

# Reacción del tejido celular subcutáneo de la rata a un sellador endodóntico a base de metacrilatos hidrófilos

## *Response of the subcutaneous connective tissue of the rat to a methacrylate-based endodontic sealer*

Presentado: 22 de mayo de 2012  
Aceptado: 3 de septiembre de 2012

Carlos Cantarini<sup>a</sup>, Santiago Frajlích<sup>b</sup>, Osvaldo Zmener<sup>c</sup>, Daniel Grana<sup>†d</sup>, Ana Rosario Luna<sup>d</sup>, Carla Goroni<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Cátedra de Endodoncia I

<sup>b</sup>Cátedra de Endodoncia II

<sup>c</sup>Carrera de Especialización en Endodoncia, Cátedra de Anatomía Patológica

<sup>d</sup>Cátedra de Anatomía Patológica

Escuela de Odontología, Universidad del Salvador / Asociación Odontológica Argentina

### Resumen

**Objetivo:** Analizar la respuesta del tejido celular subcutáneo de la rata a la implantación de Epiphany, un sellador endodóntico a base de metacrilatos hidrófilos.

**Materiales y métodos:** Se implantaron tubos de silicona obturados a ras en ambos extremos con una preparación fresca de Epiphany o AH 26 en el tejido celular subcutáneo de veinte ratas; el AH 26 fue considerado como control positivo. Como control negativo se utilizaron tubos de silicona sin obturar. A los 14 días y a los 84 días posimplantación, los animales fueron sacrificados, los implantes junto con los tejidos circundantes fueron removidos, fijados en solución de formol al 10% y, finalmente, procesados para su estudio histológico.

**Resultados:** A los 14 días, el análisis histológico reveló la presencia de una reacción inflamatoria severa compuesta por: polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, fibroblastos y vasos de neoformación en contacto directo con Epiphany

y AH 26. A los 84 días posimplantación, la reacción inflamatoria se redujo, pero persistió y fue considerada como moderada. En ambos períodos se observaron numerosas partículas de los dos materiales, dispersas en los tejidos, muchas de ellas fagocitadas por macrófagos, células gigantes multinucleadas y fibroblastos. En contacto con los controles negativos, la reacción de los tejidos fue considerada como mínima a los 14 días posimplantación, pero los tejidos retornaron a la normalidad al finalizar la experiencia. En ambos períodos se observaron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) entre Epiphany/AH 26 y el control negativo, mientras que no las hubo ( $P > 0,05$ ) entre ambos selladores. Cuando se compararon los resultados obtenidos en cada uno de los períodos experimentales (14 y 84 días), la diferencia fue estadísticamente significativa ( $P < 0,05$ ) para cada uno de los materiales analizados.

**Palabras clave:** Biocompatibilidad, endodoncia, selladores a base de metacrilatos.

### Abstract

**Aim:** To analyze the subcutaneous connective tissue response of the rat to Epiphany, a methacrylate-based endodontic sealer.

**Material and methods:** Silicone tubes were filled flush at both ends with freshly prepared Epiphany or AH26 (which was used as positive control). They were then implanted in the subcutaneous connective tissue of the rat. Silicone tubes of the same size were also implanted and used as negative controls.

The tissue reaction to the implanted materials was histologically studied after 14 and 84 days.

**Results:** At the 14-day observation, a severe granulomatous tissue containing randomly distributed material particles as well as numerous polymorphonuclear leukocytes, lymphocytes, plasmocytes, macrophages and an occasional foreign body giant cells was observed in contact with Epiphany and AH26

while In contact with the negative controls, there was a fibrous connective tissue capsule containing scarce number of inflammatory cells. At the 84-day observation, the severity of the reaction decreased even though the majority of the Epiphany and AH26 specimens exhibited a persistent inflammatory cell infiltration and the presence of numerous particles of the materials within the cytoplasm of macrophages and fibroblasts. In contact with the controls, a fibrous connective tissue encapsulation, free of inflammatory cells could be observed. Statistical

comparisons among materials revealed significant differences ( $P < 0.01$ ) between Epiphany/AH26 and the negative controls while no significant differences ( $P > 0.05$ ) were observed between both, Epiphany and AH26. When the results obtained at each of the experimental periods (14 and 84 days) were compared, significant differences ( $P < 0.05$ ) were detected for each of the tested materials.

**Key words:** Biocompatibility, endodontics, methacrylate resin-based sealers.

## Introducción

La completa limpieza y desinfección del sistema de conductos radiculares y su posterior obturación por medio de un material que provea de un buen sellado, tanto coronario como apical, resultan fundamentales para la obtención de un tratamiento endodóntico exitoso<sup>1,2</sup>. Sin embargo, a causa de que los materiales de obturación suelen estar en íntimo contacto con los tejidos periapicales, sus propiedades biológicas constituyen un factor de influencia en los resultados a distancia del tratamiento<sup>3,4</sup>. Durante décadas y hasta la actualidad, el uso de conos de gutapercha complementados con un cemento sellador constituye el procedimiento más aceptado para la obturación de conductos radiculares<sup>5</sup>. En ese sentido, se han utilizado diferentes tipos de selladores endodónticos, aunque los estudios previos han demostrado que la mayoría de ellos presentan diferentes grados de toxicidad en contacto con los tejidos que los rodean<sup>3,4,6-8</sup>. Recientemente, se ha incorporado al amplio espectro de materiales utilizados en endodoncia un sellador a base de metacrilatos hidrófilos (Epiphany; Pentron Clinical Technologies, Wallingford, CT, Estados Unidos), específicamente desarrollado para ser utilizado en combinación con conos de Resilon (Resilon Research LLC, Madison, CT, Estados Unidos), material constituido por un polímero sintético termoplástico (policaprolactona)<sup>9</sup>. El sistema es actualmente comercializado con el nombre de Real Seal (SybronEndo, Orange, CA, Estados Unidos) y, de acuerdo con lo informado por el fabricante, el sellador Epiphany es un material de polimerización dual a base de metacrilatos, tales como bisfenol-A-glicidildimetacrilato (BisGMA), dimetacrilato de uretano (UDMA) y otros metacrilatos hidrófilos disfuncionales. Este sellador es complementado por elementos de relleno, como hidróxido de calcio, sulfato de bario, oxicloruro de bismuto, sílice, estabilizadores, pigmentos y foto iniciadores. Su combinación con los conos de Resilon permite obtener un tipo de obturación conocida como "monobloc". Esta combinación produce una adhesión química entre el sellador y los conos, y una adhesión micromecánica entre

la resina y el sustrato dentinario<sup>10,11</sup>. Si bien estas propiedades han mejorado la *performance* del material en la interfaz sellador-dentina<sup>10,12,13</sup>, sus niveles de biocompatibilidad no han sido aún completamente determinados. Bodrumlu *et al.*<sup>14</sup> observaron que Epiphany tuvo un comportamiento favorable cuando fue implantado en tejido celular subcutáneo. En un estudio realizado en dientes de perro, Shipper *et al.*<sup>13</sup> observaron una respuesta periapical inflamatoria mínima y sugirieron que esta respuesta favorable se debería a la resistencia que Epiphany ofrece a la filtración bacteriana. En 2006, Sousa *et al.*<sup>15</sup> compararon la biocompatibilidad de Epiphany, EndoREZ y AH Plus, implantados en el tejido óseo de la mandíbula de cochinitos de Guinea, y comprobaron que Epiphany reveló un comportamiento biológico superior a los otros materiales analizados. Por su parte, Brasil *et al.*<sup>16</sup> obturaron conductos radiculares de perros con conos de Resilon/Epiphany o conos de gutapercha/Pulp Canal Sealer, y comprobaron que no hubo diferencias significativas en cuanto a la capacidad de reparación de los tejidos periapicales en los casos obturados con ambos métodos. Como parte de un programa de evaluación biológica de materiales endodónticos desarrollado en nuestro laboratorio, y de acuerdo con las normas internacionales de la Federación Dental Internacional (FDI)<sup>17</sup> y la norma ISO 10993-6(F)-07<sup>18</sup>, el objetivo de este trabajo es evaluar el comportamiento biológico de Epiphany implantado en el tejido celular subcutáneo de la rata.

