

REVISTA ODONTOLÓGICA MEXICANA ÓRGANO OFICIAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UNAM

VOL. 23 NÚM. 3. JULIO - SEPTIEMBRE

EDITORIAL

El inicio y desarrollo de la Periodoncia en la Universidad Nacional Autónoma de México

ARTÍCULOS ORIGINALES

Comparación del sellado apical del cono de gutapercha según tipo de foramen en conductos distales de molares superiores con dos sistemas de preparación

Estimación de la cantidad de trióxido de bismuto como agente radiopacificador en dos cementos minerales trióxido agregado mediante una prueba de radiopacidad

Parámetros histológicos de la regeneración ósea guiada con hidroxiapatita FOULA en ratas BIOU: Wistar

REVISIÓN DE LA LITERATURA

Mecanismos inflamatorios en la destrucción periodontal

CASOS CLÍNICOS

Eficacia del tratamiento endoperiodontal

Injerto de dentina autógena aplicado para la preservación de reborde residual. Reporte de un caso clínico

CARTA AL EDITOR

Molar superior con dos conductos palatinos. Reporte de Caso



2019, 3



REVISTA ODONTOLÓGICA MEXICANA
ÓRGANO OFICIAL DE LA FACULTAD
DE ODONTOLOGÍA UNAM



2019



Universidad Nacional Autónoma de México



Enrique Luis Graue Wiechers
Rector

Leonardo Lomelí Vanegas
Secretario General

Luis Álvarez Icaza Longoria
Secretario Administrativo

Alberto Ken Oyama Nakagawa
Secretario de Desarrollo Institucional

Facultad de Odontología 1904-2019

Elba Rosa Leyva Huerta
Directora

Antonio Gómez Arenas
Secretario General

María Gloria Hirose López
Secretaria Académica

Luis Pablo Cruz Hervert
**Jefe de la División de Estudios de Postgrado
e Investigación**

Aída Borges Yáñez
Subjefe de Investigación

**Revista Odontológica Mexicana, Órgano Oficial de la Facultad de Odontología,
Universidad Nacional Autónoma de México**

La Revista Odontológica Mexicana está indizada en: SciELO.
LATINDEX Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Google Académico. PERIODICA del CICH (UNAM).

En INTERNET, indizada y compilada en versión completa en www.revistas.unam.mx/index.php/rom
Medigraphic, Literatura Biomédica:
www.medigraphic.com/facultadodontologiaunam

REVISTA ODONTOLÓGICA MEXICANA ÓRGANO OFICIAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UNAM



Editor en Jefe

Luis Alberto Gaitán Cepeda

Coeditora

Daniela Carmona Ruiz

CONSEJO EDITORIAL

Higinio Arzate (México)	Juan Pedro Laclette San Román (México)
Javier de la Fuente Hernández (México)	Jaime Martuscelli Quintana (México)
Enrique Luis Graue Wiechers (México)	José Ignacio Santos Preciado (México)

COMITÉ EDITORIAL

Laura Acosta Torres	María Esther Irigoyen Camacho
Fátima del Carmen Aguilar Díaz	Luis Felipe Jiménez García
María Isabel Aguilar Laurents	Eduardo Llamosas Hernández
Octavio Álvarez Fregoso	Ma. Guadalupe Marín González
Marco Antonio Álvarez Pérez	Juan Ángel Martínez Loza
Cecilia Carlota Barrera Ortega	Arcelia Meléndez Ocampo
Joaquín Canseco Jiménez	Javier Nieto Gutiérrez
Vicente Cuairán Ruidiaz	Mónica Ortiz Villagómez
César Augusto Esquivel Chirino	Javier Portilla Robertson
Filiberto Enríquez Habib	Rebeca Romo Pinales
Teresa I. Fortoul Van der Goes	Rafael Ruiz Rodríguez
Raúl Luis García Aranda	Sergio Sánchez García
Guadalupe García de la Torre	Teresa Leonor Sánchez Pérez
María del Carmen García Peña	Rossana Sentíes Castellá
Roberto Gómez García	Doroteo Vargas López
Gloria Gutiérrez Venegas	Ricardo Vera Graziano
Carlos Hernández Hernández	María del Carmen Villanueva Vilchis

Revista Odontológica Mexicana Órgano Oficial de la Facultad de Odontología UNAM. Año 23, Núm. 3 Julio-Septiembre 2019. Es una publicación trimestral editada y distribuida por la Facultad de Odontología de la UNAM, con dirección en Ciudad Universitaria, Avenida Universidad 3000, Circuito interior s/n, Col. Copilco El Bajo, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04510 Ciudad de México, México. Tel. 5623-2207, <http://www.odonto.unam.mx/es/revista-odontologica-mexicana>, revodontologiamexicana@gmail.com. Editor en Jefe: Dr. Luis Alberto Gaitán Cepeda. Editor responsable: Esp. Daniela Carmona Ruiz. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo Núm. 04-2004-092209312400-102, ISSN impreso 1870-199X, ISSN electrónico en trámite, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor de la Secretaría de Educación Pública. Diseñada, producida e impresa por Graphimedic, S.A. de C.V. Coquimbo 936, Col. Lindavista, C.P. 07300, Alcaldía Gustavo A. Madero, Ciudad de México, México. Tels. 8589-8527 al 32, emyc@medigraphic.com. Este número se terminó de imprimir el 07 de Abril de 2020 con un tiraje de 50 ejemplares. El contenido de los artículos, así como las fotografías, son responsabilidad exclusiva de los autores y no refleja el punto de vista de los árbitros, del Editor o de la UNAM. Se autoriza la reproducción total o parcial de los textos aquí publicados, siempre y cuando se cite la fuente completa y la dirección electrónica de la publicación.



CONTENIDO

EDITORIAL

- El inicio y desarrollo de la Periodoncia en la Universidad Nacional Autónoma de México** 128
Filiberto Enríquez Habib

ARTÍCULOS ORIGINALES

- Comparación del sellado apical del cono de gutapercha según tipo de foramen en conductos distales de molares superiores con dos sistemas de preparación** 131
Susan Kiara Gómez-Kasimoto,
Pedro Luis Tinedo-López, Carmen Rosa García-Rupaya

- Estimación de la cantidad de trióxido de bismuto como agente radiopacificador en dos cementos minerales trióxido agregado mediante una prueba de radiopacidad** 139
Abigail Flores-Ledesma, Kenya Gutiérrez-Estrada, Lauro Bucio-Galindo

- Parámetros histológicos de la regeneración ósea guiada con hidroxiapatita FOULA en ratas BIOU: Wistar** 149
Vanessa Pineda, Oriana Olivares, Jenair Yépez, Anajulia González

REVISIÓN DE LA LITERATURA

- Mecanismos inflamatorios en la destrucción periodontal** 159
Diana Laura Solís-Suárez, Isaac Obed Pérez-Martínez,
Ana Lilia García-Hernández

CASOS CLÍNICOS

- Eficacia del tratamiento endoperiodontal** 173
Vianey Lino Aguilar, Graciela Galán Torres,
Yareli Hernández Ávila, Floriberto Calixto Arellano

- Injerto de dentina autógena aplicado para la preservación de reborde residual. Reporte de un caso clínico** 182
Jessica Yazmín García Carrasco, Alejandra Cabrera Coria, Santa Ponce Bravo

CARTA AL EDITOR

- Molar superior con dos conductos palatinos. Reporte de Caso** 192
Fernando Tenorio Rocha, Paola Campos Ibarra, Nallely Berenice Romero Martínez,
David Carmona Herrera, Eilen Oviedo González



CONTENTS

EDITORIAL

The start and development of Periodontics at the National Autonomous University of Mexico

128

Filiberto Enríquez Habib

ORIGINAL RESEARCH

Comparison of sealing of the gutta-percha cone according to type of apical foramen in distal root canals of upper molars with two preparation systems

131

*Susan Kiara Gómez-Kasimoto,
Pedro Luis Tinedo-López, Carmen Rosa García-Rupaya*

Estimation of the amount of bismuth trioxide as radiopacifying agent by a radiopacity test in two mineral trioxide aggregate cements

139

Abigail Flores-Ledesma, Kenya Gutiérrez-Estrada, Lauro Bucio-Galindo

Histological parameters of bone guided regeneration with FOULA hydroxyapatite in BIOU: Wistar rats

149

Vanessa Pineda, Oriana Olivares, Jenair Yépez, Anajulia González

LITERATURE REVIEW

Mechanisms of inflammation in periodontal destruction

159

*Diana Laura Solís-Suárez, Isaac Obed Pérez-Martínez,
Ana Lilia García-Hernández*

CLINICAL CASES

Effectiveness of endodontic and periodontal treatment

173

*Vianey Lino Aguilar, Graciela Galán Torres,
Yareli Hernández Ávila, Floriberto Calixto Arellano*

Clinical application of autogenous dentin graft for the preservation of residual ridge. A case report

182

Jessica Yazmín García Carrasco, Alejandra Cabrera Coria, Santa Ponce Bravo

LETTER TO THE EDITOR

First maxillary molar with two palatal root canals. A case report

192

*Fernando Tenorio Rocha, Paola Campos Ibarra, Nallely Berenice Romero Martínez,
David Carmona Herrera, Eilen Oviedo González*



El inicio y desarrollo de la Periodoncia en la Universidad Nacional Autónoma de México

Filiberto Enríquez Habib*

Facultad de Odontología, UNAM.

*En memoria de mi maestro el
Dr. Rafael Lozano Orozco
Pionero de la Periodoncia en México**

El 26 de enero de 1968 el H. Consejo Universitario aprobó los planes de estudio y programas para las especialidades de Parodoncia y Ortodoncia de la entonces Escuela Nacional de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México (ENO-UNAM). El director en funciones era el doctor Jesús Sarabia Aguilar y el doctor Rafael Lozano Orozco era el jefe de la División de Estudios Superiores de la ENO. La ENO contaba con oferta educativa de Ortodoncia antes de la aprobación de su programa de especialidad; en el caso de la Parodoncia, la creación del programa fue innovador en el país, pues coincidió con su desarrollo disciplinar en el mundo.

La convocatoria para el ingreso a la especialidad fue publicada el 13 de agosto de 1968, a la cual se inscribieron 22 aspirantes. Debido a la huelga de ese año, el inicio de ambos programas fue postergado hasta el 2 de febrero de 1969.

La plantilla de profesores estaba compuesta por los doctores Rafael Lozano Orozco, Carlos Gutiérrez Sotelo, Javier Tavera Reyes, Jorge Tsuchiya López, Juan Tapia Camacho, Octavio Godínez Neri y Robin Gray, profesor invitado de la Universidad de Edimburgo. La primera generación consistió de cuatro alumnos, dos egresados de la UNAM, uno de la Universidad de Guadalajara y otro de la Universidad de San Luis Potosí: Salvador Arroniz Padilla, Roberto Peralta Cabrera, Juan Francisco Salcido García y el autor de la presente editorial.

El programa de estudios original, anexo al archivo correspondiente a la sesión del H. Consejo Universitario en que fue aprobada la especialidad, se elaboró con base en los planes y programas de las universidades más importantes de Norteamérica. La planeación constaba de cuatro semestres. Cubría de manera sa-

tisfactoria los elementos básicos de la enseñanza y las necesidades de nuestro medio, considerando el estado de la disciplina en ese tiempo. Abarcaba no sólo el área específica, sino que hacía también énfasis en el trabajo preventivo, terapéutico, quirúrgico y su relación íntima con todas las disciplinas de la Odontología.

El inicio fue complicado. La clínica del cuarto piso era compartida con la especialidad de Ortodoncia y la afluencia de pacientes era escasa. Esto probablemente se debía a varias razones, entre ellas, que la Parodoncia era una especialidad poco conocida en el país tanto para profesionistas como para la sociedad en general. Prueba de ello era la exigua referencia de pacientes, incluso por parte de los docentes de la propia ENO.

La disciplina fue creciendo paulatinamente hasta convertirse en una de las ramas básicas de la Odontología. La ahora *Periodoncia* fue promovida en México por la UNAM mediante campañas en distintos medios de comunicación –como la transmisión de clases y pláticas por televisión a nivel nacional durante la huelga de 1977–, al igual que la implementación de campañas y brigadas de salud bucal realizadas en todo el país. Otro hecho trascendente para su crecimiento fue la importante afluencia de aspirantes provenientes de universidades del interior de la República Mexicana y del extranjero, en particular de Sudamérica. Finalmente, el establecimiento de una importante multidisciplinaria e interdisciplinaria con otras áreas de la carrera derivó en el reconocimiento del carácter indispensable de la Periodoncia para mejorar y mantener la salud bucal de las y los pacientes.

Durante el proceso de crecimiento de la Periodoncia hubo una constante actualización de los contenidos de los programas de enseñanza, aunque se realizaron relativamente pocos cambios al plan de estudios. Un

* Agradezco el apoyo de Salvador Arroniz Padilla y María Andrea Enríquez Marín.

I express my gratitude to Salvador Arroniz Padilla and María Andrea Enríquez Marín for their support.



parteaguas para la historia de la especialidad en Periodoncia de la UNAM se desarrolló durante el periodo del doctor Javier de la Fuente Hernández en 2006, cuando se planteó y aprobó el cambio de orientación de los programas y contenidos de las especialidades de Prótesis y Periodoncia. El jefe de la División de Estudios de Postgrado en ese entonces era el doctor Federico Barceló Santana, y las personas en quienes recayó la responsabilidad para la elaboración y desarrollo de los proyectos fueron la maestra María Guadalupe Marín González en Periodoncia e Implantología y el maestro Enrique Navarro Bori para el programa de Prótesis, apoyados por los profesores de cada área. Estas modificaciones ubicaron a estos dos programas como ofertas educativas atractivas, actualizadas y de alta demanda a la par de otras especialidades que se imparten en la Facultad de Odontología de la UNAM.

En el caso de la Periodoncia, cabe destacar la incorporación de la Implantología al programa, convirtiéndose en la primera especialidad de este tipo en el país. Con un programa de tres años, actualizado y renovado según los avances clínicos y científicos del momento, se estableció una nueva opción de alta aceptación y demanda en el medio profesional, con proyección tanto nacional como internacional.**

Por último, es importante reconocer a las personas titulares de la Facultad de Odontología, quienes hemos contribuido con gran interés al crecimiento y desarrollo de la actual División de Estudios de Postgrado e Investigación, y a las distintas especialidades: los doctores Jesús Sarabia Aguilar, Manuel Rey García, Antonio Zimbrón Levy, Javier Portilla Robertson, José Antonio Vela, Arturo Fernández Pedrero, Javier de la Fuente y la primera directora de la Facultad de Odontología, la doctora Elba Leyva Huerta, egresada de la división y comprometida para que nuestra Facultad de Odontología siga creciendo.

Editorial

The start and development of Periodontics at the National Autonomous University of Mexico

Filiberto Enríquez Habib*

* Facultad de Odontología, UNAM.

*To the memory of my teacher Dr. Rafael Lozano Orozco, pioneer of Periodontics in Mexico**

** Numeralia UNAM.
Numeralia, UNAM.

On January 26, 1968, the University Council approved the curricula and programs for the specialties of Parodontology (Periodontics) and Orthodontics of the then National School of Dentistry of the National Autonomous University of Mexico (ENO-UNAM). The acting Principal was Dr. Jesús Sarabia Aguilar, and Dr. Rafael Lozano Orozco was the Head of the Division of Higher Studies of the ENO. The ENO had an educational offer of Orthodontics before the approval of its specialty program; in the case of Parodontology, the creation of the program was innovative in the country, as it coincided with its disciplinary development in the world.

The call for admission to the specialty was published on August 13, 1968, to which 22 applicants were registered. Due to that year's strike, the start of both programs was postponed until February 2, 1969.

The faculty was composed of Dr. Rafael Lozano Orozco, Carlos Gutierrez Sotelo, Javier Tavera Reyes, Jorge Tsuchiya Lopez, Juan Tapia Camacho, Octavio Godínez Neri, and Robin Gray, visiting professor from the University of Edinburgh. The first generation consisted of four students, two graduates from UNAM, one from the University of Guadalajara, and another from the University of San Luis Potosí; their names were, Salvador Arroniz Padilla, Roberto Peralta Cabrera, Juan Francisco Salcido García, and the author of this editorial.

The original curriculum, annexed to the archive for the session of the University Council in which the specialty was approved, was developed on the basis of the plans and programs designed at the most important universities of the United States of America. The planning consisted of four semesters. It satisfactorily covered the basic elements of teaching and the needs of our academic sphere, considering the state of the discipline at that time. It covered not only the specific area, but also emphasized preventive, therapeutic, and surgical work, as well as its intimate relationship with all disciplines of dentistry.

The start was complicated. The clinic on the fourth floor was shared with the specialty of Orthodontics, and the influx of patients was scarce. This was probably due to a number of reasons, including that Parodontology was a little-known specialty in the country for both professionals and society at large. Proof of this was the small referencing of patients even by teachers of the ENO itself.

The discipline gradually grew to become one of the basic branches of Dentistry. The now *Periodontics* was promoted in Mexico by UNAM through campaigns in different media –such as the transmission of classes and talks on television nationwide during the 1977

strike— as well as the implementation of campaigns and brigades of oral health carried out throughout the country. Another important event for its growth was the significant influx of applicants from universities in the interior of Mexico and abroad, particularly in South America. Finally, the establishment of an important multi- and interdisciplinary relation with other areas of the career led to the recognition of the indispensable role of Periodontics to improve and maintain the oral health of patients.

During the growth process of the Periodontics specialty there was a constant update of the contents of the teaching programs, although relatively few changes were made to the curriculum. A turning point in the history of the specialty in Periodontics of UNAM occurred during the period of Dr. Javier de la Fuente Hernández as Principal of the Faculty in 2006, with a change of orientation of the programs and contents of the specialties of Prosthetics and Periodontics. The Head of the Graduate Studies Division at the time was Dr. Federico Barceló Santana, and the people who were responsible for the planning and development of the projects were the teacher María Guadalupe Marín González for Periodontics and Implantology and the teacher Enrique Navarro Bori for the Prosthetics program, supported by the teachers of each area. These modifications placed these two programs as

attractive, up-to-date and high-demand educational offerings, along with other specialties that are taught in the Faculty of Dentistry of UNAM.

In the case of Periodontics, it is worth highlighting the incorporation of Implantology into the program, becoming the first specialty of its kind in the country. With a three-year program, updated and renewed according to the clinical and scientific advances of the moment, a new option of high acceptance and demand was established in the professional environment, with both national and international projection.**

Finally, it is important to recognize the heads of the Faculty of Dentistry, who have contributed with great interest to the growth and development of the current Division of Graduate Studies and Research, as well as of the different specialties: the Doctors Jesús Sarabia Aguilar, Manuel Rey García, Antonio Zimbrón Levy, Javier Portilla Robertson, José Antonio Vela, Arturo Fernández Pedrero, Javier de la Fuente, and the first female Principal of our Faculty, Dr. Elba Leyva Huerta, graduate of the Division and committed to keep our Faculty growing.

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Filiberto Enríquez Habib
E-mail: filiehabib@gmail.com



Comparación del sellado apical del cono de gutapercha según tipo de foramen en conductos distales de molares superiores con dos sistemas de preparación

Susan Kiara Gómez-Kasimoto,* Pedro Luis Tinedo-López,§ Carmen Rosa García-Rupaya§

* Maestría en Cariología y Endodoncia.

§ Docente en Maestría en Cariología y Endodoncia.

Universidad Científica del Sur, Perú.

RESUMEN

Introducción: La región apical se considera territorio crítico debido a la presencia de los microorganismos y por la respuesta inmune del huésped. Desde un punto de vista clínico, para los endodoncistas sería ideal si la totalidad o la mayor parte del tejido infectado fueran eliminados del sistema de canales y sus forámenes. Por tal motivo, la confección de un tope apical adecuado permite la adaptación precisa del cono maestro, promoviendo un sellado hermético del conducto radicular con presencia mínima de cemento obturador y así disminuir los índices de filtración. El propósito del estudio tiene como objetivo evaluar el sellado apical en conductos distales de primeros molares superiores después de la instrumentación con dos sistemas de preparación. **Material y métodos:** Este estudio fue experimental *in vitro*, la muestra fueron primeros molares superiores, repartidos en dos grupos, de acuerdo a cada sistema. Se evaluaron la forma del foramen fisiológico y el sellado apical después de la adaptación del cono principal al foramen, mediante el microscopio digital con 1000x de aumento. **Resultados:** El grupo de sistema reciprocante obtuvo un sellado ideal de 73%, para el grupo de sistema rotatorio se obtuvo en mayor porcentaje un sellado inaceptable en 68%, seguido del satisfactorio en 45% e ideal sólo en 26%. **Conclusión:** Se obtuvo mejor sellado del cono maestro con el sistema reciprocante y está asociado a formas de foramen fisiológico redondas.

Palabras clave: Sellado apical, sistema rotatorio, sistema reciprocante.

INTRODUCCIÓN

La región apical del conducto radicular es considerada territorio crítico para los microorganismos, la respuesta inmune del huésped y para endodoncistas desde un punto de vista clínico, sería ideal si la totalidad o la mayor parte del tejido infectado fueran eliminados del sistema de canales y sus forámenes.¹ El conocimiento de los diámetros y formas del foramen fisiológico contribuye al trabajo clínico, específicamente para la limpieza y conformación del tercio apical.² En consecuencia, el desbridamiento será adecuado y se puede obtener una obturación tridimensional debido a que estas se basan en esta información.³

Por tal motivo, la confección de un tope apical adecuado permite la adaptación precisa del cono principal, promoviendo un sellado hermético del conducto radicular con presencia mínima de cemento obturador e índices menores de filtración.^{4,5} Hay que tener en cuenta que la transportación del canal puede resultar en la deformación de la posición anatómica original del foramen apical, pudiendo presentar áreas sin preparar y otras excesivamente preparadas, removiendo dentina innecesariamente e impidiendo un sellado apical adecuado.^{6,7}

La morfología del foramen fisiológico está directamente relacionada con la forma que el conducto radicular adoptará, ya que forámenes redondos se forman por canales cónicos, mientras que los de forma oval tienen canales radiculares con paredes paralelas, siendo aún más complejo en formas irregulares.⁸ Asimismo, es importante tener en cuenta que el foramen fisiológico o constricción apical es considerado el límite para el término de la preparación del conducto radicular; por lo cual este tercio apical y sus características anatómicas pueden dificultar la preparación de los conductos.⁹⁻¹²

Por otro lado, el tamaño inicial del instrumento apical se define como el instrumento más pequeño que alcanza la raíz o longitud de trabajo y se une en el área del foramen fisiológico. Por tanto se sugiere que cuando se conoce el tamaño inicial del instrumento, se conoce también el área del conducto radicular en la constric-

Recibido: Octubre 2018. Aceptado: Marzo 2019.

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



ción apical o foramen fisiológico y que el área del conducto aumenta aproximadamente 6.25 veces cuando el tercio apical se prepara tres tamaños después del tamaño inicial del instrumento; sin embargo este concepto sólo es preciso en los casos en los que el foramen fisiológico y el conducto radicular son redondos.^{13,14} Asimismo, el estudio de Fonseca demostró que ningún instrumento endodóntico adaptó a todo el contorno del foramen apical, debido a que éste es de mayor tamaño que el instrumento y en la mayoría de los casos éste se desplaza hacia una de las paredes, siendo raramente observado en una posición centrada debido a que el foramen puede presentar forma ovalada e irregular, lo cual dificulta que el instrumento pueda adaptarse completamente a sus paredes.¹⁵

En los últimos años, la utilización de instrumentos rotatorios de níquel-titanio se ha incrementado para el tratamiento de conductos radiculares.¹⁶ La ventaja del NiTi rotatorio sobre los instrumentos manuales radica en facilitar la instrumentación de los conductos radiculares,^{12,17} conservando la forma de los canales con mucha curvatura.^{18,19} Por otro lado, producen superficies lisas en menor tiempo comparado con instrumentos manuales.^{12,17} Sin embargo, el sistema rotario NiTi puede tener algunos inconvenientes al rotar sobre canales curvos y puede producir ciclos de fatiga, pudiendo ocasionar separación de instrumentos debido a fuerzas de tensión-compresión repetidas en áreas con curvas máximas.²⁰ Se desarrollaron sistemas recíprocos NiTi, los cuales presentan ciertas ventajas sobre el sistema rotatorio de NiTi convencional.²¹ Éstos presentan mayor eficiencia de tiempo debido a que requiere un solo instrumento para preparar los canales,²² presentan además movimientos antihorarios, que producen el corte de dentina y un movimiento horario que desengancha el instrumento de la dentina, de tal forma evita el bloqueo gradual y alivia la tensión del instrumento, este tipo de movimiento aumenta la resistencia a la fatiga cíclica y torsional.^{23,24}

Por tanto, el presente estudio se justifica en dar a conocer al clínico de forma objetiva la relación que existe entre la adaptación del cono principal según los sistemas de preparación, en presencia de variantes morfológicas del foramen, siendo el objetivo de la investigación comparar el sellado apical del cono de gutapercha en conductos distales de molares superiores con dos sistemas de preparación según la morfología del foramen fisiológico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron raíces distales de primeros molares superiores donadas, las raíces fueron colocadas en

hipoclorito de sodio al 5% durante cinco minutos para desinfectar las superficies y eliminar el tejido orgánico restante, posteriormente se colocaron en suero fisiológico para mantenerlas hidratadas y fueron lavadas con agua corriente, secadas con aire a presión y gasa, los restos de tejidos suaves y duros alrededor de los dientes se eliminaron mecánicamente con una cureta periodontal; asimismo, se excluyeron los dientes que tuvieron calcificaciones, antecedentes de tratamiento previo, resorciones, grietas o raíces fracturadas y/o inmaduras. Los dientes con foramen apical desviado fueron excluidos del estudio para la estandarización. Se preparó una base guía para lograr el paralelismo de la raíz distal de tal manera que permita hacer un corte axial que sea totalmente perpendicular al eje del microscopio, asimismo se preparó una base de acrílico para cada muestra de tal modo que permita la estandarización de cada pieza cuando se realice el análisis y toma fotográfica al microscopio, una vez fraguado el acrílico, las piezas fueron retiradas y posteriormente se realizó el acceso al conducto, la permeabilización fue dada con limas tipo K Dentsply Maillefer de serie especial; se realizó la irrigación con hipoclorito de sodio al 2.5%, se tomó la conductometría utilizando una lima tipo k #15 hasta que el instrumento sea visualizado en el foramen apical del conducto, a partir de ese punto se redujo 1 mm cumpliendo con la longitud de trabajo que fue respetado durante todo el procedimiento de preparación. En seguida las muestras fueron separadas en dos grupos con el propósito de instrumentar los canales con dos sistemas de preparación. El primer grupo fue instrumentado con el sistema WaveOne Gold siguiendo los principios de la preparación especificados por el fabricante; el segundo grupo se instrumentó con Protapernext siguiendo las normas del fabricante. Posteriormente se realizó un desgaste de 1 mm perpendicular al eje del diente con un disco de carburo, luego de la preparación con el sistema respectivo se realizó la adaptación del cono principal estandarizado según la marca de cada sistema. Posteriormente se obtuvieron imágenes de alta calidad por medio de un microscopio digital USB 1000x de aumento, el cual permitió la toma fotográfica antes de la preparación, después de la preparación, y la adaptación final del cono principal al área del foramen fisiológico, estas imágenes fueron almacenadas en la biblioteca de la laptop de marca Toshiba, modelo Core i5. Después de la adaptación del cono principal, se realizó el análisis del sellado, para lo cual la imagen del área del foramen será dividida en cuatro cuadrantes; se consideró como sellado ideal la adaptación del cono en los cuatro cuadrantes (*Figura 1*), satisfactorio el sellado de tres cuadrantes (*Figura 2*), e inaceptable el sellado de dos cuadrantes o menos (*Figura 3*). Todos los procedimientos

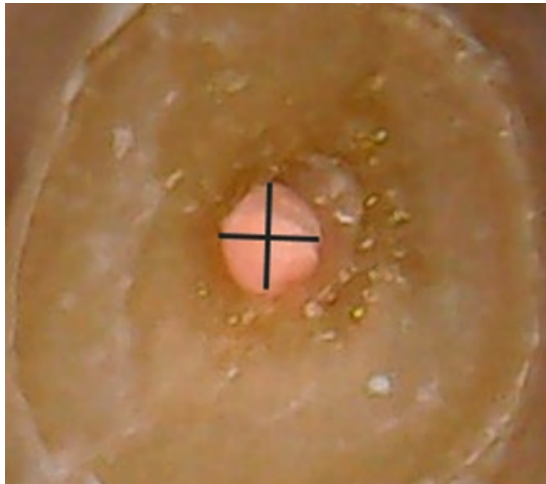


Figura 1: Sellado ideal del cono único de gutapercha después de la instrumentación mecanizada.

Ideal sealing of the gutta-percha single cone after mechanical instrumentation.



Figura 2: Sellado satisfactorio del cono de gutapercha correspondiente a los tres cuadrantes del foramen apical.

Satisfactory sealing of the gutta-percha cone corresponding to three quadrants of the apical foramen.

descritos fueron realizados por un solo operador, el cual fue capacitado por un estándar de oro tanto para Protaper Next como para WaveOne Gold.

RESULTADOS

En la *Tabla 1*, se obtuvieron mejores resultados para el sistema recíprocante. La prueba de χ^2 mostró que sí

hay asociación estadísticamente significativa entre el tipo de sellado según el sistema de preparación.

En la *Tabla 2*, se observó que el sellado ideal está relacionado con formas redondas en un 100% y un sellado inaceptable está relacionado con formas ovaladas e irregulares en un 36% respectivamente. La prueba de χ^2 mostró que sí hay asociación estadísticamente significativa entre el tipo de sellado y la forma del foramen.

DISCUSIÓN

El éxito de la terapia de conductos radiculares va a depender en gran medida del sellado apical, producido por materiales y métodos durante la obturación de un conducto instrumentado.²⁵ Los conos de gutapercha y los cementos selladores desempeñan un papel crítico, al proporcionar un sellado impermeable, llenando las irregularidades y discrepancias menores entre las paredes del conducto radicular y el material de relleno; debido a que un sellado inapropiado puede dar como resultado vacíos y permitir la microfiltración bacteriana, que conlleva al fracaso endodóntico.²⁶

El método más ampliamente aceptado y utilizado para el llenado del conducto radicular después de la preparación de los conductos es mediante la compactación lateral fría de gutapercha en combinación con un cemento sellador.²⁷ En la actualidad, los fabricantes ofrecen una gran variedad de instrumentos rotatorios de níquel-titanio clasificados por diferentes caracterís-



Figura 3: Sellado inaceptable del cono de gutapercha correspondiente a dos o menos cuadrantes.

Unacceptable sealing of the gutta-percha cone corresponding to two or less quadrants.

Tabla 1: Evaluación del tipo de sellado según el tipo de sistema de preparación.
Evaluation of the type of sealing according to the type of preparation system.

Variables	n	Ideal	Satisfactorio	Inaceptable	p
		n (%)	n (%)	n (%)	
(1) Sistema rotatorio	24	4 (26)	5 (45)	15 (68)	0.04
(2) Sistema reciprocante	24	11 (73)	6 (54)	7 (31)	

Prueba de χ^2 ($p < 0.05$).

ticas como diseño de punta, sección transversal, diámetro, composición y movimiento; asimismo suelen tener conicidad más grandes que los instrumentos manuales.²⁸ Por otra parte, la técnica de cono único en la obturación de conductos llama la atención debido a su velocidad y eficacia.²⁹

La popularidad de la técnica de cono único para la obturación, ha ido aumentando debido al uso generalizado de instrumentos rotatorios y reciprocantes con sus respectivos conos estandarizados, debido a que esta técnica se considera simple, mejora la práctica y causa menos estrés tanto para el paciente como para el operador.³⁰ Por tal motivo, se desarrollaron estudios donde comparan los diferentes sistemas de obturación, incluida la técnica de cono único, condensación lateral, vertical de gutapercha, técnicas de Thermafil y Ultrafil, encontrando que no hay diferencias significativas entre los diferentes métodos de obturación.³¹ Otros estudios muestran que la técnica de cono único presenta menor filtración marginal apical que la técnica de condensación lateral.³²

El presente estudio mostró que el mejor sellado está relacionado con el sistema reciprocante en 73%, comparado con el sistema rotatorio en sólo 26%, esto puede estar relacionado a la conicidad de los conos de gutapercha y a la falta de coincidencia entre el diámetro del instrumento y el cono único a nivel apical. El foramen fisiológico es una estructura anatómica que durante el procedimiento endodóntico no puede ser observado directamente, por lo tanto es necesario investigar sus características y se debe tener en cuenta su importancia morfológica en raíces de molares y piezas dentarias en general; sin embargo, a pesar de su importancia aún hay escasez de estudios en este tópico.

En el presente estudio se observó en 54% formas redondas, seguidas de las ovaladas en 27% y redondas en 18% para conductos distales de molares superiores. Asimismo, se observó que el sellado ideal está relacionado con formas redondas en 100% y el sellado inaceptable con formas ovaladas en 40% e irregu-

Tabla 2: Evaluación del tipo de sellado según la forma del foramen.
Evaluation of the type of sealing according to the foramen shape.

Variables	n	Redondo	Ovalado	Irregular	p
		n (%)	n (%)	n (%)	
Ideal	16	15 (100)	0 (0)	0 (0)	0.001
Satisfactorio	11	5 (45)	4 (36)	2 (18)	
Inaceptable	23	6 (27)	8 (36)	8 (36)	
Total	50	26 (54)	12 (25)	10 (20)	

Prueba de χ^2 ($p < 0.05$).

lares en 31%. Estos datos se asemejan a los descritos por Martos y colaboradores, quienes informan que la forma redonda es más común en molares superiores en 67% seguida de la ovalada en 19% e irregular en 7%. Por otro lado, Abarca en el 2014 menciona que la forma ovalada fue la más frecuente en 50% para molares superiores.^{33,34}

Asimismo, no se encuentran antecedentes en la literatura sobre clasificaciones respecto al tipo de sellado apical después de la adaptación del cono único de gutapercha, por tanto en el presente estudio, se plantea una clasificación para el tipo de sellado apical después de la adaptación del cono único; una división en cuatro cuadrantes permite la división del foramen, siendo ideal la adaptación y sellado de los cuatro cuadrantes, satisfactorio el que corresponde al sellado de los tres cuadrantes e inaceptable el sellado en dos o menos cuadrantes. Esta clasificación puede aportar en estudios posteriores referentes al tercio apical, siendo esta una zona crítica en el tratamiento de conductos.

Una de las limitaciones del presente estudio fue la anatomía compleja del tercio apical, como la presencia del cuarto conducto en la raíz mesiovestibular, pudiendo terminar en un solo foramen o forámenes separados, asimismo, en la desviación de los forámenes

en el tercio apical, se excluyó la raíz palatina debido a que en su mayoría presenta un conducto amplio y recto sin mucha complejidad para los sistemas rotatorios y reciprocantes, por lo que se consideró la raíz distal debido a que presenta en su mayoría un solo foramen y un grado de curvatura que permite exigencia de ambos sistemas durante la preparación.

Asimismo, la importancia clínica de este estudio radica en que la morfología del tercio apical es un factor críticamente importante durante la preparación, teniendo en cuenta que el objetivo principal del tratamiento de conductos es la limpieza mecánica y química de la cavidad pulpar, que permita reducir la carga bacteriana con una preparación apical correcta y un llenado completo que permita un sellado a nivel apical que favorezca una correcta reparación a este nivel. También el conocer la morfología puede ayudar a mejorar las técnicas de preparación e irrigación de forámenes no redondos que pueden estar frente a una colonización bacteriana producto de una necrosis pulpar.

CONCLUSIÓN

Se obtuvo mejor sellado con el cono único en conductos distales con el sistema recíprocante y un sellado ideal del cono único en forámenes con forma redonda en 100% de casos, y el sellado inaceptable está relacionado con formas ovaladas e irregulares en 36%.

Original research

Comparison of sealing of the gutta-percha cone according to type of apical foramen in distal root canals of upper molars with two preparation systems

Susan Kiara Gómez-Kasimoto,*
Pedro Luis Tinedo-López,[§]
Carmen Rosa García-Rupaya[§]

* Maestría en Cariología y Endodoncia.

[§] Docente en Maestría en Cariología y Endodoncia.

Universidad Científica del Sur, Perú.

ABSTRACT

Introduction: The apical region is considered a critical area due to the abundance of microorganisms and the host's immune response. From a clinical point of view, for endodontists it would be ideal if all or most of the infected tissue was eliminated from the root canal system and its foramina. For this reason, the preparation of a suitable apical stop allows the precise adaptation of a single cone, promoting a hermetic seal of the root canal with minimum presence

of obturator cement and lower filtration rates. The purpose of this investigation is to evaluate the apical seal in distal root canals of upper first molars after instrumentation with two preparation systems. **Material and methods:** We carried out an experimental *in vitro* study; the sample consisted of first upper molars divided into two groups according to two different preparation systems. The shape of the physiological foramen and the apical seal were evaluated after adapting the master cone into the foramen, using a digital microscope with 1000x magnification. **Results:** The reciprocating system group obtained an ideal sealing in 73% of cases; the rotary system group obtained mostly an unacceptable sealing (68%), followed by satisfactory sealing (45%), and ideal sealing (26%). **Conclusion:** A better sealing of the single cone was obtained with the reciprocating system, and it was associated with round shapes of physiological foramina.

Keywords: Apical sealing, rotary system, reciprocating system.

INTRODUCTION

The apical region of the root canal is considered a critical area due to the presence of microorganisms and the host's immune response. From a clinical point of view, it would be ideal for endodontists if all or most of the infected tissue was removed from the root canal system and its foramina.¹ Knowledge of the diameters and shapes of the physiological foramina contributes to clinical work, specifically for cleaning and shaping of the apical third.² The debridement will thus be adequate and a three-dimensional obturation will be obtained on the basis of this information.³

The preparation of a suitable apical stop allows the precise adaptation of the master cone, promoting an airtight seal of the root canal with minimal presence of obturation cement and lower filtration rates.^{4,5} Yet, it must be considered that canal transportation can result in the deformation of the original anatomical position of the apical foramen, so unprepared areas and others excessively prepared by unneeded dentin removal could be present, thus preventing a suitable apical sealing.^{6,7}

The morphology of the physiological foramen is directly related to the shape of the root canal: round foramina are formed by conical channels, whereas oval-shaped foramina have root canals with parallel walls and irregular foramina are even more complex.⁸ Also, it is important to note that physiological foramen or apical constriction is considered the limit for root canal preparation, so this apical third and its anatomical characteristics can make it difficult to prepare the canals.⁹⁻¹²

On the other hand, the first size of the apical instrument is defined as the smallest instrument that reaches the root or working length and binds at the region of the physiological foramen. Therefore, when the first size of the instrument is known, the area of the root canal in the apical constriction or physiological foramen is also known, and the area of the canal increa-

ses approximately 6.25 times when the apical third is prepared three sizes larger than the size of the first instrument to bind. However, this concept is only accurate in cases where the physiological foramen and root canal are round.^{13,14} In addition, the study of Fonseca showed that no endodontic instrument adapts to the entire contour of the apical foramen. The foramen is larger than the instrument and in most cases the latter moves toward one of the walls, being rarely observed in a centered position because the foramen may have an oval and irregular shape, making it difficult for the instrument to fully adapt to its walls.¹⁵

In recent years the use of nickel-titanium (NiTi) rotary instruments has increased for root canal treatment.¹⁶ They advantage manual instruments by facilitating the instrumentation of the root canals^{12,17} while preserving the shape of canals with high curvature.^{18,19} Also, they produce smooth surfaces in less time compared with manual instruments.^{12,17} However, the NiTi rotary system may have some limitations when rotating over curved canals; it can produce fatigue cycles that can cause instrument separation due to repeated tension and compression forces in areas with maximum curves.²⁰ For this reason, the NiTi reciprocating system was developed with certain advantages over the conventional NiTi rotary system.²¹ The reciprocating system is more time efficient because it requires a single instrument to prepare the canals.²² It also has anti-clockwise movements, which produce the cutting of dentin, and a clockwise movement that unhooks the instrument from the dentin avoiding gradual locking and reducing the tension of the instrument. This type of movement increases the resistance to cyclical and torsional fatigue.^{23,24}

This study aimed at making the clinician objectively aware of the relationship between the adaptation of the master cone and the preparation system used in the presence of morphological variants of the apical foramen. We thus compared two preparation systems for apical sealing of the gutta-percha cone in distal canals of upper molars according to the morphology of the physiological foramen.

MATERIAL AND METHODS

Distal roots of donated first upper molars were used. The roots were placed in 5% NaOCl for 5 minutes to disinfect the surfaces and remove the remaining organic tissue. Next, the roots were placed in physiological serum to keep them hydrated, washed with running water, and dried with pressurized air and gauze. The remains of soft and hard tissues around the teeth were mechanically removed with a periodontal curet-

te. Teeth with calcifications, prior history of treatment, resorptions, cracks, and fractured or immature roots were excluded. Teeth with deviated apical foramen were excluded from the study for standardization.

A guiding base was prepared to achieve the parallelism of the distal root in order to make an axial cut fully perpendicular to the axis of the microscope. An acrylic base was also prepared for each sample to allow standardization of each piece for analysis and microscopic photography. Once the acrylic hardened, the teeth were removed and access cavity to the canal was made. The permeation was done with special series k-type DentsplyMailleferfiles; then irrigation with 2.5% NaOCl was performed. Patency was confirmed using a #15 k-type file until the instrument was visible at the apical foramen of the canal; from that point a 1-mm shortening was made according to the working length, which was respected throughout the preparation procedure.

The samples were divided into two groups in order to instrument the canals with two different preparation systems. The first group was instrumented with the Wave One Gold system following the preparation guidelines specified by the manufacturer. The second group was instrumented with ProTaper Next system following the manufacturer's instructions. Afterward, a 1-mm grinding perpendicular to the tooth axis was performed with a carbide disc. After preparation with the respective system, the adaptation of the master cone standardized according to each system was performed.

Later on, high-quality images were obtained with a 1000x USB digital magnification microscope and stored in a computer. Photographs were taken before and after the preparation, and at final adaptation of the master cone to the physiological foramen region.

After the adaptation of the master cone, the sealing analysis was performed. To this purpose the image of the foramen region was divided into four quadrants. Ideal sealing was considered as that in which the cone adapted to the four quadrants (*Figure 1*); satisfactory sealing as that in which the cone adapted to three quadrants (*Figure 2*); and unacceptable sealing as that in which the cone adapted to two quadrants or less (*Figure 3*). All the procedures were performed by a single operator trained and standardized for using both ProTaper Next and Wave One Gold systems.

RESULTS

Better results were obtained with the reciprocating system. Ideal sealing was observed in 73% of cases, satisfactory in 54%, and unacceptable sealing in 31% of cases. On the other hand, with the rotary system unac-

ceptable sealing was seen in 68% of cases, satisfactory in 45%, and ideal sealing only in 26% of cases. The χ^2 test showed a statistically significant association between type of sealing and preparation system (Table 1).

Ideal sealing was related to round shapes in 100% cases and unacceptable sealing was related to oval and irregular shapes in 36% of cases, respectively. The χ^2 test also showed a statistically significant association between type of sealing and shape of the foramen (Table 2).

DISCUSSION

The success of root canal therapy will depend heavily on apical sealing, produced by selected materials and methods during the sealing of an instrumented canal.²⁵ Gutta-percha cones and sealing cements play a critical role at providing an hermetic seal and filling irregularities and minor discrepancies between the walls of the root canal and the filling material. An inappropriate sealing can result in the presence of empty spaces that will allow bacterial microfiltration, leading to endodontic failure.²⁶

The most widely accepted and used method for root canal filling after canal preparation is cold lateral compaction of gutta-percha in combination with a sealing cement.²⁷ Currently, manufacturers offer a wide variety of NiTi rotary instruments classified by different characteristics, such as tip design, cross section, diameter, composition, and movement. Tapers are also larger in comparison with manual instruments.²⁸ On the other hand, the single-cone technique in canal obturation draws attention due to the speed and efficiency of the procedure.²⁹

The popularity of the single-cone technique for obturation has been increasing due to the widespread use of rotary and reciprocating instruments with their respective standardized cones. The single-cone technique is considered simple, improves practice and causes less stress for both the patient and the operator.³⁰ Some studies have compared the different obturating systems, including single-cone technique, lateral and vertical gutta-percha condensation technique, and Thermafil and Ultra filtechniques, finding no significant differences between them.³¹ Yet, other studies reported that the single-cone technique showed less apical marginal filtration than the lateral condensation technique.³²

In this study, we found that the reciprocating system produced the best sealing in 73% of cases, compared with only 26% with the rotary system. Perhaps this result was related to the tapered gutta-percha cones and the mismatch between the diameter of the instrument and the single cone at the apical level. The physiological foramen is an anatomical structure that cannot

be observed directly during the endodontic procedure; therefore, it is necessary to investigate its characteristics and to take into account its morphological importance in roots of molars and teeth in general. However, despite its importance there is still a shortage of studies on this topic.

In the present study, we observed round shape in 54%, oval shape in 25%, and irregular shape in 20% of distal root canals of upper molars. The ideal sealing was related to round shape in 100% cases, and unacceptable sealing to oval shape in 40% and irregular shape in 31% of cases. These results are similar to those reported by Martos et al., who found that round shape was more common in upper molars in 67% followed by oval shape in 19% and irregular shape in 7% of studied pieces. By contrast, Abarca et al. found the oval shape to be the most common in 50% of studied upper molars.^{33,34}

There is no background in the literature on classifications regarding the type of apical sealing after the adaptation of the single gutta-percha cone. Therefore, in this study we proposed a classification for the type of apical sealing after the adaptation of the single cone by division of the foramen into quadrants. According to this division, an ideal adaptation corresponds to the sealing of the four quadrants. A satisfactory adaptation corresponds to the sealing of three quadrants, and an unacceptable adaptation to the sealing of two or less quadrants. This classification can be of use in further studies concerning the apical third, given the importance of this critical region in the treatment of root canals.

One of the limitations of our study was the complex anatomy of the apical third, such as the presence of a fourth canal in the mesio-vestibular root that might end in a single foramen or separate foramina, and the deviation of the foramina. On the other hand, the palatine root was excluded because it generally has a broad and straight canal which is relatively easy to treat with rotary and reciprocating systems. Thus, the distal root was selected as it usually has a single foramen and a degree of curvature that represent more of a challenge for both systems during preparation.

The clinical importance of this study lies in the fact that the morphology of the apical third is a critically important factor in root canal preparation. The main objective of canal treatment is the mechanical and chemical cleaning of pulp cavity to reduce the bacterial load with a correct apical preparation and a complete filling. This in turn will allow a proper sealing at the apical level favoring a correct repair at this level. Finally, knowing the morphology of the foramen can help improve the techniques of preparation and irrigation of non-round foramina that may be in risk of a bacterial colonization resulting from pulpal necrosis.

CONCLUSION

A better sealing was obtained with the single cone in distal canals using the reciprocating system.

An ideal sealing of the single cone was obtained in round shaped foramens in 100% cases. Unacceptable sealing was related to oval and irregular shapes in 36% of cases for each shape.

REFERENCIAS / REFERENCES

- Hülsmann M, Schäfer E. Apical patency: fact and fiction-a myth or a must? A contribution to the discussion. *J Endo*. 2009; 3 (4): 285-307.
- Vertucci F. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. *Endodontic Topics*. 2005; 10 (1): 3-29.
- Fan B, Yang J, Gutmann JL, Fan M. Root canal systems in mandibular first premolars with C-shaped root configurations. Part I: Microcomputed tomography mapping of the radicular groove and associated root canal cross-sections. *J Endod*. 2008; 34 (11): 1337-1341.
- Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod*. 2004; 30 (8): 559-567.
- Peters OA, Laib A, Göhring TN, Barbakow F. Changes in root canal geometry after preparation assessed by high-resolution computed tomography. *J Endod*. 2001; 27 (1): 1-6.
- Briseño BM, Sonnabend E. The influence of different root canal instruments on root canal preparation: an in vitro study. *Int Endod J*. 1991; 24 (1): 15-23.
- Roig-Cayón M, Brau-Aguadé E, Sahli, Canalda-Sahli C, Moreno-Aguado V. A comparison of molar root canal preparations using Flexofile, Canal Master U and Heliapical instruments. *J Endod*. 1994; 20 (10): 495-499.
- Ramos J, Gómez I, Ortiz V, Díaz A. Relación entre foramen apical, ápice anatómico y ápice radiográfico en premolares inferiores. *Rev Cubana de Estomatol*. 2015; 52 (1): 11-20.
- Simon JHS. The apex: how critical is it? *Gen Dent*. 1994; 42 (4): 330-334.
- Castellucci A. *Endodontics*. 2nd ed. Florence: Tridente Edizioni Odontoiatrice; 2004. pp. 396-437.
- García L, Marques A, Almeida G, Sousa-Neto M, Consani S. *In vitro* analysis of the apical deformation, using a different number of files during the instrumentation. *RSBO J*. 2009; 6 (4): 387-392.
- Hülsmann M, Peters OA, Dummer PM. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. *Endod Top*. 2005; 10 (1): 30-76.
- Marroquin BB, El-Sayed MA, Willershausen-Zonnchen B. Morphology of the physiological foramen: I. Maxillary and mandibular molars. *J Endod*. 2004; 30 (5): 321-328.
- Ponce EH, Vilar Fernandez JA. The cemento-dentino-canal junction, the apical foramen, and the apical constriction: evaluation by optical microscopy. *J Endod*. 2003; 29 (3): 214-219.
- Fonseca O, Lopes H, Moreira E, Sampaio H, Siqueira J. Adaptation of the patency instrument to the apical foramen: a scanning electron microscopic investigation. *J Endo*. 2009; 3 (1): 61-65.
- Koch M, Eriksson HG, Axelsson S, Tegelberg A. Effect of educational intervention on adoption of new endodontic technology by general dental practitioners: a questionnaire survey. *Int Endod J*. 2009; 42 (4): 313-321.
- Guelzow A, Stamm O, Martus P, Kielbassa AM. Comparative study of six rotary nickel-titanium systems and hand instrumentation for root canal preparation. *Int Endod J*. 2005; 38 (10): 743-752.
- Schäfer E, Zapke K. A comparative scanning electron microscopic investigation of the efficacy of manual and automated instrumentation of root canals. *J Endod*. 2000; 26 (11): 660-664.
- Schäfer E, Schulz-Bongert U, Tulus G. Comparison of hand stainless steel and nickel titanium rotary instrumentation: a clinical study. *J Endod*. 2004; 30 (6): 432-435.
- Arias A, Perez Higuera JJ, De la Macorra JC. Differences in cyclic fatigue resistance at apical and coronal levels of Reciproc and wave one new files. *J Endod*. 2012; 38 (9): 1244-1248.
- Mayer BE, Peters OA, Barbakow F. Effects of rotary instruments and ultrasonic irrigation on debris and smear layer scores: a scanning electron microscopic study. *Int Endod J*. 2002; 35 (7): 582-589.
- Cailleateau JG, Mullaney TP. Prevalence of teaching apical patency and various instrumentation and obturation techniques in United States dental schools. *J Endod*. 1997; 23 (6): 394-396.
- Pirani C, Paolucci A, Ruggeri O, Bossu M, Polimeni A, Gatto MR et al. Wear and metallographic analysis of WaveOne and reciproc NiTi instruments before and after three uses in root canals. *Scanning*. 2014; 36 (5): 517-525.
- Saber SE, Nagy MM, Schafer E. Comparative evaluation of the shaping ability of WaveOne, Reciproc and OneShape single file systems in severely curved root canals of extracted teeth. *Int Endod J*. 2015; 48 (1): 109-114.
- Demoor R, Hommez G. The importance of apical and coronal leakage in the success or failure of endodontic treatment. *Rev Belge Med Dent*. 2000; 55 (4): 334-344.
- Yucel AC, Guler E, Guler AU, Ertas E. Bacterial penetration after obturation with four different root canal sealers. *J Endod*. 2006; 32 (9): 890-893.
- Godiny M, Hatam R, Khavid A, Khanlari S. Apical microleakage in root canals containing broken rotary instruments. *Iran Endod J*. 2017; 12 (3): 360-365.
- Hatch GW, Roberts S, Joyce AP, Runner R, McPherson JC, 3rd. Comparative study of the variability of 0.06 tapered rotary endodontic files to current taper standards. *J Endod*. 2008; 34 (4): 463-465.
- Sadr S, Golmoradizadeh A, Raoof M, Tabanfar MJ. Microleakage of single-cone gutta-percha obturation technique in combination with different types of sealers. *Iran Endod J*. 2015; 10 (3): 199-203.
- ElSayed M, Taleb AA, Balbahaith MS. Sealing ability of three single-cone obturation systems: an *in-vitro* glucose leakage study. *J Conserv Dent*. 2013; 16 (6): 489-493.
- Gordon MP, Love RM, Chandler NP. An evaluation of .06 tapered gutta-percha cones for filling of .06 taper prepared curved root canals. *Int Endod J*. 2005; 38 (2): 87-96.
- Holland R, Murata SS, Tessarini RA, Ervolino E, Souza V, Dezan E. Infiltração marginal apical relacionada ao tipo de cimento obturador e técnica de obturação. *Rev Fac Odontol Lins*. 2004; 16 (2): 7-12.
- Martos J, Lubian C, Silveira LF, Suita de Castro LA, Ferrer Luque CM. Morphologic analysis of the root apex in human teeth. *J Endod*. 2010; 36 (4): 664-667.
- Abarca J, Zaror C, Monardes H, Hermosilla V, Muñoz C, Cantin M. Morphology of the physiological apical foramen in maxillary and mandibular first molars. *Int J Morphol*. 2014; 32 (2): 671-677.

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Susan Kiara Gómez-Kasimoto
E-mail: sgkashimoto@gmail.com



Estimación de la cantidad de trióxido de bismuto como agente radiopacificador en dos cementos minerales trióxido agregado mediante una prueba de radiopacidad

Abigail Flores-Ledesma,* Kenya Gutiérrez-Estrada,§ Lauro Bucio-Galindo||

* Laboratorio de Biomateriales Dentales. División de Estudios de Postgrado e Investigación, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México.

§ Práctica Privada Especialista en Endodoncia egresada de la División de Estudios de Postgrado e Investigación, Facultad de Odontología, Universidad Nacional Autónoma de México.

|| Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México.

RESUMEN

Se dice que el cemento mineral trióxido agregado (MTA) contiene 20%wt de trióxido de bismuto (Bi_2O_3) que le provee radiopacidad; sin embargo, la radiopacidad reportada en varias marcas de estos cementos ha sido variable, lo que sugiere que presentan diversa cantidad de bismuto, pudiendo afectar sus propiedades mecánicas. **Objetivo:** Estimar la concentración de trióxido de bismuto en dos marcas comerciales disponibles en México a partir de una prueba de radiopacidad. **Material y métodos:** cinco mezclas de cemento portland blanco (CPB) con concentraciones de Bi_2O_3 al 0, 10, 15, 20 y 25%wt (CPB, Bi10%, Bi15%, Bi20%, Bi25%), se analizaron dos lotes de dos cementos comerciales: MTA Angelus y MTA Viadent mediante una prueba de radiopacidad de acuerdo a la ISO 6876. Estos valores fueron determinados con base en la densidad radiográfica (tonos de grises) y convertidos a milímetros de aluminio (mm Al); se realizó un ajuste lineal con las mezclas del CPB y bismuto; se utilizó la ecuación de la recta para calcular la concentración de Bi_2O_3 en los cementos comerciales. **Resultados:** Se observó aumento de radiopacidad a mayor cantidad de trióxido de bismuto, el CPB obtuvo una radiopacidad de 1.8 mm Al, mientras que en el Bi25% fue de 6 mm Al. La concentración de 20%wt se usó como control, se observaron diferencias estadísticamente significativas en Bi15%, Bi10%, cemento Portland blanco y MTA Angelus ($p < 0.05$). En el MTA Viadent la cantidad de bismuto es de 24-25%wt, mientras que el MTA Angelus presenta entre 20-32%wt. **Conclusiones:** Los cementos comerciales muestran una concentración de bismuto mayor que la sugerida, lo que aumenta la radiopacidad de éstos, pudiendo afectar las propiedades mecánicas.

Palabras clave: Mineral trióxido agregado radiopacidad, trióxido de bismuto, cementos de silicato de calcio.

INTRODUCCIÓN

El mineral trióxido agregado por sus siglas en inglés (MTA) fue desarrollado por Torabinejad y colaboradores¹ en la Universidad de Loma Linda en 1995, cuanta con diversas aplicaciones clínicas dentro del campo odontológico, y específicamente dentro de la endodoncia y odontopediatría. Se ha sugerido su uso como apexificador,^{2,3} recubrimiento pulpar,^{4,5} reparador de perforaciones en furca^{6,7} y material para retrobturaciones.⁸

Los cementos a base de silicatos como el MTA presentan buenas propiedades biológicas: estimulan la formación de tejido mineralizado en células pulpares, la proliferación de tejido óseo, la actividad madurativa de células osteoblásticas,⁹⁻¹³ así como la formación de apatitas y estimulación de células estromales.¹⁴⁻¹⁶ Estas respuestas han sido comprobadas tanto *in vitro*^{17,18} como *in vivo*.¹⁹

La composición del cemento portland blanco se basa principalmente en silicato tricíclico, silicato dicálcico y aluminato tricíclico.^{20,21} Los cementos MTA están compuestos por 80% de cemento Portland y 20% de trióxido de bismuto (Bi_2O_3) que le provee radiopacidad.²²⁻²⁴ La mayor desventaja hasta ahora de los cementos MTA ha sido el largo tiempo de fraguado que en un inicio se reportaba alrededor de 72 horas,²⁵ se ha tratado de modificar esta característica con el uso de aceleradores como cloruro de calcio, ácido cítrico, gluconato de calcio, gluconato de clorhexidina e hidróxido de sodio, por mencionar algunos,²⁶⁻²⁸ así como el agregar materiales como vidrio bioactivo y wollastonita,²⁹ demostrando que los cementos MTA son sumamente sensibles a cambios en su composición, lo que afecta de manera directa las propiedades mecánicas.

Se han realizado estudios en los que se han agregado diversas concentraciones de material radiopacificador tal como trióxido de bismuto³⁰ u óxido de zir-

Recibido: Agosto 2018. Aceptado: Abril 2019.

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



conio,³¹ ambos casos mostraron que las propiedades físicas se ven afectadas: la resistencia a la compresión se ve disminuida; mientras que la porosidad, el tiempo de fraguado y solubilidad aumentan.³²⁻³⁴ Esto trae como consecuencia que podrían presentarse fallas en el tratamiento a futuro.

Por otro lado, diversos estudios han revelado que el cemento MTA produce cambios en la coloración a nivel gingival y dental hacia tonos marrones o negros;^{35,36} inicialmente se creía que era por el uso de MTA gris, el cual tiene en su composición hierro; sin embargo, este cambio de coloración también se ha observado cuando se ocupa MTA blanco.^{37,38} Estudios posteriores demostraron que el cambio de color es debido a la presencia de bismuto,^{39,40} el cual es sensible al contacto con hipoclorito de sodio^{35,41} y a la exposición a luz.⁴²

La radiopacidad de los cementos MTA comerciales es muy variable, se han encontrado valores desde 4 mm de aluminio (mm Al) hasta 7 mm Al,^{43,44} como la radiopacidad está relacionada con la cantidad y tipo de radiopacificador, el objetivo de este estudio es estimar la cantidad de trióxido de bismuto en dos diferentes marcas de cementos minerales trióxido agregado disponibles en México mediante una prueba de radiopacidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron cinco mezclas de cemento portland blanco (*Cruz Azul*; México; Lote 033442), previamente caracterizado²⁰ con concentraciones de Bi_2O_3 (*Aldrich Chemical Company Inc.* Lote 1304-76-3) al 0, 10, 15, 20 y 25%wt y dos cementos comerciales: dos lotes MTA Angelus (*Angelus Industria de Productos Odontológicos*, Londrina, Brasil, Lote 21934 y 20939) y dos lotes de MTA Viardent (México, Lote 160715 y A030317)

La metodología usada en este estudio se basa en los requerimientos especificados para radiopacidad de la norma ISO 6876.⁴⁵ Cada uno de los cementos se preparó con la relación de 1 g de polvo/0.33 mL de agua.^{46,47} La mezcla se colocó dentro del molde para elaboración de pastillas ($n = 10$) con un diámetro interno 10 ± 0.1 mm y una altura de 1 ± 0.01 mm. Se ejerció presión con una plancha de vidrio y se colocó en una prensa en C para la obtención de pastillas con superficies planas, libres de poros y burbujas internas. El molde junto con la prensa se colocó dentro de una cámara ambientadora (*Polyscience, USA*, Mod. 106B 00351) a 37 °C y humedad relativa de 95% durante 24 horas. Después de este tiempo las pastillas se colocaron en una radiografía oclusal (*E-Speed Film, Kodak,*

Rochester, NY, Lote 3109744), junto con un indicador de radiopacidad (gradilla de aluminio escalonada, 0.5 mm cada escalón, pureza de 95.5%).

Las muestras, la radiografía y la gradilla fueron colocadas sobre una base de plomo para la toma radiográfica; se realizó la radiación con un aparato de Rayos-X (*Progeny dental*, Modelo JB-70, USA, 65 ± 5 kV) a una distancia de la película de 30 cm a partir del punto focal (la distancia fue estandarizada con un cilindro de acetato) y se efectuó la exposición por 0.15 segundos. La radiografía fue revelada siguiendo los tiempos en la *Tabla 1*, con líquidos de revelado marca (*Kodac, Rochester, NY* Lote 1011 C6 02819).

La radiografía fue colocada al centro del negatoscopio, el cual fue cubierto con una caja de cartón para limitar la luz exterior, la caja sólo presentaba un orificio por donde el lente de la cámara digital fue ajustado (*Lumix, Panasonic* Mod FH20, China) para la obtención de radiografías digitales. Se analizó la densidad radiográfica con base en la escala de grises con un software para el análisis de imágenes ImageJ 1.44 (*National Institutes of Health, USA*).

Los valores de radiopacidad se determinaron con base en la densidad radiográfica (tonos de grises) y convertidos a milímetros de aluminio (mm Al). La conversión se realizó de acuerdo con la fórmula reportada por Vivan:⁴⁸

$$\frac{A \times 2}{B} + \text{mm Al inmediatos a la densidad radiográfica del material (DRM)}$$

Donde A: DRM - densidad radiográfica del incremento de la gradilla de aluminio inmediato inferior a la DRM y B: Densidad radiográfica del incremento de la gradilla de aluminio inmediato superior a la DRM - densidad radiográfica del incremento de la gradilla de aluminio inmediato inferior a la DRM.

Los resultados fueron capturados en SPSS versión 23 para su análisis. Ya que la concentración de 20% se ha estipulado como estándar en la patente del MTA,⁴⁹ el grupo Bi20% fue tomado como control. Se hizo prueba de Kolmogorov-Smirnov para probar la normalidad de los datos, procediéndose a realizar

Tabla 1: Tiempos de revelado de las radiografías.

Developing times of radiographs.

Revelador	Agua	Fijador	Agua
15 seg.	15 seg.	3 min.	15 seg.

Fuente directa.

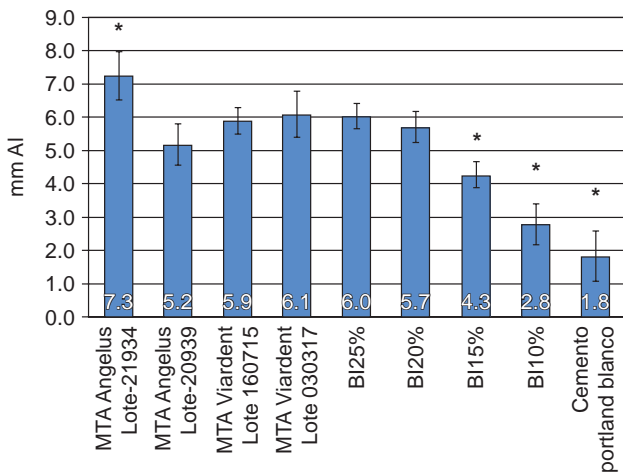


Figura 1: Resultados de la prueba de radiopacidad, ANOVA $p < 0.05$, *post hoc* Dunnett test $p < 0.05$; el grupo Bi20% se usó como control. Los números en la parte inferior y las barras de error representan los promedios de cada grupo y la desviación estándar respectivamente ($n = 10$).

*Results of the radiopacity test, ANOVA $p < 0.05$, *post hoc* Dunnett test $p < 0.05$; the Bi20% group was used as control. The numbers at the bottom and the error bars represent the means for each group and the standard deviation, respectively ($n = 10$).*

pruebas paramétricas. Se aplicó prueba de ANOVA y *post hoc* prueba Dunnett con un intervalo de confianza de 95%.

RESULTADOS

La radiopacidad de los cementos experimentales, MTA Angelus y MTA Viardent se muestra en la *Figura 1*. Se observa claramente el aumento de radiopacidad de acuerdo a la cantidad de trióxido de bismuto agregado, el cemento Portland blanco presenta una radiopacidad de 1.8 mm Al, al 10% aumenta a 2.8, mientras que se aprecian valores de 4.3, 5.7 y 6.0 mm Al en las concentraciones de 15, 20 y 25% respectivamente. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los cementos Bi15%, Bi10%, cemento Portland blanco y MTA Angelus (lote 21934) al ser comparados contra el grupo Bi20% (control).

La media de radiopacidad de los cementos con concentraciones de 0, 10, 15, 20 y 25%wt de trióxido de bismuto fueron graficados, realizándose un ajuste lineal; se obtuvo la ecuación de la recta y el valor de R (*Figura 2*). Se utilizó dicha ecuación para despejar el valor de X, utilizando los valores de la pendiente y la intersección para calcular la concentración de bismuto en cada uno de los cementos comerciales (*Tabla 2*).

Se observó que para el caso del cemento Viardent la concentración de trióxido de bismuto se encuentra entre 24-25%, mientras que en el MTA Angelus varía entre 20 y 32%.

DISCUSIÓN

La Norma ISO 6876 *Specification for dental root canal sealing materials*⁴⁵ establece que un milímetro de este tipo de materiales debe contar con al menos 3 mm de Al para presentar una radiopacidad adecuada, se ha reportado que al agregar un 20wt% de trióxido de bismuto se logra este objetivo.⁴⁹ La composición básica del MTA es 80% cemento Portland,^{20,23} el cual mostró un radiopacidad de 1.8 mm de Al, un valor similar al obtenido por Húngaro-Duarte⁵⁰ de 1.01 mm de Al, dato que no es ideal para su identificación.

Según Grossman⁵¹ el material ideal para obturar en endodoncia debe tener entre sus propiedades suficiente radiopacidad para distinguirlo de las estructuras circundantes con el fin de asegurar la correcta obturación y sellado del material en el sistema de conductos radiculares, perforaciones o retropreparaciones, favoreciendo así la eliminación de la enfermedad persistente en el tratamiento endodóntico.⁵²

Al colocar cementos a base de silicatos de calcio es importante verificar radiográficamente que se ubique dentro de la cavidad o en la zona deseada, que

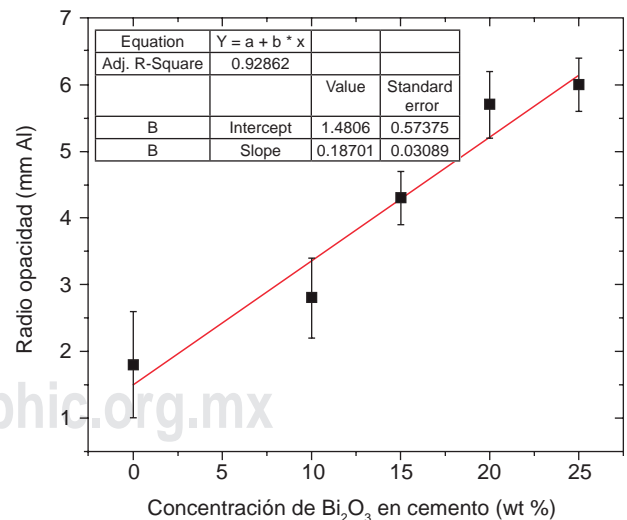


Figura 2: Gráfica de la concentración de trióxido de bismuto. Se realizó el ajuste lineal obteniéndose la ecuación de la recta ($n = 10$). Se graficó el promedio y la desviación estándar.

Graph of the bismuth trioxide concentration. The linear adjustment was made to obtain the straight line equation ($n=10$). The mean and the standard deviation were plotted.

Tabla 2: Concentración estimada de trióxido de bismuto en los cementos comerciales.
Estimated concentration of bismuth trioxide in the commercial cements studied.

	MTA Angelus Lote-21934	MTA Angelus Lote-20939	MTA Viardent Lote 160715	MTA Viardent Lote 030317
% de Bi ₂ O ₃	32.3	20.6	24.5	25.6

esté bien compactado, que se distinga de la dentina y del hueso en casos de retrobturación en cirugía periapical o que se obture junto con gutapercha en tratamientos de conductos, es decir, que dichos materiales sean distinguibles asegurando el sellado de ambos. Un material con mala radiopacidad podría causar confusión con las zonas anatómicas de dentina, hueso y ligamento periodontal; mientras que un material más radiopaco y con fuerte contraste puede llevar a la falsa impresión de un relleno denso y homogéneo, ya que puede enmascarar huecos en la obturación donde el material no ha penetrado correctamente.⁵²

De ahí surge la necesidad de realizar pruebas de radiopacidad a los cementos a base de silicatos de calcio, con la finalidad de corroborar que cumplan con el requerimiento marcado por la ISO 6876.⁴⁵ La mayoría de estos cementos presentan valores mucho más altos entre 6.53 y 7.17 mm de Al,^{53,54} hasta valores de 9 mm de Al.⁵⁵ En este estudio se observó que la concentración mínima de 10% de Bi₂O₃ no logra obtener los 3 mm de Al necesarios para su uso clínico; sin embargo, con la concentración de 15% se obtienen 4.3 mm de Al. Sin embargo, se ha detectado que la cantidad de bismuto en los cementos MTA afecta las propiedades físicas, se reporta que la resistencia a la compresión se ve disminuida, mientras que la porosidad y solubilidad aumentan con concentraciones mayores del radiopacificador.^{30,56} En cuanto a las características tales como resistencia a la compresión y porosidad, se observó una relación lineal inversa entre estas dos propiedades, es decir, a mayor porosidad menor resistencia a la compresión. Estas propiedades son de relevancia clínica, ya que como es sabido, la porosidad del material se relaciona con la solubilidad del mismo,⁵⁷ lo que trae como consecuencia mayor degradación del material, comprometiendo el éxito clínico de la restauración.

En el presente estudio se observó que al agregar entre 10-15% de trióxido de bismuto se obtiene la radiopacidad solicitada de los 3 mm Al por la ISO 6876, coincidiendo con lo mencionado por Bueno y colaboradores,⁵⁸ quienes sugieren sólo 15% de radiopacificador para mantener las propiedades físicas.

Cabe recordar que las propiedades físicas de los materiales están relacionadas con el tamaño de partícula, el uso de Bi₂O₃ en tamaño micro (10 µm) y nanométrico (40-80 nm) no afecta la radiopacidad; sin embargo, la resistencia a la compresión y microdureza superficial se ve aumentada con el uso de bismuto nanométrico,⁵⁵ cabe mencionar que existe poca evidencia sobre el efecto del trióxido de bismuto en el proceso de hidratación y fraguado, sólo se ha encontrado que no forma parte del proceso de hidratación del cemento.^{59,60}

Estas propiedades físicas se han observado de manera aislada, pero debemos tomar en cuenta que los cementos de silicato de calcio, independientemente de su agente radiopacificador, poseen la habilidad de producir apatitas en un ambiente acelular al contacto con fluidos corporales simulados,^{15,61,62} por lo que la posible falla en la adaptación marginal por pérdida del material podría verse favorecida por la formación de apatitas.

Si nos enfocamos en la parte clínica, se ha detectado cambio de color en los dientes que han sido restaurados con MTA,^{36,38,39} muchos de estos estudios mencionan un cambio hacia un color grisáceo del tejido dental,³⁷ debiendo realizar un segundo procedimiento clínico para poder aclarar el diente afectado. Estos cambios en la luminosidad son dados por la interacción entre el bismuto y el colágeno tipo I,⁴⁰ ya que los aminoácidos de la dentina provocan una sedimentación hacia bismuto metálico. Durante los protocolos de irrigación endodóntica, el hipoclorito de sodio es la solución que más se usa en diferentes concentraciones (0.5-5.25%),⁶³⁻⁶⁵ se ha observado que el contacto de la solución de hipoclorito de sodio en contacto del bismuto del MTA genera una pigmentación café oscuro-negro;³⁵ debido a que se produce una reducción de hipoclorito de sodio a cloruro de sodio. De tal forma que se sugiere que a mayor concentración de bismuto en el cemento mayor será el cambio de color en la estructura dentaria.

Sin embargo, este cambio en la discromía no se ha observado en otros cementos biocerámicos donde el agente radiopacificador es distinto a Bi₂O₃, tal como el óxido de zirconio,⁶⁶ que al 20% muestra la misma

radiopacidad que el bismuto. Existen materiales como el sulfato de bario (BaSO_4) que es un agente radiopacificador usado en resinas y cementos selladores en endodoncia, al ser blanco se espera no sufra este comportamiento de pigmentación, pero al ser agregado al 20% no presenta la radiopacidad requerida, por lo que debería agregarse en concentraciones mayores, lo que podría afectar las propiedades mecánicas.⁶⁷ Al sugerir otros agentes radiopacificadores, se debe considerar su biocompatibilidad y su posible efecto antimicrobiano.⁶⁸⁻⁷⁰ Es importante evaluar estas propiedades asociadas a diversas concentraciones de trióxido de bismuto.

CONCLUSIONES

La diferencia en concentración de Bi_2O_3 en los cementos comerciales puede traer como resultado un comportamiento físico químico distinto a lo esperado, mayor cantidad de radiopacificador provoca disminución de la resistencia a la compresión, aumento en la porosidad y en la solubilidad, lo que conlleva a disminución de la capacidad de sellado de la obturación, aumentando la posibilidad de fracaso; además afecta la estabilidad de color del diente restaurado, creando pigmentaciones negras o grisáceas. Es importante que se mantenga un control de calidad al momento de la fabricación en cuanto al contenido de bismuto para su distribución comercial.

Original research

Estimation of the amount of bismuth trioxide as radiopacifying agent by a radiopacity test in two mineral trioxide aggregate cements

Abigail Flores-Ledesma,* Kenya Gutiérrez-Estrada,[§] Lauro Bucio-Galindo^{||}

* Laboratory of Dental Biomaterials, Research and Postgraduate Studies Division, Faculty of Dentistry.

[§] Private practice, Specialist in Endodontics graduated from the Research and Postgraduate Studies Division, Faculty of Dentistry.

^{||} Physics Institute.

National Autonomous University of Mexico, Mexico City, Mexico.

ABSTRACT

The mineral trioxide aggregate (MTA) cement contains approximately 20%wt of bismuth trioxide (Bi_2O_3), a radiopacifying material. However, the radiopacity reported in several commercial

brands of these cements is variable because they have different amounts of bismuth, which affects its mechanical properties.

Objective: To estimate by a radiopacity test the concentration of Bi_2O_3 in two brands of MTA cements available in Mexico.

Materials and methods: Five mixtures of white Portland cement (WPC) with Bi_2O_3 concentrations of 0%, 10%, 15%, 20%, and 25%wt (WPC, Bi10%, Bi15%, Bi20%, Bi25%) and four lots of two commercial cements (two lots each), MTA Angelus and MTA Viardent, were analyzed by a radiopacity test according to the international Standard ISO 6876. These values were determined on the basis of radiographic density (shades of grey) and converted to millimeters of aluminum (mm Al). A linear adjustment was made with the mixtures of WPC and bismuth; the straight line equation was used to calculate the concentration of Bi_2O_3 in commercial cements. **Results:** Radiopacity increased with higher amounts of Bi_2O_3 ; the WPC obtained a radiopacity of 1.8 mm Al, while for Bi25% radiopacity was 6 mm Al. The 20%wt concentration was used as control; a statistically significant difference was observed in Bi15%, Bi10%, WPC, and MTA Angelus ($p < 0.05$). In the MTA Viardent the amount of bismuth is 24-25%wt, while in the MTA Angelus is between 20-32%wt. **Conclusions:** Commercial cements have a higher bismuth concentration than recommended, which increases their radiopacity and may compromise their mechanical properties.

Keywords: Trioxide aggregate cement, radiopacity, bismuth trioxide, calcium silicate-based cements.

INTRODUCTION

The mineral trioxide aggregate (MTA) was developed by Torabinejad et al.¹ at Loma Linda University in 1995. This compound has various clinical applications within the dental field, specifically in endodontics and pediatric dentistry. MTA has been suggested for use in apexification,^{2,3} as spray coating,^{4,5} repairer of furcal perforation during drilling,^{6,7} and material for retro-obturation.⁸

Silicate-based cements such as MTA have good biological properties; they stimulate the formation of mineralized tissue in pulp cells, the proliferation of bone tissue and thus the maturation activity of osteoblastic cells⁹⁻¹³ as well as the formation of apatites and stimulation of stromal cells.¹⁴⁻¹⁶ These qualities have been tested both *in vitro*^{17,18} and *in vivo*.¹⁹

The composition of white Portland cement is mainly based on tricyclic silicate, dicalcium silicate, and tricyclic aluminate.^{20,21} MTA cements are composed of 80% Portland cement and 20% bismuth trioxide (Bi_2O_3), which provides radiopacity.²²⁻²⁴ To date, the biggest disadvantage of MTA cements is their long setting time of about 72 hours.²⁵ To overcome this drawback some accelerators have been used, such as calcium chloride, citric acid, calcium gluconate, chlorhexidine gluconate, and sodium hydroxide.²⁶⁻²⁸ Also, some materials have been added, such as bioactive glass and wollastonite.²⁹ These aids, however, have showed that MTA cements are sensitive to changes in their composition so their mechanical properties become weakened.

Some studies have tested various concentrations of radiopacifying materials, such as bismuth trioxide³⁰ or zirconium oxide.³¹ In both cases the physical properties of the cements were affected; the resistance to compression decreased, while porosity, setting time and solubility increased.³²⁻³⁴ These variations may lead to future treatment failures.

On the other hand, several studies have shown that MTA cement produces gingival and dental coloration changes toward brown or black tones.^{35,36} Initially changes were believed to be because by gray MTA, which has iron as one of its components. However, this color change has also been observed using white MTA.^{37,38} Subsequent studies have shown that the change in color is caused by bismuth,^{39,40} which is sensitive to contact with sodium hypochlorite^{35,41} and light exposure.⁴²

The radiopacity of commercial MTA cements is highly variable with values ranging from 4 millimeters of aluminum (mm Al) to 7 mm Al.^{43,44} Radiopacity is related to the amount and type of radiopacifier; hence the objective of this study was to estimate the amount of bismuth trioxide in two different brands of MTA cements available in Mexico, by means of a radiopacity test.

MATERIALS AND METHODS

For this study we used five mixtures of white Portland cement (Cruz Azul, Mexico, Lot 033442), previously characterized²⁰ with bismuth trioxide (Aldrich Chemical Company Inc., Lot 1304-76-3) at concentrations of 0, 10, 15, 20 and 25%wt, and two commercial cements, i.e. two lots of MTA Angelus (Angelus Dental Products Industry, Londrine, Brazil, lots 21934 and 20939) and two lots of MTA Viadent (Mexico, lots 160715 and A030317).

The methodology of this study followed the specified requirements for radiopacity of the international Standard ISO 6876.⁴⁵ Each of the cements was prepared at a ratio of 1 g powder/0.33 mL water.^{46,47} The mixture was placed inside a pill mold (n = 10) with internal diameter of 10 ± 0.1 mm and height of 1 ± 0.01 mm. Pressure was applied with a glass plate and the mold was placed in a C press to obtain pills with flat surfaces, free of pores and internal bubbles. The mold together with the press was placed inside an ambient chamber (Polyscience, USA, Mod. 106B 00351) at 37 °C and relative humidity of 95% for 24 hours. After this time the pills were placed on an occlusal radiograph (E-Speed Film, Kodak, Rochester, NY, Lot 3109744), along with a radiopacity indicator (aluminum stepped rack, 0.5 mm each step, purity of 95.5%).

The samples, the radiograph, and the rack were placed on a lead base for x-ray taking; irradiation was performed with an X-ray device (Progeny Dental, Model JB-70, USA, 65-5 kV) at a film distance of 30 cm from the focal point (distance was standardized with an acetate cylinder) and exposure lasted 0.15 seconds. The radiograph was developed following the times displayed in *Table 1*, with Kodak® developing liquids (Kodak, Rochester, NY, Lot 1011 C6 02819).

The radiograph was placed in the center of the negatoscope, which was covered with a cardboard box to limit outside light. The box had a hole through which the lens of the digital camera was adjusted (Lumix, Panasonic Mod FH20, China) to obtain digital X-rays. X-ray density was analyzed on the basis of a grayscale with ImageJ 1.44 (National Institutes of Health, USA) imaging software.

The radiopacity values were determined according to radiographic density (shades of gray) and converted to millimeters of aluminium (mm Al). The conversion was made following the formula reported by Vivan:⁴⁸

$$\frac{A \times 2}{B} + \text{mm Al inmediatos a la densidad radiográfica del material (DRM)}$$

Where A: RDM - radiographic density of the aluminum rack increase immediate below RDM and B: radiographic density of the aluminum rack increase immediate above RDM - radiographic density of the aluminum rack increase immediate below DRM.

The results were analyzed using SPSS version 23. Since Bi20% concentration has been established as standard in the MTA patent,⁴⁹ the Bi20% group was taken as control. Kolmogorov-Smirnov test was performed to test the normality of the data, and parametric tests were carried out. ANOVA and post hoc Dunnett tests were performed with 95% confidence interval.

RESULTS

The radiopacity of the experimental cements, MTA Angelus and MTA Viadent, is shown in *Figure 1*. The increase in radiopacity is clearly observed according to the amount of added bismuth trioxide. White Portland cement had a radiopacity of 1.8 mm Al; at Bi10% it increased to 2.8, with increasing values of 4.3, 5.7, and 6.0 mm Al at Bi15%, Bi20%, and Bi25%, respectively. Statistically significant differences were found in the cements with Bi15% and Bi10%, white Portland cement, and MTA Angelus (lot 21934) when compared with the Bi20% group (control).

The radiopacity mean of the cements with 0, 10, 15, 20 and 25% wt bismuth trioxide concentrations were plotted, with a linear adjustment. The straight line equation and R value were obtained (*Figure 2*). This equation was used to clear the value of X, using the slope and intersection values to calculate the bismuth concentration in each of the commercial cements (*Table 2*).

In the case of MTA Viardent, the concentration of bismuth trioxide varied between 24-25%, whereas in the MTA Angelus the concentration varied between 20-32%.

DISCUSSION

The international Standard ISO 6876 «Specification for dental root canal sealing materials»⁴⁵ states that 1 mm of such materials must have at least 3 mm of aluminum in order to show an adequate radiopacity. The addition of 20wt% bismuth trioxide helps achieve this goal.⁴⁹ The basic composition of MTA is 80% Portland cement,^{20,23} which has a radiopacity of 1.8 mm Al, a value similar to that obtained by Hungaro-Duarte⁵⁰ of 1.01 mm Al, although the latter is not ideal for identification.

According to Grossman,⁵¹ the ideal obturating material must present among its properties sufficient radiopacity. This quality allows distinguishing the material from the surrounding structures to ensure the correct performance of obturations and sealing in root canals, perforations, and retropreparations. In turn, this favors the elimination of persistent disease in endodontic treatment.⁵²

When using a calcium silicate-based cement it is important to check radiographically that it is located within the cavity or in the desired area; that it is well compacted, it can be differentiated from dentin and bone, in cases of re-calibration in periapical surgery, and it obturates together with guttapercha in root canal treatments, i.e. that these materials are distinguishable ensuring the sealing of both. A material with poor radiopacity may cause confusion with the anatomical areas of dentin, bone, and periodontal ligament. On the contrary, a more radiopaque material with strong contrast can lead to the false impression of a dense and homogeneous filling and it can mask gaps in the obturation where the material has not penetrated properly.⁵²

Hence the need to perform radiopacity tests on calcium silicate-based cements in order to confirm that they meet the requirements set by ISO 6876.⁴⁵ Most of these cements have much higher radiopacity values, between 6.53 and 7.17 mm of Al,^{53,54} up to 9 mm of Al.⁵⁵ In this study we observed that the minimum

concentration of 10% of Bi_2O_3 failed to obtain the 3 mm of Al necessary for clinical use, but with the concentration of 15% were obtained 4.3 mm of Al. However, the amount of bismuth in MTA cements has been shown to affect their physical properties. Compression resistance decreases, while porosity and solubility increase with higher concentrations of the radiopacifying agent.^{30,56} In the case of compression resistance and porosity, an inverse linear relationship between these two properties was observed, i.e. to higher porosity there was lower compression resistance. These properties are of clinical relevance because as is well known, the porosity of the material relates to its solubility⁵⁷ and results in greater degradation of the material, which compromises the clinical success of the restoration.

In the present study, we observed that adding between 10-15% of bismuth trioxide allows obtaining the radiopacity of 3 mm Al requested by ISO 6876, in agreement with Bueno et al.,⁵⁸ who suggest adding only 15% of the radiopacifying agent to maintain the best physical properties.

It should be noted that the physical properties of the materials are related to particle size. The use of bismuth trioxide particles of micrometric (10 μm) and nanometric (40-80 μm) size does not affect the radiopacity, but it does affect the resistance to compression and surface microhardness, which increase with the use of nanometric bismuth.⁵⁵ On the other hand, there is little evidence on the effect of bismuth trioxide on the hydration and setting process; it is only known that bismuth trioxide is not involved in the cement hydration process.^{59,60}

The above mentioned physical properties of bismuth trioxide have been observed in isolation, but we should consider that regardless of the radiopacifying agent, calcium silicate cements possess the ability to produce apatites in an acellular environment, such as in contact with simulated bodily fluids.^{15,61,62} Thus, the possible failure in marginal adaptation due to material loss could be favored by the formation of apatites.

If we focus on the clinical part, color change has been observed in teeth restored with MTA.^{36,38,39} Some studies mention a change to a grayish color of dental tissue,³⁷ which makes necessary a second clinical procedure to lighten the affected tooth. These changes in luminosity are given by the interaction between bismuth and collagen type I,⁴⁰ since dentin amino acids cause a sedimentation toward metal bismuth. During endodontic irrigation protocols, sodium hypochlorite is the most commonly used solution in different concentrations (0.5-5.25%).⁶³⁻⁶⁵ The contact of the bismuth contained in the MTA with the sodium hypochlorite solution generates a

dark brown-black pigmentation³⁵ due to a reduction of sodium hypochlorite to sodium chloride. This suggests that the higher the concentration of bismuth in cement, the greater the color change is in the dental structure.

Color change has not been observed with other bioceramic cements that use a radiopacifying agent other than bismuth trioxide, such as zirconium oxide,⁶⁶ which at 20% shows the same radiopacity as bismuth. There are also other materials, such as barium sulfate (BaSO₄), which is a radiopacifying agent used in resins and sealing cements in endodontics. Being white, it is expected that it will not suffer this pigmentation behavior, but when added at 20% concentration it does not show the radiopacity required, so it must be used at higher concentrations, which could affect its mechanical properties.⁶⁷ As for other radiopacifying agents, their biocompatibility and possible antimicrobial effect⁶⁸⁻⁷⁰ must be considered before use. It is important as well to evaluate these properties associated with different concentrations of bismuth trioxide.

CONCLUSIONS

The different amount of bismuth trioxide concentration in commercial cements can result in a different chemical and physical behavior than expected. An increased amount of the radiopacifying agent may cause lower resistance to compression and increased porosity and solubility, leading to decreased obturating capacity and thus higher chance of failure. The variation in concentration also affects the color stability of the restored tooth, creating black or grayish pigmentations. It is therefore important that quality control be maintained at the time of manufacturing commercial MTA cements with bismuth trioxide content.

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Torabinejad M, Hong C. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995; 21 (7): 349-353.
2. Simon S, Rilliard F, Berdal A, Machtou P. The use of mineral trioxide aggregate in one-visit apexification treatment: a prospective study. *Int Endod J.* 2007; 40 (3): 186-197.
3. Felipe W, Felipe M, Rocha M. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexification and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *Int Endod J.* 2006; 39 (1): 2-9.
4. Li Z, Cao L, Fan M, Xu Q. Direct pulp capping with calcium hydroxide or mineral trioxide aggregate: a meta-analysis. *J Endod.* 2015; 41 (9): 1412-1417.
5. Tuna D, Olmez A. Clinical long-term evaluation of MTA as a direct pulp capping material in primary teeth. *Int Endod J.* 2008; 41 (4): 273-278.
6. Unal G, Maden M, Isidan T. Repair of furcal iatrogenic perforation with mineral trioxide aggregate: two years follow-up of two cases. *Eur J Dent.* 2010; 4 (4): 475-481.
7. Arens DE, Torabinejad M. Repair of furcal perforations with mineral trioxide aggregate. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 1996 Jul [cited 2015 Nov 19]; 82 (1): 84-88. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1079210496803829>.
8. Shipper G, Grossman ES, Botha AJ, Cleaton-Jones PE. Marginal adaptation of mineral trioxide aggregate (MTA) compared with amalgam as a root-end filling material: a low-vacuum (LV) versus high-vacuum (HV) SEM study. *Int Endod J.* 2004; 37 (5): 325-336.
9. Lee H, Shin Y, Kim S-O, Lee H-S, Choi H-J, Song JS. Comparative Study of Pulpal Responses to Pulpotomy with ProRoot MTA, RetroMTA, and TheraCal in Dogs' Teeth. *J Endod* [Internet]. 2015 Aug [cited 2015 Nov 19]; 41 (8): 1317-1324. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239915003428>.
10. De Rossi A, Silva LAB, Gatón-Hernández P, Sousa-Neto MD, Nelson-Filho P, Silva RAB et al. Comparison of pulpal responses to pulpotomy and pulp capping with biodentine and mineral trioxide aggregate in dogs. *J Endod* [Internet]. 2014; Sep [cited 2015 Oct 4]; 40 (9): 1362-1369. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239914001514>.
11. Mitchell PJ, Pitt Ford T, Torabinejad M, McDonald F. Osteoblast biocompatibility of mineral trioxide aggregate. *Biomaterials* [Internet]. 1999; Jan [cited 2015 Nov 19]; 20 (2): 167-173. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961298001574>.
12. Koh ET, McDonald F, Pitt Ford TR, Torabinejad M. Cellular response to mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 1998; 24 (8): 543-547.
13. Maeda T, Suzuki A, Yuzawa S, Baba Y, Kimura Y, Kato Y. Mineral trioxide aggregate induces osteoblastogenesis via Atf6. *Bone Reports* [Internet]. 2015; Jun [cited 2015 Nov 19]; 2: 36-43. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352187215000078>.
14. Gandolfi MG, Ciapetti G, Taddei P, Perut F, Tinti A, Cardoso MV et al. Apatite formation on bioactive calcium-silicate cements for dentistry affects surface topography and human marrow stromal cells proliferation. *Dent Mater.* 2010; 26 (10): 974-992.
15. Gandolfi MG, Taddei P, Tinti A, Prati C. Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. *Int Endod J.* 2010; 43 (10): 917-929.
16. Gandolfi MG, Taddei P, Siboni F, Modena E, Marchetti C, Prati C. Apatite-type phases on MTA cements depend on soaking medium volume. *Dent Mater* [Internet]. 2011 Jan [cited 2015 Nov 19]; 27: e81-82. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S010956411100813X>.
17. Hakki SS, Bozkurt SB, Hakki EE, Belli S. Effects of mineral trioxide aggregate on cell survival, gene expression associated with mineralized tissues, and biomineralization of cementoblasts. *J Endod.* 2009; 35 (4): 513-519.
18. Zhou H, Shen Y, Wang Z, Li L, Zheng Y, Häkkinen L et al. *In vitro* cytotoxicity evaluation of a novel root repair material. *J Endod.* 2013; 39 (4): 478-483.
19. Dreger LAS, Felipe WT, Reyes-Carmona JF, Felipe GS, Bortoluzzi EA, Felipe MCS. Mineral trioxide aggregate and portland cement promote biomineralization *in vivo*. *J Endod.* 2012; 38 (3): 324-329.
20. Flores-Ledesma A, Barcelo SF, Bucio L, Arenas AJA. Elemental chemical composition and phase analysis by means of PIXE, DSC, TGA and XRD of MTA Angelus® and white Portland cement. *Rev Odontológica Mex.* 2016; 20 (3): 187-192.

21. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Ghodousi J, Kheirieh S, Brink F. Comparison of mineral trioxide aggregate's composition with Portland cements and a new endodontic cement. *J Endod.* 2009; 35 (2): 243-250.
22. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: a comprehensive literature review--Part I: chemical, physical, and antibacterial properties. *J Endod.* 2010; 36 (1): 16-27.
23. Belío-Reyes IA, Bucio L, Cruz-Chavez E. Phase composition of ProRoot mineral trioxide aggregate by X-ray powder diffraction. *J Endod.* 2009; 35 (6): 875-878.
24. Park J-W, Hong S-H, Kim J-H, Lee S-J, Shin S-J. X-Ray diffraction analysis of white ProRoot MTA and Diadent BioAggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* [Internet]. 2010; Jan [cited 2015 Nov 21]; 109 (1): 155-1558. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1079210409006593>.
25. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod* [Internet]. 1995; Jul [cited 2015 Nov 2]; 21 (7): 349-353. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239906809672>.
26. Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *J Endod* [Internet]. 2006; Jun [cited 2015 Nov 21]; 32 (6): 569-572. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239905000269>.
27. Lee BN, Hwang YC, Jang JH, Chang HS, Hwang IN, Yang SY et al. Improvement of the properties of mineral trioxide aggregate by mixing with hydration accelerators. *J Endod* [Internet]. 2011; 37 (10): 1433-1436. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.06.013>.
28. Huang T-H, Shie M-Y, Kao C-T, Ding S-J. The effect of setting accelerator on properties of mineral trioxide aggregate. *J Endod* [Internet]. 2008; 34 (5): 590-593. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18436041>.
29. Flores-Ledesma A, Barceló Santana F, Bucio L, Arenas-Alatorre JA, Faraji M, Wintergerst AM. Bioactive materials improve some physical properties of a MTA-like cement. *Mater Sci Eng C.* 2017; 71: 150-155.
30. Coomaraswamy KS, Lumley PJ, Hofmann MP. Effect of bismuth oxide radiopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system. *J Endod.* 2007; 33 (3): 295-298.
31. Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru JM, Hungaro-Duarte MA, Tanomaru-Filho M, Camilleri J. Chemical characterization and bioactivity of epoxy resin and Portland cement-based sealers with niobium and zirconium oxide radiopacifiers. *Dental Materials.* 2014; 30 (9): 1005-1020.
32. Grazziotin-Soares R, Nekoofar MH, Davies TE, Bafail A, Alhaddar E, Hübler R et al. Effect of bismuth oxide on white mineral trioxide aggregate: chemical characterization and physical properties. *Int Endod J.* 2014; 47 (6): 520-533.
33. Cutajar A, Mallia B, Abela S, Camilleri J. Replacement of radiopacifier in mineral trioxide aggregate; characterization and determination of physical properties. *Dent Mater.* 2011; 27 (9): 879-891.
34. Islam I, Kheng Chng H, Jin Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. *J Endod.* 2006; 32 (3): 193-197.
35. Camilleri J. Color stability of white mineral trioxide aggregate in contact with hypochlorite solution. *J Endod.* 2014; 40 (3): 436-440.
36. Bortoluzzi EA, Araújo GS, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M. Marginal gingiva discoloration by gray MTA: a case report. *J Endod.* 2007; 33 (3): 325-327.
37. Belobrov I, Parashos P. Treatment of tooth discoloration after the use of white mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2011; 37 (7): 1017-1020.
38. Felman D, Parashos P. Coronal tooth discoloration and white mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2013; 39 (4): 484-487.
39. Jang J-H, Kang M, Ahn S, Kim S, Kim W, Kim Y et al. Tooth discoloration after the use of new pozzolan cement (Endocem) and mineral trioxide aggregate and the effects of internal bleaching. *J Endod.* [Internet]. 2013; 39 (12): 1598-1602. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24238455>.
40. Marciano MA, Costa RM, Camilleri J, Mondelli RFL, Guimarães BM, Duarte MAH. Assessment of color stability of white mineral trioxide aggregate angelus and bismuth oxide in contact with tooth structure. *J Endod.* 2014; 40 (8): 1235-1240.
41. Camilleri J. Staining Potential of Neo MTA Plus, MTA Plus, and biodentine used for pulpotomy procedures. *J Endod* [Internet]. 2015. Jul [cited 2015 Nov 8]; 41 (7): 1139-1145. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239915002101>.
42. Kang S-H, Shin Y-S, Lee H-S, Kim S-O, Shin Y, Jung I-Y et al. Color changes of teeth after treatment with various mineral trioxide aggregate-based materials: an *ex vivo* study. *J Endod.* 2015; 41 (5): 737-741.
43. Islam I, Chng HK, Yap AUJ. Comparison of the root-end sealing ability of MTA and Portland cement. *Aust Endod J.* 2005; 31 (2): 59-62.
44. Moreno-Vargas YA, Luna-Arias JP, Flores-Flores JO. Hydration reactions and physicochemical properties in a novel tricalcium-dicalcium silicate-based cement containing hydroxyapatite nanoparticles and calcite: a comparative study. *Ceram Int.* 2017; 43: 13290-13298.
45. ISO. *Specification for dental root canal sealing materials.* ISO 6876. London; 2011.
46. Shojaee N, Adl A, Jafarpur D, Sobhnamayan F. Effect of different water-to-powder ratios on the compressive strength of calcium-enriched mixture. *Iran Endod J.* 2018; 13 (3): 395-397.
47. Fridland M, Rosado R. MTA solubility: long term study. *J Endod.* 2005; 31: 376-379.
48. Vivan RR, Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, Hungaro Duarte MA et al. Evaluation of the radiopacity of some commercial and experimental root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108 (6): e35-8.
49. Torabinejad M, White DJ. Tooth filling material and method of use. Washington, DC: United States Patent & Trademark Office; Patent Number 5,769,638, May 16, 1995.
50. Húngaro Duarte MA, de Oliveira El Kadre GD, Vivan RR, Guerreiro Tanomaru JM, Filho MT, de Moraes IG. Radiopacity of portland cement associated with different radiopacifying agents. *J Endod.* 2009; 35 (5): 737-740.
51. Sureshchandra B, Gopikrishna V. Grossman's endodontic practice. 13th Edition. Ser, editor. India: Wolter Kluwer Health; 2014. p. 343.
52. Ørstavik D. Materials used for root canal obturation: technical, biological and clinical testing. *Endod Top.* [Internet]. 2005; 12 (1): 25-38. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1601-1546.2005.00197.x>.
53. Torabinejad M, Hong C. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995; 27 (1): 349-353.
54. Hwang YC, Lee SH, Hwang IN, Kang IC, Kim MS, Kim SH et al. Chemical composition, radiopacity, and biocompatibility of Portland cement with bismuth oxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 107 (3): e96-102.
55. Saghiri MA, Gutmann JL, Orangi J, Asatourian A, Sheibani N. Radiopacifier particle size impacts the physical properties of tricalcium silicate-based cements. *J Endod* [Internet]. 2015; Feb [cited 2015 Nov 21]; 41 (2): 225-230. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0099239914009303>.

56. Formosa LM, Mallia B, Bull T, Camilleri J. The microstructure and surface morphology of radiopaque tricalcium silicate cement exposed to different curing conditions. *Dent Mater* [Internet]. 2012 May [cited 2015 Nov 19]; 28 (5): 584-595. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564112000504>.
57. Fridland M, Rosado R. Mineral trioxide aggregate (MTA) solubility and porosity with different water-to-powder ratios. *J Endod*. 2003; 29 (12): 814-817.
58. Bueno CE d S, Zeferino EG, Manhaes JLRC, Rocha DGP, Cunha RS, De Martin AS. Study of the bismuth oxide concentration required to provide Portland cement with adequate radiopacity for endodontic use. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2009; 107 (1): e65-59. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2008.09.016>.
59. Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2007; 40 (6): 462-470.
60. Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater* [Internet]. 2013; May [cited 2015 Nov 19]; 29 (5): 580-593. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564113000559>.
61. Coleman NJ, Nicholson JW, Awosanya K. A preliminary investigation of the in vitro bioactivity of white Portland cement. *Cem Concr Res*. 2007; 37 (11): 1518-1523.
62. Abd Rashid R, Shamsudin R, Abdul Hamid MA, Jalar A. *In-vitro* bioactivity of wollastonite materials derived from limestone and silica sand. *Ceram Int*. 2014; 40 (5): 6847-6853.
63. Cárdenas-Bahena Á, Sánchez-García S, Tinajero-Morales IIC, González-Rodríguez VM, Baires-Várguez L. Hipoclorito de sodio en irrigación de conductos radiculares: sondeo de opinión y concentración en productos comerciales. [Use of sodium hypochlorite in root canal irrigation. Opinion survey and concentration in commercial products]. *Rev Odontológica Mex*. 2012; 16 (4): 252-258.
64. Del Castillo G, Perea B, Labajo E, Santiago A, Garcia F. Lesiones por hipoclorito sódico en la clínica odontológica: causas y recomendaciones de actuación. *Científica Dent*. 2011; 8 (1): 71-79.
65. Siqueira JF, Rqas N, Favieri A. Chemomechanical reduction of the bacterial and irrigation with 1%, 2.5%, and 5.25% sodium population in the root canal after instrumentation hypochlorite. *J Endod*. 2000; 26 (6): 331-334.
66. Beatty H, Svec T. Quantifying coronal tooth discoloration caused by biodentine and endosequence root repair material. *J Endod*. 2015; 41 (12): 2036-2039.
67. Bortoluzzi EA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Duarte MAH. Radiographic effect of different radiopacifiers on a potential retrograde filling material. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology* [Internet]. 2009; 108 (4): 628-632. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.04.044>.
68. Vega-Jiménez AL, Almaguer-Flores A, Flores-Castaneda M, Camps E, Uribe-Ramirez M, Aztatzi-Aguilar OG et al. Bismuth subsalicylate nanoparticles with anaerobic antibacterial activity for dental applications. *Nanotechnology*. 2017; 28 (43): 1-12.
69. Campos V, Almaguer-Flores A, Velasco-Aria D, Díaz D, Rodil SE. Bismuth and silver nanoparticles as antimicrobial agent over subgingival bacterial and nosocomial strains. *J Mater Sci Eng A*. 2018; 8 (7-8): 142-146.
70. Hernandez-Delgadillo R, Del Angel-Mosqueda C, Solís-Soto JM, Munguia-Moreno S, Pineda-Aguilar N, Sánchez-Nájera RI et al. Antimicrobial and antibiofilm activities of MTA supplemented with bismuth lipophilic nanoparticles. *Dent Mater J* [Internet]. 2017; 36 (4): 503-510. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmj/36/4/36_2016-259/_article.

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Abigail Flores-Ledesma
E-mail: dra_abyfl@hotmail.com



Parámetros histológicos de la regeneración ósea guiada con hidroxiapatita FOULA en ratas BIOU: Wistar

Vanessa Pineda,* Oriana Olivares,* Jenair Yépez,§ Anajulia González^{||}

* Odontólogo egresado de la Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología.

§ Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Cátedra de Cirugía Bucal.

^{||} Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Centro de Investigaciones Odontológicas (CIO).

Universidad de los Andes (ULA), Mérida-Venezuela.

RESUMEN

La regeneración ósea guiada es un procedimiento que induce la regeneración de defectos óseos usando biomateriales tales como la hidroxiapatita, concentrados plaquetarios, hueso liofilizado, etcétera. En la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes (FOULA) se sintetizó un biomaterial a base de hidroxiapatita, cuya eficacia no ha sido evaluada. **Objetivo:** Determinar la efectividad de la hidroxiapatita FOULA en el proceso de regeneración ósea guiada en defectos óseos creados en tibias de ratas BIOU: Wistar. **Metodología:** Se seleccionaron 33 ratas macho (cepa BIOU: Wistar). Se creó un defecto óseo en ambas tibias traseras, la tibia derecha alojó el biomaterial, dejando la izquierda libre del mismo. Se formaron dos grupos experimentales de 15 animales por tipo de hidroxiapatita (FOULA y Coralina); éstos se dividieron en subgrupos de cinco animales, de acuerdo al tiempo de estudio (tres, seis y nueve semanas). Los datos se evaluaron histopatológicamente. **Resultados:** A las 3 semanas, los niveles alcanzados fueron nivel III de RO (HA-FOULA) y nivel II (HA-Coralina). No obstante, a las 6 y 9 semanas el porcentaje de RO aumentó a nivel IV, usando HA-Coralina. Sin embargo, estadísticamente no se observaron diferencias significativas entre los grupos. **Conclusión:** Desde el punto de vista histopatológico, la HA-FOULA resultó eficaz en el proceso de regeneración ósea en defectos creados en tibias de ratas BIOU: Wistar.

Palabras clave: Hidroxiapatita, biomaterial, defecto óseo, regeneración ósea, BIOU: Wistar.

INTRODUCCIÓN

En la práctica odontológica, uno de los retos que se presentan es la reposición de tejidos duros que se han perdido por lesiones, patologías o procedimientos quirúrgicos. Es por esto que la utilización de diferentes métodos regenerativos en defectos óseos ha sido un tema ampliamente estudiado en los últimos años, centrándose en la creación de nuevo hueso en las diferentes zonas que sean necesarias.^{1,2}

La regeneración ósea guiada (ROG) es un procedimiento terapéutico que consiste en inducir la regeneración de defectos óseos, más no la cicatrización.³ Se fundamenta en la utilización de sistemas de barreras mediante membranas que aíslan un determinado defecto óseo, se excluyen células provenientes del epitelio gingival y tejido conectivo que puedan interferir con el

potencial osteogénico del tejido óseo correspondiente a la zona del defecto.¹ Es una técnica predecible y efectiva cuando se realiza previo análisis del caso.⁴ Para la aplicación de esta técnica son necesarios materiales que cumplan ciertos requisitos, tales como biocompatibilidad, oclusividad celular, generación de espacio, integración a los tejidos, fácil manipulación y que permanezcan el tiempo suficiente para permitir la proliferación celular.⁵

La hidroxiapatita (HA) es un biocristal formado por átomos de calcio, fósforo e hidrógeno, que funciona como material osteoconductor, y tiene alta biocompatibilidad y bioafinidad con los tejidos vivos. Hoy en día se considera el biomaterial más utilizado en ROG, debido a que representa junto con el colágeno tipo I, uno de los principales componentes del hueso. La HA no posee propiedades osteogénicas, ya que no estimula la formación de nuevo hueso; sin embargo, tiene propiedades osteoconductoras, ya que provee una matriz favorable para el depósito constante de nuevo hueso, debido a la capacidad de establecer intercambios químicos y de formar enlaces con el tejido vivo.⁶⁻¹⁰ Este material puede obtenerse por diversos métodos, entre los cuales se encuentra la precipitación química, que consiste principalmente en añadir una solución fosfataada a otra con iones de Ca^{++} en condiciones controladas. Las de origen cerámico están constituidas por partículas esféricas de alta densidad y gran pureza, se obtienen por calentamiento de los fosfatos cálcicos amorfos. El medio utilizado y las temperaturas a las que se elabora este tipo de hidroxiapatita son los

Recibido: Febrero 2019. Aceptado: Agosto 2019.

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



factores determinantes de la estructura cristalina del material, así como la porosidad y la solubilidad; mientras que de manera natural, la HA se puede obtener de tres seres vivos: bovinos, corales y algas.⁶

La HA FOULA fue probada con anterioridad de manera *in vitro*, cumpliendo con la fase I y II durante un ensayo biológico *in vitro*. Sin embargo, hasta la fecha no se han realizado estudios *in vivo* mediante ensayos preclínicos en animales de experimentación con la finalidad de constatar su efectividad, prevenir y controlar posibles efectos tóxicos, además de evaluar la relación riesgo-beneficio de la misma; razón por la cual el objetivo de esta investigación fue determinar los parámetros histopatológicos en el proceso de regeneración ósea guiada en defectos óseos creados en tibias de ratas BIOU: Wistar.

METODOLOGÍA

Cumpliendo con los lineamientos del Código de Bioética y Bioseguridad, y contando con la aprobación

del presente estudio en animales de experimentación por parte de la Comisión de Bioética del Bioterio de la Universidad de Los Andes (BIOULA) se seleccionaron 33 ratas macho adultas, de la cepa BIOU: Wistar, con un peso promedio entre 300-450 g. Se formaron dos grupos experimentales (15 animales en cada uno) para cada tipo de HA (FOULA y CORALINA); a su vez estos grupos se dividieron en subgrupos (cinco animales en cada uno), dependiendo del tiempo de sacrificio (tres, seis y nueve semanas); tres animales representaron el grupo control-control, con la finalidad de evaluar que los parámetros ambientales no influyeran con el desarrollo y resultado del estudio.

Procedimiento quirúrgico

Al inicio los animales fueron sedados con una inyección de 0.7 cm³ aproximadamente de una solución de ketamina (100 mg/kg), en asociación con xilacina (5 mg/kg) vía intraperitoneal, se probó el estado de sedación mediante punción en cola y patas para pro-

Fase quirúrgica Surgical phase

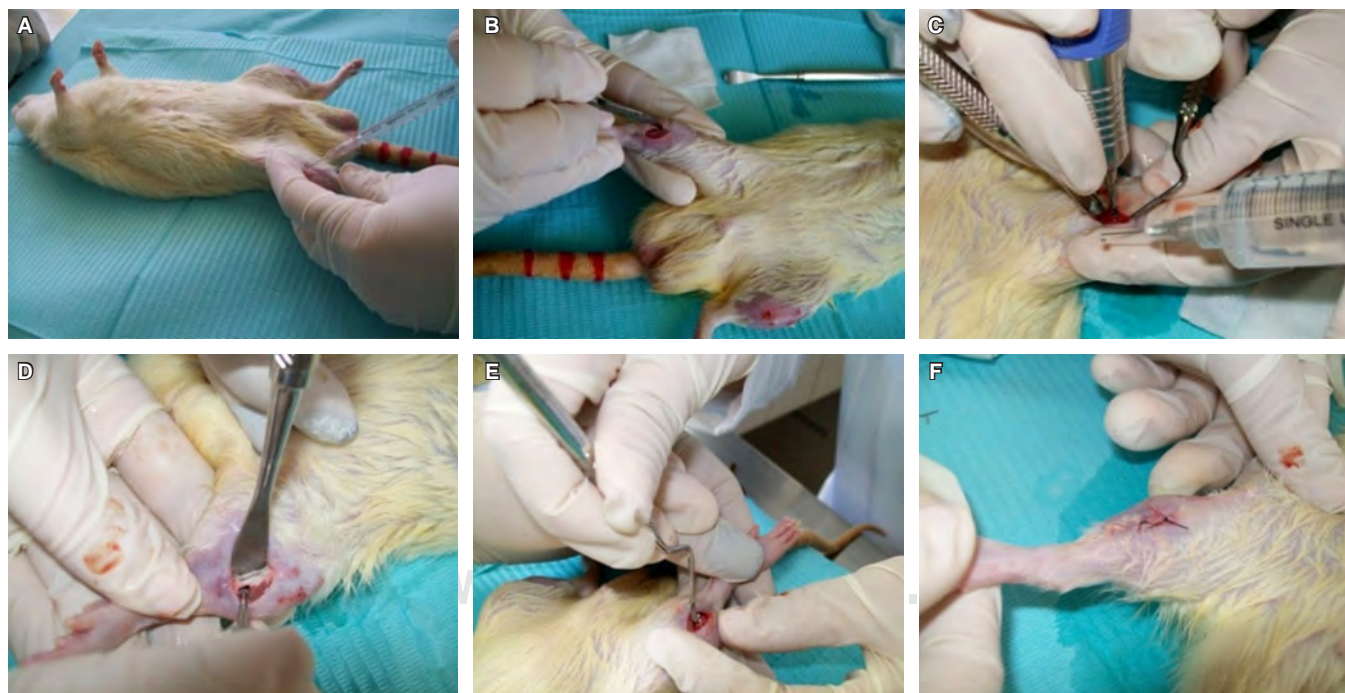


Figura 1: Procedimiento quirúrgico. **A)** Anestesia. **B)** Incisión. **C)** Creación del defecto óseo. **D)** Defecto creado. **E)** Implantación del biomaterial correspondiente dentro del mismo. **F)** Sutura en plano muscular y cutáneo.

Fuente propia.

Surgical procedure: A) anesthesia, B) incision, C) creation of bone defect, D) created bone defect, E) Implantation of the corresponding biomaterial, F) Suture of muscular and cutaneous layers.

Source: Own elaboration.

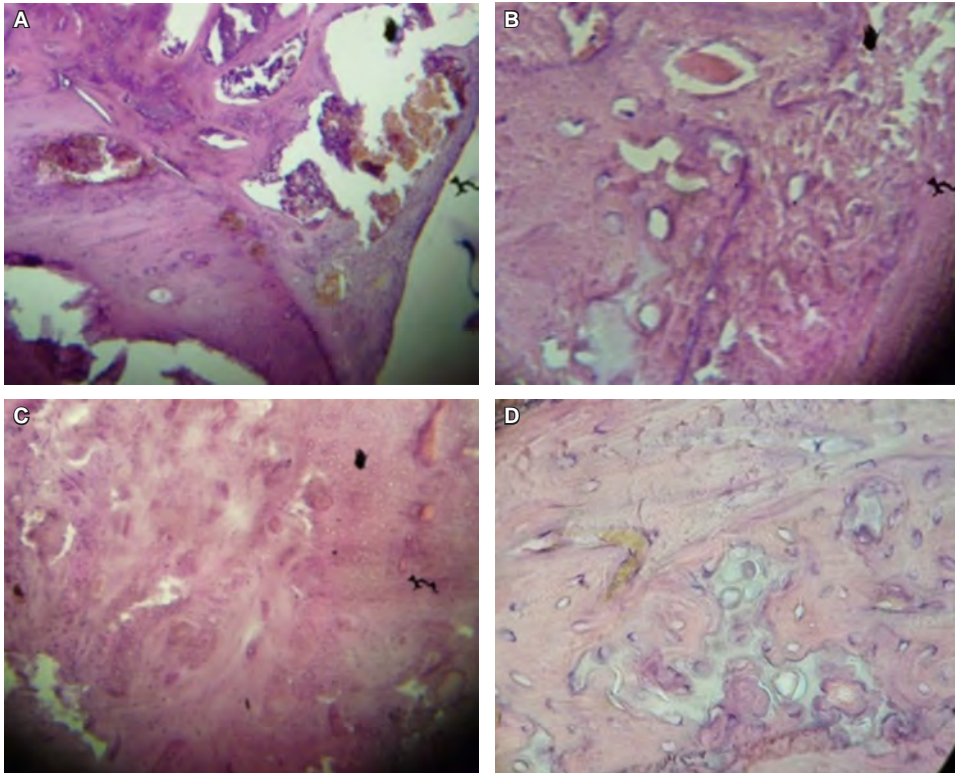
Escala propuesta por Castillo.¹¹Scale proposed by Castillo.¹¹

Figura 2:

Cortes histológicos observados a 40x donde se evidencia: **A)** Muestra del Grupo B, tibia derecha, nivel I de regeneración ósea. **B)** Muestra del Grupo B, tibia derecha, nivel II de regeneración ósea. **C)** Muestra del Grupo A, tibia derecha, nivel III de regeneración ósea. **D)** Muestra del Grupo B, tibia izquierda, nivel IV de regeneración ósea.

Fuente propia.

Histological cuts at 40x magnification where it is observed: A) sample of group B, right tibia, bone regeneration level I, B) sample of group B, right tibia, bone regeneration level II, C) sample of group A, right tibia, bone regeneration level III, D) sample of group B, left tibia, bone regeneration level IV. Source: Own elaboration.

ceder a realizar rasurado y asepsia del área quirúrgica con solución yodada; posteriormente se llevó a cabo el marcaje de cada grupo y subgrupo mediante aros de colores en la cola. El color rojo representó la HA FOULA, mientras que los aros de color negro representaron la HA Coralina. El número de aros representó el tiempo en el cual el animal fue sacrificado, un aro a las tres semanas, dos aros a las seis semanas y tres aros a las nueve semanas.

Los animales se anestesiaron localmente en el área quirúrgica con 0.25 mL de roxicaina al 2% con epinefrina 1:80,000 unidades; con una hoja de bisturí N° 15 estéril se realizó una incisión lineal en la cara interna del muslo y fueron separados los tejidos musculares con periostótomos (Legra P9) para descubrir la cara interna de la tibia de cada pata. A continuación, se empleó una fresa tallo largo troncocónica #702 a baja velocidad haciendo uso de un Mini Drill irrigación suficiente con solución fisiológica para la creación del defecto óseo con un área aproximada de 6.5 mm².

Los defectos óseos de las tibias derechas fueron rellenados con el tipo de hidroxiapatita correspondiente a cada grupo experimental «A» y «B», dejando el defecto óseo de la tibia izquierda libre de biomaterial para control fisiológico del proceso de regeneración ósea. Se

limpiaron y suturaron las heridas musculares con sutura reabsorbible Vicryl® 4-0 y las heridas en piel con sutura no reabsorbible de Nylon 3-0 (Figura 1). Se administró medicación analgésica postoperatoria (meloxicam 1.0 mg/kg de peso, una vez al día por tres días, vía intramuscular) y antibiótica (lincomicina 0.015 mL aproximadamente, suministrada en dosis única, vía subcutánea) en dosis aproximada de 0.05 cm³ cada uno.

Se dio seguimiento clínico postquirúrgico a las tres, seis y nueve semanas, valorándose las condiciones del microambiente de las jaulas y parámetros clínicos de los animales, se procedió a la eutanasia de cinco animales de cada grupo en el orden temporal descrito con el fin de obtener las muestras necesarias que fueron inmersas en formol al 10% para su posterior estudio.

Procedimiento postquirúrgico

Para el estudio histopatológico de las muestras se consideraron 40 tibias, excluyéndose 15 muestras del control fisiológico debido a factores económicos, además existe conocimiento previo dentro de la línea de investigación de la fisiología normal del modelo animal seleccionado; de igual manera, fueron excluidas cinco muestras de tibias derechas por presencia de callo óseo.

Una vez obtenidas las muestras se procedió a realizar la inclusión en parafina y se efectuaron los cortes correspondientes. Los cortes fueron analizados con microscopia de luz de acuerdo con la escala modificada propuesta por Castillo,¹¹ donde se toman en cuenta los indicadores: *cuerpo extraño*, *tejido de granulación*, *osteoblastos*, *formación osteoide*, *osteocitos* y *hueso maduro*, y fueron evaluados según la cantidad de células observadas por campo: ausente (0), escaso (< 5), moderado (5-10) y abundante (> 10). A continuación se estableció el nivel de regeneración ósea de acuerdo con los indicadores: nivel I (25%), nivel II (50%), nivel III (75%), nivel IV (100%) (Figura 2).

El análisis de los resultados se llevó a cabo desde un punto de vista comparativo tomando en cuenta los dos grupos experimentales (representados por cada tipo de HA) más el control fisiológico presente en cada uno. El procesamiento de los datos se realizó con el programa estadístico SPSS para Windows, versión 2.0. Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva básica, utilizando distribución de frecuencias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al analizar los cortes histológicos a la **tercera semana**, se observó que la mayoría de las muestras se ubicaron en el nivel II de regeneración ósea (*Nivel II de RO*) en ambos grupos, destacándose la presencia de tejido de granulación y ciertas zonas de mineralización osteoide. Sin embargo, la **HA FOULA** alcanzó el *nivel III de RO* en 60% de las muestras, con focos de mineralización osteoide en comparación con la **HA Coralina** cuyo porcentaje fue similar, pero ubicándose en el *nivel II de RO* (Figura 3).

