

Citotoxicidad *in vitro* de la resina Filtek X 350 de la 3M ESPE sobre fibroblastos gingivales humanos

Cytotoxicity *in vitro* of 3M ESPE resin Filtek XT 350 over human gingival fibroblasts

COLCIENCIAS TIPO 1. ARTÍCULO ORIGINAL

RECIBIDO: ENERO 31, 2016; ACEPTADO: FEBRERO 24, 2016

Gonzalo Arana Gordillo¹

Carolina Martínez Silva¹

Cristian Giraldo¹

Harold Gil Ocampo¹

Juan Carlos Gómez Giraldo¹

Luisa Fernanda Alegría¹

William David Criollo²
publica@usc.edu.co

Universidad Santiago de Cali, Colombia (1)

Universidad del Valle, Cali-Colombia (2)

Resumen

Las pruebas in-Vitro permiten evaluar la biocompatibilidad de materiales empleados en el organismo, dando una aproximación cuantificable del efecto producido por materiales sobre los tejidos. Se realizó un ensayo evaluando la citotoxicidad de resina Filtek™ Z-350 sobre fibroblastos gingivales humanos, mediante un análisis colorimétrico para determinar la lisis celular mediante la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa y la proliferación celular a través del kit XTT, utilizando como punto de comparación el Triton X-100 que es un agente tóxico. Se realizaron análisis a las 6 y 24 horas, tiempo en el cual solo 0.36% de las células en contacto con la resina tuvieron lisis, dándonos la conclusión de no ser citotóxico y la tranquilidad para usarlo en pacientes.

Palabras Clave

Citotoxicidad; resina; fibroblastos; lactato deshidrogenasa; biocompatibilidad.

Abstract

The in-vitro tests to assess the biocompatibility of materials used in humans, giving a quantifiable effect of approximation of the materials onto human tissues. The cytotoxicity of Filtek™ Z-350 over human gingival fibroblasts was evaluated, by a colorimetric analysis to determine cell lysis by the activity of lactate dehydrogenase and cell proliferation via XTT kit, assay was performed using as a benchmark the Triton X-100 which is a toxic agent. Analysis at 6 and 24 hours showed only 0.36% of the cells in contact with the resin had lysis, letting us to conclude, it is not cytotoxic, then is sure to be used in patients.

Keywords

Cytotoxicity; resin; fibroblasts; lactate dehydrogenase and biocompatibility.

I. INTRODUCCIÓN

La evolución y el desarrollo de los materiales odontológicos ha alcanzado en los últimos años un alto nivel, estos avances han sido fruto de varios años de investigación, todos estos esfuerzos apuntan a la consecución y síntesis de un material ideal que cumpla con características como biocompatibilidad, excelentes propiedades físicas y mecánicas, bajo costo, ser muy estético, además de poseer cualidades adhesivas que garanticen la durabilidad de la restauración.

Como son materiales que se utilizan sobre el cuerpo humano se deben evaluar los posibles efectos que produzcan en los tejidos, pues se conoce que los materiales odontológicos, en su mayoría, presentan un bajo o alto grado de toxicidad.

Entre los materiales odontológicos de primera elección tenemos a las resinas, que poseen propiedades físicas y estéticas muy buenas, entre sus componentes se encuentra el BIS-GMA el cual ha presentado niveles de citotoxicidad.¹

También se debe tener en cuenta que si realizamos una correcta técnica se puede lograr la fotopolimerización de más del 80% de la resina, de no realizar el proceso adecuado, pueden quedar radicales libres, que son partículas de la resina sin polimerizar, los cuales causan desnaturalización de la proteína y disminuyen la funcionalidad de la célula.²

En el presente estudio se realizó una prueba bajo la norma NTC 5036 de la ICONTEC en Colombia, la cual es equivalente a la norma ISO 10993-5.^{3,4}

Se utilizaron cultivos celulares de fibroblastos gingivales humanos –porque son muy estables–, el material sometido a prueba fue la resina Filtek Z350 de la 3M, pues incorporó en su composición la nanopartículas.

Se entiende por cultivo celular el conjunto de técnicas que permiten el sostenimiento de células *in Vitro*, que son capaces de mantener al máximo todas sus propiedades fisiológicas, bioquímicas y genéticas.^{5,7,8}

Básicamente se han definido dos tipos de cultivos celulares:

- Los cultivos celulares primarios son el crecimiento inicial de células extraídas de un tejido u órgano, pero después de algunos subcultivos las células pierden algunas de sus características biológicas.

- Las líneas celulares son aquellas células que adquieren la capacidad de proliferar indefinidamente en un medio de cultivo, conservando sus características biológicas.

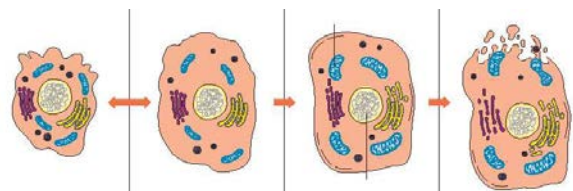
Una ventaja de los cultivos celulares es que permiten un control preciso y fino del medio ambiente. En un cultivo se pueden controlar todos los factores del medio: físico-químicos (pH, temperatura, presión osmótica, niveles de O₂, CO₂, tensión superficial) y fisiológicos (hormonas, factores de crecimiento, densidad celular, etc.). Una desventaja suele ser su alto costo.

El sistema de resina Filtek™ Z350 de 3M ESPE es un material de menor contracción y contiene BIS-GMA, BIS-EMA, UDMA con pequeñas cantidades de TEGDMA. El relleno contiene una combinación de relleno de nanosílice no aglomerado/no agregado de 20 nm y un *nanocluster* de zirconio/sílice de unión holgada constituido por aglomerados de partículas primarias de zirconio/sílice de 5-20 nm. El tamaño de partícula del agregado oscila dentro de un rango de 0.6 a 1.4 micras. La carga de relleno es de 78.5% por peso, todos los tonos son radiopacos.^{2,9}

La biocompatibilidad es la propiedad que tienen algunos materiales o sustancias, en este caso de uso odontológico, para formar uniones estables con los tejidos biológicos, permitiendo además una buena cicatrización de los tejidos sin generar alteraciones o reacciones adversas. Si realizamos un buen procedimiento clínico del material, el éxito de nuestras restauraciones se ve limitado netamente a las bondades de los materiales en la cavidad oral y sobre los tejidos dentales.^{8,11,12}

La citotoxicidad es el daño celular inducido por un agente externo que produce alteración en los procesos bioquímicos normales de la célula y genera cambios celulares en su morfología, en la proliferación y hasta puede conducir a la muerte celular inducida (ver Figura1).^{1,2,5,8,10,13-16,18-22}

Figura1. Roche Molecular Biochemicals Apoptosis and Cell Proliferation 2nd revised edition – 2003



Los cambios en la membrana celular por el efecto que ha inducido una sustancia tóxica sobre las células permite

la liberación de las enzimas citoplasmáticas, como la LDH, al medio extracelular cuando hay pérdida de integridad en la membrana celular.⁶

Cualquier tipo de daño celular resulta en la alteración del ciclo celular. Puede que aumente la proliferación o que, por el contrario, se vea disminuida por la presencia de un agente tóxico.

La toxicidad o citotoxicidad de un material utilizado en salud se evalúa generalmente mediante dos pasos: *in Vitro* o *in Vivo*.

Los resultados de las pruebas de cito toxicidad *in Vitro* pueden no correlacionarse altamente con los obtenidos *in Vivo*. Sin embargo, se puede asegurar que, si un material de prueba induce constantemente una fuerte reacción citotóxica en las pruebas de cultivo celular, es muy probable que también ejerza toxicidad en el tejido vivo.¹⁷

Este método involucra la observación de la inhibición del crecimiento celular, pruebas de permeabilidad de membrana, pruebas de actividad enzimática o el registro de injuria y/o muerte celular.⁵

II. MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio descriptivo tomando como variables el número de células, la forma celular, la lisis celular y la organización y proliferación celular.

Se realizó un ensayo de laboratorio para determinar la citotoxicidad de la resina Z-350 de la 3M ESPE, en un cultivo de FGH, igualmente se determinaron las características de proliferación de estas células en presencia de la resina.

Se utilizaron cultivos de FGH previamente caracterizadas que se encontraban almacenadas en termos con nitrógeno líquido de la Asociación IN-Vitro de la Universidad del Valle (Cali, Colombia), en fase 5 de crecimiento. Para realizar los análisis se utilizaron FGH en fase 6, previa descongelación de las células.

La determinación del número de células para la siembra y los pases se realizó por el método de exclusión con azul tripam, este método consiste en realizar una dilución 1:10 de las células aisladas (0.1 mL.) y (0.9 mL.) de azul de tripam, la dilución es colocada en una cámara de conteo celular y se determina el número de células vivas y muertas.

El método de exclusión con azul de tripam permite diferenciar las células vivas (aquellas que durante la

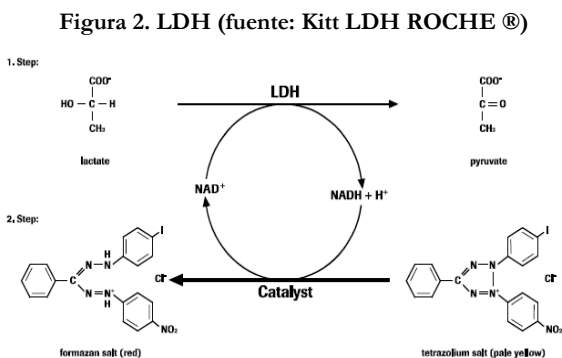
observación al microscopio no adquieren el colorante), de las células muertas (durante la observación al microscopio se ven azules, por que hay permeabilidad de la membrana).

Las condiciones óptimas de los cultivos son la incubación a 37 °C en una atmósfera humidificada, con 5% de CO₂, con cambio medio de crecimiento celular cada dos a tres días hasta que se observe la confluencia de la monocapa celular:

- un criovial de fase 5 células fue descongelado a 37 °C, utilizando un baño María;
- las células se recuperaron por centrifugación a 1500 rpm x 10 minutos;
- se determinó el número de células descongeladas por el método de exclusión con azul tripam;
- se siembran 200.000 células por cm² en botellas de cultivo T-25 (FALCON) con medio de crecimiento;
- las botellas se colocan en incubadora con CO₂ a 37°C;
- una vez obtenida la confluencia de las células (7 DIV), las células fueron lavadas tres veces con PBS por cinco minutos;
- se le adicionó a cada botella de cultivo 2 mL. de la solución de tripsina/EDTA al 0,25% y se incubaron por cinco minutos a 37 °C, para observar el desprendimiento celular;
- 20.000 células por cada 200 μ y se depositaron en cada uno de los pozos de la placa de cultivos de 96 pozos;
- previamente las pozos de la placa fueron recubiertos con la resina y con una lámpara de fotocurado se realiza el proceso de polimerización;
- la actividad citotóxica se determina con un análisis colorimétrico para determinar y cuantificar la muerte y lisis celular, basada en la medida de la actividad de la lactato deshidrogenasa [LDH] liberada por el citoesqueleto de las células dañadas al sobrenadante al medio de cultivo (Figura 2).
- este aumento en la cantidad de actividad enzimática en el sobrenadante se correlaciona directamente con la cantidad de formazan generado durante un período limitado determinado en el tiempo. Por lo tanto, la cantidad de color formada en el análisis es proporcional al número de células lisadas.

En la Figura 2 LDH, en el primer paso, la liberación de la lactato deshidrogenasa (LDH) reduce NAD⁺ a NADH⁺ H⁺ por la oxidación del lactato a piruvato. En la

segunda reacción enzimática 2 H⁺ son transferidos de NADH+ H⁺ a la sal amarilla del tetrazolium INT (2-[4-iodophenyl]-3-[4-nitrophenyl]-5-phenyltetrazoliumchloride) por un catalizador



Ensayo de Citotoxicidad con el Kilt de LDH ® ROCHE

Para calcular el porcentaje de actividad citotóxica se utilizaron tres controles:

- Control blanco: proporciona la información sobre la actividad de LDH contenida en el medio del análisis. El valor de la absorbancia obtenido en este control tiene que ser restado del resto de los valores, cuando la medición de la absorbancia es mayor de 0.200.
- Control bajo: proporciona la información sobre la actividad de LDH liberada por las células normales no tratadas (es una liberación espontánea de LDH esta es propia de las células) donde disminuye la concentración de Suero Fetal Bovino del 10% al 5%.
- Control alto: proporciona la información sobre la actividad de liberación máxima de LDH de las células (liberación máximo LDH, en presencia de una sustancia citotóxica en este caso Triton X-100).

Adicionalmente se utilizó un control de citotoxicidad, para comparar los resultados obtenidos con la resina.

Procedimiento para la determinación de citotoxicidad por LDH

Se adiciona 200 µl de la suspensión de las células en cada uno de los pozos de la placa de cultivo de 96 pozos de fondo plano, no se adicionan células en control de blanco.

Las células son incubadas por 24 horas en una incubadora (37°C, 5% CO₂, 90% humedad) para permitir que las células se adhieran firmemente a la matriz.

Pasado el tiempo de incubación, el medio de crecimiento es retirado y las células son lavadas tres veces con PBS por cinco minutos; se les adiciona medio de crecimiento y la solución de LDH de acuerdo con lo mostrado en la Tabla 1, las placas son incubadas en igual de condiciones que las descritas arriba durante el tiempo del ensayo. Las determinaciones de citotoxicidad se realizaron a las 6 y 24 horas, utilizando el lector de placas de ELISA.

Tabla 1. Descripción de la distribución de los reactivos por pozos para la técnica colorimétrica de LDH

	Blanco	Control Alto	Control Bajo	Control Toxicidad	Resina
Medio	150µL	100µL	150µL	50µL	150µL
LDH standard	50 µL	50µL	50µL	50µL	50µL
Triton X-100	-	50µL	-	100µL	-
Células	-	+	+	+	+

Para determinar el porcentaje de actividad citotóxica, se calculan los valores promedio de las absorbancia de los ensayos por triplicado y se les resta a cada uno de ellos el valor de la absorbancia obtenido del control blanco; en este caso no fue necesario, por que la lectura durante los días del ensayo fue inferior a 0.200. Los valores que resultan se substituyeron en la Ecuación 1.

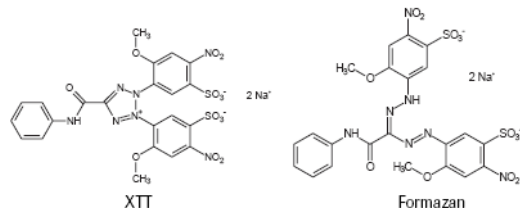
$$\% \text{ de citotoxicidad} = \frac{\text{lectura muestra (resina)} - \text{control bajo}}{\text{control alto} - \text{control bajo}}$$

Ensayo de proliferación celular con el Kilt de XTT ® ROCHE

Este ensayo se basa en cambio de las sales del tetrazolium del XTT a un color anaranjado del formazan por la actividad metabólica de las células. Esta conversión ocurre solamente en células viables (Figura 3). Las células son crecidas en una placa de cultivo de tejido de 96 pozos, se incuban con la solución amarilla de XTT (concentración final 0.3 mg/mL) por 4-24 h y durante el procedimiento de análisis.

Después de este período de la incubación, se genera la solución de formazan de color anaranjado, que se cuantifica espectro fotométricamente usando a un lector de placas de ELISA. Un aumento en el número de células vivas da lugar a un aumento en la actividad total de dehidrogenasa mitocondrial en la muestra. Este aumento se correlaciona directamente con la cantidad de formazan que se ha formado (color anaranjado), según se ha determinado mediante la absorbancia.

Figura 3. Producción del formazan, a partir de las sales del tetrazolium del XTT, (fuente Kit XTT ROCHE®)



Se utiliza para la medida de proliferación de las células en respuesta a diferentes factores, como citoquinas y factores de crecimiento, entre otros.

Metodología de la prueba de XTT, para proliferación celular

Los FG se crecen en las microplacas de cultivo celular, de 96 pozos, con fondo plano, con un volumen final de 200 µl de medio de cultivo fresco, según las necesidades de los FG por el medio de crecimiento, se debe realizar en una atmósfera humidificada (37°C, 5% CO₂).

Después del período de incubación inicial se retira todo el medio y se lavan las células con solución de PBS tres veces por cinco minutos; posteriormente se adiciona a cada pozo 50 µl de la mezcla de XTT, se adiciona 100 µl del medio de crecimiento, generando una concentración final de 0.3 mg/mL de XTT. La placas se incuban de 24 a 96 horas en atmósfera humidificada (37°C, 5% CO₂). Las mediciones de la absorción se realizan cada 24 horas

usando el lector de microplacas para verificar la proliferación celular de los FG en presencia de la resina con los respectivos controles de crecimiento.

III. RESULTADOS

La determinación de la citotoxicidad por la técnica de LDH, se realizo con mediciones a las 6 y 24 horas, en el Stat Fax -2100 a una longitud de onda de 492 nm, con una longitud de referencia de 600 nm, los datos se muestran en la Tabla 2.

A las 6 horas la resina mostraba un 0.33% de citotoxicidad frente al 39.6% que presentaba de citotoxicidad el Triton X-100, esto quiere decir, que a las 6 horas de las 20.000 células que se sembraron un promedio de 66 células se habían lisado, mientras que con el Triton X-100 se habían lisado 1570 células.

En la Tabla 3, se muestran los resultados de la citotoxicidad a las 24 horas, la resina mostraba un 0.36% de citotoxicidad frente a un 48.1% que presentaba de citotoxicidad del Triton X-100, esto quiere decir, que a las 24 horas, de las 20.000 células que se sembraron, un promedio de 72 células se habían lisado, lo que representa un incremento de solo doce células lisadas, mientras que con la solución de Triton X-100 se habían lisado 9.620 células, lo que representa un incremento de 8.050 células lisadas a las 24 horas.

Tabla 2. Resultado de citotoxicidad a las 6 horas de los Fibroblastos Gingivales en presencia de la resina, en comparación con los Fibroblastos Gingivales citotóxicos (Triton X-100), determinada por técnica colorimétrica en el Stat Fax 2100, utilizando el Kit LDH de ROCHE®

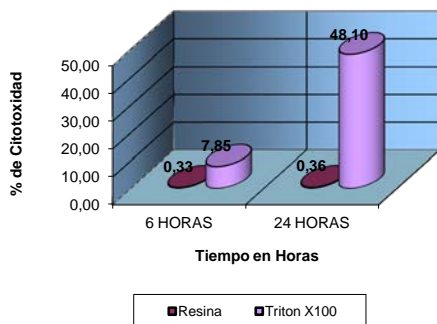
Controles altos			Promedio	Controles bajos			Promedio
0,423	0,532	0,439	0,502	1,218	1,102	0,976	0,956
0,381	0,526	0,710		0,754	0,934	0,754	
0,402	0,529	0,575		0,986	1,018	0,865	
Resina				Control tritón			
10	11	12		6	7	8	
1,064	0,964	0,964	0,997	0,754	0,829	1,179	0,921
1,023	0,823	0,823	0,890	0,727	0,760	0,690	0,726
0,951	0,991	0,951	0,964	0,779	0,763	0,924	0,822
0,980	0,982	0,942	0,968	0,639	0,597	0,675	0,637
Promedio resina			0,955	Promedio control tritón			0,776
% Citotoxicidad resina				% Citotoxicidad tritón			
-0,002	-0,455	0,330		-0,180	-0,455	39,604	

Tabla 3. Resultado de citotoxicidad a las 24 Horas de los Fibroblastos Gingivales en presencia de la resina, en comparación con los Fibroblastos Gingivales citotóxicos (Triton X-100), determinada por técnica colorimétrica en el Stat Fax 2100, utilizando el Kit LDH de ROCHE®

Controles altos			Promedio	Controles bajos			Promedio
0,340	0,775	0,934		1,003	0,987	1,197	
0,727	0,773	1,129	0,780	0,956	0,819	0,819	0,964
0,534	0,774	1,032		0,980	0,903	1,008	
Resina				(Triton X-100)			
10	11	12		6	7	8	
0,870	0,904	1,139	0,971	0,988	0,851	0,901	0,913
0,861	0,809	1,104	0,925	0,811	0,958	0,767	0,845
1,049	0,902	0,869	0,940	0,903	0,997	0,817	0,906
0,924	0,930	1,193	1,016	0,878	0,865	0,765	0,836
Promedio resina			0,963	Promedio control Triton			0,875
% Citotoxicidad resina				% Citotoxicidad Triton			
-0,001	-0,184	0,363		-0,088	-0,184	48,1	

El Triton X-100 liso en su totalidad las células para la lectura de las 48 horas, pero el reporte de citotoxicidad de la resina permaneció constante con un 0.337% de citotoxicidad. La Figura 3 muestra las diferencias de citotoxicidad entre la resina y el control citotóxico (Triton X-100) de los fibroblastos gingivales en presencia de la resina, en comparación con los fibroblastos gingivales citotóxicos (Triton X-100), determinada por técnica colorimétrica en el Stat Fax 2100, utilizando el Kit LDH de ROCHE®.

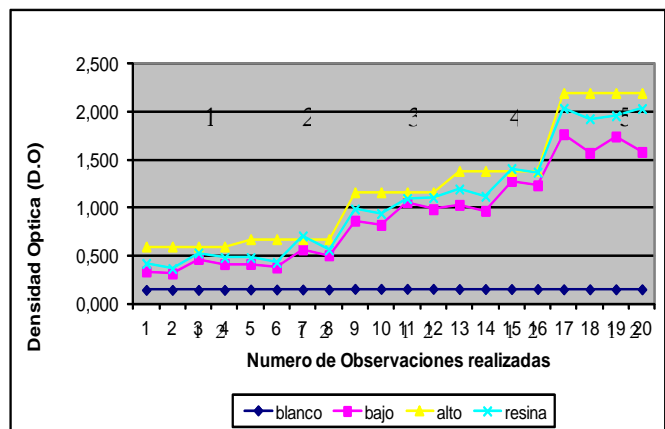
Figura 3. Citotoxicidad entre la resina y el control citotóxico (%)



El comportamiento del crecimiento celular fue constante para cada una de las muestras analizadas durante el tiempo de seguimiento (días). En la Figura 4 se puede observar una tendencia a aumentar el crecimiento celular de los FG en relación con el tiempo de incubación de las células, determinado por el promedio de la densidad óptica de cada una de las cuatro muestras analizadas.

En la Figura 4 se presenta la tendencia en el crecimiento celular de los fibroblastos gingivales en presencia de la resina, comparados con los controles alto, bajo y blanco, determinada por técnica colorimétrica en el Stat Fax 2100, utilizando el Kit XTT de ROCHE® .

Figura 4. Crecimiento celular de FG por muestras analizadas



En cuanto a la proliferación celular, los fibroblastos gingivales que se encontraban en presencia de la resina no presentan diferencias significativas con respecto a los controles; los FG se encuentran entre los rangos establecidos para el crecimiento de FG en el Laboratorio de cultivos celulares In-Vitro de la Universidad del Valle.

En la Tabla 4 se puede observar la densidad óptica de la proliferación de fibroblastos gingivales en presencia de la resina, en comparación con los fibroblastos gingivales activados (control alto) y con disminución de SFB (control bajo), determinada por técnica colorimétrica en el Stat Fax 2100, utilizando el Kit XTT de ROCHE®.