## Materiales y métodos

El protocolo de este estudio fue previamente revisado y aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación Científica de la Asociación Odontológica Argentina. Se utilizaron sesenta 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. Luego de ser esterilizados con rayos gamma, veinte tubos ( $n=20$ ) se obturaron a ras en ambos extremos con Epiphany, mientras que otros veinte

(n=20) se obturaron de la misma forma con un cemento a base de resina epoxi (AH 26; De Trey/Dentsply, Konstanz, Alemania), considerado este último como control positivo. Ambos materiales fueron manipulados y preparados de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los veinte (n=20) tubos restantes no recibieron ningún material y fueron considerados como control negativo. Los especímenes se implantaron en el tejido celular subcutáneo de la zona dorsal de veinte ratas Wistar macho, de aproximadamente 200 g. Cada animal recibió un implante de Epiphany, uno de AH 26 y un control negativo. Durante los procedimientos operatorios se tuvo especial cuidado de no contaminar las paredes de los tubos con los cementos analizados. Los animales fueron tratados en conformidad con los requerimientos de las normas ISO 10993-1-1992 e ISO 10993-2-1992<sup>19,20</sup>, los principios éticos de experimentación y las especificaciones para el cuidado y uso de animales de laboratorio<sup>21</sup>. Las ratas fueron puestas en cuarentena durante los siete 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 las maniobras quirúrgicas de implantación fueron realizadas bajo condiciones asépticas, de acuerdo con los siguientes procedimientos: 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). Posteriormente, se realizó 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 tres áreas en forma de bolsillo, insertándose cuidadosamente en cada una de ellas un implante de Epiphany, un implante de AH 26 y un control negativo. Con el objeto de evitar interferencias en la reacción de los tejidos a uno u otro material, cada implante se ubicó a una distancia aproximada de 20 mm de la línea media, uno sobre el lado derecho (Epiphany) y dos sobre el lado izquierdo (AH26 y el control negativo), separados los dos últimos entre sí por una distancia de aproximadamente 40 mm. Finalmente, las heridas fueron suturadas con cyanoacrilato. Los animales se mantuvieron 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, con temperatura ambiental controlada (24 °C) y ciclos de luz y oscuridad de doce horas. A los 14 y 84 días posimplantación, fueron

sacrificados por medio de una sobredosis de solución anestésica en grupos de diez. Los implantes, junto con los tejidos circundantes, fueron removidos quirúrgicamente y fijados en solución de formol-búffer 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, en forma paralela al eje mayor de los tubos. Las secciones se colorearon con hematoxilina y eosina. Cada cinco cortes, el sexto fue coloreado mediante la técnica tricrómica de Masson. Los cortes se analizaron y se fotografiaron con diferentes aumentos, por medio de un microscopio óptico equipado con una cámara digital Canon Power-Shot A510 (Canon, Tokyo, Japón). Las imágenes 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. En los casos donde no hubo acuerdo, los preparados histológicos eran nuevamente analizados en conjunto hasta obtener 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 y 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 congestivos. Los datos obtenidos se analizaron por medio del test de Kruskal-Wallis y del test de comparación múltiple de Dunn, con el objeto de determinar si existió una diferencia significativa entre Epiphany, AH 26 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 la prueba de Mann-Whitney. El nivel de significación fue establecido en  $P < 0,05$ .

## Resultados

Al finalizar cada uno de los períodos posoperatorios, la observación macroscópica a nivel de las áreas implantadas reveló que todos los implantes se mantenían en su



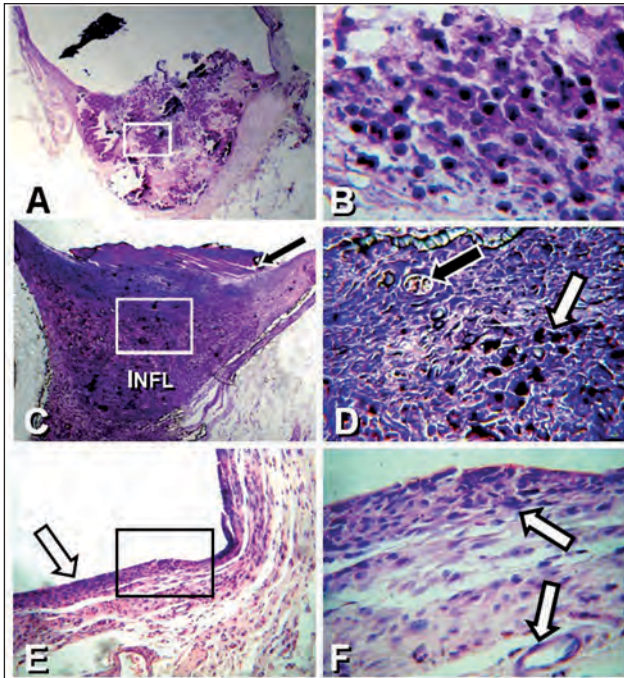


Figura 1. 14 días. A: Microfotografía de un espécimen representativo de Epiphany. Se observa una reacción inflamatoria severa en contacto con el material (hematoxilina y eosina; magnificación original x 40). B: Mayor aumento del área del recuadro en A. Se observan polimorfonucleares, linfocitos, macrófagos y escasos plasmocitos (hematoxilina y eosina; magnificación original X 1000). C: Microfotografía de un espécimen representativo de AH 26. En contacto con el material, se observa un área de necrosis (flecha), y por debajo de ella una gran concentración de células inflamatorias (INFL) (hematoxilina y eosina; magnificación original x 100). D: Mayor aumento del área del recuadro en C, donde se observa una densa concentración de células inflamatorias, se destaca la presencia de macrófagos que fagocitan partículas del material (flecha blanca) y vasos de neoformación (flecha negra) (hematoxilina y eosina; magnificación original x 400). E: Microfotografía de un espécimen representativo del control negativo. En contacto con la pared del tubo de silicona, se observa una cápsula fibrosa (flecha) que contiene escasas células inflamatorias (hematoxilina y eosina; magnificación original x 100). F: Mayor aumento del área del recuadro en E. Dentro de la cápsula fibrosa que rodea al tubo de silicona pueden observarse algunas células inflamatorias (flecha superior), como también en las áreas circundantes. La flecha inferior marca un amplio vaso sanguíneo (hematoxilina y eosina; magnificación original x 1000).

sitio, las heridas habían cicatrizado normalmente y los animales se encontraban en buen estado de salud. El tipo de reacción a los materiales en los diferentes períodos experimentales puede observarse en la Tabla 1.

A los 14 días (Fig. 1), la reacción de los tejidos en contacto con Epiphany fue catalogada como severa. Se observaron áreas necróticas y la presencia de polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos y macrófagos. Se observaron también numerosas partículas de material distribuidas aleatoriamente en los tejidos

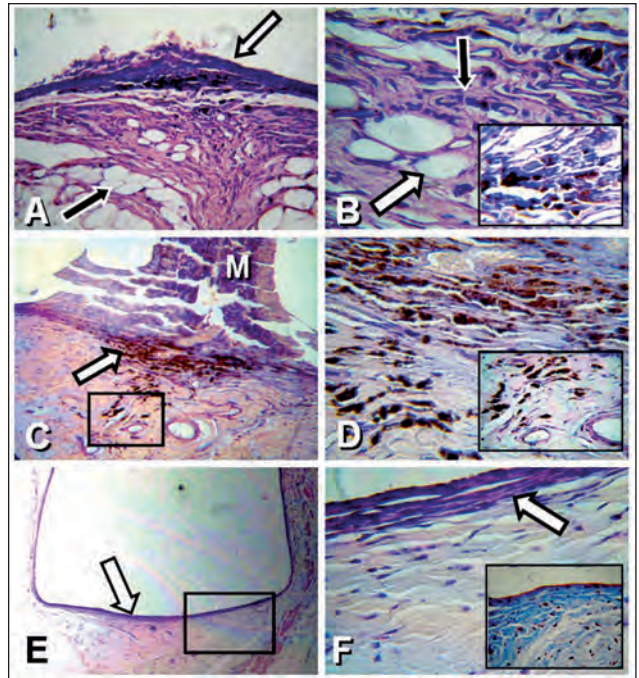


Figura 2. 84 días. A: Microfotografía de un espécimen representativo de Epiphany. En contacto con el material se observa un tejido fibroso denso (flecha blanca) y por debajo un tejido fibrogranulomatoso que contiene numerosos vasos de neoformación. La flecha negra marca un área ocupada por células adiposas (hematoxilina y eosina; magnificación original x 100). B: Mayor aumento de A, donde se observan células inflamatorias, partículas del material (flecha negra) y vasos de neoformación (flecha blanca) (hematoxilina y eosina; magnificación original x 1000). En el recuadro inserto y a mayor aumento, se observan macrófagos que fagocitan partículas del material rodeados por tejido colágeno (coloración tricrómica de Masson; magnificación original x 1500). C: Microfotografía de un espécimen representativo de AH 26. Se observan restos del material dentro de la luz del tubo y remanentes de tejido necrótico (M). La flecha blanca marca la presencia de células inflamatorias persistentes (hematoxilina y eosina; magnificación original x 100). D: Mayor aumento del área marcada con la flecha en C, donde pueden observarse numerosas células macrófagos que contienen partículas del material (coloración tricrómica de Masson; magnificación original X 1000). En el recuadro inserto se observa el área del recuadro en C, donde persisten numerosos macrófagos y fibroblastos que fagocitan partículas del material en áreas circundantes más alejadas (coloración tricrómica de Masson; magnificación original x 1000). E: Microfotografía de un espécimen representativo del control negativo. En contacto con el tubo de silicona, se observa una cápsula fibrosa consistente sin células inflamatorias (flecha) (hematoxilina y eosina; magnificación original x 40). F: Mayor aumento del área del recuadro en E. Se observa un detalle de la cápsula fibrosa (flecha) rodeada por tejido fibroso sin células inflamatorias (hematoxilina y eosina; magnificación original x 1000). En el inserto, se observa la cápsula fibrosa rodeada por un tejido colágeno denso que contiene vasos sanguíneos (coloración tricrómica de Masson; magnificación original x 850).

vecinos. En contacto con AH 26 se verificaron áreas necróticas y una reacción granulomatosa severa constituida por polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, numerosos plasmocitos, macrófagos y células gigantes

multinucleadas que fagocitan partículas del material. La reacción en contacto con los controles negativos fue considerada de mínima a moderada. Los implantes se encontraban rodeados por una cápsula fibrosa que contenía células inflamatorias cuyo número se reducía hacia las zonas circundantes. El análisis estadístico reveló que hubo diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) en el tipo de reacción observada entre Epiphany/AH 26 y el control negativo, sin detectarse diferencias significativas entre ambos selladores ( $P > 0,05$ ).

A los 84 días (Fig. 2), la reacción observada para Epiphany y AH 26 fue considerada de mínima a moderada. En contacto con Epiphany se observó una cápsula fibrosa densa que se coloreaba intensamente con la hematoxilina, rodeada por un tejido fibroso donde persistían algunas células inflamatorias, fundamentalmente linfocitos y vasos de neoformación. En esas áreas aún persistían partículas del material fagocitadas por macrófagos. En contacto con AH 26 también fue observado un tejido fibroso denso, donde numerosas partículas del material se encontraban dentro del citoplasma de fibroblastos y macrófagos, lo cual también fue visualizado en áreas más alejadas de los implantes. En contacto con los controles negativos no hubo reacción inflamatoria. Los tubos se encontraban rodeados por una cápsula fibrosa, sin células inflamatorias, circundada por un tejido fibroso consistente y sano. Se observaron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ) en el tipo de reacción entre Epiphany/AH 26 y el control negativo, mientras que no las hubo ( $P > 0,05$ ) entre ambos selladores. Cuando se compararon los resultados obtenidos en cada uno de los períodos experimentales (14 y 84 días), la diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ) para cada uno de los materiales analizados.

## Discusión

La implantación de biomateriales en el tejido celular subcutáneo de la rata constituye un procedimiento válido como ensayo previo a la implantación ósea o a las pruebas de uso para el estudio de la biocompatibilidad de materiales endodónticos<sup>17,18,22</sup>. La elección de tubos de silicona, como portadores de los materiales investigados y como control negativo, tuvo como objetivo el aprovechamiento de su excelente biocompatibilidad, previamente informada en estudios anteriores<sup>23,24</sup>. Los tubos de silicona son generalmente rodeados por una cápsula fibrosa con escaso número de células inflamatorias en los períodos de observación cortos, probablemente a causa del trauma quirúrgico, pero en los períodos más extensos la cápsula se encuentra libre de células inflamatorias, y su espesor y densidad se incrementan paulatinamente en

función del tiempo transcurrido<sup>23,24</sup>. Los períodos experimentales utilizados se encuentran comprendidos dentro de los plazos establecidos por los estándares internacionales para el estudio de biomateriales<sup>17,18</sup>.

En este trabajo se utilizó AH 26, un material a base de resina epoxi como control positivo, cuyas propiedades biológicas han sido previamente investigadas<sup>7,25-30</sup>. El material produjo inicialmente una reacción inflamatoria severa de los tejidos, con presencia de áreas necróticas. Estas observaciones concuerdan con las de Ørstavik/Mjör<sup>7</sup> y Tagger/Tagger<sup>28</sup>, y estarían directamente relacionadas con la liberación de formaldehído a partir de la reacción de polimerización de la resina<sup>30-32</sup>. Por otra parte, las numerosas partículas liberadas inicialmente por el material y fagocitadas por macrófagos y ocasionales células gigantes multinucleadas confirman los resultados preliminares de Syrjänen *et al.*<sup>33</sup> Resultó significativo comprobar que, si bien la reacción inicial se redujo al finalizar la experiencia, aún persistían en los tejidos circundantes partículas fagocitadas por macrófagos y, curiosamente, por fibroblastos. Esto permite suponer que luego de la polimerización del material, y a causa de su alto índice de solubilidad, sus componentes<sup>34</sup> siguen siendo liberados y transportados hacia áreas más alejadas del sitio de implantación.

Se comprobó que, a pesar de que el período experimental más extenso utilizado en este trabajo de implantación subcutánea y el usado por Sousa *et al.*<sup>15</sup> en tejido óseo fueron similares (84 días), los resultados discreparon ampliamente. Sousa *et al.*<sup>15</sup> informaron que Epiphany demostró un comportamiento biológico excelente tanto a los 28 como a los 84 días posimplantación, mientras que en la presente experiencia la reacción de los tejidos en contacto con el sellador osciló entre severa (14 días) y moderada (84 días). Estas diferencias podrían ser consecuencia del empleo de modelos experimentales diferentes, tema que requiere investigaciones más exhaustivas.

Debería tenerse en cuenta que la composición química de los materiales sometidos a un ensayo de biocompatibilidad es un factor de influencia que debe ser analizado detalladamente. Tal como fuera previamente informado, el sellador Epiphany está constituido por un compuesto de metacrilatos hidrófilos y otros aditivos. Rueggeberg & Margeson<sup>35</sup> demostraron que cierta cantidad de monómeros suelen persistir sin polimerizar luego de su conversión. Estas observaciones sugieren que la polimerización incompleta de los monómeros pudo haber facilitado la liberación de sus componentes en los tejidos circundantes, desarrollando inicialmente una reacción inflamatoria severa. Por otra parte, los componentes de las resinas en contacto con un medio

acuoso se encuentran permanentemente expuestos a una degradación enzimática<sup>36</sup>, que permite la formación de productos y subproductos tóxicos que pueden ser liberados en el medio circundante. Los informes preliminares de Hanks *et al.*<sup>37</sup> y Nassiri *et al.*<sup>38</sup> han demostrado que diferentes tipos de metacrilatos ejercen efectos citotóxicos en cultivos de células de animales y humanas. Así como ocurrió con el control positivo, la severidad de la reacción inflamatoria inicial en contacto con Epiphany se redujo en función del tiempo transcurrido. En ese sentido, Ferracane y Condon<sup>39</sup>, y Ferracane<sup>40</sup> han demostrado que la liberación de los monómeros u otros componentes de los materiales a base de metacrilatos continúa, aunque en una proporción menor, durante períodos de tiempo prolongados, lo cual podría explicar la persistencia de la reacción inflamatoria de menor intensidad a los 84 días posimplantación. Estos hallazgos son consistentes con las

experiencias previas de Costa *et al.*<sup>41-42</sup> y concuerdan con los resultados de Versiani *et al.*<sup>43</sup>, quienes comprobaron que el índice de solubilidad de Epiphany supera ampliamente los niveles aceptados por las normas establecidas por la Especificación N.º 57 de ANSI/ADA<sup>44</sup>.

En consideración con las limitaciones de este trabajo, tanto Epiphany como AH 26 no parecieron demostrar propiedades biológicas aceptables cuando fueron implantados durante 14 y 84 días en el tejido celular subcutáneo de la rata. Sin embargo, las observaciones realizadas durante la implantación de un biomaterial en tejido celular subcutáneo no pueden ser extrapoladas de forma directa con la situación clínica real, por lo que los resultados obtenidos deberían ser interpretados con cautela.

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

Tabla 1. Tipo de reacción a los materiales implantados en función del tiempo.

Material	14 días					84 días			
	n	0	1	2	3	n	0	1	3
Epiphany	10	-	-	1	9	10	-	8	-
AH 26	10	-	-	1	9	10	-	9	-
Control negativo	10	2	8	-	-	10	10	-	-

## Referencias

- Schilder H. Filling root canal in three dimensions. *Dent Clin N Am* 1967;11:723-44.
- Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol* 1994;10:105-8.
- Rowe AHR. Effect of root filling materials on the periapical tissues. *Br Dent J* 1967;122:98-102.
- Bernath M, Szabo J. Tissue reaction initiated by different sealers. *Int Endod J* 2003;36:256-61.
- Duncan HF, Chong BS. Removal of root filling materials. *Endod Topics* 2011;19:33-57.
- Olsson B, Wennberg A. Early tissue reaction to endodontic filling materials. *Endod Dent Traumatol* 1985;1:138-45.
- Ørstavik D, Mjör IA. Histopathology and X-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. *J Endod* 1988;14:13-23.
- Leonardo MR, Silva LAB, Almeida WA, Utrilla LS. Tissue response to an epoxy resin-based root canal sealer. *Endod Dent Traumatol* 1999;15:28-32.
- Barnett F, Trope M. Resilon: a novel material to replace gutta-percha. *Contemp Endod* 2004;1:16-9.
- Zmener O. Materiales de obturación a base de resinas adhesivas. Estado actual. *Rev Asoc Odont Argent* 2006;94:351-5.
- Shokouhinejad N, Sabeti M, Gorgestani H, Saghiri MA, Lotfi M, Hoseini A. Penetration of Epiphany, Epiphany self-etch and AH Plus into dentinal tubules: a scanning electron microscopy study. *J Endod* 2011;37:1316-9.
- Nawal RR, Parande M, Sehgal R, Rao NR, Naik A. A comparative evaluation of three root canal filling systems. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 2011;111:387-93.
- Shipper G, Teixeira FB, Arnold RR, Trope M. Periapical inflammation after coronal microbial inoculation of dog roots filled with gutta-percha or Resilon. *J Endod* 2005;31:91-6.
- Bodrumlu E, Muglali M, Sumer M, Guvenc T. The response of subcutaneous connective tissue to a new endodontic filling material. *J Biomed Mat Res* 2008;84:463-7.
- 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.
16. Brasil DS, Soares JA, Horta MCR, Ferreira CL, Nunes E, Chaves GG, *et al.* Periapical repair in dog teeth: root canal adhesive filling by using the Resilon system. *J Endod* 2010;36:482-8.
  17. Fédération Dentaire Internationale. Recommended standard practices for the biological evaluation of dental materials *Int Dent J* 1980;30:174-6.
  18. International Standards Organization. ISO 10993-6(F)-07-15. Biological evaluation of medical devices. Part 6. Tests for local effects after implantation: 1-8. CP56. CH1211, Ginebra, 1994.
  19. ISO 10993-1:1992. Biological evaluation of medical devices - Part 1: Guidance on selection of tests. Ginebra 1992.
  20. ISO 10993-2:1992. Biological evaluation of medical devices - Part 2: Animal welfare requirements. Ginebra 1992.