La presencia de tejido de granulación coincide con lo expuesto por Harms,¹² el cual confirma que la presencia de vasos sanguíneos proporciona el suministro adecuado de sangre en el área afectada, paso previo a la actividad celular. Este hallazgo indica un equilibrio entre la resorción ósea y la formación de hueso durante el proceso de remodelación posterior a la implantación de los biomateriales, se observó formación de nueva matriz osteoide y neovascularización moderada alrededor de las partículas de hidroxapatita dentro del defecto.

Asimismo, se pudo determinar que el uso de la HA FOULA influye de manera favorable en el proceso de RO, puesto a que a la **tercera semana** postimplantación las muestras evaluadas alcanzaron el *nivel III de RO*, mientras que las tibias que permanecieron libres de biomaterial se clasificaron en el *nivel II de RO*. En estas muestras se observó la presencia de tejido

de granulación, con escasa formación de vasos sanguíneos, lo que coincide con Liao y colaboradores,¹³ que establecen que en el grupo de control el área del defecto permaneció notablemente llena de vasos sanguíneos e infiltrado inflamatorio, donde sólo se detectó una formación menor de hueso nuevo en el borde de los defectos.

A la **sexta semana** los cortes histológicos de las tibias derechas pertenecientes a ambos grupos experimentales mostraron predominio de células osteoblásticas y centros de formación de osteoide (*nivel III de RO*).

Cabe destacar que las tibias derechas pertenecientes al grupo A fueron analizadas en su totalidad, ya que no se observó formación de callo óseo en las mismas, de tal manera que 100% (5/5) de las muestras alcanzó el *nivel III de RO*, mientras que en el grupo B se excluyó una tibia debido a la presencia de callo ubicándose 80% (4/5) de muestras en este nivel de RO. Se debe mencionar que el número de muestras de tibias izquierdas tomadas en cuenta para este subgrupo de estudio se redujo por las razones anteriormente señaladas, se excluyó un porcentaje considerable de las muestras: 40% (2/5) en el grupo A y 60% (3/5) en el grupo B (Figura 4).

En este periodo de evaluación se observó en ambos grupos experimentales (A y B) un incremento gradual en el porcentaje de regeneración, evidenciándose mayor cantidad de osteocitos en las muestras estudiadas, con disminución del número de osteoblastos por campo, lo cual indica maduración de la matriz osteoide previamente formada.

De igual forma, se evidenció en ambos grupos experimentales en las muestras correspondientes a las

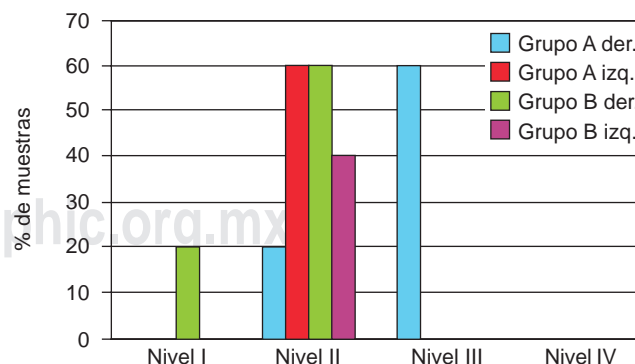


Figura 3: Nivel de regeneración ósea a las tres semanas postquirúrgicas.

Fuente propia.

Bone regeneration level at 3 weeks postoperative.
Source: Own elaboration.

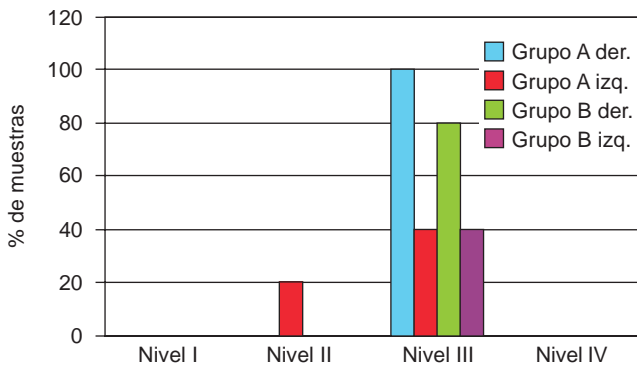


Figura 4: Nivel de regeneración ósea a las seis semanas postquirúrgicas. Fuente propia.

Bone regeneration level at 6 weeks postoperative. Source: Own elaboration.

tibias derechas la presencia de escasas células osteoclásticas, coincidiendo con lo expuesto por Harms¹² y Yépez y colaboradores,¹⁴ que establecieron que a las seis semanas comienza un proceso de reabsorción y aposición ósea alternado para la adaptación del hueso. De la misma manera, los resultados en este periodo de evaluación se asemejan a lo descrito por Martínez y su equipo,¹⁵ quienes hallaron a los 30 días postoperatorios en el grupo experimental un proceso de regeneración activo, que se caracterizó por la reabsorción de los bordes del defecto y la presencia de osteoblastos en el centro de la lesión.

Por otro lado, en algunas de las muestras pertenecientes a las tibias izquierdas se observó la formación de tejido conectivo fibroso, lo que coincidió de igual manera con lo expuesto por Harms.¹² Asimismo, Martínez y colaboradores¹⁵ obtuvieron resultados similares en las tibias del grupo control, detectaron reabsorción de los bordes del defecto y en su centro tejido condroide, colágeno y fibroblastos con formación de tejido osteoide, caracterizado por el mayor número de osteoblastos y menor cantidad de osteocitos.

Es necesario destacar que el *nivel III* de regeneración ósea con la **HA Coralina** fue alcanzado a las seis semanas, mientras que con la **HA FOULA** se alcanzó este nivel de regeneración a las tres semanas y se mantuvo hasta las seis semanas postquirúrgicas.

En el último periodo de evaluación a las **nueve semanas** postoperatorias se observó un predominio de focos de mineralización osteoide con predominio de células osteoblásticas, llenando la mayor parte del defecto, se clasificó como *nivel III* en ambos grupos experimentales grupo A (**HA FOULA**) y grupo B (**HA Coralina**).

Sin embargo, en 80% de los cortes histológicos correspondientes a las tibias derechas del grupo B se evidenció la formación de hueso maduro ubicándose en el *nivel IV* de regeneración ósea con mineralización de gran parte del defecto óseo, similar al hueso sano. Con respecto a las tibias izquierdas se redujo el número de muestras estudiadas, notándose la presencia de callo óseo en 40% de las tibias del grupo B (2/5); no obstante, en las muestras valoradas se apreciaron focos de mineralización osteoide, que se clasificaron como *nivel III* con respecto a la escala establecida (*Figura 5*). Nitin y su equipo¹⁸ obtienen resultados similares en el periodo de evaluación de la séptima y octava semanas postoperatorias, cuando observan en el grupo experimental que el tejido de granulación migra de la periferia a la región central del andamio; asimismo, detectaron que las estructuras óseas previamente formadas crecieron y comenzaron a conectarse, aumentando la cantidad de hueso recién formado.

A la **novena semana** de estudio en las muestras pertenecientes al **grupo experimental B** se observó la presencia de canales de Havers ya formados. De acuerdo con esto, se establece concordancia con el estudio realizado por Xiong y colaboradores¹⁶ donde la cantidad de nuevo hueso y cristales de calcio incrementó a las cuatro y ocho semanas, produciéndose la maduración continua del nuevo hueso. De igual manera, los resultados de este estudio coinciden con la investigación de Domínguez y colegas,¹⁷ en la que a las ocho semanas postoperatorias en el grupo control se detectó matriz extracelular granular, sobre la cual se localiza un número reducido de osteocitos en comparación con el grupo al que le fue implantado el biomaterial, por otra parte en el grupo experimental

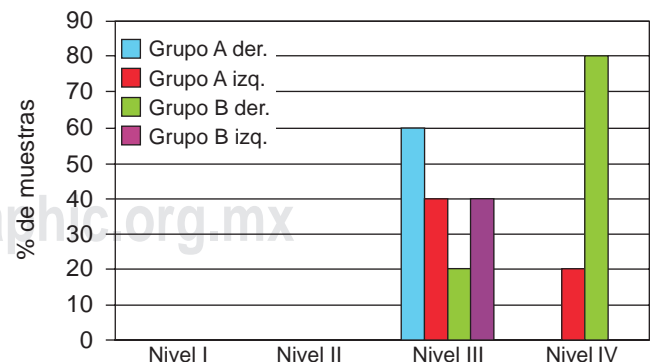


Figura 5: Nivel de regeneración ósea a las nueve semanas postquirúrgicas. Fuente propia.

Bone regeneration level at 9 weeks postoperative. Source: Own elaboration.

se observó la presencia de matriz extracelular conformada por láminas de osteocitos maduros. La cavidad remanente que queda posterior a un tratamiento quirúrgico debe obturarse de preferencia con materiales de origen autólogo para que sean las células madre las que lleven a cabo los procesos de osteoinducción y osteoconducción, garantizando la morfología y densidad ósea del área del defecto. Pero este tratamiento se ve limitado debido a la disponibilidad y la morbilidad del área donante, cantidades insuficientes de material y resorción incontrolada.^{2,18,19} En consecuencia, diversos biomateriales se presentan actualmente en el mercado para regeneración ósea guiada, destacando entre ellos la HA.

En este estudio se establece una relación de concordancia en el porcentaje de RO haciendo uso de un biomaterial; y se demuestra que el biomaterial HA es un excelente osteoconductor, puesto que al ser implantado en defectos óseos de animales de experimentación actúa como relleno y andamio para acelerar la actividad celular en pro de la regeneración ósea, demostrando excelentes resultados en cuanto a la tolerancia, biocompatibilidad y osteointegración, pues actúa como barrera para evitar la invaginación de tejidos blandos.^{7,20,21} Sin embargo, es necesario señalar que es recomendable la combinación de HA con otros biomateriales para alcanzar mejores resultados.^{5,22-24}

CONCLUSIÓN

Se demostró que la HA FOULA resulta eficaz en el proceso de regeneración ósea en defectos creados en tibias de ratas BIOU: Wistar, ya que promueve la formación de nuevo hueso en menor tiempo, comparada con la regeneración fisiológica. De igual forma, se observó que la HA FOULA aceleró el proceso de RO de los defectos durante el primer periodo de evaluación (tres semanas postquirúrgicas), en comparación con el control fisiológico y control comercial.

Se recomienda delimitar el área del defecto óseo mediante el uso de tinta china para facilitar su ubicación durante la evaluación histopatológica.

Original research

Histological parameters of bone guided regeneration with FOULA hydroxyapatite in BIOU: Wistar rats

Vanessa Pineda,* Oriana Olivares,* Jenair Yépez,§ Anajulia González^{||}

* Dental surgeon graduated from the Faculty of Dentistry, University of the Andes.

§ University of the Andes, Faculty of Dentistry, Professor of Oral Surgery.

|| University of the Andes, Faculty of Dentistry, Center of Dental Research (CIO).

University of the Andes (ULA), Mérida-Venezuela.

ABSTRACT

Guided bone regeneration is a procedure to induce the regeneration of bone defects using biomaterials such as hydroxyapatite (HA), platelet concentrates, lyophilized bone, among others. In the Faculty of Dentistry at the University of the Andes (FOULA) in Venezuela, an HA-based biomaterial whose efficacy had not yet been evaluated in vivo was synthesized. **Objective:** To determine the effectiveness of FOULAHA in guided bone regeneration of bone defects created in tibia bones of BIOU: Wistar rats. **Methodology:** 33 male rats (BIOU: Wistar strain) were selected. A bone defect was created in both back tibias, the biomaterial being inserted only in the right tibia. Two experimental groups of 15 animals each were formed per type of HA (FOULA and coralline); in turn, these groups were divided into subgroups of 5 animals each according to study time (3, 6 and 9 weeks). The data were evaluated by histopathology. **Results:** The levels reached were level III of RO (HA-FOULA) and level II (HA-Coral). At 6 and 9 weeks, the percentage of RO, using HA-Coral, increased to level IV. However, statistically no significant differences were observed between the groups. **Conclusion:** FOULA HA was effective for BR in defects created in tibias of BIOU: Wistar rats.

Keywords: Hydroxyapatite, biomaterial, bone defect, bone regeneration, BIOU: Wistar rats.

INTRODUCTION

In dental practice, one of the main challenges is the replacement of hard tissues lost due to injuries, pathologies or surgical procedures. This is the reason that different regenerative methods in bone defects have been widely studied in recent years, focusing on the creation of new bone in areas where it is needed.^{1,2}

Guided bone regeneration (GBR) is a therapeutic procedure that involves inducing the regeneration of bone defects rather than healing.³ It is based on the use of membrane barrier systems that isolate a certain bone defect, keeping out cells from the gingival epithelium and connective tissue that may interfere with the osteogenic potential of bone tissue in the zone of the defect.¹ It is a predictable and effective technique when performed after previous analysis of the case.⁴ The materials used to perform this technique have to meet certain requirements, such as easy handling, biocompatibility, cell occlusivity, space generation, tissue integration, and long enough presence to allow for cell proliferation.⁵

Hydroxyapatite (HA) is a biocrystal made up of calcium, phosphorus, and hydrogen atoms, which functions as an osteoconductive material and has high biocompatibility and bioaffinity with living tissues.

Today it is the most widely used biomaterial in GBR; it constitutes together with type I collagen one of the main components of bone. HA has no osteogenic properties, it does not stimulate the formation of new bone. However, it has osteoconductive properties as it provides a favorable matrix for the constant deposit of new bone due to its ability to establish chemical exchanges and to form bonds with living tissue.⁶⁻¹⁰

HA can be obtained through several methods, mainly by chemical precipitation, which consists of adding one phosphate solution to another with Ca⁺⁺ ions under controlled conditions. HA of ceramic origin is made up of high density and high purity spherical particles, obtained by heating amorphous calcium phosphates. The medium used and the temperatures at which this type of HA is made are the determining factors of the crystalline structure of the material, and influence its porosity and solubility as well. On the other hand, HA can naturally be obtained from three types of living beings, namely cattle, coral, and algae.⁶

The FOULA HA was previously tested *in vitro*, complying with phases I and II of *in vitro* biological assays. Yet, no *in vivo* studies had been conducted through pre-clinical trials to verify the effectiveness of the material, prevent and control potential toxic effects, and assess its risk-benefit ratio. Hence the goal of this research was to determine histopathological parameters of guided bone regeneration in bone defects created in tibias of a strain of Wistar rats bred at the Bioterium (animal facility) of the University of the Andes in Venezuela (BIOU: Wistar rats).

METHODOLOGY

This study followed the guidelines of the Code of Bioethics and Biosafety and was approved by the Bioethics Commission of the Bioterium of the University of the Andes (BIOULA) for use of experimental animals. A total of 33 male rats of the BIOU: Wistar strain were selected, with an average weight between 300-450g. Two experimental groups (15 animals each) were formed for each type of HA tested (FOULA and coralline); in turn, these groups were divided into subgroups (5 animals each) depending on the time of sacrifice (3, 6 and 9 weeks) of the rats. Three animals represented the control-control group in order to assess that environmental parameters did not influence the development and outcome of the study.

Surgical procedure

First, the animals were sedated with an injection of 0.7cc of ketamine (100 mg/kg) combined with xylazine

(5 mg/kg) by intraperitoneal route. The sedation status was tested by puncture in tail and legs before proceeding to shaving and asepsis of the surgical area with iodized solution. Next, each group and subgroup was marked by means of colored rings in the rat's tail. FOULA HA was identified by red rings and coralline HA by black rings. The number of rings represented the time at which the animal was sacrificed, i.e. 1 ring at 3 weeks, 2 rings at 6 weeks, and 3 rings at 9 weeks.

The animals were anesthetized locally in the surgical area with 0.25ml of 2% roxycaine with epinephrine 1:80,000 units. A linear incision was made in the inner face of the thigh with a #15 sterile scalpel and muscle tissues were separated with periosteotomes (Legra P9) to expose the inner face of each leg's tibia. Subsequently, a #702 long-stem conical bur was used at low speed using a minidrill of sufficient irrigation with physiological solution for the creation of the bone defect with an approximate area of 6.5 mm².

Bone defects of the right tibias were filled with the type of HA corresponding to each experimental group («A», FOULA HA, and «B», coralline HA), leaving the bone defect of the left tibia free of biomaterial for physiological control of the bone regeneration process. Muscle wounds were cleaned and sutured with absorbable 4-0 vicryl suture and skin wounds with non-absorbable 3-0 Nylon suture (*Figure 1*).

Postoperative analgesic medication (meloxicam 1.0 mg/kg body weight, 1 time daily for 3 days, intramuscularly) and antibiotic (lincomycin, about 0.015 mL, supplied in single dose, subcutaneously) were administered at doses of approximately 0.05 cm³ each.

Postsurgical clinical follow-up was made at 3, 6 and 9 weeks, assessing the microenvironment conditions of the cages and clinical parameters of the animals. Then 5 animals from each group were euthanized in the temporal order described for obtaining the samples, which were immersed in 10% formaldehyde for further study.

Postsurgical procedure

For the histopathological study of the samples 40 tibias were considered. Fifteen samples were excluded of physiological control due to economic factors; besides, there was prior knowledge within the line of research of the normal physiology of the animal model selected. Also, 5 samples of right tibias were excluded due to presence of bone callus.

Once the samples were obtained, paraffin embedding was carried out and the corresponding cuts were made. The cuts were analyzed with light microscopy according to Castillo's modified scale,¹¹

taking into account the following indicators: Foreign body, granulation tissue, osteoblasts, osteoid formation, and osteocytes and mature bone. The cuts were evaluated according to the amount of cells observed by field as follows: absent (0), scarce (< 5), moderate (5-10), and abundant (> 10). The level of bone regeneration was then established as level I (25%), level II (50%), level III (75%), and level IV (100%) (Figure 2).

The results were analyzed comparing the two experimental groups (each representing a type of HA material) plus the physiological control present in each group. The data were analyzed using basic descriptive statistics and frequency distribution. The SPSS statistic program for Windows, version 2.0, was used for data processing.

RESULTS AND DISCUSSION

The analysis of histological cuts at the third week showed that most samples in both groups were located at level II of bone regeneration (BR level II), with presence of granulation tissue and certain areas of osteoid mineralization. However, FOULA HA reached BR level III in 60% of samples, with spots of osteoid mineralization in comparison with coralline HA, whose percentage was similar, but located at BR level II (Figure 3).

The presence of granulation tissue agrees with results by Harms,¹² who argues that the presence of blood vessels provides adequate blood supply in the affected area, a prior step to cellular activity. This finding points to a balance between bone resorption and bone formation during the remodeling process after implantation of biomaterials. New osteoid matrix formation and moderate neovascularization were observed around the HA particles within the defect.

It was also possible to determine that the use of FOULA HA has a positive influence on the BR process, since at the third week post-implantation the samples evaluated reached BR Level III, whereas the tibias that remained free of biomaterial were at BR level II. In these samples the presence of granulation tissue was observed, with poor formation of blood vessels, in agreement with Liao et al.,¹³ where in the control group the area of the defect remained remarkably filled with blood vessels and inflammatory infiltrate, while only a minor formation of new bone was observed at the edge of the defects.

At the sixth week, histological cuts of the right tibias belonging to both experimental groups showed predominance of osteoblastic cells and focal areas of osteoid formation (BR level III).

All the right tibias in group A were analyzed, since no bone callus formation was presented in any of them, so 100% (5/5) of the samples reached BR level III, whereas in group B one tibia was excluded due to the presence of bone callus, so 80% (4/5) of the samples reached BR level III. On the other hand, the number of left tibias considered for both sub-groups was reduced due to bone callus formation, so a considerable percentage of the samples, 40% (2/5) in group A and 60% (3/5) in group B, were excluded (Figure 4).

At six weeks, a gradual increase in the percentage of regeneration was observed in both experimental groups, with higher number of osteocytes evident in the samples studied, and a decrease in the number of osteoblasts per field, which indicates maturation of the previously formed osteoid matrix.

In addition, the presence of few osteoclastic cells was evident in both experimental groups in the samples corresponding to the right tibias. Like Harms¹² and Yepez et al.,¹⁴ we found that at six weeks begins an alternating process of bone apposition and resorption for bone adaptation. Similarly, our results in this evaluation period agreed with those of Martinez et al.,¹⁵ who found in the experimental group at 30 days postoperative a process of active regeneration characterized by the resorption of the edges of the defect and the presence of osteoblasts in the center of the injury.

On the other hand, in some of the samples of left tibias the formation of fibrous connective tissue was observed, coinciding with results by Harms.¹² Also, Martinez et al.¹⁵ obtained similar results in the tibias of the control group, noting resorption of the edges of the defect and chondroid tissue in its center, as well as collagen and fibroblasts with osteoid tissue formation, characterized by the greater number of osteoblasts and less number of osteocytes.

Noteworthy, coralline HA reached BR level III at six weeks, while FOULA HA reached this level at 3 weeks and maintained it up to the ninth post-surgical week.

In the last evaluation period, at nine weeks post-operative, a predominance of osteoid mineralization focal areas with a large number of osteoblastic cells was observed, filling most of the defect. This growth was classified as BR level III in both experimental groups.

However, in 80% of histological cuts corresponding to the right tibias of group B mature bone formation was evident placing them at BR level IV with mineralization of much of the bone defect, similar to healthy bone. With regard to the left tibias, the number of samples studied was reduced, since 40% of the tibias of group B (2/5) had bone callus. Nonetheless,

focal areas of osteoid mineralization were observed in the samples, which were classified as BR level III (Figure 5). In their research, Nitin et al.¹⁸ obtained similar results in the evaluation period at the seventh and tenth postoperative week. They noted in the experimental group that granulation tissue migrated from the periphery to the central region of the scaffold construct. They also observed that previously formed bone structures grew and began to connect, thus increasing the amount of newly formed bone.

At the ninth week of study, the presence of Haversian canals already formed was observed in the samples of group B. This is consistent with the study by Xiong et al.,¹⁶ where the amount of new bone and calcium crystals increased at 4-8 weeks, resulting in continuous maturation of the new bone. Our results agreed also with those of Dominguez et al.,¹⁷ where at eight weeks post-operative an extracellular matrix of granulation tissue was observed in the control group, with a small number of osteocytes in comparison with the group that received the biomaterial. In our study, an extracellular matrix made up of mature osteocyte sheets was observed in the experimental group.

The cavity left after a surgical treatment should preferably be filled with materials of autologous origin, so that the stem cells carry out the osteoinduction and osteoinduction processes, thus ensuring the appropriate morphology and bone density in the defect area. Yet, this treatment is limited due to availability or insufficient amount of material, morbidity of the donor area, and uncontrolled resorption.^{2,18,19} As a result, various biomaterials –including HA– are currently offered on the market for guided bone regeneration.

In this study, a concordance relationship was established in the percentage of attained BR using a biomaterial. We showed that HA is an excellent material for osteoconduction. When implanted in bone defects of experimental animals, it acts as a filler and scaffold to accelerate cellular activity for BR, demonstrating excellent results in terms of tolerance, biocompatibility, and osteointegration. HA also acts as a barrier to prevent soft tissue intussusception.^{7,20,21} However, it is recommended to combine HA with other biomaterials to achieve better results.^{5,22-24}

CONCLUSION

FOULA HA was shown to be effective in the BR process in defects created in tibias of BIOU: Wistar rats. It promotes the formation of new bone in less time, as compared with physiological regeneration. Furthermore, FOULA HA accelerated BR at the first evaluation period (3 post-surgical

weeks) in comparison with the physiological and the commercial controls.

Lastly, a marker such as Chinese ink should be used to delimit the area of the bone defect in order to facilitate its location during histopathological evaluation.

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Suárez D. Principios básicos en regeneración ósea guiada. *Acta Bioclínica*. 2012; 2 (3): 89-116.
2. López M, Kitrilakis A, Carbone C. Desarrollo y evaluación in vivo de un biomaterial a base de sulfato de calcio para regeneración ósea. 2007; Disponible en: http://www.presi.unlp.edu.ar/secyt/cyt_html/ebec07/pdf/lopezm.pdf.
3. Simion M, Fontana F, Rasperini G, Maiorana C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clin Oral Implants Res*. 2007; 18 (5): 620-629.
4. Peral B, Redondo L, Verrier A, Serrat A, Torres M, Vaquero C. Estudio experimental sobre la regeneración ósea mandibular de la rata con diferentes biomateriales. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac*. 2008; 30 (5): 313-323.
5. Velazco G, González A, Ortiz R, Yépez J. Membranas tridimensionales de Hidroxiapatita y Quitosano como terapéutica en regeneración ósea guiada. Estudio de caso. *Rev Venez Invest Odont IADR*. 2014; 2 (1): 27-34.
6. Pilloni A, Pompa G, Saccucci M, Di Carlo G, Rimondini L, Brama M, Zeza B, Wannenes F, Migliaccio S. Analysis of human alveolar osteoblast behavior on a nano-hydroxyapatite substrate: an *in vivo* study. *BMC Oral Health*. 2014; 14 (22): 14-22.
7. Yépez J. *Estudio comparativo de la regeneración ósea con tres tipos de hidroxiapatita: análisis ultra estructural en ratas Sprague Dawley*. [Tesis de Maestría]. Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes; 2014.
8. Liuyun J, Chengdong X. Preparation and biological properties of a novel composite scaffold of nano-hydroxyapatite/chitosan/carboxymethyl cellulose for bone tissue engineering. *J Biomed Sci*. 2009; 16 (65): 1-10.
9. Gleeson J, Plunkett N, O'Brien F. Addition of hydroxyapatite improves stiffness, interconnectivity and osteogenic potential of a highly porous collagen-based scaffold for bone tissue regeneration. *Eur Cell Mate*. 2010; 4 (20): 218-230.
10. Díaz A, Fonseca M, Covo E. Injerto de tejido conectivo subpediculado con utilización de hidroxiapatita para aumento de reborde alveolar: reporte de un caso. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud*. 2008; 5 (1): 48-55.
11. Castillo L. *Efectividad del plasma rico en plaquetas sobre la regeneración ósea: estudio en animales de laboratorio*. [Tesis de Maestría]. Mérida-Venezuela. Universidad de los Andes; 2009.
12. Harms C, Helms K, Taschner T, Stratos I, Ignatius A, Gerber T, Lenz S et al. Osteogenic capacity of nanocrystalline bone cement in a weight-bearing defect at the ovine tibial metaphysis. *Int J Nanomedicine*. 2012; (7): 2883-2889.
13. Liao L, Yang S, Miron, Wei J, Zhang Y, Zhang M. Osteogenic Properties of PBLG-g-HA/PLLA Nanocomposites. *PLoS One*. 2014; 9 (9): e105876.
14. Yépez J, Ortiz R, Velazco G, González A. Resultados de la osteointegración con hidroxiapatita coralina tratada térmicamente: análisis ultraestructural en ratas Sprague Dawley. *Acta Bioclínica*. [Versión en línea] 2015. 5 (10): 125-139.

15. Martínez M, Pacheco A, Vargas M. Evaluación histológica de biocompatibilidad y bioconducción del compuesto hidroxiapatita-lignina implantado en tibia de conejos. *Rev MVZ*. 2009; 14 (1): 1624-1632.
16. Xiong Y, Ren C, Zhang B, Yang H, Lang Y, Min L, et al. Analyzing the behavior of a porous nano-hydroxyapatite/polyamide 66 (n-HA/PA66) composite for healing of bone defects. *Int J Nanomedicine*. 2014; 9: 485-494. Available in: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3894953/>.
17. Domínguez A, Villaseñor C, Villegas F, León B, Piña C. Descripción histológica de la regeneración ósea en cresta iliaca de conejos implantados con Nukbone a las 4, 8, 12 y 16 semanas. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria*. 2007; 6 (6): 88-95.
18. Nitin S, Alok K., Deepak G, Kainat K, Dhirendra S, Bhushan P, Vivek P, Naibedya C, Alok D, Jayesh R. *PLoS One*. 2013; 8 (10): e77578.
19. Jaramillo C, Rivera J, Echavarría A, O'Byrne J, Congote D, Restrepo L. Comparación de las propiedades de osteoconducción y osteointegración de una hidroxiapatita reabsorbible comercial con una hidroxiapatita reabsorbible sintetizada. *Rev Colomb Cienc Pecu*. 2009; 22 (2): 117-130.
20. Meseguer L, Alcaraz M, Vicente V, Clavel-Sainz M, Galian A. Respuesta ósea al implante del compuesto beta-fosfatotricálcico-colágeno (β -FTC-C). Estudio «in vivo» en conejos. *Rev Esp Cir Osteoart*. [Versión en línea] 1994; 29: 125-132.
21. Téllez J, Guerrero A, Torres B. Estudio de hidroxiapatita natural vs sintética en su aceptación biológica y eficacia regenerativa ósea en modelos animal. *Oral*. 2009; 32 (10): 533-536.
22. Quintana J, Gonzalez R, Quintana M. Resultados de 15 años empleando la Hidroxiapatita Coralina® HAP-200 como implante óseo en cirugía maxilofacial. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*. 2010; 41: 1-9. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1816/181620500016.pdf>.
23. Sagar N, Pandey AK, Gurbani D, Khan K, Singh D, Chaudhari BP, et al. *In-vivo* efficacy of compliant 3D nano-composite in critical-size bone defect repair: a six month preclinical study in rabbit. *PloS One*. 2013; 8 (10): e77578.
24. Oryan A, Parizi A, Sarvestani Z, Bigham A. Effects of combined hydroxyapatite and human platelet rich plasma on bone healing in rabbit model: radiological, macroscopical, histopathological and biomechanical evaluation. *Cell Tissue Bank*. 2012; 13 (4): 639-651.

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Vanessa Pineda
E-mail: pinedaava@gmail.com



Mecanismos inflamatorios en la destrucción periodontal

Diana Laura Solís-Suárez,* Isaac Obed Pérez-Martínez,§ Ana Lilia García-Hernández*

* Laboratorio de Investigación Odontológica. Sección Inmunidad Oral y Regulación Ósea, FES Iztacala,

§ Laboratorio de Investigación Odontológica. Sección Neurobiología de las Sensaciones Orales, FES Iztacala.

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

RESUMEN

La enfermedad periodontal se inicia por la presencia de bacterias. Sin embargo, la inflamación es la principal causa de su cronicidad y la destrucción de los tejidos periodontales, principalmente del hueso alveolar que conduce al edentulismo. Los mecanismos que llevan a la destrucción de los tejidos incluyen el incremento no regulado de mediadores inflamatorios y alteraciones en los mecanismos de resolución de la inflamación. El carácter silencioso e indoloro de la patología ocasiona que el padecimiento sea ignorado permitiendo su evolución a cuadros crónicos y severos, por lo que su incidencia es alta. La presente revisión describe los mecanismos moleculares y celulares de la inflamación durante el progreso de la EP, así como su participación en la destrucción de los tejidos de soporte. El conocimiento de la patogénesis de la EP con base en la inflamación crónica podría brindar opciones terapéuticas novedosas para la reducción de la EP y sus repercusiones.

Palabras clave: Enfermedad periodontal, citocinas periodontales, resolución de la inflamación, inmunología periodontal.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad periodontal (EP) se puede definir de forma integral como un grupo de alteraciones complejas de carácter inflamatorio e infeccioso que afectan al periodonto,¹ y que en estados avanzados resulta en la destrucción de los tejidos de soporte del diente. La EP es la segunda patología más común de la cavidad oral precedida por la caries dental. A pesar de que se han realizado grandes esfuerzos por determinar las poblaciones que padezcan algún tipo de enfermedad periodontal, aún no existen cifras epidemiológicas exactas debido a que la mayoría de los estudios no usan muestras representativas y difieren en los parámetros de evaluación;²⁻⁴ sin embargo, se estima que 90% de la población mundial ha padecido algún tipo de EP.^{5,6} Durante el estudio *The Global Burden of Disease* que evaluó distintas enfermedades crónicas durante los años 1990, 2005 y 2010, se catalogó a la periodontitis severa como la sexta enfermedad en cabeza y cuello más común y la segunda enfermedad dental con mayor prevalencia en adultos.^{7,8}

Por lo general se han descrito dos grupos principales de enfermedad periodontal: gingivitis y periodonti-

tis. La primera es considerada un estado inicial de inflamación en las encías, limitada a los tejidos blandos adyacentes al diente y que con un plan de tratamiento adecuado es posible revertirla, mientras que la segunda se refiere a la inflamación crónica de los tejidos de soporte del diente que resulta en la degradación de hueso alveolar, del cemento radicular, la destrucción de inserción de las fibras de ligamento periodontal y finalmente, la pérdida de los órganos dentarios.⁹ Aunque la gingivitis y la periodontitis inducidas por la presencia de biofilm son las formas más frecuentes de enfermedad periodontal, existen otros factores que complementan su diagnóstico.¹⁰

El sistema de clasificación para el diagnóstico de enfermedades periodontales que se usa en la actualidad se propuso en el año 1999 durante el Taller Internacional para la Clasificación de la Enfermedad Periodontal y fue aprobado por la Academia Americana de Periodoncia.¹¹ Al contrario de las ediciones anteriores, en esta clasificación se introdujo un apartado para las enfermedades gingivales, se discontinúa el uso de términos relacionados a la edad y la velocidad de progresión de la enfermedad periodontal, se agregó un apartado para enfermedades necrotizantes en el que se encuentran tanto la periodontitis como la gingivitis, se añadieron categorías separadas para abscesos del periodonto y enfermedades asociadas a lesiones endodónticas. Además, se toma en consideración la periodontitis como una manifestación de distintas alteraciones sistémicas. Con las modificaciones realizadas se disminuyó la dificultad para establecer a qué grupo pertenece realmente el padecimiento de cada

Recibido: Octubre 2017. Aceptado: Junio 2018.

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



paciente, ya que esta clasificación ofrece un criterio más amplio y conciso.^{10,12}

ETIPATOGÉNESIS

El inicio y desarrollo de la EP son originados por organismos patógenos tales como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* y *Actinobacillus actinomycetemcomitans*,^{13,14} que tienen la capacidad de multiplicarse y persistir en el periodonto. El aumento de bacterias provoca la activación de la respuesta inmunitaria inflamatoria y que, de no resolverse, se convierte en un proceso crónico. En conjunto, la infección y la inflamación conllevan al deterioro de los tejidos periodontales. Hoy en día se sabe que la prevalencia y agravamiento de la EP se debe a factores adicionales como la genética, el estado inmunológico del paciente, problemas hormonales, enfermedades sistémicas como la diabetes o patologías cardiovasculares, el tipo de dieta, tabaquismo y elementos sociodemográficos. Todos estos factores también se consideran determinantes para promover la inflamación y destrucción periodontal.^{8,15,16}

La respuesta inicial a nivel local ante la presencia de bacterias y sus productos activa la inmunidad innata, lo cual resulta en la liberación de altas concentraciones de citocinas, quimiocinas, óxido nítrico (ON), prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX), leucotrienos (LT) y la activación de metaloproteasas de matriz (MMPs). Todos estos mediadores son sintetizados por células epiteliales, leucocitos, linfocitos y fibroblastos de los tejidos gingivales^{17,18} y por lo tanto, provocan inflamación periodontal.

Bajo condiciones de salud normales, la inflamación entra a un ciclo de resolución programado¹⁵ cuyo objetivo es delimitar la zona de daño, eliminar el agente patógeno de forma local, limpiar la zona y posteriormente echar a andar mecanismos de resolución de la inflamación, enfocada a la reparación de los tejidos dañados y el restablecimiento de la fisiología periodontal.¹⁹⁻²¹ En el caso de la periodontitis, en la que prevalece la inflamación y se convierte en crónica, se sabe que existe una falta de regulación o disfunción en las vías de resolución de la inflamación, por lo que se agrava la destrucción de los tejidos periodontales.²²

INFLAMACIÓN PERIODONTAL

Con base en las características clínicas e histológicas que se observan durante la enfermedad periodontal, Page y Schroeder describieron el avance de la inflamación periodontal, el cual se puede dividir en cuatro etapas: lesión inicial, lesión temprana, lesión

establecida y lesión avanzada.^{22,23} En esta revisión partimos de esta división para describir los mecanismos inflamatorios que intervienen en el desarrollo de la enfermedad periodontal y la destrucción de los tejidos (Figura 1).

Lesión inicial. En el periodonto, el primer tejido que tiene contacto con las bacterias potencialmente patógenas es el epitelio gingival, que por sus características proporciona una barrera de defensa.²⁴ Además, las células epiteliales son capaces de producir y secretar péptidos antimicrobianos como las defensinas y citocinas inflamatorias como la IL-1, IL-6, TNF- α ante el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) por los receptores tipo Toll (TLRs).²⁵

El epitelio gingival ante un daño tisular o bacterias patógenas es capaz de iniciar la respuesta inflamatoria (Figura 1B).

Inmersas en el epitelio se encuentran las células de Langerhans, son células dendríticas muy reactivas a la acumulación de bacterias de la placa dentobacteriana.²⁶ Se encuentran orientadas con sus dendritas hacia la superficie bucal con el objetivo de captar antígenos mediante receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) y procesarlos. En estadios tempranos de la enfermedad periodontal, las células de Langerhans migran cerca de la agresión en la gingivitis, cuando la gingivitis se convierte en crónica, estas células migran hacia capas más profundas en el tejido hacia la lámina propia, donde pueden pasar el antígeno a otras células dendríticas plasmacitoides, y éstas a su vez viajan por los vasos linfáticos al nódulo linfático más cercano para presentar el antígeno a los linfocitos.²⁷

Lesión temprana. La respuesta inflamatoria propiamente dicha se lleva a cabo en la lámina gingival, es decir, en el tejido conectivo, donde radican los macrófagos que se activan por las citocinas provenientes del epitelio y sintetizan más citocinas, prostaglandinas y quimiocinas.²⁰ En el tejido conectivo encontramos además células cebadas que se degranulan en respuesta a estímulos bacterianos, liberando histamina,²⁸ un vasodilatador potente que induce cambios vasculares, que junto con las citocinas y con la prostaglandina E2 (PGE2)²⁹ activan a las células endoteliales para que expresen selectinas y cadherinas. Esto permite la salida de células polimorfonucleares del torrente sanguíneo al tejido conectivo. En su mayoría y por su abundancia, neutrófilos.³⁰

Los neutrófilos actúan rápidamente ante la formación de nichos bacterianos en la lengua, la superficie de los dientes y en la mucosa periodontal, contienen una batería amplia de PRRs como los TLRs, receptores tipo NOD, receptores de lectina (CLR) y basure-

ros, que al unirse a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y patrones moleculares asociados a daño (DAMPs) inducen su activación para la fagocitosis o la formación de NETs.^{25,26}

Los mediadores proinflamatorios liberados por las células epiteliales, los macrófagos, las células cebadas y los polimorfonucleares, en especial la IL-1 IL-6, IL-8 y el TNF- α e histamina, amplifican la inflamación,

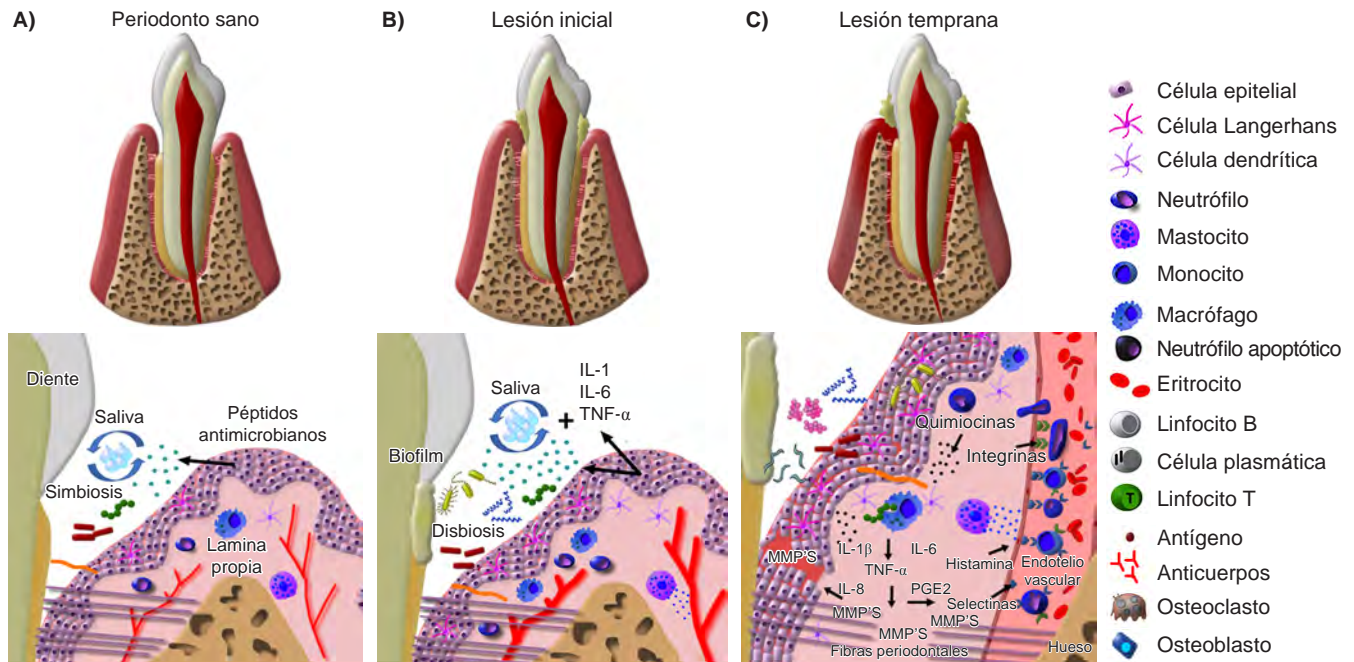
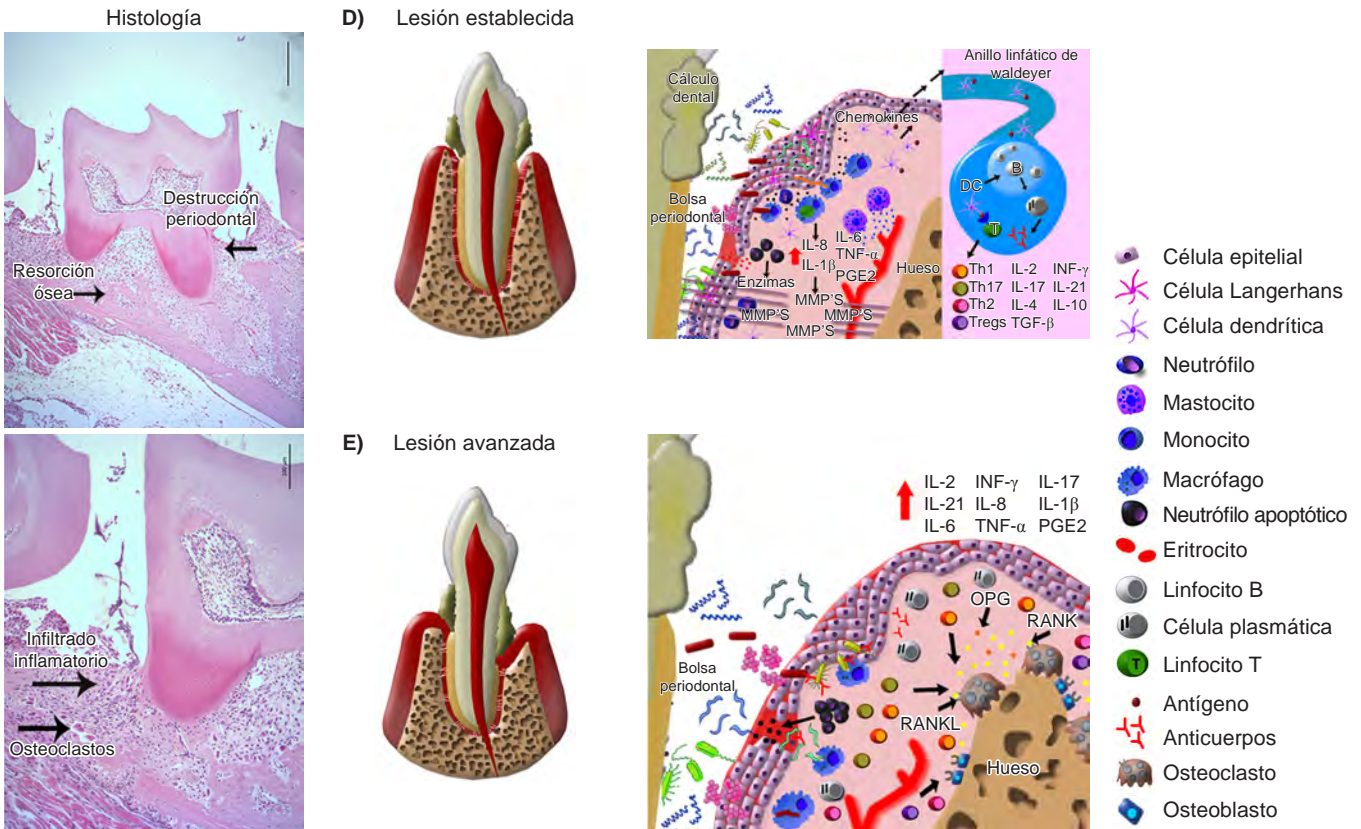


Figura 1: Progresión de la EP, se resaltan sus características clínicas e histológicas. **A)** Periodonto sano con microbiota normal. El epitelio gingival y la saliva producen péptidos antimicrobianos como barrera de defensa. Algunas células de defensa mantienen la homeostasis. **B)** La formación de la placa ocasiona una disbiosis entre las bacterias comensales y patógenas. Las células epiteliales producen mayores cantidades de péptidos e inician la producción de citocinas proinflamatorias, mientras que las células cebadas liberan histamina para causar vasodilatación y las células de Langerhans tratan de capturar el antígeno. En esta fase, aún no se observan cambios clínicos significativos. **C)** La histamina activa el endotelio vascular para la expresión de selectinas e integrinas y promover el tránsito de fagocitos hacia el sitio de la lesión gracias a la atracción de las quimiocinas. Los macrófagos producen grandes cantidades de citocinas, PGE₂ y MMPs, responsables de la degradación de los tejidos. Clínicamente se aprecia edema y eritema gingival. **D)** Las células dendríticas viajan a los nódulos linfáticos más cercanos para la presentación de antígeno. La diferenciación de la respuesta Th1 y Th17 se da principalmente mientras que los linfocitos B maduran células plasmáticas productoras de anticuerpos específicos. En este punto la muerte masiva de neutrófilos contribuye a la diseminación de enzimas degradantes, además de que el sistema inmunológico es incapaz de contrarrestar la carga bacteriana y la inflamación no se resuelve. Los cambios clínicos incluyen: formación de la bolsa periodontal y sangrado. **E)** La respuesta Th1 y Th17 causa un desbalance en el metabolismo óseo que favorece la unión del sistema RANK-RANKL y subsecuentemente, la activación de osteoclastos para la resorción del hueso alveolar. La inflamación se perpetúa y se forma tejido de granulación.

Progression of periodontal disease, clinical and histological characteristics: A) Healthy periodontium with normal microbiota. The gingival epithelium and saliva produce antimicrobial peptides as defense barrier. Some defense cells maintain homeostasis. B) The formation of the dental plaque causes dysbiosis between commensal and pathogenic bacteria. Epithelial cells produce higher amounts of peptides and initiate the production of pro-inflammatory cytokines, while mast cells release histamine to cause vasodilation and Langerhans cells try to capture the antigen. At this stage, no significant clinical changes are yet observed. C) Histamine activates the vascular endothelium for the expression of selectins and integrins and promotes the trafficking of phagocytes to the site of the injury by attracting chemokines. Macrophages produce large amounts of cytokines, PGE₂ and MMPs, responsible for tissue degradation. Clinically, edema and gingival erythema are observed. D) Dendritic cells travel to the nearest lymph nodes for antigen presentation. Differentiation of TH1 and TH17 response occurs while B lymphocytes mature plasma cells producing specific antibodies. At this point the massive death of neutrophils contributes to the spread of degrading enzymes; in addition, the immune system is unable to counteract the bacterial load and inflammation remains unresolved. Clinical changes include periodontal pocket formation and bleeding. E) The TH1 and TH17 response causes an imbalance in bone metabolism that favors the binding of RANK-RANKL and subsequent activation of osteoclasts for the resorption of alveolar bone. Inflammation is perpetuated and granulation tissue forms.



Continúa la figura 1.

lo que provoca la activación de MMPs responsables de la degradación del tejido conectivo de la encía y ligamento periodontal.³¹ Las células epiteliales, debido a su tasa de proliferación rápida, proliferan apicalmente hacia la superficie radicular, aumentando la profundidad de las bolsas periodontales y creando un ambiente idóneo para la supervivencia de bacterias anaerobias.^{14,32} Se calcula que de 60 a 70% del colágeno de los tejidos gingivales ha sido degradado durante esta reacción, pero el hueso alveolar aún está intacto y aún es reversible (*Figura 1C*).

En esta etapa de la EP, la vasta respuesta inflamatoria es capaz de eliminar y neutralizar los agentes nocivos que iniciaron la agresión, lo que lleva a la producción de moléculas antiinflamatorias y reguladoras de la inflamación como la IL-10, la prostaglandina D2 (PGD2), lipoxinas y resolvinas, entre otras, que llevan a la resolución exitosa de la inflamación. El fracaso de este proceso conduce inevitablemente a la inflamación crónica, la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa²¹ y al desarrollo de la periodontitis crónica de forma irreversible.

Diversos estudios se han enfocado a investigar los mecanismos que llevan al fracaso de la resolu-

ción de la inflamación y el desarrollo de la inflamación crónica.

En este sentido, se ha observado que los neutrófilos pueden tener un papel dual en la inflamación, ya que pueden actuar como efectores netos antimicrobianos durante la inflamación aguda, pero también pueden activar o suprimir la actividad de otros leucocitos de la respuesta innata y adaptativa. Ejemplo de ello es la producción del factor de crecimiento transformante β -1 por parte de los neutrófilos que disminuye la capacidad de activación de los macrófagos. Los neutrófilos también producen el factor estimulador de linfocitos B (BLYS) y del ligando inductor de proliferación (APRIL), que aumentan la supervivencia y proliferación de linfocitos B así como su maduración hacia células plasmáticas.³³ Por lo tanto, se considera que los neutrófilos no sólo pueden contribuir a controlar el estado inflamatorio, sino además a promover su evolución o cronicidad.

En la EP se sabe que el número de neutrófilos es elevado y que tienen una vida media más larga, al mismo tiempo, la función y actividad de los neutrófilos se encuentra alterada, ya que se ve afectada su capacidad de adhesión, su respuesta ante la quimiotaxis

o en la fagocitosis.³⁴ La explicación a este fenómeno es que ante la constante interacción de los neutrófilos con bacterias y sus productos, éstos mueren en grandes cantidades. La acumulación y muerte masiva de estas células es una de las principales causas de degradación de los tejidos durante la periodontitis, debido a que sus gránulos citoplasmáticos contienen varias enzimas que al ser liberadas degradan los elementos estructurales de los tejidos y la matriz extracelular.³⁵

Además, la incapacidad de los neutrófilos y macrófagos para neutralizar agentes patógenos lleva a la cronicidad de la inflamación y la activación de la inmunidad adaptativa.

También se ha señalado que las deficiencias inmunológicas son causantes de la inflamación crónica, por ejemplo, la enfermedad granulomatosa crónica ocasionada por una infección severa y prolongada resulta de la inhabilidad de las células fagocíticas para producir superóxido debido a un daño en la NADPH oxidasa, esto provoca una predisposición de infecciones bacterianas y fúngicas recurrentes,³³ otro ejemplo son los polimorfismos de las citocinas proinflamatorias como la IL-6, la IL-1 o el TNF α que provocan la ampliación de la inflamación.³⁶

Lesión establecida. En esta etapa las células dendríticas viajan al nódulo linfático más cercano y presentan el antígeno a los linfocitos T con el TCR específico para tal antígeno.³⁷ Como respuesta, los linfocitos proliferan de forma clonal dando lugar a la respuesta inmunitaria celular dependiendo de la respuesta T ayudadora (TH): Th1, Th2, Th17 o T reguladoras (Treg)³⁰ (Figura 1D). Su importancia en el desarrollo de la periodontitis aún no es del todo clara ni el momento en el que participan cada una de estas respuestas. Los linfocitos Th1 y Th17 son importantes en las primeras etapas de la periodontitis crónica, mientras que los linfocitos Th2 son relevantes en etapas posteriores.²⁴ Los linfocitos T, especialmente los T CD4+, desempeñan un papel esencial para discriminar entre organismos dañinos y no dañinos, los subtipos Th1 y Th17 promueven el desarrollo del proceso inflamatorio^{25,38} de forma que, en vez de reparar los tejidos, tienen el potencial para estimular la producción de citocinas proinflamatorias y la osteoclastogénesis, causantes del progreso de la periodontitis.^{37,39}

En los últimos años se ha descrito que los subtipos de células Th17 y Treg se encargan de balancear la respuesta inmunitaria, ya que son antagonistas con función efectora y supresora respectivamente.^{22,35} Las células Th17 están involucradas en diversas enfermedades de tipo autoinmune y desórdenes inflamatorios. En la enfermedad periodontal se ha observado un in-

cremento en la producción de la IL-17, falta determinar el mecanismo mediante el cual se origina y su contribución en la destrucción periodontal.⁴⁰ Por otro lado, las Tregs tienen la capacidad de inhibir la activación, proliferación de linfocitos T y producción de anticuerpos de los linfocitos B.³⁹ Varias investigaciones han demostrado que los Treg se acumulan en los tejidos gingivales durante la enfermedad periodontal en seres humanos y en modelos experimentales y ayudan a proteger al huésped contra la inflamación dañina.⁴¹

En otras investigaciones se ha señalado que las células dendríticas son responsables de la cronicidad de la inflamación. Esto debido a que se han identificado diferentes poblaciones de células dendríticas capaces de regular la respuesta inflamatoria por medio de la producción de ácido retinoico, TGF β e IL-10, lo que genera linfocitos T reguladores (Treg) encargados de suprimir la activación de linfocitos T iniciada por estímulos débiles y la retroalimentación de la magnitud de la respuesta mediada por los linfocitos Th efectoras.⁴⁰ Sin embargo, aún no se ha establecido el rol específico de las células dendríticas reguladoras durante la EP.

Aunque la activación y maduración de células B es un paso importante para la respuesta mediada por anticuerpos, aún no se comprende bien la transición de la lesión establecida dominada por células T hacia una lesión avanzada en la que predominan las células B.

Lesión avanzada. Los linfocitos B en conjunto con las células plasmáticas se acumulan en las paredes del surco o de las bolsas periodontales para producir inmunoglobulinas específicas contra los antígenos y así promover la fagocitosis.⁴² Por último, los tejidos afectados por la periodontitis son colonizados por ambos tipos de linfocitos, siendo los linfocitos B los que se encuentran en mayor proporción.⁴³ Hasta ahora se sabe que, en el caso de la periodontitis severa, los linfocitos B también pueden ser considerados células presentadoras de antígeno o pueden propiciar la presentación de antígeno, por lo que se ha sugerido que aumentan la activación y expansión clonal de los linfocitos T; sin embargo, aún no se ha establecido su función específica.^{9,42} Los linfocitos T y B además tienen una participación significativa en la producción de RANKL, al unirse al RANK en los osteoclastos los activa, lo cual ocasiona la destrucción de hueso alveolar^{43,44} (Figura 1E).

La inflamación crónica severa conduce a la resorción ósea alveolar osteoclástica. Las citocinas y prostaglandinas producidas por los leucocitos inducen en los linfocitos T, B y en los osteoblastos la producción de RANKL, que al unirse a su receptor RANK en los precursores osteoclasteoclastos, inducen su maduración o la activación de los osteoclastos ya formados.²² La resorción ósea alveolar que comienza con

el aplanamiento de la cresta alveolar (pérdida ósea horizontal), conforme existe un avance más severo de la lesión se expande apicalmente (pérdida ósea vertical), también se provoca la degradación de las fibras del ligamento periodontal por la activación de las MMPs y la formación de tejido de granulación. Esta situación persiste hasta que el diente se queda sin tejidos de soporte y se exfolia o hasta que se eliminan las bacterias y se remueve el tejido de granulación.²⁶

MOLÉCULAS INFLAMATORIAS INVOLUCRADAS EN LA DESTRUCCIÓN PERIODONTAL

Está claro que la respuesta inmunitaria desequilibrada y agresiva que subyace a la patogénesis de la enfermedad periodontal es una causa importante de la destrucción de los tejidos. El conocimiento de las moléculas inflamatorias que participan en la destrucción periodontal puede llevar al diseño de terapias que puedan regular su actividad.

Citocinas

Las citocinas son proteínas⁹ liberadas principalmente por macrófagos y linfocitos T.⁴⁵

La participación de las citocinas es fundamental en la inflamación. Su regulación está dada por la presencia de citocinas de tipo proinflamatorio vs. antiinflamatorio, aunque algunas pueden tener ambas propiedades.⁴⁶

Durante múltiples estudios en pacientes con gingivitis o periodontitis se identificó un desbalance entre estas citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias en el líquido crevicular gingival, siendo más abundantes las de tipo proinflamatorio como la IL-1 β , IL-6, TNF α .⁴⁷ Las citocinas proinflamatorias actúan en conjunto activando otras proteínas que participan en la destrucción de los tejidos periodontales como las MMPs, mientras que las antiinflamatorias inhiben estos mecanismos.

La participación de citocinas proinflamatorias incluye principalmente la IL-1 β , responsable de la activación de osteoclastos a través de la vía RANKL/OPG.¹⁹ Ésta también es capaz de alterar la adherencia de los neutrófilos, así como los procesos de quimiotaxis y fagocitosis.⁴⁸ También se le ha relacionado con el incremento de TNF- α , producido por monocitos y macrófagos.²²

El TNF- α afecta la migración celular mediante el aumento de las moléculas de adhesión para los neutrófilos. De esta manera se acumulan grandes cantidades de fagocitos durante la periodontitis.¹⁹ Por otra parte, el TNF- α estimula la producción de quimiocinas, citocinas (IL-6) y prostaglandinas (PGE2) causantes de la degradación de la matriz extracelular, la resorción ósea y la inhibición de la síntesis de colágena.^{9,49}

La IL-6 se encarga de regular la síntesis de PGE2,²⁵ contribuye a la diferenciación y proliferación de linfocitos B y macrófagos,⁴⁹ induce la formación de osteoclastos y es un potente estimulador de la expresión de MMPs.⁴⁷

De forma similar, el INF- γ promueve la maduración de linfocitos B, la secreción de inmunoglobulinas⁹ y potencializa la presentación de antígeno. Diversas publicaciones han comprobado que también incrementa el TNF- α y la IL-1 β , que a su vez activan el sistema de resorción ósea por medio de la unión del RANK-RANKL los cuales están asociados con la periodontitis severa.

Como se mencionó con anterioridad, en años recientes la IL-17 ha ganado importancia debido a su contribución en la cronicidad de la inflamación en lesiones periodontales severas.⁵⁰ La IL-17 actúa directamente en la destrucción de los tejidos mediante la activación de células residentes del periodonto tales como fibroblastos y osteoclastos.²⁵

En contraste, las citocinas antiinflamatorias trabajan para promover la resolución de la inflamación. Por ejemplo, la IL-10 reduce la respuesta Th1 y aumenta la Th2, mientras que suprime la excesiva presencia de macrófagos además de que contrarresta a las MMPs y las vías de señalización del RANKL, limitando así la destrucción de los tejidos.⁹

Otro ejemplo es la IL-4 es un factor fundamental para regulación inmune negativa por medio de la inhibición de la diferenciación de las respuestas Th1 y Th17,⁴⁷ lo que evita las funciones de citocinas proinflamatorias como el TNF- α y la IL-1 β . Las MMPs y el RANKL también son atenuados por la IL-4.¹

Quimiocinas

Son pequeñas proteínas de la superfamilia de las citocinas, ligadas a la heparina, con acción quimiotáctica, pueden ser sintetizadas por células mesenquimales, endoteliales, epiteliales y leucocitos. Tienen gran valor para la migración de células con función fagocítica hacia sitios de infección, tienen influencia también en procesos como la angiogénesis, apoptosis y metástasis tumoral.¹⁷

Las quimiocinas participan en la fisiología y patología del metabolismo óseo, ya que emiten señales esenciales para el tráfico y activación de osteoclastos y osteoblastos contribuyendo a la remodelación ósea.⁹

Prostaglandinas

Pertencen al grupo de lípidos conocidos como eicosanoides, derivadas del ácido araquidónico. Se ha reportado que durante la inflamación gingival se sintetizan grandes cantidades de prostaglandinas,

en especial la PGE2, la cual tiene una gran variedad de efectos proinflamatorios, ya que es causante del efecto llamarada y prurito mediante la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular, además es un potente estimulador de la resorción del hueso alveolar por medio de la inducción en la proliferación de osteoclastos.^{9,45}

Metaloproteasas de la matriz extracelular

Son enzimas degradantes de la matriz y de los componentes de la membrana, son producidos por células epiteliales, fibroblastos, células endoteliales, fagocitos y células plasmáticas. Se clasifican en colagenasas, gelatinasas, estromelisininas y matrilisininas dependiendo del sustrato y su estructura molecular. Están relacionadas a importantes procesos fisiológicos como el desarrollo del tejido, remodelación y cicatrización. En la periodontitis ha sido ampliamente demostrada su presencia en tejido periodontal inflamado y en fluidos orales mediante diferentes métodos analíticos.³⁵ Se ha identificado a las MMPs 8 y 9 producidas por neutrófilos como la principal causa de degradación del colágeno intersticial, por lo que contribuyen a la destrucción del tejido periodontal.⁹

Los mecanismos de activación de las MMPs varían dependiendo del tejido y del microambiente en específico. Durante la periodontitis, éstas pueden ser activadas por vía independiente o cascadas cooperativas que involucran proteasas producidas por bacterias y por el huésped.³¹

La excesiva producción de MMPs en el periodonto no sólo es degradante, además afecta el proceso de cicatrización de los tejidos.⁵¹

RANK, RANKL, osteoprotegerina

Actualmente, se ha aceptado que la disrupción en el balance de la actividad de los osteoblastos y osteoclastos por el incremento de productos bacterianos, y sobre todo de las moléculas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, TNF α y PGE2), constituye la principal causa de resorción ósea inducida por la inflamación periodontal.⁹

Durante la respuesta inflamatoria las citocinas pueden inducir la osteoclastogénesis aumentando la expresión del ligando para el factor NF κ B (RANKL) proveniente de los osteoblastos, que al unirse a su receptor RANK en monocitos y osteoclastos induce su diferenciación y activación, a la vez que disminuyen la expresión de osteoprotegerina (OPG), que es ligando señuelo de RANK. De esta forma se promueve la resorción ósea.¹⁸ Diversos estudios experimentales han probado que la cantidad de RANKL detectada en lí-

quido gingivo-crevicular de pacientes con periodontitis en progreso es significativamente mayor en comparación con lesiones de periodontitis inactiva. De ahí que este factor sea considerado como un marcador importante de la resorción ósea asociada a infecciones periodontales.³⁵

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La falta en la regulación de la inflamación y las fallas en los mecanismos de resolución de la inflamación son consideradas elementos esenciales en la etiopatogenia de la EP, por lo que es de vital importancia regular la inflamación y promover su resolución.

Primero debe tomarse en cuenta que la inflamación es un mecanismo de defensa para contener el daño y el uso continuo de AINES selectivos, como tratamiento periodontal puede inducir a inmunosupresiones además de otros efectos adversos.

En años recientes se ha expuesto a las lipoxinas como candidatos para disminuir la inflamación. Las lipoxinas son mediadores lipídicos producidos de forma endógena a través de la vía del ácido araquidónico. Otro ejemplo de moléculas antiinflamatorias son las resolvinas, protectinas y maresinas consideradas agonistas de la inflamación y que son sintetizadas a partir de ácidos grasos Omega-3, de los cuales se han reportado múltiples efectos benéficos para la resolución y control de la inflamación, ya que contribuyen a la resolución inflamatoria y a restaurar la homeostasis tisular, la eliminación de microorganismos y la reducción del dolor, por lo que evitan la cronicidad de la inflamación y permiten un proceso exitoso de cicatrización.⁵²

Los resultados de experimentos tanto en humanos como en modelos animales bajo el uso de estos agonistas para regular la inflamación de forma activa son prometedores.^{53,54} En la EP se ha observado que a través de la producción de moléculas antiinflamatorias se reduce el infiltrado celular de tipo inflamatorio, se incrementa la formación ósea y se acelera el proceso de curación.¹⁵ Es importante mencionar que estos agonistas no eliminan el proceso inflamatorio, sino que son agentes fisiológicos que aceleran la resolución y pueden mejorar la eliminación bacteriana.⁵⁵ Aún es necesario investigar los mecanismos de acción de estos mediadores lipídicos durante la EP, así como el desarrollo de estudios clínicos controlados para determinar su utilidad real.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses. Los autores son los únicos responsables del contenido y la escritura de la publicación.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue apoyada y financiada por PAPIIT IN223619 UNAM DGAPA.

Literature review

Mechanisms of inflammation in periodontal destruction

Diana Laura Solís-Suárez,* Isaac Obed Pérez-Martínez,[§] Ana Lilia García-Hernández^{||}

* Bachelor of Dental Surgery, Faculty of Higher Studies, Dental Research Laboratory. Oral Immunity and Bone Regulation Section.

[§] Associated Professor, Dental Research Laboratory. Neurobiology of Oral Sensations Section.

^{||} Associated Professor, Dental Research Laboratory. Oral Immunity and Bone Regulation Section.

FES Iztacala, National Autonomous University of Mexico (UNAM).

ABSTRACT

Periodontal disease (PD) is an alteration caused by bacteria, but inflammation is the main cause of chronicity and periodontal tissue destruction, mainly of alveolar bone, which may lead to edentulism. The mechanisms responsible for this destruction include non-regulated increase of inflammatory mediators and alterations in inflammation resolution pathways. Given the silent and painless character of this pathology, it is usually ignored, so it worsens and may reach severe stages. Hence, PD has a high prevalence. The present review describes the molecular and cellular mechanisms of inflammation in PD progress and the principal immune cells and molecules involved in periodontal destruction. A thorough knowledge of PD pathogenesis based on chronic inflammation could provide novel therapeutic alternatives to reduce PD and treatment shortcomings.

Keywords: Periodontal disease; periodontal cytokines; inflammation resolution; periodontal destruction; periodontal immunology.

INTRODUCTION

Periodontal disease (PD) can be defined as a group of inflammatory and infectious alterations that affect the periodontium¹ and may cause the destruction of the tooth supporting tissues in advanced stages. PD is the second most common pathology of the oral cavity preceded by tooth decay. Great efforts have been made to identify populations with some form of PD, but there are still no exact epidemiological figures because most studies do not use representative samples and differ in evaluation parameters.²⁻⁴ However, it is estimated that 90% of the world's population has had some form of PD.^{5,6} The Global Burden of Disease study, which has evaluated several chronic diseases

during the years 1990, 2005, and 2010, classifies severe periodontitis as the sixth most common head and neck disease and the second most prevalent dental disease in adults.^{7,8}

PD can be broadly divided into two main stages, namely gingivitis and periodontitis. The first is an initial state of inflammation in the gums, limited to the soft tissues adjacent to the tooth and reversible with an appropriate treatment, whereas the second refers to chronic inflammation of tooth support tissues resulting in degradation of alveolar bone and root cement, destruction of insertion of periodontal ligament fibers, and finally, tooth loss.⁹ Although gingivitis and periodontitis induced by the presence of biofilm are the most common forms of PD, there are other factors that complement the diagnosis of this condition.¹⁰

The classification system for the diagnosis of PD used today was proposed in 1999, at the International Workshop for the Classification of Periodontal Disease, approved by the American Academy of Periodontics.¹¹ In the 1999 classification, a section was introduced for gingival diseases, the use of age-related terms and rate of progression of PD was discontinued, a section was added for necrotizing diseases in which both periodontitis and gingivitis are found, and separate categories were added for periodontal abscesses and diseases associated with endodontic lesions. In addition, periodontitis was considered as a manifestation of various systemic alterations. The modifications made in 1999 lessened the difficulty of determining the stage of the patient's condition as this classification offers broader and more concise criteria.^{10,12}

ETIOPATHOGENESIS

The onset and development of PD is caused by pathogenic organisms including *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*^{13,14} that multiply and thrive in the periodontium. The increase in bacteria activates the inflammatory immune response which, if not resolved, becomes a chronic process. Overall, infection and inflammation lead to deterioration of periodontal tissues. Today we know that the prevalence and aggravation of PD is due to additional factors, such as genetics, the patient's immune status, hormonal problems, systemic diseases like diabetes or cardiovascular pathologies, type of diet, smoking, and sociodemographic characteristics. All these are also decisive for promoting inflammation and periodontal destruction.^{8,15,16}

At the local level, the initial response to the presence of bacteria and their products is the activation of innate immunity, resulting in the release of high concentrations of cytokines, chemokines, nitric oxide (NO), prostaglandins (PG), thromboxans (TX), leukotrienes (LT), and activation of matrix metalloproteinases (MMPs). All these mediators are synthesized by epithelial cells, leukocytes, lymphocytes, and fibroblasts of gingival tissues,^{17,18} and therefore cause periodontal inflammation.

In healthy individuals, inflammation enters a programmed resolution cycle¹⁵ aimed at limiting the damage zone, removing the pathogen locally, cleaning the area and then starting resolution mechanisms to repair damaged tissues and restore periodontal physiology.¹⁹⁻²¹ In the case of periodontitis, in which inflammation prevails and becomes chronic, there is a lack of regulation or dysfunction in the resolution pathways of inflammation that aggravates the destruction of periodontal tissues.²²

PERIODONTAL INFLAMMATION

Based on the clinical and histological characteristics of periodontal disease, Page and Schroeder examined the progression of periodontal inflammation and divided it into 4 stages: initial lesion, early lesion, established lesion, and advanced lesion.^{22,23} From that division, in the present review we describe the inflammatory mechanisms involved in the development of periodontal disease and tissue destruction (*Figure 1*).

Initial lesion. In the periodontium, the gingival epithelium is the first tissue to come into contact with potentially pathogenic bacteria and provides a defense barrier.²⁴ Epithelial cells are able to produce and secrete antimicrobial peptides such as inflammatory defensins and cytokines (IL-1, IL-6, TNF- α , among others) before the recognition of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) by Toll-like receptors (TLRs).²⁵

The gingival epithelium, in the event of tissue damage or pathogenic bacteria, is able to initiate the inflammatory response (*Figure 1B*).

In the epithelium, the Langerhans cells are dendritic cells very reactive to the accumulation of bacteria from the dental bacterial plaque.²⁶ These cells are oriented with their dendrites toward the oral surface to detect antigens by means of pattern recognition receptors (PRRs) and process them. In early stages of PD, Langerhans cells migrate near the gingival aggression. When gingivitis becomes chronic, these cells migrate to deeper layers in the tissue, into the dental lamina, where they can carry the antigen to other plasmacytoid dendritic cells, which in turn travel

through the lymph vessels to the nearest lymph node to carry the antigen to the lymphocytes.²⁷

Early lesion. The inflammatory response itself is carried out in the gingival lamina propria, i.e. in the connective tissue, where the macrophages reside. The macrophages are activated by the cytokines from the epithelium and synthesize more cytokines, prostaglandins and chemokines.²⁰ In the connective tissue, we also find mast cells that degranulate in response to bacterial stimuli, releasing histamine,²⁸ a powerful vasodilator that induces vascular changes, which together with cytokines and prostaglandin E₂ (PGE₂)²⁹ activate endothelial cells to express selectins and cadherins. This allows polymorphonuclear cells to exit the bloodstream into connective tissue (mostly and because of its abundance, neutrophils).³⁰

Neutrophils act quickly against the bacterial niches formed in the tongue, the surface of the teeth, and the periodontal mucosa. Neutrophils express an array of PRRs, such as TLRs, NOD-like receptors, lectin receptors (CLR), and scavenger receptors. The recognition of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and damage-associated molecular patterns (DAMPs) by PRRs induce their activation for phagocytosis or NETs formation.^{25,26}

The pro-inflammatory mediators released by epithelial cells, macrophages, mast cells, and polymorphonuclear cells (especially IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , and histamine) amplify inflammation, causing the activation of MMPs responsible for degradation of the connective tissue of the gingiva and periodontal ligament.³¹ Because of their rapid rate of proliferation, epithelial cells proliferate apically toward the root surface, increasing the depth of periodontal pockets and creating an ideal environment for the survival of anaerobic bacteria.^{14,32} 60 to 70% of the collagen in gingival tissues is estimated to be degraded during this reaction, but the alveolar bone is still intact and the process is still reversible (*Figure 1C*).

At this stage of PD, the vast inflammatory response is able to neutralize and eliminate the harmful agents that initiated the aggression. This reaction brings about the production of anti-inflammatory and inflammation-regulating molecules such as IL-10, prostaglandin D₂ (PGD₂), lipoxins, and resolvins, among others, that lead to the successful resolution of inflammation. Failure of this process inevitably results in chronic inflammation, activation of the adaptive immune response,²¹ and the development of irreversible chronic periodontitis.

Several studies have focused on investigating the mechanisms that lead to the failure of inflammation resolution and the development of chronic inflammation.

In this regard, neutrophils seem to have a dual role in inflammation. They may act as net antimicrobial effectors during acute inflammation, but they can also activate or suppress the activity of other leukocytes of the innate and adaptive response. An example is the neutrophil production of the β -1 transforming growth factor that decreases the activation capacity of macrophages. Neutrophils also produce the B-lymphocyte stimulator (BLyS) and the proliferation-inducing ligand (APRIL); both proteins increase the survival and proliferation of B lymphocytes as well as their maturation into plasma cells.³³ Therefore, neutrophils can not only contribute to controlling the inflammatory state, but also promote their evolution or chronicity.

In PD, the number of neutrophils is known to be high and they have a longer half-life. At the same time, the function and activity of neutrophils is altered, because their adhesion capacity and response to chemotaxis or phagocytosis becomes affected.³⁴ The reason is the constant interaction of neutrophils with bacteria and their products that brings about the death of neutrophils in large quantities. The accumulation and mass death of these cells is one of the main causes of tissue degradation during periodontitis, because their cytoplasmic granules contain several enzymes that, when released, degrade the structural elements of tissues and the extracellular matrix.³⁵

In addition, the inability of neutrophils and macrophages to neutralize pathogens leads to chronic inflammation and the activation of adaptive immunity.

Immune deficiencies have also been identified to produce chronic inflammation, e.g. chronic granulomatous disease caused by a severe and prolonged infection. It results from the inability of phagocytic cells to generate superoxide due to damage to NADPH oxidase; this predisposes to recurrent bacterial and fungal infections.³³ Another example is the polymorphisms of cytokine such as IL-6, IL-1 or TNF α that cause inflammation to be amplified.³⁶

Established lesion. At this stage the dendritic cells travel to the nearest lymph node and show the antigen to the T lymphocytes with the antigen-specific TCR.³⁷ In response, lymphocytes are cloned and proliferate resulting in cellular immune response depending on the T cell help (TH): TH1, TH2, TH17 or T regulatory (Treg) cells³⁰ (*Figure 1D*). The importance of these cells in the development of periodontitis is not yet entirely clear nor the moment at which each of these responses participates. TH1 and TH17 lymphocytes are important in the early stages of chronic periodontitis, whereas TH2 lymphocytes are relevant in later stages.²⁴ T cells, especially CD4+ T cells, play an important role in discriminating between harmful

and non-harmful organisms; subtypes TH1 and TH17 promote the development of the inflammatory process,^{25,38} so that instead of repairing tissues they have the potential to boost the production of pro-inflammatory cytokines and osteoclastogenesis, which cause progress of periodontitis.^{37,39}

In recent years, the subtypes TH17 and Treg have been described as responsible for balancing the immune response, because they are antagonists, i.e., they have an effector and suppressor function respectively.^{22,35} TH17 cells are involved in several autoimmune diseases and inflammatory disorders. In periodontal disease, an increase in IL-17 production has been observed, but the mechanism by which this happens and its contribution to periodontal destruction has not yet been ascertained.⁴⁰ On the other hand, Tregs have the ability to inhibit the activation and proliferation of T lymphocytes and the production of B lymphocyte antibodies.³⁹ Some researches have shown that Tregs accumulate in gingival tissues during PD in humans and experimental models and help protect the host from harmful inflammation.⁴¹

Other investigations have reported that dendritic cells are responsible for the chronicity of inflammation. Different populations of dendritic cells have been identified to regulate the inflammatory response through the production of retinoic acid, TGF β , and IL-10, which generates regulatory T lymphocytes (Treg) that are responsible for suppressing the activation of T lymphocytes started by weak stimuli and feedback of the magnitude of the response mediated by effector TH lymphocytes.⁴⁰ However, the specific role of regulatory dendritic cells during PD has not as yet been established.

Although activation and maturation of B cells is an important step in the antibody-mediated response, the transition from T-cell-dominated established lesion to a B-cell-dominated advanced lesion is not yet well understood.

Advanced lesion. B lymphocytes, together with plasma cells, accumulate in the gingival sulcus or the periodontal pockets to produce specific immunoglobulins against antigens and thus promote phagocytosis.⁴² Finally, tissues affected by periodontitis are colonized by both types of lymphocytes, mostly B lymphocytes.⁴³ So far we know that, in the case of severe periodontitis, B lymphocytes can also be considered antigen-presenting cells or may promote antigen presentation, so it has been suggested that they increase clonal activation and expansion of T-cells. However, their specific function is yet to be determined.^{9,42} T and B lymphocytes also participate significantly in RANKL production, and the binding of the lymphocytes to RANK in the osteoclasts

activate the latter, which causes the destruction of alveolar bone^{43,44} (Figure 1E).

Severe chronic inflammation leads to osteoclastic alveolar bone resorption. Cytokines and prostaglandins produced by leukocytes induce in T and B lymphocytes and osteoblasts the production of RANKL, which by binding to its RANK receptor in osteoclastic precursors induce their maturation or the activation of osteoclasts already formed.²² Alveolar bone resorption begins with flattening of the alveolar crest (horizontal bone loss), but as there is a more severe progression of the lesion it spreads apically (vertical bone loss). In addition, the degradation of periodontal ligament fibers is generated by the activation of MMPs and the formation of granulation tissue. This situation persists until the tooth has no more tissue to support it and exfoliates or until bacteria are eliminated and granulation tissue is removed.²⁶

INFLAMMATORY MOLECULES INVOLVED IN PERIODONTAL DESTRUCTION

Clearly, the unbalanced and aggressive immune response underlying the pathogenesis of periodontal disease is a major cause of tissue destruction. Knowledge of inflammatory molecules involved in periodontal destruction can help design therapies to regulate their activity.

Cytokines

Cytokines are proteins⁹ mainly released by macrophages and T lymphocytes.⁴⁵

Cytokines are critical in inflammation. Its regulation is given by the presence of pro-inflammatory vs anti-inflammatory cytokines, although some may have both properties.⁴⁶

Multiple studies in patients with gingivitis or periodontitis have identified an imbalance between pro- and anti-inflammatory cytokines in the gingival crevicular fluid, the pro-inflammatory type, such as IL-1, IL-6, and TNF- α , being more abundant.⁴⁷ Pro-inflammatory cytokines act together by activating other proteins involved in the destruction of periodontal tissues, such as MMPs, whereas the anti-inflammatory cytokines inhibit these mechanisms.

