



## Biocompatibilidad del MTA-Angelus® y cemento Portland blanco aditivado con cloruro de calcio y clorhexidina en tejido subcutáneo de ratas

N. Chegüe Vargas<sup>1</sup>, N. Juárez Broom<sup>2</sup>, L.E. Martínez Calixto<sup>3</sup>,  
J.M. Manzano Chaidez<sup>3</sup>, E.N. Moreno Castillo<sup>5</sup>, F. Cervantes Amador<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Cirujano Dentista, Especialista en Endodoncia, Enfermería Militar de Guadalupe Zacatecas.

<sup>2</sup>Cirujano Dentista, Maestro en Odontología, Hospital Militar Regional de Irapuato Guanajuato.

<sup>3</sup>Cirujano Dentista, Maestro en Odontología, Unidad de Especialidades Odontológicas, México D.F.

<sup>4</sup>Cirujano Dentista, Especialista en Endodoncia, Hospitan Naval Militar Lazaro Cardenas, Michoacan

<sup>5</sup>Cirujano Dentista, Especialista en Endodoncia, Hospitan Naval Militar Tuxpan, Veracruz.

**Correspondencia:** Nancy Chegüe Vargas, Enfermería Militar, Odontología Área de Endodoncia, Avenida Secretaria de La Defensa Nacional S/N Guadalupe Zacatecas. C.P. 53960. Email: endobr1@hotmail.com, njuarez@usp.br, endo\_chegue30@hotmail.com

### RESUMEN

**Objetivo:** El propósito de este estudio fue determinar si la adición de cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) y clorhexidina (CHX) líquidos mezclados con MTA-Angelus® y cemento Portland blanco (CBP) interfieren negativamente en el tejido subcutáneo de ratas.

**Material y Métodos:** Se utilizaron 21 ratas tipo wistar (*rattus norvegicus*) que se clasificaron en cuatro grupos experimentales, a los que se les implantaron 4 tubos de dentina rellenos de MTA+ $\text{CaCl}_2$  MTA+CHX, CPB+ $\text{CaCl}_2$  y CPB+CHX. Los animales fueron sacrificados a los 7, 15 y 30 días por sobredosis, obteniéndose cortes microscópicos seriados de 5  $\mu\text{m}$ , tiñéndose con hematoxilina y eosina.

**Resultados:** La prueba estadística de  $\chi^2$  de Pearson demostró que entre los grupos experimentales existió diferencia estadísticamente significativa, en los linfocitos a los 7 días, células gigantes multinucleadas a los 7 y 15 días, edema a los 7 días, proliferación fibroblástica y angioblástica a los 7 días.

**Conclusiones:** Se concluye que los aditivos utilizados en ambos materiales no interfirieron respecto a la biocompatibilidad, por lo que sería factible su indicación en determinadas situaciones clínicas.

### PALABRAS CLAVE

MTA; Cemento Portland Blanco; Cloruro de calcio; Clorhexidina.

### ABSTRACT

**Objective:** The purpose of this study was to determine if the addition of calcium chloride ( $\text{CaCl}_2$ ) and chlorhexidine (CHX) mixed the liquids with MTA-Angelus® and white Portland cement (CBP) do not interfere negatively in rats subcutaneous tissue.

**Material and Methodology:** Twenty-one Wistar type rats (*rattus norvegicus*) were used and were classified in three experimental groups and one control group, to which they implanted 4 tubes of dentin filled with MTA+ $\text{CaCl}_2$  MTA+CHX, CPB+ $\text{CaCl}_2$  y CPB+CHX. The animals were sacrificed by overdose on the 7th, 15th and the 30th day, getting microscopic shavings having the serial 5  $\mu\text{m}$ , dyeing its color with hematoxylin and eosin.

**Results:** Pearson's statistical  $\chi^2$  test showed that there was a significant statistical difference between the experimental groups, in the lymphocytes at 7 days, CGMi at 7 and 15 days, edema after 7 days, fibroblasts and angioblastical proliferation at 7 days.

**Conclusions:** It is therefore concluded that the additives used in both materials do not interfere with the biocompatibility; they may be noticeable in clinical situations.

### KEY WORDS

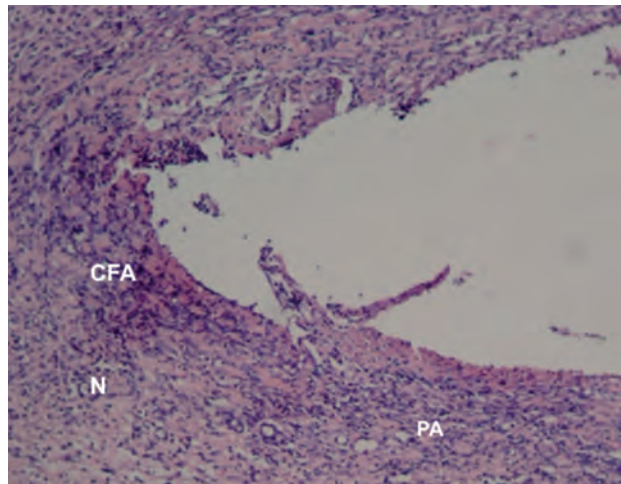
MTA; White Portland cement (CBP); Calcium chloride ( $\text{CaCl}_2$ ); Chlorhexidine (CHX).

## 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<sup>(1)</sup>, se presenta como partículas hidrofílicas que endurecen después de ser hidratadas; dentro de sus características Torabinejad et al.<sup>(2)</sup>, reportaron que una vez hidratado el polvo, su pH es de 10,2 y aumenta a 12,5 hasta estabilizarse, endurece a las 2 horas 45 minutos; éstos resultados son parecidos a lo reportado respecto al cemento Portland (CP) realizados por Taylor<sup>(3)</sup> donde afirma que posee propiedades antibacterianas debido a su pH elevado y por la liberación constante de iones hidroxilo. Torabinejad et al.<sup>(2)</sup> demostraron que las principales moléculas presentes en el MTA son los iones de calcio y fósforo, quienes 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, con esta combinación provoca mayor resistencia del cemento de construcción<sup>(4)</sup>, ya que lo transforman en un cemento mejorado, proporcionándole al concreto ventajas como acelerador del tiempo de endurecimiento, mejoría de la resistencia, reducción del coeficiente de permeabilidad y la formación de fracturas<sup>(5)</sup>. Otro vehículo que ha sido utilizado para hidratar el MTA es el gluconato de clorhexidina al 0,12%, utilizada por Stowe et al.<sup>(6)</sup> quienes evaluaron sus efectos al adicionarlo al ProRoot MTA, obteniendo 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, de los precedentes el propósito del presente trabajo es determinar si con la adición de cloruro de calcio líquido y CHX al MTA Angelus® y CPB interfiere negativamente en la respuesta biológica del tejido subcutáneo de ratas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 21 ratas machos albinas, tipo Wistar (*Rattus Navargenicus*) de aproximadamente 200-300 gramos de peso, con 2 meses de edad aproximadamente, que se mantuvieron en el Bioterio de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad, contando con la autorización del comité de bioética. Para los experimentos se utilizaron 84 tubos de dentina, que se relle-

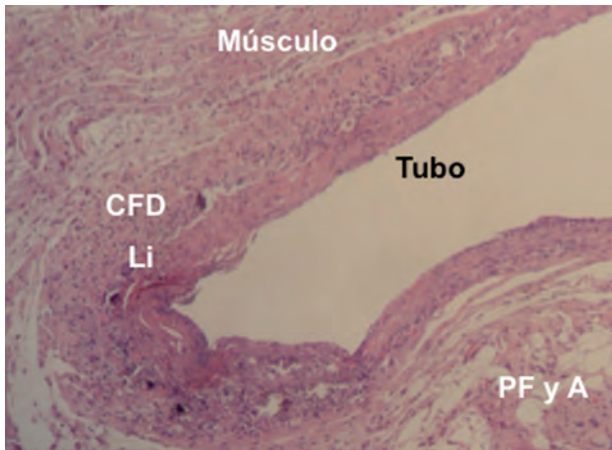


**Figura 1.** MTA + CaCl<sub>2</sub> a los 7 días, se observa capsula fibrótica ancha (CFA) y regular con neutrófilos (N), proliferación angioblástica (PA) (H&E, Leyca 10X).

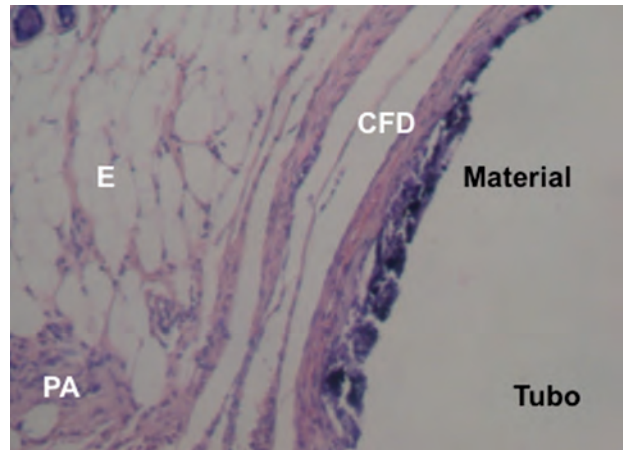
naron con los materiales; mezclando polvo y líquido en una proporción de 2:1 respectivamente en consistencia pastosa. Las muestras se distribuyeron en 4 grupos experimentales de 21 tubos conteniendo los materiales y se evaluaron en tres periodos 7, 15 y 30 días, que se clasificaron de la forma siguiente:

- Grupo I: MTA-Angelus® + CaCl<sub>2</sub> líquido.
- Grupo II: CPB (Cruz azul) + CaCl<sub>2</sub> 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 ketaset) 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 4 incisiones con una hoja de bisturí número 15, en la parte superior e inferior de aproximadamente 1 cm de largo por 5 mm de profundidad, realizándose en este momento disección aproximadamente hasta 1,8 mm de profundidad en dirección al eje longitudinal del animal. Se introdujeron los tubos de dentina en las incisiones, los 4 tubos de dentina se colocaron de forma paralela a la cabeza del animal y se suturo. Transcurrido el período experimental de 7, 15 y 30 días, se les provocó la muerte a los animales por sobredosis de ketamina (ketaset) (dosis: 0,50 ml/200 g de peso). Se realizó una biopsia excisional alrededor del área del implan-



**Figura 2.** MTA + CaCl<sub>2</sub> a los 15 días, cápsula fibrótica delgada (CFD) de forma regular, presencia la proliferación fibroblástica (PF) y angioblástica (H&E, Leyca 10X).



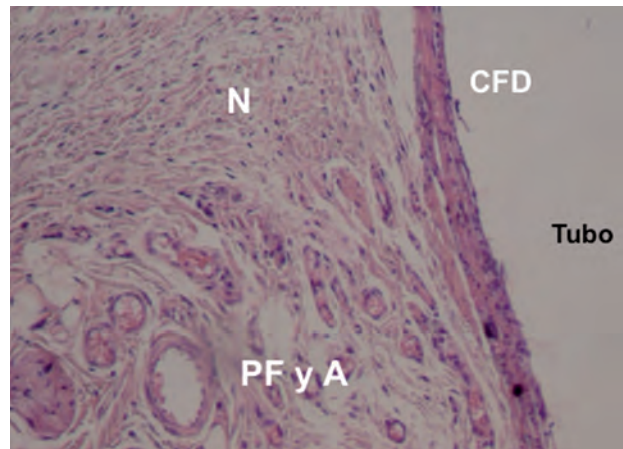
**Figura 3.** MTA + CaCl<sub>2</sub> 10% a los 30 días la cápsula fibrótica es delgada (CFD) y regular con edema (E), proliferación angioblástica (PA) (H&E Leyca 10X).

te 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%, transurradas 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 desalojaron sin tocar los extremos del tejido que estaban en contacto con el material de experimentación. Una vez desalojado el tubo de dentina se procedió al procesado histotécnico, para lo que se realizaron cortes en el micrótopo de 5 µm de espesor, se tiñeron con hematoxilina y eosina, observándose al microscopio de luz óptica a 10, 20 y 40 x. para su interpretación histológica.

## RESULTADOS

Con el modelo animal utilizado en el presente trabajo, es posible determinar inicialmente el grado de toxicidad que pudiera deberse a los materiales implantados<sup>(7)</sup> por lo que a continuación se describen los efectos de los materiales en el tejido subcutáneo de ratas como a continuación se detalla.

**MTA + CaCl<sub>2</sub>.** A los 7 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. A los 15 días cápsula fibrótica delgada de forma regular, ausencia de neutrófilos, células plasmáticas y edema, leve los eosinófilos, macrófagos y linfocitos, la proliferación fibroblástica y angio-



**Figura 4.** MTA + CHX 0,12% a los 30 días, cápsula fibrótica delgada y regular (CFD), neutrófilos (N), proliferación fibroblástica (PF), angioblástica (PA) (H&E Leyca 10X).

blástica se encuentra de forma moderada. A los 30 días la cápsula fibrótica fue delgada y regular, con presencia leve de neutrófilos, linfocitos y macrófagos con presencia severa de CGMi, edema, proliferación fibroblástica y angioblástica con ausencia de eosinófilos y células plasmáticas.

**CPB + CaCl<sub>2</sub>.** A los 7 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, célu-

las 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 7 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 7 días la capa fibrótica fue ancha y regular, los neutrófilos se encontró 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

Las ratas de laboratorio (ratas Wistar), fue el modelo experimental utilizado en este trabajo, según es uno de los animales experimentales comúnmente utilizados que sirve como modelo para el análisis de un gran número de estudios, en especialidades biomédicas, cardiovasculares, desórdenes metabólicos y neurológicos, enfermedades autoinmunes y susceptibilidad al cáncer. El tamaño de la rata de laboratorio en contraste con otros animales experimentales la hace ideal y seguro para experimentos fisiológicos y toxicológicos<sup>(7)</sup>. Los resul-

tados encontrados en el tejido subcutáneo de ratas, presentaron una respuesta biológica similar entre todas las muestras, en virtud de que solo se encontró diferencia estadísticamente significativa en la presencia de linfocitos a los 7 días, CGMi a los 7 y 15 días, edema a los 7 días, Proliferación fibroblástica y angioblástica a los 7 días, que coinciden con Tavares et al.<sup>(8)</sup> 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 ProRoot MTA en maxilares de ratas wistar por 7, 15 y 30 días, las muestras se evaluaron microscópicamente demostrando resultados similares en la respuesta biológica de ambos materiales. En otras investigaciones Camilleri et al.<sup>(9)</sup> evaluaron la biocompatibilidad del MTA y CP acelerado, observando la función metabólica celular y proliferación por medio de un análisis de energía dispersa por difracción de rayos X, en el cual sus resultados reportaron que los cementos acelerados no interferían con la biocompatibilidad, comparándolo con el presente trabajo, la compatibilidad 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, encontrando que los materiales MTA, CPB activados con CaCl<sub>2</sub> y CHX no interfieren con la 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 lo que puede indicar una respuesta de tipo alérgico, esto pudo haber sido por lo tubos tan pequeños y sin aristas que lastimaran al tejido así como su previa esterilización, en contraste con el estudio de Campos et al.<sup>(10)</sup> en el que evaluaron la biocompatibilidad del CPB implantado en tejido conectivo subepitelial de ratas, usando tubos de polipropileno, quienes encontraron una inflamación aguda a crónica con presencia de células cebadas y eosinófilos, indicativo de que se encontraron ante un proceso de tipo alérgico. En el presente estudio la presencia de eosinófilos solo se encontró a los 15 días, con una respuesta leve en dos muestras en MTA+ CaCl<sub>2</sub> líquido y en una muestra de CPB + CaCl<sub>2</sub> líquido, por lo que se atribuye a la presencia de CaCl<sub>2</sub> líquido y no a los tubos ni a los materiales ya que en ambos casos el activador fue el CaCl<sub>2</sub> líquido. Los materiales de estudio se comportaron de forma similar, existiendo diferencia estadísticamente significativa en muestras en los periodos de 7 y 15 días; por lo tanto el agregar aditivos al MTA Angelus y CPB como el CaCl<sub>2</sub> líquido y 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, el material que presentó una respuesta inflamatoria aguda menor y una respuesta crónica leve fue el CPB + CHX 0,12%, sin embargo se recomienda que se realicen estudios en donde se someta al CPB al mismo proceso de esterilización y envasamiento 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<sub>2</sub> líquido y CHX 0,12% sin que el proceso de esterilización interfiera o llegue el CPB a perder sus propiedades físico-químicas. Se observó también que el CPB endurece más rápido cuando fue mezclado con CHX 0,12%, situación favorable cuando se realizan procedimientos quirúrgicos, sin embargo, se requiere mayor investigación para determinar la interferencia física del aditivo en el tiempo de endurecimiento.

#### AGRADECIMIENTOS

Drs. Roberto Queiroz Martins Alcantara y Lygia Madi Kranz, de Angelus – Soluciones en Odontología – Londrina, PR, Brazil.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. Estrela C. Ciencia endodóntica. 1a ed. Brasil (SP). Artes Médicas Latinoamérica; 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. 2 ed. London: Thomas Telford; 1997.
4. BASF, The Chemical Company, Construction chemicals latin America boletín técnico-aditivos-cloruros y aditivos Dis [2006 agosto], Disponible en: <http://www.basf-cc-la.com>
5. Vedacit. Manual técnico aditivos para concretos e argamassas. 2ª ed. Brasil (SP).
6. 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): 429-31.
7. Hedrich HJ. History strains and models. In: Krinke GL (eds). *The Laboratory rat*. London: Academic Press; 2000, p.3-16.
8. Tavares L et al. Evaluation of the tissue response to MTA and MBPC: microscopic analysis of implants in alveolar bone of rats. *J Endod* 2006;32(6):556-59.
9. 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.
10. Campos I, Llamosas E, Morales R. Evaluación de la biocompatibilidad del cemento portland implantado en tejido conectivo subepitelial de ratas. *ADM* 2003;2(LX):45-51.