Reacción del tejido óseo de la rata a un sellador endodóntico a base de óxido de cinc y eugenol con acetato de hidrocortisona

Response of the bone tissue of the rat to a zinc oxide and eugenol / hydrocortisone acetate-based endodontic sealer

Presentado: 19 de septiembre de 2014
Aceptado: 22 de diciembre de 2014

Osvaldo Zmener,[a] Daniel Rodolfo Grana,[†b] Gabriel Adrián Kokubu[c]

[a]Carrera de Especialización en Endodoncia, Facultad de Medicina, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador / Asociación Odontológica Argentina

[b]Cátedra de Anatomía Patológica, Facultad de Medicina, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador / Asociación Odontológica Argentina

[c]Cátedra de Patología I, Facultad de Medicina, Escuela de Odontología, Universidad del Salvador / Asociación Odontológica Argentina

Resumen

Objetivos: Analizar comparativamente la respuesta del tejido óseo de la rata a la implantación de Kleppmethasona (KMS), un sellador endodóntico a base de óxido de cinc y eugenol que contiene un corticoide en su composición, y Pulp Canal Sealer EWT (PCS), un sellador a base de óxido de cinc y eugenol convencional.

Materiales y métodos: Se implantaron, en ambas tibias de 12 ratas, tubos de silicona obturados a ras en los dos extremos, con una preparación fresca de Kleppmethasona (KMS; Klepp/Raysan SA), o Pulp Canal Sealer (PCS; Sybron-Endo) (control positivo). Como control negativo se utilizó la pared lateral de los tubos de silicona (SCN). Luego de 14 y 94 días posimplantación, se realizó la eutanasia de los animales. 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 posimplantación, el análisis histológico reveló la presencia de una reacción inflamatoria severa compuesta por polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, fibroblastos y vasos de neoformación en los especímenes que se hallaban en contacto directo con KMS y PCS. A los 94 días, en los casos en contacto con KMS la reacción inflamatoria se redujo sustancialmente, y se observó un proceso de reparación, con la presencia de una cápsula fibrosa sin células inflamatorias y el desarrollo de nuevas trabéculas óseas. En los especímenes en contacto con PCS la reacción inflamatoria inicial se redujo, pero se observó la persistencia de algunas células inflamatorias. Sin embargo, esta situación no pareció impedir el desarrollo incipiente de nuevas trabéculas óseas. En contacto con los SCN, la reacción de los tejidos a los 14 días posimplantación fue considerada mínima en un solo caso. Al finalizar la experiencia, los tejidos circundantes se encontraban normales en todos los casos. A los 14 días se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) entre KMS/PCS y los SCN, mientras que no las hubo ($p>0,05$) entre ambos selladores. A los 94 días, hubo diferencias significativas entre KMS, PCS y los SCN. Cuando se compararon los resultados obtenidos en cada uno de los períodos experimentales (14 y 94 días), las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p<0,05$) sólo para KMS.

Conclusiones: A pesar de que el KMS produjo una reacción inflamatoria inicial, luego de 94 días el material fue bien tolerado por el tejido óseo de la rata, y se comportó como biocompatible.

Palabras clave: Biocompatibilidad, endodoncia, selladores a base de óxido de cinc y eugenol.

Abstract

Aim: *To compare the response of the bone tissue of the rat to Kleppmethasona (KMS), a zinc oxide and eugenol-based endodontic sealer containing a hydrocortisone acetate in his formulation and Pulp Canal Sealer EWT (PCS), a conventional zinc oxide and eugenol-based sealer.*

Materials and methods: *Silicone tubes were filled flush at both ends with freshly prepared Kleppmethasona (KMS; Klepp/Raysan SA) or Pulp Canal Sealer EWT (PCS; Sybron Endo) (which was used as positive control). They were then implanted in both tibias of 12 rats. The lateral walls of the silicone tubes were used as negative controls (SCN). The animals were euthanized after 14 and 94 days. The implants along with the surrounding tissues were removed, fixed in 10% formalin solution and prepared for routine histological examination.*