  21. Bayne K. Developing guidelines of the care and use of animals. *Ann NY Acad Sci* 1998;30:105-10.
  22. Olsson B, Sliwowsky A, Langeland K. Subcutaneous implantation for the biological evaluation of endodontic materials. *J Endod* 1981;7:355-69.
  23. 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.
  24. 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.
  25. Browne RM, Friend LA. An investigation into the irritant properties of some root filling materials. *Arch Oral Biol* 1968;13:1355-69.
  26. Benatti-Neto C, Bramante CM, Berbert A, Lia RCC. Reação do tecido conjuntivo subcutaneo de rato ante a implantação dos materiais componentes do cimento AH-26. *Rev Bras Odontol* 1982;39:11-20.
  27. Safavi KE, Pascon EA, Langeland K. Evaluation of tissue reaction to endodontic materials. *J Endod* 1983;9:421-9.
  28. Tagger M, Tagger E. Effect of implantation of AH26 silver-free in subcutaneous tissue of guinea-pigs. *Int Endod J* 1986;19:90-7.
  29. Tagger M, Tagger E. Periapical reactions to calcium hydroxide-containing sealers and AH 26 in monkeys. *Endod Dent Traumatol* 1989;5:139-46.
  30. Spångberg L, Barbosa SV, Lavigne GD. AH 26 releases formaldehyde. *J Endod* 1993;19:596-8.
  31. Stea S, Savarino L, Ciabetti G, Cenni E, Stea St, Trotta F, *et al.* Mutagenic potential of root canal sealers: evaluation through Ames testing. *J Biomed Mat Res* 1994;28:319-28.
  32. Geurtsen W, Leyhausen G. Biological aspects of root canal filling materials –histocompatibility, cytotoxicity and mutagenicity. *Clin Oral Invest* 1997;1:5-11.
  33. Syrjänen S, Moller B, Hensten-Pettersen A. Macrophage response and hemolytic activity caused by the powder component of endodontic sealers. *J Endod* 1985;11:294-300.
  34. McComb D, Smith DC. Comparison of physical properties of polycarboxylate-based and conventional root canal sealers. *J Endod* 1976;2:228-35.
  35. Rueggeberg FA, Margeson DH. The effect of oxygen inhibition on an unfilled/filled composite system. *J Dent Res* 1990;69:1652-8.
  36. 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.
  37. Hanks CT, Strawn SE, Wataha JC, Craig RG. Cytotoxic effects of resin components on cultured mammalian fibroblasts. *J Dent Res* 1991;70:1450-5.
  38. Nassiri MR, Hanks CT, Cameron MJ, Strawn SE, Craig RG. Application of low citometry to determine the cytotoxicity of urethane dimethacrylate in human cells. *J Biomed Mat Res* 1994;28:153-8.
  39. Ferracane JL, Condon JR. Rate of elution of leachable components from composite. *Dent Mat* 1990;6:282-7.
  40. Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehabil* 1994;21:441-52.
  41. 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;11:11-18.
  42. Costa CAS, Teixeira HM, Lopes Nascimento AB, Hebling J. Biocompatibility of two current adhesive resins. *J Endod* 2000;26:512-6.
  43. Versiani MA, Carvalho-Junior Jr., Padilla MI, Lacey S, Pascon EA, Sousa-Neto MD. A comparative study of physicochemical properties of AH Plus and Epiphany root canal sealants. *Int Endod J* 2006;39:464-71.
  44. ANSI/ADA Specification n.º 57. Endodontic sealing Material. Washington, Estados Unidos, 2000.
- Agradecimientos:** Los autores agradecen sinceramente la participación del Prof. Ricardo Macchi en el cálculo estadístico de los datos, y a la Sra. Marcela Álvarez por su colaboración técnica.

Contacto:

**OSVALDO ZMENER**

osvaldo@zmener.com.ar

Julián Álvarez 2335 3.ºD, C1425DHH

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina