

Biocompatibilidad de un ionómero vítreo modificado con resina implantado en el tejido celular subcutáneo de la rata

Biocompatibility of a resin-modified glass ionomer implanted in the subcutaneous connective tissue of the rat

Presentado: 26 de marzo de 2012

Aceptado: 13 de agosto de 2012

Osvaldo Zmener^a, Gabriel Kokubu^b, Daniel Grana^{b†}^aCarrera de Especialización en Endodoncia, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador/Asociación Odontológica Argentina^bCátedra de Anatomía Patológica, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador/Asociación Odontológica Argentina

Resumen

Objetivo: Analizar la respuesta del tejido celular subcutáneo de la rata ante la implantación de un ionómero vítreo modificado con resinas.

Materiales y métodos: En el tejido celular subcutáneo de 15 ratas, se implantaron tubos de silicona obturados a ras, en ambos extremos, con Fuji PLUS (FPL) –un cemento de ionómero vítreo modificado con resinas– o EndoFill (EFL) –un sellador endodóntico a base de óxido de cinc y eugenol–, considerando este último como control positivo. Las paredes laterales de los tubos (PLT) fueron utilizadas como control negativo. Luego de 10, 30 y 90 días posimplantación, los animales fueron sacrificados; y los implantes, juntamente con los tejidos circundantes, fueron removidos, fijados en solución de formol al 10% y, finalmente, procesados para su estudio histológico.

Resultados: El análisis histológico demostró que, en todos los casos y en todos los períodos experimentales, el contacto directo con FPL y EFL produjo una reacción inflamatoria severa compuesta por polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, fibroblastos y vasos de neoformación. Se observaron numerosas partículas de FPL y EFL dispersas en los

tejidos, muchas de ellas fagocitadas por macrófagos y células gigantes multinucleadas, o dentro de la luz de los vasos sanguíneos, lo cual sugiere la transportación de dichas partículas hacia zonas alejadas. A los 10 días posimplantación, la reacción de los tejidos en contacto con PLT fue considerada mínima, pero éstos retornaron a la normalidad luego de 30 y 90 días. En todos los períodos estudiados, no se hallaron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre FPL o EFL, pero sí las hubo entre estos materiales y los PLT ($P < 0,05$).

Conclusión: Los resultados demostraron que, luego de 90 días, tanto FPL como EFL provocaron reacciones severas en el tejido celular subcutáneo de la rata. Si bien los materiales analizados no fueron originariamente desarrollados para ser utilizados en contacto directo con la pulpa, la reacción inflamatoria y la intensa actividad macrofágica provocada por la progresiva degradación de éstos sugiere que, en caso de producirse una exposición accidental o inadvertida, es preciso evitar el contacto directo con la pulpa protegiéndola mediante materiales biocompatibles adecuados.

Palabras clave: Biocompatibilidad, ionómeros vítreos, óxido de cinc y eugenol, respuesta tisular.

Abstract

Aim: To analyze the reaction of the subcutaneous connective tissue of the rat to a resin-modified glass ionomer cement and a zinc oxide and eugenol-based endodontic sealer used as the control.

Materials and methods: Silicone tubes filled flush at both ends with a resin-modified glass ionomer cement Fuji Plus (FPL) or with the zinc oxide and eugenol-based endodontic sealer EndoFill (EFL),

as the positive control, were implanted in the subcutaneous connective tissue of 15 rats. The lateral silicone walls of the tubes (PLT) were used as negative control. After 10, 30 and 90 days the animals were sacrificed, the implants were removed along with the surrounding tissues, fixed in 10% buffered formalin solution and then processed for histological analysis.

Results: The tissues in direct contact with both FPL and EFL showed severe reactions which persisted after 90 days. There was a great concentration of inflammatory cells mainly composed by polymorphonuclear neutrophils, lymphocytes, plasmocytes, macrophages, fibroblasts and newly formed vessels. Many particles which appeared to have been released from the tested materials were observed to be randomly distributed within the tissues surrounding the ends of the implants or phagocytized by macrophages and multinucleated giant cells. These particles were also found within the lumen of newly formed vessels, suggesting particle transportation. Although the tissues in contact with PLT showed a mild reaction at the short-term observation period, they return to the normal after 30 and 90 days. Statistical analysis of

the data revealed that in all experimental periods there were no statistical differences ($P > 0.05$) between FPL and EFL. However, significant differences were found between both FPL and EFL and PLT ($P < 0.05$).

Conclusion: The results showed that the subcutaneous connective tissue of the rat revealed a severe inflammatory reaction to FPL and EFL after 90 days. Although that FPL and EFL were not originally intended to be in direct contact with pulpal tissues, accidental pulp exposure can always occur in clinical dentistry and therefore, when using these materials adverse tissue reactions has to be prevented by using adequate pulp capping materials.

Key words: Biocompatibility, glass ionomers, zinc oxide and eugenol, tissue response.

Introducción

Los cementos de ionómero vítreo presentan una estructura similar a los silicatos y endurecen mediante una reacción ácido-base, formando una estructura donde sus partículas se unen sin reaccionar. Estos materiales son habitualmente utilizados en la clínica con el objeto de fijar coronas e incrustaciones, o como revestimientos y bases cavitarias, especialmente en cavidades profundas donde suelen actuar como protectores dentino-pulpa-res^{1,2}. La incorporación de resinas de autopolimerización a los ionómeros convencionales ha permitido reducir significativamente algunos de sus inconvenientes más importantes, tales como el prolongado tiempo de endurecimiento, y su alta tasa de solubilidad y de biodegradación^{3,4}. Su empleo en cavidades profundas, o cuando el límite de la preparación sobre la superficie dentinaria es muy cercano a la pulpa, pone un punto de atención en la cuestión de la biocompatibilidad de estos materiales. En ese sentido, Costa *et al.*⁵ evaluaron la citotoxicidad de diferentes ionómeros convencionales y cementos de ionómero vítreo modificados con resinas, a fin de determinar su influencia sobre la actividad mitocondrial en cultivos de células odontoblastoides; y observaron que, luego de 72 horas, todos los materiales analizados fueron citotóxicos. Tobías *et al.*⁶ y Costa *et al.*⁷ observaron que, si bien los ionómeros provocan inicialmente una respuesta inflamatoria leve sobre la pulpa, ésta suele disminuir sustancialmente a los 30 días posoperatorios. Sin embargo, a pesar de los estudios mencionados, los mecanismos por los que los ionómeros convencionales y los que incorporan resinas pueden desarrollar efectos nocivos sobre los tejidos pulpares aún no han sido aclarados de manera satisfactoria.

Si bien los ionómeros convencionales o aquellos que han sido modificados con resinas no fueron desarrollados para ser utilizados como protectores pulpares directos, la posibilidad de que el material se ponga en

contacto con la pulpa en caso de producirse una exposición accidental o inadvertida aún requiere de estudios más exhaustivos para el análisis de su biocompatibilidad. El objetivo de este estudio fue analizar comparativamente la biocompatibilidad de un cemento de ionómero vítreo modificado con resina de autocurado, y la de un material a base de óxido de cinc y eugenol, implantados en el tejido celular subcutáneo de la rata.

Materiales y métodos

El protocolo de este estudio forma parte de un programa previamente revisado y aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación Científica de la Asociación Odontológica Argentina. Se utilizaron 30 tubos de silicona de grado médico (Raholin SRL, Buenos Aires, Argentina) de 10 mm de longitud, con un diámetro externo de 2 mm y luz interna de 1 mm. Los tubos fueron esterilizados con rayos gamma y, posteriormente, separados en dos grupos de 15 tubos. Los del primer grupo fueron obturados a ras en ambos extremos con FPL (Fuji PLUS; GC Corp., Tokio, Japón), un cemento de ionómero vítreo modificado con resina. Los tubos del segundo grupo (considerado como control positivo) fueron obturados de manera similar con EFL (Endo-Fill®; Dentsply Indústria é Comercio Ltda., Petrópolis, RJ, Brasil) un sellador endodóntico a base de óxido de cinc y eugenol. Ambos materiales fueron manipulados y preparados de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las paredes laterales de los tubos de silicona fueron utilizadas como control negativo. Los especímenes se implantaron en el tejido celular subcutáneo de 15 ratas Wistar macho de aproximadamente 200 g de masa. Durante los procedimientos operatorios, se tuvo especial cuidado de no contaminar las paredes de los tubos con FPL o EFL. En total, se realizaron 30 implantes: 15 (n=15) de FPL y 15 (n=15) de EFL. Los animales

fueron tratados según los requerimientos de las normas ISO 10993^{8,9}, y los principios éticos de experimentación y las especificaciones para el cuidado y uso de animales de laboratorio¹⁰. 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. La preparación de los especímenes y los procedimientos quirúrgicos de implantación fueron realizados bajo condiciones de esterilidad, de acuerdo con los procedimientos descritos en una comunicación anterior¹¹: luego de que los animales fueran anestesiados por medio de una dosis intraperitoneal de clorhidrato de ketamina (14 mg/kg) y acepromazina (10mg/kg), la piel que recubre la zona dorsal de cada uno fue rasurada y desinfectada con una solución de yodo/povidona al 10% (Phoenix SAIC, Buenos Aires, Argentina). Posteriormente, con un escalpelo, se realizó una incisión de aproximadamente 18 mm de longitud a través de la piel. En la zona subcutánea, a cada lado de la línea media, se prepararon dos áreas en forma de bolsillo. En una de ellas se insertó un implante de FPL, y en la otra, un implante de EFL. Los implantes fueron ubicados a una distancia de aproximadamente 20 mm de la línea media, a fin de evitar interferencias en las reacciones de los tejidos a uno u otro material. Finalmente, las heridas fueron suturadas con hilo de seda. Se mantuvo a los animales en el bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad del Salvador (USAL), en jaulas de acero inoxidable, con agua potable y alimento balanceado ad libitum, a temperatura ambiental controlada (24 °C) y ciclos de luz-oscuridad de 12 horas. Posteriormente, fueron sacrificados por medio de una sobredosis de solución anestésica en grupos de cinco, a los 10, 30 y 90 días posimplantación. Los implantes, juntamente con los tejidos circundantes, fueron removidos 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 secciones longitudinales seriadas de aproximadamente 7 µm de espesor, y de forma paralela al eje mayor de los tubos. Las secciones fueron coloreadas con hematoxilina y eosina. Uno de cada seis cortes no fue coloreado, y posteriormente fue observado con luz polarizada. Los cortes se analizaron y fotografiaron con diferentes aumentos por medio de un microscopio óptico equipado con una cámara digital Canon Powershot A510 (Canon, Tokyo, Japón). Tanto las imágenes de las secciones coloreadas con hematoxilina y eosina como las observadas con luz polarizada fueron capturadas y analizadas por medio de un software (Image Pro

Plus; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, Estados Unidos). La evaluación fue realizada por dos observadores previamente calibrados que desconocían el tipo de implante o material que estaban analizando. En los casos donde no hubo acuerdo, los preparados histológicos fueron analizados en conjunto nuevamente, hasta lograr el consenso entre ambos evaluadores. Los parámetros considerados para la evaluación fueron: la presencia y el espesor de una cápsula fibrosa, los cambios vasculares y el tipo de células inflamatorias presentes. El criterio utilizado para evaluar la reacción de los tejidos fue el siguiente: 0. Sin reacción: formación de cápsula fibrosa y ausencia de células inflamatorias; 1. Reacción mínima: presencia de cápsula fibrosa con escasos linfocitos, plasmocitos y fibroblastos; 2. Reacción moderada: presencia de polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, fibroblastos y algunos vasos de neoformación; 3. Reacción severa: presencia de gran cantidad de polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, células gigantes multinucleadas, fibroblastos y numerosos capilares de neoformación congestionados. Los datos obtenidos fueron analizados por medio de la prueba de Wilcoxon, a fin de determinar si existieron diferencias significativas entre FPL o EFL y el control negativo, en cada uno de los períodos estudiados. El efecto total producido por los factores tiempo y material sobre la reacción de los tejidos fue calculado mediante las pruebas de Kruskal-Wallis y de Dunn. El nivel de significancia establecido fue de $P < 0,05$.

Resultados

Al finalizar cada uno de los períodos posoperatorios, la observación macroscópica en el 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 PLT demostró que, luego de 10 días, la reacción fue considerada mínima, y que los implantes se encontraban rodeados por un tejido fibroso incipiente, con pocas células inflamatorias. Durante el tiempo restante de la experiencia, se observó la presencia de una cápsula fibrosa más consistente, sin células inflamatorias, cuyo espesor se incrementaba en función del tiempo transcurrido. Esta reacción se diferenciaba claramente de la observada en ambos extremos de los tubos, en la zona que estaba en contacto directo con FPL y EFL. La distribución y el número total de implantes por material y por período de tiempo, así como el tipo de reacción a los materiales en los diferentes períodos experimentales, pueden apreciarse en las Tablas 1 y 2, respectivamente.

A los 10 días, la reacción observada para FPL y EFL fue considerada severa. Las áreas en contacto directo con FPL revelaron la invaginación de un tejido granulomatoso dentro de la luz de los tubos, con presencia de numerosos linfocitos, plasmocitos, macrófagos y conglomerados de partículas cristalinas de material, distribuidas aleatoriamente en los tejidos. En contacto con EFL, se observó una reacción granulomatosa invaginada dentro de la luz de los tubos, con gran cantidad de polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, fibroblastos alrededor de partículas del material, algunas células gigantes con partículas dentro de su citoplasma, y vasos de neoformación. El empleo de luz polarizada permitió apreciar que las partículas cristalinas distribuidas en los tejidos en contacto con FPL eran de carácter birrefringente (Fig. 1).

A los 30 días, la reacción de los tejidos en contacto con FPL y EFL fue considerada severa. En contacto con FPL, se observó un tejido fibrogranulomatoso invaginado dentro de la luz de los tubos, con conglomerados de

partículas cristalinas rodeadas por numerosos linfocitos, plasmocitos, macrófagos, células gigantes multinucleadas y fibroblastos que intentaban encapsular las partículas de material. En contacto con EFL, se observó un tejido granulomatoso con partículas del material incluidas. Se pudo apreciar la presencia de polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos que fagocitaban partículas de material, y vasos de neoformación. En ambos casos, pudo verse una tenue cápsula fibrosa juvenil que trataba de aislar estas reacciones del tejido circundante (Fig. 2).

A los 90 días, persistía una reacción inflamatoria severa, tanto en los tejidos en contacto con FPL como en los que lo estaban con EFL. Los primeros revelaron la persistencia de un tejido fibrogranulomatoso invaginado, con grandes conglomerados de partículas cristalinas y un importante número de células inflamatorias compuestas de linfocitos, plasmocitos, macrófagos y fibroblastos. Dentro de esas áreas, aún podían observarse numerosas partículas del material, distribuidas aleatoriamente en

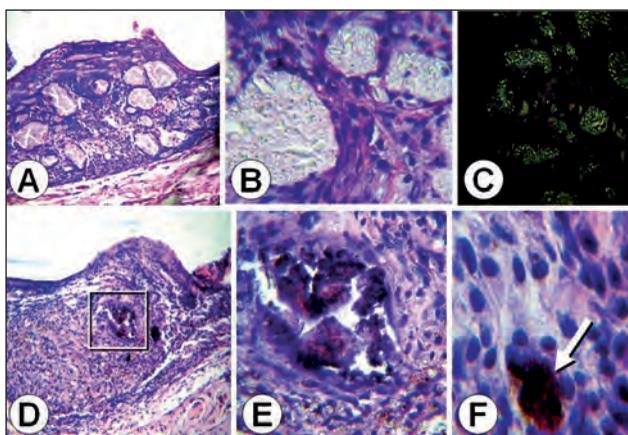


Figura 1. 10 días. A: Microfotografía de un espécimen representativo de FPL. Se puede observar un tejido granulomatoso invaginado dentro de la luz del tubo, con numerosos conglomerados de partículas del material. Más abajo se observa un tejido fibroso sin células inflamatorias que intentan aislar la reacción inflamatoria (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 100$). B: Mayor aumento de A. Se puede observar el carácter cristalino de las partículas y un tejido granulomatoso que las rodea (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 1000$). C: La observación con luz polarizada comprueba la birrefringencia de las partículas (magnificación original $\times 1000$). D: Microfotografía de un espécimen representativo de EFL. Un tejido granulomatoso se invagina dentro de la luz del tubo (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 80$). E: Mayor aumento del área del recuadro en D. Se observan partículas del material rodeadas por un tejido fibrogranulomatoso (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 1000$). F: A mayor aumento se puede observar un infiltrado inflamatorio crónico donde se destaca la presencia de una célula gigante multinucleada (flecha), con partículas de material, fagocitadas dentro de su citoplasma (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 1500$).

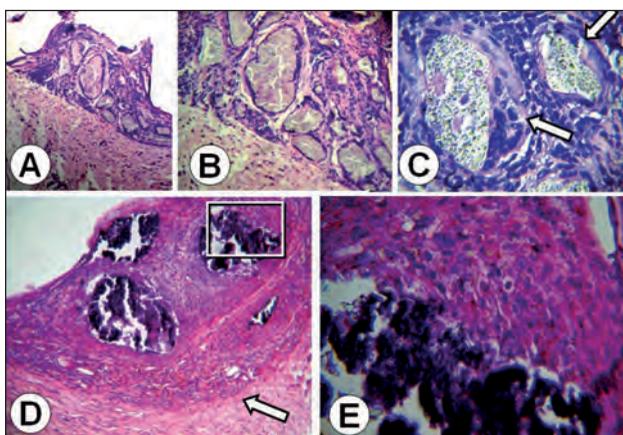


Figura 2. 30 días. A: Microfotografía de un espécimen representativo de FPL. En contacto con el material se observa un tejido granulomatoso invaginado dentro de la luz del tubo, bien delimitado del resto del tejido, con varios conglomerados de partículas (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 40$). B: A mayor aumento se observan varias agrupaciones de partículas del material rodeadas por un tejido granulomatoso denso (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 150$). C: Mayor aumento de B. Se observan numerosas partículas cristalinas rodeadas por un infiltrado inflamatorio crónico. Nótese la presencia de dos células gigantes multinucleadas alrededor de acumulaciones de partículas del material (flechas) (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 850$). D: Microfotografía de un espécimen representativo de EFL. Se puede observar un tejido fibrogranulomatoso ligeramente invaginado dentro de la luz del tubo, con partículas del material. Más abajo se nota una cápsula fibrosa que aísla la reacción descrita del resto del tejido (flecha) (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 80$). E: Mayor aumento del área del recuadro en D. Las partículas del material se encuentran rodeadas por un tejido fibrogranulomatoso denso (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 1000$).

los tejidos y dentro de la luz de vasos sanguíneos. En contacto con EFL, se pudo apreciar también un tejido fibrogranulomatoso persistente y severo invaginado dentro de la luz de los tubos. Mayores aumentos revelaron la presencia de una concentración densa de células inflamatorias, constituida por polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, fibroblastos y vasos de neoformación con partículas de material en su interior (Fig. 3). A 10, 30 y 90 días, no se observaron diferencias significativas ($P>0,05$) entre FPL y EFL. Por el contrario, cuando se compararon los resultados obtenidos entre FPL o EFL y los PLT, las diferencias fueron significativas en todos los períodos estudiados ($P<0,05$).

Discusión

La implantación en el tejido celular subcutáneo de la rata constituye un procedimiento válido como ensayo secundario para el estudio de la biocompatibilidad de materiales endodónticos^{12,13}. Como puede comprobarse, en este estudio los resultados fueron analizados de forma cualitativa, no cuantitativa. La utilización de tubos

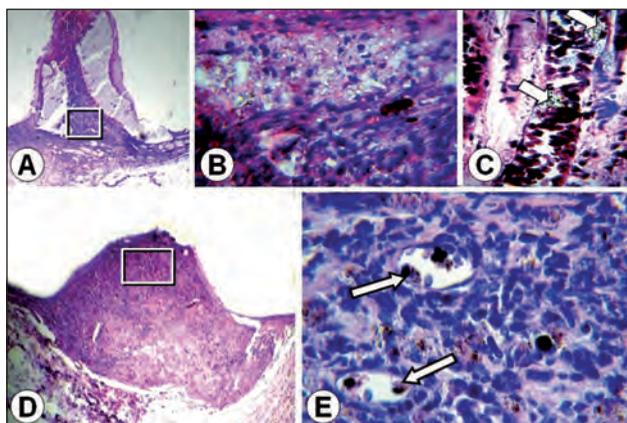


Figura 3. 90 días. Microfotografía de un espécimen representativo de FPL. A: Se observa la persistencia de un tejido fibrogranulomatoso invaginado dentro de la luz del tubo, con gran cantidad de partículas del material (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 40$). B: Mayor aumento del área del recuadro en A. Se pueden observar numerosas partículas cristalinas rodeadas por un tejido fibrogranulomatoso denso y numerosas partículas distribuidas en los tejidos circundantes (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 750$). C: A mayor aumento, se observan partículas del material dentro de un vaso sanguíneo (flechas) (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 1500$). D: Microfotografía de un espécimen representativo de EFL. A los 90 días, aún persiste una invaginación de tejido fibrogranulomatoso dentro de la luz del tubo (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 40$). E: Mayor aumento del área del recuadro en D, donde puede observarse una gran concentración de células inflamatorias crónicas y vasos de neoformación, con partículas del material (flechas) (hematoxilina y eosina; magnificación original $\times 1000$).

de silicona como portadores de FPL y EFL tuvo como objeto el aprovechamiento de la excelente biocompatibilidad de las siliconas de grado médico, hecho previamente comprobado en estudios anteriores^{11,14,15}. En concordancia con estos estudios, los tubos de silicona tienden a ser rodeados por una cápsula fibrosa, con escaso número de células inflamatorias, en los períodos de observación cortos; pero en los períodos más extensos, la cápsula se encuentra libre de células inflamatorias, y su espesor y densidad se incrementan paulatinamente. Los períodos experimentales utilizados responden a los plazos establecidos por los estándares internacionales para el estudio de biomateriales¹².

Se utilizó EFL, un material a base de óxido de cinc y eugenol, como control positivo. Si bien no se trata de un material de restauración, diseñado para cementar restauraciones indirectas u obturar cavidades preparadas en dentina, las propiedades biológicas de este tipo de formulación¹⁶ permitieron realizar un análisis comparativo respecto de la reacción de los tejidos en contacto con FPL.

La reacción inflamatoria observada inicialmente en los tejidos en contacto con FPL no resultó del todo inesperada. Debe tenerse en cuenta que FPL está constituido por un polvo de vidrio de alúmino-silicato y una fase líquida con 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA), trietilen glicol metacrilato (TEGDMA) y ácido poliacrílico¹⁷, y que –como fue demostrado previamente–, en un medio biológico, los ionómeros modificados con resinas sufren un proceso de biodegradación enzimática⁴, liberando una cantidad de subproductos que pueden resultar tóxicos para los tejidos circundantes^{6,7}. Esta degradación se incrementa en función del tiempo transcurrido⁴, lo cual explicaría de alguna forma el aumento de la cantidad de partículas del material liberadas en los tejidos, lo que, a su vez, estimula la confluencia de macrófagos y la fagocitosis del material liberado.

Por lo tanto, no es ilógico suponer que, además de las partículas de ionómero distribuidas en los tejidos, la reacción en contacto directo con FPL tenga que ver también con los metacrilatos u otros aditivos que lo componen. Rueggeberg *et al.*¹⁸ informaron que cierta cantidad de monómeros no polimerizados suelen persistir luego de su conversión. Por otra parte, tanto los ionómeros como los componentes de las resinas se encuentran permanentemente expuestos a la degradación enzimática^{4,19}, lo cual permite la formación de productos y subproductos tóxicos que pueden ser liberados en el medio circundante. Los informes preliminares de Hanks *et al.*¹⁹ y Nassiri *et al.*²⁰ han demostrado que diferentes

tipos de metacrilatos ejercen efectos citotóxicos en cultivos de células de animales y humanas. De acuerdo con las observaciones de Rueggeberg *et al.*¹⁸, es posible que, en la presente experiencia, la polimerización incompleta de los monómeros haya permitido la liberación de sus componentes en los tejidos circundantes y, de esta forma, desarrollado una reacción inflamatoria que se mantuvo durante toda la experiencia. Ferracane *et al.*^{21,22} han sugerido que la liberación de las resinas continúa durante períodos prolongados, lo cual podría justificar la persistencia de una reacción inflamatoria severa a los 30 y 90 días posimplantación. Estos hallazgos son consistentes con las experiencias previas de Ferracane *et al.*²¹ y Costa *et al.*^{23,24}

La presencia de una reacción inflamatoria severa en los tejidos en contacto directo con EFL corrobora los resultados de investigaciones previas¹⁶. En el presente estudio, se comprobó que esta reacción tiende a persistir durante toda la experiencia, y se observó la presencia constante de polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos y células gigantes multinucleadas ocasionales en los tejidos circundantes. La reacción inflamatoria está relacionada, fundamentalmente, con la presencia de óxido de cinc y eugenol en la composición del material. Los niveles de toxicidad de estas formulaciones ya han sido claramente informados^{16,25,26}. En ese sentido, se demostró que los materiales a base de óxido de cinc y eugenol suelen contener eugenol libre, incluso después de que el proceso de quelación haya sido completado²⁵. Cotmore *et al.*²⁶ comprobaron que la presencia de eugenol libre en el medio tiene un efecto inhibitorio severo sobre la función celular. Más aún, es posible que esta acción se vea favorecida por el alto índice de solubilidad de estos materiales, ya que se desintegran con mucha facilidad en un medio acuoso²⁷.

La liberación de otros componentes de EFL, tales como el cinc y el bario, puede ser un factor de influencia adicional de la persistencia de las reacciones inflamatorias. Tal como ha sido previamente demostrado^{28,29}, el cinc y el bario suelen generar efectos tóxicos locales, tanto “in vitro” como en los tejidos en contacto con aquellos

materiales que los contienen. La presencia de partículas de FPL y EFL dentro de la luz de vasos sanguíneos tampoco resultó un hallazgo inesperado, y –en concordancia con las observaciones previas de Langeland *et al.*^{30,32} y Block *et al.*³¹– este hecho sugiere que las partículas liberadas por los materiales tienden a ser transportadas por vía sanguínea hacia zonas más alejadas.

En esta experiencia, y de forma similar a lo ocurrido con los implantes de FPL, en todos los períodos de observación se detectaron numerosas partículas de EFL liberadas a los tejidos, fagocitadas por macrófagos y células gigantes. Esto se explica porque –al igual que FPL– los cementos a base de óxido de cinc y eugenol también están expuestos a un proceso de degradación y liberación de partículas en los tejidos circundantes²⁷.

Conclusión

Teniendo en cuenta las limitaciones de este trabajo, los implantes de FPL y EFL no fueron bien tolerados por el tejido celular subcutáneo de la rata. Si bien ninguno de los materiales analizados está indicado para ser utilizado en contacto directo con la pulpa, ya ha sido demostrado que tanto los monómeros incompletamente polimerizados de los materiales a base de resinas como el eugenol libre –presente incluso luego de que haya sido completado el proceso de quelación de los materiales que lo contienen³³– pueden progresar hacia los tejidos pulpares a través de los conductillos dentinarios, provocando daño pulpar irreversible³⁴. En ese sentido, la mayoría de los investigadores indican que –ante la posibilidad de que se produzca una exposición pulpar inadvertida, o de que los subproductos de la degradación de los ionómeros modificados con resina (como FPL), en un medio húmedo, puedan migrar hacia la pulpa en cavidades o preparaciones profundas– siempre es conveniente aislar la pulpa en el sitio de mayor profundización, por medio de una base protectora^{35,36}.

Los autores declaran no tener conflictos de interés en relación con este estudio y afirman no haber recibido financiamiento externo para realizarlo.

Tabla 1. Cantidad y distribución de los implantes en los diferentes períodos de observación.

Días	FPL (n)	EFL (n)	Total (n)
10	5	5	10
30	5	5	10
90	5	5	10

Tabla 2. Tipo de reacción a los materiales implantados en función del tiempo.

MATERIAL	10 días					30 días					90 días				
	n	0	1	2	3	n	0	1	2	3	n	0	1	2	3
FPL	5	-	-	-	5	5	-	-	-	5	5	-	-	-	5
EFL	5	-	-	-	5	5	-	-	-	5	5	-	-	-	5
PLT	5	-	5	-	-	5	5	-	-	-	5	5	-	-	-

Referencias

- Mount GJ. Glass-ionomers: a review of their current status. *Oper Dent* 1999;24:115-24.
- Davidson CL. Glass ionomer bases under posterior composites. *J Esthet Dent* 1994;6:223-4.
- Ferrari M. Use of glass ionomers as bonding, linings or base. En: Davidson CL, Mjör IA (eds.). *Advances in glass-ionomer cements*. Berlín/Chicago. Quintessence Publishing Co. 1999, pp. 137-48.
- DePaula AB, Fucio SBP, Ambrosano GMB, Alonso RCB, Sardi JCO, Puppini-Rontani RM. Biodegradation and abrasive wear of nano restorative materials. *Oper Dent* 2011;36:670-7.
- Costa CAS, Hebling J, García-Godoy F, Hanks CT. In vitro citotoxicity of five glass-ionomer cements. *Biomaterials* 2003;21:3853-8.
- Tobias J. Pulpal response to a glass-ionomer cement. *Brit Dent J* 1978;144:345-50.
- Costa CAS, Benatti Neto C, Vargas PA, Villalba H, Hebling J. Compatibilidade biológica do ionómero de vidro fotopolimerizável (Vitremer). Avaliação histológica do seus efeitos sobre dentina e tecido pulpar em dentes de rato. *Rev Odontol Univ de Sao Paulo* 1996;10:257-67.
- ISO 10993-1:1992. Biological evaluation of medical devices - Part 1: Guidance on selection of tests. Ginebra 1992.
- ISO 10993-2:1992. Biological evaluation of medical devices - Part 2: Animal welfare requirements. Ginebra 1992.
- Bayne K. Developing guidelines of the care and use of animals. *Ann NY Acad Sci* 1998;30:105-10.
- 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.
- Fédération Dentaire Internationale (FDI). Recommended standard practices for the biological evaluation of dental materials. *Int Dent J* 1980;30:174-6.
- Olsson B, Sliwowsky A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod* 1981;7:355-69.
- 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;14:229-235.
- 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.
- Deemer JP, Tsaknis PJ. The effects of overfilled polyethylene tube intraosseous implants in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1979;48:358-72.
- Piwovarczyk A, Lauer H-C, Sorensen JA. Microleakage of various cementing agents for full cast crowns. *Dent Mat* 2005;21:445-53.
- Rueggeberg FA, Margeson DH. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. *J Dent Res* 1990;69:1652-8.
- Hanks CT, Strawn SE, Wataha JC, Craig RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res* 1991;70:1450-5.
- Nassiri MR, Hanks CT, Cameron MJ, Strawn SE, Craig RG. Application of low cytometry to determine the cytotoxicity of urethane dimethacrylate in human cells. *J Biomed Mat Res* 1994;28:153-8.
- Ferracane JL, Condon JR. Rate of elution of leachable components from composite. *Dent Mat* 1990;6:282-7.
- Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil* 1994;21:441-52.
- Costa CAS, Hebling J, Teixeira MF. Preliminary study of the biological compatibility of the dentine adhesives All-bond 2 and Scotchbond MP. Histological evaluation of subcutaneous implants in rats. *Rev Odont USP* 1997;11:11-8.
- Costa CAS, Teixeira HM, Lopes Nascimento AB, Hebling J. Biocompatibility of two current adhesive resins. *J Endod* 2000;26:512-6.
- Molnar EJ. Residual eugenol from zinc oxide-eugenol compounds. *J Dent Res* 1967;46:645-59.
- Cotmore JM, Burke A, Lee NH, Shapiro IM. Respiratory inhibition of isolated rat liver mitochondria by eugenol. *Archs Oral Biol* 1979;24:565-8.

27. Hanks CT, Anderson M, Craig RG. Cytotoxic effects of dental cements on two cell culture systems. *J Oral Pathol* 1981;10:101-12.
28. Smith JW, Leeb IJ, Torney DL. A comparison of calcium hydroxide and barium hydroxide as agents for inducing apical closure. *J Endod* 1984;10:64-70.
29. Meryon SD, Jakeman KJ. The effects in vitro of zinc released from dental restorative materials. *Int Endod J* 1985;18:191-8.
30. 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.
31. Block RM, Lewis RD, Hirsch J, Coffey J, Langeland K. Systemic distribution of N2 paste containing 14C paraformaldehyde following root canal therapy in dogs. *O Surg O Med O Pathol* 1980;50:350-60.
32. Langeland K, Olsson B, Pascon EA. Biological evaluation of Hydron. *J Endod* 1981;7:196-204.
33. Smith DC. The setting of zinc oxide-eugenol mixtures. *Brit Dent J* 1958;105:313-21.
34. Gwinnett AJ, Tay FR. Early and intermediate time response of the dental pulp to an acid etch technique in vivo. *Am J Dent* 1997;10:35-44.
35. Mjör IA, Ferrari M. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 6: Reactions to restorative materials, tooth restoration interfaces, and adhesive techniques. *Quintessence Int* 2002;33:35-63.
36. Accorinte MDL, Holland R, Reis A, Bertoluzzi MC, Murata SS, Dezan E, et al. Evaluation of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide cement as pulp-capping agents in human teeth. *J Endod* 2008;34:1-6.

Agradecimientos: Los autores agradecen la colaboración del Prof. Dr. Ricardo Macchi para el cálculo estadístico de los resultados.

Contacto:

OSVALDO ZMENER

osvaldo@zmener.com.ar

Julián Álvarez 2335 3.º D, C1425DHH
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina