

Biocompatibilidad del MTA-Angelus® y cemento portland blanco activado con cloruro de calcio y clorhexidina en tejido subcutáneo de rata

Cap. 1/o. C.D. Nancy Chegüe Vargas*

Escuela Militar de Graduados de Sanidad/Escuela Militar de Odontología. Ciudad de México.

RESUMEN

El propósito de este estudio fue determinar si la adición de cloruro de calcio (CaCl_2) y clorhexidina (CHX) líquidos mezclados con el agregado trióxido mineral (MTA)-Angelus® y cemento portland blanco (CBP) no interfieren negativamente en el tejido subcutáneo de ratas. Se utilizaron 21 ratas tipo Wistar (*rattus norvegicus*) que se clasificaron en tres grupos experimentales y uno control, a los que se les implantaron cuatro tubos de dentina rellenos de MTA+ CaCl_2 , MTA+CHX, CPB+ CaCl_2 y CPB+CHX. Los animales fueron sacrificados a los siete, 15 y 30 días por sobredosis, obteniéndose cortes microscópicos seriados de 5 μm , tiñéndose con hematoxilina y eosina. La prueba estadística de χ^2 de Pearson mostró que entre los grupos experimentales existió diferencia estadísticamente significativa en los linfocitos a los siete días, CGMi a los siete y 15 días, edema a los siete días, proliferación fibroblástica y angioblástica a los siete días, a lo que se concluye que los aditivos utilizados en los materiales experimentales, no interfirieron con la biocompatibilidad, por tanto es posible indicarlos en situaciones clínicas que involucre tejido conectivo.

MTA-Angelus® biocompatibility and white portland cement activated with calcium chloride and chlorhexidine in the subcutaneous tissue of rats

SUMMARY

The purpose of this study was to determine if the addition of chloride of calcium (CaCl_2) and chlorhexidine (CHX) blended liquids with the MTA-Angelus® and cement white portland (CBP) they don't interfere negatively in the subcutaneous fabric of rats. 21 rats type Wistar were used (*rattus norvegicus*) that were classified in three experimental groups and one control, to those that were implanted four tubes of padded dentina of MTA+ CaCl_2 , MTA+CHX, CPB+ CaCl_2 and CPB+CHX. The animals were sacrificed to the seven, 15 and 30 days by overdose, obtaining intersects microscopic seriados of 5 μm , dyeing with hematoxilina and eosina. The statistical test of χ^2 of Pearson showed that among the experimental groups difference existed statistically significant in the linfocitos to the seven days, CGMi to the seven and 15 days, edema to the seven days, angioblastic fibroblast proliferation and on the seventh day, to what you concludes that the preservatives used in the experimental materials, not interfere with the biocompatibility, it is therefore possible to indicate them in clinical situations involving connective tissue.

Palabras clave: MTA, cemento portland blanco, cloruro de calcio, clorhexidina.

Key words: MTA, cement portland white, chloride of calcium, chlorhexidine.

Introducción

El agregado trióxido mineral (MTA) fue propuesto como material experimental en 1993, con la finalidad de sellar las comunicaciones de la cavidad interna con la externa del diente,¹ se presenta como partículas hidrofílicas que endurecen después de ser hidratadas, dentro de sus características

Torabinejad y cols.,³ reportaron que una vez hidratado el polvo, su pH es de 10.2 y aumenta en 12.5 después de 2 h 45 min hasta estabilizarse; estos resultados son similares a los del cemento portland (CP) realizados por Taylor⁴ donde afirma que posee propiedades antibacterianas debido a su pH elevado y por la liberación constante de iones hidroxilo.¹ Torabinejad y cols.³ demostraron que las principales moléculas

* Egresada de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad adscrita a la Escuela Militar de Odontología, actualmente Jefa del Área de Investigación de la Escuela Militar de Odontología.

Correspondencia:

Dra. Nancy Chegüe Vargas

Área de Investigación, Escuela Militar de Odontología C. Gral. Idelfonso Vázquez S/N Col. Lomas de Sotelo, C.P. 11200, México, D.F.

Correo electrónico: endo_chegue36@hotmail.com

Recibido: Octubre 12, 2012.

Aceptado: Diciembre 4, 2013.

las presentes en el MTA son los iones de calcio y fósforo, los cuales proporcionan una excelente biocompatibilidad cuando están en contacto con células y tejidos. En la construcción civil, el cloruro de calcio tiene amplio uso como acelerador del fraguado del CP, éste ha sido reconocido desde 1885; dicha combinación provoca mayor resistencia del cemento de construcción,¹⁸ ya que lo transforma en un cemento mejorado, proporcionándole al concreto ventajas como acelerador del tiempo de endurecimiento, mejora de la resistencia, reducción del coeficiente de permeabilidad y la formación de fracturas.¹⁹ Otro vehículo que ha sido utilizado para hidratar el MTA es el gluconato de clorhexidina al 0.12%, utilizada por Stowe y cols.,²² quienes evaluaron sus efectos al adicionarlo al ProRoot MTA y obtuvieron como resultado grandes zonas de inhibición bacteriana contra *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterococcus*, concluyendo que la sustitución del agua por el gluconato de clorhexidina al 0.12% refuerza la actividad antimicrobiana del ProRoot MTA. El propósito del presente trabajo es si el adicionar cloruro de calcio líquido y CHX al MTA Angelus y cemento portland blanco interfiere negativamente en la respuesta biológica del tejido subcutáneo de rata.

Material y métodos

Se utilizaron 21 ratas machos albinas tipo Wistar (*Tarrus Navargeniccus*) de aproximadamente 200-300 g de peso con dos meses de edad aproximadamente, que se mantuvieron en el Bioterio de la Escuela MGS. Con autorización del Comité de Bioética se utilizaron 84 tubos de dentina rellenos con los materiales mezclados polvo y líquido en una proporción de 2:1, respectivamente, en consistencia pastosa. Las muestras se distribuyeron en cuatro grupos experimentales de 21 tubos conteniendo los materiales y se evaluaron en tres periodos de siete, 15 y 30 días, los que se clasificaron de la forma siguiente:

- **Grupo I:** MTA-Angelus + CaCl_2 líquido.
- **Grupo II:** CPB (Cruz azul) + CaCl_2 líquido.
- **Grupo III:** MTA Angelus + CHX al 0.12%.
- **Grupo IV:** CPB (Cruz azul) + CHX al 0.12%.

Los animales se anestesiaron con ketamina MARCA en una dosis de 0.25 mL/200 g por vía intraperitoneal, en este momento se eliminó el pelo de la región dorsal, dejando una superficie limpia de 10 cm de largo por 5 cm de ancho. Se lavó la zona y se rasuró hasta que la epidermis se encontró libre de pelos, realizándose asepsia del área quirúrgica con isodine (poliyodine). Se realizaron cuatro incisiones con una hoja de bisturí número 15, dos en la parte superior y dos en la parte inferior de aproximadamente 1 cm x 5 mm de profundidad, se realizó una disección de 1.8 mm de profundidad en dirección al eje longitudinal del animal. Se introdujeron los tubos de dentina en las incisiones, los cuatro tubos de dentina se colocaron de forma paralela a la cabeza del animal y se suturó.