Results: *At the 14-day observation, a severe granulomatous tissue containing numerous polymorphonuclear leukocytes, lymphocytes, plasmocytes, macrophages and newly formed vessels was observed in contact with KMS and PCS, while in contact with the negative controls, there was a healthy fibrous connective tissue capsule without inflammation except for one sample which showed scarce number of inflammatory cells. At the 94-day observation, the severity of the reaction in contact with KMS decreased substantially and showed a healthy fibrous connective capsule along with healthy newly formed bone trabeculae. On the contrary, the PCS specimens exhibited a slight but persistent inflammatory cell concentration which did not prevent the development of an incipient newly formed trabeculae. In contact with the SCN, a fibrous connective tissue encapsulation, free of inflammatory cells could be observed. Statistical comparisons among materials revealed significant differences ($p<0.05$) between KMS/PCS and the SCN while no significant differences ($p>0.05$) were observed between both, KMS and PCS. When the results obtained at each of the experimental period (14 and 94 days) were compared, significant differences ($p<0.05$) were detected only for KMS.*

Conclusions: *Although the tissues in contact with KMS revealed an initial inflammatory response, this profile changed significantly after 94 days when it showed biocompatible characteristics.*

Key words: *Biocompatibility, endodontics, zinc oxide and eugenol-based sealers.*

Introducción

Los objetivos fundamentales del tratamiento endodóntico son la obtención de limpieza, desinfección y conformación adecuadas del sistema de conductos radiculares, y la obturación tridimensional del espacio preparado por medio de un material que provea un buen sellado coronario y apical, y que sea dimensionalmente estable y biocompatible.[1,2]

Dado que los materiales de obturación suelen permanecer en contacto con los tejidos periapicales durante prolongados períodos de tiempo, sus propiedades biológicas deben ser tenidas en cuenta al seleccionar el material de obturación.

El uso de conos de gutapercha complementados con un cemento sellador constituye un procedimiento universalmente aceptado para la obturación de los conductos radiculares.[5] Además de prevenir una posible reinfección a nivel de la interfase gutapercha / pared dentinaria, la función del cemento sellador es contribuir y en lo posible estimular el proceso de reparación de los tejidos periapicales.[6] Sin embargo, se ha demostrado que los materiales de los que se dispone hasta el momento suelen desarrollar diferentes grados de toxicidad sobre los tejidos con los que se ponen en contacto.[3,4,7-9]

Si bien la búsqueda del "material ideal" aún continúa, los tradicionales selladores endodónticos a base de óxido de cinc y eugenol en sus diferentes presentaciones siguen siendo una alternativa importante para diferentes escuelas endodónticas.[10] En general, son de fácil preparación, su manipulación es simple, tienen indicaciones precisas para determinados casos clínicos por su capacidad antibacteriana,[11] e históricamente han demostrado poseer un comportamiento clínico adecuado,[12-15] aun en casos de sobreobturación.[16] Por sus propiedades ampliamente conocidas, constituyen el material de preferencia como grupo control cuando se investigan las propiedades biológicas de otros selladores endodónticos.[17]

La incorporación de corticoides en la composición de un sellador a base de óxido de cinc y eugenol ha permitido mejorar su tolerancia clínica y reducir la reacción inflamatoria posoperatoria.[18,19] Con ese mismo objetivo ha sido recientemente incorporado al amplio espectro de materiales utilizados en endodoncia el sellador endodóntico a base de óxido de cinc y eugenol Kleppmethasona (KMS; Klepp/Raysan SA), que contiene acetato de hidrocortisona en su composición.

El propósito del presente ensayo fue analizar el comportamiento biológico de KMS implantado en el tejido óseo de la rata, en comparación con Pulp Canal Sealer EWT (PCS; Sybron-Endo), un sellador a base de óxido de cinc y eugenol convencional cuyas propiedades biológicas ya han sido informadas en investigaciones precedentes.[20,21]

Materiales y métodos

El presente estudio es parte de un programa de evaluación biológica de diferentes materiales endodónticos

que ha sido desarrollado en nuestro laboratorio. Su protocolo fue revisado y aprobado por la Comisión de Ética para la Investigación Científica de la Asociación Odontológica Argentina.

Se utilizaron 24 tubos de silicona de grado médico (Raholin SRL, Buenos Aires, Argentina) de 1,5 mm de longitud, con un diámetro externo de 2 mm y luz interna de 0,5 mm. Luego de su esterilización con rayos gamma, 12 de los tubos (n=12) fueron obturardos a ras en ambos extremos con KMS (Klepp/Raysan SA, Buenos Aires, Argentina); los 12 (n=12) restantes –considerados control positivo– se obturaron, de la misma forma, con PCS (Sybron Endo, Glendora, Estados Unidos). Ambos materiales fueron manipulados y preparados de acuerdo con las instrucciones de los fabricantes. La composición química de KMS y PCS se detalla en la tabla 1. Las paredes laterales de los tubos de silicona fueron utilizadas como control negativo (SCN). Durante los procedimientos operatorios, se tuvo especial cuidado de no contaminar las paredes de los tubos con los cementos analizados.

Los especímenes se implantaron en ambas tibias de 12 ratas Wistar macho, de aproximadamente 250 g. Cada rata recibió un implante de KMS en la tibia derecha y uno de PCS en la tibia izquierda.

Los animales fueron tratados en conformidad con los requerimientos de las normas ISO 10993-1-1992 e ISO 10993-2-1992,[22,23] y con los principios éticos de experimentación y las especificaciones para el cuidado y el uso de animales de laboratorio.[24] Fueron puestos en cuarentena hasta los 7 días previos a los procedimientos de implantación, a fin 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 y según los siguientes procedimientos: luego de anestesiar a los animales mediante la administración intraperitoneal de clorhidrato de ketamina (14 mg/kg) y acepromazina (10 mg/kg), las extremidades posteriores fueron desinfectadas con una solución de yodopovidona al 10% (Phoenix SAIC, Buenos Aires, Argentina). En cada tibia se efectuó una incisión longitudinal de aproximadamente 16 mm, separando los tejidos hasta la superficie ósea. Posteriormente, se realizó la disección del periosteo y se practicó un orificio con una fresa redonda de carburo-tungsteno de 2 mm de diámetro en el área diafisial, aproximadamente a 8 mm del extremo lateral externo y de forma perpendicular al eje mayor de la tibia, rotando en un micromotor a baja velocidad y refrigeración constante, con suero fisiológico estéril. Los implantes se insertaron en los orificios así preparados, colocando uno de los extremos en contacto directo con el espacio medular, mientras que el lado opuesto de los tubos se niveló con la superficie externa de la cortical ósea. Finalmente, se suturaron las heridas con hilo de seda.

Tabla 1. Composición de los materiales ensayados.

Material / lote
Kleppmethasona / 12313
Polvo: acetato de hidrocortisona, yodoformo, timol, sulfato de bario, óxido de cinc, estearato de magnesio.
Líquido: eugenol.
Pulp Canal Sealer EWT / 5-1250
Polvo: óxido de cinc, trióxido de bismuto, aristol, resina blanca.
Líquido: eugenol, bálsamo de Canadá.

Nota: La composición de KMS y PCS responde exactamente al informe proporcionado por los fabricantes.

De esta manera, se prepararon 12 implantes experimentales (KMS) y 12 controles positivos (PCS), es decir, 6 de cada uno para cada período de observación establecido (14 y 94 días). Con el propósito de controlar que la posición de los implantes fuera correcta, se obtuvieron radiografías posoperatorias inmediatas de cada una de las tibias, a una distancia estandarizada de 6 mm, con películas Kodak Utraspeed (Eastman Kodak Co., Rochester, NY, Estados Unidos). 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*, a temperatura ambiental controlada (24 °C) y ciclos de luz-oscuridad de 12 horas. Transcurridos los períodos de observación establecidos, en cada uno de ellos se realizó la eutanasia de los animales, en grupos de 6, mediante la administración de una sobredosis de la solución anestésica. Las tibias fueron removidas y fijadas en solución de formol-buffer al 10%. Luego de su descalcificación en EDTA, los especímenes fueron procesados para su estudio histológico con técnicas de rutina. Se obtuvieron cortes longitudinales semiseriados, de aproximadamente 7 mm de espesor, de la parte más central de los implantes, posteriormente coloreados con hematoxilina y eosina.

Los cortes se analizaron y fotografiaron con un microscopio óptico (Carl Zaiss, Oberkochen, Alemania) equipado con una cámara digital Canon PowerShot A510 (Canon, Tokyo, Japón), a diferentes aumentos. Las imágenes fueron capturadas y analizadas mediante

un *software* (Image Pro Plus; Media Cybernetics, Silver Spring, MD, Estados Unidos). La evaluación fue realizada por dos observadores previamente calibrados. En los casos en los que no hubo acuerdo, los preparados histológicos fueron analizados nuevamente en conjunto, hasta lograr el consenso entre ambos evaluadores. Los parámetros considerados para la evaluación fueron: la presencia y el espesor de una cápsula fibrosa, el desarrollo de nuevas trabéculas óseas, 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: presencia de cápsula fibrosa, y de formación y desarrollo de nuevas trabéculas óseas sin células inflamatorias; 1. Reacción mínima: presencia de cápsula fibrosa, desarrollo de nuevas trabéculas óseas, y ausencia (o escasas) células inflamatorias en los tejidos circundantes; 2. Reacción moderada: cápsula fibrosa con presencia de infiltrado inflamatorio y desarrollo incompleto de trabéculas óseas; 3: Reacción severa: ausencia de cápsula fibrosa, ausencia de trabéculas óseas, presencia de gran cantidad de polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos, células gigantes multinucleadas, fibroblastos y capilares congestionados. Los datos obtenidos fueron analizados con las pruebas de Kruskall-Wallis y de comparación múltiple de Dunn, a fin de determinar si existió una diferencia significativa entre KMS, PCS 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 establecido fue de $p<0,05$. La hipótesis nula considerada establece que no existen diferencias significativas entre KMS, PCS y los SCN.

Resultados

Al finalizar cada uno de los períodos posoperatorios establecidos, la observación macroscópica reveló que todos los implantes se mantenían en su sitio, que las heridas habían cicatrizado normalmente y que los animales se encontraban en buen estado de salud. El tipo de reacción a los materiales en los diferentes períodos experimentales puede consultarse en la tabla 2.

A los 14 días (fig. 1), la reacción de los tejidos en contacto con KMS y con PCS fue considerada severa. Se observó la presencia de tejido granulomatoso invaginado en la luz de los tubos de silicona, y numerosos polimorfonucleares neutrófilos, linfocitos, plasmocitos y macrófagos. Los especímenes en contacto con los SCN no evidenciaron reacción alguna. Todos los implantes se encontraban rodeados por una delgada cápsula fibrosa, sin células inflamatorias. Sólo uno de los casos se consideró reacción mínima. El análisis estadístico reveló que hubo diferencias significativas ($p<0,05$) en cuanto al tipo de reacción observado entre KMS/PCS y los SCN, y que no se detectaron diferencias significativas ($p>0,05$) entre ambos selladores.

A los 94 días (fig. 2), la reacción a KMS fue considerada mínima. En contacto con este sellador, se observó una cápsula fibrosa sin células inflamatorias y el desarrollo de nuevas trabéculas óseas. En contacto con PCS, la reacción fue considerada moderada. Se observó una cápsula fibrosa densa con numerosas células inflamatorias, fundamentalmente linfocitos, plasmocitos y vasos de neoformación. En contacto con los SCN, los tubos se hallaban rodeados por una cápsula fibrosa delgada sin células inflamatorias. Se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) en cuanto al tipo de reacción entre KMS/PCS y los SCN. Cuando se compararon los resultados obtenidos para cada material en ambos períodos experimentales (14 y 94 días), la diferencia fue estadísticamente significativa ($p<0,05$) para KMS. Por el contrario, no hubo diferencias significativas ($p>0,05$) para PCS ni para los SCN.

Discusión

La implantación de biomateriales en el tejido óseo de la rata constituye un procedimiento válido como ensayo previo a las pruebas de uso para el estudio de la biocompatibilidad de materiales endodónticos.[25,26] El empleo de tubos de silicona como portadores de los selladores endodónticos investigados y como control negativo tuvo

Tabla 2. Tipo de reacción a los materiales implantados.

Material	Total n	14 días					94 días				
		n	0	1	2	3	n	0	1	2	3
KMS	12	6	---	---	1	5	6	---	5	1	---
PCS	12	6	---	---	---	6	6	---	---	4	2
SCN	12	6	5	1	---	---	6	6	---	---	---

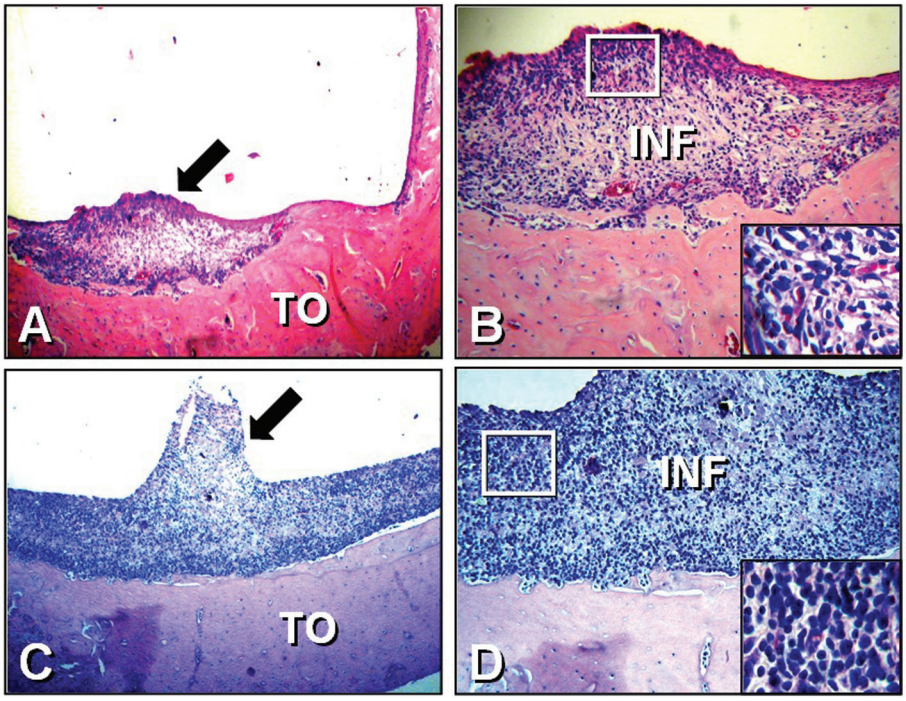


Figura 1. A: Microfotografía de un espécimen representativo de KMS a los 14 días posimplantación. Se observa una reacción inflamatoria severa (flecha) invaginada en la luz del tubo de silicona y en contacto con el material. TO: Tejido óseo (hematoxilina y eosina; magnificación original X40). B: Mayor aumento de *A*. Se aprecia la invaginación del tejido inflamatorio (INF) constituido por polimorfonucleares, linfocitos, macrófagos y escasos plasmocitos (hematoxilina y eosina; magnificación original X400). *Inserto*: Mayor aumento del área del recuadro en *B*. Se observan linfocitos, polimorfonucleares neutrófilos y vasos sanguíneos (hematoxilina y eosina; magnificación original X1000). C: Microfotografía de un espécimen representativo de PCS. En contacto con el material, se observa un tejido inflamatorio invaginado en la luz del tubo de silicona (flecha). TO: Tejido óseo (hematoxilina y eosina; magnificación original X80). D: Mayor aumento de *C*. Se aprecia el tejido inflamatorio (INF) invaginado (hematoxilina y eosina; magnificación original X400). *Inserto*: Mayor aumento del área del recuadro en *C*. Se observa una densa concentración de células inflamatorias, en la que se destaca la presencia de linfocitos, polimorfonucleares neutrófilos y macrófagos (hematoxilina y eosina; magnificación original X1000).

como objetivo el aprovechamiento de su excelente biocompatibilidad, ya informada en otros estudios.[27,28] En los períodos de observación iniciales, los tubos de silicona tienden a ser rodeados por una cápsula fibrosa sin inflamación, o bien con un eventual pero escaso número de células inflamatorias. Esto puede deberse al trauma quirúrgico producido durante la implantación. En cambio, en los períodos más extensos, la cápsula suele encontrarse libre de células inflamatorias, y su espesor y su densidad se incrementan de manera paulatina en función del tiempo transcurrido.[27-29]

Los períodos de observación establecidos se encuentran comprendidos dentro de los plazos determinados por los estándares internacionales para el estudio de biomateriales.[30] El conocimiento de los componentes de la fórmula de cada uno de los selladores ensayados (descriptos en la tabla 1) permitió obtener una mejor comprensión acerca del comportamiento de los materiales y de la reacción de los tejidos en los diferentes períodos de observación.

La elección del PCS como control positivo se fundamenta en el hecho de que sus propiedades biológicas son conocidas.[20,21,31] En el presente ensayo, el PCS produjo inicialmente una reacción inflamatoria severa en los tejidos circundantes. Esta reacción estaría directamente relacionada con la presencia de eugenol en la fórmula del sellador. En este sentido, las propiedades citotóxicas del eugenol –así como la de otros productos de la familia de los fenoles– ya han sido demostradas.[32] Resultó interesante comprobar que, si bien la reacción inicial se redujo hacia la finalización de la experiencia, aún se observaba la permanencia de una cierta proporción de

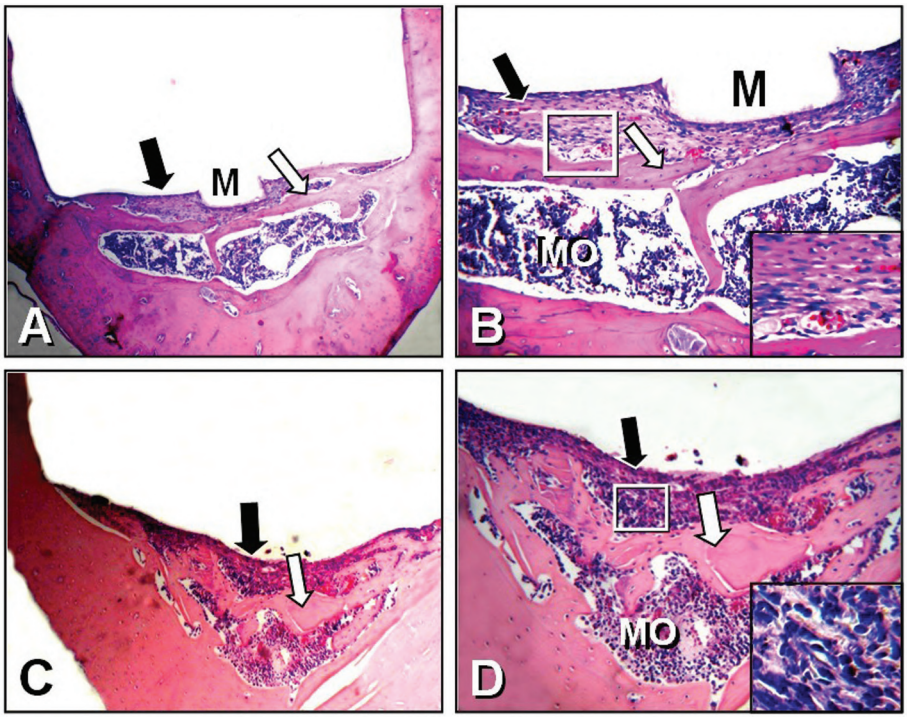


Figura 2. A: Microfotografía de un espécimen representativo de KMS a los 94 días posimplantación. En contacto con el material se observa una cápsula fibrosa densa (flecha negra) y el desarrollo de nuevas trabéculas óseas sanas (flecha blanca). M: área ocupada por una pequeña sobreobturación del material (hematoxilina y eosina; magnificación original X40). B: Mayor aumento de *A*. Se aprecia la cápsula fibrosa sin células inflamatorias (flecha negra) y nuevas trabéculas óseas (flecha blanca). M: Mayor aumento del área ocupada por el material sobreobturado rodeado por la cápsula fibrosa. MO: Médula ósea (hematoxilina y eosina; magnificación original X400). *Inserto*: Mayor aumento del área del recuadro en *B*. Se observa la cápsula fibrosa sin células inflamatorias y parte de una trabecula ósea (hematoxilina y eosina; magnificación original X1000). C: Microfotografía de un espécimen representativo de PCS. En contacto con el material, se aprecia un tejido fibrogranulomatoso (flecha negra) y el desarrollo de trabéculas óseas (flecha blanca) (hematoxilina y eosina; magnificación original X40). D: Mayor aumento de *C*. Se observa el tejido fibrogranulomatoso en contacto con PCS (flecha negra) y el desarrollo de nuevas trabéculas óseas (flecha blanca). MO: Médula ósea (hematoxilina y eosina; magnificación original X400). *Inserto*: Mayor aumento del área del recuadro en *D*. Se aprecia la persistencia del tejido fibrogranulomatoso que contiene linfocitos, polimorfonucleares neutrófilos, plasmocitos, macrófagos y fibroblastos (hematoxilina y eosina; magnificación original X1000).

células inflamatorias, lo cual permite suponer –en concordancia con los resultados de Molnar[33] y de Becker *et al*.–[34] que, luego del fraguado del material, persiste cierta proporción de eugenol libre, que es liberado de forma lenta pero continua en los tejidos circundantes, durante un período relativamente extenso. Sin embargo, y a pesar de la persistencia del infiltrado inflamatorio, luego de 94 días el PCS no pareció impedir el inicio de un proceso de reparación por medio del desarrollo de nuevas trabéculas óseas. Estos resultados concuerdan con los de Souza *et al*.[35], quienes revelaron reacciones similares cuando implantaron un material a base de óxido de cinc y eugenol en el tejido óseo de cochinillos de Guinea.

El KMS es un material recientemente desarrollado como sellador endodóntico, por lo que, hasta el momento, no existe en la literatura información en relación con sus propiedades biológicas. En un estudio piloto (Zmener *et al*. 2014; datos no publicados), el KMS se comportó como un sellador adecuado frente a cultivos de *E. faecalis*, y reveló un importante grado de acción antimicrobiana. En el presente ensayo, los resultados obtenidos a los 14 días posimplantación fueron comparables a los del PCS, y su comportamiento fue similar a los de otros tipos de selladores a base de óxido de cinc y eugenol.[8,17,28,29,35] Sin embargo, al finalizar la experiencia, la reacción de los tejidos reveló que KMS se comportó

como un material biocompatible, especialmente por la presencia de una cápsula fibrosa densa, libre de células infamatorias, y el desarrollo de nuevas trabéculas óseas sanas. Tomando en cuenta que, al igual que el PCS o cualquier otro material a base de óxido de cinc y eugenol, el KMS libera cierta proporción de eugenol en los tejidos circundantes aun después de que el material haya finalizado su reacción de fraguado, las diferencias observadas a los 94 días posimplantación entre ambos materiales ensayados podría deberse a la presencia de corticoide, cuyo efecto antiinflamatorio interrumpe la síntesis de citoquinas y de otros mediadores químicos de la inflamación, e inhibe las etapas fundamentales de la respuesta tisular frente a la agresión de un factor irritante.[36,37] Estas observaciones concuerdan con los resultados de investigaciones previas, en las que se utilizaron, de manera experimental, diferentes concentraciones de hidrocortisona,[38] o bien otros materiales a base de óxido de cinc y eugenol que contienen corticoides en su composición.[8,18,39,40]

Conclusiones

Los resultados obtenidos demostraron que existen diferencias significativas entre los materiales analizados, especialmente a los 94 días posimplantación. En consecuencia, la hipótesis nula fue rechazada.

Tomando en consideración las limitaciones del presente ensayo, en comparación con el PCS, el KMS parecería demostrar propiedades biológicas aceptables luego de un período de implantación de 94 días en la tibia de la rata. Sin embargo, las diferencias entre los ensayos de implantación de biomateriales en animales, así como el comportamiento de éstos durante su uso clínico en tratamientos endodónticos en humanos sugieren que los resultados del presente estudio deben ser interpretados con cautela.

Agradecimientos: Al Prof. Dr. Ricardo Macchi por su colaboración en el cálculo estadístico de los datos, y a la Sra. Marcela Álvarez por su asistencia técnica.

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

Referencias

1. Schilder H. Filling root canal in three dimensions. *Dent Clin N Am* 1967;11:723-44.
2. Saunders WP, Saunders EM. Coronal leakage as a cause of failure in root canal therapy: a review. *Endod Dent Traumatol* 1994;10:105-8.
3. Rowe AHR. Effect of root filling materials on the periapical tissues. *Br Dent J* 1967;122:98-102.
4. Bernath M, Szabo J. Tissue reaction initiated by different sealers. *Int Endod J* 2003;36:256-61.
5. Duncan HF, Chong BS. Removal of root filling materials. *Endod Topics* 2011;19:33-57.
6. Leonardo MR, Leal JM. Materiales obturadores de canales radiculares. En: Leonardo MR. *Endodoncia. Tratamiento de canales radiculares: Principios técnicos y biológicos.* Araraquara, Artes Médicas, 2005, pp. 1062-145.
7. Olsson B, Wennberg A. Early tissue reaction to endodontic filling materials. *Endod Dent Traumatol* 1985;1:138-45.
8. Ørstavik D, Mjör IA. Histopathology and X-ray microanalysis of the subcutaneous tissue response to endodontic sealers. *J Endod* 1988:14:13-23.
9. Leonardo MR, Silva LAB, Almeida WA, Utrilla LS. Tissue response to an epoxi resin-based root canal sealer. *Endod Dent Traumatol* 1999;15:28-32.
10. XNg Y-L, Mann V, Rahbaran S, Lewsey J, Gulavibala K. Outcome of primary root canal treatment: Systematic review of the literature - Part 2. Influence of clinical factors. *Int Endod J* 2008;41:6-31.
11. Fuss Z, Weiss EI, Shalhav M. Antibacterial activity of calcium hydroxide-containing endodontic sealers on *Enterococcus faecalis* in vitro. *Int Endod J* 1997;30:397-402.
12. Grossman LI, Shepard L, Pearson L. Roentgenologic and clinical evaluation of endodontically treated teeth. *O Surg O Med O Pathol* 1964;3:368-74.
13. Eriksen HM, Ørstavik D, Kerekes K. Healing of apical periodontitis after endodontic treatment using three different root canal sealers. *Endod Dent Traumatol* 1988;4:114-17.
14. Waltimo TM, Boiesen J, Eriksen HM, Ørstavik D. Clinical perfomance of 3 endodontic sealers. *O Surg O Med O Pathol O Radiol Endod* 2001;92:89-92.
15. Huumonen S, Lenander-Lumikari, Sigurdsson A, Ørstavik D. Healing of apical periodontitis after endodontic treatment: a comparison between a silicone-based and zinc oxide-eugenol-based sealer. *Int Endod J* 2003;36:296-301.
16. Augsburger RA, Peters DD. Radiographic evaluation of extruded obturation materials. *J Endod* 1990;16:492-7.
17. Kolokouris I, Economices N, Beltes P, Viemmas I. In vivo comparison of the biocompatibility of two root canal sealers implanted into the subcutaneous connective tissue of rats. *J Endod* 1998;24:82-5.
18. Goldberg F, Mondragón Espinoza J. El Endomethasone como sellador endodóntico. Análisis clínico-radiográfico. *Rev Asoc Odontol Argent* 1981;69:89-91.
19. Peak JD, Hayes SJ, Bryant ST, Dummer PMH. The outcome of root canal treatment. A retrospective study within the armed forces (Royal Air Force). *Brit Dent J* 2001;190:140-4.
20. Gomes J, Gomes B, Zaia A, Souza-Filho F. Evaluation of the biocompatibility of root canal sealers using subcutaneous implants. *J Appl Oral Sci* 2007;15:186-94.
21. 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.
22. ISO 10993-1:1992**.** Biological evaluation of medical devices - Part 1: Guidance on selection of tests. Ginebra, 1992.
23. ISO 10993-2:1992. Biological evaluation of medical devices - Part 2: Animal welfare requirements. Ginebra, 1992.
24. Bayne K. Developing guidelines of the care and use of animals. *Ann NY Acad Sci* 1998;30:105-10.

25. Guglielmotti MB, Zmener O, Cabrini RL. A radiographic histological and histometric study of endodontic materials. *J Endod* 1989;15:1-5.
26. 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.
27. 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.
28. Zmener O, Pameijer CH, Kokubu G, Grana D. Subcutaneous connective tissue reaction to methacrylate resin-based and zinc oxide and eugenol sealers. *J Endod* 2010;36:1574-9.
29. Zmener O, Martínez Lalis R, Pameijer CH Chaves C, Kokubu G. Intraosseous biocompatibility of an MTA-based and zinc oxide and eugenol root canal sealer. *Endod Pract* 2013;16:12-9.
30. Féderation Dentaire Internationale. Recommended standard practices for the biological evaluation of dental materials *Int Dent J* 1980;30:174-6.
31. Oliveira Mendez ST, Sobrinho APR, Carvalho AT, Cortés LMS, Vieira LQ. In vitro evaluation of the cytotoxicity of two root canal sealers on macrophage activity. *J Endod* 2003;29:95-9.
32. Ho Y-C, Huang F-M, Chang Y-C. Mechanisms of cytotoxicity of eugenol in human osteoblastic cells *in vitro*. *Int Endod J* 2006;389-93.
33. Molnar EJ. Residual eugenol from zinc-oxide-eugenol compounds. *J Dent Res* 1967;46:645-9.
34. Becker RM, Hume WR, Wolinsky LE. Release of eugenol from mixtures of ZOE in vitro. *J Pedod* 1983;8:71-7.
35. Souza CJA, Loyola AM, Versiani MA, Biffi JCG, Oliveira RP, Pascón EA. A comparative histological evaluation of the biocompatibility of materials used in apical surgery. *Int Endod J* 2004;37:738-48.
36. Newton R. Molecular mechanisms of glucocorticoid action. What is important? *Thorax* 2000;55:603-13.
37. Barnes P. New directions in allergic diseases: mechanisms - based anti inflammatory therapies. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:5-16.
38. Rodostina AI, Zumangi N, Malomu U-UF. Changes in the ultrastructure and fibrogenic activity of rat dermal fibroblasts as affected by various doses of hydrocortisone. *Arkh Anat Gistol Embriol* 1989;96:52-8.
39. Gerosa R, Menegazzi G, Borin M, Cavalleri G. Cytotoxicity evaluation of six root canal sealers. *J Endod* 1995;21:446-8.
40. Fonzi L, Gasparoni A, Capessuoli L, Carbonzini S, Belli M, Kaitas V. Considerazioni su prove di biocompatibilitá *in vitro* ed *in vivo* di alcuni cementi endodontici. *Giorn Ital Endod* 1991;3:70-8.

Contacto:
Osvaldo Zmener
osvaldo@zmener.com.ar
Julián Álvarez 2335 3.° "D" (C1425DHH)
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina