IL-12 p70.....	68
3.6	MTA Blanco® tiene mayor liberación de IFN- $\gamma$ .....	70
3.7	MTA Blanco® mayor expresión de MCP-1.....	72
3.8	Biodentine® muestra alta expresión de TNF- $\alpha$ .....	74
4.	DISCUSIÓN.....	76
5.	CONCLUSIONES.....	79
6.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	80



## ÍNDICE DE FIGURAS

1. Figura 1. Anatomía Dental. Se observan las diferentes estructuras que componen al diente que son: esmalte, dentina, pulpa, ligamento periodontal, cemento, hueso alveolar y pulpa dental (2)..... 19
2. Figura 2. Micrografía de la pulpa dental. A) Tejido pulpar a nivel microscópico B) Tejido pulpar a nivel ultraestructura (6)..... 20
3. Figura 3. Periodontitis apical asintomática. Se observa caries comunicándose con pulpa dental, zona radiolúcida en periapical. *Fotografía del autor*..... 22
4. Figura 4. Absceso apical crónico. Se observa caries extensa que llega al nervio dental, zona radiolúcida en zona de furca y asociada a raíz mesial. *Fotografía del autor*..... 23
5. Figura 5. Acceso coronal de un primer premolar superior derecho. Acceso realizado en cara oclusal, encontrando dos conductos uno en vestibular y otro palatino, se observa istmo que conecta ambos conductos. *Fotografía del autor*..... 34
6. Figura 6. Tratamiento endodóntico deficiente. Se observa falta de longitud de trabajo, instrumento separado en raíz mesial, deficiencia en la obturación, raíz distal con poste de metal. *Fotografía del autor*..... 38
7. Figura 7. Uso de los biocerámicos. Diferentes aplicaciones en endodoncia de los cementos biocerámicos: recubrimiento pulpar indirecto, reparación de perforaciones, reabsorciones, apexificaciones, recubrimiento pulpar directo, pulpotomías, obturaciones y retroobturaciones (17)..... 43

8. Figura 8. Monocitos aislados de sangre periférica humana a las 24 y 48 h post-incubación. A las 24 h post-incubación se muestran monocitos con morfología esférica pobremente adheridos a la superficie plástica y con gran contaminación de plaquetas. Después de 48 h las células muestran adherencia al sustrato y una apariencia típica de monocito, exhibiendo morfología redondeada e interacciones entre ellas mismas, formando colonias..... 61
9. Figura 9. Monocitos aislados de sangre periférica humana incubados con B) MTA®, C) Biodentine® y D) LPS como control positivo, durante 24 h. En A) se observa el control negativo en DMEM, células con morfología normal de monocitos. En B) MTA®, algunas células cambiaron su morfología redondeada por morfología fusiforme, lo cual es un signo de inicio de activación. En C) Biodentine®, las células presentan una morfología epiteliode característica de un monocito activado por interacción de prolongaciones citoplasmáticas. Y en D) LPS como control positivo se indujo la apoptosis de las células. .... 63
10. Figura 10. Cuantificación de la liberación de la citocina IL-6 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. . Se puede observar que el Biodentine® induce mayor respuesta con respecto a MTA blanco®. .... 65
11. Figura 11. Cuantificación de la liberación de la citocina IL-10 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. Se observa que no hay diferencia de estimulación en ambos ensayos al no presentar diferencias en la

concentración de esta citocina por parte de ambos cementos usado, pero sí de ambos con respecto al control DMEM. .... 67

12. Figura 12. Cuantificación de la liberación de la citocina IL-12 p70 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. Se muestra mayor efecto de liberación de esta citocina por efecto de MTA Blanco®, con respecto a Biodentine®. .... 69

13. Figura 13. Cuantificación de la liberación de la citocina IFN- $\gamma$  en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. Se observa una fuerte expresión de IFN- $\gamma$  promovida por MTA blanco®, en menor cantidad por parte de Biodentine® sin embargo ambos resultan tener mayos inducción de esta citocina con respecto al control positivo LPS. .... 71

14. Figura 14. Cuantificación de la liberación de la citocina MCP-1 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. Se observa que la mayor expresión de MCP-1 está inducida por MTA blanco®, seguida por Biodentine®, sin embargo, no superan la alta expresión generada por el control positivo LPS. .... 73

15. Figura 15. Cuantificación de la liberación de la citocina TNF- $\alpha$  en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. Se observa que la mayor expresión de TNF- $\alpha$  está inducida por Biodentine®, seguida por MTA Blanco®, sin embargo, no superan la alta expresión generada por el control negativo DMEM. . 75

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de las enfermedades pulpares y periapicales según la AAE (2018).....	25
--	----

## **ABREVIATURAS**

Asociación Americana de Endodoncia (AAE)

Óxido de zinc y eugenol (ZOE)

El Agregado de Trióxido Mineral (MTA)

Macrófagos Activados Clásicamente (M1)

Interleucina 6 (IL-6)

Interleucina 1 (IL-1)

Interleucina 2 (IL-2)

Interleucina 10 (IL-10)

Natural killer (NK)

Interferón-  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )

Factor de Crecimiento Transformador Beta (TGF- $\beta$ )

Factor de Necrosis Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ )

Interleucina 4 (IL-4)

Fosfatasa Alcalina (ALP)

La proteína 1 Hemoatrayente de Monocitos (MCP-1/CCL2)

Células madre progenitora de la pulpa dental (DPSC)

Cytometric Bead Array (CBA)

Matrices de perlas citométricas (CBAs)

Hidróxido de Calcio Ca (OH)<sub>2</sub>

## RESUMEN

**Introducción:** La pulpitis es la inflamación de pulpa dental la cual se origina por múltiples causas, sin embargo, las más usuales son por caries, infecciones y traumatismos. Una vez que la pulpa ha sufrido un daño irreversible es necesario realizar un tratamiento de conductos, requiriéndose para ello, materiales como los selladores, los cuales deben causar una respuesta inflamatoria menor. Los materiales de obturación pueden extruirse al periápice, generando una respuesta inmunológica, por lo que estos deben ser biocompatibles, como lo son los biocerámicos, por lo anterior en el presente estudio se evaluó la inflamación provocada por diferentes cementos selladores, a través de la cuantificación de diversas citocinas pro-inflamatorias. **Materiales y métodos:** Se utilizaron los cementos selladores Biodentine® y MTA Blanco®, así como el control positivo de inducción de la inflamación LPS, para evaluar dicho proceso en monocitos aislados a partir de sangre periférica humana, esto por citometría de flujo. **Resultados:** morfológicamente el Biodentine® induce mayor activación de las células monocíticas en comparación al MTA Blanco®, el cual también activa a las células, pero en mayor proporción, morfológicamente, en cuanto a la liberación de las citocinas, tanto el Biodentine® como el MTA Blanco®, inducen la producción y secreción de las citocinas pro-inflamatorias IL-6, IL-10, IL-12 p70, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y MCP-1, sin embargo, esta liberación es mayor en MTA blanco® en algunas de estas citocinas evaluadas. **Conclusión:** el MTA Blanco® induce mayor inflamación en los monocitos aislados a partir de sangre periférica.

(Palabras clave: Cementos Biocerámicos, Inflamación, Biodentine®, MTA Blanco®)

## **ABSTRACT**

Introduction: Pulpitis is the inflammation of the dental pulp which originates from multiple causes; however, the most common are cavities, infections and trauma. Once the pulp has suffered irreversible damage, it is necessary to perform root canal treatment, requiring materials such as sealants, which should cause a minor inflammatory response. The filling materials can be extruded to the periapex, generating an immunological response, so these must be biocompatible, as are bioceramics. Therefore, in the present study, the inflammation caused by different sealing cements was evaluated through quantification of various pro-inflammatory cytokines. Materials and methods: The sealing cements Biodentine® and MTA Blanco®, as well as the positive control for induction of inflammation LPS, were used to evaluate this process in monocytes isolated from human peripheral blood, this by flow cytometry. Results: morphologically, Biodentine® induces greater activation of monocytic cells compared to MTA Blanco®, which also activates the cells, but in a greater proportion, morphologically, in terms of the release of cytokines, both Biodentine® and MTA Blanco®, induce a great release of the pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-10, IL-12 p70, INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  and MCP-1, however, this release is greater in MTA Blanco® in some of these cytokines evaluated. Conclusion: MTA Blanco® induces greater inflammation in monocytes isolated from peripheral blood.

(Keywords: Bioceramic Cements, Inflammation, Biodentine®, MTA Blanco®)

## 1. INTRODUCCIÓN

La pulpitis es la inflamación de la pulpa dental producida principalmente por caries, infecciones, fracturas o traumatismos. La inflamación de los tejidos periapicales es una secuela de la necrosis pulpar y se manifiesta con dolor, hinchazón, drenaje purulento, pérdida de tejido óseo o incluso en la pérdida del órgano dental. Como consecuencia de la inflamación e infección de los tejidos periapicales se lleva a cabo la resorción ósea, provocando una osteoclastogénesis y la acumulación de citocinas proinflamatorias como interleucina 6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y prostaglandinas E, entre otros mediadores (1)

Una vez que la pulpa ha sufrido un daño irreversible es necesario realizar un tratamiento de conductos, en el cual se extirpa el tejido orgánico e inorgánico del conducto radicular por medio de la instrumentación biomecánica seguido de una correcta desinfección. El paso final del tratamiento de conductos es el sellado coronal y apical de los conductos radiculares, esto corresponde a la obturación, que se lleva a cabo con el objetivo de evitar que bacterias ingresen al conducto y posteriormente a la zona periapical (2)

El campo de acción de los selladores endodónticos se encuentra contenido dentro del espacio del conducto radicular, pero al ser materiales viscosos y de consistencia semilíquida, fácilmente sufren el riesgo de extruirse a través del foramen apical y los eluyentes entran en contacto con tejidos perirradiculares ocasionando retraso en la cicatrización de heridas, irritación, inflamación, y en algunos casos daños celulares afectando también a actividades metabólicas óseas normales sobre osteoblastos y osteoclastos perturbando la regeneración y remodelación ósea natural (3) Por esta razón, es necesario analizar algunos cementos selladores para conocer si son biocompatibles e inertes, de manera que causen una respuesta inflamatoria mínima.

Los biocerámicos son cementos selladores que son especialmente diseñados para el uso clínico, que incluyen alúmina, zirconio, vidrio bioactivo, vidrios cerámicos, hidroxiapatita y fosfatos de calcio reabsorbibles. Existen en la



actualidad gran variedad de ellos en este estudio se utilizaron dos tipos, Biodentine® y MTA Blanco® (4)

Biodentine® es un material bioactivo a base de silicato tricálcico diseñado principalmente como sustituto de la dentina, es de fraguado rápido y se recomienda ampliamente en endodoncia por su biocompatibilidad y sus características. El agregado de tioróxido mineral (MTA)® también es un material bioactivo, tiene excelentes propiedades de sellado y además antimicrobianas (5)

Por sus características beneficiosas de los cementos biocerámicos en comparación con otro tipo de cementos selladores, en este estudio se tiene como objetivo evaluar el efecto inflamatorio de dos cementos selladores endodónticos Biodentine® y MTA Blanco® en un cultivo primario de monocitos.

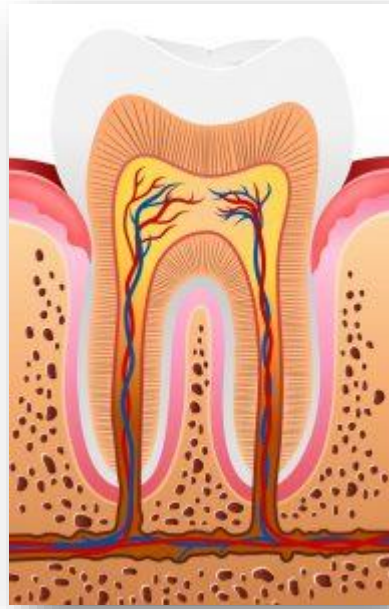
## 1.1 MARCO TEÓRICO

### 1.1.1 Tejido pulpar

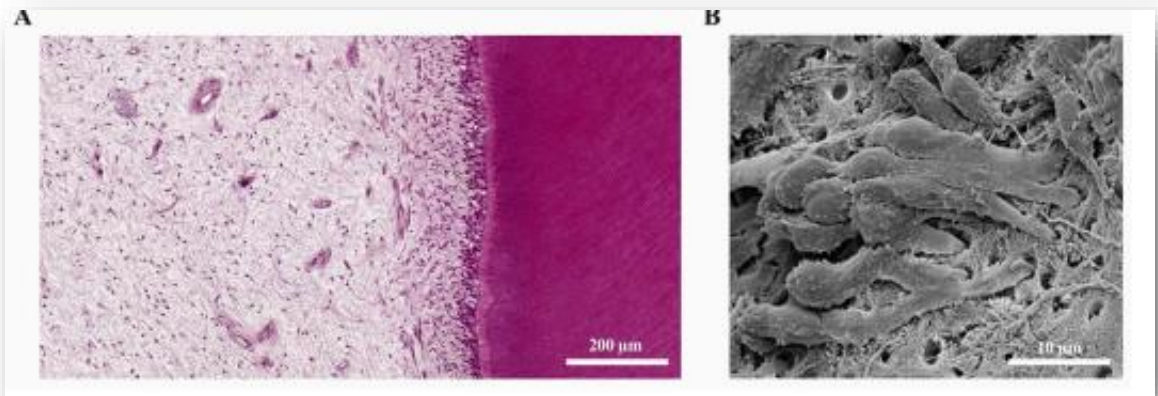
La pulpa es un tejido altamente vascularizado e innervado, que se encuentra rodeado por dentina el cual es un tejido con capacidad de extenderse limitadamente, externamente rodeado por esmalte y cemento, esto le sirve de protección contra el ambiente bucal, en el cual se encuentran bacterias. La circulación sanguínea que se encuentra dentro de la pulpa tiene acceso a ella por un orificio pequeño en el periápice llamado foramen apical, por donde entran vasos sanguíneos y fibras nerviosas encargadas de la sensibilidad dental (Figura 1) (2)

El tejido pulpar tiene función nutritiva, formativa, inductora, sensitiva y de defensa, estas funciones se ven limitadas cuando la pulpa sufre un daño. La pulpa juega un papel importante en el proceso de defensa, ya que evita que las bacterias migren hacia el interior del diente, asimismo de tener en sus túbulos dentinarios un líquido dentinario que es importante contra la entrada de sustancias nocivas, además pueden estar presentes anticuerpos u otros agentes antimicrobianos dentro de este líquido dentinario (figura 2) (6).

La pulpa está equipada con los componentes celulares necesarios para el reconocimiento inicial y el posterior procesamiento de antígenos, de ahí su capacidad para provocar una reacción de defensa inmunológica cuando ésta se encuentra afectada o recibe algún estímulo. Los daños pueden ser de origen infeccioso, por traumatismo, químicos, biológicos o incluso un problema de masticación. La consecuencia de cualquier daño que repercuta en la pulpa es la producción de una inflamación pulpar, un proceso de mecanismo de defensa que si no es tratada de manera adecuada esto eventualmente progresará a necrosis o muerte pulpar. La inflamación puede extenderse al hueso alveolar circundante del diente y causar patología periapical (6)



**Figura 1. Anatomía Dental.** Se observan las diferentes estructuras que componen al diente que son: esmalte, dentina, pulpa, ligamento periodontal, cemento, hueso alveolar y pulpa dental (2)



**Figura 2. Micrografía de la pulpa dental.** A) Tejido pulpar a nivel microscópico B) Tejido pulpar a nivel ultraestructura (6)

### **1.1.2 Enfermedades pulpares y periapicales**

Las enfermedades pulpares son de origen infeccioso, químico o traumáticos principalmente, causando un proceso inflamatorio teniendo con ello un mecanismo de defensa en donde se lleva una serie de procesos químicos y biológicos para la reparación, no solo la respuesta inicial sino también la fase reparadora se caracteriza por la migración de diversas células inmunológicas (2)

Cuando la afectación de la pulpa es de origen infeccioso y ésta no es tratada conlleva a una periodontitis apical donde la pérdida del tejido pulpar explica la pérdida de la función inmunológica, lo que conlleva a que los microorganismos puedan acceder al hueso alveolar a través del sistema de conductos radiculares teniendo como consecuencia la periodontitis apical (Figura3) (7)



**Figura 3. Periodontitis apical asintomática.** Se observa caries comunicándose con pulpa dental, zona radiolúcida en periapical. *Fotografía del autor.*



**Figura 4. Absceso apical crónico.** Se observa caries extensa que llega al nervio dental, zona radiolúcida en zona de furca y asociada a raíz mesial. *Fotografía del autor.*

Durante el tratamiento de endodoncia, las estrategias antibacterianas tienen como objetivo la eliminación o al menos la reducción de los microorganismos dentro del sistema de conductos radiculares para permitir la curación. El proceso comienza con la inflamación y se resuelve mediante eliminación del inmunógeno/patógeno que induce la respuesta tisular. De este modo se puede restablecer la integridad y función del hueso perirradicular (8).

Las infecciones producidas por microorganismos anaerobios y bacterias gramnegativas son una de las causas más importantes que pueden afectar a la pulpa (9)

Es por ello que para establecer un plan de tratamiento se han propuesto distintas clasificaciones de las enfermedades pulpares y periapicales, según su etiología, sus manifestaciones clínicas, pero como lo dice Lasala (1992), la mayoría eran clasificaciones histopatológicas, que no son prácticas para la aplicación clínica y el establecimiento de un tratamiento (8).

Por consiguiente se ha establecido una clasificación basada en hallazgos clínicos y sintomatológicos por parte de la clasificación de la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) en el 2018, en la cual se especifica que las enfermedades pulpares y periapicales ( tabla 1) se subdividen en pulpa sana, pulpitis reversible, pulpitis irreversible sintomática, pulpitis irreversible asintomática, necrosis pulpar, tejidos periapicales sanos, periodontitis apical sintomática, periodontitis apical asintomática, absceso apical agudo, absceso apical crónico y osteítis condensante, ésta clasificación es la más usada por los endodoncistas y se establece de acuerdo la sintomatología clínica y evaluación radiográfica.



**Tabla 1. Clasificación de las enfermedades pulpares y periapicales según la AAE (2018).**

<b>PULPAR</b>	<b>CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS</b>	<b>CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS</b>
PULPA NORMAL	Clínicamente está libre de síntomas y responde positivamente dentro de parámetros normales a las pruebas de sensibilidad.	Sin alteración periapical.
PULPITIS REVERSIBLE	<p>Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos en donde la pulpa vital inflamada retornará a la normalidad.</p> <p>No existen antecedentes de dolor espontáneo.</p> <p>Dolor transitorio de leve a moderado provocado por estímulos: frío, calor, dulce.</p> <p>Pruebas de sensibilidad positivas, térmicas y eléctricas.</p>	No presenta cambios.

	<p>Obturaciones fracturadas o desadaptadas o caries.</p>	
<p>PULPITIS IRREVERSIBLE SINTOMÁTICA</p>	<p>Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos indicando que la pulpa vital inflamada es incapaz de repararse.</p> <p>Dolor a los cambios térmicos.</p> <p>Dolor referido, espontáneo de moderado a severo.</p> <p>Dolor que disminuye con el frío y aumenta con el calor.</p> <p>Pruebas de sensibilidad positivas térmicas y eléctricas.</p> <p>El dolor permanece después de retirado el estímulo.</p> <p>Dolor a la percusión</p> <p>Puede presentar caries.</p>	<p>Posible engrosamiento del espacio del ligamento periodontal.</p> <p>Zona radiolúcida localizada compatible con caries.</p> <p>Imagen radiopaca compatible con restauraciones profundas.</p>

<p>PULPITIS IRREVERSIBLE ASINTOMÁTICA</p>	<p>Diagnóstico clínico basado en hallazgos subjetivos y objetivos indicando que la pulpa vital inflamada es incapaz de repararse.</p> <p>No hay síntomas clínicos la inflamación es producida por caries, trauma.</p> <p>Exposición pulpar por caries, fractura coronal complicada sin tratamiento.</p> <p>Pruebas de sensibilidad (+) con respuesta normal prolongada, en ocasiones retardadas.</p>	<p>Sin alteración periapical. Posible engrosamiento del espacio del ligamento periodontal.</p> <p>Zona radio lúcida en la corona compatible asociada a caries, restauraciones profundas o trauma.</p>
<p>NECROSIS PULPAR</p>	<p>Diagnóstico clínico que indica muerte pulpar.</p> <p>Usualmente no responde a las pruebas de sensibilidad (-) puede dar falsos (+) en dientes multiradiculares donde no hay necrosis total de todos los conductos, por fibras nerviosas</p>	<p>Ligero ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal.</p> <p>Radio lucidez de la corona compatible con caries.</p> <p>Radioopacidad compatible con</p>

	<p>remanentes en apical y estimulación de fibras del periodonto a la prueba eléctrica.</p> <p>Cambio de color coronal que puede ser de matíz pardo, verdoso o gris.</p> <p>Presenta pérdida de la translucidez y la opacidad se extiende a la corona.</p> <p>Puede presentar movilidad y dolor a la percusión.</p> <p>Puede encontrarse el conducto abierto a la cavidad oral.</p>	<p>restauraciones profundas.</p>
PREVIAMENTE TRATADO	<p>Diagnóstico clínico indicando que el diente ha sido endodónticamente tratado.</p>	<p>No existen cambios en los tejidos de soporte circundante.</p> <p>Conducto radicular obturado en calidad y longitud con diferentes materiales.</p>
PREVIAMENTE INICIADO	<p>Diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido previamente iniciado con una</p>	<p>No existen cambios en los tejidos de soporte.</p>

	pulpectomía o pulpotomía.	
PERIAPICAL		
TEJIDOS PAICALES SANOS	Periodonto periradicular sano. Negativo a la palpación y percusión.	Espacio del ligamento periodontal uniforme. Lámina dura intacta.
PERIODONTITIS APICAL SINTOMÁTICA	Dolor espontáneo o severo. Dolor localizado persistente y continuo. Dolor tan severo que puede interrumpir actividades cotidianas. Dolor a la percusión y palpación. Sensación de presión en la zona apical del diente.	Se puede o no observar cambios en los tejidos de soporte circundantes. Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal. Puede o no estar asociado a radiolucidez apical.
PERIODONTITIS APICAL ASINTOMÁTICA	Generalmente asintomática o asociada a molestias leves. Tejidos circundantes dentro de parámetros normales. Respuesta positiva a percusión.	Zona radiolúcida apical de origen pulpar.

	<p>Sensibilidad a la palpación, sí existe compromiso de la tabla ósea vestibular.</p> <p>Pruebas de sensibilidad y eléctricas negativas.</p>	
<p>ABSCESO APICAL AGUDO</p>	<p>Proceso infeccioso por una necrosis pulpar.</p> <p>Hora de comienzo rápido.</p> <p>Dolor espontáneo, dolor a la presión, percusión y palpación.</p> <p>Exudado purulento.</p> <p>Inflamación intra o extraoral.</p> <p>Dolor localizado y persistente.</p> <p>Dolor constante y/o pulsátil.</p> <p>Dolor a la presión (sensación del diente extruido).</p> <p>Dolor localizado o difuso de tejidos blandos intraorales.</p> <p>Movilidad aumentada.</p>	<p>Puede o no revelar cambios en el tejido circundante periapical.</p> <p>Puede observarse ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal o una zona de reabsorción ósea apical, asociada a una periodontitis apical asintomática.</p>

	<p>Dolor a la percusión.</p> <p>Malestar general.</p>	
<p>ABSCESO APICAL CRÓNICO</p>	<p>Proceso infeccioso por una necrosis pulpar caracterizada por un comienzo gradual.</p> <p>Ligera sensibilidad.</p> <p>Presencia de fístula.</p> <p>Asintomático.</p> <p>Pruebas de sensibilidad negativa.</p>	<p>Zona radiolúcida apical.</p> <p>Se debe realizar una fistulografía con cono de gutapercha.</p>
<p>OSTEÍTIS CONDENSANTE</p>	<p>Proceso inflamatorio crónico de baja intensidad.</p> <p>Puede o no responder a pruebas de sensibilidad.</p> <p>Puede o no ser sensible a palpación y/o percusión.</p>	<p>Presencia de una zona radiopaca apical difusa concéntrica o alrededor del tercio apical radicular.</p> <p>Se observa presencia del espacio del ligamento periodontal.</p>

### 1.1.3 Tratamiento de conductos

La endodoncia comprende en la etiología, prevención, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones patológicas de la pulpa y la región periapical, es por ello que una vez que la pulpa sufre daño y ésta es incapaz de recuperarse es necesario realizar un tratamiento de conductos, el cual consiste en una serie de pasos para la preparación biomecánica y química del tejido pulpar, con la utilización de elementos específicos que logren este objetivo, los cuales consta de distintos pasos como la realización del acceso coronal, la preparación biomecánica del conducto o de los conductos, desinfección en caso de existir microorganismos y por último un sellado lo más hermético posible con la obturación (10)

Una vez que la pulpa ha sufrido un daño irreversible es necesario realizar un tratamiento de conductos, en el cual se extirpa el tejido orgánico e inorgánico del conducto radicular por medio de la instrumentación biomecánica con una correcta desinfección, después se sella para evitar posibles reinfecciones; éste es un procedimiento que busca la preservación del órgano dental en cavidad oral. El éxito de este procedimiento se basa principalmente en cuatro factores: la obturación de conductos sin vacíos, una longitud adecuada de instrumentación y obturación, ausencia de lesión periapical pretratamiento y la restauración coronal perfectamente sellada (2).

El paso final del tratamiento de conductos es el sellado coronal y apical de los conductos radiculares, éste corresponde a la obturación, que se lleva a cabo con el objetivo de evitar que bacterias ingresen a la zona periapical. En este contexto, le proporciona una oportunidad de reparación tisular a partir del reposo y desinfección dado a los tejidos periapicales, logrando con ello favorecer a la osteogénesis (formación de osteocemento), reintegración en la lámina ósea dura y una reestructuración del ligamento periodontal (11)



#### 1.1.4 Acceso coronal

El paso inicial después de una correcta técnica de anestesia según el órgano a trabajar y el aislamiento absoluto, es realizar un acceso hacia la cámara pulpar, este tiene como objetivo eliminar toda la caries si es que existe, conservar la mayor estructura sana, el retiro de la cámara pulpar, la eliminación del tejido pulpar coronal y lograr el acceso hacia el o los conductos radiculares con la utilización de una fresa de carburo en donde el tamaño de ésta se seleccionará de acuerdo con el órgano dental. Una vez que se llegue a cámara pulpar se realiza un remodelado para el acceso a los conductos de manera directa, con el objetivo de tener mejor visualización y localización de estos (2)

Una cavidad de acceso correctamente preparada da un camino recto al sistema de conductos, esto reduce el riesgo de fractura de instrumentos. La anatomía interna de cada órgano dental dicta la forma del acceso, la visualización de esta requiere de evaluación de radiografías además del conocimiento de la anatomía interna como externa de dichos órganos (2)

En los dientes anteriores, las cavidades de acceso se suelen preparar por la superficie lingual, mientras que en los posteriores se realizan por la cara oclusal, siempre previo al acceso a los conductos radiculares se tiene que eliminar el tejido carioso, así también como restauraciones, todo este proceso se debe hacer con los instrumentos necesarios según el caso lo requiera, pieza de alta, fresas de carburo o de diamante, explorador endodóntico, cucharilla endodóntica, puntas de ultrasonido de diferentes formas, además de la utilización de magnificación para tener una mejor visualización a la zona de los conductos, esta puede ser de lupas o de microscopio, todas estas herramientas nos facilitarán la preparación de un correcto acceso y la localización de conductos (Figura 5) (2)



**Figura 5. Acceso coronal de un primer premolar superior derecho.** Acceso realizado en cara oclusal, encontrando dos conductos uno en vestibular y otro palatino, se observa istmo que conecta ambos conductos. *Fotografía del autor.*

### **1.1.5 Preparación biomecánica**

Una vez que se tenga acceso hacia los conductos radiculares se procede a la preparación biomecánica del conducto radicular que consiste en obtener inicialmente, un acceso directo y franco a las proximidades de la unión cemento-dentina. Esta preparación se realiza por medio de su limpieza químico-mecánica, para darle una conformación cónica en sentido ápice/corona, con el propósito de hacer que su obturación sea más fácil y hermética, además de la mejor desinfección posible. Donde los principios básicos de la preparación biomecánica son la eliminación de los tejidos blandos y duros afectados, proporcionar el acceso a las soluciones de irrigación y desinfección hasta la zona periapical, crear un espacio para la colocación de medicamentos y subsiguiente la obturación, por último, conservar la integridad de las estructuras radiculares (2)

Schilder ha reportado que los conductos deben prepararse con una conicidad uniforme y continua, sin embargo, este objetivo facilita la obturación más que la eficacia antimicrobiana. Para la desinfección óptima, la forma de la preparación y la eficacia antimicrobiana están íntimamente relacionadas con la eliminación de la pulpa y dentina infectada, con la ayuda de la creación de un espacio en donde pueda llegar el irrigante lo mejor posible (12)

### **1.1.6 Obturación**

En el tratamiento de conducto todas las fases deben enfrentarse con igual atención e importancia, por ser consideradas actos operatorios interdependientes. La obturación del conducto radicular consiste en el sellado hermético del sistema de conducto con un material que tenga las mejores propiedades y las más adecuadas, este material es el cemento endodóntico y el núcleo central que es la gutapercha, lo que se busca con estos materiales es que tengan el mejor sellado, evitar el intercambio de fluidos tisulares del periápice hacia el interior del espacio endodóntico y mantener el conducto libre de microorganismos (2)

Con respecto a la obturación de conductos actualmente existe una amplia variedad de técnicas de obturación, la mayoría basadas en el concepto de un núcleo central que le da soporte como los conos de gutapercha y un material de adhesión entre la dentina y el núcleo central tal como el cemento sellador, la gutapercha es uno de los núcleos centrales más utilizados y posicionado como uno de los mejores por sus principales ventajas que van desde su plasticidad, fácil manipulación, mínima toxicidad, radiopacidad hasta su fácil eliminación con calor o solventes del conducto radicular (2).

Por otro lado encontramos a los cementos selladores, los cuales ayudan a lubricar durante el proceso de obturación, sellan los espacios entre las paredes dentinarias y el núcleo central o material obturador, llenan los huecos e irregularidades del conducto radicular, rellenan conductos accesorios difíciles de acceder y unen el espacio entre puntas de gutapercha utilizadas en la compactación lateral, permitiendo cumplir con el propósito de obtener un sellado impermeable a fluidos y bacterias (2)

El campo de acción de los selladores endodónticos se encuentra contenido dentro del espacio del conducto radicular, pero al ser materiales viscosos y de consistencia semilíquida, fácilmente sufren el riesgo de extruirse a través del foramen apical y los eluyentes entrar en contacto con tejidos perirradiculares ocasionando retraso en la cicatrización de heridas, irritación, inflamación, y en algunos casos daños celulares afectando también a actividades metabólicas óseas normales sobre osteoblastos y osteoclastos perturbando la regeneración y remodelación ósea natural (3)

El material de obturación de uso endodóntico además de las propiedades físico químicas necesarias para el sellado hermético del conducto, debe tener compatibilidad biológica en las regiones apicales y periapicales, por lo tanto, debe ser inerte, o ser capaz de inducir la mineralización apical, o induciendo el sellado biológico del foramen radicular, respuesta considerada ideal en el tratamiento endodóntico (2)

En un estudio radiológico sobre el éxito y el fracaso, Ingle cols. indicaron que en un 59% de los fracasos se debían a una obturación incompleta. Una preparación inadecuada del sistema de conductos puede dificultar la desinfección y por consiguiente la obturación(2,11)

Los requisitos para un material ideal de obturación dentro de un contexto biológico son; buena tolerancia tisular, ser reabsorbido en el periápice en casos de sobreobturaciones accidentales, estimular o permitir la aposición de tejido fibroso de reparación, estimular o permitir la aposición de tejido fibroso de reparación en el foramen, tener acción antimicrobiana, no desencadenar respuesta inmunológica en los tejidos apicales y periapicales y no ser mutagénico o cancerígeno (11)

Dentro de las propiedades físico químicas son; facilidad de introducción en el conducto radicular, ser plástico en el momento de la introducción y fraguar posteriormente, propiciar buen tiempo de trabajo, permitir un sellado del conducto radicular lo más hermético posible, no debe experimentar contracciones, no debe ser permeable, debe tener buena fluidez, tener buena viscosidad y adherencia, no solubilizarse en el interior del conducto radicular, tener pH próximo a neutro, ser radiopaco, no manchar las estructuras dentales, ser susceptible de esterilización y ser fácil de remover (10)



**Figura 6. Tratamiento endodóntico deficiente.** Se observa falta de longitud de trabajo, instrumento separado en raíz mesial, deficiencia en la obturación, raíz distal con poste de metal. *Fotografía del autor.*

### 1.1.6.1 Clasificación de los cementos de obturación

Al pasar de los años se han usado diversos cementos selladores, estos han sido formulados con diversos materiales químicos, así como partículas diferentes además de tener propiedades variables, se han innovado en la creación de estos cementos, buscando el ideal. Dentro de la clasificación de los cementos selladores según su composición son; cementos a base de óxido de zinc y eugenol (ZOE), cementos a base de resinas plásticas, cementos a base de hidróxido de calcio, cementos a base de ionómeros de vidrio, cementos a base de silicona y actualmente los cementos más recientes son los biocerámicos (2)

Los cementos selladores a base de ZOE se han usado durante mucho tiempo, contienen polvo de óxido de zinc y líquido de eugenol, estos experimentan reabsorción si pasan a los tejidos perirradiculares, tiene tiempo de fraguado largo, se contraen al fraguar, se pueden disolver y pueden teñir la estructura dental. Además, estos tienen como ventaja su efectividad antimicrobiana, más sin embargo a pesar de esta beneficiosa ventaja han sido sustituidos por selladores de otros materiales (13)

Además de los selladores a base de ZOE se emplearon cementos a base de hidróxido de calcio, estos selladores en sus inicios fueron diseñados para ofrecer actividad terapéutica, posteriormente se utilizaron como cementos selladores, estos tienen una desventaja ya que la solubilidad es necesaria para la liberación de hidróxido de calcio y para mantener su actividad, y esta propiedad está en desacuerdo con el objetivo de un cemento sellador además este cemento tiene como desventaja que no fragua de manera correcta (2)

Por otro lado, los selladores de ionómeros de vidrio se han aconsejado para la obturación debido a sus propiedades de adhesión a la dentina, sin embargo, en diversos estudios se ha demostrado que estos tienen poca actividad antimicrobiana por lo que en la actualidad no son usados (2)

Otro tipo de cementos usados en la actualidad son los cementos selladores de resina, de los cuales existen dos categorías principales; basados en resinas

epoxídicas y con base de resinas de metacrilato. Evidencia previa ha demostrado que los selladores y cementos a base de resina o que contienen resina a menudo son citotóxicos para diversas subpoblaciones celulares (14)

Los selladores de conductos radiculares a base de resina epoxi, combinados con gutapercha, han sido los materiales más utilizados en tratamientos de endodoncia. Los selladores a base de resina epoxi poseen excelentes propiedades físicas, como una reacción de fraguado lento, baja solubilidad, alto caudal, baja contracción de polimerización volumétrica y adaptación a las paredes de la dentina de los conductos (15)

#### **1.1.6.2 Cemento endodóntico de tipo biocerámico**

Los cementos biocerámicos son materiales cerámicos diseñados específicamente para uso médico y dental. Están compuestos por alúmina, circonio, vidrio bioactivo, vitrocerámica, hidroxiapatita y fosfato de calcio. Estos se clasifican en materiales bioactivos o en bioinertes en función de su interacción con el tejido vivo circundante, los materiales bioactivos, como el vidrio y el fosfato de calcio interactúan con el tejido circundante para fomentar el crecimiento de tejidos duros. Los materiales bioinertes, como la circonia y la alúmina, producen una respuesta insignificante del tejido circundante y no tienen ningún efecto biológico. Estos materiales bioactivos se clasifican además según su estabilidad en degradables o no degradables (16)

Actualmente han aumentado los estudios de cementos selladores biocerámico, por las propiedades que lo distinguen de ser más biocompatible en comparación con los cementos selladores de otra composición. Estos cementos selladores fueron inducidos por Torabinejad y White en la década de 1990, estos polvos cerámicos son las mismas fases cerámicas presentes en el cemento de Portland, pero los cementos selladores endodónticos son polvos más finos y puros e incluyen excipientes radiopacos (13)



Los biocerámicos exhiben propiedades de biocompatibilidad debido a su similitud con la hidroxiapatita, con capacidad de inducir una respuesta regenerativa en el cuerpo humano. Cuando se coloca en contacto con el hueso, el mineral hidroxiapatita tiene un efecto osteoconductor, lo que lleva a la formación de hueso (4)

Existen dos ventajas principales asociadas con el uso de materiales biocerámicos como selladores de conductos radiculares. En primer lugar, su biocompatibilidad evita rechazo de los tejidos circundantes. En segundo lugar, los materiales biocerámicos contienen fosfato de calcio que mejora las propiedades de fraguado de los biocerámicos y da como resultado una composición química y una estructura cristalina similar a los materiales de apatita para dientes y huesos, mejorando así la unión del sellador a la dentina radicular. Sin embargo, una desventaja importante de estos materiales es la dificultad para retirarlos del conducto radicular en un retratamiento (4).

Se desconoce el mecanismo exacto de unión del sellador biocerámico a la dentina radicular; sin embargo, se han sugerido los siguientes mecanismos para los selladores a base de silicato de calcio:

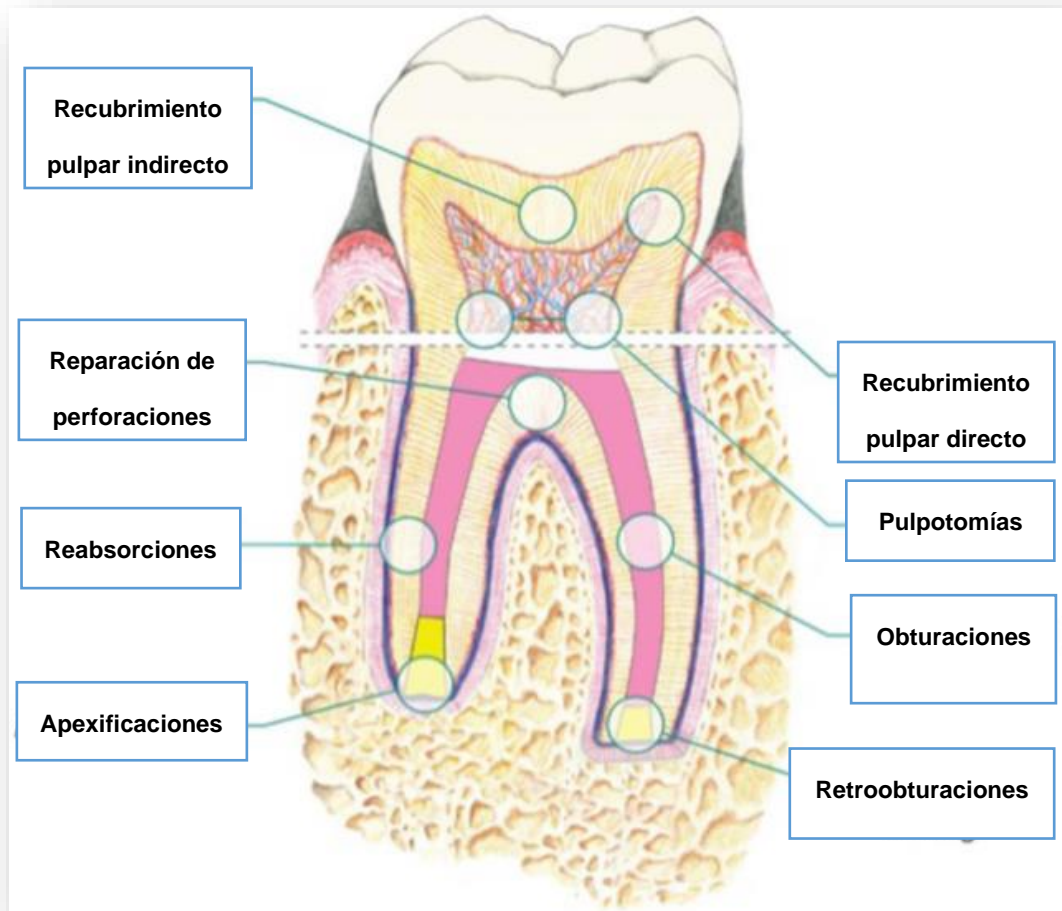
Difusión de las partículas del sellador en los túbulos dentinarios para producir uniones mecánicas.

La infiltración del contenido mineral del sellador en la dentina intertubular da como resultado el establecimiento de una zona de infiltración mineral producida después de desnaturalizar las fibras de colágeno como un sellador alcalino.

Reacción parcial del fosfato con hidrogel de silicato de calcio e hidróxido de calcio, producida a través de la reacción de los silicatos de calcio en presencia de la humedad de la dentina, dando como resultado la formación de hidroxiapatita a lo largo de la zona de infiltración mineral. (4).

El uso clínico en endodoncia de los cementos selladores biocerámicos es específicamente para casos como; obturaciones, reabsorciones radiculares, perforaciones, apexificaciones y obturaciones retrógadas, también son utilizados

para recubrimientos pulpaes, fueron desarrollados nuevos materiales biocompatibles con el fin de mejorar el resultado clínico (figura 7) (17)



**Figura 7. Uso de los biocerámicos.** Diferentes aplicaciones en endodoncia de los cementos biocerámicos: recubrimiento pulpar indirecto, reparación de perforaciones, reabsorciones, apexificaciones, recubrimiento pulpar directo, pulpotomías, obturaciones y retroobturaciones (17)

#### **1.1.6.2.1 Agregado de trióxido mineral (MTA)®**

MTA® es una mezcla de silicato dicálcico, silicato tricálcico, aluminato tricálcico, sulfato de calcio, aluminoferrita tetracálcica y óxido de bismuto, el cual es empleado como un cemento bioactivo originalmente diseñado como reparación endodóntica y obturación radicular, es un material con propiedades físicas y fraguado favorables. Recientemente, el MTA® se ha convertido en un sustituto común del Ca (OH)<sub>2</sub>, y los resultados de estudios clínicos disponibles que comparan MTA® con Ca (OH)<sub>2</sub> indican su superioridad. El polvo de MTA® se compone de finas partículas hidrófilas que se endurecen al mezclarse con agua. Sus indicaciones son en recubrimiento pulpar directo, pulpotomía, obturación radicular, apexificaciones y reparación de perforaciones. Es considerado un cemento biocerámico, altamente compatible, el Ca<sup>2+</sup> liberado por el MTA®, mejora la viabilidad, proliferación y diferenciación osteoblástica y el OH<sup>-</sup> aumenta la alcalinidad del ambiente, lo que es desfavorable para el crecimiento bacteriano. Los cementos a base de silicato de calcio son biomateriales activos; es decir, tienen la capacidad de inducir una situación favorable en respuesta de los tejidos del huésped (18)

#### **1.1.6.2.2 Biodentine®**

El Biodentine® es un cemento de silicato de calcio de fraguado rápido fabricado específicamente como material dental y comercializado como sustituto de dentina, para recubrimiento pulpar y otras aplicaciones similares a las del MTA®. La cantidad de Ca<sup>2+</sup> liberada por el Biodentine® es mayor que la del MTA®, induce la diferenciación celular en células similares a odontoblastos, además de tejido mineralizado y la formación de dentina reparadora. Se puede utilizar para procedimientos vitales de recubrimiento pulpar y otras aplicaciones en endodoncia que involucran dentina, reparación de cemento y regeneración pulpar, en situaciones como reabsorciones radiculares. Está compuesto por silicato tricálcico, silicato dicálcico, carbonato cálcico, óxido de calcio, óxido de zirconio como radiopacador (18)

### **1.1.7 Inflamación**

La biocompatibilidad y bioactividad son propiedades importantes para los selladores endodónticos porque mantienen contacto con los tejidos y pueden influir en la reparación. Ambas propiedades están directamente relacionadas con la composición del material. Está bien informado que los selladores de silicato de calcio promueven una baja citotoxicidad e inducen una reacción inflamatoria moderada (19)

Algunos cementos se ha reportado que ocasionan inflamación, la cual se define como una compleja respuesta protectora, indispensable en la defensa de un organismo ante un estímulo biológico, químico o físico. En una inflamación aguda, participan leucocitos que migran desde la circulación hacia el sitio de la lesión atraídos por un gradiente de concentración química que incluye citocinas, proteínas y moléculas de la fase de respuesta temprana con el fin de eliminar el estímulo que está causando la reacción inflamatoria y posteriormente iniciar la reparación del tejido. Cuando la inflamación se vuelve persistente como resultado de la exposición prolongada del estímulo o una acción inapropiada de la respuesta, se vuelve crónica, y con ello se puede causar un daño tisular y fibrosis (20)

Los macrófagos juegan un papel fundamental en la resolución y regulación de la respuesta inflamatoria ya que liberan una gran variedad de citocinas y quimiocinas proinflamatorias después de ser estimulados (20)

### **1.1.8 Macrófagos**

Los monocitos permanecen en la medula ósea por menos de 24 h, luego estos pasan a la circulación y son distribuidos por todo el cuerpo. Una vez los monocitos se localizan en los tejidos se diferencian a macrófagos. Esta diferenciación (monocito a macrófago) involucra gran cantidad de cambios: la célula crece de 5 a 10 veces, sus organelos incrementan tanto su número como su complejidad, adquieren habilidad fagocítica, produce altas concentraciones de enzimas líticas y empieza a secretar gran variedad de factores solubles. Los macrófagos son

activados por gran variedad de estímulos en el curso de la respuesta inmunológica (21)

Los macrófagos son células del sistema inmunitario innato que desempeñan funciones como el reconocimiento de agentes extraños a través de sus receptores de patrones de superficie, multiplicación de células inmunitarias hasta el mayor número posible para poder eliminar el patógeno por medio de la producción de citocinas y quimiocinas pro inflamatorias que reclutan otras células inmunitarias al sitio en cuestión o pueden producir citoquinas antiinflamatorias una vez que se haya controlado la infección de patógenos por medio de la fagocitosis y la secreción de mediadores proinflamatorios y antimicrobianos (22)

Los macrófagos pueden migrar y circular entre casi todos los tejidos, buscando la presencia de patógenos y eliminando células muertas, también pueden detectar productos bacterianos y otros microorganismos utilizando un sistema de receptores que reconocen patrones como los receptores tipo Toll. Además, son células que provienen de precursores de la médula ósea y están situados en la mayoría de los tejidos del cuerpo, tiene un papel muy importante en la defensa del huésped (23).

Los macrófagos son células importantes inmunológicas innatas que están asociadas con dos tipos distintos: un subconjunto proinflamatorio M1 con funciones prototípicas de macrófagos, como la producción de citocinas inflamatorias y actividad bactericida, y un subconjunto antiinflamatorio M2 relacionado con procesos de cicatrización de heridas y reparación de tejidos. Se ha investigado que los macrófagos activados clásicamente (M1) producen Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 1 (IL-1) y Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), mientras que los macrófagos activados alternativamente (M2) producen IL-10 y Factor de Crecimiento Transformador Beta (TGF- $\beta$ ) y se cree que están asociados con la reparación de tejidos (1)

### **1.1.9 Citocinas proinflamatorias**

Las citocinas son mensajeros moleculares de naturaleza glicoproteica, que tienen el objetivo de coordinar la interacción entre las células involucradas en la inflamación regulando y amplificando las respuestas. Son principalmente secretadas durante la respuesta inmunológica de tipo innata por macrófagos, células dendríticas y células natural killer (NK) y en la inmunidad adaptativa por células presentadoras de antígeno (CPA) y linfocitos. Algunas citocinas involucradas en la respuesta inflamatoria son IL-6, IL-1, IL-2, TNF-  $\alpha$ , Interferón-  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), TGF- $\beta$ , entre otras (24)

#### **1.1.10 IL-4**

La IL-4 es producida y secretada principalmente por los linfocitos T activados y actúa preferentemente promoviendo la activación, proliferación y diferenciación de los linfocitos B. Interviene en forma decisiva en la inducción de las células Th2 que regulan la inmunidad humoral (25)

La IL-4, también llamada factor de crecimiento de los linfocitos B, es un mediador importante de la activación de las células B, dependiente de las células T. La IL-4 ejerce un efecto inhibitorio sobre la resorción ósea a través de efectos negativos sobre los osteoclastos, suprime la síntesis de citocinas proinflamatorias, incluidas la IL-1 y el TNF. IL-4 también estimula la expresión génica de la fosfatasa alcalina (ALP), el colágeno tipo I, la síntesis de osteopontina y osteocalcina, que son glicoproteínas no colágenas de la matriz ósea, en humanos, células similares a osteoblastos y, en consecuencia, causan mineralización (25)

#### **1.1.11 IL-6**

La IL-6 es producida por diversos tipos celulares: monocitos, macrófagos, linfocitos T y B, fibroblastos, células endoteliales, sinoviocitos, células de la glía, adipocitos y células epiteliales intestinales, entre otras. Los principales estímulos para su síntesis y liberación son las infecciones por ciertos microorganismos, particularmente virus y bacterias y la acción de otras citocinas, como la IL-1 TNF-

$\alpha$  y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Es una citocina pluripotencial ya que tiene acciones tanto proinflamatorias como antiinflamatorias. En la actualidad se le reconoce como el principal mediador de la respuesta de fase aguda. La IL-6 promueve la diferenciación y maduración de los linfocitos T y B, estimula la producción de inmunoglobulinas por parte de células B, inhibe la secreción de citocinas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$  y la IL-1. En este sentido, la IL-6 tiene acciones antiinflamatorias y junto con el aumento de la producción del cortisol, ayuda a controlar la respuesta inflamatoria (26)

La IL-6 se han encontrado en tejido pulpar inflamado y lesiones periapicales. Esta interleucina controla el reclutamiento de neutrófilos e induce la diferenciación de linfocitos B y T. IL-6 es una citocina proinflamatoria, producida principalmente por linfocitos, monocitos y macrófagos que desempeña un papel importante en la respuesta inmunológica y ha sido asociada con enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide, enfermedades periodontales y lesiones endodónticas. Los materiales a base de silicato de calcio generan una reacción inflamatoria en donde se ha observado la expresión de esta interleucina (26)

#### **1.1.12 IL-10**

Es producida por los linfocitos T de tipo Th2 y con capacidad de inhibir la síntesis de IFN y de IL-2 por parte de los linfocitos T. Es la principal citocina antiinflamatoria, actuación que ejerce a través de la inhibición de la síntesis de IL-1, IL-6 y TNF por parte de los macrófagos (27)

IL-10 es una citocina antiinflamatoria asociada con la síntesis de colágeno, la proliferación celular y la inhibición de la activación osteoclástica. La IL-10 es una de las citocinas inmunosupresoras más importantes, y su producción limitada podría ocurrir como consecuencia de una producción reducida de TNF- $\alpha$  (27)

#### **1.1.13 IL-12 p70**

La interleucina 12 (denominada IL-12p70 y comúnmente denominada IL-12) es una importante citocina inmunorreguladora producida principalmente por



células presentadoras de antígenos. La expresión de IL-12 durante la infección regula las respuestas innatas y determina el tipo de respuestas inmunes adaptativas. La IL-12 induce la producción de IFN- $\gamma$  activa la diferenciación de las células T CD4<sup>+</sup> (28). La IL12p70 es producida por células B, células fagocíticas y algunas células presentadoras de antígenos. Esta citocina promueve respuesta de linfocitos T citotóxicos y la hipersensibilidad de tipo retardado que son los principales mediadores del rechazo. La acción principal de IL-12p70 es mejorar la proliferación de células T activadas por IL-2 y aumentar la inducción de IFN (29)

#### **1.1.14 TNF**

Es un mediador clave para la regulación de la respuesta inmunológica en organismos sanos y condiciones de enfermedad. Modula el desarrollo del sistema inmunológico, vías de señalización, regula los procesos metabólicos y la proliferación celular (24). Puede iniciar la cascada de la inflamación y la inducción de producción de citocinas, activación y expresión de moléculas de adhesión (27). El TNF- $\alpha$  es una citocina proinflamatoria producida por macrófagos y monocitos durante la inflamación aguda, y es responsable de los diversos tipos de señalización dentro de las células, llevándola a necrosis o apoptosis (24)

TNF- $\alpha$  y la IL-1 pueden provocar la activación de células inmunológicas y estromales residentes y el reclutamiento de leucocitos, principalmente neutrófilos con la posterior activación de fagocitosis y secreción de péptidos antimicrobianos. TNF- $\alpha$  es una citocina proinflamatoria crítica que juega un papel fundamental en la patogénesis de los trastornos inmunológicos y el desarrollo de tumores y regula las reacciones inflamatorias sistémicas tanto agudas como crónicas. Se ha observado la expresión de TNF en diversos estudios con cementos endodónticos en los primeros tiempos, aunque su producción disminuye a niveles

insignificantes a mayor tiempo. Además, las citocinas proinflamatorias como la IL-1 y TNF han sido reportadas como inductoras de la resorción ósea (27)

#### **1.1.15 IFN- $\gamma$**

El IFN- $\gamma$  es producido principalmente por las células NK, los linfocitos T, los linfocitos T CD4+ y los CD8+, además de fuentes adicionales como los linfocitos B y las células presentadoras de antígenos como lo son: los macrófagos, los monocitos y las células dendríticas. Esta citocina da lugar a una serie de respuestas en las células macrófagos, las células T CD4+ y en las células cancerosas, que son inducidas por la cascada de señalizaciones activadas por el IFN- $\gamma$  (30)

IFN- $\gamma$  induce la diferenciación de células T CD4+ vírgenes en células Th2. IL-1 e IFN- $\gamma$  mejoran la expresión de moléculas de adhesión celular en células endoteliales vasculares in vitro. INF ejerce efecto inhibitorio sobre la resorción ósea a través de efectos negativos sobre los osteoclastos. Se ha observado que IFN derivado de células Th1 puede desempeñar un papel importante en el proceso patológico de inflamación local como la periodontitis apical (25)

#### **1.1.16 Proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1)**

La proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1/CCL2) es un miembro de la familia de quimiocinas CC y un potente factor quimiotáctico para los monocitos. MCP-1 es una quimiocina importante que desempeña un papel crucial en una serie de condiciones patológicas como enfermedades cardiovasculares, patologías cerebrales, trastornos óseos y articulares, infecciones respiratorias, cánceres y disfunción endotelial. El papel de esta quimiocina es fundamental en la inflamación, la MCP-1 se une a su receptor y activa así las vías de señalización que regulan la migración de células. Al fomentar el reclutamiento de leucocitos, MCP-1 participa en respuestas inmunitarias protectoras durante las infecciones (31)

Se ha demostrado que CCL2 recluta monocitos en focos de inflamación activa. Sin embargo, aún no está claro si los monocitos utilizan las mismas señales moleculares para migrar a los tejidos como parte del flujo de salida constitutivo o en estado estacionario de la sangre. En este sentido, se ha proporcionado evidencia que describe la participación de la prostaglandina E2 en la atracción de los monocitos al sitio de inflamación y su madurez en macrófagos. El MCP-1 secretado o inyectado en la piel llega a los ganglios linfáticos de drenaje donde puede presentarse en la superficie de las vénulas endoteliales altas (HEV) para el reclutamiento de linfocitos. Además, MCP-1 es principal quimioquina responsable del reclutamiento de monocitos (32)

## 1.2 ANTECEDENTES

Vosoughhosseini y cols. en 2008 realizaron un estudio para evaluar la inflamación provocada por MTA Blanco® (Tooth colored formula, Dentsply, Tulsa, OK, USA) y MTA gris (Dentsply, Tulsa Dental, Tulsa, OK, USA), empleando un modelo *in vivo* con ratas Wistar. Ellos descubrieron que en un periodo de 7 días los grados de inflamación fueron altos para ambos grupos, consistiendo en una infiltración densa de células inflamatorias, sin embargo, en un periodo de 15 días no hubo diferencias significativas entre los grupos experimentales y el grupo control (33)

Brackett y cols. realizaron un estudio *in vitro* en el 2010 comparando tres cementos selladores, el agregado de trióxido mineral blanco (WMTA, Dentsply, Tulsa, OK, USA), preparación de MTA® (Dentsply, Tulsa, OK, USA) y AH -Plus® (Dentsply Caulk, Milford, DE), los resultados mostraron que los tres selladores provocaron un aumento general en la secreción de citocinas del 20% o más frente a los controles (34)

En un estudio realizado en el 2017 se emplearon diferentes selladores endodónticos y se demostró que Sealapex®, Pulp Canal Sealer® presentaron actividad citotóxica moderada para todos los tiempos de extracción. En este estudio se eligieron fibroblastos gingivales humanos por la estrecha relación entre ellos y los cementos selladores endodónticos (35)

Abuarqoub y cols. en el 2022 elaboraron un estudio donde utilizaron la línea celular monocítica humana THP-1 y las células madre progenitora de la pulpa dental (DPSC) a las cuales les colocaron Biodentine® y obtuvieron como resultado que en el tratamiento de macrófagos activados con Biodentine®, IL-6 e IL-10 estaban reguladas positivamente. A nivel genético, encontraron que los macrófagos tratados con Biodentine® exhibieron una regulación negativa de las citocinas proinflamatorias como IL-8 e IL-1 y una regulación positiva de citocinas antiinflamatorias, IL-10 y TGF- $\beta$  (1)

También se ha evaluado de manera conjunta la citotoxicidad de cuatro cementos a base de silicato de calcio, Biodentine®, mezcla enriquecida con calcio (CEM), Tech Biosealer Endo® y ProRoot MTA® empleando monocitos, encontrando que la citotoxicidad celular disminuía significativamente al aumentar el tiempo de almacenamiento independientemente del tiempo de incubación, aunque a las 48 h se observó que Biodentine® y ProRoot MTA® tuvieron una biocompatibilidad similar (36)

En un estudio realizado por Luo cols. en el 2013, se investigó el efecto proliferativo, migratorio y de adhesión del Biodentine® en cultivos celulares de hDPSC de terceros molares retenidos, se usaron extractos de Biodentine® en diferentes concentraciones, 0.02mg/ml, 0.2mg/ml, 2mg/ml y 20 mg/ml, y se mostró una expresión MCP-1 mayor en la exposición de hDPSC a 0.2 mg/ml durante 24 h en comparación con las otras concentraciones (37)

Por todo lo anteriormente descrito, es necesario analizar algunos cementos selladores para conocer si son biocompatibles e inertes, de manera que causen la menor respuesta inflamatoria. Por lo que en el presente trabajo de investigación se evaluó la inflamación provocada por diferentes cementos selladores, a través de la cuantificación de diversas citocinas pro-inflamatorias.

### 1.3 JUSTIFICACIÓN

Todas las etapas que conlleva el tratamiento de conductos son importantes, la obturación es el paso final por lo que se debe de realizar con materiales de alta calidad y que sean biocompatibles con los tejidos tisulares. La utilización actual de cementos selladores de silicato tricálcico favorece este proceso, por sus características de bioactividad y nula citotoxicidad, es por ello que en caso de extrusión de cemento en periapical este tipo de materiales serían los ideales para no generar una respuesta inflamatoria y con ello disminuir el éxito o el fracaso del tratamiento.

Los resultados de esta investigación nos permitirán conocer cuál de los dos cementos selladores promueven la liberación de citocinas inflamatorias al estar en contacto con los monocitos, células importantes en el proceso inflamatorio. Los resultados nos permitirán seleccionar aquel cemento sellador que induzca una menor generación de respuesta tisular y de esta manera aumentar las posibilidades de éxito en el tratamiento de conductos y por ende disminuir el riesgo de fracaso.

## **1.4 HIPÓTESIS**

Los cementos selladores endodónticos provocan respuesta inflamatoria en un cultivo primario de monocitos.

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 Objetivo General**

Evaluar el efecto inflamatorio de Biodentine®, MTA Blanco® en un cultivo primario de monocitos.

#### **1.5.1.1 Objetivos Específicos**

1.-Determinar el nivel de expresión de IL-6, IL-10, IL-12 p70, TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$  y MCP-1 en cultivo primario de monocitos expuestos a los cementos selladores Biodentine®, y MTA Blanco®.

2.-Comparar el efecto inflamatorio generado por los cementos selladores Biodentine®, y MTA Blanco® en cultivo primario de monocitos.



## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1.1 Lugar de recolección de muestra**

El presente estudio fue llevado a cabo en los Laboratorios de Microbiología Molecular e Inmunología de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

### **2.1.2 Diseño experimental**

Se realizó un estudio experimental, *in vitro*, transversal, prospectivo y comparativo.

### **2.1.3 Población de estudio**

Se trabajó con un cultivo primario de monocitos humanos el cual fue aislado a partir de sangre periférica extraído por venopunción de un individuo aparentemente sano.

## **2.2 Diseño metodológico**

### **2.2.1 Criterios de Inclusión**

- Sin enfermedades crónico-degenerativas
- No enfermedades autoinmune
- Mayor de edad
- Peso mayor a 60 kg
- No usar drogas
- Firmar consentimiento informado

## **2.3 METODOLOGÍA**

### **2.3.1 Obtención de sangre periférica y aislamiento celular:**

Para obtener los monocitos que fueron estimulados por los diferentes cementos y controles se realizó la extracción de sangre periférica por venopunción, posteriormente se agitó ligeramente el tubo para evitar la coagulación, después se diluyó la sangre en volúmenes iguales con solución salina, posteriormente se agregará en un tubo con ficol en una relación 1:1. Posterior a eso se realizó centrifugación a 400 g durante 30 minutos. Se recuperó el anillo de células, para posteriormente realizar un lavado por centrifugación añadiendo 200 microlitros de solución de separación PBS 1X y EDTA). Se realizó conteo celular utilizando la cámara de Neubauer y el total de células que se obtuvieron, fueron colocadas en cultivo en una caja de 6 pocillos durante 24 h para permitir su adherencia incubando en condiciones atmósfera de CO<sub>2</sub> al 5% a 37 °C con humedad relativa, siendo estas últimas las consideradas como condiciones estándar.

### **2.3.2 Preparación de medios condicionados:**

Para poder realizar las interacciones de los diferentes cementos con los monocitos, se diluyeron 20 µg/µl de cada cemento en 1 ml de medio DMEM y se colocaron en agitación durante 24 h. Posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm durante 15 minutos, y se recuperó el sobrenadante con una jeringa hipodérmica de 2 ml y se filtró con un filtro de 0.22 µm.

### **2.3.3 Cultivo celular**

Los monocitos/macrófagos obtenidos de un cultivo celular primario se mantuvieron en medio DMEM suplementado (10% suero bovino fetal, 1% antibiótico-antimicótico) para su expansión en una atmósfera de CO<sub>2</sub> de 5% a 37°C. El aislamiento se realizó por adherencia.

#### **2.3.4 Estimulación**

Los cementos selladores utilizados fueron Biodentine® y MTA Blanco®. Para cada grupo, 20x10<sup>4</sup> células fueron incubadas en medio que contenían 20 mg/ml del cemento a evaluar durante 24 h. Se agregó a estos grupos, un control positivo (LPS) y un control negativo (DMEM).

#### **2.3.5 Citometría de flujo**

Después de la estimulación del cultivo primario por 24 h utilizando el medio condicionado se realizó la identificación y cuantificación de citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias de los sobrenadantes del cultivo mediante citometría de flujo (BD Acuri C6) para lo cual se utilizó el kit comercial BD™ cytometric bead array (CBA) human Th1/Th2 cytokine Kitz II, para la cuantificación de las citocinas mediante citometría de flujo. En cajas de 24 pozos se colocaron 200,000 células/pozo con medio de cultivo estándar permitiendo la adherencia y establecimiento celular durante 24 h. Posteriormente, se removió el medio de cultivo y se colocaron 1 ml de los medios condicionados o medio DMEM como control negativo y control positivo LPS de *Salmonella typhimurium* a una concentración de 100 ug/ml. Tras 24 h de exposición a los estímulos se evaluó la producción de citocinas mediante el método de matrices de perlas citométricas (CBAs).

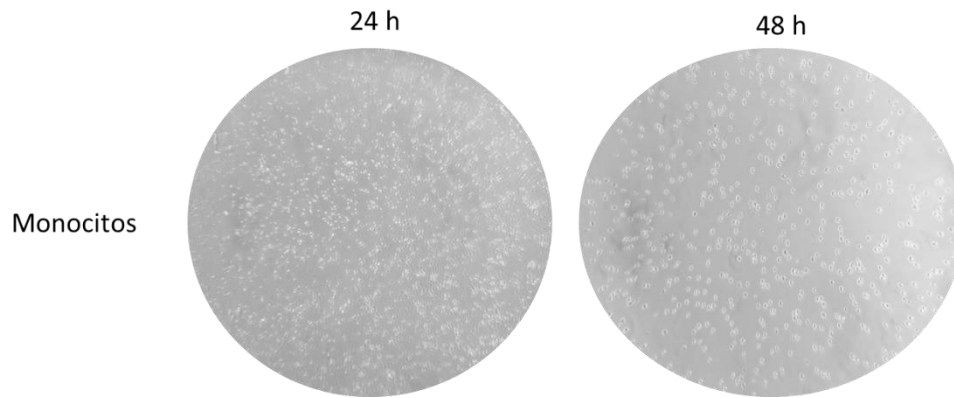
#### **2.4 Análisis estadístico**

Los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se representaron como promedios  $\pm$  SD. Se utilizó ANOVA para comparar las diferencias entre los promedios. Un valor de  $p < 0.05$  fue considerado como estadísticamente significativo.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1 Aislamiento de monocitos a partir de sangre periférica**

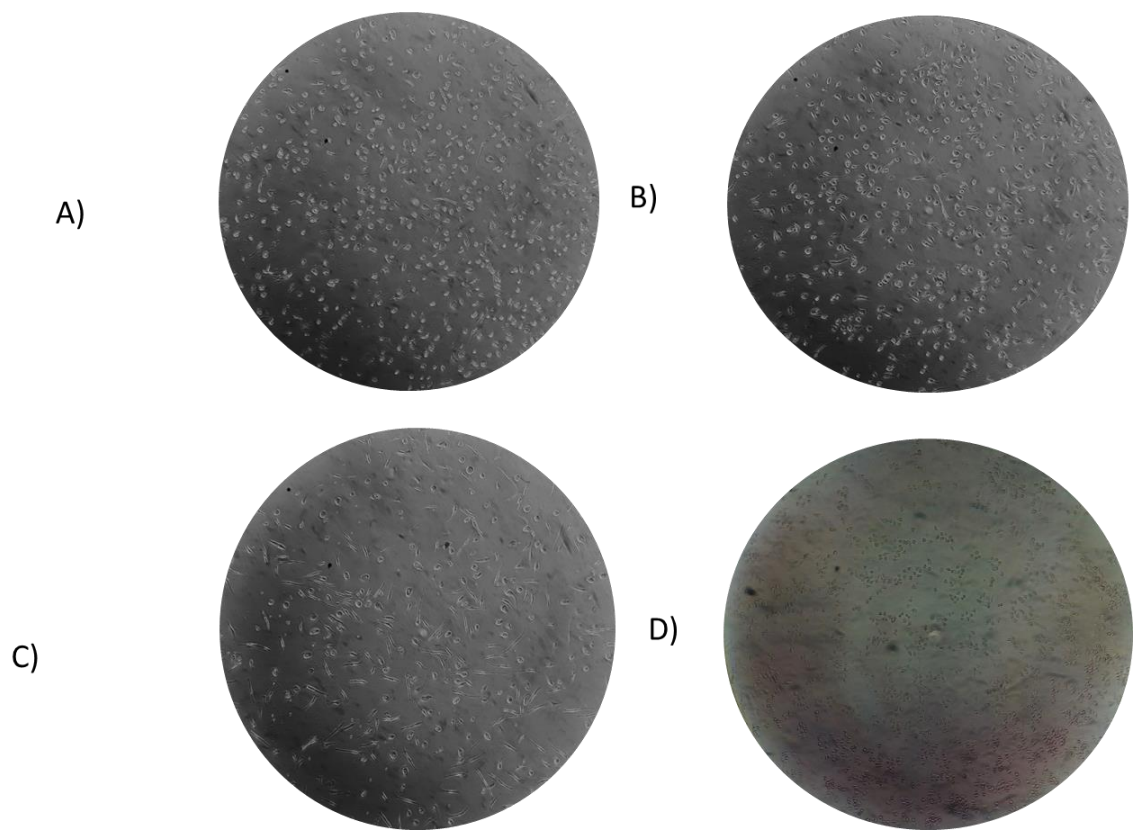
Se logró aislar monocitos a partir de sangre periférica, obteniendo una gran viabilidad celular caracterizada por una alta adherencia de células a la superficie del plástico, conservando la morfología esférica (Figura 8).



**Figura 8. Monocitos aislados de sangre periférica humana a las 24 y 48 h post-incubación.** A las 24 h post-incubación se muestran monocitos con morfología esférica pobremente adheridos a la superficie plástica y con gran contaminación de plaquetas. Después de 48 h las células muestran adherencia al sustrato y una apariencia típica de monocito, exhibiendo morfología redondeada e interacciones entre ellas mismas, formando colonias.

### **3.2 Ensayos con cementos endodónticos: Biodentine® y MTA Blanco®**

Una vez que se realizaron las interacciones se tomaron evidencias fotográficas a las 24 h de incubación (figura 9). Las células sin estímulo (solo medio DMEM), se mostraron adheridas al sustrato con apariencia semiestrellada, sin signos de alteración morfológica, estas características fueron empleadas para definir a la célula sin activación. En el cultivo de células con medio DMEM acondicionado con MTA Blanco® se observa morfología heterogénea, es decir algunas células con morfología fusiforme y otras redondeadas, lo cual es un signo de inicio de activación de la célula. Este mismo comportamiento también se visualizó con Biodentine® donde se observó una morfología epiteliode característica de un monocito activado por interacción de prolongaciones citoplasmáticas. En el contexto del control positivo, el LPS indujo la activación y posteriormente la apoptosis de los monocitos, observándose restos celulares. El Biodentine® es un material que ocasiona activación de los monocitos.

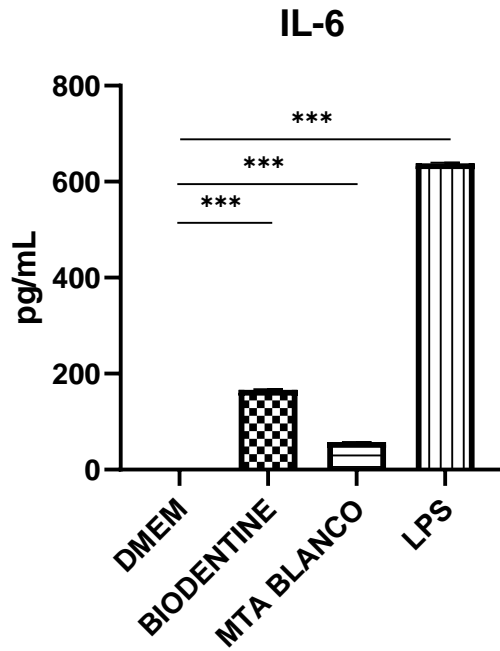


**Figura 9. Monocitos aislados de sangre periférica humana incubados con B) MTA®, C) Biodentine® y D) LPS como control positivo, durante 24 h.** En A) se observa el control negativo en DMEM, células con morfología normal de monocitos. En B) MTA®, algunas células cambiaron su morfología redondeada por morfología fusiforme, lo cual es un signo de inicio de activación. En C) Biodentine®, las células presentan una morfología epitelioides característica de un monocito activado por interacción de prolongaciones citoplasmáticas. Y en D) LPS como control positivo se indujo la apoptosis de las células.

### **3.3 El Biodentine® promueve la producción y secreción de IL-6**

Como parte de la cuantificación de IL-6 a partir de sobrenadante de cultivo correspondiente a la exposición con el cemento de Biodentine®, se encontró una alta liberación de esta citocina con valores de  $166.97 \pm 22.77$  pg/mL, la cual fue estadísticamente significativa ( $p=0.0001$ ) en comparación a los monocitos sin estímulo, además, en el grupo de MTA Blanco®, se tuvo una liberación de  $57.45 \pm 8.12$  pg/mL, dicha liberación también fue considerada significativa en comparación al control ( $p=0.0001$ ), al momento de comparar contra el control positivo de LPS, también se mostró un aumento significativo de la liberación de IL-6 ( $p=0.0001$ ). Con base a estos resultados tiene que la condición que indujo mayor liberación de esta citocina proinflamatoria fue el Biodentine®, pero de igual manera también el MTA Blanco® se considera un estímulo que favorece la inflamación (Figura 10).

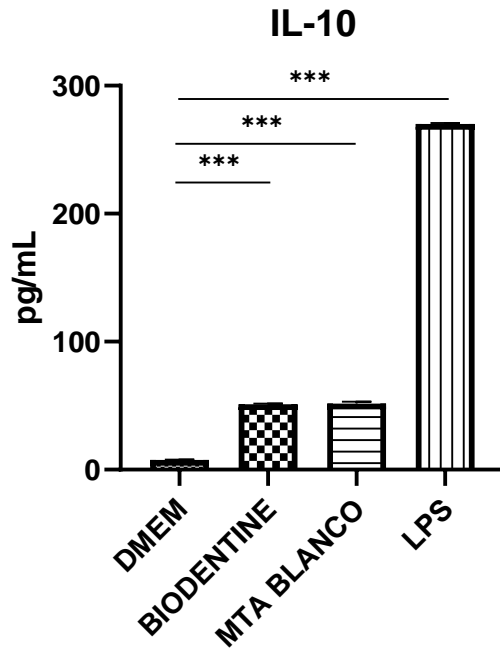




**Figura 10. Cuantificación de la liberación de la citocina IL-6 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. . Se puede observar que el Biodentine® induce mayor respuesta con respecto a MTA blanco®.**

### 3.4 Biodentine® y MTA Blanco® promueven la producción y secreción de IL-10

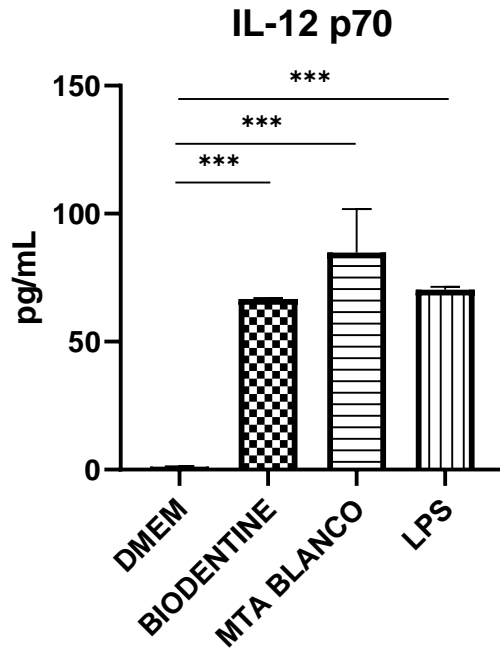
En el contexto de la cuantificación de IL-10 en sobrenadante, la interacción de macrófagos con Biodentine® mostró valor de concentración de  $50.71 \pm 10.43$  pg/mL, siendo este dato estadísticamente significativo ( $p=0.0001$ ) en comparación con el grupo control con DMEM, de igual forma en el grupo con el estímulo de MTA se obtuvo una expresión de esta interleucina de  $50.14 \pm 4.80$  pg/mL mostrando este dato significativo con el grupo sin estímulo ( $p=0.0001$ ). Además, se obtuvo en el grupo control positivo un aumento significativo estadísticamente ( $p=0.0001$ ) en la liberación de IL-10. Como resultado de esta medición se obtuvo que ambos cementos aumentan significativamente la citocina proinflamatoria IL-10 en las mismas proporciones (Figura 11).



**Figura 11. Cuantificación de la liberación de la citocina IL-10 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS.** Se observa que no hay diferencia de estimulación en ambos ensayos al no presentar diferencias en la concentración de esta citocina por parte de ambos cementos usado, pero sí de ambos con respecto al control DMEM.

### **3.5 MTA Blanco® promueve la producción y secreción de IL-12 p70**

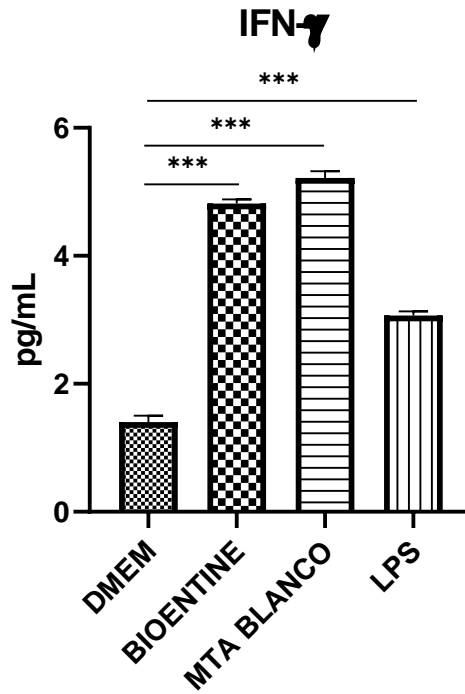
Los resultados obtenidos de la expresión de IL-12 p70 con el grupo experimental de Biodentine® mostraron una alta liberación al obtenerse un valor de  $67.12 \pm 9.39$  pg/mL, siendo este dato estadísticamente significativo ( $p=0.0001$ ), en comparación al grupo sin cemento, sin embargo, se obtuvo mayor expresión de IL-12 p70 en el grupo donde se usó cemento sellador MTA Blanco®  $94.87 \pm 20.11$  pg/mL considerándose este dato significativo estadísticamente ( $p=0.0001$ ), comparándolo con el grupo del DMEM. Además de observarse en el grupo de control positivo de LPS también una alta liberación de esta citocina. Se observa una mayor promoción de la liberación de IL-12 p70 en el grupo de MTA Blanco® (Figura 12).



**Figura 12.** Cuantificación de la liberación de la citocina IL-12 p70 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS. Se muestra mayor efecto de liberación de esta citocina por efecto de MTA Blanco®, con respecto a Biodentine®.

### **3.6 MTA Blanco® tiene mayor liberación de IFN- $\gamma$**

Los monocitos expuestos al grupo del biocerámico Biodentine® una liberación alta de INF- $\gamma$  en concentración de  $4.89 \pm 0.76$  pg/mL en comparación con el grupo DMEM, siendo estadísticamente significativo ( $p=0.0001$ ), además el grupo del cemento MTA Blanco® mostro la mayor expresión de IFN- $\gamma$  con datos de concentración de  $5.10 \pm 0.67$  pg/mL en comparación con todos los grupos incluido el DMEM y el control positivo de LPS, mostrando datos significativos estadísticamente ( $p=0.0001$ ). Estos resultados indican que el cemento sellador biocerámico de tipo MTA Blanco® promueve mayor liberación de IFN- $\gamma$  comparándose con todos los grupos, incluido el control positivo LPS (Figura 13).

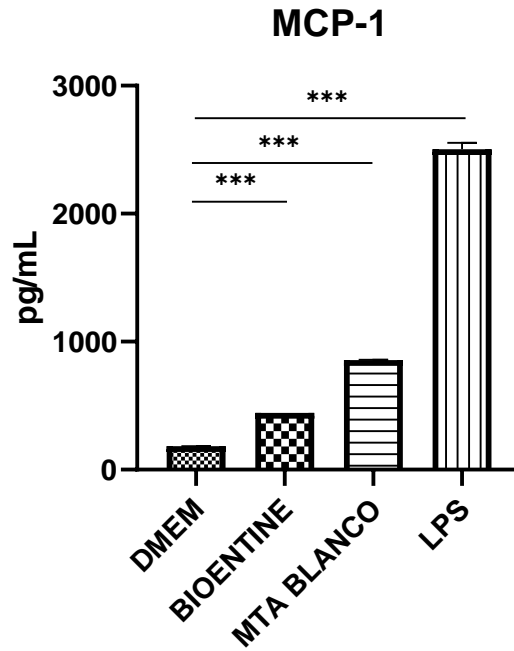


**Figura 13. Cuantificación de la liberación de la citocina IFN- $\gamma$  en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS.** Se observa una fuerte expresión de IFN- $\gamma$  promovida por MTA blanco®, en menor cantidad por parte de Biodentine® sin embargo ambos resultan tener mayor inducción de esta citocina con respecto al control positivo LPS.

### 3.7 MTA Blanco® mayor expresión de MCP-1

La expresión de MCP-1 en los monocitos expuestos a Biodentine® mostró un valor de  $442.85 \pm 59.83$  pg/mL que al ser comparado con el grupo sin estímulo (DMEM) este valor resultó significativo estadísticamente ( $p=0.0001$ ), también se observa una alta expresión de MCP-1 en el grupo con MTA Blanco®  $853.27 \pm 196.84$  pg/mL en comparación con el grupo DMEM, estos valores son estadísticamente significativos ( $p=0.0001$ ). Además, se mostró la mayor expresión de MCP-1 en el grupo control positivo (LPS) con valor de  $2464.14 \pm 208.72$  pg/mL siendo estadísticamente significativo ( $p=0.0001$ ). Por lo que observamos que el cemento MTA Blanco® muestra la mayor liberación de MCP-1, sin embargo, no iguala los niveles de liberación promovidos por el control positivo (Figura 14).

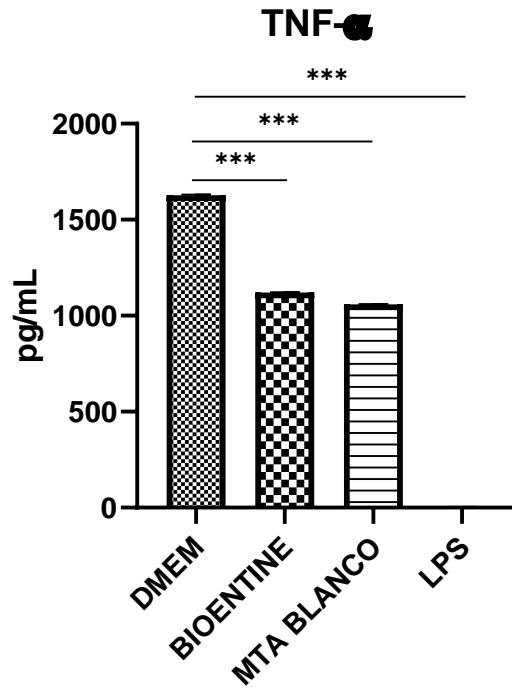




**Figura 14. Cuantificación de la liberación de la citocina MCP-1 en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS.** Se observa que la mayor expresión de MCP-1 está inducida por MTA blanco®, seguida por Biodentine®, sin embargo, no superan la alta expresión generada por el control positivo LPS.

### **3.8 Biodentine® muestra alta expresión de TNF- $\alpha$**

De acuerdo a los resultados obtenidos, Biodentine® induce una expresión alta de TNF- $\alpha$  con valor de  $1121.24 \pm 113.71$  pg/mL mostrando este dato significancia estadística ( $p=0.0001$ ) con el grupo sin estímulo (DMEM), también el grupo cemento MTA Blanco® mostró alta expresión de este factor  $1059.40 \pm 13.29$  pg/mL mostrando diferencia significativa con el grupo sin estímulo. Además, se observa nula expresión de TNF- $\alpha$  en el grupo control positivo LPS en comparación con todos los grupos. Por lo que el Biodentine® promueve una mayor liberación de TNF- $\alpha$  en comparación a todos los demás estímulos (Figura 15).



**Figura 15. Cuantificación de la liberación de la citocina TNF- $\alpha$  en condiciones estándar, en interacción con el Biodentine®, el MTA Blanco® y el control positivo de LPS.** Se observa que la mayor expresión de TNF- $\alpha$  está inducida por Biodentine®, seguida por MTA Blanco®, sin embargo, no superan la alta expresión generada por el control negativo DMEM.

#### 4. DISCUSIÓN

Los materiales introducidos en procedimientos, como terapias pulpares vitales, terapias de endodoncia regenerativa, reparaciones de perforaciones, así como en materiales de obturación, deben poseer como característica principal la biocompatibilidad (38). El MTA® el cual es una mezcla de silicato dicálcico, silicato tricálcico, aluminato tricálcico, sulfato de calcio, aluminoferrita tetracálcica y óxido de bismuto, el cual se utiliza habitualmente en dichos procedimientos, ya que se considera altamente biocompatible. Por otro lado, el Biodentine®, es un material a base de silicato de calcio que ha demostrado una gran biocompatibilidad en múltiples líneas celulares, mejores propiedades de manipulación y un tiempo de fraguado más corto en comparación con MTA® (38), por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto inflamatorio de estos dos cementos en contacto con células monocíticas.

El análisis morfológico de los monocitos resultante por las interacciones con el Biodentine ® y el MTA ® blanco no ha sido reportado con anterioridad, sin embargo, ya ha sido reportado en células madres de la pulpa dental humanas (DPSC), como lo realizó Agrafioti y cols. (2016), donde evaluó la viabilidad de las DPSC en contacto con Biodentine® en comparación con MTA®, ellos compararon como afectaba solubilizar ambos materiales en medio ácido y solución salina, resultando en que las DPSC que interaccionaron con ambos materiales solubilizados en ácido cítrico tomaron una morfología tipo fibroblastoide con el citoesqueleto alargado, mientras que los materiales solubilizados en solución salina, específicamente el Biodentine, inducía una morfología menos fibroblastoide (38). Los resultados de este estudio coinciden con los obtenidos en nuestro trabajo, en donde las células tras la exposición a los estímulos muestran una forma heterogénea la cual está relacionada con la activación de las células monocíticas, específicamente el Biodentine® induce prolongaciones citoplasmáticas en los monocitos, lo que indica que se encuentran activados (5)

Las células inflamatorias como los monocitos desempeñan funciones claves en la respuesta inflamatoria y la cicatrización en la zona periapical. Ha sido ampliamente reportado que estos tipos de células interactúan con los selladores endodónticos después del tratamiento de conductos (27). En este estudio, investigamos la expresión de citocinas para simular y predecir una posible reacción inflamatoria, con fin de obtener una comprensión más profunda de estas interacciones y funciones en la práctica clínica. Observamos que tanto Biodentine® como MTA Blanco® estimularon la producción de las citocinas, como la IL-10 en la cual ambos cementos selladores potenciaron de manera significativa su liberación, en comparación del grupo sin estímulo (DMEM). Este hallazgo coincide con otros estudios en los que se ve un aumento de la producción significativa de IL-10 en primeros tiempos, sin embargo, la presencia de esta es indetectable en un tiempo de 12 h post- interacción (19).

Otras de las interleucinas observadas en los procesos inmunológicos durante la inflamación son la IL-6 y el TNF- $\alpha$ , las cuales desempeñan un papel fundamental en los mecanismos de la enfermedad aguda y la evolución a una inflamación crónica. Perez y cols. (2021) realizaron un estudio con diferentes cementos endodónticos, como el MTA® en células del ligamento periodontal y células mononucleares de sangre periférica, donde fueron evaluadas a diferentes tiempos y se observó un aumento gradual de la producción de IL-6 y TNF- $\alpha$  en el cemento biocerámico MTA®; sin embargo, las concentraciones de IL-6 y TNF- $\alpha$  fueron indetectables a las 24 horas. Datos que se asemejan a los resultados obtenidos en nuestra investigación en donde se vio una alta producción de IL-6 y TNF- $\alpha$  resultado de la interacción con MTA Blanco® (27).

En nuestro estudio se observa una expresión positiva mayor de la IL-12 p70 en el grupo experimental de MTA Blanco® comparado con el del Biodentine®, ambos con diferencia significativa en el grupo sin estímulo (DMEM). El aumento de esta citocina coincide con estudios realizados con Biodentine® en cultivos de macrófagos activados, donde se observa una regulación positiva de IL-12 y una regulación negativa de esta citocina en el grupo no tratados (39).

La expresión de IFN- $\gamma$  no ha sido reportada en células monocíticas utilizando cementos selladores endodónticos, específicamente en Biodentine® y MTA Blanco®, sin embargo, si se ha observado en hDPSC en donde se mostró una regulación positiva de IFN- $\gamma$  en células tratadas con Biodentine®, así como se muestra en nuestra investigación la expresión de IFN- $\gamma$  con diferencia significativa en comparación el grupo sin estímulo (DMEM), no obstante se observa mayor expresión de IFN- $\gamma$  en el MTA Blanco® que en los dos mencionados anteriormente (18).

MCP-1 es una de las quimiocinas clave que regulan la migración y la infiltración de monocitos/macrófagos, que se encuentran en los procesos inflamatorios. En nuestro estudio, se obtuvo la mayor liberación de MCP-1 en el grupo de MTA Blanco®, comparado con los grupos de Biodentine® y DMEM, lo que difiere con estudios previos realizados en hDPSC en donde el Biodentine® mostró mayor aumento en la secreción de MCP-1 y además fue significativamente mayor que el grupo del MTA®. Esta diferencia pudo darse por el tipo celular usado, ya que en nuestro estudio utilizamos células monocíticas las cuales son las que directamente actúan en los procesos inflamatorios (40).

## 5. CONCLUSIONES

Biodentine® indujo mayor producción y secreción de IL-6 y TNF- $\alpha$  en comparación al MTA Blanco®.

Tanto Biodentine® como MTA blanco ® estimularon significativamente la producción y secreción de la citocina proinflamatoria IL-10.

Interesantemente el grupo del MTA Blanco® promovió una mayor producción y secreción de IL-12 p70, IFN- $\gamma$ , MCP-1, en comparación al Biodentine® y los demás grupos.

Morfológicamente Biodentine® mostró mayor cantidad de células activadas que el MTA Blanco®, sin embargo, en cuanto a producción de citocinas, fue el MTA Blanco® el que indujo mayor secreción de citocinas en los monocitos aislados a partir de sangre periférica humana, porque este cemento se considera que causa mayor inflamación en el modelo *in vitro*.

## 6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abuarqoub D, Aslam N, Zaza R, Jafar H, Zalloum S, Atoom R, et al. The Immunomodulatory and Regenerative Effect of Biodentine™ on Human THP-1 Cells and Dental Pulp Stem Cells: In Vitro Study. *Biomed Res Int.* 2022;2022.
2. Cohen\_Vías\_de\_la\_Pulpa+\_ExpertConsult.
3. Farges JC, Alliot-Licht B, Renard E, Ducret M, Gaudin A, Smith AJ, et al. Dental Pulp Defence and Repair Mechanisms in Dental Caries. Vol. 2015, *Mediators of Inflammation.* Hindawi Limited; 2015.
4. Koch et al. A review of bioceramic technology in endodontics. Disponible en: [www.dtstudyclub.com](http://www.dtstudyclub.com).
5. Saber SM, Gomaa SM, Elashiry MM, El-Banna A, Schäfer E. Comparative biological properties of resin-free and resin-based calcium silicate-based endodontic repair materials on human periodontal ligament stem cells. *Clin Oral Investig.* el 1 de noviembre de 2023;27(11):6757–68.
6. Yu C, Abbott P V. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. Vol. 52, S4 *Australian Dental Journal Endodontic Supplement.* 2007.
7. Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory response mechanisms of the dentine–pulp complex and the periapical tissues. Vol. 22, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG; 2021. p. 1–23.
8. López Marcos D. Etiología, clasificación y patogenia de la patología pulpar y periapical.



9. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* [Internet]. 1965;20(3):340–9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0030422065901660>
10. Endodoncia\_Técnica\_y\_fundamentos.
11. Ciencia\_endodóntica.
12. Schilder H. Cleaning and Shaping the Root Canal. *Dent Clin North Am* [Internet]. 1974;18(2):269–96. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0011853222006772>
13. Komabayashi T, Colmenar D, Cvach N, Bhat A, Primus C, Imai Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. Vol. 39, *Dental Materials Journal*. Japanese Society for Dental Materials and Devices; 2020. p. 703–20.
14. Savariz A, González-Rodríguez MP, Ferrer-Luque CM. Long-term sealing ability of GuttaFlow versus Ah Plus using different obturation techniques. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. noviembre de 2010;15(6).
15. Marques Ferreira M, Martinho JP, Duarte I, Mendonça D, Craveiro AC, Botelho MF, et al. Evaluation of the Sealing Ability and Bond Strength of Two Endodontic Root Canal Sealers: An In Vitro Study. *Dent J (Basel)*. el 1 de noviembre de 2022;10(11).
16. Al-Haddad A, Aziz ZACA. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. Vol. 2016, *International Journal of Biomaterials*. Hindawi Limited; 2016.

17. Jitaru S, Hodisan I, Timis L, Lucian A, Bud M. The use of bioceramics in endodontics - literature review. *Clujul Medical*. 2016;89(4):470–3.
18. Nam OH, Lee HS, Kim JH, Chae YK, Hong SJ, Kang SW, et al. Differential gene expression changes in human primary dental pulp cells treated with biodentine and theracal Ic compared to mta. *Biomedicines*. el 1 de noviembre de 2020;8(11):1–14.
19. Alves Silva EC, Tanomaru-Filho M, da Silva GF, Delfino MM, Cerri PS, Guerreiro-Tanomaru JM. Biocompatibility and Bioactive Potential of New Calcium Silicate–based Endodontic Sealers: Bio-C Sealer and Sealer Plus BC. *J Endod*. el 1 de octubre de 2020;46(10):1470–7.
20. Germolec DR, Shipkowski KA, Frawley RP, Evans E. Markers of inflammation. En: *Methods in Molecular Biology*. Humana Press Inc.; 2018. p. 57–79.
21. Echeverri D, Fontanilla M, Buitrago L. *CARDIOLOGÍA DEL ADULTO-REVISIÓN DE TEMAS El macrófago en enfermedad vascular ¿El enemigo oculto? Vol. 11*.
22. Caputa G, Flachsmann LJ, Cameron AM. Macrophage metabolism: a wound-healing perspective. Vol. 97, *Immunology and Cell Biology*. John Wiley and Sons Inc.; 2019. p. 268–78.
23. Hernández et al. Desarrollo de un test in vitro para la evaluación de la maduración de monocitos a macrófagos como posible predictor de una respuesta pro inflamatoria en implantes mamarios. 2022.
24. Varfolomeev E, Vucic D. Intracellular regulation of TNF activity in health and disease. *Cytokine*. el 1 de enero de 2018;101:26–32.

25. Kabashima H, Nagata K, Maeda K, Iijima T. Presence of IFN- $\gamma$  and IL-4 in human periapical granulation tissues and regeneration tissues. *Cytokine*. el 7 de junio de 2001;14(5):289–93.
26. da Fonseca TS, da Silva GF, Tanomaru-Filho M, Sasso-Cerri E, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. In vivo evaluation of the inflammatory response and IL-6 immunoexpression promoted by Biodentine and MTA Angelus. *Int Endod J*. el 1 de febrero de 2016;49(2):145–53.
27. Pérez-Serrano RM, Soza-Bolaños AI, Castillo-Valdés SN, Hernández-Valdez G, Mora-Izaguirre O, González-Dávalos ML, et al. Endodontic set sealer eluates promote cytokine production in human mononuclear and periodontal ligament cells. *Australian Endodontic Journal*. el 1 de diciembre de 2021;47(3):415–22.
28. Hamza T, Barnett JB, Li B. Interleukin 12 a Key Immunoregulatory Cytokine in Infection Applications. *Int J Mol Sci [Internet]*. 2010;11(3):789–806. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/11/3/789>
29. Verma ND, Boyd R, Robinson C, Plain KM, Tran GT, Hall BM. Interleukin-12p70 Prolongs Allograft Survival by Induction of Interferon Gamma and Nitric Oxide Production. *Transplantation [Internet]*. 2006;82(10). Disponible en: [https://journals.lww.com/transplantjournal/fulltext/2006/11270/interleukin\\_12p70\\_prolongs\\_allograft\\_survival\\_by.14.aspx](https://journals.lww.com/transplantjournal/fulltext/2006/11270/interleukin_12p70_prolongs_allograft_survival_by.14.aspx)
30. Zamora-Salas SX, Robles-Villarruel ML, Macías-Silva M, Álvarez-Sánchez ME, Tecalco-Cruz AC. Interferón-gamma: vías de señalización y sus implicaciones

en el cáncer. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas. el 28 de febrero de 2023;26.

31. Singh S, Anshita D, Ravichandiran V. MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. Vol. 101, International Immunopharmacology. Elsevier B.V.; 2021.
32. Deshmane SL, Kremlev S, Amini S, Sawaya BE. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): An overview. Vol. 29, Journal of Interferon and Cytokine Research. 2009. p. 313–25.
33. Vosoughhosseini S, Lotfi M, Shahi S, Baloo H, Mesgariabbasi M, Saghiri MA, et al. Influence of White versus Gray Mineral Trioxide Aggregate on Inflammatory Cells. J Endod. junio de 2008;34(6):715–7.
34. Brackett MG, Lewis JB, Messer RLW, Lei L, Lockwood PE, Wataha JC. Dysregulation of monocytic cytokine secretion by endodontic sealers. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. abril de 2011;97 B(1):49–57.
35. Poggio C, Riva P, Chiesa M, Colombo M, Pietrocola G. Comparative cytotoxicity evaluation of eight root canal sealers. J Clin Exp Dent. el 1 de abril de 2017;9(4):e574–8.
36. Khedmat S, Dehghan S, Hadjati J, Masoumi F, Nekoofar MH, Dummer PMH. In vitro cytotoxicity of four calcium silicate-based endodontic cements on human monocytes, a colorimetric MTT assay . Restor Dent Endod. 2014;39(3):149.

37. Luo Z, Li D, Kohli MR, Yu Q, Kim S, He WX. Effect of Biodentine™ on the proliferation, migration and adhesion of human dental pulp stem cells. *J Dent.* 2014;42(4):490–7.
38. Agrafioti A, Taraslia V, Chrepa V, Lymperi S, Panopoulos P, Anastasiadou E, et al. Interaction of dental pulp stem cells with biodentine and MTA after exposure to different environments. *Journal of Applied Oral Science.* el 1 de septiembre de 2016;24(5):481–6.
39. Abuarqoub D, Aslam N, Zaza R, Jafar H, Zalloum S, Atoom R, et al. The Immunomodulatory and Regenerative Effect of Biodentine™ on Human THP-1 Cells and Dental Pulp Stem Cells: In Vitro Study. *Biomed Res Int.* 2022;2022.
40. Omidi S, Bagheri M, Fazli M, Ahmadiankia N. The effect of different pulp-capping materials on proliferation, migration and cytokine secretion of human dental pulp stem cells. *Iran J Basic Med Sci.* el 1 de junio de 2020;23(6):768–75.