The main pro-inflammatory cytokine is IL-1 β , responsible for the activation of osteoclasts via the RANK/RANKL/OPG pathway.¹⁹ This cytokine is also capable of altering the adhesion of neutrophils, as well as the processes of chemotaxis and phagocytosis.⁴⁸ In addition, it has been associated with the increase of TNF- α , produced by monocytes and macrophages.²²

The pro-inflammatory cytokine TNF- α affects cell migration as it increases the number of adhesion molecules for neutrophils. Thus, large amounts of phagocytes accumulate during periodontitis.¹⁹ Moreover, TNF- α stimulates the production of chemokines, cytokines (IL-6), and prostaglandins (PGE₂), which cause the degradation of the extracellular matrix, bone resorption, and inhibition of collagen synthesis.^{9,49}

The IL-6 cytokine regulates the synthesis of PGE₂,²⁵ contributes to the differentiation and proliferation of B lymphocytes and macrophages,⁴⁹ induces the formation of osteoclasts, and is a powerful stimulator of MMPs expression.⁴⁷

Similarly, INF- γ promotes B cell maturation and immunoglobulin secretion,⁹ and enhances antigen presentation. Several investigations have found that it also increases TNF- α and IL-1 β ; those cytokines in turn activate the bone resorption system by binding of RANK-RANKL, which are associated with severe periodontitis.

As mentioned above, in recent years IL-17 has gained relevance due to its contribution to the chronicity of inflammation in severe periodontal lesions.⁵⁰ IL-17 acts directly on tissue destruction by activating cells that reside in the periodontium, such as fibroblasts and osteoclasts.²⁵

In contrast, anti-inflammatory cytokines work to promote the resolution of inflammation. For example, IL-10 reduces TH1 response and increases TH2; at the same time, it suppresses the excessive presence of macrophages and counteracts MMPs and RANKL signaling pathways, thus limiting tissue destruction.⁹

Another example is the IL-4 cytokine, which is a key factor for negative immune regulation by inhibiting the differentiation of TH1 and TH17 responses.⁴⁷ This in turn prevents the functions of pro-inflammatory cytokines such as TNF- α and IL-1 β . Likewise, IL-4 decreases MMPs and RANKL expression.¹

Chemokines

Chemokines are small proteins of the superfamily of cytokines; they are linked to heparin and have chemotactic action. These proteins can be synthesized by mesenchymal, endothelial, epithelial, and leukocyte cells. Also, they have great value for the migration of cells with phagocytic function to sites of infection and influence processes such as angiogenesis, apoptosis, and tumor metastasis.¹⁷

Chemokines are involved in the physiology and pathology of bone metabolism by emitting essential signals for the trafficking and activation

of osteoclasts and osteoblasts, thus contributing to bone remodeling.⁹

Prostaglandins

Prostaglandins belong to the group of lipids known as eicosanoids, derived from arachidonic acid. During gingival inflammation, large amounts of prostaglandins are synthesized, especially PGE₂, which has a wide variety of pro-inflammatory effects such as flare and pruritus by vasodilation and increased vascular permeability. Besides, PGE₂ is a powerful stimulator of alveolar bone resorption by induction of osteoclast proliferation.^{9,45}

Matrix metalloproteinases (MMPs)

MMPs are degrading enzymes of the matrix and membrane components; they are produced by epithelial cells, fibroblasts, endothelial cells, phagocytes, and plasma cells. MMPs are classified into collagenases, gelatinases, stromelysins, and matrilysins depending on the substrate and their molecular structure. MMPs are related to important physiological processes, such as tissue development, remodeling and healing. In periodontitis their presence has been widely detected in inflamed periodontal tissue and oral fluids using different analytical methods.³⁵ MMPs 8 and 9 produced by neutrophils have been identified as the main cause of interstitial collagen degradation and thus contribute to the destruction of periodontal tissue.⁹

The activation mechanisms of MMPs vary depending on the specific tissue and microenvironment. During periodontitis, MMPs can be activated independently or by cooperative cell invasion involving proteases produced by bacteria and by the host.³¹

Excessive production of MMPs in the periodontium not only degrades tissues but also affects the process of tissue healing.⁵¹

RANK, RANKL, osteoprotegerin

Currently, it has been accepted that disruption in the balance of osteoblasts and osteoclasts activity due to the increase of bacterial products and especially of pro-inflammatory molecules (IL-1 β , IL-6, TNF- α , and PGE₂) is the main cause of bone resorption induced by periodontal inflammation.⁹

During the inflammatory response, cytokines can induce osteoclastogenesis by increasing ligand expression for the NF κ B(RANKL) factor from osteoblasts, which by binding to its RANK receptor in

monocytes and osteoclasts induces their differentiation and activation, while decreasing the expression of osteoprotectin (OPG), which is a RANK ligand decoy. This promotes bone resorption.¹⁸ Several studies have shown that the amount of RANKL detected in gingival crevicular fluid in patients with periodontitis in progress is significantly higher compared with the amount detected in inactive periodontitis lesions. Hence this factor is considered an important marker of bone resorption associated with periodontal infections.³⁵

CONCLUSIONS AND PERSPECTIVES

The lack of regulation of inflammation and failures in the inflammation resolution mechanisms are considered essential elements in the etiopathogenesis of PD; therefore, it is of paramount importance to regulate inflammation and promote its resolution.

First it should be noted that inflammation is a defense mechanism to contain damage, and continued use of selective NSAIDs as periodontal treatment can lead to immunosuppression in addition to other adverse effects.

In recent years, lipoxins have been promoted as candidates to reduce inflammation. Lipoxins are lipid mediators endogenously produced through the arachydonic acid pathway. Another example of anti-inflammatory molecules is resolvins, protectins and maresins, which are considered inflammation agonists and are synthesized from Omega-3 fatty acids. These fats have multiple beneficial effects in resolution and control of inflammation, restoration of tissue homeostasis, elimination of microorganisms, and pain reduction, thereby preventing the chronicity of inflammation and enabling a successful process of healing.⁵²

Experiments in both humans and animal models using these agonists to actively regulate inflammation have yielded promising results.^{53,54} In PD, the production of anti-inflammatory molecules reduces the inflammatory cell infiltrate, increases bone formation, and accelerates the healing process.¹⁵ Although these agonists do not eliminate the inflammatory process, they are physiological agents that accelerate resolution and can improve bacterial elimination.⁵⁵ However, it is still necessary to investigate the mechanisms of action of these lipid mediators during PD and to develop controlled clinical studies to determine their actual usefulness.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported and funded by PAPIIT IN223619 UNAM DGAPA.

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Gaurilcikaite E, Renton T, Grant AD. The paradox of painless periodontal disease. *Oral Dis*. 2017; 23 (4): 451-463.
2. Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. *Periodontology 2000*. 2012; 58 (1): 10-25.
3. Albandar JM, Rams TE. Global epidemiology of periodontal diseases: an overview. *Periodontology 2000*. 2002; 29 (1): 7-10.
4. Baelum V, López R. Periodontal disease epidemiology—learned and unlearned? *Periodontology 2000*. 2013; 62 (1): 37-58.
5. Pihlstrom BL, Michalowicz BS, Johnson NW. Periodontal diseases. *Lancet*. 2005; 366 (9499): 1809-1820.
6. Casanova L, Hughes FJ, Preshaw PM. Diabetes and periodontal disease: a two-way relationship. *Br Dent J*. 2014; 217 (8): 433-437.
7. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabé E, Flaxman A, Naghavi M, Lopez A et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res*. 2013; 92 (7): 592-597.
8. Petersen PE, Ogawa H. The global burden of periodontal disease: towards integration with chronic disease prevention and control. *Periodontology 2000*. 2012; 60 (1): 15-39.
9. Cekici A, Kantarci A, Hasturk H, Van Dyke TE. Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2014; 64 (1): 57-80.
10. Armitage GC. Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. *Periodontology 2000*. 2004; 34 (1): 9-21.
11. Highfield J. Diagnosis and classification of periodontal disease. *Aust Dent J*. 2009; 54 (Suppl 1): S11-26.
12. Wiebe CB, Putnins EE. The periodontal disease classification system of the American Academy of Periodontology—an update. *J Canad Dent Assoc*. 2000; 66 (11): 594-599.
13. Van Dyke TE, Serhan CN. Resolution of inflammation: a new paradigm for the pathogenesis of periodontal diseases. *J Dent Res*. 2003; 82 (2): 82-90.
14. Kinane DF. Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2001; 25 (1): 8-20.
15. Hasturk H, Kantarci A. Activation and resolution of periodontal inflammation and its systemic impact. *Periodontology 2000*. 2015; 69 (1): 255-273.
16. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 17038.
17. Gemmell E, Seymour GJ. Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2004; 35 (1): 21-41.
18. Cochran DL. Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol*. 2008; 79 (8S): 1569-1576.
19. Kayal RA. The role of osteoimmunology in periodontal disease. *BioMed Res Int*. 2013; 2013: 12.
20. Hasturk H, Kantarci A, Van Dyke TE. Oral inflammatory diseases and systemic inflammation: role of the macrophage. *Front Immunol*. 2012; 3: 118.
21. Freire MO, Van Dyke TE. Natural resolution of inflammation. *Periodontology 2000*. 2013; 63 (1): 149-164.
22. Yucel-Lindberg T, Båge T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. Expert reviews in molecular medicine. *Expert Rev Mol Med*. 2013; 15: e7.
23. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976; 34 (3): 235-249.
24. Ebersole JL, Graves CL, Gonzalez OA, Dawson D, Morford LA, Huja PE et al. Aging, inflammation, immunity and periodontal disease. *Periodontology 2000*. 2016; 72 (1): 54-75.
25. Hienz SA, Paliwal S, Ivanovski S. Mechanisms of bone resorption in periodontitis. *J Immunol Res*. 2015; 2015: 10.
26. Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontology 2000*. 1997; 14 (1): 33-53.
27. Ebersole JL, Dawson DR, Morford LA, Peyyala R, Miller CS, González OA. Periodontal disease immunology: 'double indemnity' in protecting the host. *Periodontology 2000*. 2013; 62 (1): 163-202.
28. Lagdive SS, Lagdive SB, Mani A, Anarthe R, Pendyala G, Pawar B et al. Correlation of mast cells in periodontal diseases. *J Indian Soc Periodontol*. 2013; 17 (1): 63-67.
29. Groeger SE, Meyle J. Epithelial barrier and oral bacterial infection. *Periodontol 2000*. 2015; 69 (1): 46-67.
30. Nędzi-Góra M, Kowalski J, Górska R. The immune response in periodontal tissues. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis. Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2017; 65 (5): 421-429.
31. Sapna G, Gokul S, Bagri-Manjrekar K. Matrix metalloproteinases and periodontal diseases. *Oral Dis*. 2014; 20 (6): 538-550.
32. Costalonga M, Herzberg MC. The oral microbiome and the immunobiology of periodontal disease and caries. *Immunol Lett*. 2014; 162 (2): 22-38.
33. Hajishengallis G, Moutsopoulos NM, Hajishengallis E, Chavakis T. Immune and regulatory functions of neutrophils in inflammatory bone loss. *Semin Immunol*. 2016; 28 (2): 146-158.
34. Cortés-Vieyra R, Rosales C, Uribe-Querol E. Neutrophil functions in periodontal homeostasis. *J Immunol Res*. 2016; 2016: 9.
35. Silva N, Abusleme L, Bravo D, Dutzan N, Garcia-Sesnich J, Vernal R et al. Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci*. 2015; 23 (3): 329-355.
36. Maney P, Owens JL. Interleukin polymorphisms in aggressive periodontitis: a literature review. *J Indian Soc Periodontol*. 2015; 19 (2): 131-141.
37. Di Benedetto A, Gigante I, Colucci S, Grano M. Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. *Clin Dev Immunol*. 2013; 2013: 503754.
38. Karthikeyan B, Talwar, Arun KV, Kalaivani S. Evaluation of transcription factor that regulates T helper 17 and regulatory T cells function in periodontal health and disease. *J Pharm Bioallied Sci*. 2015; 7: S672.
39. SabaRiSh R, Rao SR, Lavu V. Natural T regulatory cells (n Treg) in the peripheral blood of healthy subjects and subjects with chronic periodontitis—a pilot study. *J Clin Diagn Res*. 2016; 10 (3): ZC36-39.
40. Adibrad M, Deyhimi P, Ganjalikhani Hakemi M, Behfarnia P, Shahabuei M, Rafiee L. Signs of the presence of Th17 cells in chronic periodontal disease. *J Periodont Res*. 2012; 47 (4): 525-531.
41. Garlet GP, Cardoso CR, Mariano FS, Claudino M, de Assis GF, Campanelli AP et al. Regulatory T cells attenuate experimental periodontitis progression in mice. *J Clin Periodontol*. 2010; 37 (7): 591-600.
42. Gonzales JR. T-and B-cell subsets in periodontitis. *Periodontology 2000*. 2015; 69 (1): 181-200.
43. Berglundh T, Donati M. Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 (s6): 87-107.
44. Campbell L, Millhouse E, Malcolm J, Culshaw S. T cells, teeth and tissue destruction—what do T cells do in periodontal disease? *Mol Oral Microbiol*. 2016; 31 (6): 445-456.
45. Gemmell E, Marshall RI, Seymour GJ. Cytokines and prostaglandins in immune homeostasis and tissue destruction in periodontal disease. *Periodontology 2000*. 1997; 14 (1): 112-143.
46. Zhang J-M, An J. Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 2007; 45 (2): 27.
47. Sonnenschein SK, Meyle J. Local inflammatory reactions in patients with diabetes and periodontitis. *Periodontology 2000*. 2015; 69 (1): 221-254.
48. Gomes FIF, Aragão MGB, Barbosa FCB, Bezerra MM, de Paulo Teixeira Pinto V, Chaves HV. Inflammatory cytokines

- interleukin-1 β and tumour necrosis factor- α - novel biomarkers for the detection of periodontal diseases: a literature review. *J Oral Maxillofac Res.* 2016; 7 (2): e2.
49. Baker PJ. The role of immune responses in bone loss during periodontal disease. *Microbes Infect.* 2000; 2 (10): 1181-1192.
 50. Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun.* 2012; 39 (4): 294-303.
 51. Franco C, Patricia H-R, Timo S, Claudia B, Marcela H. Matrix metalloproteinases as regulators of periodontal inflammation. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (2): 440.
 52. Serhan CN. Treating inflammation and infection in the 21st century: new hints from decoding resolution mediators and mechanisms. *FASEB.* 2017; 31 (4): 1273-1288.
 53. Hasturk H, Kantarci A, Goguet-Surmenian E, Blackwood A, Andry C, Serhan CN et al. Resolvin E1 regulates inflammation at the cellular and tissue level and restores tissue homeostasis *in vivo.* *J Immunol (Baltimore, Md : 1950).* 2007; 179 (10): 7021-7029.
 54. Hasturk H, Kantarci A, Ohira T, Arita M, Ebrahimi N, Chiang N et al. RvE1 protects from local inflammation and osteoclast-mediated bone destruction in periodontitis. *FASEB.* 2006; 20 (2): 401-403.
 55. Spite M, Norling LV, Summers L, Yang R, Cooper D, Petasis NA et al. Resolvin D2 is a potent regulator of leukocytes and controls microbial sepsis. *Nature.* 2009; 461 (7268): 1287-1291.

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Dr. Ana Lilia García-Hernández
E-mail: draalgh@icloud.com



Eficacia del tratamiento endoperiodontal

Vianey Lino Aguilar,* Graciela Galán Torres,* Yareli Hernández Ávila,* Floriberto Calixto Arellano*

* Profesor-Investigador. Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

RESUMEN

Introducción: Los implantes dentales son una buena alternativa para reemplazar algún órgano dentario; sin embargo, para su planificación uno de los requisitos es que exista una adecuada cantidad de tejidos blandos y duros; de lo contrario se llevarán a cabo procedimientos quirúrgicos para obtener las condiciones ideales, además se debe controlar o eliminar cualquier proceso infeccioso endodóntico. **Caso clínico:** Se presenta el caso de una paciente a quien se le diagnosticó deformidad mucogingival en el diente 12 (recesión gingival clase I de Miller) y necrosis pulpar con periodontitis apical asintomática, todo indicaba que el incisivo lateral tenía pronóstico desfavorable; sin embargo, la cantidad de encía queratinizada era insuficiente para llevar a cabo la regeneración ósea guiada y posteriormente la colocación del implante dental, por lo mismo se aplicó el tratamiento de conductos con el objetivo de eliminar la infección presente y realizar después los procedimientos mucogingivales para ganar la cantidad adecuada de encía insertada. **Conclusiones:** Con los tratamientos aplicados se controló el proceso infeccioso endodóntico y el proceso inflamatorio en los tejidos blandos para más tarde llevar a cabo los procedimientos mucogingivales con el fin de recuperar a los tejidos periodontales blandos perdidos, lo que facilitaría la realización de procedimientos periodontales regenerativos posteriores, el diente estaba indicado en un inicio para extracción dental y posteriormente la colocación de un implante dental; sin embargo, los resultados fueron favorables y a dos años de seguimiento se ha decidido dejar al diente y en algún futuro, y en caso de ser necesario, regresar al tratamiento inicial.

Palabras clave: Necrosis pulpar, periodontitis apical asintomática, apexificación, encía insertada, recesión gingival, injerto gingival libre, injerto de tejido conectivo subepitelial.

INTRODUCCIÓN

En el paciente candidato para la colocación de implantes dentales se deben evaluar los tejidos blandos durante el examen periodontal básico, ya que el ancho de la mucosa queratinizada es importante en la salud de los tejidos periimplantarios. La presencia de una banda adecuada de mucosa queratinizada está relacionada con menos acumulación de placa bacteriana e inflamación de la mucosa así como de mediadores proinflamatorios, lo que sugiere que su ausencia puede ser crucial, especialmente para el control de placa bacteriana y las lesiones mucosas asociadas a la placa alrededor de los implantes dentales.^{1,2}

La encía queratinizada alrededor de los implantes dentales influye tanto en los parámetros clínicos como en los inmunológicos de estos sitios. Estos hallazgos

son de especial importancia en la zona estética, donde la encía queratinizada delgada y estrecha puede conducir a una mayor recesión gingival.³

Esto también se observa en pacientes con sobredentaduras porque la ausencia de mucosa queratinizada adecuada alrededor de los implantes se asocia con mayor acumulación de placa bacteriana, inflamación gingival, sangrado al sondeo periodontal y recesión de la mucosa.⁴

El aumento del ancho de la mucosa queratinizada alrededor de los implantes se asocia con menor pérdida media de hueso alveolar y mejores índices de salud de los tejidos blandos.⁵

Por lo tanto, la aplicación de la microcirugía periodontal para el aumento de encía insertada se ha aplicado con éxito para mejorar la calidad y la cantidad de encía adherida alrededor de los implantes.⁶

En el presente caso también se realizó el diagnóstico endodóntico, el cual fue necrosis pulpar con periodontitis apical asintomática como consecuencia de trauma dental, lo que trajo como consecuencia la falta de cierre apical. Estos casos habían sido tradicionalmente tratados con hidróxido de calcio a largo plazo, con múltiples citas para lograr el cierre del ápice, pero con alta prevalencia de fractura radicular. En la década de los 90 surge el MTA (mineral trióxido agregado) como una alternativa, el cual redujo las consultas y la predisposición a la fractura radicular del diente involucrado.⁷ El MTA ha sido utilizado con buenos resultados en dientes con pulpa vital en recubrimiento pulpar directo, pulpotomía parcial y total para sellar perforaciones laterales del conducto y de furca así como barrera apical en tratamiento de conductos de dientes

Recibido: Agosto 2018. Aceptado: Abril 2019.

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).





Figura 1:

Fotografía inicial durante la valoración con ortodoncia.

Initial orthodontic examination.

necróticos con formación radicular incompleta y como material de retroobturgación durante la cirugía apical.^{8,9}

La aplicación de MTA en lugar de hidróxido de Ca se basa en su capacidad para formar una barrera apical dura, por lo que ha demostrado ser el material apropiado para casos de apexificación.¹⁰

El siguiente reporte de caso demuestra la formación de una barrera apical con MTA en un diente permanente con ápice inmaduro.

Presentación de caso clínico

Paciente de sexo femenino de 20 años de edad que se presenta al consultorio dental para tratamiento de ortodoncia, pero se refiere a periodoncia por presentar inflamación y recesión gingival en el diente 12. Durante la evaluación periodontal inicial se realizó sondeo periodontal, observando inflamación, exudado purulento y deformidad mucogingival por vestibular (recesión gingival). Al interrogatorio la paciente no refiere antecedentes personales patológicos, por lo que se considera paciente aparentemente sana. El diagnós-

tico periodontal fue gingivitis inducida por placa bacteriana y recesión gingival clase I de Miller en el órgano dentario 12. Se tomaron radiografías periapicales para completar los auxiliares de diagnóstico (*Figura 1*).

La paciente refiere haber sufrido traumatismo a la edad de cinco años, lo que afectó los órganos dentarios superiores del lado derecho.

Al realizar pruebas de vitalidad pulpar y de percusión el órgano dentario 12 no responde, clínicamente se observa cambio de coloración en la corona además de recesión gingival, al examen radiográfico se aprecia ápice abierto y lesión radiolúcida a nivel periapical; basados en los hallazgos clínicos y radiográficos, el diagnóstico fue necrosis pulpar con periodontitis apical asintomática, por lo que el tratamiento es apicoformación con MTA (*Figura 2A*).

De acuerdo al examen clínico, se decidió llevar a cabo el tratamiento periodontal y endodóntico que más adelante se explicará, tomando en cuenta que el diente tenía un pronóstico desfavorable, el objetivo inicial de estos tratamientos era controlar la enfermedad periodontal y endodóntica, recuperar los tejidos blandos periodontales para más tarde llevar a cabo la extracción del diente y realizar la regeneración ósea guiada y en un futuro colocar un implante dental.

Cabe mencionar que el tratamiento le fue explicado detalladamente a la paciente, señalando ventajas y desventajas del mismo, y se le dio a firmar una carta de consentimiento informado.

Tratamiento periodontal inicial

Se inició fase I periodontal mediante la modificación de hábitos de higiene bucal, se implementó la técnica de cepillado de Stillman modificado, uso adecuado de hilo dental y se realizó profilaxis, logrando con estos

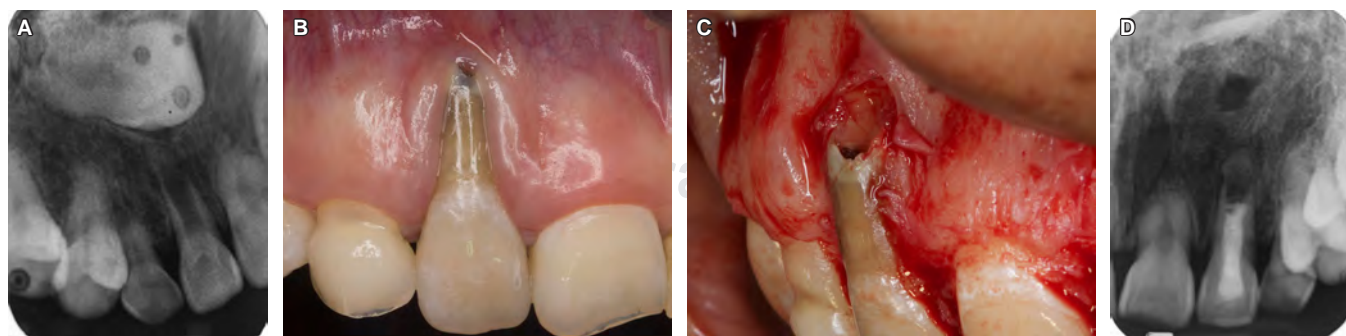


Figura 2: A) Radiografía periapical preoperatoria. B) Resultados de la fase I periodontal. C) Procedimiento quirúrgico para la eliminación de canino retenido y apreciación del ápice inmaduro. D) Radiografía final del tratamiento de conductos.

A) Preoperative periapical radiograph. B) Results of periodontal phase I. C) Surgical procedure for the elimination of the retained canine and view of the immature apex. D) Final radiograph of root canal treatment.

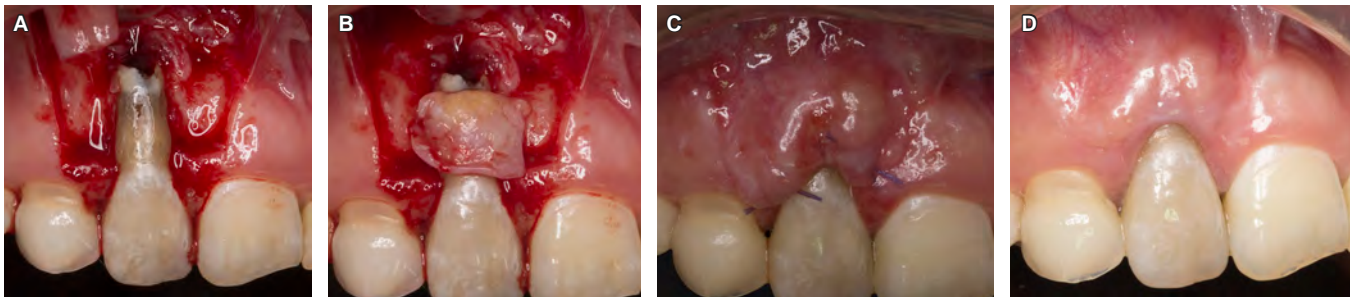


Figura 3: **A)** Preparación del lecho receptor (ITCS). **B)** Adaptación del injerto de tejido conectivo subepitelial. **C)** Cicatrización a los 15 días después de haber realizado la cobertura radicular. **D)** Revisión clínica cuatro meses después del procedimiento de cobertura radicular.

A) Preparation of the recipient bed (SCTG). **B)** Adaptation of the subepithelial connective tissue graft. **C)** Scaring at 15 days after performance of root coverage. **D)** Clinical examination 4 months after performance of root coverage.

procedimientos la eliminación de la inflamación gingival (*Figura 2B*).

Tratamiento endodóntico

El tratamiento endodóntico se efectuó bajo anestesia local y aislamiento, la longitud de trabajo se tomó con una lima tipo K.80 y se confirmó radiográficamente, ya que en estos casos el uso del localizador no es confiable. La preparación biomecánica se realizó con la lima tipo K.80 y con copiosa irrigación de Na OCL al 5.25%, se colocó hidróxido de Ca por un periodo de siete días y la cavidad de acceso fue sellada con algodón y Provisit®.

Después de una semana se retiró el hidróxido de Ca y de nuevo se irrigó con NaOCL al 5.25%, a continuación se secó el conducto con puntas de papel para poder colocar el MTA en la porción apical del conducto con la finalidad de formar una barrera apical, la adecuada colocación del material se pudo observar en las radiografías.

Una semana después la paciente tuvo cita con el cirujano maxilofacial para que le fuera retirado un canino retenido (*Figura 2C*) y al estar irrigando el cirujano, el MTA se fue deslavando hasta desaparecer en su totalidad, por lo que ya recuperada la paciente se le dio nuevamente cita para su tratamiento endodóntico y en este caso debido a las condiciones de la raíz se decidió obturar en su totalidad el conducto radicular con MTA y la cavidad de acceso con resina (*Figura 2D*).

Ganancia de encía insertada

Una vez concluido el tratamiento endodóntico se programó la cirugía periodontal para ganar encía insertada y se decidió aplicar la técnica de doble papila; sin embargo, hubo poca ganancia de encía insertada, por lo mismo se decidió colocar un injerto gingival libre.

Antes de iniciar el procedimiento quirúrgico (injerto gingival libre), la paciente realizó colutorios con gluconato de clorhexidina al 0.12%, enseguida se aplicó la técnica de anestesia supraperióstica en el diente 12 y así posteriormente preparar el sitio receptor, el sitio donador fue la zona palatina, se obtuvo un injerto de alrededor de 1mm de espesor y se suturó con puntos simples aislados con ácido poliglicólico 5-0. Ambas heridas se protegieron con un apósito periodontal.

A las dos semanas se retiraron las suturas y el apósito periodontal, por dos semanas se indicó la realización de colutorios dos veces al día con gluconato de clorhexidina al 0.12%.

Procedimiento de cobertura radicular

Dos meses después se efectuó la cirugía periodontal para ganar altura y espesor gingival, se realizó un desplazado coronal más injerto de tejido conectivo subepitelial (ITCS) (*Figura 3A*).

El ITCS fue tomado de la zona palatina, se removió el tejido adiposo y el epitelio subyacente (*Figura 3B*). Este injerto se colocó en el sitio receptor suturándolo a las papilas interdentes con puntos suspensorios coronales, posteriormente se realizó el desplazado coronal del colgajo combinando puntos simples aislados con suspensorios coronales, para esto se usó sutura de ácido poliglicólico 5-0.

Al terminar el procedimiento se colocó apósito periodontal (Coe-Pak) en ambos sitios quirúrgicos.

Se recetó ibuprofeno cápsulas de 600 mg y colutorios con gluconato de clorhexidina al 0.12% (dos veces al día durante dos semanas).

A los 15 días se retiró el apósito periodontal y la sutura se retiró a las dos semanas después del proce-

dimiento. La paciente no tuvo complicaciones postoperatorias (Figura 3C).

RESULTADOS

Se hicieron revisiones periodontales periódicas, cuatro meses después de la segunda cirugía se observó que la cobertura radicular era de 90% aproximadamente en el diente 12, por lo mismo se decidió efectuar la cobertura radicular con la técnica semilunar, siendo una técnica indicada para recesiones pequeñas y con buena cantidad de encía insertada (Figura 3D).

De acuerdo con el seguimiento clínico y radiográfico a los seis meses y al año se considera un tratamiento exitoso, ya que la paciente se encuentra asintomática y en las radiografías se aprecia reparación de la lesión periapical.

A dos años después de haber realizado los procedimientos, se observa estabilidad de los tejidos blandos y por lo tanto, a petición de la paciente, se decide postergar la colocación del implante y mantener al diente el tiempo que sea funcional, esto mientras éste no refiera ninguna sintomatología (Figuras 4 A y B).

Al sondeo periodontal no se encontró bolsa periodontal y se pudo corroborar la inserción adecuada del injerto, comparando clínicamente el sondeo periodontal y final (Figuras 4 C y D).

La paciente quedó satisfecha con los resultados clínicos.

DISCUSIÓN

En este caso gracias a los diversos procedimientos quirúrgicos periodontales se logró ganar una buena

cantidad y calidad de tejido queratinizado, ya que una de las técnicas aplicadas fue la colocación de injerto de tejido conectivo subepitelial; aplicar esta técnica tiene beneficios en la reducción significativa de la recesión gingival, esto en comparación con sólo la aplicación del colgajo desplazado coronal.¹¹

En otros estudios se ha observado que el colgajo coronalmente avanzado modificado combinado con el injerto de tejido conectivo subepitelial es eficaz y predecible para producir cobertura de la raíz en múltiples recesiones gingivales adyacentes asociadas con ganancia en los niveles de inserción clínica y en el ancho de tejido queratinizado.^{12,13}

El procedimiento desplazado coronal más injerto de tejido conectivo subepitelial proporciona mejores resultados a largo plazo (60 meses después de la cirugía) que sólo el desplazado coronal. La estabilidad a largo plazo del margen gingival es menos predecible para los defectos GR Miller clase II en comparación con los de clase I,¹⁴ aunque otros resultados indican que el tratamiento de recesiones gingivales múltiples adyacentes clase I y II de Miller mediante la técnica modificada coronalmente avanzada del túnel y la matriz de colágeno puede generar una cobertura de raíz completa estadística y clínicamente significativa.¹⁵

Los procedimientos de injerto de tejido blando también son importantes en las zonas alrededor de implantes dentales, ya que dan como resultado una salud periimplantaria más favorable al ganar mucosa queratinizada, por lo tanto existe mejoría en los índices de sangrado y niveles óseos marginales más altos,¹⁶ los injertos autógenos (injerto de tejido conectivo subepitelial) permiten un aumento en el grosor de los

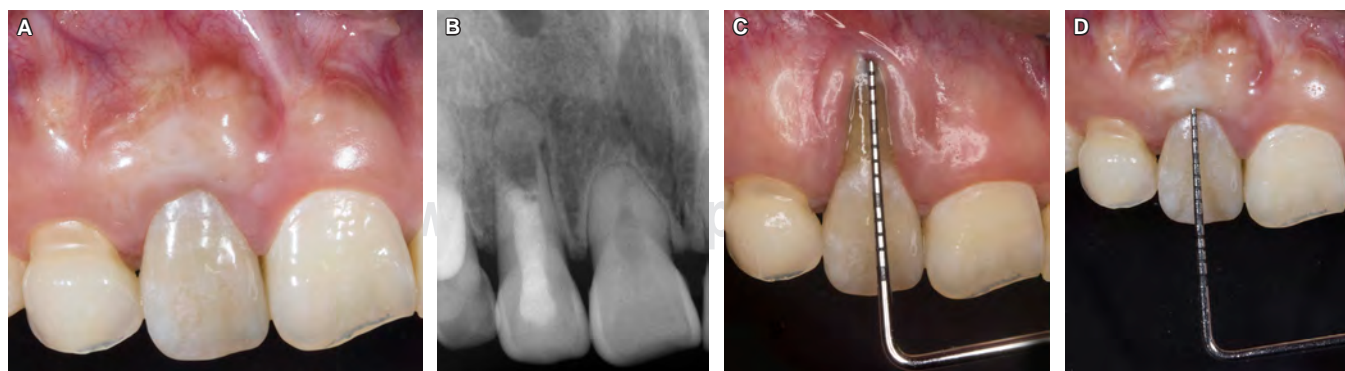


Figura 4: **A)** Fotografía final, revisión dos años después. **B)** Radiografía periapical a dos años de haber concluido el tratamiento. **C)** Sondeo periodontal inicial. **D)** Sondeo periodontal final.

A) Final photograph, examination 2 years later. **B)** Periapical radiograph 2 years after the end of treatment. **C)** Initial periodontal probing. **D)** Final periodontal probing.

tejidos blandos y resultados estéticos, y mejoran el biotipo gingival.¹⁷⁻¹⁹

De acuerdo con los hallazgos clínicos y radiográficos el tratamiento de elección en este caso es la apexificación. Diversos materiales se han utilizado para estos casos como el hidróxido de calcio, pero presenta algunas desventajas como múltiples citas en largos periodos, resultados impredecibles en la formación de una barrera apical y sobre todo la susceptibilidad a la microfiliación bacteriana y a la fractura.²⁰

Otro material ampliamente utilizado es el MTA, ya que existen estudios científicos que han demostrado su gran biocompatibilidad, excelente sellado y buena adaptación marginal que reduce la microfiliación bacteriana, además de que el tratamiento reduce de manera significativa los largos periodos en comparación con el uso de hidróxido de Ca.

En este caso se utilizó MTA, ya que ha demostrado ser el material de elección para formar una barrera apical en órganos dentarios permanentes no vitales con ápice abierto.²¹ Otro factor para utilizar MTA es que a diferencia de otros materiales fragua en presencia de humedad y su principal componente que es el óxido de calcio se convierte en hidróxido de calcio, lo que le confiere un pH alto con efecto antibacteriano y a diferencia del hidróxido de calcio el material tiene buena estabilidad y baja solubilidad.²²

Como se ha mencionado los resultados favorables obtenidos en este caso clínico son debido a sus propiedades como la de biocompatibilidad, en el estudio de Tawil PZ 2009 se demostró que histológicamente se forma un nuevo cemento en el área de los tejidos perirradiculares así como una baja respuesta inflamatoria con la formación de un puente en el área del espacio pulpar; gracias a la capacidad de sellado que presenta, logra una barrera estable evitando la contaminación bacteriana y de fluidos que son aspectos importantes para lograr el éxito clínico.²³

CONCLUSIONES

El caso presentado confirma que el uso de MTA para el tratamiento en dientes con ápice abierto estimula la regeneración del tejido apical.

Las diversas técnicas de procedimientos mucogingivales permiten ganar o en este caso recuperar los tejidos blandos perdidos alrededor del diente, sólo es cuestión de diagnosticar y desarrollar un buen plan de tratamiento.

Al finalizar este caso, podemos concluir que el trabajo multidisciplinario es importante para lograr el éxito y el bienestar del paciente.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses con relación a la publicación de este artículo.

Clinical case

Effectiveness of endodontic and periodontal treatment

Vianey Lino Aguilar,* Graciela Galán Torres,*
Yareli Hernández Ávila,* Floriberto Calixto Arellano*

* Profesor-Investigador. Facultad de Estomatología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

ABSTRACT

Introduction: Dental implants are an alternative for replacing a missing tooth, but one of the requirements is an adequate amount of soft and hard tissues to support the implant. Otherwise, a surgical procedure must be carried out to obtain appropriate conditions, and any endodontic infectious process must be controlled or eliminated.

Clinical case: We treated a patient diagnosed with mucogingival deformity on tooth #12 (Miller's class I gingival recession) and pulpal necrosis with asymptomatic apical periodontitis, all indicating an unfavorable prognosis for the upper lateral incisor. The amount of keratinized gingiva was insufficient to carry out the guided bone regeneration and subsequent placement of the dental implant; therefore, the treatment of the canals was done to eliminate the present infection and later mucogingival procedures were performed to gain the adequate amount of gingiva inserted. **Conclusions:** The endodontic infectious process and the inflammatory process in the soft tissues were controlled. The mucogingival procedures to recover the lost soft periodontal tissues were carried out to facilitate later regenerative periodontal procedures. The tooth was initially scheduled for extraction and placement of a dental implant, but the results were favorable and after two years of follow-up we decided to leave the tooth and, only if necessary, to return to the initial treatment in the future.

Keywords: Pulpal necrosis, asymptomatic apical periodontitis, apexification, inserted gingiva, gingival recession, free gingival graft, subepithelial connective tissue graft.

INTRODUCTION

In the patient candidate for the placement of dental implants soft tissue should be evaluated during the basic periodontal examination, since the width of the keratinized mucosa is important in the health of tissues surrounding the implant. An adequate band of keratinized mucosa is related to less accumulation of bacterial plaque and inflammation of the mucosa, and less pro-inflammatory mediators. In contrast, its absence may be critical especially for the control of bacterial plaque and plaque-associated mucous lesions around dental implants.^{1,2}

The keratinized gingiva around dental implants influences both the clinical and immune parameters of these areas. These findings are of particular importance in the esthetic aspect, where thin, narrow keratinized gingiva can lead to further gingival recession.³

This is also seen in patients with overdentures because the lack of adequate keratinized mucosa around the implants is associated with increased accumulation of bacterial plaque, gingival inflammation, bleeding at periodontal probing and mucosal recession.⁴

Increased keratinized mucosal width around implants is associated with lower mean alveolar bone loss and better soft tissue health rates.⁵

Therefore, the performance of periodontal microsurgery for the augmentation of inserted gingiva has been successfully implemented to improve the quality and amount of gingiva attached around the implants.⁶

In the case presented here, the endodontic diagnosis was pulpal necrosis with asymptomatic apical periodontitis as a result of dental trauma resulting in a lack of apical closure. These cases had traditionally been treated with long-term Ca hydroxide, with multiple dental office visits to achieve apex closure but with high prevalence of root fracture. In the 1990s the MTA (Mineral Trioxide Aggregate) emerged as an alternative, reducing the number of visits and the predisposition to root fracture of the involved tooth.⁷ MTA has been used with good results in teeth with vital pulp treatment in direct pulp capping, partial and total pulpotomy, and filling of lateral canal and furcal perforations. It has also been used for apexification as apical barrier in root canal treatment of necrotic tooth with incomplete root formation and as retro-obturation material during apical surgery.^{8,9}

The use of MTA instead of Ca hydroxide is based on its ability to form a hard apical barrier, so it has been shown to be the appropriate material for cases of apexification.¹⁰

The following case report describes the procedure for apexification with MTA in a permanent tooth with immature apex and the periodontal surgeries carried out to address the periodontal disease of the patient.

Clinical case presentation

A 20-year-old female patient attended the dental office for orthodontic treatment but was referred to periodontal consultation due to inflammation and gingival recession in tooth #12. During the initial evaluation, periodontal probing was performed, which revealed inflammation, purulent exudate, and vestibular mucogingival deformity (gingival recession).

The patient had no pathological medical history. Periodontal diagnosis was bacterial plaque-induced gingivitis and Miller's class I gingival recession in tooth #12. Periapical radiograph was taken to complete diagnostic aids (*Figure 1*).

The patient reported having suffered trauma at the age of 5 affecting the upper right-side teeth. At pulp vitality and percussion tests tooth #12 did not respond. Clinically, changes in crown coloration were observed in addition to gingival recession. At radiographic examination, open apex and radiolucent lesion were noted at the periapical level. Clinical and radiographic findings pointed to a diagnosis of pulpal necrosis with asymptomatic apical periodontitis. The treatment of choice was apexification with MTA (*Figure 2A*).

Based on the clinical examination, we decided to carry out the periodontal and endodontic treatment that will be explained afterward. The tooth had an unfavorable prognosis, so the initial goal of these treatments was to control the periodontal and endodontic disease, recover periodontal soft tissues to subsequently extract the tooth, and perform guided bone regeneration to place an implant later.

The treatment advantages and disadvantages were explained in detail to the patient, who agreed and signed an informed consent letter.

Inicial periodontal treatment

Phase I periodontal therapy started by improving oral hygiene habits. The patient learned the modified Stillman brushing technique, as well as proper flossing and prophylaxis measures. These procedures allowed eliminating the gingival inflammation (*Figure 2B*).

Endodontic treatment

The endodontic treatment was done under local anesthesia and rubber dam isolation. The working length was determined with a #80 K-file and confirmed radiographically, because in these cases the apex locator is unreliable. The biomechanical preparation was performed with the #80 K-file and with copious irrigation of 5.25% NaOCL. Ca hydroxide was placed into the root canal for a period of 7 days and the access cavity was sealed with a sterilized cotton pellet and Provisit®, a temporary filling material.

After a week, the Ca hydroxide was removed and the root canal was irrigated again with 5.25% NaOCL. The canal was dried with paper points so that the MTA could be placed into the apical portion of the canal to form an apical barrier. The proper placement of the material was observed radiographically.

A week later the patient had an appointment with the maxillofacial surgeon for a retained canine to be removed (*Figure 2C*). As the surgeon was irrigating, the MTA was washed out until it completely disappeared. When the patient recovered from the surgery, she returned for her endodontic treatment. In this case, due to the conditions of the root we decided to fill the root canal with MTA and the access cavity with resin (*Figure 2D*).

Gain of attached gingiva

Once the endodontic treatment was completed, a periodontal surgery was scheduled to gain attached gingiva using the double papilla technique. However, there was little gingival gain, so it was decided to place a free gingival graft.

Before the graft procedure, the patient rinsed her mouth with 0.12% Chlorhexidine gluconate oral rinse. The supraperiosteal infiltration technique was used to anesthetize tooth #12 and prepare the recipient site. The donor site was the palatine area; a graft about 1mm thick was obtained and sutured with 5-0 polyglycolic acid interrupted sutures. Both wounds were protected with periodontal dressings.

Two weeks afterward the sutures and periodontal dressings were removed. The patient was asked to wash her mouth with 0.12% Chlorhexidine gluconate oral rinse twice a day for another 2 weeks.

Root coverage procedure

Two months later, a periodontal surgery was performed to gain gingival height and thickness, where a coronal displacement was carried out plus subepithelial connective tissue graft (SCTG) application (*Figure 3A*).

The SCTG was taken from the palatine area; the adipose tissue and the underlying epithelium were removed (*Figure 3B*). The graft was applied at the recipient site and secured to the interdental papillae in a coronal position with suspensory sutures; later the coronal flap displacement was performed, combining 5-0 polyglycolic acid interrupted sutures with suspensory sutures.

At the end of the procedure, a periodontal dressing (Coe-pak) was placed at both surgical sites.

The patient was prescribed 600mg ibuprofen capsules and 0.12% Chlorhexidine gluconate oral rinse twice a day for 2 weeks.

Two weeks after the surgery the periodontal dressing and the sutures were removed. The patient showed no postoperative complications (*Figure 3C*).

RESULTS

Periodontal examinations were carried out periodically; 4 months after the second surgery, root coverage was about 90% in tooth #12. That is the reason that we decided to perform root coverage with the semilunar technique, which is indicated for small recessions with a good amount of attached gingiva (*Figure 3D*).

According to the clinical and radiographic follow-up performed at 6 months and at 1 year, the treatment was successful since the patient was asymptomatic and radiographically a repair of the periapical lesion was observed.

Two years after performing the procedures, soft tissue stability was observed, so at the patient's request the placement of the implant was postponed for as long as the tooth remained functional and did not present any symptoms (*Figures 4 A and B*).

At probing no periodontal pocket was found and the proper insertion of the graft was corroborated by clinically comparing the initial and final periodontal examination (*Figures 4 C and D*).

The patient was satisfied with the clinical results.

DISCUSSION

In this clinical case the performance of various periodontal surgical procedures allowed gaining a good quantity and quality of keratinized tissue, since one of the techniques used was the application of subepithelial connective tissue graft, which significantly reduces gingival recession in comparison with the sole performance of coronally displaced flap.¹¹

Other studies have shown that the modified coronally advanced flap combined with the subepithelial connective tissue graft is effective and predictable for producing root coverage in multiple adjacent gingival recessions associated with gain in clinical insertion levels and keratinized tissue width.^{12,13}

The coronally displaced flap procedure plus the subepithelial connective tissue graft provides better long-term results (60 months after surgery) than coronal displacement alone. The long-term stability of the gingival margin is less predictable for Miller class II gingival recession (GR) defects compared class I¹⁴ defects, although other results indicate that the treatment of Miller Class I and Class II adjacent multiple gingival recessions by using the modified coronally advanced tunnel technique and collagen matrix can result in statistically and clinically significant complete root coverage.¹⁵

Soft tissue grafting procedures are also important in areas around dental implants as they result in more

favorable peri-implant health by gaining keratinized mucosa. There is improvement in bleeding rates as well and higher marginal bone levels.¹⁶ Autogenous grafts (subepithelial connective tissue graft) allow an increase in soft tissue thickness, better esthetic results, and improved gingival biotype.¹⁷⁻¹⁹

Considering the initial clinical and radiographic findings, the treatment of choice for the patient's affected tooth was apexification. Several materials have been used to perform this procedure, such as Ca hydroxide, but this material has some disadvantages, such as multiple office visits over long periods of time, unpredictable results in the formation of an apical barrier, and above all, susceptibility to bacterial microfiltration and fracture.²⁰

Another widely used material is MTA. Some studies have shown its great biocompatibility, excellent sealing, and good marginal adaptation that reduces bacterial microfiltration. In addition, its use reduces significantly the long periods of treatment in comparison with the use of Ca hydroxide.

We used MTA as it has proven to be the best material to form an apical barrier in non-vital permanent teeth with open apex.²¹ Unlike other materials, MTA sets in the presence of moisture and its main component is calcium oxide, which is converted into Ca hydroxide that gives it a high pH with antibacterial effect. In addition, unlike Ca hydroxide alone, the material has good stability and low solubility.²²

As mentioned, the favorable results obtained with MTA were due to its properties, such as biocompatibility. Tawil PZ et al. showed that histologically new cementum is formed in the area of periradicular tissues. There is also a low inflammatory response with the formation of a bridge in the pulp space area. Thanks to the MTA sealing capacity it achieves a stable barrier avoiding bacterial and fluid contamination, which is an important aspect to obtain clinical success.²³

CONCLUSIONS

The case presented confirms that the use of MTA for treatment of teeth with open apex stimulates the regeneration of apical tissue. Also, the various techniques of mucogingival surgery that we used allowed us to gain or in this case to recover the soft tissues that had been lost around the patient's tooth; it was only a matter of good diagnosis and development of a treatment plan.

Finally, we can conclude that multidisciplinary work is important to achieve success and well-being of the patient.

Conflict of interest

The authors state no conflict of interest.

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Boynueğri D, Nemli SK, Kasko YA. Significance of keratinized mucosa around dental implants: a prospective comparative study. *Clin Oral Implants Res.* 2013; 24 (8): 928-933.
2. Wennström JL, Derks J. Is there a need for keratinized mucosa around implants to maintain health and tissue stability? *Clin Oral Implants Res.* 2012; 23 (6): 136-146.
3. Zigdon H, Machtei EE. The dimensions of keratinized mucosa around implants affect clinical and immunological parameters. *Clin Oral Implants Res.* 2008; 19 (4): 387-392.
4. Adibrad M, Shahabuei M, Sahabi M. Significance of the width of keratinized mucosa on the health status of the supporting tissue around implants supporting overdentures. *J Oral Implantol.* 2009; 35 (5): 232-237.
5. Bouri A Jr, Bissada N, Al-Zahrani MS, Faddoul F, Nouneh I. Width of keratinized gingiva and the health status of the supporting tissues around dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2008; 23 (2): 323-326.
6. Mingdeng R, Yanhong H, Haibin L, Gelin X, Shaobing L, Yuan S, et al. Application of periodontal microsurgery in the augmentation of attached gingiva around an implant. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2018; 36 (1): 71-75.
7. Jitaru S, Hodisan I, Timis L, Lucian A, Bud M. The use of bioceramics in endodontics- literatura review. *Clujul Med.* 2016; 89 (4): 470-473.
8. William N. Methodologies for measuring the setting times of mineral trioxide aggregate and Portland cement products used in dentistry. *Acta Biomater Odontol Scand.* 2016; 2 (1): 25-30.
9. Zand V, Lotfi M, Aghbali A, Mesgariabbasi M, Janani M, Mokhtari H, et al. Tissue reaction and biocompatibility of implanted mineral trioxide aggregate with silver nanoparticles in a rat model. *Iran Endod J.* 2016; 11 (1): 13-16.
10. Moore A, Howley MF, O'Connell AC. Treatment of open apex teeth using two types of white mineral trioxide aggregate after initial dressing with calcium hydroxide in children. *Dent Traumatol.* 2011; 27: 166-173.
11. Bellver-Fernández R, Martínez-Rodríguez AM, Gioia-Palavecino C, Caffesse RG, Peñarocha M. Surgical treatment of localized gingival recessions using coronally advanced flaps with or without subepithelial connective tissue graft. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2016; 21 (2): e222-228.
12. Carvalho PF, da Silva RC, Cury PR, Joly JC. Modified coronally advanced flap associated with a subepithelial connective tissue graft for the treatment of adjacent multiple gingival recessions. *J Periodontol.* 2006; 77 (11): 1901-1906.
13. Pini-Prato GP, Cairo F, Nieri M, Franceschi D, Rotundo R, Cortellini P. Coronally advanced flap versus connective tissue graft in the treatment of multiple gingival recessions: a split-mouth study with a 5-year follow-up. *J Clin Periodontol.* 2010; 37 (7): 644-650.
14. Kuis D, Sciran I, Lajnert V, Snjaric D, Prpic J, Pezelj-Ribaric S, et al. Coronally advanced flap alone or with connective tissue graft in the treatment of single gingival recession defects: a long-term randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2013; 84 (11): 1576-1585.
15. Molnár B, Aroca S, Keglevich T, Gera I, Windisch P, Stavropoulos A, et al. Treatment of multiple adjacent Miller Class I and II gingival recessions with collagen matrix and the modified coronally advanced tunnel technique. *Quintessence Int.* 2013; 44 (1): 17-24.

16. Thoma DS, Naenni N, Figuero E, Hämmerle CHF, Schwarz F, Jung RE, et al. Effects of soft tissue augmentation procedures on peri-implant health or disease: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Implants Res.* 2018; 29 (Suppl 15): 32-49.
17. Thoma DS, Buranawat B, Hämmerle CH, Held U, Jung RE. Efficacy of soft tissue augmentation around dental implants and in partially edentulous areas: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2014; 41 (Suppl 15): S77-91.
18. Esposito M, Maghaireh H, Grusovin MG, Ziounas I, Worthington HV. Soft tissue management for dental implants: what are the most effective techniques? A Cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol.* 2012; 5 (3): 221-238.
19. Batal H, Yavari A, Mehra P. Soft tissue surgery for implants. *Dent Clin North Am.* 2015; 59 (2): 471-491.
20. Escribano B, Micó P. MTA apical barrier: *in vitro* study of the use of ultrasonic vibration. *J Clin Exp Dent.* 2016; 8 (3): e318-321.
21. Tuloglu N, Bayrak S. Comparative evaluation of mineral trioxide aggregate and bioaggregate as apical barrier material in traumatized non vital, immature teeth: a clinical pilot study. *Niger J Clin Pract.* 2016; 19: 52-57.
22. Duarte MA, Demarchi AC, Yamashita JC, Kuga MC, de Fraga SC. Ph and calcium ion release of 2 root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003; 95 (3): 345-347. [PubMed: 12627108].
23. Tawil PZ, Trope M, Curran AE, Caplan DJ, Kirakozova A, Duggan DJ, Teixeira FB. Periapical microsurgery: an *in vivo* evaluation of endodontic root-end filling materials. *J Endod.* 2009; 35 (3): 357-62. [PubMed: 19249595].

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Vianey Lino Aguilar
vianperio@gmail.com



Injerto de dentina autógena aplicado para la preservación de reborde residual. Reporte de un caso clínico

Jessica Yazmín García Carrasco,* Alejandra Cabrera Coria,§ Santa Ponce Bravo^{||}

* Cirujana Dentista, egresada de Facultad de Odontología.

§ Profesora titular de tiempo completo, Facultad Odontología.

^{||} Profesora titular de tiempo completo y coordinadora de la Clínica de Recepción y Diagnóstico DEPEI, Facultad de Odontología.

Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

RESUMEN

La extracción de un diente conlleva en un futuro la pérdida de volumen en el reborde alveolar, por lo que existe un procedimiento al momento de la extracción dental, el cual es la preservación del alvéolo, esta preservación ayuda a limitar la reabsorción del reborde residual y maximizar la formación de tejido óseo dentro del alvéolo. El diente después de ser extraído es considerado como desperdicio dental, por lo que, a través de diversas investigaciones, se ha descubierto que tiene componentes similares al hueso, por eso puede ser considerado como un nuevo material de injerto. Se presenta el caso de un paciente en quien se realiza la preservación de alvéolo con injerto de dentina autógena utilizando el procedimiento con trituración y esterilización de las partículas del diente por medio del Smart Dentin Grinder de Kometa Bio®.

Palabras clave: Injerto de dentina autógena, extracción, preservación de reborde residual.

INTRODUCCIÓN

Cuando un diente es extraído se producen alteraciones en la cresta alveolar, la pérdida del ancho alveolar es de alrededor de 50%, de las cuales dos tercios ocurren durante los primeros tres meses. Araujo y Lindhe han demostrado que existen cambios dimensionales evidentes en la cresta siendo más pronunciados en la cortical vestibular, por este motivo el centro del reborde alveolar se desplaza en sentido lingual o palatino.¹⁻³

Para ayudar a minimizar la pérdida de volumen y maximizar la formación de tejido óseo dentro del alvéolo, se lleva a cabo al momento de la extracción la preservación de alvéolo, actualmente se cuenta con diversos biomateriales que se pueden colocar para su conservación.²

El hueso autógeno es el material ideal para la reconstrucción de defectos de tejidos duros porque promueve la osteogénesis, osteoinducción y osteoconducción, con la ventaja de un rápido tiempo de cicatrización sin inducir al rechazo inmunológico. Sin embargo, sus mayores deficiencias son el limitado vo-

lumen de injerto, así como una reabsorción del defecto secundario inducido por la zona donadora. Para superar estas limitaciones el xenoinjerto y aloinjerto se han utilizado como alternativas de material de injerto que tienen el riesgo de infección, por lo que existe otro material de injerto que es el aloplástico que no implica riesgo de infección, pero carece de la capacidad de promover la osteogénesis y la osteoinducción, por lo tanto su utilidad está limitada.^{4,5}

A partir de 1993 Kim y colaboradores⁶ iniciaron investigaciones para desarrollar un nuevo biomaterial de injerto utilizando dientes humanos; así en 2008 el Tooth Bank reportó en Corea el desarrollo de un material de injerto de hueso autógeno a partir de dientes extraídos preparados como polvo que se injertaba al paciente donante, éste promovió la regeneración ósea y superó las limitaciones del hueso autógeno, xenogénico y sintético, al cual nombraron AutoBT.^{4,5}

El diente y el hueso comparten muchas similitudes, ambos son embriológicamente originados de la cresta neural, de igual manera son estructuras compuestas que consisten de componentes orgánicos e inorgánicos, el diente se compone de cemento, el cual contiene 40-50% de contenido inorgánico, un contenido orgánico de 50-55% y 10% de agua; también la dentina tiene un contenido inorgánico de 70-75%, un contenido orgánico de 20% y agua en 10%. La composición inorgánica del hueso alveolar es de 65%, en tanto su composición orgánica equivale a 25% y de agua 10%.^{5,7}

Recibido: Noviembre 2018. Aceptado: Abril 2019.

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



El componente orgánico del diente en dentina y en cemento incluye colágeno tipo I en al menos 90%, el cual desempeña un rol importante en la mineralización y formación ósea y varios factores de crecimiento como proteínas morfogenéticas óseas (BMP), las cuales promueven la diferenciación de células madre mesenquimales en osteoblastos y en consecuencia mejoran la formación ósea. El resto son proteínas no colágenas (PNC), biopolímeros, lípidos, citratos y lactatos. Las PNC incluyen fosforina, sialoproteína, glicoproteína, osteocalcina, proteína de matriz de dentina-1, osterix, y factor fijador central alfa-1 por sus siglas en inglés «Cbfa-1» (*Core binding factor alpha-1*).^{7,8}

El componente inorgánico del diente incluye linaje de fosfato de calcio, colágeno e hidroxiapatita. La hidroxiapatita en dentina está estructurada de fosfato de calcio poco cristalino, lo que hace posible una futura remodelación ósea, en esmalte la hidroxiapatita está estructurada de fosfato de calcio altamente cristalino que evita la fácil descomposición de osteoclastos, lo que resulta en una reabsorción lenta y, por consiguiente, en una osteoconductividad deficiente.⁷

El hueso tiene un componente orgánico que predomina en alrededor de 80 a 90% y es colágeno tipo I.⁹

Los componentes inorgánicos del hueso se integran sobre todo de calcio y fósforo, además de otros elementos, entre ellos bicarbonato, citrato, magnesio, sodio y potasio. El calcio y el fósforo existen en particular en forma de cristales de hidroxiapatita, los cristales de hidroxiapatita están dispuestos en forma ordenada a lo largo de las fibras de colágeno tipo I.⁹

El hueso contiene además una matriz ósea donde se encuentran diversas glucoproteínas como osteocalcina (para la mineralización ósea), osteopontina (para la formación de sellado entre los osteoclastos y el compartimiento subosteoclástico), osteonectina (relacionada con la mineralización ósea) y sialoproteína ósea (une osteoblastos con la matriz extracelular), los osteoblastos derivan de células osteoprogenitoras y se desarrollan bajo la influencia de la familia de la proteína morfogenética ósea (BMP) y del factor de crecimiento transformador (FGT).⁷

En 2014, Binderman y colaboradores¹⁰ mostraron un nuevo procedimiento para triturar y clasificar los dientes extraídos (*Smart Dentin Grinder*) en una partícula de dentina de tamaño específico, aplicando dos líquidos para procesar las partículas de dentina y obtener un injerto de dentina autógena libre de bacterias en un transcurso de aproximadamente 15-20 minutos. Esto es aplicable en dientes que se extraen por razones periodontales o dientes impactados. Los dientes

que presentan tratamiento de conductos no son empleados en este procedimiento debido a la contaminación de materiales extraños.¹¹

El propósito de este estudio es evaluar el hueso neoformado a los 12 meses en un paciente que se presentó en la Facultad de Odontología, UNAM, donde se realizó el procedimiento de extracciones múltiples con preservación de alvéolo con uso del injerto de dentina autógena, analizando sus características clínicas, radiográficas e histológicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Paciente masculino de 57 años de edad, sistémicamente sano, casado, se presenta en la Facultad de Odontología (FO) UNAM, en la Clínica de Prostodoncia Total para la rehabilitación protésica del maxilar inferior, donde los dientes son diagnosticados protésicamente no viables para su rehabilitación, por lo que es referido a Clínica de Periodoncia de la FO UNAM

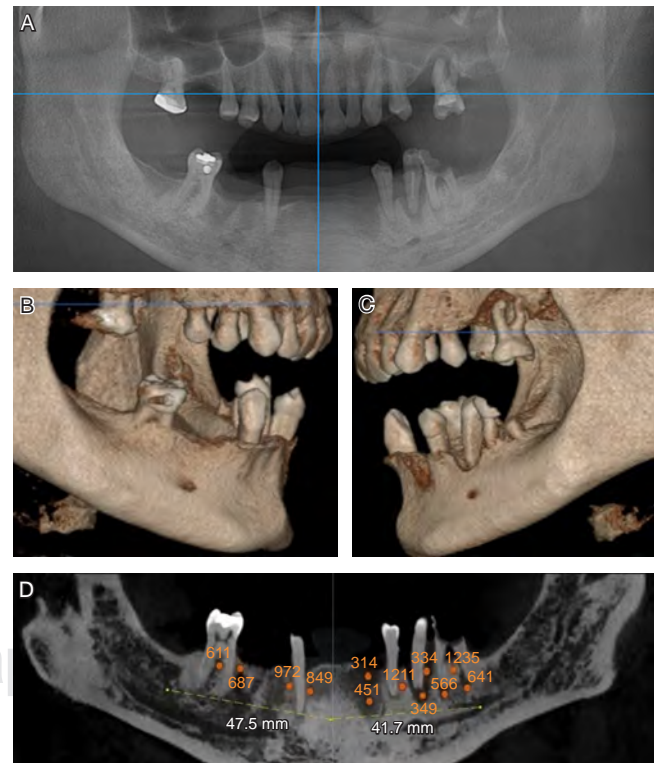


Figura 1: Imágenes radiográficas iniciales. **A)** Ortopantomografía inicial, **B)** Imagen tridimensional inicial derecha, **C)** Imagen tridimensional izquierda, **D)** Densidad ósea inicial.

Initial radiographic images A) Initial orthopantomography, B) Initial right tridimensional image, C) Left tridimensional image, D) Initial bone density.



Figura 2: Limpieza del diente de material ajeno con pieza de alta velocidad y fresa de carburo.

Teeth cleaning using a high-speed carbide bur.

para su diagnóstico solicitando extracciones múltiples con regularización del reborde residual.

En la Clínica de Periodoncia se llenó la historia clínica y un periodontograma, con base en ellos se estableció el diagnóstico periodontal de periodontitis generalizada estadio IV grado B, a continuación se decretó el plan de tratamiento que se le propuso al paciente, a quien se le explicó la metodología a seguir, se le dio

a leer la carta de consentimiento válidamente informado, el cual llenó y firmó, también se le pidió realizarse una ortopantomografía y una tomografía computarizada (TC) cone-beam para analizar con mayor exactitud la cantidad y calidad ósea previo al procedimiento quirúrgico (Figura 1).

Procedimiento quirúrgico: se inició anestesiando con lidocaína al 2% bajo la técnica regional mandibular y mentoniana para ambos cuadrantes, posteriormente se realizaron las extracciones atraumáticas de los dientes 34, 35, 36, 43 y 46.

Para la obtención de material de injerto de dentina autógena como criterio de inclusión se emplearon los dientes que protésicamente no eran viables para su rehabilitación, así como dientes sanos con materiales de restauración (metálicos y no metálicos), dientes con presencia de movilidad grado II y III de la clasificación de Miller. Como criterio de exclusión se evitó el uso de los dientes que tuvieron tratamiento de conductos.

En los dientes que cumplieran con estos criterios se procedió a eliminar los restos de ligamento periodontal, lesiones cariosas y restauraciones con el uso de una pieza de alta velocidad y una fresa de carburo (Figura 2), una vez obtenidos dientes limpios y secos éstos fueron colocados dentro de la cámara estéril del *Smart Dentin Grinder*, donde fueron triturados mediante cuatro segundos, seguidos por movimientos vibratorios durante 20 segundos (Figura 3 A y B); las partículas cayeron en dos compartimientos, en el pri-



Figura 3:

Proceso para obtención de material de injerto dentinario autógeno. **A)** Dientes limpios y secos, **B)** Colocación de dientes limpios en cámara estéril de *Smart Dentin Grinder*, **C)** Partículas de dientes trituradas de 300-1200 μm , **D)** Partículas de dientes triturados menores de 300 μm .

Process to obtain the material for autogenous dentin graft A) Clean and dry teeth; B) Placement of teeth inside the sterile chamber of the Smart Dentin Grinder®; C) Teeth particles ground to 300-1200 μm ; D) Teeth particles ground to less than 300 μm .

Figura 4:

Material para la esterilización del injerto de dentina autógena.

A) Presentación del limpiador básico de alcohol, **B)** Presentación de solución salina de fosfato estéril, **C)** Injerto de dentina autógena listo después de un lapso de 15 minutos.

Material for sterilization of the autogenous dentin graft A) Basic alcohol cleaner, B) Phosphate-buffered saline, C) Autogenous dentin graft ready after a 15-minute process.



mer compartimiento se encontraron partículas entre 300-1,200 μm (Figura 3C) y en el segundo compartimiento se observaron partículas menores de 300 μm , en este último el tamaño de las partículas es muy fino, por lo que no se consideró como material de injerto (Figura 3D).

Las partículas de dentina del primer compartimiento fueron recolectadas y colocadas en un recipiente estéril para ser sumergidas en alcohol básico por 10 minutos, el limpiador básico consistió en 0.5 M de NaOH y 20% de alcohol para desengrasar y disolver todos los residuos orgánicos, bacterias y toxinas de las partículas de dentina. Después de decantar las partículas con el limpiador químico básico de alcohol, se retiró el excedente. A continuación, las partículas fueron sumergidas en solución salina tamponada con fosfato estéril «PBS» (*Sterile Phosphate Buffered Saline*) durante cinco minutos, el PBS ayudó a decantar las partículas; una vez pasado este tiempo se eliminó el excedente dejándolas listas para injertar. El tiempo total de proceso fue de 15 minutos (Figura 4).

Posteriormente las partículas de dentina fueron colocadas dentro de los alvéolos (Figura 5), se cubrieron con una membrana de colágena (membracell de 30 x 30 mL) y se reposicionó el colgajo mucoperióstico de espesor total, a continuación se suturó con Vicryl 4-0 verificando que no hubiera presencia de sangrado.

Como medida profiláctica de antibiótico se medicó con amoxicilina de 500 mg cápsulas previo a la cirugía, posterior a la misma durante siete días cada ocho horas junto con analgésico y antiinflamatorio, así como el uso de clorhexidina al 0.2% como enjuague bucal cada 12 horas por cinco días.

A los seis y 12 meses posteriores a la cirugía se tomó una muestra de la zona injertada con una trefina

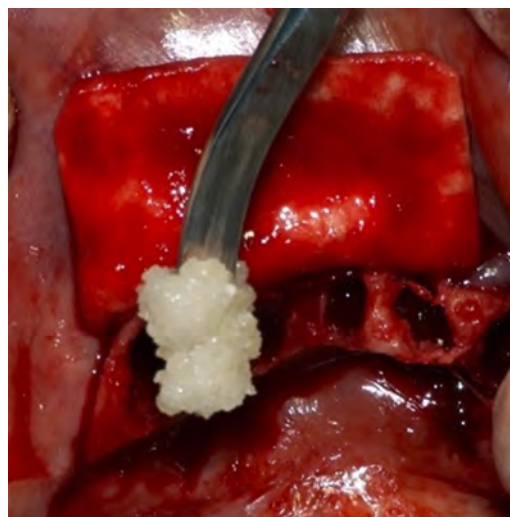


Figura 5: Colocación del injerto de dentina autógena dentro de los alvéolos y colocación de membrana de colágena.

Placement of the autogenous dentin graft into the alveoli and of the collagen membrane.

ósea de 5 mm de diámetro. La muestra se procesó para su estudio histopatológico, se embebió en parafina, se cortó a 1 μm , se tiñeron con hematoxilina y eosina, y tricrómica de Masson.

Posteriormente a los 12 meses de la cirugía se realizó una TC cone-beam.

RESULTADOS

El resultado clínico a los seis meses demostró que se apreciaba una banda adecuada de encía queratinizada color rosa salmón, la cual muestra un estado óptimo para su rehabilitación protésica. El

seguimiento clínico a 12 meses corroboró que la reabsorción ósea había sido mínima, lo que ayudó a que la prótesis mucosoportada aún presentara una buena retención, estabilidad y soporte, evitando el fácil desalojo de la misma.

La imagen radiográfica al primer mes posterior a la extracción mostró una buena integración sin ninguna alteración, al tercer mes mostró mayor radiodensidad ósea. En la TC realizada a los 12 meses se observó que la integración había sido completa, la calidad ósea en el área del injerto fue en su mayoría de D2 en la escala de Misch (*Figura 6*).

Los hallazgos histológicos a los seis meses presentados en la muestra teñida con hematoxilina y eosina (H y E) y posteriormente observados en el microscopio de barrido bajo la magnificación X100 arrojaron que el injerto de dentina autógena había sido reabsorbido y sustituido en su totalidad por un trabeculado óseo maduro con infiltrado inflamatorio y osteoblastos en la periferia (*Figura 7*), a los 12 meses se mostró mayor trabécula ósea compacta con gran cantidad de

tejido óseo maduro, así como mineralización de trabéculas y material osteoide (*Figura 8*).

DISCUSIÓN

Por más de 40 años los dientes autógenos se trasplantaron rutinariamente en alvéolos de reciente extracción. Fue evidente que los dientes que eran trasplantados se anquilosaban en el hueso de la mandíbula y sufrían aposición ósea del propio alvéolo durante cinco a ocho años.¹² Además, está documentado que los dientes avulsionados que se implantan de nuevo en el alvéolo se someten a una nueva reinscripción por el hueso que se forma directamente en la dentina o cemento de la raíz, dando lugar a anquilosis.¹³

Desde el primer resultado que demostró Urist¹⁴ en su estudio, en el que examinó la regeneración ósea después de colocar dientes desmineralizados en distintas partes del hueso como injerto, se han realizado diversas investigaciones como el estudio de Kim,⁶

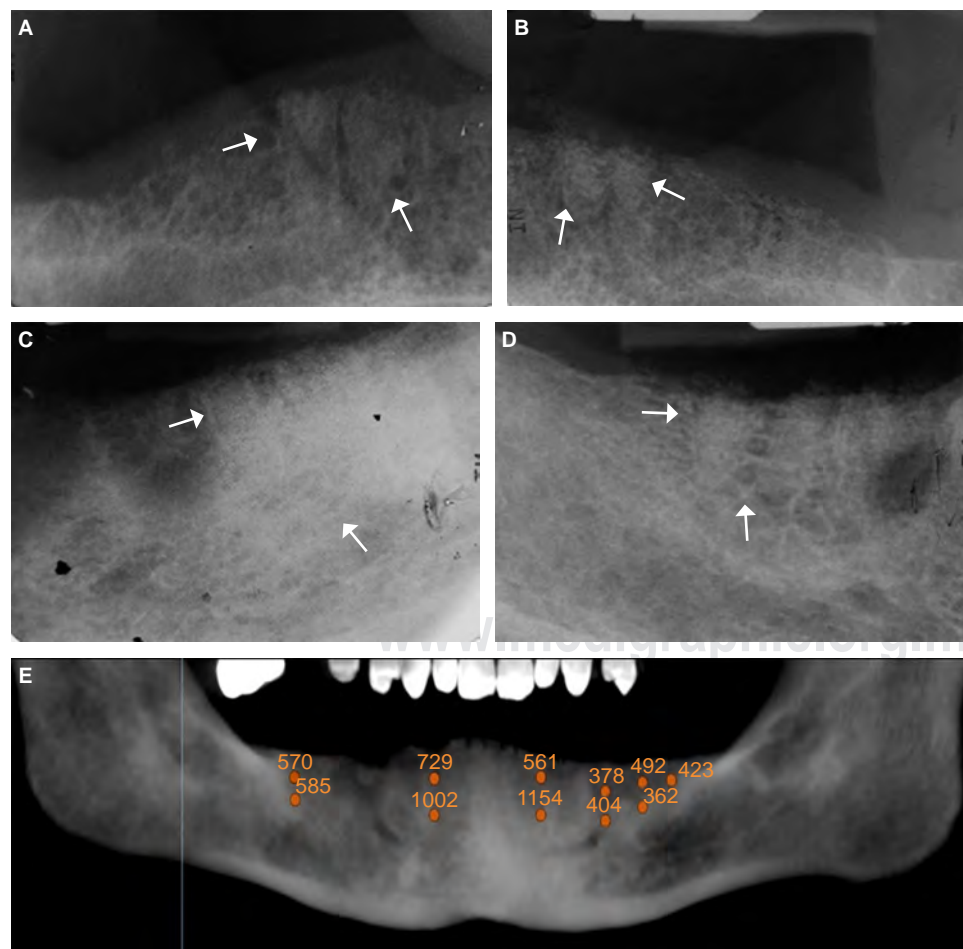


Figura 6:

Imagen radiográfica. **A)** Radiografía periapical al primer mes posterior a la cirugía del lado izquierdo flechas señalan lugar de colocación del injerto, **B)** Lado derecho, **C)** Radiografía periapical a los tres meses posteriores a la cirugía del lado izquierdo, **D)** Lado derecho, **E)** Densidad ósea posterior a 12 meses comparable lado derecho e izquierdo.

Radiographic images: A) Periapical radiography at first month after surgery; at the left side the arrows point to the site of graft placement; **B)** Right side; **C)** Periapical radiography at 3 months after surgery; left side; **D)** Right side; **E)** Bone density at 12 months after surgery; comparison of right and left side.

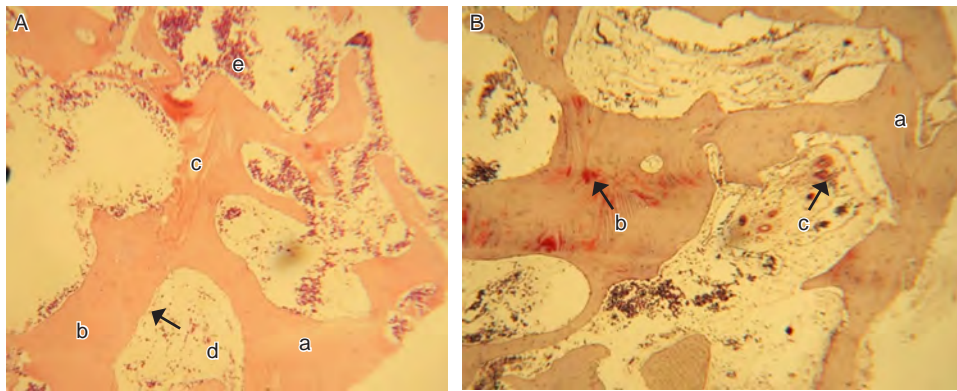


Figura 7: **A)** Biopsia incisional a los seis meses teñida con hematoxilina y eosina, donde se observa: **(a)** trabécula ósea, **(b)** osteocitos, **(c)** líneas concéntricas, **(d)** osteoblastos y **(e)** infiltrado inflamatorio, y **B)** Corte a los seis meses teñido con tricrómica de Masson, se observa mayor cantidad de tejido óseo maduro, **(a)** trabécula ósea compacta, **(b)** mineralización de trabéculas, **(c)** material osteoide.

A) *Incisional biopsy at 6 months following surgery after H&E staining where bone trabeculae (a), osteocytes (b), concentric lines (c), osteoblasts (d), and inflammatory infiltrate (e) are observed; B)* *Histological cut at 6 months following surgery after Masson's trichrome staining showing a larger amount of mature bone tissue, where compact bone trabeculae (a), trabeculae mineralization (b), and osteoid material (c) are observed.*

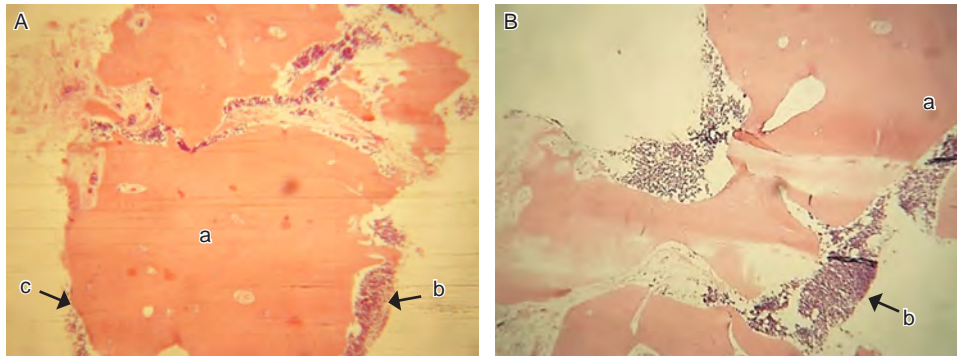


Figura 8: Cortes histológicos a los 12 meses teñidos con hematoxilina y eosina, **A)** se observa: **(a)** un mayor trabeculado óseo, **(b)** infiltrado inflamatorio, **(c)** osteoblastos y **B)** Se observa: **(a)** trabeculado óseo, **(b)** infiltrado inflamatorio.

Histological cuts at 12 months following surgery after H&E staining A) Larger bone trabeculae (a), inflammatory infiltrate (b), and osteoblasts (c) are observed; B) Bone trabeculae (a) and inflammatory infiltrate (b) are observed.

quien probó el uso de dientes procesados artificialmente como material de injerto y el informe de Murata,¹⁵ donde el hueso se generó a partir de un diente desmineralizado. Todos concluyeron que los componentes del diente como hidroxipatita y otras proteínas son similares a las del hueso.

Kim en otras investigaciones mencionó que el injerto con dentina autógena mostró una buena cicatrización y remodelado óseo a los tres meses, además de la reabsorción del material injertado a los seis meses donde se forma hueso nuevo, el cual puede ser usado en diversos procedimientos no sólo para

preservación de alvéolo, sino también para regeneración ósea guiada, aumento de reborde y en elevación de seno maxilar.¹⁶ Binderman también señaló que la colocación y carga de implantes puede llevarse a cabo en un periodo de dos a tres meses después del procedimiento quirúrgico;¹⁰ Calvo Guirado mencionó que la dentina mineralizada se remodela lentamente en comparación con el hueso cortical o la mayoría de los biomateriales;¹¹ el resultado histológico de este estudio indicó que el proceso de mineralización de las trabéculas óseas como mecanismo de inducción por el material injertado fue mayor a partir

de los seis meses, considerando a los 12 meses una formación ósea con una arquitectura bien definida, sin mostrar en este periodo ningún proceso infeccioso o rechazo del material de injerto.

Binderman mencionó que los patrones estructurales de la cresta residual y del mucoperiostio se mantienen por años.¹² Calvo Guirado en su estudio menciona que el patrón estético y estructural de la cresta alveolar y del mucoperiostio se mantienen durante años.¹³ Este estudio corroboró que el injerto de dentina autógena mantuvo un reborde residual con un patrón estético y estructural y un mucoperiostio aceptable, lo que favoreció la rehabilitación protésica, incluso a los 12 meses posteriores a la cirugía.

Además, la resultante radiográfica demostró que al primer y tercer mes el sitio donde el injerto de dentina autógena fue colocado mostró oseointegración sin indicio aparente de rechazo, a los 12 meses con la TAC cone-beam se observó una completa oseointegración del material de injerto.

Por lo tanto, en este artículo se puede reafirmar que los dientes del paciente que no son funcionales protésica o periodontalmente y que requieran su extracción, no deben descartarse como material de injerto, pueden convertirse en una dentina autógena lista para ser triturada en 15 minutos posterior a la extracción y ser injertada de manera inmediata en los alvéolos postextracción.

CONCLUSIÓN

El injerto de dentina autógena puede utilizarse como una alternativa de biomaterial óseo para la preservación de alvéolos debido a que sus componentes son muy similares al hueso y es muy útil para situaciones clínicas como elevación de seno maxilar para defectos óseos pequeños y grandes, ya que es un material que tiene bajo riesgo de rechazo inmunológico, promueve la formación de hueso por medio de osteoconducción y osteoinducción, proporciona una densidad ósea adecuada para la futura colocación de implantes y mantiene por mayor tiempo un adecuado patrón estético y estructural.

