Universidad Autónoma De Sinaloa

Facultad de Odontología

Especialidad en Endodoncia

EVALUACIÓN DE BIOCOMPATIBILIDAD *IN VITRO* DE LOS CEMENTOS SELLADORES CERASEAL y DIA ROOT BIO SEALER

No. De registro 2026-1

Tesis que presenta

C.D. Grecia Jazmín Rodríguez González

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN ENDODONCIA

Directores:

Dr. Jorge López Gutiérrez

Dr. Israel Torres Avendaño

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

Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

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, bajo la dirección de Dra. Gloria Yolanda Castro Salazar.

Beca Conahcyt: 4013185

DEDICATORIA

A mis padres, Raquel González Zavala y Abelardo Rodríguez Quintanilla, cuyo amor incondicional y apoyo constante han sido la base sobre la cual he construido cada paso de mi vida. Gracias por darme la oportunidad de seguir mis sueños, por enseñarme el valor del esfuerzo, la honestidad y la perseverancia. Todo lo que soy y lo que he logrado es gracias a ustedes y para ustedes.

A mi hermana, compañera de vida, tu presencia ha sido un refugio en los días difíciles y una motivación en los momentos de duda. A toda mi familia que siempre me apoyó de todas las formas posibles, gracias por creer en mi capacidad incluso cuando yo dudaba.

A mis maestros, quienes más allá de compartir conocimiento, sembraron en mí pasión por la endodoncia y el compromiso con la excelencia clínica y científica. Al Dr. Alfredo del Rosario Ayala Ham, gracias por guiarme con disciplina, exigencia y humanidad. A la Dra. Mariana Melisa Avendaño Félix, por su apoyo y paciencia, sus enseñanzas trascienden esta tesis y permanecerán en mi práctica profesional y personal.

A mis amigos y pareja, quienes se han convertido en una familia. Su compañía, palabras de aliento y paciencia en las horas más intensas de esta travesía hicieron que este camino fuera más ligero y disfrutable. Gracias por estar, por escuchar y por celebrar cada pequeño logro conmigo.

Y finalmente, a mí misma. A la persona que se levantó cuando estaba cansada, que creyó cuando dudaba y que siguió, incluso cuando el miedo parecía más grande que la meta. Gracias por no rendirte. Gracias por tener fe. Gracias por llegar hasta aquí.

AGRADECIMEINTOS

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, por ser mi casa de estudios y brindarme las herramientas académicas necesarias para mi formación profesional.

Al Posgrado de Endodoncia de la Facultad de Odontología, por su exigencia, excelencia académica y constante compromiso con la investigación científica. Agradezco profundamente al cuerpo académico que lo conforma, por su dedicación y por compartir no solo conocimientos, sino también pasión por la especialidad.

A la Dra. Gloria Yolanda Castro Salazar, por su liderazgo y por impulsar el crecimiento académico del posgrado. A mis directores de tesis, el Dr. Jorge Armando López Gutiérrez y el Dr. Israel Torres Avendaño, por su acompañamiento, asesoría constante y confianza depositada en este proyecto.

A mis asesores académicos, el Dr. Rosalío Ramos Payán, la Dra. Mariana Melisa Avendaño Félix y el Dr. Alfredo del Rosario Ayala Ham, por su orientación y por enriquecer esta investigación con su experiencia.

Extiendo también mi gratitud al Laboratorio de Microbiología Molecular e Inmunología, por facilitar los recursos y el espacio necesarios para el desarrollo experimental de este estudio.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS 9
ÍNDICE DE TABLAS 10
ABREVIATURAS 11
RESUMEN 12
ABSTRACT 13
1. INTRODUCCIÓN 14
2. MARCO TEÓRICO 15
2.1 Estructuras del órgano dental 15
2.2 Tejido pulpar 15
2.3 Enfermedades pulpares y perirradiculares 16
2.4 Tratamiento de conductos radiculares 20
2.5 Preparación biomecánica 21
2.6 Obturación 21
2.7 Cementos endodónticos 22
2.8 Biocerámicos 25
2.8.1 Propiedades de los biocerámicos 25
2.8.2 Ceraseal 26
2.8.3 Dia Root Bio Sealer 28
2.9 Biocompatibilidad 30
2.10 Inflamación 30
2.11 Inflamación por biomateriales 32
2.12 PBMCs 32
2.13 Macrófagos 34
2.14 Citocinas 34
2.14.1 IL-2 35
2.14.2 IL-4 36
2.14.3 IL-6 36
2.14.4 IL-10 37
2.14.5 Factor de necrosis tumoral α 38
2.14.6 Interferón γ 38
2.14.7 Balance de citocinas 39

2.14.8 Citocinas biomarcadores de biocompatibilidad 40
2.14.9 Análisis de expresión de citocinas 40
2.15 Estudios *in vitro*..... 41
2.16 Líneas celulares..... 42
3. ANTECEDENTES..... 43
4. JUSTIFICACIÓN 45
5. HIPÓTESIS.....46
6. OBJETIVOS.....47
6.1 General:..... 47
6.2 Específicos:..... 47
7. MATERIALES Y MÉTODOS 48
7.1 Lugar de recolección de la muestra..... 48
7.2 Diseño experimental:..... 48
7.3 Diseño metodológico..... 48
7.3.1 Criterios de inclusión 48
7.3.2 Criterios de exclusión 48
7.4 METODOLOGÍA 49
7.4.1 Obtención de sangre periféricas 49
7.4.2 Preparación de medios de cultivo..... 49
7.4.3 Cultivo celular:..... 49
7.4.4 Estimulación 50
7.4.5 Expresión de interleucinas mediante citometría de flujo..... 50
7.4.6 Adquisición y análisis de muestras..... 50
7.4.7 Análisis estadístico..... 51
7.4.8 Procesamiento y análisis de datos 52
8. RESULTADOS 53
8.1 Aislamiento y cultivo celular 53
8.2 Análisis estadístico 59
8.3 Comparaciones post hoc..... 59
8.3.1 TNF-α..... 61
8.3.2 IL-10..... 64
8.3.4 IL-6..... 67

8.3.5 Citocinas sin cambios significativos 70
8.3.5.1 INF-γ 70
8.3.5.2 IL-2 70
8.3.5.3 IL-4 70
9. DISCUSIÓN 71
10. CONCLUSIÓN 74
11. PERSPECTIVAS FUTURAS 75
12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 76

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. CeraSeal. Referencia tomada de (123).....27
Figura 2. Dia Root BIO Sealer. Referencia tomada de (124).....29
Figura 3. Células mononucleares a 24 horas.....56
Figura 4. Células mononucleares a 72 horas.....57
Figura 5. Células teñidas con azul de tripano.....58
Figura 6. Comparación de los niveles medios de TNF-α. DR, CS, LPS y grupo blanco.....63
Figura 7. Niveles de expresión de IL-10.....66
Figura 8. Niveles de expresión de IL-6 entre grupos experimentales.....69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de enfermedades pulpares y periapicales 17
Tabla 2. Propiedades ideales de los cementos endodónticos 24
Tabla 3.Análisis de varianza de un factor (ANOVA). 60
Tabla 4. Prueba post hoc de Bonferroni para TNF-α: Comparaciones entre grupos. 62
Tabla 5. Prueba post hoc de Bonferroni para IL-10. 65
Tabla 6. Prueba post hoc de Bonferroni para IL-6. 68

ABREVIATURAS

Asociación Americana de Endodoncia (AAE)

Células mononucleares de sangre periférica (PBMCs)

Cytometric Bead Array (CBA)

Factor de Crecimiento Transformador Beta (TGF-β) Factor

de Necrosis Tumoral Alfa (TNF-α)

Interferón Gamma (IFN-γ) Interleucina

1 (IL-1)

Interleucina 2 (IL-2)

Interleucina 4 (IL-4)

Interleucina 6 (IL-6)

Interleucina 8 (IL-8)

Interleucina 10 (IL-10)

Macrófagos Activados Alternativamente (M2)

Macrófagos Activados Clásicamente (M1)

Matrices de perlas citométricas (CBAs)

Natural Killer (NK)

RESUMEN

Introducción: Los cementos endodónticos desempeñan un papel esencial en el éxito a largo plazo del tratamiento de conductos radiculares. Los materiales biocerámicos, como CeraSeal y DiaRoot Bio Sealer, han surgido como alternativas a los selladores convencionales, destacando por su potencial biocompatibilidad. Sin embargo, aún se requiere evidencia experimental que respalde su comportamiento inmunológico frente a células humanas. Por lo anterior el presente estudio tuvo como objetivo evaluar *in vitro* la biocompatibilidad de los cementos selladores CeraSeal y DiaRoot Bio Sealer mediante la expresión de citocinas pro y antiinflamatorias en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de humano. **Metodología:** Se cultivaron PBMCs humanos primarios y se expusieron durante 24 horas a extractos de los selladores CeraSeal y DiaRoot Bio Sealer. Se incluyeron controles negativos y positivos (lipopolisacárido de *Escherichia coli*). La cuantificación de IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-α e IFN-γ se realizó mediante citometría de flujo (CBA). Los resultados se analizaron con ANOVA y prueba post hoc de Bonferroni ($p < 0.05$). **Resultados:** Los PBMCs expuestas a CeraSeal y DiaRoot Bio Sealer mostraron una baja inducción de citocinas inflamatorias, con valores de IL-6, IL-10 y TNF-α similares al control, lo que indica una respuesta celular moderada y biocompatible. En contraste, el grupo con LPS presentó una marcada elevación de citocinas proinflamatorias. **Conclusión:** Ambos selladores exhibieron una adecuada biocompatibilidad y un perfil inmunomodulador equilibrado, favoreciendo una respuesta inflamatoria controlada compatible con la reparación tisular periapical.

Palabras clave: Biocompatibilidad, Cementos biocerámicos, Citocinas, Inflamación, PBMCs, Endodoncia.

ABSTRACT

Introduction: Endodontic sealers play an essential role in the long-term success of root canal treatment. Bioceramic materials such as CeraSeal and DiaRoot Bio Sealer have emerged as alternatives to conventional sealers, standing out for their potential biocompatibility. However, further experimental evidence is required to support their immunological behavior against human cells. Therefore, the aim of the present study was to evaluate *in vitro* the biocompatibility of the endodontic sealers CeraSeal and DiaRoot Bio Sealer by analyzing the expression of pro- and anti-inflammatory cytokines in. **Methodology:** Primary human PBMCs were cultured and exposed for 24 hours to extracts of the sealers CeraSeal and DiaRoot Bio Sealer. Negative and positive controls (lipopolysaccharide from *Escherichia coli*) were included. The quantification of IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-α, and IFN-γ was performed using flow cytometry (CBA). The results were analyzed using ANOVA and the Bonferroni post hoc test ($p < 0.05$). **Results:** PBMCs exposed to CeraSeal and DiaRoot Bio Sealer showed a low induction of inflammatory cytokines, with IL-6, IL-10, and TNF-α values similar to the control group, indicating a moderate and biocompatible cellular response. In contrast, the group treated with LPS showed a marked increase in proinflammatory cytokine levels. **Conclusion:** Both sealers exhibited adequate biocompatibility and a balanced immunomodulatory profile, promoting a controlled inflammatory response compatible with periapical tissue repair.

Keywords: Biocompatibility, Bioceramic sealers, Cytokines, Inflammation, Monocytes, Endodontics.

1. INTRODUCCIÓN

La endodoncia tiene como finalidad preservar el órgano dental mediante la eliminación del tejido pulpar afectado, la desinfección del sistema de conductos radiculares y su obturación tridimensional (1). El éxito clínico a largo plazo del tratamiento endodóntico se relaciona con la calidad del sellado del conducto, puesto que una obturación deficiente puede permitir la infiltración de microorganismos, favoreciendo la persistencia de procesos inflamatorios periapicales (2). Los cementos endodónticos desempeñan un papel fundamental al complementar la gutapercha, rellenando irregularidades internas y evitando la microfiltración, lo que favorece la reparación de los tejidos periapicales (3).

Estos materiales liberan iones calcio y producen un medio alcalino durante su hidratación promoviendo un aumento del pH, lo que favorece la actividad antimicrobiana y la integración con los tejidos periapicales (4). A pesar de sus ventajas clínicas, es necesario evaluar de la respuesta biológica que inducen, considerando que estos cementos pueden estar en contacto directo con los tejidos periapicales y células presentes en este entorno (5).

En estudios *in vitro*, los PBMCs humanos representan un modelo relevante para evaluar la respuesta inflamatoria inicial, ya que son precursores de macrófagos tisulares y participan en la fase inicial de la inflamación mediante la liberación de citocinas reguladoras (6), como son TNF-α, IL-2, IL-6,IL-10, IFN-γ , entre otras que sirven como indicadores de la activación inmunológica frente a un biomaterial, permitiendo valorar su biocompatibilidad y posible influencia en la reparación o persistencia de la inflamación (7).

CeraSeal y DiaRoot Bio Sealer son cementos biocerámicos ampliamente utilizados en la práctica clínica, sin embargo, existe escasez de estudios comparativos *in vitro* que analicen su impacto sobre la viabilidad celular y la liberación de citocinas por PBMCs. Evaluar estos parámetros es fundamental para orientar la selección clínica y contribuir en la planeación de tratamientos de conductos más predecibles y biocompatibles.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Estructuras del órgano dental

Los seres humanos adultos cuentan con 32 órganos dentales, distribuidos equitativamente entre el maxilar y la mandíbula (8). Cada diente se encuentra anclado al hueso alveolar gracias a los tejidos periodontales (9), el ligamento periodontal, que se conecta tanto al cemento de la raíz como a la lámina dura, asegura el diente en su lugar (10). En el centro del órgano por debajo del esmalte y la dentina se encuentra el tejido pulpar (11), la cual contiene fibras nerviosas procedentes del ganglio trigémino y una red vascular que asegura su nutrición (9).

2.2 Tejido pulpar

El tejido pulpar es un tejido conectivo mesenquimatoso que se encuentra protegido por las estructuras externas del órgano dental, la pulpa dental presenta una extensa red neurovascular y tejido conectivo (12). Entre las células dentales presentes en los seres humanos se encuentran células endoteliales, gliales, perivasculares, inmunitarias, odontoblastos, del ligamento periodontal y células madre de la pulpa (13).

La homeostasis del tejido pulpar se preserva gracias a los tejidos duros que rodean a la pulpa (14), estos se encuentran constantemente bajo todo tipo de estímulos físicos, químicos y bacterianos, por lo que es de suma importancia mantener su integridad (13), para ello, el tejido pulpar dispone de un amplio repertorio de células inmunocompetentes, capaces de sintetizar y liberar mediadores inflamatorios que participan en la defensa y respuesta frente a las agresiones externas (15).

La entrada descontrola de microorganismos infecciosos pueden provocar una enfermedad pulpar o incluso la necrosis del tejido, que a su vez propicie una serie de enfermedades perirradiculares (13).

2.3 Enfermedades pulpares y perirradiculares

Los órganos dentales pueden verse afectados por caries dental, traumatismos, fisuras, fracturas, procedimientos iatrogénicos o restauraciones mal ajustadas. En estos casos, los microorganismos fácilmente ingresan al tejido pulpar, desencadenando una enfermedad pulpar y periapical (16).

En el 2009 la Asociación Americana de Endodoncia (AAE) publico la clasificación hasta el día de hoy vigente, de diagnósticos clínico de las enfermedades pulpares y perirradiculares. La Tabla 1 resumen la clasificación de las enfermedades pulpares de la AAE.

Tabla 1. Clasificación de enfermedades pulpares y periapicales

Enfermedad Pulpar	Características Clínicas
Pulpa normal	Ausencia de signos y síntomas clínicos de enfermedad, sensibilidad adecuada a los parámetros normales.
Pulpitis irreversible	El tejido pulpar se encuentra vital e inflamado, pero con la capacidad de volver a la normalidad. No presenta de dolor espontáneo. El dolor es transitorio, leve y moderado y debe ser provocado por: frio, calor, dulce. Las pruebas de sensibilidad son positivas, térmicas y eléctricas.
Pulpitis irreversible *Sintomática*	Tejido pulpar vital inflamado se vuelve incapaz de volver a su estado normal. Existe dolor a los cambios de temperatura, dolor referido, dolor espontaneo de moderado a severo, dolor que puede disminuir con frío y aumenta con calor. El dolor permanece después de retirar el estímulo. Dolor a la percusión. Puede presentar caries. Las pruebas de sensibilidad son positivas térmicas y eléctricas.
Pulpitis irreversible *Asintomática*	El tejido pulpar se encuentra vital e inflamado siendo incapaz de recuperar su estado normal de salud. No hay síntomas clínicos la inflamación. Existe exposición pulpar por caries, fractura coronal complicada sin tratamiento. Las pruebas de sensibilidad son positivas con respuesta anormal prolongada y en ocasiones retardadas.

Necrosis pulpar	Diagnóstico clínico que indica muerte pulpar. No responde a las pruebas sensibilidad, puede dar falsos positivos en dientes multirradiculares donde no hay necrosis total de todos los conductos, puede presentar cambio de color coronal, movilidad y dolor a la percusión. Puede encontrarse el conducto abierto a la cavidad oral.
Previamente Tratado	Diagnóstico clínico indicando que el diente ha sido endodónticamente tratado.
Previamente Iniciado	Diagnóstico clínico que indica que el diente ha sido previamente iniciado como una pulpectomía o pulpotomía.
Enfermedad perirradicular	
Tejidos periapicales sanos	Periodonto perirradicular sano. Negativo a palpación y percusión.
Periodontitis apical sintomática	Manifiesta dolor espontáneo o severo que puede ser localizado, persistente y continuo, puede ser tan severo que interrumpe las actividades cotidianas. Positivo a la percusión y palpación con sensación de presión en la zona apical del diente.
Periodontitis apical asintomática	Generalmente asintomática o asociada a molestia leve. Los tejidos circundantes están dentro de parámetros normales con respuesta positiva a percusión, sensibilidad a la palpación si existe compromiso de la tabla ósea vestibular. Pruebas de sensibilidad y eléctricas negativas.

Absceso apical agudo	Proceso infeccioso por una necrosis pulpar de comienzo rápido. Presencia de dolor espontaneo, a la presión, percusión y palpación. Existe exudado purulento, inflamación intra o extraoral, dolor localizado y persistente, dolor constante y/o pulsátil, dolor a la presión (sensación de diente extruido), dolor localizado o difuso de tejidos blandos intraorales, hay movilidad aumentada, dolor a la percusión y malestar general.

Tabla 1. Clasificación de enfermedades pulpares según la Asociación Americana de Endodoncia (AAE).

La pulpitis, se caracteriza por un dolor espontáneo que puede persistir por minutos, horas o días, que si no es tratada a tiempo puede llegar a evolucionar a una pulpitis irreversible, provocando que el tejido pulpar pierda su capacidad de auto reparación (17). Este tipo de lesiones, progresivamente causan la necrosis del tejido pulpar. Si no surgen síntomas, esta infección puede durar años antes de ser diagnosticada. Por lo tanto, cuando se establece el diagnóstico pulpar de necrosis e infección periapical, es posible que se haya desarrollado una biopelícula bacteriana en el espacio pulpar (18).

La pérdida de vitalidad del tejido pulpar propicia la ausencia del sistema inmunológico, lo que permite a los microorganismos alcanzar el hueso alveolar a través de los conductos radiculares (19). Gracias a esta infección del sistema de conductos radiculares surge la periodontitis apical, que es una enfermedad inflamatoria crónica que se distingue por la pérdida y desintegración del hueso alveolar en el área periapical (20). Las lesiones periapicales pueden manifestarse clínicamente como granulomas apicales o quistes radiculares, ambos de origen inflamatorio (19).

Para tratar estas enfermedades se debe detener la entrada de microorganismos y eliminar a los ya existentes dentro del conducto radicular, esto se logra realizando un tratamiento de contactos radiculares (21).

2.4 Tratamiento de conductos radiculares

El propósito del tratamiento de conductos es erradicar las bacterias y sus productos presentes en los conductos radiculares, para lograr la preservación del órgano dental (22). Para lograr el éxito de este tratamiento, es fundamental realizar un diagnóstico preciso y de ejecutar cada fase del procedimiento con alto nivel de calidad y precisión clínica, utilizando los materiales adecuadnos para cada caso y etapa (23).

Para llevarlo a cabo, se deben realizar dos etapas principales del tratamiento, que comprende de la preparación biomecánica del conducto radicular y su posterior obturación o sellado (24).

2.5 Preparación biomecánica

Durante el tratamiento de conductos, la limpieza mecánica con instrumentos endodónticos no logra alcanzar las complejas formas del sistema de conductos radiculares, en donde se encuentran biopelículas bacterianas difíciles de eliminar (22), además debemos tomar en cuenta que durante la instrumentación generamos una capa de residuos llamado barrillo dentinario, que dificulta la descontaminación de la superficie del conducto y obstaculiza la correcta aplicación del material de obturación (25).

Un protocolo de irrigación con sustancias bactericidas puede lograr alcanzar áreas que los instrumentos rotatorios no pueden, además de penetrar y eliminar las biopelículas y el barrillo dentinario, permitiendo así una mejor desinfección y facilitando la obturación de los conductos radiculares (26).

2.6 Obturación

La obturación del sistema de conductos radiculares es un paso fundamental del tratamiento endodóntico. Se describe como "obturación tridimensional" y se debe llevar a cabo con materiales biocompatibles (27). El objetivo de la obturación es evitar la entrada de fluidos, ya sea desde los tejidos perirradiculares o desde la cavidad oral hacia el conducto radicular (28), creando un sello hermético que bloquee la invasión de microorganismos, evitando su migración a los tejidos periapicales (29), de esta manera se reducir la probabilidad de proliferación microbiana y la aparición futura de procesos patológicos (30).

En la actualidad existen diversas técnicas de obturación, la mayoría se basan en utilizar un centro de gutapercha y cemento endodóntico (31). La gutapercha es el material de obturación más empleado en endodoncia, sin embargo, usarla sola no resulta suficiente para lograr un sellado hermético de las irregularidades presentes en el complejo sistema de conductos radiculares (32). Por consiguiente, la gutapercha se emplea en combinación con cementos endodónticos, con el fin de compensar sus limitaciones y lograr un sellado más eficaz del sistema de conductos radiculares (33). Estos cementos adhieren la gutapercha a las paredes dentinarias, rellenan irregularidades, y poseen propiedades antimicrobianas que contribuyen a eliminar bacterias residuales y prevenir su proliferación, asegurando así una obturación completa y duradera (34).

Debemos tener en cuenta que los cementos endodónticos pueden entrar en contacto directo con los tejidos perirradiculares a través de conductos laterales o del ápice, lo que puede desencadenar reacciones inflamatorias y estimular terminaciones nerviosas sensoriales. Por ello, se asocia ocasionalmente con dolor postoperatorio (31).

Actualmente existe una amplia variedad de cementos endodónticos, con diferentes componentes y propiedades, para cada caso en particular. Comprender las propiedades y características de un sellador endodóntico es esencial para elegir y aplicar el material más adecuado según las necesidades específicas de cada caso clínico (34).

2.7 Cementos endodónticos

Los cementos endodónticos son pastas fluidas y viscosas, se emplean durante el proceso de obturación en el tratamiento de conductos, actuando como lubricantes y agentes de adherencia, facilitando el desplazamiento y la fijación la gutapercha en el conducto radicular (35).

Estos materiales rellenan eficazmente los espacios entre la gutapercha y las paredes del conducto, así como conductos laterales o accesorios, creando un sello adecuado para prevenir la colonización de microorganismos orales en los tejidos periapicales y dentro del espacio del conducto (36).

Los cementos endodónticos idealmente deben contar con ciertas características que logren adecuarse a cada caso en particular. Las propiedades ideales para un cemento endodóntico se describen en la Tabla 2 (37).

Estos cementos se clasifican según su composición y método de fraguado, cada tipo posee características físicas y propiedades específicas (38). Existen a base a base de ionómero de vidrio, hidróxido de calcio, agregado de trióxido mineral (MTA), fosfato de calcio, óxido de zinc eugenol, silicona, resina epoxi, resina de metacrilato y silicato tricálcico (34), siendo estos últimos también llamados cementos biocerámicos, los cuales se han vuelto populares recientemente (5).

Entre los selladores endodónticos disponibles en la práctica clínica, los cementos a base de resina epoxi continúan siendo de los más utilizados, siendo AH Plus el más representativo de este grupo (39). Diversos estudios lo han considerado como el estándar de oro gracias a su adecuada estabilidad dimensional y resistencia a la reabsorción (14). Sin embargo, este material presenta ciertas limitaciones biológicas, entre ellas la posibilidad de generar mutagenicidad, citotoxicidad y respuestas inflamatorias, lo que ha impulsado la búsqueda de alternativas más biocompatible como las ofrecidas por los cementos biocerámicos (40).

Tabla 2. Propiedades ideales de los cementos endodónticos

Propiedades ideales
Fluidez
Radiopacidad
Biocompatibilidad
Antimicrobiano
Solubilidad adecuada
Tiempo de trabajo apropiado
Estabilidad dimensional
Adhesión adecuada

Se presentan las propiedades consideradas ideales para un cemento sellador endodóntico. Estas características permiten garantizar el correcto sellado del sistema de conductos radiculares y favorecer el pronóstico del tratamiento.

2.8 Biocerámicos

Los materiales biocerámicos son compuestos a base de silicato tricálcico, inorgánicos, libres de metal y compatibles con los tejidos biológicos, ampliamente empleados en el ámbito médico y odontológico (41).

Debido a su estabilidad química, ausencia de corrosión y su capacidad para integrarse eficazmente con los tejidos orgánicos, se han utilizado cada vez más en diversos procedimientos de endodoncia, como recubrimientos pulpares, obturación de conductos radiculares, tapones apicales y sellado de perforaciones (42).

Estos materiales son ampliamente utilizados en el área de la endodoncia gracias a su capacidad de tener contacto directo con tejidos vivos sin causar un daño irreversible (43), entre otras de sus propiedades que describiremos a continuación.

2.8.1 Propiedades de los biocerámicos

Los cementos biocerámicos han ganado popularidad en los últimos años no solo por su capacidad para sellar el sistema de conductos radiculares, sino también para liberar iones bioactivos moduladores de la inflamación y así promover la salud del tejido periapical (44).

Se han investigado con anterioridad las características y desempeño clínico de los cementos biocerámicos. Estos productos exhiben ventajas en términos de su radiopacidad, fluidez, liberación significativa de iones de calcio, pH alcalino, efecto antimicrobiano y sobre todo biocompatibilidad (45).

Algunas de las propiedades de los cementos biocerámicos con mayor impacto en el tratamiento de conductos surgen durante la reacción de hidratación durante el fraguado, en donde se liberan iones de calcio e hidroxilo, lo que resulta en un aumento del pH >12 (4). Gracias a ello, estos cementos ofrecen un efecto antibacteriano duradero. Además, estos materiales se integran con la dentina del conducto radicular mediante la formación de hidroxiapatita, la cual establece una

unión química con los túbulos dentinarios, favoreciendo una adhesión sólida y biocompatible (46).

Actualmente existen una amplia variedad de opciones de selladores endodónticos biocerámicos en el mercado, todos ofrecen biocompatibilidad como su principal característica. El Ceraseal y el Dia Root Bio Sealer son dos opciones de cementos biocerámicos muy populares y de fácil manejo.

2.8.2 Ceraseal

Ceraseal es un sellador biocerámico premezclado que incluye silicato tricálcico (20-30%) y silicato dicálcico (1-10%) como componentes bioactivos, y aluminato tricálcico (1-10%) y dióxido de circonio (45-50%) como radiopacificantes. El fabricante informa también de algunos rastros de agentes espesantes (47). Este biocerámico es capaz de liberar iones de calcio y tiene la capacidad de neutralizar ácidos que favorece la cicatrización de los tejidos (48). Estudios anteriores han demostrado que los cementos endodónticos que incluyen en sus componentes óxido de circonio, como es el caso del Ceraseal, logran inducir la proliferación de fibroblastos y favorece la regresión de las reacciones inflamatorias (49).



Figura 1. CeraSeal. Referencia tomada de (127)

2.8.3 Dia Root Bio Sealer

En los últimos años se ha incorporado al mercado un cemento endodóntico biocerámico denominado Dia-Root Bio Sealer (Diadent, República de Corea), desarrollado como una alternativa moderna para la obturación de conductos radiculares (41).

Sus componentes son silicato de calcio, aluminato de calcio, trifluoruro de iterbio, dióxido de circonio, silanamina, trimetil-n, productos de hidrólisis con sílice, hidroxipropil metilcelulosa, polietilenglicol 400 y polietilenglicol 200, polioxietileno 20, sorbitán monooleato, aceite mineral ligero (41).

Es un cemento endodóntico biocerámico a base de silicato tricálcico exento de aluminio que presenta excelentes características físicas y mecánicas, como biocompatibilidad, radiopacidad y estabilidad dimensional. Destacado por no expandirse ni contraerse bajo una mayor presión de empuje (50).

Un factor crucial que determina la elección del material de obturación en el tratamiento de conductos radiculares es su biocompatibilidad, dado que los cementos pueden interactuar directamente con los tejidos periapicales, influyendo así en el éxito del tratamiento endodóntico (51).



Figura 2. Dia Root BIO Sealer. Referencia tomada de (128)

2.9 Biocompatibilidad

La biocompatibilidad se refiere a la capacidad de un material para lograr interactuar con el organismo del hospedero logrando una respuesta adecuada y ventajosa en aplicaciones específicas siendo capaces de estar en contacto con sistemas vivos sin generar respuestas adversas (51).

Por otro lado, los cementos endodónticos bioactivos son materiales capaces de inducir la formación de apatita cuando entran en contacto con fluidos corporales (52), favoreciendo la migración, el crecimiento y la diferenciación osteogénica de las células (53). Son capaces de liberar iones o moléculas que desencadenan respuestas biológicas favorables, tales como la biomineralización, regeneración tisular, actividad antimicrobiana o modulación de la respuesta inmune (54).

Por el contrario, la citotoxicidad se refiere a la capacidad de un material para ejercer efectos perjudiciales sobre las células o tejidos vivos, los ensayos de citotoxicidad se realizan con el propósito de evaluar el potencial tóxico de los materiales empleados en endodoncia (55). Los ensayos de citotoxicidad *in vitro* representan la etapa preliminar en la evaluación de la biocompatibilidad de los materiales biocerámicos (56).

Inicialmente cualquier material extraño que entra en contacto con un tejido vivo causa una respuesta inflamatoria, por lo que es de suma importancia que esta inflamación sea rápidamente controlada por el sistema inmunológico, esto será posible si el material depositado es biocompatible, siendo esto un requisito esencial para todos los cementos endodóntico (57).

2.10 Inflamación

Se define como una reacción de los tejidos frente a estímulos dañinos, ya sea por agentes externos como infecciones o por lesiones internas del propio organismo (58). Su función es ser una defensa, eliminando agentes infecciosos y reparando

tejidos dañados. Habitualmente es una respuesta aguda y autolimitada, sin embargo, si el estímulo persiste como en infecciones crónicas o enfermedades autoinmunes, puede prolongarse de forma localizada, generando efectos perjudiciales sobre los tejidos (59).

La respuesta inflamatoria se origina a partir de una red coordinada de interacciones celulares y moleculares, que funciona mediante un sistema de señalización basado en la emisión y reconocimiento de señales, permitiendo la comunicación y regulación entre los distintos componentes del sistema inmunológico (58).

Los mediadores inflamatorios pueden clasificarse en siete categorías principales, aminas, péptidos, citocinas, quimiocinas, fragmentos del sistema del complemento, mediadores lipídicos y enzimas proteolíticas (60).

En el tejido pulpar, la inflamación se basa en la rápida llegada de células mieloides a las áreas afectadas, un proceso que se logra mediante la continua producción y desplazamiento de células presentes en la pulpa (61). Los leucocitos y las proteínas plasmáticas normalmente permanecen circulando dentro de los vasos sanguíneos, cuando son atraídos hacia los sitios de infección o daño tisular en respuesta a señales químicas específicas que guían su migración y activación (58).

La mayor parte del tejido pulpar está compuesta por fibroblastos pulpares, así como diversas células del sistema inmunológico. Los leucocitos constituyen menos del 1% de todas las células. Los granulocitos/neutrófilos son la subpoblación más común, seguidos los por las células mononucleares los que son los linfocitos B y T, natural killer (NK) y los monocitos. Junto con los odontoblastos, fibroblastos pulpares y células madre pulpares, juegan un papel crucial en las respuestas inmunológicas de la pulpa dental frente a los microorganismos orales (62).

En numerosos casos, los estímulos que provocan la respuesta inflamatoria provienen del exterior del organismo y pueden ser infecciosos, como microorganismos patógenos, o no infecciosos, como alérgenos, sustancias irritantes, cuerpos extraños o compuestos tóxicos (58).

En particular, los cuerpos extraños representan para los macrófagos partículas que resultan demasiado grandes para ser fagocitadas o que dañan la membrana del fagosoma, lo que contribuye a la activación del proceso inflamatorio (63).

2.11 Inflamación por biomateriales

Las respuestas inmunológicas desencadenadas por los cementos endodónticos son complejas, la presencia o resolución de la inflamación es determinante para el éxito a largo plazo del tratamiento endodóntico (44). La dinámica inflamatoria implica el reclutamiento celular, la respuesta vascular y la reparación tisular (59). Dado que los selladores endodónticos pueden actuar como cuerpos extraños en los tejidos periapicales, se desencadena una respuesta inflamatoria, la cual debe ser biológicamente controlada para favorecer la cicatrización (64).

La inflamación aguda puede evolucionar hacia una respuesta inflamatoria crónica y dificultar la cicatrización cuando el estímulo nocivo persiste durante un periodo prolongado (65), incluso, un granuloma periapical puede evolucionar hacia un quiste periapical, lo que puede dificultar o impedir el proceso de cicatrización (66).

Un estudio reciente demostró que cementos a base de silicato de calcio regulan a la baja las citocinas proinflamatorias TNF-α e IL-6, lo cual logra inhibir la respuesta inflamatoria y promover la diferenciación osteogénica en líneas celulares MC3T3-E1 en un entorno inflamatorio provocado por la estimulación de lipopolisacáridos de *Escherichia coli* (67).

2.12 PBMCs

Las células mononucleares de sangre periférica humana (PBMCs) se obtienen a partir de la sangre periférica y se definen como cualquier célula sanguínea que posee un núcleo redondeado, como los linfocitos, monocitos, células asesinas

naturales (NK) y células dendríticas (68). En la población humana, la proporción de estos tipos celulares puede variar entre individuos, sin embargo, comúnmente los linfocitos representan entre el 70% y el 90%, los monocitos entre el 10% y el 20%, mientras que las células dendríticas son poco frecuentes, conformando apenas entre el 1% y el 2% (69).

Las PBMCs, funcionan como un reflejo del estado inmunológico del organismo frente a posibles patógenos. Cuando detectan un antígeno o agente invasor, estas células se activan, iniciando procesos de diferenciación y adquiriendo funciones efectoras propias de la respuesta inmunológica (68). El análisis proteómico de los PBMCs humanos permite identificar y evaluar alteraciones en etapas tempranas y avanzadas de diversos procesos biológicos (70). Además, estas células se pueden obtener de manera sencilla y no invasiva a partir de muestras de sangre, lo que facilita su acceso para estudios experimentales (69).

En una respuesta inflamatoria aguda, los neutrófilos constituyen inicialmente la población leucocitaria predominante. Con el avance del proceso, los monocitos, que posteriormente se diferencian en macrófagos tisulares, junto con linfocitos T y B, comienzan a infiltra el sitio inflamado (58).

Además de sus funciones inmunologicas, los monocitos también se diferencian en otros tipos celulares (macrófagos o células dendríticas) en respuesta a diferentes estímulos durante su paso por los tejidos (71). La diferenciación de monocitos en macrófagos requiere señales desencadenadas por citoquinas y quimiocinas secretadas tanto por el tejido lesionado como por las células endoteliales de los vasos sanguíneos ubicados en las proximidades de la lesión (72).

2.13 Macrófagos

Los macrófagos son células del sistema inmunitario innato que se encuentran en todos los tejidos y son clave durante todo el proceso inflamatorio (73). Inician la liberación de citocinas, dando pie a una serie de eventos celulares y moleculares que caracterizan el inicio de la respuesta inflamatoria (58).

Los macrófagos desempeñan roles en prácticamente todos los aspectos de la biología de un organismo, incluyendo el desarrollo, el mantenimiento del equilibrio interno, la reparación de tejidos y la respuesta inmunitaria frente a patógenos (74).

Tras su reclutamiento como monocitos hacia los sitios de inflamación y su diferenciación en macrófagos con fenotipo proinflamatorio, estas células se modifican hacia un estado antiinflamatorio o regulador, en el cual la IL-10 desempeña un papel fundamental en la modulación y resolución del proceso inflamatorio, así como diversas citocinas (58).

Los monocitos atraídos hacia el área periapical por citocinas se diferencian en macrófagos M1 o M2. Una vez detectada una infección los M1 desempeñan una función citotóxica, dirigida a la eliminación de las células infectadas (75), liberan mediadores proinflamatorios como TNF-α, IL-6 y óxido nítrico, lo que intensifica la inflamación y provoca daño tisular (76). Los M2 ayudan a resolver la inflamación al inhibir las respuestas crónicas y proteger los tejidos liberando IL-10, también participan en la eliminación de células apoptóticas, promoviendo la restauración del equilibrio tisular (77), participan activamente en la remodelación del tejido y en la promoción de la angiogénesis (75).

2.14 Citocinas

Las citocinas son moléculas extracelulares hidrosolubles, polipéptidos o glicoproteínas con un peso molecular que oscila entre 8 y 30 kDa. Se sintetizan por diversos tipos de células en el sitio de la lesión (78). Son liberadas por células del

sistema inmunológico como moléculas señalizadoras, las cuales participan en la regeneración y reparación de tejidos, además de regular la inflamación y favorecer los procesos de cicatrización (79).

Las citocinas también controlan el tráfico de células inmunológicas y su organización. Cuando son producidas en respuesta a un estímulo inmunológico inicial determinan el tipo de respuesta que se desarrollará, ya sea citotóxica, humoral, mediada por células o alérgica (80).

Estas citocinas suelen actuar en cascada y a menudo requieren de varias para funcionar de manera óptima. Cuentan con propiedades proinflamatorias y antiinflamatorias, esto dependerá del tipo y del estado de las células involucradas en la respuesta a ellas (81). Las citocinas antiinflamatorias tienen principalmente la función de regular las actividades proinflamatorias con el fin de reducir el daño a los tejidos, y se cree que responden a los cambios activos en la respuesta inflamatoria (82).

Las citocinas proinflamatorias, producidas principalmente por macrófagos y mastocitos, como TNF, IL-2 e IL-6, intervienen en la respuesta inmunitaria aguda. En contraste, las citocinas antiinflamatorias, como IL-4, IL-10 e IFN-γ, actúan regulando y atenuando la inflamación para favorecer su resolución (83).

2.14.1 IL-2

La interleucina-2 (IL-2) es una proteína que pesa 75 kDa, es principalmente sintetizada por las células T CD4, y en menor medida, por las células T CD8+, es una citocina esencial que participa en la regulación y activación del sistema inmunológico (84).

Estimula la generación de otras citocinas como el IFNγ y el TNFβ, lo que conduce a la activación de monocitos, neutrófilos y células NK. Debido a que su tiempo de

vida en el plasma es menor de 10 minutos, la IL-2 generalmente no se encuentra presente en lesiones agudas (78).

Entre las principales funciones de la IL-2 se encuentran la inducción de la proliferación de linfocitos T, B y células NK, la estimulación de la activación de linfocitos B y la promoción de la tolerancia inmunológica, contribuyendo así al equilibrio y regulación del sistema inmunológico (58).

2.14.2 IL-4

La interleucina-4 (IL-4) es una citocina altamente pleiotrópica que desempeña un papel crucial en la regulación de las respuestas alérgicas y en la defensa inmunitaria frente a helmintos y otros parásitos extracelulares (85). Entre sus principales funciones destacan la estimulación de las respuestas humorales y la inducción de la diferenciación de subpoblaciones específicas de linfocitos T, contribuyendo al equilibrio de la respuesta inmunológica adaptativa (58).

La IL-4 es secretada principalmente por células Th2 y en menor medida, por células como NK, T $CD8^+$ y macrófagos. Participa en la síntesis de colágeno por los fibroblastos y en la expresión de VCAM-1 en las células endoteliales, favoreciendo la reparación tisular y el reclutamiento celular durante la inflamación (86).

2.14.3 IL-6

La interleucina-6 (IL-6) es una glicoproteína con un peso molecular que oscila entre 22 y 27 kDa, secretada por diversos tipos de células como macrófagos, monocitos, eosinófilos, hepatocitos y células gliales, bajo la inducción de TNFα e IL-1 (87).

Es una citocina pleiotrópica relacionada con la respuesta de fase aguda, hematopoyesis e inflamación. Entre sus principales funciones esta la activación de

la fiebre, la hematopoyesis y promover la inflamación, así como estimula la diferenciación de linfocitos B y T (58).

Tras una lesión, los niveles plasmáticos de IL-6 son detectables en 60 minutos, alcanzan un pico entre 4 y 6 horas, pudiendo persistir hasta 10 días (78). A pesar de su naturaleza principalmente proinflamatoria, también exhibe propiedades antiinflamatorias al liberar receptores solubles de TNF (87).

Las concentraciones elevadas de IL-6 en el período postoperatorio indican la magnitud de la respuesta inflamatoria y proporcionan una comprensión de algunos de los mecanismos responsables de una respuesta inflamatoria exagerada y un resultado adverso (88).

2.14.4 IL-10

La interleucina-10 es un péptido de 18 kDa, se sintetiza en células inmunológicas, así como en tejidos neuroendocrinos y neurales (78). Es considerada la citocina antiinflamatoria por excelencia, con efectos pleiotrópicos, es producida por todos los leucocitos, sin embargo, las células T CD4+ y los monocitos/macrófagos son las principales fuentes de esta citocina (7). Su función primordial es limitar la producción de citocinas y quimiocinas inducidas por ligandos de TLR en macrófagos y células dendríticas (58), limitando y finalizando la respuesta inmunológica para prevenir el daño ocasionado por la inflamación del hospedero (89).

La IL-10 ejerce efectos inhibitorios sobre citocinas proinflamatorias, especialmente TNF, IL-1 e IL-6, promoviendo en cambio la síntesis de citocinas antiinflamatorias endógenas. Además, promueve la proliferación de mastocitos y suprime la producción de IFNγ por parte de las células NK (78).

Esta regulación negativa de las actividades proinflamatorias tiene un impacto indirecto en la resolución de respuestas inmunes adaptativas, promoviendo un estado de inmunidad reguladora o antiinflamatoria (90). En conjunto, la IL10

desempeña un papel crucial en la restauración de la homeostasis, lo que facilita el desarrollo de células de memoria de larga duración que pueden responder eficazmente a futuras amenazas (91).

2.14.5 Factor de necrosis tumoral α

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) es una citocina proinflamatoria pleiotrópica, regula la actividad leucocitaria y coordina la respuesta inflamatoria ante infecciones bacterianas. Su amplia producción es dada por distintos tipos celulares como monocitos macrófagos, linfocitos T, células NK, neutrófilos y endoteliales (58). Aunque también la podemos encontrar en neuronas y células gliales, desempeñando funciones cruciales tanto en la hiperalgesia inflamatoria como neuropática (92). El TNFα existe en dos formas activas: una forma transmembrana de 26 kDa y una forma secretada de 17 kDa (78).

Tras procedimientos quirúrgicos, traumatismos o infecciones, el TNFα actúa como uno de los mediadores más tempranos de la respuesta inflamatoria. A pesar de tener una vida media corta de aproximadamente 20 minutos, es capaz de inducir cambios metabólicos y hemodinámicos, así como de activar a distancia otras citocinas (78).

La unión del TNF-α a sus receptores desencadena una serie de eventos, incluyendo la producción de otras citocinas, la expresión de moléculas de adhesión, la liberación de sustancias procoagulantes y la activación del óxido nítrico sintetasa. Además, el TNF-α incrementa la expresión de otras citocinas con propiedades proinflamatorias (93).

2.14.6 Interferón γ

El interferón γ (IFNγ) es una citocina reguladora del sistema inmunológico que influye en las respuestas inflamatorias al activar su receptor específico, aumentando así la inmunidad mediada por células (94). Esta citocina es producida por los

linfocitos T helper-1 (Th-1), que constituyen el subgrupo CD4 positivo de las células T (95).

La secreción de IFN-γ por parte de las poblaciones linfocitarias fortalece la capacidad defensiva de los macrófagos y otras células del hospedero, potenciando su acción frente a bacterias, hongos y parásitos, y en menor medida, frente a infecciones virales.(96)

Las citocinas liberadas por células Th-1 también desempeñan un papel crucial en la remodelación ósea. El impacto del IFNγ ha sido observado en la resorción ósea y en los procesos de cicatrización tras el tratamiento de la periodontitis (95).

En general, el IFN-γ desempeña un papel fundamental en la regulación de la función inmune, incluyendo la polarización de la respuesta de células T y la activación de células mieloides, así como en la conexión entre las respuestas inmunes innata y adaptativa (97)

2.14.7 Balance de citocinas

Durante el proceso inflamatorio, un mecanismo esencial para controlar la inflamación sin que provoque un daño tisular excesivo consiste en que el sistema inmunológico mantenga un equilibrio entre las células y mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios, y la eliminación de agentes patógenos (98).

En las fases iniciales de la respuesta inflamatoria, los macrófagos residentes con fenotipo M1 se activan y liberan citocinas proinflamatorias, entre ellas IL-1, IL-6 y TNF-α, cuya función es potenciar y ampliar la reacción inflamatoria (44). Mientras que los M2 se caracterizan por producir elevadas cantidades de IL-10 y niveles reducidos de IL-12 (99).

En una respuesta típica del organismo frente a un biomaterial, los macrófagos actúan como células iniciales de defensa y como reguladores centrales del proceso.

Su fenotipo y grado de activación resultan factores decisivos para determinar la biocompatibilidad del material (100).

2.14.8 Citocinas biomarcadores de biocompatibilidad

Los biomateriales pueden desencadenar una respuesta inflamatoria al ser reconocidos como cuerpos extraños (101). Por ello, para evitar este efecto y modular adecuadamente la respuesta inmunológica, es necesario que dichos materiales favorezcan la producción de citocinas antiinflamatorias como IL-10, disminuyan la formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y controlen la liberación de citocinas proinflamatorias tales como TNF-α, IL-1 e IL-6 (102).

Los cementos biocerámicos presentan la capacidad de modular la respuesta inflamatoria, influyendo en la actividad de las células del sistema inmunológico y en la regulación de la liberación de citocinas y quimiocinas (103). En las fases iniciales de la inflamación, los selladores endodónticos suelen incrementar la expresión de citocinas proinflamatorias, lo que puede asociarse con disminución de la viabilidad celular y mayor citotoxicidad (104). No obstante, también se ha demostrado que estos materiales pueden reducir la producción de citocinas proinflamatorias inducidas por LPS, como IL-6 y TNF-α, ejerciendo así un efecto inmunomodulador favorable que contribuye a una respuesta más regulada y compatible con la reparación tisular (105).

2.14.9 Análisis de expresión de citocinas

La concentración de citocinas es un parámetro clave para la evaluación de alteraciones clínicas, por lo que su cuantificación permite obtener información relevante sobre el estado inmunológico del paciente y orientar el ajuste de los tratamientos (106). No obstante, su medición precisa resulta compleja, debido a que suelen encontrarse en concentraciones muy bajas, presentan patrones de secreción variables y poseen vidas medias cortas, lo que dificulta su detección y análisis.

Los métodos más utilizados para la cuantificación de citocinas son el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (107).

Cada sistema de ensayo tiene sus ventajas y desventajas, sin embargo, ELISA cuantifica la proteína secretada en el medio y la PCR determina los niveles de ARNm en de manera semi-cuantitativa, mientras que la citometría de flujo destaca por su alta capacidad para procesar grandes cantidades de muestras, permitiendo analizar múltiples parámetros de forma simultánea (108). La citometría de flujo es útil para la caracterización de las respuestas inmunológicas en un estado normal o patológico, utilizando células mononucleares de sangre periférica (109).

2.15 Estudios *in vitro*

Comprender los factores que desencadenan la inflamación y los mecanismos moleculares que la regulan, así como diseñar estrategias que favorezcan su resolución, es esencial para el estudio de los procesos inflamatorios en todas las áreas de la medicina (110).

El avance en la investigación de la inflamación depende, en parte, del uso de bioensayos capaces de reproducir una respuesta inflamatoria similar a la observada clínicamente. Por ello, los ensayos *in vitro* son herramientas esenciales para analizar y caracterizar los procesos inflamatorios (111).

Durante la inflamación, los monocitos son reclutados y pueden diferenciarse en macrófagos más especializados, además de tener otras funciones en el desarrollo y reparación tisular (71).

Con propósitos de investigación, es posible obtener monocitos humanos mediante su aislamiento a partir de muestras sanguíneas y posteriormente realizar su enriquecimiento celular (112).

2.16 Líneas celulares

Las líneas celulares consolidadas se utilizan de forma amplia en investigaciones *in vitro* e *in vivo*, debido a que ofrecen una disponibilidad constante y estandarizada de células, conservando propiedades genéticas y fenotípicas similares aún después de varios pasajes en cultivo (113).

Las células RAW 264.7 son una línea celular con características de monocitos/macrófagos, derivada de una transformación inducida por el virus de la leucemia de Abelson en ratones BALB/c. Se consideran un modelo celular representativo de macrófagos, ya que conservan funciones típicas de estas células, incluyendo pinocitosis y fagocitosis (114).

Otro ejemplo es la línea celular THP-1, la cual fue obtenida originalmente de sangre periférica de un paciente con leucemia monocítica aguda. Esta línea se utiliza como modelo *in vitro* para analizar la respuesta inflamatoria, particularmente cuando se expone a lipopolisacáridos (LPS) (115), utilizada para reflejar las actividades de monocitos y macrófagos en la investigación de la inflamación (111).

La identificación incorrecta de líneas celulares, la contaminación por micoplasma y las modificaciones genéticas o fenotípicas que pueden surgir durante períodos prolongados de cultivo constituyen problemas significativos que, a pesar de su impacto, suelen pasar inadvertidos en el ámbito de la investigación (116). Debido a ello, se ha planteado una reconsideración en su uso, destacando la ventaja de emplear células primarias frente a líneas celulares establecidas en estudios que requieren mayor fidelidad biológica (117).

3. ANTECEDENTES

En un estudio realizado por Hanseul Oh y colaboradores en 2020, se evaluó la biocompatibilidad de selladores endodónticos a base de silicato de calcio (CeraSeal y EndoSeal TCS) y selladores a base de resina epoxi (AH-Plus). El estudio se centró en la viabilidad celular, respuesta inflamatoria, expresión del fenotipo mesenquimatoso, potencial osteogénico y adhesión celular. Los resultados indicaron que CeraSeal mostró una viabilidad celular significativamente mayor en comparación con los otros selladores. En las pruebas ELISA, se observó que AH-Plus presentó una mayor expresión de IL-6 e IL-8 en comparación con los selladores a base de silicato de calcio. Estos hallazgos sugieren que los selladores a base de silicato de calcio podrían ser más biocompatibles y menos citotóxicos en comparación con los selladores a base de resina epoxi evaluados en el estudio (118).

Chen et al. demostraron que la exposición de células primarias de pulpa dental humana al cemento de silicato de calcio mejora su proliferación y los niveles de expresión de ARNm de fosfatasa alcalina (TNAP) y sialoproteína ósea (BSP) (119).

En su estudio titulado "Estudio *in vitro* sobre la actividad antimicrobiana y la citotoxicidad en células del ligamento periodontal de los cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer", Bernardo Hernández investigó la capacidad antimicrobiana y los efectos citotóxicos de estos cementos en células del ligamento periodontal. Los cementos fueron expuestos directamente a Enterococcus faecalis en una incubadora durante 24 horas, y se evaluaron los resultados utilizando espectrofotometría y pruebas de agar para medir los halos de inhibición. Además, se cultivaron células del ligamento periodontal y se expusieron directamente a los selladores por 24 horas, midiendo posteriormente la actividad celular con espectrofotometría. Los resultados mostraron que los cementos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer exhibieron efectos antimicrobianos similares, y todos promovieron un significativo crecimiento celular. Endosequence mostró un crecimiento celular 8 veces mayor que el grupo control, seguido por Bio-

C-sealer con 6.3 veces y Ceraseal con 3.5 veces más crecimiento. Según los hallazgos de este estudio *in vitro*, se concluyó que los cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal y Bio-C-sealer poseen propiedades antimicrobianas favorables y un potencial para estimular el crecimiento celular (120).

4. JUSTIFICACIÓN

En el campo de la endodoncia, los cementos selladores juegan un papel crucial en el éxito a largo plazo de los tratamientos de conductos. Ceraseal y Dia Root Bio Sealer son dos cementos selladores utilizados ampliamente en la práctica clínica actual, por lo que la evaluación de su biocompatibilidad *in vitro* es fundamental para entender su respuesta en contacto directo con tejidos celulares, particularmente en términos de citotoxicidad y capacidad para mantener la viabilidad en células PBMCs. A pesar de su uso extendido, existe una necesidad de estudios detallados que evalúen específicamente estos aspectos biológicos de ambos selladores, proporcionando así información relevante para mejorar la selección y aplicación clínica de estos materiales.

5. HIPÓTESIS

Los cementos endodónticos Ceraseal y Dia Root Bio Sealer promueven una respuesta inflamatoria en un cultivo primario de PBMCs.

6. OBJETIVOS

6.1 General:

1. Evaluar la biocompatibilidad *in vitro* de los cementos selladores Ceraseal y DiaRoot Biosealer.

6.2 Específicos:

1. Estimular *in vitro* cultivos primarios de PBMCs humanos con los cementos selladores Ceraseal y DiaRoot Bio Sealer a 24hrs.
2. Determinar la expresión de citocinas proinflamatorias en PBMCs expuestos a los cementos selladores Ceraseal y DiaRoot Bio Sealer.
3. Comparar la liberación de citocinas proinflamatorias en PBMCs humanos entre los cementos selladores estudiados.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Lugar de recolección de la muestra:

Laboratorio de Microbiología Molecular e Inmunología de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad autónoma de Sinaloa.

7.2 Diseño experimental:

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

7.3 Diseño metodológico

7.3.1 Criterios de inclusión:

- Pacientes mayores de edad.
- Pacientes sin enfermedades autoinmunes.
- Pacientes que pesen más de 60kg.
- Haber firmado el consentimiento informado

7.3.2 Criterios de exclusión:

- Tomar anticonceptivos orales.
- Haber ingerido alimentos 8 horas antes de la toma de muestra sanguínea.
- Pacientes que consuman drogas.
- Muestras contaminadas.
- Cultivo celular poco viable.

7.4 METODOLOGÍA

7.4.1 Obtención de sangre periféricas

Para obtener las células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) de humano se realizó la extracción de sangre periférica por venopunción. Una vez obtenida la muestra, se agito ligeramente el tubo evitando así la coagulación. Se realizó la centrifugación a 80 g (700rpm) de la sangre total durante 10 min. Se descartó el plasma rico en plaquetas. Posteriormente se agregaron 3 ml de Limphoprep a temperatura ambiente y se centrifugó a 500 g /1750 rpm) durante 30 minutos, Se recuperó el anillo de mononucleares, y mediante tinción con hemocolorante rápido se verificó que correspondían principalmente a linfocitos y monocitos.

7.4.2 Preparación de medios de cultivo:

Para realizar las interacciones entre cementos endodónticos y los PBMCs, se diluyeron 40 microgramos de cada cemento en 1 ml de medio DMEM, se colocaron en disrupción y posteriormente en agitación durante 24 horas y se centrifugaron a 5000 rpm. Posteriormente se recuperó el sobrenadante y se filtró con un filtro pirinola de 0.22 micrómetros, obteniendo así los extractos para los estímulos.

7.4.3 Cultivo celular:

Los PBMCs obtenidos se mantuvieron en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal y 0.5ml de antibiótico penicilina-estreptomicina, para su expansión en una atmosfera de CO2 de 5% a 37°C. Realizando el análisis celular por adherencia.

7.4.4 Estimulación:

Los cementos selladores endodónticos utilizados fueron Ceraseal y Dia-root Bio Sealer. Para cada grupo se incubaron 500,000 células por pocillo en medio con 40 microgramos del cemento a evaluar, durante 24 hrs.

Se agregó como control positivo LPS de *Salmonella typhimurium* y LPS de LPS *Escherichia coli* una concentración de 200 microgramos por mililitro y un control negativo control negativo medio DMEM.

7.4.5 Expresión de interleucinas mediante citometría de flujo

Para analizar la expresión de citocinas mediante citometría de flujo con perlas citometrícas, se sembraron 5 × 10^4 células por pocillo en placas de seis pocillos. Tras 24 horas de estimulación, se recogieron los sobrenadantes y se procesaron con el método de matrices de perlas citométricas (CBAs) con el kit BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2 Cytokine kit II, siguiendo las recomendaciones de fabricante.

Las muestras se analizaron en un citómetro de flujo Accuri C6 (BD Biosystems, EE. UU.) configurado con los siguientes parámetros: ficoeritrina (PE), excitación a 488 nm y emisión a 585 nm; clorofila de peridinina (PerCP), excitación a 600 nm y emisión a 675 nm.

7.4.6 Adquisición y análisis de muestras

El procedimiento se realizó según las instrucciones del fabricante. Se etiquetaron o 4 tubos de 1,5 mL con las siguientes diluciones: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 y 1:256, y se añadieron 300 µL de diluyente de ensayo a cada uno. Se realizaron diluciones seriadas 1:2 a partir del estándar más concentrado hasta completar la curva estándar. Se preparó un tubo de 12 × 75 mm con el mismo diluyente como control negativo (0 pg/mL).

La adquisición de datos comenzó con el control negativo, seguido de los estándares en orden ascendente de concentración para generar la curva estándar. Posteriormente, se procesaron las muestras experimentales, comenzando con la de mayor concentración para evitar la contaminación cruzada de fluorescencia entre muestras.

Cada muestra se cargó individualmente en el citómetro de flujo, manteniendo un caudal constante y registrando al menos 5000 eventos por población de microesferas. El análisis en tiempo real mediante el software BD Accuri C6 v1.0.264.21 permitió establecer una malla primaria (P1) en los diagramas FSC/SSC para excluir restos celulares y dobletes.

En el gráfico de dispersión frontal (FSC) frente a dispersión lateral (SSC), se estableció una puerta o malla primaria (P1) para excluir restos celulares, dobletes o agregados. Dentro de esta población, se aplicó una puerta secundaria (P2) al canal FL3 (PerCP) para identificar las seis subpoblaciones de microesferas del panel CBAs.

7.4.7 Análisis estadístico

Realizamos pruebas de comparación múltiple entre los grupos utilizando ANOVA de 1 vía. Los resultados se evaluaron con el software GraphPad Prism V8 (GraphPad Software, Estados Unidos), los valores se tomarán como significativos cuando exista una $p<0.05$. Los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como media ± desviación estándar (DE).

Se utilizó ANOVA y la prueba post hoc de Dunnett para tres o más variables paramétricas. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$.

7.4.8 Procesamiento y análisis de datos

Se preparó una mezcla de captura añadiendo 10 µL de cada tipo de microesfera a un tubo. Los archivos de adquisición (formato FCS) se exportaron al software FCAP Array v3.0 (BD Biosciences, EE. UU.) para su análisis cuantitativo. Las intensidades medias de fluorescencia (MFI) de cada población se interpolaron en la curva estándar correspondiente, obteniéndose así las concentraciones (pg/mL) de las seis citocinas evaluadas: IL-2. IL-4, IL-6, IL-10, IFN-γ, TNF-α.

Los resultados se expresan como media ± desviación estándar y se normalizaron con respecto a los controles negativos.

8. RESULTADOS

8.1 Aislamiento y cultivo celular.

Se aislaron PBMCs de sangre periférica, obteniendo una población celular heterogénea compuesta principalmente por linfocitos y monocitos, así como la presencia esperada de plaquetas, visibles como estructuras pequeñas, anucleadas y altamente refringentes. En la Figura 3, correspondiente a las 24 horas posteriores al establecimiento del cultivo, se aprecia una distribución uniforme de estas células sobre el campo microscópico, característica de los cultivos tempranos de PBMCs.

Los linfocitos se observan como células pequeñas, redondeadas y con escaso citoplasma, conservando una morfología íntegra sin signos evidentes de vacuolización o daño celular. Por su parte, los monocitos presentan un mayor tamaño, citoplasma más amplio y tonalidades ligeramente amarillentas o granulares propias de su actividad metabólica. Algunas de estas células muestran una ligera tendencia a la semiadherencia, sin extendimiento marcado, lo cual es típico durante las primeras 24–48 horas de cultivo.

Las plaquetas, abundantes en la preparación, se distinguen por su menor tamaño y ausencia de núcleo, distribuyéndose de forma dispersa entre las células mononucleares. Su presencia es común en este tipo de aislamientos cuando no se realiza un lavado específico para su eliminación.

La imagen no muestra acumulación significativa de detritos celulares ni cambios morfológicos asociados a apoptosis temprana, lo que indica una viabilidad adecuada del aislamiento. Asimismo, se observan pequeños microagregados celulares compatibles con la interacción basal entre linfocitos en cultivos recién establecidos.

En conjunto, los hallazgos morfológicos corresponden al comportamiento típico de PBMCs durante las primeras 24 horas de cultivo, manteniendo características no adherentes y conservando integridad estructural, acompañados de la presencia normal de plaquetas residuales del proceso de separación.

A las 72 horas posteriores al inicio del cultivo, las PBMCs muestran una morfología más heterogénea y con signos más evidentes de estrés celular y diferenciación, en comparación con las observaciones realizadas a las 24 horas.

En el campo microscópico se aprecia una disminución en la densidad celular, con mayor separación entre los elementos, lo cual es consistente con la naturaleza no proliferativa de los PBMCs en ausencia de estímulo. La población de linfocitos conserva mayormente su morfología esférica; sin embargo, una proporción significativa muestra citoplasma condensado, aumento de refringencia y contornos más irregulares, cambios compatibles con etapas avanzadas de activación o apoptosis.

Los monocitos exhiben transformaciones más marcadas: varias células presentan incremento en la granulación citoplasmática, vacuolas prominentes y, en algunos casos, pérdida parcial de la forma circular. Se observan monocitos con tendencia clara a la adherencia, apreciándose células parcialmente extendidas y con citoplasma más disperso, lo cual es característico de esta población al mantenerse en cultivo por tiempos prolongados.

Son visibles estructuras compatibles con cuerpos apoptóticos, fragmentación citoplasmática y células con evidente pérdida de integridad, reflejando la disminución progresiva de la viabilidad propia de cultivos de PBMCs sin estímulos tróficos. No obstante, no se identifica un patrón de lisis masiva, sino un proceso gradual y heterogéneo de deterioro celular.

En conjunto, los hallazgos a las 72 horas muestran un cultivo con variabilidad morfológica acentuada, presencia de cambios propios de estrés y apoptosis, y monocitos que avanzan hacia estados más adherentes o diferenciados, lo cual es consistente con la evolución fisiológica de los PBMCs en periodos prolongados de cultivo in vitro (Figura 4).

Se empleó un hemocolorante rápido con el propósito de identificar y caracterizar las células presentes en la muestra, permitiendo distinguir adecuadamente distintos

tipos de células polimorfonucleares y mononucleares. En la Figura 5A se observa un neutrófilo, identificado por su núcleo multilobulado característico y un citoplasma ligeramente granular. En la Figura 5B se aprecia un eosinófilo, el cual presenta grandes gránulos citoplasmáticos intensamente teñidos y un núcleo bilobulado conectado por un fino puente nuclear.

En la Figura 5C se distingue un monocito, reconocido por su núcleo voluminoso con forma de riñón y un citoplasma amplio, menos intensamente teñido que el de los granulocitos. Finalmente, la Figura 5D corresponde a un linfocito, caracterizado por su gran núcleo ligeramente ovalado que ocupa la mayor parte del volumen celular y un citoplasma escaso, apenas perceptible en la periferia.

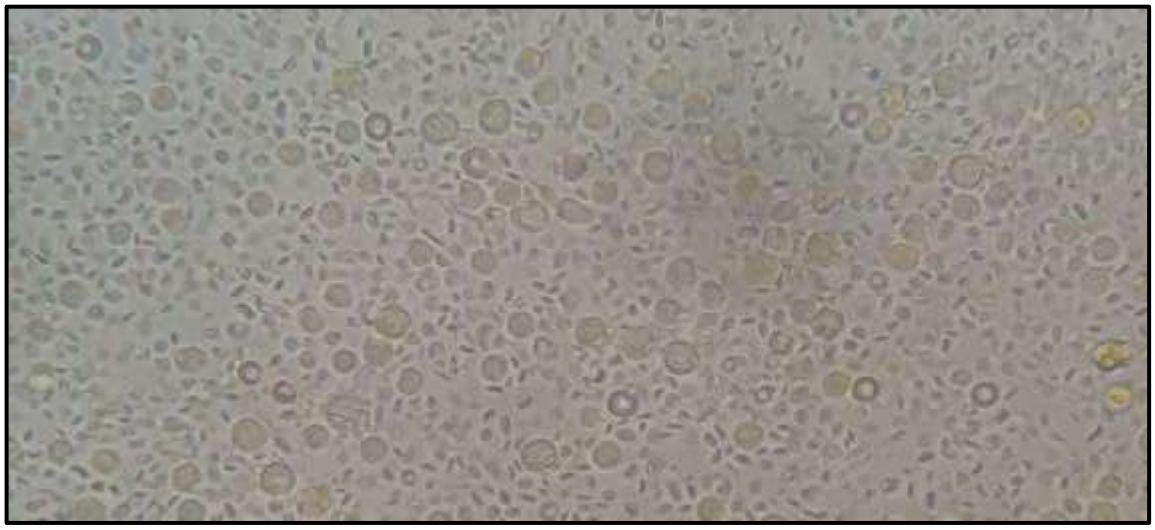


Figura 3. Fotografía tomada de microscopio óptico en objetivo 10x a 24 horas de post-cultiuvo de PBMCs.

Se observan de forma fotografía tomada mediante microscopio óptico con objetivo 10X, en la cual se observan células mononucleadas aisladas de sangre periférica a las 24 horas post-incubación, con morfología redondeada y distribución uniforme en el campo. La población está compuesta principalmente por linfocitos y monocitos, identificados por su tamaño y características citoplasmáticas, y se encuentran acompañados de plaquetas, visibles como estructuras ovaladas, anucleadas y de menor tamaño. No se aprecia acumulación significativa de detritos celulares, lo que indica una adecuada viabilidad del cultivo en esta etapa temprana.



Figura 4. Cultivo de PBMCs a las 72 horas posteriores al aislamiento.

Fotografía tomada mediante microscopio óptico con objetivo 10X, a las 72 horas post-incubación, las células mononucleadas de sangre periférica muestran una morfología más heterogénea, con una disminución en la densidad celular respecto a tiempos previos. Se observan linfocitos con contornos más irregulares y citoplasma condensado, así como monocitos con citoplasma granular, vacuolización evidente y tendencia a la semiadherencia, un comportamiento característico en cultivos prolongados. Además, se aprecian células con signos tempranos de apoptosis, incluyendo fragmentación citoplasmática y estructuras compatibles con cuerpos apoptóticos. No se evidencia lisis masiva, aunque sí un incremento en la variabilidad morfológica asociada al avance del tiempo en cultivo.

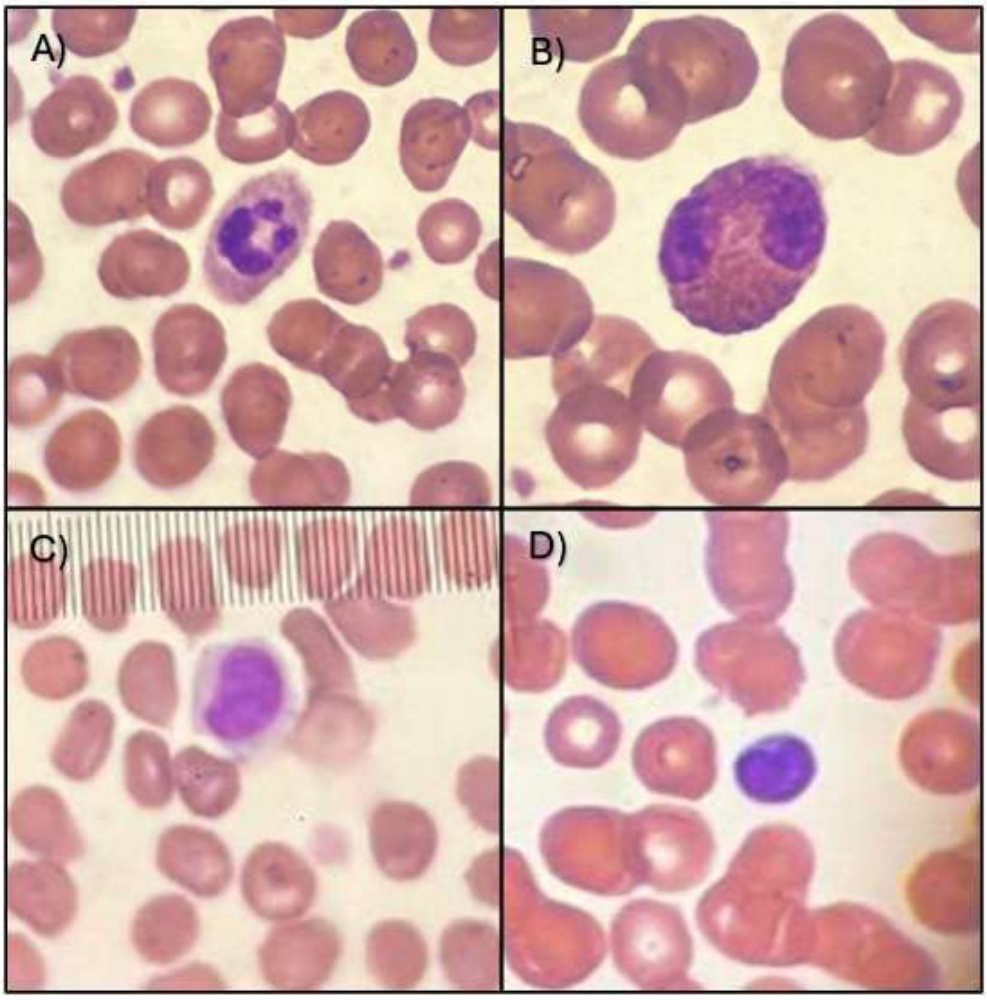


Figura 5. Hemocolorante rápido. Células sanguíneas teñidas con hemocolorante rápido y observadas mediante microscopía óptica (objetivo 40X). (A) Neutrófilo de sangre periférica, identificado por su núcleo multilobulado y citoplasma ligeramente granular; la tinción permite distinguir presumiblemente una célula de origen neutrofílico. (B) Eosinófilo de sangre periférica, con núcleo bilobulado y gránulos citoplasmáticos prominentes, compatible con una célula de origen eosinofílico. (C) Monocito de sangre periférica, caracterizado por un núcleo grande en forma de riñón y un citoplasma amplio; la tinción lo identifica presumiblemente como un monocito. (D) Linfocito de sangre periférica, donde se observa un núcleo ovalado que ocupa la mayor parte del volumen celular y un citoplasma escaso, compatible con una célula de origen linfoide.

8.2 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza de un factor (One-Way ANOVA) para comparar las medias de expresión de las citocinas IFN-γ, TNF-α, IL-10, IL-6, IL-4 e IL-2 entre los grupos experimentales: Ceraseal (CS), DiaRoot BioSealer (DR), lipopolisacárido de Escherichia coli (LPS-E. coli), lipopolisacárido de Salmonella (LPS-Salmonella) y el grupo control con medio DMEM.

Cuando el ANOVA indicó diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$), se aplicó una prueba post hoc de Bonferroni para determinar entre qué grupos específicos se presentaban dichas diferencias.

Los resultados del ANOVA mostraron diferencias altamente significativas para TNF-α, IL-10 e IL-6 ($p = 0.000$ en todos los casos), por lo que se procedió a realizar las comparaciones múltiples correspondientes. Por el contrario, IFN-γ ($p = 0.159$) e IL-2 ($p = 0.421$) no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos. En el caso de IL-4, no se detectó variabilidad suficiente para efectuar el análisis estadístico ni realizar comparaciones posteriores.

8.3 Comparaciones post hoc

A continuación, se muestran los valores para Pruebas post hoc de Bonferroni solo en citocinas con diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 3. Análisis de varianza de un factor (ANOVA).

Citocina	F (ANOVA)	p-valor	Significancia
INF-γ	2.077	0.159	No significativa
TNF-α	2681.976	0.000	**Significativa**
IL-10	43.783	0.000	**Significativa**
IL-6	436.096	0.000	**Significativa**
IL-4	0.000	—	No significativa
IL-2	1.069	0.421	No significativa

ANOVA de un factor (comparación entre grupos). Evaluación de la expresión de seis citocinas pro- y antiinflamatorias (INF-γ, TNF-α, IL-10, IL-6, IL-4 e IL-2) entre cinco grupos experimentales: CS, DR, LPS y control negativo. Se presentan los valores de F y el nivel de significancia (p). Se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) únicamente para TNF-α, IL-10 e IL-6, lo cual indica una respuesta inmunológica diferencial en estos. INF-γ, IL-2 e IL-4 no presentaron diferencias significativas entre los grupos.

8.3.1 TNF-α

Las comparaciones por pares mostraron diferencias altamente significativas entre los grupos experimentales en relación con la producción de TNF-α (Tabla 4). Tanto CeraSeal (CS) como DiaRoot Bio Sealer (DR) presentaron valores marcadamente inferiores en comparación con los grupos estimulados con lipopolisacárido, mostrando diferencias de medias que variaron entre –13.64 y –37.97 pg/mL. Este patrón indica que la exposición a LPS de *Salmonella* o *E. coli* induce una respuesta inflamatoria intensa, caracterizada por una marcada sobreexpresión de TNF-α, mientras que los cementos biocerámicos evaluados no desencadenan este aumento.

En las comparaciones directas, CeraSeal vs LPS Salmonella ($p = 0.000004$) y CeraSeal vs LPS E. coli ($p = 0.000012$) mostraron diferencias marcadamente negativas en la media, indicando que ambos LPS generan una respuesta inflamatoria muy superior a la inducida por el sellador. El mismo patrón se observó con DiaRoot, que también presentó diferencias significativas frente a ambos LPS ($p < 0.00001$), evidenciando la alta biocompatibilidad del material.

Finalmente, las comparaciones con el control negativo confirmaron que tanto CeraSeal como DiaRoot Bio Sealer generan niveles de TNF-α equivalentes al basal fisiológico, reforzando su carácter biocompatible y ausencia de activación significativa de la vía inflamatoria mediada por esta citocina.

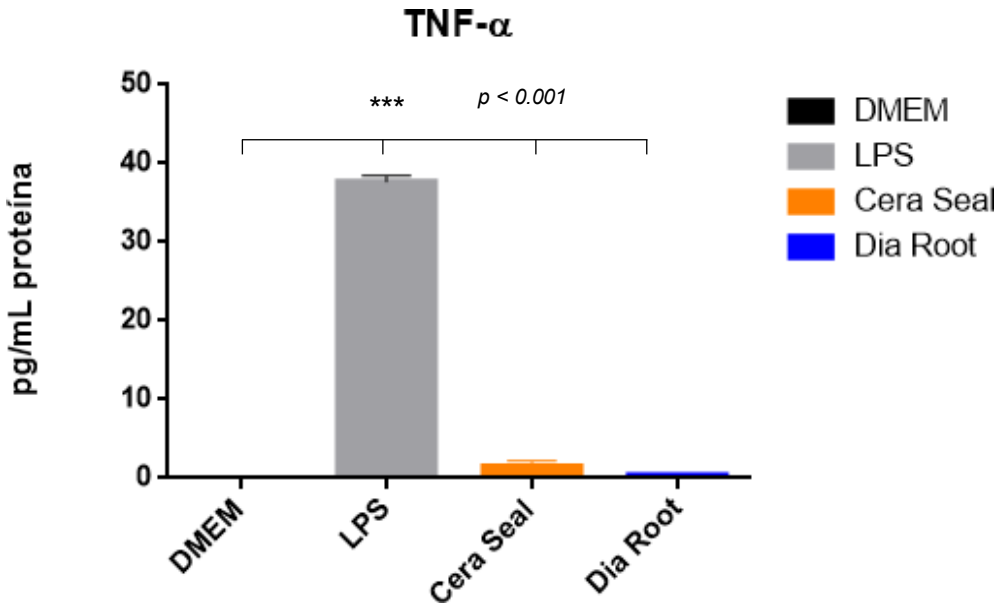
La comparación CS vs DR mostró una diferencia pequeña (0.15 pg/mL) con un valor $p = 0.031$, indicando diferencia estadística pero no biológicamente relevante, pues ambos materiales se comportaron con baja producción de TNF-α, confirmando un perfil antiinflamatorio adecuado.

En conjunto, DiaRoot produjo ligeramente menos TNF-α que CeraSeal, lo que sugiere un comportamiento marginalmente más biocompatible; sin embargo, ambos selladores demostraron producción mínima de citocina proinflamatoria, muy inferior a los controles estimulados con LPS.

Tabla 4. Prueba post hoc de Bonferroni para TNF-α: Comparaciones entre grupos.

Comparación	Diferencia de medias	p
CS vs LPS *Salmonella*	-36.59	0.000004
CS vs LPS *E. coli*	-13.64	0.000012
CS vs control	0.05	0.000013
DR vs LPS *Salmonella*	-37.97	0.000001
DR vs LPS *E. coli*	-15.02	0.000007
DR vs control	-0.10	0.000004
CS vs DR	0.15	0.031
LPS *E. coli* vs control	-23.00	0.000006
LPS *Salmonella* vs control	-38.60	0.000002
LPS *Salmonella* vs *E. coli*	22.95	0.042

Figura 6. Comparación de los niveles medios de TNF-α. DR, CS, LPS y grupo blanco.



Gráfica de comparación. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados con LPS, CS, DR y control, evidenciando un aumento marcado de esta citocina proinflamatoria en respuesta a las endotoxinas bacterianas ($p < 0.05$; ANOVA de un factor, prueba post hoc Bonferroni). Las barras representan la media ± desviación estándar (DE). Letras distintas indican diferencias significativas entre grupos.

8.3.2 IL-10

Las comparaciones post hoc indican diferencias significativas entre CS y ambos LPS ($p < 0.00001$), así como entre DR y los mismos estímulos bacterianos ($p < 0.00001$) (Tabla 5). Esto confirma que los selladores no inducen una respuesta antiinflamatoria exagerada, sino una expresión basal apropiada para un biomaterial estable y biocompatible.

Asimismo, los grupos tratados solo con LPS (*Salmonella* y *E. coli*) mostraron niveles de IL-10 significativamente mayores en comparación con el control ($p < 0.001$), confirmando la activación de una respuesta inmunitaria moduladora en presencia de endotoxinas bacterianas. Este aumento corresponde a una respuesta antiinflamatoria secundaria, propia de la activación inmunológica inducida por el LPS.

Por otro lado, la comparación entre ambos tipos de LPS no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.078$), lo que sugiere que *Salmonella* y *E. coli* inducen respuestas antiinflamatorias similares en términos de producción de IL-10 bajo las condiciones del estudio.

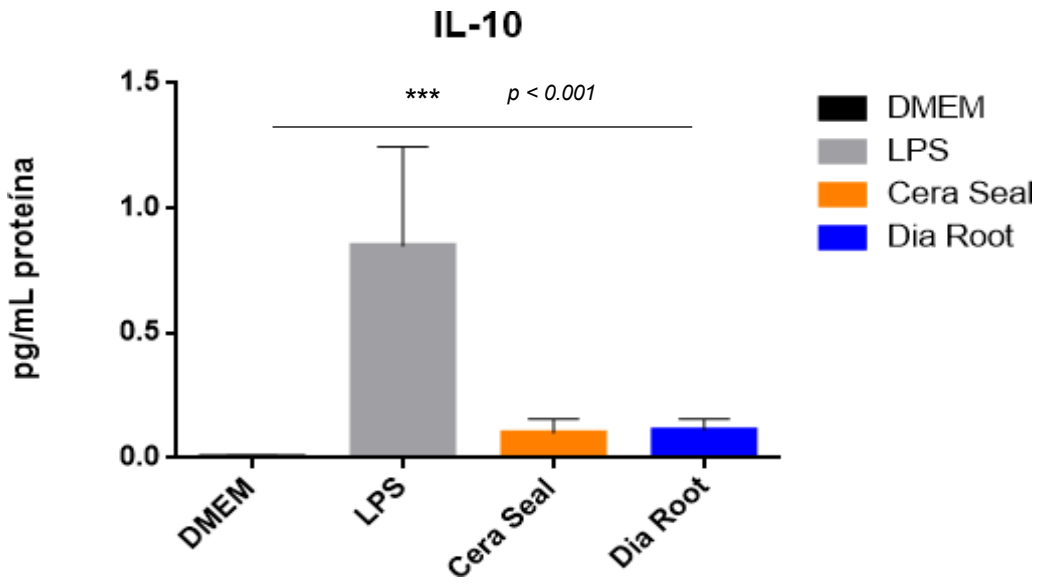
La comparación CS vs DR mostró una diferencia mínima (-0.03 pg/mL) con $p = 0.044$. Aunque el valor p indica significancia estadística, la magnitud es tan pequeña que no representa una diferencia biológicamente importante.

En conjunto, estos resultados indican que los selladores evaluados no estimulan la síntesis de IL-10, con una ligera tendencia de DR a presentar mayor estabilidad en su perfil de citocinas, manteniendo un perfil inmunológico comparable al control negativo, mientras que los estímulos bacterianos desencadenan una respuesta reguladora más intensa, típica de la activación de mecanismos antiinflamatorios.

Tabla 5. Prueba post hoc de Bonferroni para IL-10.

Comparación	Diferencia de medias	p
CS vs LPS *Salmonella*	-1.64	0.000002
CS vs LPS *E. coli*	-0.89	0.000001
CS vs control	0.02	0.000011
DR vs LPS *Salmonella*	-1.53	0.000006
DR vs LPS *E. coli*	-0.78	0.000003
DR vs control	0.05	0.000014
CS vs DR	-0.03	0.044
LPS E. coli vs control	-1.15	0.000003
LPS Salmonella vs control	-1.90	0.000005
LPS *Salmonella* vs LPS *E. coli*	0.75	0.078

Figura 7. Niveles de expresión de IL-10.



Grafica de niveles de expresión de IL-10. Expresión comparativa de IL-10 (pg/mL) en los distintos grupos experimentales a las 24 horas de exposición. Los grupos estimulados con LPS mostraron un incremento significativo en la producción de IL-10 en comparación con los grupos CS, DR y blanco ($p < 0.05$; ANOVA y Bonferroni). Esta respuesta podría reflejar un mecanismo compensatorio antiinflamatorio frente a la activación inmunitaria. Las barras representan media ± DE. Diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante asteriscos sobre las barras.

8.3.4 IL-6

La Tabla 6 muestra las comparaciones post hoc de Bonferroni para la expresión de IL-6, una citocina clave de fase aguda asociada con inflamación intensa. Los valores reflejan la diferencia de medias en pg/mL entre grupos y el valor de p correspondiente. El cemento CS mostró diferencias negativas muy amplias frente a los grupos estimulados con LPS *Salmonella* (p = 0.000008) y LPS *E. coli* (p = 0.000004), indicando que CS no induce una respuesta inflamatoria comparable a la generada por endotoxinas bacterianas.

Respecto al control, CS presentó una diferencia mínima (p = 0.000009), lo cual evidencia que su comportamiento es prácticamente equivalente al de células no estimuladas, apoyando su alta biocompatibilidad.

Dia Root también mostró diferencias negativas importantes frente a LPS *Salmonella* (p = 0.000001) y LPS *E. coli* (p = 0.000005). Estas diferencias indican que, al igual que CS, DR induce niveles muy bajos de IL-6 comparado con estímulos altamente proinflamatorios.

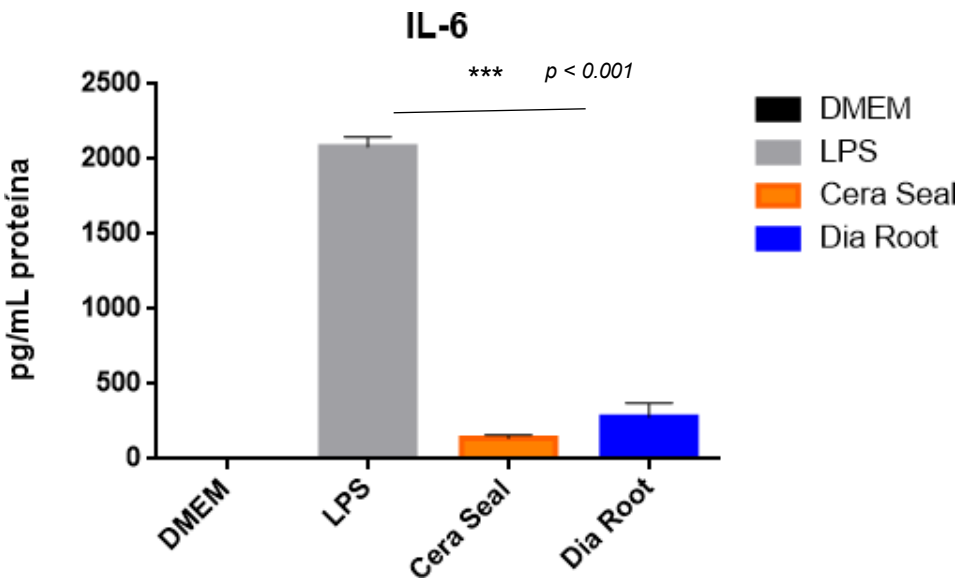
Sin embargo, al compararse con el control, DR mostró un aumento significativo (p = 0.000021), lo cual revela que DR genera mayor expresión de IL-6 en comparación con el grupo basal.

La comparación de CS vs. DR mostró una diferencia de −3 pg/mL (p = 0.067), sin significancia estadística. Esto significa que ambos selladores inducen niveles similares de IL-6. Esto indica que CS es más estable y menos proinflamatorio, mientras que DR muestra una ligera tendencia a elevar IL-6, aunque dentro de valores aún bajos en comparación con los grupos con LPS a las 24 horas.

Tabla 6. Prueba post hoc de Bonferroni para IL-6.

Comparación	Diferencia de medias	p
CS vs LPS *Salmonella*	-1795.74	0.000008
CS vs LPS *E. coli*	-1923.31	0.000004
CS vs control	2	0.000009
DR vs LPS *Salmonella*	-1656.32	0.000001
DR vs LPS *E. coli*	-1783.88	0.000005
DR vs control	278.06	0.000021
CS vs DR	-3	0.067
LPS *E. coli* vs control	-2061.94	0.000002
LPS *Salmonella* vs control	-1934.37	0.000003
LPS *Salmonella* vs LPS *E. coli*	-150	0.052

Figura 8. Niveles de expresión de IL-6 entre grupos experimentales.



Grafica de niveles de expresión de IL-6 entre grupos experimentales. Niveles medios de IL-6 (pg/mL) en los grupos evaluados tras 24 h de estimulación. Se detectaron diferencias altamente significativas entre los grupos tratados con LPS y los grupos CS, DR y blanco ($p < 0.001$). IL-6, como citocina clave en la inflamación aguda, mostró una respuesta amplificada especialmente ante LPS *E. coli*. Las barras representan la media ± DE. Asteriscos *** sobre las columnas denotan diferencias estadísticamente significativas (ANOVA de un factor y prueba de Bonferroni).

8.3.5 Citocinas sin cambios significativos

8.3.5.1 INF-γ

Aunque se observó una media mayor en el grupo CS, las diferencias no alcanzaron significancia estadística ($p = 0.159$). Todas las comparaciones post hoc fueron no significativas.

8.3.5.2 IL-2

Se detectaron ligeras variaciones entre grupos, pero ninguna comparación resultó significativa. Esto sugiere una baja o nula activación de esta citocina en los modelos utilizados.

8.3.5.3 IL-4

No presentó ninguna variabilidad entre grupos, por lo que no fue posible aplicar pruebas estadísticas. Esto podría deberse a una ausencia completa de expresión detectable o una limitación técnica.

Los resultados obtenidos sugieren que la estimulación con LPS de *E. coli* genera una respuesta inmunológica robusta, evidenciada por la producción significativamente elevada de citocinas proinflamatorias como TNF-α e IL-6, así como de la citocina antiinflamatoria IL-10, lo que refleja un intento del sistema inmunológico de modular la inflamación.

En contraste, los grupos CS y DR, posiblemente representantes de condiciones fisiológicas o terapéuticas, mostraron una expresión baja o nula de la mayoría de las citocinas evaluadas, similar a los niveles observados en el grupo Blanco, lo que indica ausencia de estimulación inmunológica relevante bajo estas condiciones.

La falta de expresión significativa de INF-γ, IL-4 e IL-2 en todos los grupos podría deberse a que estas citocinas requieren un tiempo de activación mayor al período de 24 horas o están involucradas en fases más tardías o específicas de la respuesta inmune.

9. DISCUSIÓN

La biocompatibilidad de los cementos selladores biocerámicos ha sido objeto de creciente investigación en los últimos años. Un estudio reciente *in vivo* mostró que CeraSeal produce una respuesta inflamatoria moderada y menor grosor de cápsula fibrosa en tejidos subcutáneos de roedores comparado con selladores tradicionales como AH-Plus (121).

Por otro lado, investigaciones *in vitro* han evidenciado que los selladores basados en silicato de calcio, como CeraSeal, mantienen mayor viabilidad celular y menor expresión de citocinas inflamatorias como IL-6 e IL-8 en células del ligamento periodontal, en comparación con selladores de resina epoxi (118).

El comportamiento inmunológico del grupo tratado con DiaRoot Bio Sealer (DR) demostró una respuesta inflamatoria moderada, sin incrementos significativos en citocinas proinflamatorias como TNF-α o IL-6, lo que sugiere que este material posee alta biocompatibilidad y baja inmunogenicidad. A diferencia de los grupos estimulados con LPS de *Salmonella* y *E. coli*, donde se observaron elevaciones notables en dichas citocinas, el grupo DR mantuvo un perfil inmunológico similar al grupo blanco. Esta regulación de la respuesta inmune es crucial en el contexto endodóntico, ya que evita una inflamación exacerbada que podría interferir con la cicatrización periapical (122).

Desde una perspectiva fisiológica, estos efectos podrían atribuirse a la composición biocerámica a base de silicato tricálcico del DiaRoot Bio Sealer, que al interactuar con los fluidos tisulares libera iones de calcio y silicato. Estos iones promueven la formación de una capa superficial de hidroxiapatita, esencial para la biomineralización intratubular y la integración del material con el tejido dentinario y periapical. Este fenómeno también favorece el reclutamiento celular y la diferenciación de células madre mesenquimales, lo cual potencia la regeneración ósea y ligamentaria en zonas afectadas por procesos inflamatorios o infecciosos (123).

Adicionalmente, estudios *in vitro* han demostrado que DiaRoot Bio Sealer presenta una fuerza de adhesión ("push-out bond strength") significativamente superior a la de otros selladores de resina epoxi y biocerámicos. Esta propiedad mejora el sellado apical y lateral, reduciendo las posibilidades de microfiltración y reinfección, lo cual es crítico para el éxito a largo plazo de la terapia endodóntica (124).

En conjunto, las propiedades biológicas, químicas y mecánicas del DiaRoot Bio Sealer lo posicionan como una herramienta terapéutica avanzada en endodoncia contemporánea. Su capacidad de modular la respuesta inmune, estimular la regeneración tisular y mantener una adhesión efectiva en condiciones clínicas adversas, lo convierten en una opción particularmente valiosa para el manejo de lesiones periapicales, tratamientos en dientes inmaduros o procedimientos donde se busca una respuesta reparativa más allá del simple sellado (125).

Estas evidencias coinciden con tus resultados: niveles elevados de TNFa, IL-6 e IL-10 en los grupos con LPS, lo que demuestra que los selladores biocerámicos responden en presencia de estímulos inflamatorios, pero mantienen una biocompatibilidad aceptable en ausencia de dichos estímulos (como se observa en el grupo CS). Un hallazgo interesante es que IL-10, una citocina antiinflamatoria y reguladora, también se eleva, lo que posiblemente refleja un mecanismo de control de la inflamación que se ha reportado en otros estudios de selladores biocerámicos (126).

Castro en 2023 realizaron un estudio con monocitos aislados de sangre periférica estimulados con medios de cementos selladores a base de silicato de calcio cultivados durante 5 días, para analizar los cambios en la morfología, sus hallazgos revelaron que, en presencia de estos materiales, los monocitos mostraron cambios en la morfología celular, con aumento de tamaño y una morfología elongada o en forma de huso (79). En el presente estudio se encontró un cambio morfológico en los monocitos después de 24 horas con un aumento de tamaño y proliferación.

Finalmente, En condiciones *in vitro*, los selladores biocerámicos seleccionados (CeraSeal, Dia-Root Bio Sealer) tienen una respuesta inflamatoria controlada, lo

que apoya su uso seguro en biocompatibilidad, aunque debe considerarse siempre la extrapolación *in vivo* y clínico, puesto que la respuesta inmunológica en tejido vivo es más compleja.

10. CONCLUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que los cementos selladores biocerámicos CeraSeal y DiaRoot Bio Sealer presentan una alta biocompatibilidad *in vitro*, evidenciada por la baja expresión de citocinas proinflamatorias (TNF-α, IL-6) y la ausencia de diferencias significativas frente al grupo control. En contraste, los grupos estimulados con LPS de *Escherichia coli* y *Salmonella* provocaron una respuesta inflamatoria robusta, confirmando la sensibilidad del modelo experimental. La activación moderada de IL-10 sugiere un mecanismo regulador antiinflamatorio, característico de materiales con buena tolerancia celular. En conjunto, estos hallazgos respaldan el uso clínico seguro de CeraSeal y DiaRoot Bio Sealer, destacando su potencial para mantener un equilibrio inmunológico favorable y contribuir a la reparación periapical posterior al tratamiento endodóntico.

11. PERSPECTIVAS FUTURAS

Para profundizar en la comprensión de la respuesta biológica de los selladores biocerámicos, se recomienda:

1. Extender el tiempo de exposición celular (48–120 h) para evaluar fases tardías de la respuesta inmune.
2. Incluir líneas celulares específicas, como macrófagos, células de pulpa dental o células del ligamento periodontal, que permitan analizar interacciones más representativas del entorno periradicular.
3. Evaluar marcadores de regeneración tisular, como TGF-β y VEGF, que complementen el análisis inmunológico.
4. Realizar estudios *in vivo*, que confirmen la correlación entre los resultados *in vitro* y las condiciones fisiológicas reales.
5. Explorar el efecto combinado de los selladores con diferentes sistemas adhesivos o técnicas de obturación, a fin de optimizar su desempeño clínico integral.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Siqueira JF, Rôças IN. Present status and future directions: Microbiology of endodontic infections. Int Endod J. el 13 de mayo de 2022;55(S3):512–30.
2. Arruda-Vasconcelos R, Barbosa-Ribeiro M, Louzada LM, Lemos BIN, de-Jesus-Soares A, Ferraz CCR, et al. Efficacy of 6% Sodium Hypochlorite on Infectious Content of Teeth with Symptomatic Irreversible Pulpitis. J Endod. febrero de 2022;48(2):179–89.
3. Liu Y, Wang J, Dong B, Zhai Y, Zhou L, Sun S, et al. Prediction and validation of microbial community function from normal pulp to pulpitis caused by deep dentinal caries. Int Endod J. el 31 de mayo de 2023;56(5):608–21.
4. Chopra V, Davis G, Baysan A. Physico-Chemical Properties of Calcium-Silicate vs. Resin Based Sealers—A Systematic Review and Meta-Analysis of Laboratory-Based Studies. Materials. el 29 de diciembre de 2021;15(1):229.
5. Radwanski M, Leski M, Puszkarz AK, Sokolowski J, Hardan L, Bourgi R, et al. A Micro-CT Analysis of Initial and Long-Term Pores Volume and Porosity of Bioactive Endodontic Sealers. Biomedicines. el 26 de septiembre de 2022;10(10):2403.
6. Williams H, Mack C, Baraz R, Marimuthu R, Naralashetty S, Li S, et al. Monocyte Differentiation and Heterogeneity: Inter-Subset and Interindividual Differences. Int J Mol Sci. el 15 de mayo de 2023;24(10):8757.
7. Carlini V, Noonan DM, Abdalalem E, Goletti D, Sansone C, Calabrone L, et al. The multifaceted nature of IL-10: regulation, role in immunological homeostasis and its relevance to cancer, COVID-19 and post-COVID conditions. Front Immunol. el 8 de junio de 2023;14.
8. Zohrabian VM, Poon CS, Abrahams JJ. Embryology and Anatomy of the Jaw and Dentition. Seminars in Ultrasound, CT and MRI. octubre de 2015;36(5):397–406.
9. Ouchi T, Shimizu E, Li B. Editorial: Perivascular niche and stem cell signaling in tooth. Front Cell Dev Biol. el 31 de enero de 2025;13.
10. Kim MG, Kim DY, Ko HG, Byun JS, Kim JH, Park CH. Spatial Platform for Periodontal Ligament Angulation and Regeneration: In Vivo Pilot Study. J Funct Biomater. el 13 de marzo de 2025;16(3):99.
11. Maier W. Anatomy, Head and Neck, Pulp (Tooth). Geburtshilfe Frauenheilkd. mayo de 1973;33(5):379–84.

12. Samiei M, Harmsen MC, Abdolahinia ED, Barar J, Petridis X. Scaffold-Free Strategies in Dental Pulp/Dentine Tissue Engineering: Current Status and Implications for Regenerative Biological Processes. Bioengineering. el 18 de febrero de 2025;12(2):198.

13. Bryniarska-Kubiak N, Basta-Kaim A, Kubiak A. Mechanobiology of Dental Pulp Cells. Cells. el 21 de febrero de 2024;13(5):375.

14. Berman LH, Hargreaves KM. Cohen. Vías de la pulpa. Elsevier Health Sciences; 2022.

15. Arora S, Gilroy F, Friedlander LT, Hussaini HM, Duncan HF, Cathro P, et al. A Critical Review of In Vitro Methodologies for Studying Inflammatory Responses in Human Dental Pulp Cell Cultures. Int Endod J. el 25 de noviembre de 2025;58(11):1670–80.

16. Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues. Int J Mol Sci. el 2 de febrero de 2021;22(3):1480.

17. Zafar K, Nazeer M, Ghafoor R, Khan F. Success of pulpotomy in mature permanent teeth with irreversible pulpitis: A systematic review. Journal of Conservative Dentistry. 2020;23(2):121.

18. Fouad AF. Microbiological Aspects of Traumatic Injuries. J Endod. diciembre de 2019;45(12):S39–48.

19. Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues. Int J Mol Sci. el 2 de febrero de 2021;22(3):1480.

20. Ye L, Cao L, Song W, Yang C, Tang Q, Yuan Z. Interaction between apical periodontitis and systemic disease (Review). Int J Mol Med. el 30 de mayo de 2023;52(1):60.

21. Zou X, Zheng X, Liang Y, Zhang C, Fan B, Liang J, et al. Expert consensus on irrigation and intracanal medication in root canal therapy. Int J Oral Sci. el 1 de marzo de 2024;16(1):23.

22. Barnes JJ, Blum IR. Contemporary Cleaning of the Root Canal System. Prim Dent J. el 23 de diciembre de 2020;9(4):24–30.

23. Tomson PL, Adams N, Kavanagh D, Virdee SS. Non-surgical endodontics: contemporary biomechanical preparation of the root canal system. Br Dent J. el 11 de abril de 2025;238(7):478–86.

24. Tait C, Camilleri J, Blundell K. Non-surgical endodontics - obturation. Br Dent J. el 11 de abril de 2025;238(7):487–96.

25. Darcey J, Jawad S, Taylor C, Roudsari RV, Hunter M. Modern endodontic principles part 4: irrigation. Dent Update. el 2 de enero de 2016;43(1):20–33.

26. Bao P, Liu H, Yang L, Zhang L, Yang L, Xiao N, et al. In vitro efficacy of Er:YAG laser-activated irrigation versus passive ultrasonic irrigation and sonic-powered irrigation for treating multispecies biofilms in artificial grooves and dentinal tubules: an SEM and CLSM study. BMC Oral Health. el 22 de febrero de 2024;24(1):261.

27. Gusiyska A, Dyulgerova E. Clinical Approaches to the Three-Dimensional Endodontic Obturation Protocol for Teeth with Periapical Bone Lesions. Applied Sciences. el 29 de agosto de 2023;13(17):9755.

28. Ricucci D, Rôças IN, Alves FRF, Loghin S, Siqueira JF. Apically Extruded Sealers: Fate and Influence on Treatment Outcome. J Endod. el 1 de febrero de 2016;42(2):243–9.

29. Haapasalo M, Shen Y, Qian W, Gao Y. Irrigation in Endodontics. Dent Clin North Am. abril de 2010;54(2):291–312.

30. Tomson RME, Polycarpou N, Tomson PL. Contemporary obturation of the root canal system. Br Dent J. el 21 de marzo de 2014;216(6):315–22.

31. FERREIRA N de S, GOLLO EKF, BOSCATO N, ARIAS A, SILVA EJNL da. Postoperative pain after root canal filling with different endodontic sealers: a randomized clinical trial. Braz Oral Res. 2020;34.

32. Bhandi S, Mashyakhy M, Abumelha AS, Alkahtany MF, Jamal M, Chohan H, et al. Complete Obturation—Cold Lateral Condensation vs. Thermoplastic Techniques: A Systematic Review of Micro-CT Studies. Materials. el 18 de julio de 2021;14(14):4013.

33. Kamacı Esen A, Kalabalık F. Clinical outcome of root canal obturation using different based sealers: a retrospective cohort study. BMC Oral Health. el 26 de diciembre de 2024;24(1):1561.

34. KOMABAYASHI T, COLMENAR D, CVACH N, BHAT A, PRIMUS C, IMAI Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. Dent Mater J. el 28 de septiembre de 2020;39(5):703–20.

35. KOMABAYASHI T, COLMENAR D, CVACH N, BHAT A, PRIMUS C, IMAI Y. Comprehensive review of current endodontic sealers. Dent Mater J. el 28 de septiembre de 2020;39(5):703–20.

36. Yaltaghiyani M, Dizaj SM, Shahi S, Sharifi S, Niaei P, Moslemi E, et al. Solubility, Flowability, and Setting Time of a New Endodontic Sealer based on Polycaprolactone. Open Dent J. el 15 de noviembre de 2024;18(1).

37. Drukteinis S, Rajasekharan S, Widbiller M. Advanced Materials for Clinical Endodontic Applications: Current Status and Future Directions. J Funct Biomater. el 26 de enero de 2024;15(2):31.

38. Çelebi Keskin İS, Kabadayı H, Vatansever HS, Erişen FR. Impact of various endodontic sealers on HPDLF Cell viability and apoptosis. Sci Rep. el 8 de noviembre de 2024;14(1):27270.

39. Garrido ADB, Lia RCC, França SC, Da Silva JF, Astolfi-Filho S, Sousa-Neto MD. Laboratory evaluation of the physicochemical properties of a new root canal sealer based on *Copaifera multijuga* oil-resin. Int Endod J. el 2 de abril de 2010;43(4):283–91.

40. Sousa CJA, Montes CRM, Pascon EA, Loyola AM, Versiani MA. Comparison of the Intraosseous Biocompatibility of AH Plus, EndoREZ, and Epiphany Root Canal Sealers. J Endod. julio de 2006;32(7):656–62.

41. Mert DB, Gençoğlu N. Evaluation of the Physical Properties of Different Bioceramic-Based Root Canal Sealers. Bezmialem Science. el 1 de abril de 2024;12(2):224–30.

42. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Antimicrobial and Antibiofilm Properties of Bioceramic Materials in Endodontics. Materials. el 10 de diciembre de 2021;14(24):7594.

43. Takahara S, Edanami N, Ibn Belal RS, Yoshiba K, Takenaka S, Ohkura N, et al. An Evaluation of the Biocompatibility and Chemical Properties of Two Bioceramic Root Canal Sealers in a Sealer Extrusion Model of Rat Molars. J Funct Biomater. el 4 de enero de 2025;16(1):14.

44. Guo J, Peters OA, Hosseinpour S. Immunomodulatory Effects of Endodontic Sealers: A Systematic Review. Dent J (Basel). el 17 de febrero de 2023;11(2):54.

45. Candeiro GT de M, Lavor AB, Lima IT de F, Vasconcelos BC de, Gomes NV, Iglecias EF, et al. Penetration of bioceramic and epoxy-resin endodontic cements into lateral canals. Braz Oral Res. 2019;33.

46. Radwanski M, Rozpedek-Kaminska W, Galita G, Siwecka N, Sokolowski J, Majsterek I, et al. Cytotoxicity and genotoxicity of bioceramic root canal sealers compared to conventional resin-based sealer. Sci Rep. el 19 de febrero de 2024;14(1):4124.

47. Zamparini F, Prati C, Taddei P, Spinelli A, Di Foggia M, Gandolfi MG. Chemical-Physical Properties and Bioactivity of New Premixed Calcium Silicate-Bioceramic Root Canal Sealers. Int J Mol Sci. el 11 de noviembre de 2022;23(22):13914.

48. López-García S, Myong-Hyun B, Lozano A, García-Bernal D, Forner L, Llena C, et al. Cytocompatibility, bioactivity potential, and ion release of three premixed calcium silicate-based sealers. Clin Oral Investig. el 9 de mayo de 2020;24(5):1749–59.

49. Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, da Fonseca TS, Bernardi MIB, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, et al. Zirconium oxide and niobium oxide used as radiopacifiers in a calcium silicate-based material stimulate fibroblast proliferation and collagen formation. Int Endod J. el 6 de diciembre de 2017;50(S2).

50. Karobari MI, Batul R, Snigdha NTS, AL-Rawas M, Noorani TY. Evaluation of push-out bond strength, dentinal tubule penetration and adhesive pattern of bio-ceramic and epoxy resin-based root canal sealers. PLoS One. el 13 de noviembre de 2023;18(11):e0294076.

51. Dimitrova-Nakov S, Uzunoglu E, Ardila-Osorio H, Baudry A, Richard G, Kellermann O, et al. In vitro bioactivity of Bioroot™ RCS, via A4 mouse pulpal stem cells. Dental Materials. noviembre de 2015;31(11):1290–7.

52. Özdemir O, Kopac T. Cytotoxicity and biocompatibility of root canal sealers: A review on recent studies. J Appl Biomater Funct Mater. el 14 de enero de 2022;20.

53. Kunert M, Rozpedek-Kaminska W, Galita G, Sauro S, Bourgi R, Hardan L, et al. The Cytotoxicity and Genotoxicity of Bioactive Dental Materials. Cells. el 15 de octubre de 2022;11(20):3238.

54. Esen M, Guven Y, Seyhan MF, Ersev H, Tuna-Ince EB. Evaluation of the genotoxicity, cytotoxicity, and bioactivity of calcium silicate-based cements. BMC Oral Health. el 20 de enero de 2024;24(1):119.

55. Dixit U, Patil RSB, Parekh R. Cytotoxicity and Bioactivity of Mineral Trioxide Aggregate and Bioactive Endodontic Type Cements: A Systematic Review. Int J Clin Pediatr Dent. el 14 de julio de 2021;14(1):30–9.

56. Ferreira CMA, Sassone LM, Gonçalves AS, de Carvalho JJ, Tomás-Catalá CJ, García-Bernal D, et al. Physicochemical, cytotoxicity and in vivo biocompatibility of a high-plasticity calcium-silicate based material. Sci Rep. el 8 de marzo de 2019;9(1):3933.

57. Rebolledo S, Alcántara-Dufeu R, Luengo Machuca L, Ferrada L, Sánchez-Sanhueza GA. Real-time evaluation of the biocompatibility of calcium silicate-based endodontic cements: An in vitro study. Clin Exp Dent Res. el 2 de abril de 2023;9(2):322–31.

58. Dr. Lenin Pavón Romero DraMCJMQFBMEGA. Inmunología molecular, celular y transicional . 2001.

59. Soares CLR, Wilairatana P, Silva LR, Moreira PS, Vilar Barbosa NMM, da Silva PR, et al. Biochemical aspects of the inflammatory process: A narrative review. Biomedicine & Pharmacotherapy. diciembre de 2023;168:115764.

60. Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, et al. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. Signal Transduct Target Ther. el 12 de julio de 2021;6(1):263.

61. Guilliams M, Mildner A, Yona S. Developmental and Functional Heterogeneity of Monocytes. Immunity. octubre de 2018;49(4):595–613.

62. Galler KM, Weber M, Korkmaz Y, Widbiller M, Feuerer M. Inflammatory Response Mechanisms of the Dentine–Pulp Complex and the Periapical Tissues. Int J Mol Sci. el 2 de febrero de 2021;22(3):1480.

63. Baranov M V., Kumar M, Sacanna S, Thutupalli S, van den Bogaart G. Modulation of Immune Responses by Particle Size and Shape. Front Immunol. el 12 de febrero de 2021;11.

64. Jeanneau C, Giraud T, Milan JL, About I. Investigating unset endodontic sealers' eugenol and hydrocortisone roles in modulating the initial steps of inflammation. Clin Oral Investig. el 21 de febrero de 2020;24(2):639–47.

65. Lawrence T, Gilroy DW. Chronic inflammation: a failure of resolution? Int J Exp Pathol. el 8 de abril de 2007;88(2):85–94.

66. Lin LM, Huang GTJ, Rosenberg PA. Proliferation of Epithelial Cell Rests, Formation of Apical Cysts, and Regression of Apical Cysts after Periapical Wound Healing. J Endod. agosto de 2007;33(8):908–16.

67. Lee BN, Hong JU, Kim SM, Jang JH, Chang HS, Hwang YC, et al. Anti-inflammatory and Osteogenic Effects of Calcium Silicate–based Root Canal Sealers. J Endod. enero de 2019;45(1):73–8.

68. Kleiveland CR. Peripheral Blood Mononuclear Cells. En: The Impact of Food Bioactives on Health. Cham: Springer International Publishing; 2015. p. 161–7.

69. Tong Y, Ku X, Wu C, Liu J, Yang C, Tang W, et al. Data-independent acquisition-based quantitative proteomic analysis reveals differences in host immune response of peripheral blood mononuclear cells to sepsis. Scand J Immunol. el 10 de abril de 2019;89(4).

70. Alexovič M, Lindner JR, Bober P, Longuespée R, Sabo J, Davalieva K. Human peripheral blood mononuclear cells: A review of recent proteomic applications. Proteomics. el 7 de agosto de 2022;22(15–16).

71. Chaintreuil P, Kerreneur E, Bourgoin M, Savy C, Favreau C, Robert G, et al. The generation, activation, and polarization of monocyte-derived

macrophages in human malignancies. Front Immunol. el 18 de abril de 2023;14.

72. Imhof BA, Aurrand-Lions M. Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. Nat Rev Immunol. junio de 2004;4(6):432–44.

73. Watanabe S, Alexander M, Misharin A V., Budinger GRS. The role of macrophages in the resolution of inflammation. Journal of Clinical Investigation. el 20 de mayo de 2019;129(7):2619–28.

74. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. Nature. el 24 de abril de 2013;496(7446):445–55.

75. PUCINELLI CM, NELSON-FILHO P, LUCISANO MP, LEÓN JE, FACCIOLI LH, SORGI CA, et al. M1 and M2 macrophages markers are alternately expressed during periapical lesion development. Journal of Applied Oral Science. 2025;33.

76. Yunna C, Mengru H, Lei W, Weidong C. Macrophage M1/M2 polarization. Eur J Pharmacol. junio de 2020;877:173090.

77. Wen Y, Lin Y, Zhou L, Lin C, Zhang L. The immune landscape in apical periodontitis: From mechanism to therapy. Int Endod J. noviembre de 2024;57(11):1526–45.

78. de Oliveira CMB, Sakata RK, Issy AM, Gerola LR, Salomão R. Cytokines and Pain. Brazilian Journal of Anesthesiology. marzo de 2011;61(2):255–65.

79. Castro-Jara S, Antilef B, Osbén C, Alcántara R, Fraga M, Nova-Lamperti E, et al. Bioactivity analysis of calcium silicate-based sealers and repair cements on the phenotype and cytokine secretion profile of <scp>CD14</scp> $^{+}$ monocytes: An *ex vivo* study. Int Endod J. el 25 de enero de 2023;56(1):80–91.

80. Bretscher PA. The role of cytokines in determining the Th1/Th2 phenotype of an immune response: Coherence of the T cell response and the Cytokine Implementation Hypothesis. Scand J Immunol. el 29 de enero de 2022;95(1).

81. Borish LC, Steinke JW. 2. Cytokines and chemokines. Journal of Allergy and Clinical Immunology. febrero de 2003;111(2):S460–75.

82. Zhang H, Dhalla NS. The Role of Pro-Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Cardiovascular Disease. Int J Mol Sci. el 16 de enero de 2024;25(2):1082.

83. Al-Qahtani AA, Alhamlan FS, Al-Qahtani AA. Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Interleukins in Infectious Diseases: A Comprehensive Review. Trop Med Infect Dis. el 4 de enero de 2024;9(1):13.

84. Pohl S, Akamp T, Smeda M, Uderhardt S, Besold D, Krastl G, et al. Understanding dental pulp inflammation: from signaling to structure. Front Immunol. el 29 de octubre de 2024;15.

85. Ogulur I, Mitamura Y, Yazici D, Pat Y, Ardicli S, Li M, et al. Type 2 immunity in allergic diseases. Cell Mol Immunol. el 17 de febrero de 2025;22(3):211–42.

86. Iwaszko M, Biały S, Bogunia-Kubik K. Significance of Interleukin (IL)-4 and IL-13 in Inflammatory Arthritis. Cells. el 3 de noviembre de 2021;10(11):3000.

87. Kang S, Narazaki M, Metwally H, Kishimoto T. Historical overview of the interleukin-6 family cytokine. Journal of Experimental Medicine. el 4 de mayo de 2020;217(5).

88. Jawa RS, Anillo S, Huntoon K, Baumann H, Kulaylat M. Interleukin-6 in Surgery, Trauma, and Critical Care Part II: Clinical Implications. J Intensive Care Med. el 30 de marzo de 2011;26(2):73–87.

89. Emmerich J, Mumm JB, Chan IH, LaFace D, Truong H, McClanahan T, et al. IL-10 Directly Activates and Expands Tumor-Resident CD8+ T Cells without *De Novo* Infiltration from Secondary Lymphoid Organs. Cancer Res. el 15 de julio de 2012;72(14):3570–81.

90. Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, et al. Biology of interleukin-10. Cytokine Growth Factor Rev. octubre de 2010;21(5):331–44.

91. Piazzon MC, Lutfalla G, Forlenza M. IL10, A Tale of an Evolutionarily Conserved Cytokine across Vertebrates. Crit Rev Immunol. 2016;36(2):99–129.

92. Gonzalez Caldito N. Role of tumor necrosis factor-alpha in the central nervous system: a focus on autoimmune disorders. Front Immunol. el 7 de julio de 2023;14.

93. Leone GM, Mangano K, Petralia MC, Nicoletti F, Fagone P. Past, Present and (Foreseeable) Future of Biological Anti-TNF Alpha Therapy. J Clin Med. el 17 de febrero de 2023;12(4):1630.

94. Tran DT, Batchu SN, Advani A. Interferons and interferon-related pathways in heart disease. Front Cardiovasc Med. el 11 de abril de 2024;11.

95. Sheibak N, Heidari Z, Mahmoudzadeh-Sagheb H. Immunoexpression of interferon-gamma in the interdental gingiva of chronic periodontitis patients with interferon-gamma (+874A/T) rs62559044 polymorphism. J Oral Biol Craniofac Res. septiembre de 2022;12(5):727–32.

96. Casanova JL, MacMicking JD, Nathan CF. Interferon- **γ** and infectious diseases: Lessons and prospects. Science (1979). el 19 de abril de 2024;384(6693).

97. Chow KT, Gale M. SnapShot: Interferon Signaling. Cell. diciembre de 2015;163(7):1808-1808.e1.

98. Cicchese JM, Evans S, Hult C, Joslyn LR, Wessler T, Millar JA, et al. Dynamic balance of pro- and anti-inflammatory signals controls disease and limits pathology. Immunol Rev. el 11 de septiembre de 2018;285(1):147–67.

99. de Oliveira Mendes ST, de Brito LCN, Rezende TMB, de Oliveira Reis R, Cardoso FP, Vieira LQ, et al. A decrease in the innate immune response to infection in the presence of root canal sealers. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. febrero de 2010;109(2):315–23.

100. Liu Y, Suarez-Arnedo A, Shetty S, Wu Y, Schneider M, Collier JH, et al. A Balance between Pro-Inflammatory and Pro-Reparative Macrophages is Observed in Regenerative D-MAPS. Advanced Science. el 10 de abril de 2023;10(11).

101. Ren K, Torres R. Role of interleukin-1β during pain and inflammation. Brain Res Rev. abril de 2009;60(1):57–64.

102. Yu M, Wang S, Lin D. Mechanism and Application of Biomaterials Targeting Reactive Oxygen Species and Macrophages in Inflammation. Int J Mol Sci. el 30 de diciembre de 2024;26(1):245.

103. Lee JH, Lee HH, Kim HW, Yu JW, Kim KN, Kim KM. Immunomodulatory/anti-inflammatory effect of ZOE-based dental materials. Dental Materials. enero de 2017;33(1):e1–12.

104. Diomede F, Caputi S, Merciaro I, Frisone S, D'Arcangelo C, Piattelli A, et al. Pro-inflammatory cytokine release and cell growth inhibition in primary human oral cells after exposure to endodontic sealer. Int Endod J. el 28 de septiembre de 2014;47(9):864–72.

105. THEIN HSS, HASHIMOTO K, KAWASHIMA N, NODA S, OKIJI T. Evaluation of the anti-inflammatory effects of surface-reaction-type pre-reacted glass-ionomer filler containing root canal sealer in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. Dent Mater J. el 25 de enero de 2022;41(1):2021–139.

106. Liu C, Chu D, Kalantar-Zadeh K, George J, Young HA, Liu G. Cytokines: From Clinical Significance to Quantification. Advanced Science. el 10 de agosto de 2021;8(15).

107. Liu G, Qi M, Hutchinson MR, Yang G, Goldys EM. Recent advances in cytokine detection by immunosensing. Biosens Bioelectron. mayo de 2016;79:810–21.

108. Arora SK. Analysis of intracellular cytokines using flowcytometery. Methods in Cell Science. marzo de 2002;24(1–3):37–40.

109. Ahrazoglu T, Kluczny JI, Kleimann P, Irschfeld LM, Nienhaus FT, Bönner F, et al. Design of a Robust Flow Cytometric Approach for Phenotypical and Functional Analysis of Human Monocyte Subsets in Health and Disease. Biomolecules. el 3 de octubre de 2024;14(10):1251.

110. Neurath MF. Strategies for targeting cytokines in inflammatory bowel disease. Nat Rev Immunol. el 14 de agosto de 2024;24(8):559–76.

111. Panahipour L, Micucci C, Gruber R. Inflammatory Response of THP1 and U937 Cells: The RNAseq Approach. Cells. el 13 de diciembre de 2024;13(24):2062.

112. Bhattacharjee J, Das B, Mishra A, Sahay P, Upadhyay P. Monocytes isolated by positive and negative magnetic sorting techniques show different molecular characteristics and immunophenotypic behaviour. F1000Res. el 22 de diciembre de 2017;6:2045.

113. Taciak B, Białasek M, Braniewska A, Sas Z, Sawicka P, Kiraga Ł, et al. Evaluation of phenotypic and functional stability of RAW 264.7 cell line through serial passages. PLoS One. el 11 de junio de 2018;13(6):e0198943.

114. LV Y, WANG G, XU W, TAO P, LV X, WANG Y. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a marker of osteoclast number and volume in RAW 264.7 cells treated with receptor-activated nuclear κB ligand. Exp Ther Med. enero de 2015;9(1):143–6.

115. Baxter EW, Graham AE, Re NA, Carr IM, Robinson JI, Mackie SL, et al. Standardized protocols for differentiation of THP-1 cells to macrophages with distinct M(IFNγ+LPS), M(IL-4) and M(IL-10) phenotypes. J Immunol Methods. marzo de 2020;478:112721.

116. Geraghty RJ, Capes-Davis A, Davis JM, Downward J, Freshney RI, Knezevic I, et al. Guidelines for the use of cell lines in biomedical research. Br J Cancer. el 12 de septiembre de 2014;111(6):1021–46.

117. Guo D, Zhang X, Huang Z, Zhou X, Zhu L, Zhao Y, et al. Comparison of cellular responses across multiple passage numbers in Ba/F3-BCR-ABL cells induced by silver nanoparticles. Sci China Life Sci. el 31 de octubre de 2012;55(10):898–905.

118. Oh H, Kim E, Lee S, Park S, Chen D, Shin SJ, et al. Comparison of Biocompatibility of Calcium Silicate-Based Sealers and Epoxy Resin-Based Sealer on Human Periodontal Ligament Stem Cells. Materials. el 20 de noviembre de 2020;13(22):5242.

119. Chen CC, Shie MY, Ding SJ. Human dental pulp cell responses to new calcium silicate-based endodontic materials. Int Endod J [Internet]. septiembre de 2011;44(9):836–42. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2591.2011.01890.x

120. HERNÁNDEZ SANDOVAL Bernardo. Estudio in vitro sobre la actividad antimicrobiana, y la citotoxicidad en células de ligamento periodontal, de los cementos biocerámicos Endosequence Sealer, Ceraseal . 2023;

121. Anous W, Hussein AM, Desouky AA. Biocompatibility of different root canal sealers (In vivo study). Egypt Dent J [Internet]. el 1 de julio de 2025;71(3):2735–49. Disponible en: https://edj.journals.ekb.eg/article_440865.html

122. Nagata JY, Soares AJ, Souza-Filho FJ, Zaia AA, Ferraz CCR, Almeida JFA, et al. Microbial Evaluation of Traumatized Teeth Treated with Triple Antibiotic Paste or Calcium Hydroxide with 2% Chlorhexidine Gel in Pulp Revascularization. J Endod [Internet]. junio de 2014;40(6):778–83. Disponible en: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239914000995

123. Persadmehr A, Torneck CD, Cvitkovitch DG, Pinto V, Talior I, Kazembe M, et al. Bioactive Chitosan Nanoparticles and Photodynamic Therapy Inhibit Collagen Degradation In Vitro. J Endod [Internet]. mayo de 2014;40(5):703–9. Disponible en: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239913010236

124. Lee YN, Kim MK, Kim HJ, Yu MK, Lee KW, Min KS. Evaluation of the root dentin bond strength and intratubular biomineralization of a premixed calcium aluminate-based hydraulic bioceramic endodontic sealer. J Oral Sci. 2024;66(2):23–0235.

125. Ethem Yaylali I, Kececi AD, Ureyen Kaya B. Ultrasonically Activated Irrigation to Remove Calcium Hydroxide from Apical Third of Human Root Canal System: A Systematic Review of In Vitro Studies. J Endod. octubre de 2015;41(10):1589–99.

126. Kumar A, Kour S, Kaul S, Malik A, Dhani R, Kaul R. Cytotoxicity evaluation of Bio-C, CeraSeal, MTA - Fillapex, and AH Plus root canal sealers by microscopic and 3-(4, 5 dimethythiazol-2yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. Journal of Conservative Dentistry. 2023;26(1):73.

127. LTD. META BIOMED CO . LTD. 2025.

128. Lothus Medical. Dia-Root BIO Sealer , Cemento Hidraulico Bioceramico – Lothus Medical Technology . 2024. . 2024.