

Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana

Facultad de Estomatología Raúl González Sánchez

Departamento de Patología

EVALUACION PRECLINICA DEL OBTUDENT-FC.

ENSAYO DE IRRITACION PULPAR EN PERROS

*Dr. Joaquín Urbizo Vélez. Calle San Pablo núm. 407 altos e/ Clavel y Mariano.

Cerro. Ciudad de La Habana. Teléfono: 873 8706. joaquin.urbizo@infomed.sld.cu

**Dr. Rafael Delgado Fernández. Domínguez núm. 212 / Santa Catalina y

Calzada del Cerro. Cerro. Ciudad de La Habana Teléfono: 832 9914.

***Dr. Víctor Rodríguez Sosa. Ave. 146 y 31. Cubanacán. Playa. Ciudad de La Habana. vmrs@giron.sld.cu

****Dr. Víctor Valencia Fernández. Cristo núm. 42. 2do. piso e/ Muralla y Teniente Rey. Habana Vieja. Ciudad de La Habana.

*****ATD. Enrique Iglesias Rodríguez. Calle 240 núm. 526. Jaimanitas

*****Tec. Rosa Crael Revé. Ave. Universidad e/ Ronda y Calle G. Ciudad de La Habana.

*Especialista Segundo Grado Anatomía Patológica. Profesor Titular.

** Especialista Segundo Grado Anatomía Patológica. Profesor Auxiliar.

*** Médico Veterinario. Centro de Cirugía Experimental. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón.

****Estomatólogo. Profesor Auxiliar de Radiología. Facultad de Estomatología de La Habana.

***** Técnico Auxiliar de la Docencia en Anatomía Patológica.

***** Técnica Química. Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana.

RESUMEN

Entre los biomateriales más utilizados en la práctica estomatológica se encuentran las resinas dentales, muchas de las cuales se confeccionan a base de sistemas poliméricos, que se colocan en contacto con el tejido inmediatamente después de mezclados, por lo cual existe la peculiaridad de que, uno o más componentes del mismo migren al tejido en cuestión, y provoquen respuestas locales irritantes o tóxicas de índole sistémica. Ocupan un lugar preferente en este tipo de materiales los dimetilmetacrilatos aromáticos tipo Bis-GMA. Este es el caso del OBTUDENT-FC, producido por el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana, resina fotopolimerizable para restauraciones dentales. La mayoría de los materiales dentales compuestos de sistemas poliméricos han demostrado efectos tóxicos cuando se ensayan en animales de experimentación, así como mediante otros estudios toxicológicos, por lo cual se realiza el presente estudio preclínico en perros *Beagle* adultos y sanos, a los cuales se les practicaron obturaciones con el material de referencia, así como con un material comercial conocido, y controles positivos y negativos, siendo evaluados los efectos tóxicos de los mismos en tres períodos de tiempo. El grado de toxicidad pulpar del OBTUDENT-FC se evalúa de muy ligero, coincidiendo con el de la resina comercial DEGUFILL, siendo sólo ligeramente superior a la del CONTROL NEGATIVO.

Palabras Clave: Resinas dentales Bis-GMA, Obtudent-FC, Evaluación preclínica, Irritación pulpar, Hallazgos histomorfológicos, Toxicidad.

INTRODUCCION

Se llaman Biomateriales aquellos materiales de origen natural o sintético que son utilizados en contacto directo con tejidos, sangre o fluidos biológicos, en medios de diagnóstico, aplicaciones terapéuticas y prótesis. 1 Entre los más utilizados en la práctica estomatológica se encuentran las resinas dentales, consideradas como materiales de restauración. Muchas de estas resinas se confeccionan a base de sistemas poliméricos, donde, para preparar el material o producto final, un compuesto líquido se mezcla con el polvo, constituyendo una combinación polvo-líquido. Estos sistemas poliméricos se colocan en contacto con el tejido inmediatamente después de mezclados, por lo cual existe la peculiaridad de que, uno o más componentes del mismo migren al tejido en cuestión, y provoquen respuestas locales irritantes o tóxicas de índole sistémica. En algunos casos se ha observado que, después de varias horas o días, el material puede tener suficiente cantidad de monómero para difundir al tejido. 2 Ocupan un lugar preferente en este tipo de materiales los dimetilmetacrilatos aromáticos tipo Bis-GMA. El sistema Bis-GMA combina un metacrilato aromático con otros monómeros en forma líquida. Este es el caso del OBTUDENT-FC, producido por el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana, resina fotopolimerizable para restauraciones dentales que presenta, como componente sólido (77% del material), cuarzo de yacimientos cubanos. La mayoría de los materiales dentales compuestos de sistemas poliméricos han demostrado efectos tóxicos cuando se ensayan en animales de experimentación, 3 así como mediante otros estudios toxicológicos, donde se destacan los realizados por Medina y cols., 4 quienes reportan hallazgos consistentes en desorganización del tejido pulpar, infiltración celular inflamatoria, formación de dentina reparativa y penetración bacteriana. De Souza, do Nascimento y Teixeira 5 reportan una respuesta inflamatoria moderada y desorganización del tejido pulpar. Estas evidencias se reafirman en otros estudios, 6-13 y han obligado a que, los ensayos biológicos de estos materiales se hayan

ido profundizando y, actualmente existen normas internacionales que los regulan, las cuales están en continuo proceso de perfeccionamiento. 14 En el caso específico de los materiales dentales de este tipo se recomienda, como requisito previo para la aprobación para su uso clínico, la realización de una serie de ensayos biológicos, entre los cuales se incluye el ensayo de irritación pulpar. Fundamentalmente, por la alta estética lograda con este tipo de materiales de obturación dental --ya que reproducen con alto grado de fidelidad el color de los tejidos dentarios duros, incluyendo los molares-- se ha producido una verdadera explosión en el mercado internacional de estas resinas compuestas; las cuales son deficitarias en las clínicas estomatológicas de nuestro país, debido a su alto costo en el mercado internacional, hecho que limita su adquisición. Es por ello que el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana se propuso, dentro de sus objetivos de trabajo, el desarrollo del OBTUDENT-FC como material de obturación producido en el país, con vistas a la satisfacción del mercado nacional, con el consiguiente ahorro de divisas, así como su posible comercialización en el mercado internacional, de lo que se derivó la necesidad de someter al material de referencia a todos los ensayos establecidos por los organismos regulatorios, y se motivara la realización del presente estudio, con el propósito de determinar los cambios histomorfológicos en la pulpa dentaria después de la obturación con OBTUDENT-FC, en diferentes intervalos de tiempo, y comparar los cambios producidos con respecto a una resina comercial.

MATERIAL Y METODO

El material de ensayo fue el composite para obturaciones dentales OBTUDENT-FC, suministrado por el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana. Como material de referencia se utilizó el obturante dental DEGUFILL (de la firma Degussa, Alemania), similar al OBTUDENT en composición. Se emplearon 10 perros *Beagle* adultos, sanos, con un peso que osciló entre 10 y 12 Kg, con los caninos y molares sin caries, con una altura igual o mayor de 10 mm. desde la encía al borde superior de la cúspide dentaria, y un ancho mesiodistal igual o mayor de 5 mm visto desde labial o vestibular. La raíz y los tejidos próximos al ápice se encontraban en buen estado clínico-radiográfico. Se empleó el sistema a “doble ciegas”, de modo que, ni el estomatólogo que realizó las obturaciones ni el patólogo que las evaluó conocieron la identidad del material. En los animales, previa anestesia con Pentobarbital Sódico (30 mg/Kg), se realizaron obturaciones de Clase V, siendo éstas practicadas en las caras labiales y vestibulares de los dientes a tratar. Las preparaciones cavitarias fueron realizadas con turbina de alta velocidad, con buena irrigación y fresas de Carburo-Tungsteno. Las preparaciones se realizaron próximas a las encías, extendiéndose en profundidad el piso de las mismas hasta el tercio interno de la dentina, y quedó un grosor de dentina remanente de aproximadamente 1 milímetro (Figura 1). Como control positivo, se empleó el cemento de Silicato, que se colocó en las cavidades sin tratamiento previo de la dentina y sin base intermedia. Esta categoría sirvió para establecer el extremo inaceptable de irritación producido por un material de obturación. El control negativo fue la pasta de Oxido de Zinc y Eugenol, hecha a partir de productos con calidad de Reactivos Químicos. Esta categoría fue necesaria para establecer el nivel de traumatismo ocasionado por el operador y la técnica de preparación cavitaria. Los materiales fueron preparados siguiendo las indicaciones de los fabricantes. Las cavidades fueron secadas con algodón estéril y aire seco a temperatura ambiente,

mediante cortas aplicaciones, con el fin de extraer la humedad, pero no desecar la dentina. Previamente a la aplicación de las resinas en estudio, se colocó una base aislante de barniz copal e Hidróxido de Calcio, con la excepción de los controles positivos y negativos. Fueron considerados tres períodos de evaluación: uno corto de 3 a 5 días, uno medio de 30 días, y uno largo de 90 días. Cada animal fue controlado mediante una ficha elaborada al efecto. Todos los animales fueron sometidos a examen radiográfico, lo cual permitió la observación de los posibles cambios periapicales. Los animales fueron anestesiados e intervenidos para la extracción de los dientes obturados, mediante colgajo y retirada de las tablas óseas externa e interna. Una vez

extraídos los dientes, se practicó el corte del tercio apical de las raíces dentarias por medio de una pinza gubia, siendo introducidos inmediatamente en una solución de Formalina Neutra al 10% para su fijación por no menos de 48 horas, descalcificados en una solución de Acido Fórmico al 5%-Citrato de Sodio, incluidos en parafina, y se realizaron cortes seriados con un grosor entre 4 y 6 micrómetros, procurando seguir la dirección de los canalículos dentinarios, desde el piso de la cavidad hasta la pulpa dentaria. De los cortes seriados se seleccionaron cinco, cuidando que estuviesen equitativamente espaciados a través de la cavidad, los cuales fueron coloreados con Hematoxilina y Eosina para su observación microscópica. Por medio de un ocular micrométrico, se midió directamente la distancia entre el piso de la cavidad y la pulpa dentaria, para determinar el grosor de dentina remanente. Se determinó la severidad de la respuesta pulpar, teniendo en consideración las siguientes variables: Presencia de Necrosis, estado de la capa odonto-blástica, presencia de células inflamatorias en la capa odontoblástica y en el resto del tejido pulpar, formación de abscesos, presencia de dilatación y congestión vascular, presencia de hemorragias y formación de dentina reparativa. Se utilizó una puntuación, según los criterios planteados por las Normas Internacionales, 14 lo cual permitió establecer la Clasificación de la Toxicidad de los materiales objeto de estudio, y su comparación entre sí y con los controles. Si en cada uno de los tres períodos, las reacciones irritativas observadas para el material de prueba eran, en promedio, iguales o sólo ligeramente más elevadas que las observadas para el control negativo, el material pasaba la prueba de irritación pulpar.

RESULTADOS Y DISCUSION

Evaluación radiológica: No se observaron alteraciones apicales, ni defectos en la relación cavidad-obturante en ninguno de los materiales estudiados en los períodos de evaluación establecidos.

Evaluación histomorfológica: La evaluación histomorfológica de los especímenes nos permitió establecer la toxicidad global de las muestras de ensayo para cada tipo de material, así como los controles, que serán resumidos en forma de tabla. A continuación realizaremos la descripción microscópica de los principales hallazgos, en cada uno de los períodos de observación establecidos en los métodos experimentales:

-Observación en el período de 3 a 5 días

CONTROL POSITIVO. Se observó un predominio de reacciones inflamatorias agudas, con formación de abscesos, áreas de necrosis pulpar y disrupción de la capa

odontoblástica, en los cortes estudiados. La reacción tóxica se clasificó como INTENSA. (Figura 2).

CONTROL NEGATIVO. Se observaron ligeros cambios congestivos vasculares, sin reacción inflamatoria aguda. Se clasificó como NO TOXICO.

DEGUFILL. Se observó ligera congestión vascular y escasa reacción inflamatoria aguda. Sólo se observó necrosis focal en una muestra. Toxicidad: MUY LIGERA.

OBTUDENT-FC. Predominó ligera congestión vascular y escasos focos de hemorragia. Se observó ligera reacción aguda en pocas muestras. Hubo necrosis focal en una de las muestras estudiadas. Toxicidad: MUY LIGERA. (Figura 3).

- Observación en el período de 1 mes

CONTROL POSITIVO . Las pulpas estudiadas mostraron necrosis parcial o total, acompañada de daño en la capa odontoblástica en las áreas afectadas por la necrosis. Toxicidad: INTENSA.

CONTROL NEGATIVO . Se observaron aislados fenómenos congestivos vasculares, sin otras alteraciones de significación. Toxicidad: NO TOXICO.

DEGUFILL. Ligera congestión vascular, así como pequeñas zonas de edema en la capa odontoblástica. Se observó área focal de necrosis en una sola muestra. Toxicidad: MUY LIGERA.

OBTUDENT-FC. Ligera congestión vascular y edema en la capa odontoblástica. Sólo se observó área de necrosis focal en la pulpa de un diente. El resto de las muestras estudiadas no presentó necrosis ni reacción inflamatoria. Toxicidad: MUY LIGERA. (Figura 4).

-Observación a los 3 meses

CONTROL POSITIVO. La mayoría de los especímenes estudiados presentaron necrosis de moderada a intensa. Además, se observó edema y destrucción de la capa odontoblástica asociada a marcada congestión vascular en las áreas conservadas. Toxicidad: INTENSA.

CONTROL NEGATIVO. Ligera congestión vascular sin otras alteraciones de interés. Toxicidad: NO TOXICO.

DEGUFILL. La mayoría de las pulpas estudiadas presentaron ligera congestión vascular. En algunos cortes se observaron pequeños focos de micro hemorragia y edema odontoblástico. Toxicidad: MUY LIGERA.

OBTUDENT FC. Ligera congestión vascular en todos los cortes. Pequeños focos de microhemorragia en dos muestras y edema de la capa odontoblástica. No se observaron áreas de necrosis. Toxicidad: MUY LIGERA. (Figura 5). Los reportes bibliográficos sobre la evaluación biológica de materiales comerciales análogos demuestran que las resinas de restauración y los cementos a base de polímeros acrílicos son irritantes de la

pulpa dentaria, 2-13 debido a la difusión de los monómeros constituyentes a través de los canalículos dentinarios, evidencias que se han obtenido con el Metacrilato de Metilo y otros componentes . En el caso específico de nuestro estudio, pudieron observarse escasos cambios hísticos provocados por las resinas investigadas, limitándose a algunos fenómenos vasculares, como congestión ligera y dispersos focos de hemorragia, a diferencia de las pulpas expuestas a la acción del material utilizado como Control Positivo, con intensas reacciones inflamatorias agudas con formación de microabscesos y necrosis odontoblástica, manifestaciones tempranas de la naturaleza tóxica del ácido fosfórico incorporado a los cementos de silicato, producto de sus efectos quimiotácticos para neutrófilos en los canalículos dentinarios y en el tejido pulpar inmediato por debajo de las preparaciones cavitarias. Estos hallazgos coinciden con la mayoría de los artículos revisados en la literatura científica internacional 2-13 y nos permiten afirmar que la resina en estudio es similar en sus efectos biológicos a la resina comercial utilizada como control. (Tablas 1, 2 y 3).

CONCLUSIONES

1 Las principales alteraciones histomorfológicas observadas en la pulpa de dientes obturados con el OBTUDENT-FC consistieron en congestión vascular y ligero infiltrado inflamatorio, siendo más evidentes en el período de 3 a 5 días después de efectuada la obturación.

2 Las alteraciones pulpares en los dientes obturados con el OBTUDENT-FC fueron similares a las observadas en los dientes obturados con el DEGUFILL, en todos los períodos de observación.

3 El grado de toxicidad pulpar del OBTUDENT-FC se evalúa de MUY LIGERO, coincidiendo con el de la resina comercial DEGUFILL, siendo sólo ligeramente superior a la del control negativo.

ABSTRACT: Preclinic study of the OBTUDENT-FC. Rehearsal of irritation in dogs.

Among the more used biomaterials in the stomatology practice, they are the dental resins, many of which are made with the help of polymery systems that are put, immediately after blended, in contact with the tissue. Exist the peculiarity that one or more components migrate to the tissue and cause irritating or toxic local answers of the systemic nature. The dimetilmacrilatos aromatic type Bis-GMA occupy a place of preference among this type of materials. One of this materials is the OBTUDENT-FC - resin for dental restorations-, produced by the Center of Biomaterials of the University of Havana. Most of the dental materials made up of polymery systems have demonstrated toxic effects when they are rehearsed in experimentation animals, as well as by means of other toxicologics studies. For this reason it is carried out the present preclinic study in adults and healthy dogs Beagle, to which were practiced obturations with the reference material, as well as with a well-known commercial material, and positive and negative controls, being evaluated the toxic effects of the same ones in three periods of time. The degree of pulpe toxicity of the OBTUDENT-FC is evaluated of very slight,

coinciding with that of the commercial resin DEGUFILL, being only lightly superior to that of the NEGATIVE CONTROL.

Words Key: Dental resins Bis-GMA, Obtudent-FC, preclínica evaluation , pulpa irritation , Discoveries histomorfologicas, Toxicity.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 Universidad de La Habana. Desarrollo y Proyección de los Biomateriales en Cuba. La Habana: Centro de Biomateriales; 1991.

2 Groussman, LJ. Full reaction to the insertion of self-curing acrylic resins filling materials. J A D A 1953; 46: 265-268.

3 Urbizo Vélez JJ, Delgado R, Rodríguez JA, Bánóczy J, Nyárasdy I. Histological evaluation of pulpal responses to four composite resins in dog dental pulps. Acta Morphologica Hungarica. 1988; 36(3-4):185-190.

4 Medina VO, Shinkai K, Shirono M, Tanaka N, Katoh Y. Histopathologic study on pulp response to single-bottle and self-etching adhesive systems. Oper Dent. 2002 Jul-Aug; 27(4):330-42.

5 de Souza Costa CA, do Nascimento AB, Teixeira HM. Response of human pulps following acid conditioning and application of a bonding agent in deep cavities. Dent Mater. 2002 Nov;18(7):543-51.

6 Chen RS, Liu CC, Tseng WY, Jeng JH, Lin CP. Cytotoxicity of three dentin bonding agents on human dental pulp cells. J Dent. 2003 Mar; 31 (3):223-9.

7 About I, Camps J, Mitsiadis TA, Bottero MJ, Butler W, Franquin JC. Influence of resinous monomers on the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblasts. J Biomed Mater Res. 2002; 63(4):418-23.

8 Murray P Windsor J. Analysis of pulpal reactions to restorative procedures, materials, pulp capping, and future therapies. Crit Rev Oral Biol Med. 2002. 13(6):509-520. 9 Lovschal H, Eiskjaer M, Arenholt-Bindslev D. Formaldehyde cytotoxicity in three human cell types assessed in three different assays. Toxicol In Vitro 2002; 16(1): 63-69.

9 Lovschal H, Eiskjaer M, Arenholt-Bindslev D. Formaldehyde cytotoxicity in three human cell types assessed in three different assays. Toxicol In Vitro 2002; 16(1): 63-69.

10 Wan Q, Rumpf D, Schrickler SR, Mariotti A, Culbertson BM. Influence of hyperbranched multi-methacrylates for dental neat resins on proliferation of human gingival fibroblasts. Biomacromolecules. 2001; 2(1): 217-222.

11 Schuurs AH, Moorer WR. Hormone dysregulators. Pseudo-estrogens in dental composite resins and sealants. Ned Tijdschr Tandheelkd 2000; 107(12): 490-494.

12 VPelka M, Danzi C, Distler W, Petschelt A. A new screening test for toxicity testing of dental materials. J Dent 2000; 28(5): 341-345.

13 Imazato S, Tarumi H, Ebi N, Ebisu S. Cytotoxic effects of composite restorations employing self-etching primers or experimental antibacterial primers. J Dent 2000; 28(1): 61-67.

14 ISO/DIS 10993-6. Biological evaluation of medical devices. Part 6: Test for local effects after implantation. (ISO 10993-6); 1994.

ANEXO



Fig. 1: Cavidad de V Clase preparada en el perro.

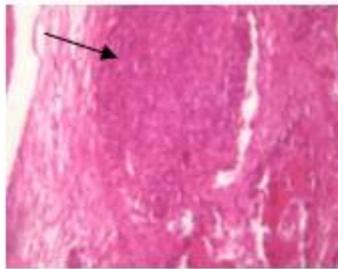


Fig. 2: (x100 H/E) Control positivo. 3 días. Se observa absceso agudo

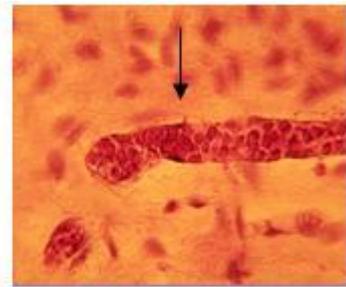


Fig. 3: (x200 H/E). Obtudent FC, 3 días. Ligera congestión vascular.

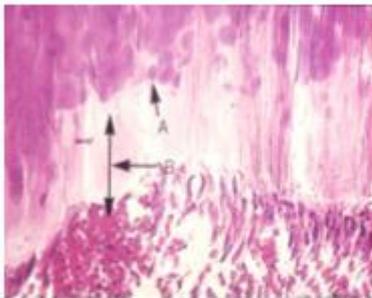


Fig. 4: (x200 H/E) Obtudent-FC, 30 días.

A: Inicios de reparación dentinaria.

B: Ligero edema odontoblástico, microhemorragia.

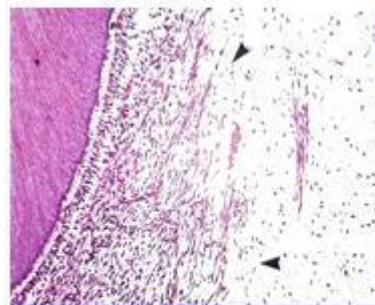


Fig. 5: (x100 H/E). Obtudent-FC, 90 días.

Escasas células inflamatorias. Integridad odontoblástica.

Tabla 1

Hallazgos histopatológicos principales y toxicidad, determinados en el período de estudio de 3 a 5 días

	Obtudent-FC	Control positivo	Control negativo	Degufill
Hallazgos	0 1 2 3 4	0 1 2 3 4	0 1 2 3 4	0 1 2 3
Necrosis	X	X	X	X
Inflamación	X	X	X	X
Afectación odontoblástica				
	X	X	X	X
Toxicidad	X	X	X	X

Tabla 2

Hallazgos histopatológicos principales y toxicidad, determinados en el período de estudio de 1 mes

	Obtudent-FC	Control positivo	Control negativo	Degufill
Hallazgos	0 1 2 3 4	0 1 2 3 4	0 1 2 3 4	0 1 2 3
Necrosis	X	X	X	X
Inflamación	X	X	X	X
Afectación odontoblástica				
	X	X	X	X
Toxicidad	X	X	X	X

Tabla 3

Hallazgos histopatológicos principales y toxicidad, determinados en el período de estudio de tres meses

	Obtudent-FC	Control positivo	Control negativo	Degufill
Hallazgos	0 1 2 3 4	0 1 2 3 4	0 1 2 3 4	0 1 2 3
Necrosis	X	X	X	X
Inflamación	X	X	X	X
Afectación odontoblástica	X	X	X	X
Toxicidad	X	X	X	X

Leyenda: Clasificación de la toxicidad global de las muestras.

Clasificación Puntuación

No tóxico 0

Reacción tóxica muy ligera 1

Reacción tóxica ligera 2

Reacción tóxica moderada 3

Reacción tóxica intensa 4