Clinical case

Clinical application of autogenous dentin graft for the preservation of residual ridge. A case report

Jessica Yazmín García Carrasco,* Alejandra Cabrera Coria,[§] Santa Ponce Bravo^{||}

* Dental Surgeon.

§ Full-time professor.

|| Full-time professor and Coordinator of the Admission and Diagnosis Clinic, DEPEl.

Faculty of Dentistry, National Autonomous University of Mexico (UNAM).

ABSTRACT

The extraction of a tooth leads to future volume loss in the alveolar ridge, so after tooth extraction a procedure for alveolus preservation should be carried out to limit the resorption of the residual ridge and maximize the formation of bone tissue inside the alveolus. After being extracted, the tooth is regarded as dental waste; however, several studies have found that teeth have some components similar to those of bone and can be used as a new graft material. Here we present a case of alveolus preservation through application of autogenous dentine graft; we performed the procedure of crushing and sterilization of the tooth particles using the KometaBioSmart Dentin Grinder®.

Keywords: Autogenous dentin graft, extraction, residual ridge preservation.

INTRODUCTION

Tooth extraction produces alterations in the alveolar ridge. The horizontal ridge loss is about 50%, of which two thirds occur during the first three months post extraction. Araujo and Lindhe showed that there are evident dimensional changes on the ridge and are more pronounced in the vestibular cortical bone. For this reason, the center of the alveolar ridge moves in a lingual or palatal direction.¹⁻³

To help minimize loss of ridge volume and maximize the formation of bone tissue, the alveolus must be preserved after tooth extraction. To that purpose, an array of biomaterials is currently available.²

Autogenous bone is the ideal material for reconstruction of hard tissue defects, as it encourages osteogenesis, osteoinduction, and osteoconduction, besides providing fast healing time and no immune rejection. Its greatest deficiencies, however, are the limited grafting volume and reabsorption of the secondary defect induced by the donor area. To overcome these limitations xenotransplantation and allotransplantation have been used as alternatives, but represent a risk of infection; thus, another graft material used is the alloplastic. Although this material does not involve infection risk, yet it lacks the ability to promote osteogenesis and osteoinduction, so its usefulness is limited.^{4,5}

In 1993, Kim et al.⁶ began researching to develop a new graft biomaterial using human teeth. In 2008 in the Korea Tooth Bank they reported the development of an autogenous bone graft material from extracted

teeth prepared as powder and grafted to the donor patient. The material, which they named AutoBT, promoted bone regeneration and overcome the limitations of autogenous, xenogeneic, and synthetic bone grafts.^{4,5}

Teeth and bone share many similarities. Both are embryologically originated from the neural crest; also, they are composite structures consisting of organic and inorganic components. The tooth is composed of cement, whose contents are 50-55% of organic matter, 40-50% of inorganic matter, and 10% water. Dentin has 20% organic and 70-75% inorganic content, as well as 10% water. On the other hand, the alveolar bone has 25% organic and 65% inorganic content, with 10% water.^{5,7}

The tooth organic components include at least 90% type I collagen, which plays an important role in mineralization and bone formation, and various growth factors, such as bone morphogenetic proteins (BMPs), which promote the differentiation of mesenchymal stem cells into osteoblasts and thus improve bone formation. The rest are noncollagenous proteins (NCPs), biopolymers, lipids, citrates, and lactates. NCPs include phosphorin, sialoprotein, glycoprotein, osteocalcin, dentin matrix protein1, osterix, and core-binding factor alpha-1.^{7,8}

The tooth inorganic components include calcium phosphate lineage, collagen, and hydroxyapatite. In dentin, hydroxyapatite is structured as low-crystalline calcium phosphate, which makes possible a future bone remodeling. In enamel, hydroxyapatite is structured as highly crystalline calcium phosphate that hampers the easy breakdown of osteoclasts, which results in slow reabsorption and therefore poor osteoconductivity.⁷

The predominating bone organic component –80 to 90%– is type I collagen.⁹

The inorganic components of bone are mainly calcium and phosphorus, as well as other elements, including bicarbonate, citrate, magnesium, sodium, and potassium. Calcium and phosphorus are present in particular in the form of hydroxyapatite crystals, which are arranged neatly along type I collagen fibers.⁹

The bone also contains a bone matrix where various glycoproteins are found, such as osteocalcin (for bone mineralization), osteopontin (for sealing formation between osteoclasts and sub-osteoclastic compartments), osteonectin (also related to bone mineralization), and bone sialoprotein (which binds osteoblasts with the extracellular matrix). Osteoblasts are derived from osteoprogenitor cells and develop under the influence of the bone morphogenetic protein (BMP) family and the transforming growth factor (TGF).⁷

In 2014, Binderman et al.¹⁰ showed a new procedure (Smart Dentin Grinder) for crushing and classifying extracted teeth using a specific sized dentin particle. They applied two liquids to process the dentin particles and obtained a graft from bacteria-free autogenous dentin over approximately 15-20 minutes. This works on teeth extracted for periodontal reasons or on impacted teeth. Teeth with root canal treatment cannot be used in this procedure due to foreign material contamination.¹¹

The aim of this study is to evaluate the clinical, radiographic, and histological characteristics of bone newly formed at 12 months in a patient that underwent a multi-extraction procedure with alveoli preservation using autogenous dentin graft.

MATERIAL AND METHODS

A 57-year-old male patient presented to the total prosthodontic clinic of the UNAM Faculty of Dentistry (FD) for mandibular prosthetic rehabilitation. His teeth were beyond repair and he was referred to the UNAM FD periodontal clinic for multiple extractions with postextraction maintenance of the alveolar ridge.

In the periodontics clinic the clinical history was performed and a periodontogram was taken. The patient was systemically healthy, but was diagnosed with generalized periodontitis, stage IV grade B. Subsequently, a treatment plan was established and explained to the patient, who agreed and signed an informed consent form. He was asked to have an orthopantomography and a cone-beam CT scan done to analyze more accurately bone quantity and quality before the surgical procedure (*Figure 1*).

Surgical procedure: Local analgesia was given (2 percent lidocaine) using the regional mandibular and mental anesthesia technique for both quadrants. Afterward atraumatic extractions of teeth #34, #35, #36, #43, and #46 were performed.

Autogenous dentin graft material was obtained from teeth beyond rehabilitation as well as healthy teeth with restorations (metallic and non-metallic materials) and teeth with grade II and III mobility according to Miller's classification. Teeth with canal root treatment were excluded.

In teeth that met the inclusion criteria traces of periodontal ligament, carious lesions, and restorations were removed using a high-speed carbide bur (*Figure 2*). Once teeth were dry and clean, they were placed inside the sterile chamber of the Smart Dentin Grinder® and were crushed for 4 seconds, followed by vibratory movements for 20 seconds (*Figure 3 A and B*). The particles fell into two compartments; in the first

compartment fell those particles between 300-1200 μm (*Figure 3C*), and in the second those particles less than 300 μm . The size of the latter particles was too fine, so they were not suitable as graft material (*Figure 3D*).

The dentin particles from the first compartment were collected and placed in a sterile container to be submerged in basic alcohol cleaner for 10 minutes. The cleaner consisted of 0.5 M sodium hydroxide and 20% ethanol, and dissolved all organic residues, bacteria, and toxins from dentin particles. After decantation, the cleaner surplus was removed. The particles were then submerged into PBS (phosphate-buffered saline) for 5 minutes and decanted again; the buffer solution surplus was removed and the particles were ready to be used. The total processing time was 15 minutes (*Figure 4*).

Subsequently, the dentin particles were placed inside the alveoli (*Figure 5*) and covered with a collagen membrane (Membracel[®], 30 x 30 mm). The full-thickness mucoperiosteal flap was repositioned, and suturing was done using Vicryl 4-0 checking there was no bleeding.

As a prophylactic measure, amoxicillin 500 mg was given prior to surgery, and was prescribed after surgery for 7 days every 8 hours along with an anti-inflammatory analgesic, as well as use of chlorhexidine 0.2% mouthwash every 12 hours for 5 days.

At 6 and 12 months after surgery, a sample of the grafted area was obtained using a 5-mm diameter bone trephine. The sample was processed for histopathological study, embedded in paraffin, cut to 1 μm , and stained with hematoxylin and eosin, and Masson's trichrome stain.

Twelve months after surgery, a cone beam CT was performed.

RESULTS

At 6 months the graft area had an adequate keratinized gingiva of salmon pink color that showed an optimal state for prosthetic rehabilitation. The twelve-month clinical follow-up confirmed minimal bone reabsorption which helped the muco-supported prosthesis to still have good retention, stability, and support.

The radiograph taken the first month after extraction showed good integration and no alteration; at the third month the radiograph exhibited higher bone radiodensity. The CT performed at 12 months showed complete integration; the bone density in the graft area was mostly D2 according to Misch scale (*Figure 6*).

At six months after surgery histological samples stained with hematoxylin and eosin (H&E staining)

observed under scanning electron microscope at X100 magnification showed that the autogenous dentin graft had been reabsorbed and replaced entirely by mature bone trabeculae with inflammatory infiltrate and osteoblasts at the periphery (*Figure 7*). At 12 months larger compact bone trabeculae was shown with a large amount of mature bone tissue, as well as trabeculae mineralization and osteoid material (*Figure 8*).

DISCUSSION

For more than 40 years, autogenous tooth transplantation, i.e. the movement of a tooth into the empty alveolus of a recently extracted tooth in the mouth of the same individual, was routinely carried out. However, it was evident that the transplanted tooth suffered bone resorption from the alveolus itself in the following 5-8 years.¹² In addition, it is documented that the avulsed tooth that is implanted again in the alveolus may undergo root resorption resulting in ankylosis.¹³

Since the first findings of Urist,¹⁴ who examined bone regeneration after placing demineralized teeth in different parts of bone as grafts, some investigations have been conducted, such as that of Kim et al.,⁶ who tested the use of artificially processed teeth as graft material; and that of Murata et al.,¹⁵ where bone was generated from a demineralized tooth. All researchers concluded that tooth components such as hydroxyapatite and other proteins are similar to some components of bone.

Kim et al., in other research, observed that a graft with autogenous dentin shows good scarring and bone remodeling at 3 months. In addition, grafted material is resorbed at 6 months and new bone is formed, which can be used in various procedures not only for the preservation of alveoli, but also for guided bone regeneration, ridge augmentation, and maxillary sinus elevation.¹⁶ Binderman et al. also noted that implant placement and loading can be carried out within 2 to 3 months after the surgical procedure.¹⁰ Furthermore, Calvo Guirado found that mineralized dentin is slowly reshaped compared with cortical bone or most biomaterials.¹¹ The histological results of this study showed that the process of mineralization of bone trabeculae, as an induction mechanism by the grafted material, was greater from 6 months on, and at 12 months newly formed bone had a well-defined architecture, without showing during this period some infectious process or rejection of the graft material.

Sperling et al. observed that the structural patterns of the residual ridge and the mucoperiosteum are maintained for years.¹² Calvo Guirado also found that

the structural and esthetic patterns of the alveolar ridge and the mucoperiostium are maintained for years.¹³ The latter study confirmed that the autogenous dentin graft maintained a residual ridge and mucoperiostium with acceptable structural and esthetic patterns, favoring prosthetic rehabilitation even 12 months after surgery.

In our study, radiographic images showed that at the first and third months the site of the autogenous dentin graft exhibited osseointegration and no apparent sign of rejection. At 12 months, a cone beam CT showed a complete osseointegration of the graft material.

Therefore, we can conclude that teeth that are nonfunctional or cannot be used as implants and must be extracted should not be discarded as graft material. They can become autogenic dentin ready to be crushed within 15 minutes after extraction and can be grafted immediately into the empty alveolus.

CONCLUSION

The autogenous dentin graft can be used as a bone biomaterial alternative for the preservation of alveoli because its components are very similar to those of bone. This kind of graft is useful for clinical situations such as maxillary sinus elevation and bone defects. The graft is made of a material that has a low risk of immune rejection, promotes bone formation through osteoconduction and osteoinduction, provides proper bone density for future implant placement, and maintains for longer time an adequate structural and esthetic pattern.

REFERENCIAS / REFERENCES

- García GM, Yassin GS, Bascones MA. Técnicas de preservación de alvéolo y aumento del reborde alveolar: revisión de la literatura. *Av Periodo Implantol*. 2016; 28 (2): 71-81.
- López RC, Ferrer BM. Evaluación clínica e imagenológica de dos técnicas de preservación de reborde alveolar post exodoncia. *Int J Odontostomat*. 2015; 9 (3): 419-426.
- Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol*. 2005; 32 (2): 212-218.
- Kim YK, Kim SG, Byeon JH, Lee HJ, Um IU, Lim SC, et al. Development of a novel bone grafting material using autogenous teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2010; 109 (4): 496-503.
- Kim YK, Kim SG, Yun PY, Yeo IS, Jin SC, Oh JS, et al. Autogenous teeth used for bone grafting: a comparison with traditional grafting materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014; 117 (1): e39-45.
- Kim YK, Yeo HH, Ryu CH, Lee HB, UR B, Cho JE. An experimental study on the tissue reaction of tooth as implanted in mandible body of the mature dog. *J Korean Assoc Maxillofac Plast Reconstr Surg*. 1993; 15: 129-136.
- Young-Kyun K, Juhno L, In-Woong U, Kyung-Woo K, Masaru M, Toshiyuki A, Masharu M. Tooth derived bone graft material. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2013; 39 (3): 103-111.
- Young-Kyun K. Bone graft material using teeth. *J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg*. 2012; 38: 134-138.
- Gartner LP. *Texto y atlas de histología*. 3a ed. Mc Graw Hill. 2008.
- Binderman I, Hallel G, Nardy C, Yaffe A, Sapoznikov L. A novel procedure to process extracted teeth for immediate grafting of autogenous dentin. *J Interdiscipl Med Dent Sci*. 2014; 2 (6): 1-5.
- Calvo Guirardo JL. Nuevo procedimiento para procesar los dientes extraídos como injerto en alveolos postextracción. *Gaceta dental: Industria y profesiones*. 2017; 290: 96-113.
- Sperling I, Itzkowitz D, Kaufman A, Binderman I. A new treatment of hetero transplanted teeth to prevent progression of root resorption. *Endod Dent Traumatol*. 1986; 2: 117-120.
- Andersson L, Boddin I, Sörensen S. Progression of root resorption following replantation of human teeth after extended extraoral storage. *Endod Dent Traumatol*. 1989; 5: 38-47.
- Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965; 150: 893-9.
- Murata M, Akazawa T, Takahata M, Ito M, Tazaki J, Hino J, et al. Bone induction of human tooth and bone crushed by newly developed automatic mil. *J Ceram Soc Jpn*. 2010; 118: 434-437.
- Young-Kyun K, Yeong Keun L. Healing mechanism and clinical application of autogenous tooth bone graft material. *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*. Corea INTECH; 2013. 405-433.

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Jessica García Carrasco
E-mail: garcarr08@gmail.com



Molar superior con dos conductos palatinos. Reporte de Caso

Fernando Tenorio Rocha,* Paola Campos Ibarra,§ Nallely Berenice Romero Martínez,||
David Carmona Herrera,¶ Eilen Oviedo González**

* Departamento de Patología Bucal, ENES UNAM Unidad León, Guanajuato, México.

§ Clínica de Profundización Endodoncia y Periodoncia, ENES UNAM Unidad León, Guanajuato, México.

|| Estudiante de Odontología, ENES UNAM Unidad León, Guanajuato, México.

¶ Facultad de Odontología UNAM.

** Universidad Pedagógica Nacional.

RESUMEN

Las variantes anatómicas del primer molar superior incluyen con mayor frecuencia la presencia de un segundo conducto en la raíz mesial. Sin embargo, hay escasos reportes sobre la presencia de dos conductos en la raíz palatina (0.04% del total de molares superiores). Se presenta un caso de un primer molar superior con diagnóstico de necrosis pulpar con periodontitis apical sintomática. Al realizar el acceso y la exploración del piso de la cámara pulpar se encontraron dos entradas de conductos en la región de la raíz palatina. Se realizan radiografías de conductometría, conometría y prueba de obturación. Se realza la importancia del uso de los auxiliares de diagnóstico imagenológicos, estando siempre alertas a la posibilidad de encontrarse con variantes anatómicas locorregionales.

Palabras clave: Conductos radiculares palatinos, obturación, variante anatómica, molares superiores, endodoncia.

Estimados señores:

El reconocimiento de las variantes anatómicas del sistema de conductos radiculares es primordial para llevar a cabo un tratamiento endodóncico exitoso.¹ En particular los molares maxilares tienen una anatomía compleja.²⁻⁴ Se ha reportado que el primero, segundo y tercer molar superiores muestran tres canales en 75, 58 y 68% del total de ellos, respectivamente;⁵ mientras que 25% de los primeros molares superiores, 42% de los segundos molares y 32% de los terceros molares presentan cuatro conductos.^{5,6} Es relevante mencionar que los cambios morfológicos que dificultan la localización de conductos pueden estar asociados a la edad y a la persistencia de caries o restauraciones defectuosas.^{7,8}

La raíz mesiovestibular es la que con mayor frecuencia presenta dos conductos radiculares; sin embargo, a pesar de que la raíz palatina tiene una incidencia baja en cuanto a variaciones anatómicas se refiere, se

ha reportado en un rango que oscila entre 0.4 y 1.4% de incidencia de dos conductos o raíces palatinas independientes, por lo que en los últimos años se han propuesto métodos de diagnóstico mínimamente invasivos, tales como la radiografía digital, la tomografía y en la actualidad la microtomografía computarizada para una evaluación tridimensional del sistema de conductos radiculares.⁹⁻¹¹ En cuanto a diferencias entre primeros y segundos molares Christie (1991)⁴ realizó un estudio retrospectivo asociado a anomalías palatinas sugiriendo que estas alteraciones tenían mayor incidencia en segundos molares que en primeros molares.⁴

Presentamos un caso de un primer molar superior que presentó dos conductos radiculares en la raíz palatina.

Paciente femenino de 34 años de edad, sin alteración sistémica al momento del interrogatorio, que acudió a una Clínica de Enseñanza Odontológica de la Escuela Nacional de Estudios Superiores, Unidad León de la UNAM, por referir dolor del órgano dental 16 al masticar. A la exploración clínica se observó una restauración con amalgama mal ajustada y mediante una radiografía se percibió un ensanchamiento del espacio del ligamento periodontal en la porción mesial de la raíz palatina (*Figura 1A*). Se realizaron pruebas de vitalidad pulpar de frío y calor, que dieron negativo, mientras que las pruebas periodontales de

Recibido: Julio 2019. Aceptado: Agosto 2019.

© 2019 Universidad Nacional Autónoma de México, [Facultad de Odontología]. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



percusión horizontal y vertical fueron positivas, por lo que se emitió un diagnóstico de necrosis pulpar con periodontitis apical sintomática. Previa a la realización de historia clínica y obtención del consentimiento informado, se anestesió a la paciente usando solución mepivacaína al 2% con epinefrina 1:80.000 (ZEYCO, EUA). Posterior al aislamiento absoluto con dique de hule (NicTone, Romania) y grapa número ocho (Hu-Friedy, EUA) se realizó cavidad de acceso, eliminación de caries y eliminación de la restauración desajustada con fresa de carburo de bola número cuatro (Hager & Meisinger, Alemania). En la exploración del piso de la cámara pulpar se observaron cuatro conductos, se procedió a irrigar profusa y repetidamente con hipoclorito de sodio al 5% para eliminar el tejido necrótico y microorganismos. Se realizó instrumentación del sistema de conductos con el sistema Protaper Next (Dentsply Maillefer, Suiza). Se utilizó localizador de ápices Root ZX Mini de J Morita (MFG Corp., Japón) para determinar la longitud real; además se obtuvieron radiografías para corroborar que dicha longitud fuera la correcta (*Figura 1B*), observándose que correspondía a una nemotecnia según Álvarez 2:1 para la raíz palatina, es decir, dos conductos que inician en el piso de la cámara pulpar y a nivel apical tenían sólo un foramen. Se colocó hidróxido de calcio como me-

dicación intraconducto y se obturó con IRM (Dentsply Maillefer, Suiza) como restauración provisional.

La paciente acudió a los siete días posteriores, se anestesió, se aisló y se eliminó la restauración provisional, se irrigó y eliminó la medicación intraconducto. Se colocaron conos maestros para realizar conometría y obturación con técnica lateral modificada con ultrasonido con gutapercha Hygenic (Akron, Alemania). Por último, se recortó gutapercha con glick, se condensó y se obtuvo radiografía final (*Figura 1C*). Se restauró el diente con corona de disilicato de litio y se realizó un control clínico y radiográfico a un año donde se observó disminución de la lesión, y la paciente se encuentra asintomática (*Figura 1D*).

El conocimiento de la anatomía del sistema de conductos radiculares es fundamental para identificar posibles alteraciones anatómicas y establecer un correcto diagnóstico clínico y radiográfico.¹² En 1974 se reportó por primera vez un molar con alteración anatómica en la raíz palatina.⁴ Aunque a la fecha no se ha establecido una causa determinante para los polimorfismos de conductos radiculares, una posibilidad pudiera ser la participación de la proteína morfogenética ósea 4 (BMP-4), ya que desempeña un papel importante durante el desarrollo embrionario de los dientes y huesos. Sin embargo, no ha sido evaluada esta po-

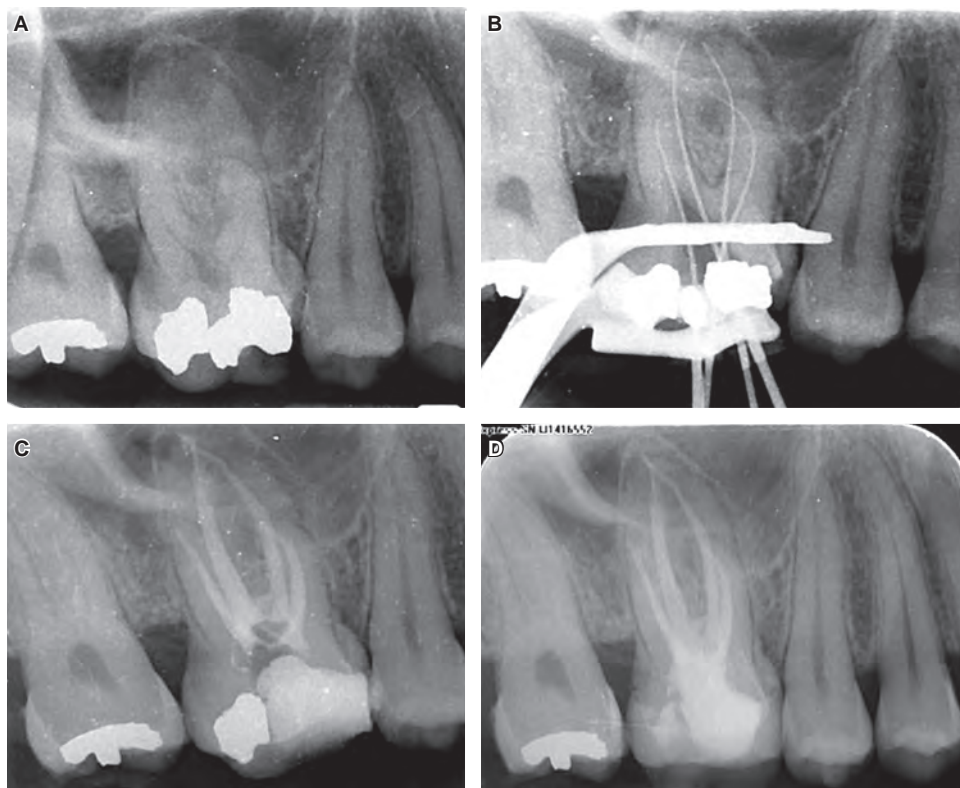


Figura 1.

A) Radiografía inicial, paciente con diagnóstico de necrosis pulpar y periodontitis apical sintomática, **B)** conductometría real y evidencia radiográfica de dos conductos palatinos (2:1), **C)** radiografía final y tratamiento de conductos concluido, **D)** radiografía de control a 12 meses.

A) Initial radiography, patient with diagnosis of pulp necrosis and symptomatic apical periodontitis, **B)** real conductometry and radiographic evidence of two palatal ducts (2:1), **C)** final radiography and root canal treatment completed, **D)** radiography of 12-month control

sibilidad biológica.¹³ El presente caso muestra una alteración anatómica sumamente rara que, gracias a los auxiliares diagnósticos básicos, fue posible identificarla. Además de la valoración endodóncica, es importante realizar valoración periodontal con la finalidad de preservar el mayor tiempo posible del diente en la boca; así como promover la restauración final, que en este caso se realizó con disilicato de litio, ya que proporciona una restauración útil bajo cargas oclusales normales y debido a su resistencia puede utilizarse para una amplia gama de indicaciones, incluyendo coronas posteriores, además de su tonalidad natural para soluciones altamente estéticas.¹⁴

Letter to the editor

First maxillary molar with two palatal root canals. A case report

Fernando Tenorio Rocha,* Paola Campos Ibarra,[§] Nallely Berenice Romero Martínez,^{||} David Carmona Herrera,[§] Eilen Oviedo González[¶]

* Department of Oral Pathology, National School of Higher Studies-Leon Campus, National Autonomous University of Mexico, Guanajuato, Mexico.

[§] In-Depth Endodontics and Periodontics Clinic, National School of Higher Studies-Leon Campus, National Autonomous University of Mexico, Guanajuato, Mexico.

^{||} Dentistry Bachelor, National School of Higher Studies-Leon Campus, National Autonomous University of Mexico, Guanajuato, Mexico.

[¶] National Pedagogical University.

ABSTRACT

Anatomical variations of the first upper molar most often include the presence of a second canal in the mesial root. However, some studies report the presence of two canals in the palatine root (0.04% of the total upper molars). A case of a first upper molar with a diagnosis of pulp necrosis with symptomatic apical periodontitis is presented. Upon exploration of the pulp chamber floor, two canal entries were found in the palatine root region. Root canal length and taper were assessed by radiography, and obturation test was performed. The relevance of diagnostic imaging assistants as aids for the detection of locoregional anatomical variants is emphasized.

Keywords: Palatal root canals, obturation, anatomical variation, maxillary molars, endodontics.

Dear Editorial Board members:

Knowledge of anatomical variants of the root canal system is a key factor for a successful endodontic treatment.¹ In particular, the maxillary molars have a complex anatomy.²⁻⁴ The first, second,

and third upper molars have been reported to have three canals in 75, 58, and 68% of the total molars, respectively,⁵ whereas 25, 42, and 32% of the first, second, and third upper molars, respectively, have four canals.^{5,6} It is noteworthy that morphological changes that hinder canal localization may be associated with age and persistence of cavities or defective restorations.^{7,8}

The mesio-vestibular root most commonly has two canals. As for the palatal root, it has a low incidence of anatomical variations, with an incidence ranging from 0.4 to 1.4% for two independent palatal canals or roots. In recent years, minimally invasive diagnostic methods have been proposed, such as digital radiography, tomography, and currently, microcomputed tomography (micro-CT), for a three-dimensional evaluation of the root canal system.⁹⁻¹¹ Regarding differences between first and second molars, Christie et al. conducted a retrospective study about palatal anomalies and found that these alterations had a higher incidence in second than in first molars.⁴

We report a case of a first upper molar with two root canals in the palatal root. A 34-year-old female patient presented at the dental teaching clinic of the National School of Higher Studies, UNAM, Leon Campus, complaining about pain at chewing in tooth #16. At the time of interrogation the patient had no systemic alteration. Clinical exploration showed a restoration with poorly adjusted amalgam and a radiograph revealed widening of the space of the periodontal ligament in the mesial portion of the palatal root (*Figure 1A*). Cold and heat pulp vitality tests were performed with negative results, whereas periodontal horizontal and vertical percussion tests were positive. The diagnosis was pulp necrosis with symptomatic apical periodontitis. The medical history was performed and informed consent was obtained.

The patient was anesthetized using 2% mepivacaine solution with epinephrine 1:80,000 (ZEYCO, USA). After isolation with rubber dam (NicTone, Romania) and rubber dam clamp No. 8 (Hu-Friedy, USA), access cavity was performed, caries was eliminated, and the poorly fitting restoration was removed with No. 4 carbide ball nose cutter (Hager & Meisinger, Germany). In the examination of the pulp chamber floor 4 canals were observed. Profuse and repeated irrigation with sodium hypochlorite 5% was done to remove necrotic tissue and microorganisms. Canal system instrumentation was carried out with Pro Taper Next system (Dentsply Maillefer, Switzerland). J Morita Root ZX Mini apex locator (MFG Corp, Japan) was used to determine working length, which was confirmed by radiography (*Figure*

1B). Canal morphology corresponded to a 2:1 ratio for palatal root according to Alvarez method; that is, two canals that start on the floor of the pulp chamber and only one foramen at apical level. Calcium hydroxide was placed as intracanal medication, and IRM (Dentsply Maillefer, Switzerland) was used for sealing temporary restoration.

The patient returned seven days later. The provisional restoration was removed and the intracanal medication was irrigated and eliminated. The master cone was placed and obturation was performed by lateral technique modified with ultrasonic instrument with Hygenic gutta-perch points (Akron, Germany). Lastly, gutta-percha was cut off with a Glick blade and condensed, and final radiograph was taken (Figure 1C). The tooth was restored placing a lithium disilicate crown and clinical and radiographic control was carried out at 1 year after the intervention. A decreased injury was observed and the patient was asymptomatic (Figure 1D).

Knowledge of the anatomy of the root canal system is essential to identify possible anatomical alterations and establish correct clinical and radiographic diagnosis.¹² A molar with anatomical alteration in the palatine root⁴ was first reported in 1974. Although no determinative cause has so far been established for root canal polymorphisms, one possibility could be the participation of bone morphogenetic protein 4 (BMP-4), which plays an important role during embryonic development of teeth and bones. This biological possibility, however, has not been evaluated.¹³ The case that we present here shows a very rare anatomical alteration detected thanks to diagnostic aids. In addition to the endodontic evaluation, it is important to perform a periodontal evaluation to preserve the tooth functionality as long as possible. In this case, we carried out a final restoration using lithium disilicate, which is a resistant material that works well under normal occlusal loading, besides providing a highly aesthetic solution because of its natural tone. The material can also be used for a wide range of indications, including fabrication of posterior crowns.¹⁴

REFERENCIAS / REFERENCES

1. Tian X, Yang X, Qian L, Wei B, Gong Y. Analysis of the root and canal morphologies in maxillary first and second molars in a Chinese population using cone-beam computed tomography. *J Endodontics*. 2016; 42 (5): 696-701.
2. Briseño-Marroquín B, Paqué F, Maier K, Brita W, Gerhard Wolf T. Root canal morphology and configuration of 179 maxillary first molars by means of micro-computed tomography: an *ex vivo* study. *J Endodontics*. 2015; 41 (12): 2008-2013.
3. Baratto FF, Zaitter S, Haragushiku GA, De Campos EA, Abuabara A, Correr GM. Analysis of the internal anatomy of maxillary first molars by using different methods. *J Endod*. 2009; 35 (3): 337-342.
4. Christie WH, Peikoff D, Fogel HM. Maxillary molars with two palatal roots: a retrospective clinical study. *J Endodontics*. 1991; 17 (2): 80-84.
5. Pecora J, Woelfel B, Sousa D, Pacheco E. Morphologic study of the maxillary molars part II: internal anatomy. *Braz Dent J*. 1992; 3: 53-57.
6. Rahimi S, Ghasemi N. Maxillary first molar with two root canals. *Sultan Qaboos Univ Med J*. 2013; 13 (2): 246-249.
7. Kim Y, Seung-Jong L, Woo J. Morphology of maxillary first and second molars analyzed by cone-beam computed tomography in a Korean population: variations in the number of roots and canals and the incidence of fusion. *J Endodontics*. 2012; 38 (8): 1063-1068.
8. Holderrieth S, Gernhardt CR. Maxillary molars with morphologic variations of the palatal root canals: a report of four cases. *J Endodontics*. 2009; 35 (7): 1060-1065.
9. Barbizam JV, Ribeiro RG, Tanomaru-Filho M. Unusual anatomy of permanent maxillary molars. *J Endodontics*. 2004; 30(9): 668-671.
10. Shojaeian S, Ghodousi J, Hajian S. A case report of maxillary second molar with two palatal root canals and a furcal enamel pearl. *Iran Endod J*. 2013; 8 (1): 37-39.
11. Shakouie S, Mokhtari H, Ghasemi N, Gholizadeh S. Two-rooted maxillary first molars with two canals: a case series. *Iran Endod J*. 2013; 8 (1): 29-32.
12. Hernández N, Campos P, Dávila G, Camacho A, Tenorio F. *Dens invaginatus*: reporte de un caso clínico. *Rev Odont Mex*. 2018; 22 (3): 165-169.
13. Tenorio F, Campos P, Camacho A, Dávila G, Buelna M. Molar superior con dos raíces palatinas: descripción de un caso. *Universitas Odontológica*. 2019; 38 (80): 1-12. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.uo38-80.msdr>.
14. Lund C, Guevara P. The effect of endodontic access on the failure load of lithium disilicate and resin nanoceramic CAD/CAM crowns. *Gen Dent*. 2018; 66 (2): 54-59.

Dirección para correspondencia/
Mailing address:
Mtra. Paola Campos Ibarra
E-mail: diente8@gmail.com



ASPECTOS GENERALES

La Revista Odontológica Mexicana (ROM) publica artículos de investigación original, reportes de caso clínico y revisiones de la literatura relacionadas con aspectos científicos de la odontología, en idioma español e inglés.

Se exhorta a los autores a revisar minuciosamente su manuscrito en aspectos ortográficos y gramaticales. Es importante resaltar que la claridad en la lectura es una de las características más importantes del discurso científico. Los artículos científicos deben ser precisos en su contenido. El Comité Editorial se reserva el derecho a editar o rechazar los manuscritos que no cumplan con estas características o cuya gramática y sintaxis sea deficiente.

La ROM utiliza *software* de detección de plagio para asegurar la originalidad del material publicado.

Los artículos recibidos serán evaluados por un comité de expertos. Sólo los artículos originales serán aceptados, los autores también son responsables de todas las opiniones, resultados y conclusiones contenidas en artículos, que no necesariamente puede ser compartido por el Comité Editorial de la revista y sus revisores.

TIPOS DE MANUSCRITOS

1. Investigación original
2. Reporte de caso
3. Revisión de la literatura
4. Editoriales
5. Cartas al editor

Los autores deben indicar la sección en la que desean que su artículo sea incluido, aunque el Comité Editorial puede cambiar esto por sugerencia de los revisores.

SOMETIMIENTO DE ARTÍCULOS

Únicamente se revisarán manuscritos enviados al correo electrónico: revodontologicamexicana@gmail.com o a través del sistema de gestión editorial en el siguiente enlace: <http://revistas.unam.mx/index.php/rom/about>

Los envíos deberán incluir lo siguiente:

1. Carta de cesión de derechos

Deberá incluir la firma de todos los autores, declarando que no existe conflicto de intereses, que el manuscrito es original y no ha sido sometido a evaluación en otra revista y no ha sido previamente publicado total o parcialmente, tanto en forma impresa como electrónica en otros medios de divulgación científica. Todos los artículos **aceptados** se convierten en propiedad de la Revista Odontológica Mexicana y su fecha de recepción y aceptación será reflejada al publicarse, por lo tanto, su posterior publicación en otros medios no está permitida sin permiso por escrito del Comité Editorial.

2. Carta de presentación

Debe contener el título del artículo, así como el nombre completo, el correo electrónico y la adscripción del autor de correspondencia, y especificar que el manuscrito no se encuentra en ese momento bajo ninguna revisión editorial en alguna otra revista científica.

3. Manuscrito

El manuscrito debe incluir los elementos enlistados a continuación, en letra Arial tamaño 12 y con interlineado de 1.5.

La primera página debe contener los siguientes elementos:

- Título del artículo, no mayor a 14 palabras, nombre(s) y apellidos de cada autor sin grado académico, adscripción de cada autor. Deberá proporcionarse un autor responsable de publicación o autor de correspondencia que incluya su dirección postal, correo electrónico y teléfono.

La segunda página corresponde a:

- Resumen en español e inglés.
- Palabras clave en español e inglés.

A partir de la tercera página:

- Cuerpo del texto del artículo, de acuerdo al tipo de manuscrito.
- Referencias citadas en el texto entre paréntesis, por orden de aparición; si son tres o más consecutivas, se pondrá la primera seguido de un guion y la última.
- Lista de referencias en orden de aparición al texto en formato Vancouver.

Ejemplos:

Artículo convencional

Movahhed HZ, Ogaard B, Syverud M. An *in vitro* comparison of the shear bond strength of a resin-reinforced glass ionomer cement and a composite adhesive for bonding orthodontic brackets. *Eur J Orthod*. 2005; 27: 477-483.

Si son seis autores o más, se colocarán los primeros tres seguidos del nombre *et. al.*

Libro

Graber TM, Vanarsdall RL. Ortodoncia principios generales y técnicas. 2ª ed. Médica Panamericana; 1999.

Página electrónica: Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, INC.; c2000-2001 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>

Para casos especiales consultar el PDF

- Las tablas y figuras deberán ser citadas en el texto con números arábigos de manera consecutiva.
- Los pies de figura se pondrán al final del manuscrito, posterior al listado de referencias.

Todas las tablas y figuras deberán citarse en el texto.

4. Figuras

En el caso de manuscritos que incluyan figuras, éstas deben ser de 900 x 600 píxeles y estar en formato .JPG o .PNG, el tamaño deberá ser menor de 5 MB y se deberán enviar en archivos electrónicos independientes.

TIPOS DE ARTÍCULOS

Artículo de investigación original

Investigaciones básicas y analíticas, estudios transversales, estudios de casos y controles, estudios de cohorte y ensayos clínicos controlados. Los artículos no deben exceder las 12 páginas (incluidas las referencias), con 30 líneas por página. No más de tres figuras y cuatro tablas en el manuscrito.

El resumen (*abstract*) tendrá entre 150 y 300 palabras, incluyendo en su estructura: introducción, objetivos, material y métodos, resultados, discusión y conclusiones.

Las referencias deberán numerarse consecutivamente en orden de aparición en el texto, colocándose entre paréntesis.

Revisiones de la literatura

Revisiones sistemáticas y metaanálisis, aquéllos que conllevan una actualización en cualquiera de los temas identificados como importantes y de alcance para esta revista. Los artículos no deben exceder las 14 páginas (incluidas las referencias), con 30 líneas por página. Deben contener un máximo de tres figuras y cuatro tablas.

El resumen (*abstract*) tendrá entre 150 y 300 palabras, incluyendo en su estructura: introducción, objetivos, material y métodos, resultados, discusión y conclusiones.

Las referencias deberán numerarse consecutivamente en orden de aparición en el texto, colocándose entre paréntesis.

Reportes de caso

Casos que aporten conocimiento e información **original**, por ejemplo la primera evidencia de una situación diagnóstica o terapéutica inusual e inesperada. Los artículos no deben exceder las 10 páginas (incluidas las referencias), con 30 líneas por página. Deben contener un máximo de cuatro figuras y dos tablas.

El resumen (*abstract*) tendrá entre 150 y 300 palabras, incluyendo en su estructura: introducción, objetivos, material y métodos, resultados, discusión y conclusiones.

Las referencias deberán numerarse consecutivamente en orden de aparición en el texto, colocándose entre paréntesis.

Cartas al editor

Manuscritos cortos que pueden tener los siguientes propósitos:

- Debatir entre investigadores y clínicos con el objetivo de complementar o intercambiar ideas de un artículo previamente publicado.
- Emitir un juicio crítico sobre un hecho reciente del tema objetivo de la revista.
- Comunicar un hallazgo o una metodología empleada y que no ha sido publicada.

Las referencias utilizadas deben ser fuentes de alta confiabilidad. Las cartas al editor no deben exceder dos páginas, incluyendo las referencias (máximo tres referencias).

***Revista Odontológica Mexicana, Órgano
Oficial de la Facultad de Odontología, UNAM***

se terminó de imprimir el 07 de Abril de 2020
en los talleres de GRAPHIMEDIC, S.A. de C.V.

Tel.: 8589-8527 al 32

La edición consta de 50 ejemplares

