

# Biocompatibilidad de conos de Resilon y conos de gutapercha en el tejido celular subcutáneo de la rata. Un estudio piloto

## *Biocompatibility of Resilon and gutta-percha cones in the subcutaneous connective tissue of the rat. A pilot study*

### Resumen

Se implantaron en el tejido celular subcutáneo de ratas tubos de silicona conteniendo conos de Resilon o gutapercha sobreobturados en uno de los extremos. Las paredes laterales de los tubos fueron utilizadas como control negativo. Se analizó la respuesta del tejido a los 10, 30 y 60 días postimplantación. En contacto con Resilon se observó inicialmente una bandagranulomatosa rodeada por un tejido fibroso conteniendo numerosos vasos de neoformación. En contacto con los conos de gutapercha se observó un tejido fibroso joven, libre de células inflamatorias, conteniendo también vasos de neoformación. En los tejidos circundantes se detectaron en ambos casos numerosas partículas aparentemente liberadas de los materiales estudiados. Luego de 30 y 60 días, la reacción al Resilon o a los conos de gutapercha fue similar para ambos materiales. Los conos estaban rodeados por un tejido conectivo denso y libre de células inflamatorias. Se observó la presencia de numerosas partículas distribuidas en el tejido o fagocitadas por macrófagos, así como también dentro de la luz de vasos sanguíneos, sugiriendo la transportación de partículas hacia zonas más alejadas. En contacto con la pared de los tubos de silicona se observó una cápsula fibrosa sin células inflamatorias, conteniendo vasos de neoformación y cuya densidad y espesor se incrementaba en función del tiempo transcurrido. Los resultados demostraron que luego de 60 días los conos de Resilon o de gutapercha analizados no provocaron reacciones inflamatorias en el tejido celular subcutáneo de la rata, aunque la intensa actividad macrofágica estimulada por la progresiva degradación de los materiales sugiere evitar en lo posible la sobreobturación con éstos.

**PALABRAS CLAVE:** biocompatibilidad, gutapercha, Resilon, respuesta tisular.

### Summary

Silicone tubes overfilled at one end with Resilon or gutta-percha cones, were implanted in the subcutaneous connective tissue of the rat. The tissue reaction to the cones and to the lateral silicone walls of the tubes (negative control) was histologically analyzed under light microscopy. After 10, 30, and 60 days of implantation, different grades of tissue reaction were recorded. A thin band of granulomatous tissue was initially observed in contact with Resilon. The inflammatory tissue was surrounded by numerous fibroblasts and newly formed vessels. In contact with gutta-percha cones, a juvenile fibrous tissue free of inflammatory cells and containing newly formed vessels was observed. Within the tissues in contact with both materials, many dark particles which appeared to be released from the cones were also found. After 30 and 60 days, the tissue reaction to both Resilon and gutta-percha cones was similar. The cones were surrounded by a dense fibrous connective tissue free of inflammatory cells. Many dark particles were observed to be randomly distributed within the tissues or macrophages as well as within newly formed vessels, suggesting particle transportation. In contact with the silicone wall of the tubes, a fibrous connective tissue free of inflammatory cells, whose density and thickness increased with time was observed. Although that both Resilon and gutta-percha cones did not elicit an inflammatory tissue response at the end of the experiment, the intense macrophagic activity produced by the progressive degradation of the materials suggest that all efforts should be made in order to avoid overfillings and to keep the cones within the limits of the root canal space.

**KEY WORDS:** biocompatibility, gutta-percha, Resilon, tissue response.

ZMENER,  
OSVALDO\*

PAMEIJER,  
CORNELIS H.\*\*

KOKUBU,  
GABRIEL ADRIÁN\*\*\*

GRANA,  
DANIEL RODOLFO\*\*\*\*

\*Profesor Titular, Carrera de Especialización en Endodoncia, Escuela de Odontología, USAL/AOA, Argentina.

\*\*Profesor Emérito, University of Connecticut School of Dentistry, Farmington, CT, USA.

\*\*\*Profesor Asociado, Cátedra de Anatomía Patológica, Escuela de Odontología, USAL/AOA, Argentina.

\*\*\*\*Profesor Adjunto, Cátedra de Anatomía Patológica, Escuela de Odontología, USAL/AOA, Argentina.