Transcurrido el periodo experimental de siete, 15 y 30 días, se provocó la muerte de los animales con una dosis letal de ketamina (dosis: 0.50 mL/200 g de peso). Se realizó una biopsia excisional alrededor del área del implante con suficiente margen de seguridad, las biopsias se colocaron en discos de cartulina de 2.5 cm de diámetro, extendiendo la muestra y fijándola con formol al 10%. Después de 24 h se cortaron en cuadros de 1.5 cm x 1.5 cm, para retirar el tubo se realizó una incisión sobre el eje longitudinal del tubo y con un explorador de dentina se desalojó sin tocar los extremos del tejido que estaban en contacto con el material de experimentación. Una vez desalojado el tubo de dentina se realizaron tres cortes transversales con respecto a cómo estaba colocado el tubo, los dos extremos se pusieron en un casete, para el procesamiento histológico se realizaron cortes en el micrótomos de 5 µm de espesor, se tiñeron con hematoxilina y eosina y se observaron al microscopio de luz óptica a 10, 20 y 40 x para su interpretación histológica.

Resultados

MTA + CaCl_2 a los siete días se observó lo siguiente, cápsula fibrótica ancha regular con neutrófilos, macrófagos, proliferación fibroblástica y angioblástica moderada a severa, linfocitos y CGMi de forma moderada, presencia leve de células plasmáticas y edema con ausencia de eosinófilos, células plasmáticas y edema leve, los eosinófilos, macrófagos y linfocitos, la proliferación fibroblástica y angioblástica se encuentra de forma moderada. A los 30 días la cápsula fibrótica fue delgada y regular, con presencia leve de neutrófilos y macrófagos con presencia severa de CGMi, edema, proliferación fibroblástica y angioblástica con ausencia de eosinófilos y células plasmáticas.

CPB + CaCl_2 a los siete días, cápsula fibrótica ancha y regular, neutrófilos, macrófagos, CGMi y proliferación fibroblástica severa, los linfocitos y proliferación angioblástica fue moderada, el edema leve y ausencia de eosinófilos. A los 15 días la capa fibrótica fue delgada e irregular, con presencia leve de neutrófilos, eosinófilos y CGMi, ausencia de macrófagos, células plasmáticas y edema; los linfocitos, proliferación fibroblástica y angioblástica fueron moderadas. A los 30 días la cápsula fibrótica fue mediana de forma irregular, con presencia severa de macrófagos, proliferación fibroblástica y edema, con respuesta leve de; neutrófilos, linfocitos, CGMi y proliferación angioblástica, con ausencia de eosinófilos y células plasmáticas.

MTA + CHX al 0.12 a los siete días, cápsula fibrótica ancha regular, los neutrófilos, macrófagos, linfocitos fueron severas, la proliferación fibroblástica se presentó de forma moderada, fue de forma leve las células plasmáticas, proliferación angioblástica y edema, con ausencia de CGMi y eosinófilos. A los 15 días la capa fibrótica se encontró de forma delgada con ausencia de neutrófilos, eosinófilos y células plasmáticas, las CGMi y macrófagos fue leve y moderada de linfocitos, edema, proliferación fibroblástica y angioblástica. A los 30 días la cápsula fibrótica fue delgada y regular, con

presencia leve de, neutrófilos, linfocitos, proliferación fibroblástica, angioblástica, macrófagos y CMGi, edema severo y ausencia de eosinófilos y células plasmáticas.

CPB + CHX al 0.12% a los siete días la capa fibrótica fue ancha y regular, los neutrófilos se encontraron de forma moderada a severa, los macrófagos, linfocitos, proliferación fibroblástica y angioblástica fue moderada, las células plasmáticas y edema de forma leve y las CGMi severas. A los 15 días la capa fibrótica fue ancha y regular con presencia de macrófagos, linfocitos, proliferación fibroblástica y angioblástica en forma moderada, las células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos, CGMi ausentes y a los 30 días, una cápsula fibrótica delgada e irregular, con presencia severa de neutrófilos, linfocitos, proliferación fibroblástica y edema, respuesta leve de macrófagos, CGMi y proliferación angioblástica moderada con ausencia de eosinófilos y células plasmáticas.

Discusión

Los resultados encontrados en el presente trabajo fueron biocompatibilidad de los materiales hacia el tejido subcutáneo de rata, presentando una respuesta biológica similar entre todas las muestras, ya que sólo se encontró diferencia estadísticamente significativa en la presencia de linfocitos a los siete días, CGMi a los siete y 15 días, edema a los siete días. Proliferación fibroblástica y angioblástica a los siete días, que coinciden con Tavares y cols.,²⁸ quienes evaluaron y compararon cuantitativa y cualitativamente la respuesta inflamatoria y formación ósea después de la implantación de tubos de polietileno rellenos de hidróxido de calcio y Pro-Root MTA en maxilares de rata tipo Wistar por siete, 15 y 30 días, las muestras se evaluaron microscópicamente demostrando resultados similares en la respuesta biológica de ambos materiales.

En otras investigaciones Camilleri y cols.²⁷ evaluaron la biocompatibilidad del MTA y CP acelerado y evaluaron la función metabólica celular y proliferación por medio de un análisis de energía dispersa con rayos X y difracción de rayos X en el cual sus resultados reportaron que los cementos acelerados no interferían con la biocompatibilidad, en comparación con nuestro estudio la biocompatibilidad se midió colocando tubos de dentina con el material de estudio en el tejido subcutáneo de ratas; haciendo cortes histológicos teñidos con hematoxilina y eosina como lo han hecho otros autores; encontrando también que los materiales MTA, CPB activados con CaCl_2 y enjuague bucal a base de CHX no interfieren con biocompatibilidad.

En el estudio se utilizaron tubos de dentina, en donde no se observó clínicamente una respuesta de rechazo, ya que no presentó un enrojecimiento, ni un cambio de coloración del tejido cutáneo en las primeras 72 h que indicaran ser una respuesta de tipo alérgico, esto pudo haber sido por los tubos tan pequeños y sin aristas que lastimaran al tejido, así como su previa esterilización, en contraste con el estudio de Campos y cols.¹³ en el que evaluaron la biocompatibilidad

del CP implantando en tejido conectivo subepitelial de rata tubos de polipropileno, encontrando una inflamación aguda a crónica con presencia de células que se encuentran presentes ante la alergia. En nuestro estudio la presencia de eosinófilos sólo se encontró a los 15 días, con una respuesta leve a dos muestras en MTA + CaCl_2 líquido al 10% y en una muestra de CPB + CaCl_2 líquido al 10%, por lo que se atribuye a la presencia de CaCl_2 líquido al 10% y no a los tubos ni a los materiales. ya que en ambos casos el activador fue el CaCl_2 líquido al 10%.

Como se puede observar los materiales de estudio se comportaron de una manera muy similar, existiendo diferencia estadísticamente significativa en algunas muestras de los periodos de siete y 15 días; por lo tanto, el agregar aditivos al MTA Angelus y CPB como el CaCl_2 líquido al 10% y el enjuague bucal a base de CHX 0.12% no interfieren con la biocompatibilidad del tejido, ya que las células inflamatorias tienen un comportamiento entre ellas de forma normal de una inflamación aguda a crónica siendo esta última de manera leve, a nuestro juicio podemos decir que el material que presentó una respuesta inflamatoria aguda menor y una respuesta crónica leve fue el CPB + enjuague bucal a base de CHX 0.12%, sin embargo, nosotros recomendamos que se realicen estudios en donde se someta al CPB al mismo proceso de esterilización y embasamiento que sufre el MTA, e igualar las condiciones de ambos y así poder evaluar nuevamente la biocompatibilidad de los materiales, mediante la adición de los aditivos CaCl_2 líquido al 10% y el enjuague bucal a base de CHX 0.12% sin que el proceso de esterilización interfiera o llegue el CPB a perder sus propiedades físico-químicas.

Conclusiones

Durante la realización del trabajo se observó que el CPB endurece más rápido cuando fue mezclado con el enjuague bucal a base de CHX 0.12%, siendo éste un tiempo menor de tres minutos, lo que se sugiere como un hallazgo durante la investigación.

Agradecimientos

A los doctores Roberto Queiroz Martins Alcantara y Lygia Madi Kranz, de Angelus -Soluções em Odontologia- Londrina, PR, Brazil.

Referencias

1. Estrela C. Ciencia Endodóntica. 1a. Ed. Brasil (SO). Artes Médicas Latinoamericana; 2005.
2. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt-Ford TR. Physical and chemical properties of a new root end filling material. J Endod 1995; 21: 349-53.
3. Taylor HFW. Cement chemistry. 2a. Ed. London: Thomas Telford; 1997.
4. Holland R, et al. Calcium salts deposition in rat connective tissue after the implantation of calcium hydroxide-containing sealers. J Endod 2002; 28 (3): 173-6.

5. Wucherpfenning AL, Green DB. Mineral trioxide aggregate vs Portland cement: two biocompatible filling materials. *J Endod* 1999; 25(4): 308-11.
6. Campos I, Llamosas E, Morales R. Evaluación de la biocompatibilidad del cement Portland implantado en tejido conectivo subepitelial de ratas. *Revista ADM* 2003; 2(LX): 45-51.
7. Holland OR, et al. Reaction of rat connective tissue to implanted dentine tube filled with mineral trioxide aggregate, portland cement o calcium hydroxide. *Braz Dent J* 2001; 12: 3-8.
8. BASF. The chemical company. Construction chemicals latin america boletín técnico-aditivos-cloruros y aditivos Dis [2006 agosto], Disponible en: <http://www.bast-cc-la.com>
9. Vedacit. Manual técnico aditivos para concretos e argamassas. 2a. Ed. Brasil (SP).
10. Abdulla D, et al. Na evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials* 2002; 23(19): 4001-10.
11. Stowe T, et al. The effects of chlorhexidine gluconate (0.12%) on the antimicrobial properties of tooth-colored ProRoot mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2004; 30(6): 249-31.
12. Hernández EP, Botero TM, Mantelleni MG, McDonald NJ & Nör JE. Effects of ProRoot MTA mixed with chlorhexidine on apoptosis and cell cycle of fibroblasts and macrophages in vitro. *Int Endod J* 2005; 38: 137-43.
13. Camirelli J, Montesin FE, Di Silvio L, Pitt Ford TR. The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. *Int Endod J* 2005; 38: 834-42.
14. Tavares L, et al. Evaluation of the response to MTA and MBPC: microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. *J Endod* 2006; 32(6): 556-9.
15. Hedrich HJ. History strains and models. In: Krinke GL, editors. *The Laboratory rat*. London: Academic Press; 2000, p. 3-16.
16. Rodríguez SA. Reação histopatológica do tecido conjuntivo do dorso de ratos irradiado com laser de CO₂ ou de Er:YAG. [Dissertação s Mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia. Estadual Paulista Univ.; 2004.
17. Langeland K, et al. Methods in the study of biologic responses to endodontic materials. *Oral Surg* 1969; 27 (4): 522-42.
18. American Dental Association-Council on Dental Materials and Devices of the American Dental Association. *J Amer Dent Assoc* 1972; 84: 375-95.
19. American National Standards/American Dental Association. Document no. 41 for recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. New York, ANSI/ADA, 1982.
20. Stanley HR. Biological evaluation of dental material. *Int Dent J* 1992; 41(1): 145-9.
21. Stanley HR. Toxicity testing of dental materials. Florida, CRC Press, 1985.
22. Stanford JW. Recommended standard practices for biological evaluation of dental materials. *Int Endod J* 1980; 30(2): 140-88.
23. International organization for standardization. ISO 7405; dentistry-preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry-test methods for dental materials. Genève, ISO, 1997.
24. Makkes SK, et al. Polyethylene tubes as a model for the root canal. *Oral Surg* 1977; 44(2): 293-300.
25. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, García RB. Sealing ability of MTA and radiopaque Portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. *J Endod* 2006; 32(9): 897-900.