### Introducción

El uso de un material biocompatible y bien tolerado por los tejidos periapicales para la obturación del sistema de conductos radiculares, luego de su instrumentación, irrigación y desinfección, constituye uno de los factores fundamentales que regulan el éxito a distancia del tra-

tamiento endodóntico.<sup>1</sup> Con ese objetivo, se han sugerido una innumerable cantidad de materiales y técnicas, entre las cuales los conos de gutapercha (CGP) complementados por un sellador continúan siendo los materiales universalmente más utilizados.<sup>2</sup> Durante la última década, los selladores a base de metacrilatos hi-

Fecha de recepción:  
abril 2010

Fecha de aceptación y versión final:  
mayo 2010

drófilos han venido ganando popularidad entre los especialistas en endodoncia y han sido actualmente aceptados por la American Dental Association.<sup>3</sup> Los informes preliminares han revelado que el RealSeal (Sybron Dental Specialties, Orange CA, USA), previamente comercializado con el nombre de Epiphany, se comporta como un material biocompatible cuando se lo implanta en el tejido óseo de pequeños animales de laboratorio,<sup>4</sup> demostrando a su vez resultados promisorios en cuanto a su uso clínico en humanos.<sup>5-7</sup> RealSeal está constituido por una serie de conos de un material denominado Resilon (CRES), y un sellador a base de una resina de curado dual. De acuerdo con un informe preliminar<sup>8</sup> los CRES están constituidos por una resina termoplástica sintética a base de un polímero poliéster (policaprolactona) conteniendo además partículas de vidrio bioactivo, oxocloruro de bismuto y sulfato de bario con un relleno de aproximadamente 65% de su peso total. La posibilidad de que los materiales de obturación entren en contacto con los tejidos periapicales a causa de una sobreobtención accidental no advertida por el operador constituye una situación bastante frecuente en endodoncia,<sup>9</sup> pudiendo en estos casos ejercer una acción irritativa sobre ellos. Si bien la biocompatibilidad de la gutapercha ha sido ya analizada bajo diferentes condiciones experimentales,<sup>10-14</sup> las propiedades biológicas de los CRES no han sido aún bien determinadas. El objetivo de este estudio fue analizar comparativamente la biocompatibilidad de CRES y CGP implantados en el tejido celular subcutáneo de la rata.

#### Material y métodos

El protocolo de este estudio forma parte de un programa revisado y aprobado por la Comisión de Ética en Investigación Científica de la Asociación Odontológica Argentina. En este trabajo se utilizaron conos de RES #40 de conicidad .04 obtenidos al azar de seis diferentes avíos comerciales nuevos. Los conos se cortaron transversalmente por medio de una hoja filosa a 10 mm de su extremo apical y los especímenes así obtenidos se esterilizaron por medio de rayos gamma. Se prepararon tubos de silicona de grado médico (Raholin SRL, Buenos Aires, Argentina) de 8 mm de longitud, un diámetro externo de 2 mm y luz interna de 0,7 mm. Los tubos se esterilizaron en autoclave, y posteriormente los CRES fueron introducidos totalmente en los tubos de manera tal que su extremo apical sobrepasara 2 mm a través de uno de los extremos. La conicidad .04 permitía que el diámetro de los conos correspondiente a 2 mm de la punta ajustara adecuadamente a las paredes de silicona a nivel del extremo de los tu-

bos. El extremo opuesto no fue considerado para la evaluación. Los especímenes fueron implantados en el tejido celular subcutáneo de 9 ratas Wistar macho de aproximadamente 200 g de peso. Se utilizaron como control positivo CGP (Maillefer/Dentsply, Ballaigues, Switzerland), cuyas dimensiones y conicidad eran similares a los CRES. Previamente a su introducción en los tubos de silicona, los conos fueron esterilizados con rayos gamma. En total se realizaron 18 implantes; 9 implantes de CRES (n = 9) y 9 de CGP (n = 9). Los animales fueron tratados en conformidad con los requerimientos de las normas ISO 10993-1-1992 e ISO 10993-2-1992<sup>15,16</sup> y los principios éticos de experimentación y especificaciones para el cuidado y uso de animales de laboratorio.<sup>17</sup> Fueron puestos en cuarentena durante los 7 días previos a los procedimientos de implantación a efectos de asegurar que se encontraran en óptimas condiciones de salud. Durante todo el experimento, se tuvo especial cuidado de mantener los animales confortables y sin dolor. La preparación de los especímenes y los procedimientos quirúrgicos de implantación fueron realizados bajo condiciones de esterilidad y de acuerdo con una técnica descrita en una comunicación anterior.<sup>18</sup> Luego de que los animales fueran anestesiados por medio de una dosis intraperitoneal de clorhidrato de ketamina (14 mg/kg) y acepromazina (10 mg/kg), la piel de la zona dorsal de cada uno de ellos fue rasurada y desinfectada con una solución de yodo/Povidona al 10% (Phoenix SAIC, Buenos Aires, Argentina). Se realizó posteriormente una incisión de aproximadamente 18 mm de longitud a través de la piel por medio de un escalpelo y se prepararon en la zona subcutánea y a cada lado de la línea media dos áreas en forma de bolsillo insertándose cuidadosamente en una de ellas un implante experimental sobreobturado con un CRES y un implante sobreobturado con un CGP en la otra. Los implantes se ubicaron cada uno de ellos a una distancia de aproximadamente 20 mm de la línea media con el objeto de evitar interferencias entre la reacción de los tejidos a uno u otro material. Finalmente, las heridas fueron suturadas con hilo de seda. Los animales se mantuvieron en el bio-terio de la Facultad de Medicina de la Universidad del Salvador (USAL), en jaulas de acero inoxidable con agua potable y alimento balanceado ad libitum, con temperatura ambiental controlada (24°C) y ciclos de luz-oscuridad de doce horas. Posteriormente, fueron sacrificados por medio de una sobredosis de solución anestésica en grupos de 3, a los 10, 30 y 60 días postimplantación. Los implantes, juntamente con los tejidos circundantes, fueron re-

movidos quirúrgicamente y fijados en solución de formol-buffer al 10% (pH 7.4). Luego de la fijación los especímenes se incluyeron en parafina y se procesaron para su evaluación histológica. Se obtuvieron cortes longitudinales seriados de aproximadamente 7 µm de espesor y en forma paralela al eje mayor de los implantes. Los cortes se colorearon con hematoxilina y eosina y se analizaron y fotografiaron a diferentes aumentos por medio de un microscopio óptico equipado con una cámara digital Canon Powershot A510 (Canon, Tokyo, Japan). Las imágenes de las tres secciones de la parte más central de los implantes fueron capturadas y analizadas por medio de un software (Image Pro Plus; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, USA). La evaluación fue realizada por un observador que desconocía el tipo de implante analizado. Los parámetros considerados para la evaluación fueron la presencia y espesor de una cápsula fibrosa, los cambios vasculares y el tipo de células inflamatorias presentes.

**Resultados**

Al finalizar cada uno de los períodos postoperatorios, la observación macroscópica a nivel de las áreas implantadas reveló que las heridas cicatrizaron normalmente y que los animales se encontraban en perfecto estado de salud. El estudio microscópico de los tejidos en contacto con las paredes laterales de los tubos de silicona demostró que los implantes se encontraban rodeados por un tejido fibroso sin células inflamatorias, cuyo espesor se incrementaba progresivamente en función del tiempo transcurrido (Fig. 1). Esta reacción podía ser claramente diferenciada de la observada en zona en contacto con los conos sobreobturados. El número total de implantes por material y por período de tiempo puede observarse en Cuadro I.

A los 10 días se observó en contacto con los CRES una banda de tejido granulomatoso rodeada por un tejido fibroso conteniendo vasos de neoformación (Fig. 2). En contacto con los CGP, se pudo observar un tejido fibroso juvenil y numerosos vasos de neoformación (Fig. 3). En ambos grupos, se detectaron numerosas partículas aparentemente liberadas a partir de los materia-

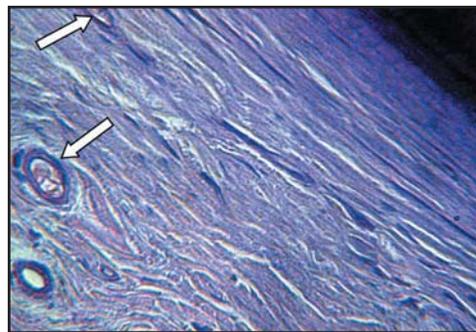


Fig. 1. Microfotografía representativa del tejido celular subcutáneo de la rata en contacto con la pared de un tubo de silicona a los 60 días postimplantación. Se observa un tejido fibroso sin células inflamatorias conteniendo vasos de neoformación (flechas) (hematoxilina y eosina; magnificación original X1.500).

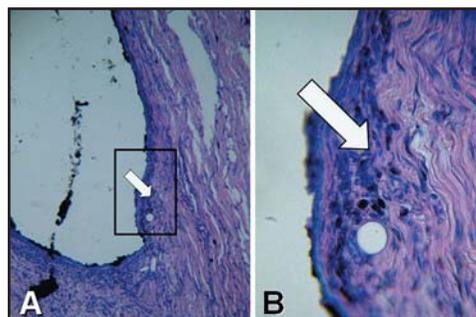


Fig. 2. 10 días. Microfotografía de un espécimen representativo de CRES. A: Se puede observar un tejido granulomatoso en contacto con la porción sobreobturada del cono (flecha). Rodeando esta zona se observa un tejido fibroso (hematoxilina y eosina, X40). B: Mayor aumento del área del recuadro en A. Se observan numerosas partículas fagocitadas por macrófagos y fibroblastos (flecha) (hematoxilina y eosina; magnificación original X850).

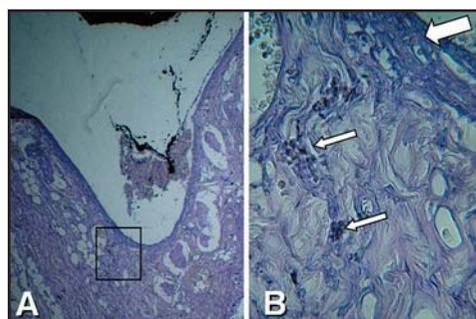


Fig. 3. 10 días. Microfotografía de un espécimen representativo de CGP. A: Se observa una cápsula fibrosa rodeada por un tejido fibroso sin células inflamatorias en contacto con la porción sobreobturada del cono (espacio vacío) (hematoxilina y eosina, magnificación original X40). B: Mayor aumento del área del recuadro en A. Se observa parte de la cápsula fibrosa (flecha gruesa) rodeada por un tejido fibroso conteniendo partículas que están siendo fagocitadas por macrófagos (flechas delgadas) y numerosos vasos sanguíneos neoformados (hematoxilina y eosina, magnificación original X1000).

CUADRO I. CANTIDAD Y DISTRIBUCIÓN DE LOS IMPLANTES EN LOS DIFERENTES PERÍODOS DE OBSERVACIÓN.			
Días	CRES (n)	CGP (n)	Total (n)
10	3	3	6
30	3	3	6
60	3	3	6

les investigados, francamente distribuidas en los tejidos o bien fagocitadas por macrófagos.

A los 30 días, tanto los CRES como los CGP se encontraban rodeados por un tejido fibroso denso y más definido no observándose la presencia de células inflamatorias. Se observó un incremento en la cantidad de partículas de material distribuidas en los tejidos circundantes a los implantes, o bien fagocitadas por macrófagos, como asimismo dentro de la luz de vasos sanguíneos (Figs. 4 y 5).

A los 60 días postimplantación se observó un incremento importante en la densidad del tejido fibroso que rodeaba los CRES y CGP acompa-

ñados por un número mayor de partículas de material distribuidas en los tejidos, fagocitadas por macrófagos o bien dentro de la luz de vasos sanguíneos neoformados (Figs. 6 y 7). Al igual que en las observaciones de 30 días, no se detectó la presencia de células inflamatorias en contacto con los conos.

**Discusión**

La implantación en el tejido celular subcutáneo de ratas constituye un procedimiento válido como ensayo secundario para el estudio de la biocompatibilidad de materiales endodónticos.<sup>19,20</sup> Como puede comprobarse, el protocolo de este trabajo

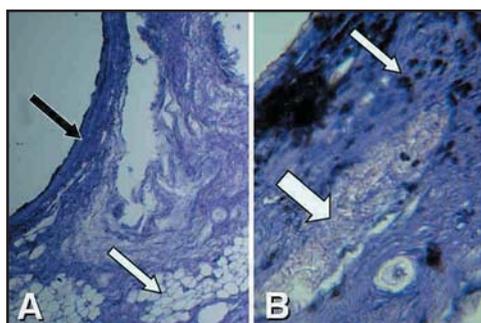


Fig. 4. 30 días. Microfotografía de un espécimen representativo de CRES. A: La flecha negra está indicando la presencia de una cápsula fibrosa densa rodeando al implante (espacio vacío). Rodeando la cápsula, se observa un tejido fibroso sin células inflamatorias y un área de células adiposas (flecha blanca) (hematoxilina y eosina; magnificación original X150). B: Mayor aumento del área de la cápsula fibrosa donde se pueden observar partículas del material fagocitadas por macrófagos (flecha delgada) y un gran vaso sanguíneo (flecha gruesa) conteniendo partículas en su interior (hematoxilina y eosina, magnificación original X850).

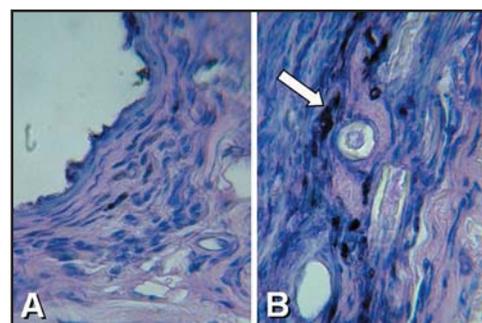


Fig. 5. 30 días. Microfotografía de un espécimen representativo de CGP. A: Se observa un tejido fibroso denso rodeando al cono de gutapercha (espacio vacío) conteniendo partículas fagocitadas por fibroblastos y macrófagos (hematoxilina y eosina, magnificación original X850). B: Mayor aumento de un área cercana donde se observan partículas del material cercanas o dentro de la luz de un gran capilar (flecha) (hematoxilina y eosina, magnificación original X1500).

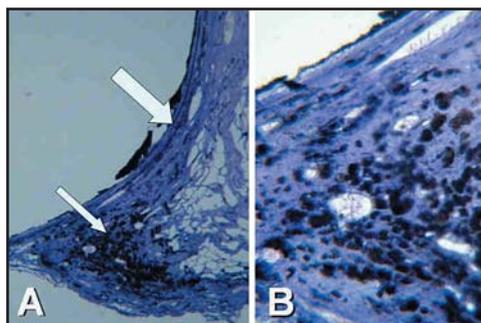


Fig. 6. 60 días. Microfotografía de un espécimen representativo de CRES. A: La flecha gruesa está marcando la presencia de una cápsula fibrosa sin células inflamatorias. La flecha delgada indica una zona de gran concentración de partículas distribuidas en el tejido que rodea al implante (hematoxilina y eosina, magnificación original X40). B: Mayor aumento de la misma área marcada por la flecha delgada en A donde se observa una gran actividad macrofágica y la presencia de numerosos capilares neoformados (hematoxilina y eosina, magnificación original X1000).

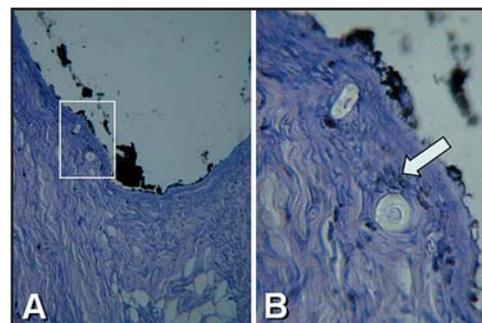


Fig. 7. 60 días. Microfotografía de un espécimen representativo de CGP. A: Rodeando al cono sobreobturado (espacio vacío) conteniendo restos de gutapercha se observa una cápsula fibrosa rodeada por un tejido fibroso libre de células inflamatorias (hematoxilina y eosina, magnificación original X40). B: Mayor aumento del área del recuadro en A. En zonas cercanas a la cápsula, se observan numerosas partículas del material distribuidas en el tejido, fagocitadas por macrófagos o cercanas a vasos de neoformación (hematoxilina y eosina, magnificación original X850).

incluyó un número reducido de animales. Este procedimiento responde a los objetivos de un estudio piloto, que permitió poner a punto el modelo experimental y analizar su factibilidad para el análisis de un nuevo material, como CRES, cuyas propiedades biológicas no han sido aún adecuadamente investigadas. Para este estudio piloto, los resultados fueron desarrollados en forma descriptiva, no cuantitativa. La utilización de tubos de silicona sobreobturados con los materiales problema tuvo como objetivo imitar en lo posible lo que ocurre en la situación clínica cuando CRES o CGP son inadvertidamente sobreobturados durante las maniobras operatorias. Los períodos de tiempo utilizados se encuentran comprendidos dentro de los plazos establecidos por los estándares internacionales para el estudio de biomateriales.<sup>19</sup> Los CGP fueron utilizados como control positivo ya que su comportamiento biológico ha sido previamente informado por diferentes autores<sup>11-14</sup> quienes consideran que, aunque no totalmente inertes, los CGP se comportan como uno de los materiales de obturación endodóntica mejor tolerados por los tejidos vitales.<sup>11</sup> Las paredes laterales de los tubos de silicona fueron consideradas como control negativo. En comparación con diferentes selladores endodónticos, el material ha demostrado ser biocompatible bajo diferentes condiciones experimentales,<sup>18,21,22</sup> propiedad que fue nuevamente confirmada en este estudio. En las experiencias mencionadas,<sup>18,21,22</sup> la silicona de grado médico suele ser rodeada por una cápsula fibrosa, libre de células inflamatorias, cuyo espesor y densidad se incrementan paulatinamente en los períodos de observación más extensos.

La reacción inflamatoria observada inicialmente en los tejidos en contacto con CRES no resultó del todo inesperada ya que, como fue previamente demostrado, en un medio biológico los CRES sufren un proceso de degradación tanto alcalina<sup>23</sup> como enzimática,<sup>24</sup> liberando una cantidad de subproductos que pueden resultar tóxicos para los tejidos. Esta degradación se incrementa en función del tiempo transcurrido, lo cual explicaría de alguna forma el aumento de la cantidad de partículas del material liberadas en los tejidos circundantes durante los períodos de observación más largos, estimulando a su vez la confluencia de macrófagos y la fagocitosis del material liberado. Sin embargo, resultó interesante observar que a pesar de la presencia de numerosas partículas del material y una intensa acción macrofágica, la reacción inflamatoria inicial fue reemplazada a los 30 y 60 días por un tejido fibroso denso, libre de células inflamatorias aunque pródigo en la formación de neocapilares conteniendo partículas en su interior. Esta última observación sugiere la transportación de las partículas hacia zonas más

alejadas y concuerda con los resultados de Langeland et al. (1969),<sup>25</sup> Block et al. (1980)<sup>26</sup> y Langeland et al. (1981),<sup>27</sup> quienes demostraron que partículas liberadas por los materiales de obturación tienden a ser transportadas por vía sanguínea y son posteriormente detectadas en riñón, hígado, bazo y otros órganos esenciales.

La reacción de los tejidos en contacto con CGP constituye otro hallazgo interesante. Wolfson y Seltzer (1975)<sup>11</sup> y Holland et al. (1975)<sup>12</sup> implantaron conos de gutapercha de diferentes marcas comerciales en el tejido celular subcutáneo de ratas y comprobaron que, luego de una reacción inflamatoria inicial, los conos son rodeados por una cápsula fibrosa sana, considerando por lo tanto que, a pesar de la reacción inflamatoria inducida inicialmente, la gutapercha es un material de obturación que no ejerce efectos tóxicos sobre los tejidos en el mediano y largo plazo. A diferencia de estos resultados,<sup>11,12</sup> en este trabajo no se detectaron cambios inflamatorios en el período de observación inicial en los tejidos en contacto con los CGP, los que fueron rodeados por un tejido fibroso conteniendo numerosos vasos sanguíneos de neoformación. Estas observaciones concuerdan ampliamente con las de Sjögren et al. (1995),<sup>28</sup> quienes obtuvieron resultados similares cuando implantaron piezas de gutapercha en forma de conos en el tejido subcutáneo del cochinillo de Guinea. En esta experiencia, y de la misma forma que lo ocurrido con los CRES, se detectaron en todos los períodos de observación numerosas partículas del material liberadas en los tejidos, fagocitadas por macrófagos y/o dentro de la luz de vasos sanguíneos, sugiriendo también la transportación del material. Esto se explica porque, al igual que los CRES, los CGP también se encuentran expuestos a un proceso de degradación, en este caso mediante un mecanismo oxidativo.<sup>29,30</sup> Estas observaciones confirman los resultados de una experiencia preliminar<sup>31</sup> en la que en contacto con diferentes tipos de gutapercha implantados en el tejido celular subcutáneo de ratas se observó un tejido fibroso denso, libre de células inflamatorias, con la presencia de numerosos macrófagos fagocitando partículas del material.

Dentro de las limitaciones de este trabajo, los CRES y CGP parecerían ser bien tolerados por el tejido celular subcutáneo de la rata. Sin embargo, debería tenerse en cuenta que los tejidos periapicales presentan diferencias estructurales importantes y que el comportamiento biológico de los CRES o CGP sobreobturados en el tejido periodontal podría ser sustancialmente diferente.<sup>32,33</sup> Esto es especialmente cierto a partir de las observaciones de Serene et al. (1988),<sup>34</sup> quienes demostraron que tanto los CGP como sus componentes se comportan como activadores potenciales del complemento. De esta forma podrían

inducir el desarrollo de una reacción inflamatoria e impedir la reparación de los tejidos periapicales en casos de sobreobturaciones,<sup>32</sup> aspectos, éstos, que no fueron considerados en este trabajo y que requieren ser más exhaustivamente investigados. A pesar del número reducido de especímenes utilizados en esta experiencia preliminar, y en vista de la intensa y persistente actividad macrofágica observada en los tejidos circundantes, entendemos que en la situación clínica deberían tomarse los recaudos necesarios para que tanto los CRES como los CGP queden siempre ajustados a la longitud de trabajo y por lo tanto confinados dentro del espacio del conducto radicular.

### Bibliografía

1. Nguyen TN. **Obturation of the root canal system.** In: Cohen S, Burns RC. *Pathways of the pulp.* 4<sup>th</sup> ed., St Louis, Mosby 1987;183-94.
2. Taintor JF, Ross PN. **Opinions and practices of American Endodontic Diplomates.** *Dent J* 1978;44:321-5.
3. ADA Council of Scientific affairs. **Statement on posterior resin-based composites.** ADA Council on Dental Benefit Programs. *J Am Dent Assoc* 1998;129:1627-8.
4. 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* 2006;32:656-62.
5. Debelian G. **Treatment outcome of teeth treated with an evidence-based disinfection protocol and filled with Resilon.** *J Endod* 2006;32:251.
6. Oya EO. **Case Report. 90 clinical cases of root treatment canal filled with Resilon: two-year follow-up.** *J Endod* 2008;34:349.
7. Cotton TP, Schindler WG, Schwartz SA, Watson WR, Hargreaves KM. **A retrospective study comparing clinical outcomes after obturation with Resilon/Epiphany or gutta-percha/Kerr sealer.** *J Endod* 2008;34:789-97.
8. Barnett F, Trope M. **Resilon: A novel material to replace gutta-percha.** *Contemp Endod* 2004;1:16-9.
9. Augsburger RA, Peters DD. **Radiographic evaluation of extruded obturation materials.** *J Endod* 1990;16:492-7.
10. Spångberg L. **Biological effects of root canal filling materials. 2. Effect in vitro of water-soluble components of root canal filling material on HeLa cells.** *Odont Rev* 1969;20:133-45.
11. Wolfson EM, Seltzer S. **Reaction of rat connective tissue to some gutta-percha formulations.** *J Endod* 1975;1:395-402.
12. Holland R, De Souza V, Nery MJ, Bernabé PFE, Mello WD. **Resposta tecidual a implantação de diferentes marcas de conos de gutta-percha. Estudo histológico em ratos.** *Rev Fac Odont Araçatuba* 1975;4:81-9.
13. Leonardo MR, Utrilla LS, Rothier A, Leonardo RT, Consolaro A. **A comparison of subcutaneous connective tissue responses among three different formulations of gutta-percha used in thermatic techniques.** *Int Endod J* 1990;23:211-7.
14. Cleary PT, Newton CW, Morrison SW, Kafrawy AH. **Histological examination of paraformaldehyde-exposed gutta-percha implanted in rats.** *J Endod* 1992;18:63-7.
15. ISO 10993-1:1992, **Biological evaluation of medical devices - Part 1: Guidance on selection of tests,** Geneva 1992.
16. ISO 10993-2:1992, **Biological evaluation of medical devices - Part 2: Animal welfare requirements,** Geneva 1992.
17. Bayne K. **Developing guidelines of the care and use of animals.** *Ann NY Acad Sci* 1998;30:105-10.
18. Zmener O. **Tissue response to a new methacrylate-based root canal sealer: Preliminary observations in the subcutaneous connective tissue of rats.** *J Endod* 2004;30:348-51.
19. FDI. **Fédération Dentaire Internationale. Recommended standard practices for the biological evaluation of dental materials.** *Int Dent J* 1980;30:174-6.
20. Olsson B, Sliwkowski A, Langeland K. **Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials.** *J Endod* 1981;7:355-69.
21. Zmener O, Guglielmotti MB, Cabrini RL. **Biocompatibility of two calcium hydroxide-based endodontic sealers: a quantitative study in the subcutaneous connective tissue of the rat.** *J Endod* 1988;14:229-35.
22. Zmener O, Banegas G, Pameijer CH. **Bone tissue response to a methacrylate-based endodontic sealer: a histological and histometric study.** *J Endod* 2005;31:457-9.
23. Tay FR, Pashley DH, Williams MC, Raina R, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, King NM. **Susceptibility of a plicaprolactone-based root canal filling material to degradation: I – Alkaline hydrolysis.** *J Endod* 2005;31:593-8.
24. Tay FR, Pashley DH, Yiu CK, Yau YY, Yiu-fai M, Loushine RJ, Weller RN, Kimbrough WF, King NM. **Susceptibility of a plicaprolactone-based root canal filling material to degradation: II – Gravimetric evaluation of enzymatic hydrolysis.** *J Endod* 2005;31:737-41.
25. Langeland K, Guttuso J, Langeland LK, Tobon G. **Methods in the study of biologic responses to endodontic materials: Tissue response to N2.** *O Surg O Med O Pathol* 1969;27:522-42.
26. Block RM, Lewis RD, Hirsch J, Coffey J, Langeland K. **Systemic distribution of N2 paste containing <sup>14</sup>C paraformaldehyde following root canal therapy in dogs.** *O Surg O Med O Pathol* 1980;50:350-60.
27. Langeland K, Olsson B, Pascon EA. **Biological evaluation of Hydron.** *J Endod* 1981;7:196-204.
28. Sjögren U, Sundqvist G, Nair PNR. **Tissue reaction to gutta-percha particles of various sizes when implanted subcutaneously in guinea pigs.** *Eur J Oral Sci* 1995;103:313-21.
29. Maniglia-Ferreira C, Silva JB, de Paula RCM, Feitosa JPA, Zaia AA, Ferraz CCR, Gomes BPFA, Souza-Filho FJ. **Degradation of trans – polyisoprene over time following the analysis of root fillings removed during conventional retreatment.** *Int Endod J* 2007;40:25-30.
30. Warneke S, Arenskotter M, Tenberge KB, Steinbüch A. **Bacterial degradation of poly (trans – 1,4 – isoprene) (gutta-percha).** *Microbiology* 2007;153:347-56.
31. Zmener O, Guglielmotti B, Goldberg F, Massone E, Cabrini RL. **Biocompatibility of a thermoplasticized gutta-percha in the subcutaneous connective tissue of the rat.** *J Dent Res* 1988;67:616.
32. Oswald RJ, Friedman CE. **Periapical response to dentin filings – a pilot study.** *O Surg O Med O Pathol* 1980;49:344-55.
33. Sonat B, Dalat D, Günhan O. **Periapical tissue reaction to root fillings with Sealapex.** *Int Endod J* 23:46-52.
34. Serene TP, Vesey J, Boackle RJ. **Complement activation as a possible in vitro indication of the inflammatory potential of endodontic materials.** *O Surg O Med O Pathol* 1988;65:354-57.

### Dirección del autor

Julián Álvarez 2335, 3º D  
Ciudad Autónoma de Buenos Aires  
e-mail: osvaldo@zmener.com.ar