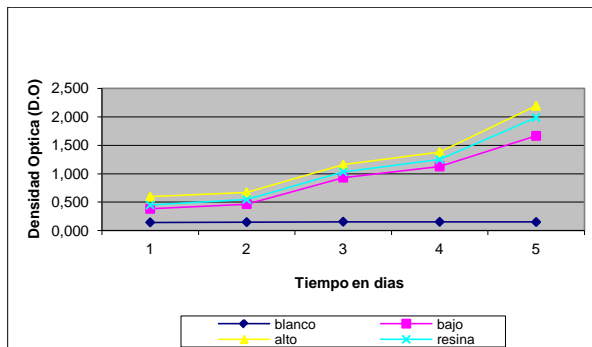
Tabla 4. Densidades ópticas en relación con el tiempo de análisis (cinco días)

Tiempo (días)	Controles			Ensayo resina
	Blanco	Bajo	Alto	
1	0,145	0,383	0,596	0,450
2	0,149	0,466	0,673	0,546
3	0,156	0,933	1,161	1,033
4	0,154	1,129	1,383	1,250
5	0,151	1,666	2,195	1,988

Al igual que el crecimiento celular de los FG, la proliferación fue constante durante los días de observación. En la Figura 6 podemos observar cómo los FG aumentaban su proliferación en relación con el tiempo de seguimiento del ensayo; no se observan diferencias estadísticamente significantes entre la proliferación del control alto, con la proliferación de los FG en presencia de la resina; igualmente no hay diferencia estadísticamente significativa entre el control bajo y los FG en presencia de resina.

En la Figura 6 se presenta la tendencia en la proliferación celular de los fibroblastos gingivales en presencia de la resina comparados con los controles alto, bajo y blanco, con respecto al tiempo en días; técnica colorimétrica en el Stat Fax 2100, utilizando el Kit XTT de ROCHE®.

Figura 6. Proliferación celular de fibroblastos gingivales



IV. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La resina filtek Z-350 de la 3M ESPE, la cual es a base de BIS-EMA, no resultó citotóxica al contacto con los FGH, a diferencia con lo reportado para las resinas basadas en dimetacrilatos aromáticos tipo Bis-GMA.

El grado de citotoxicidad mostrado por el material no estuvo en el rango de los análogos comerciales evaluados anteriormente. Este estudio dio resultados diferentes a otros ensayos preclínicos biológicos desarrollados que posibilitaron reunir la evidencia científica.

La realización de este estudio dio a conocer que la resina de la nanotecnología Z-350 de la 3M no es citotóxica sobre fibroblastos gingivales humanos, dándose así la oportunidad de no dudar en el uso de este material en nuestra consulta.

La resina Z-350 tiene entre sus componentes el UDMA y Bis-EMA 6 (Bisfenol A polietileno glicol diéter dimetacrilato) que mezclados remplazan al TEGMA en gran parte, pues este material solo es utilizado para ajustar la viscosidad. La mezcla de estos dos componentes principales tiene un alto peso molecular y, por lo tanto, tienen menos enlaces por unidad de peso.

En la mayoría de las resinas de las generaciones pasadas tenían como componente el Bis-GMA, material que científicamente ha sido comprobado reacciones alérgicas y toxicidad relativamente alta para la pulpa. Los resultados de esta prueba no concuerdan con reportes anteriores especificados en la literatura, ya que en esta pruebas el material no presentó citotoxicidad, como lo hizo la resina tipo Bis-GMA (obtudent fotocurado) fabricada en la Universidad de la Habana (Cuba)¹ que resultó severamente citotóxica.

Los materiales dentales compuestos de sistemas poliméricos han demostrado efectos tóxicos cuando se ensayan en animales de experimentación, esto se relaciona con el hecho de la difusión de monómeros a través de la dentina, lo cual se ha evidenciado con el metacrilato de metilo y otros componentes. Estos componentes, usuales de resinas dentales, han demostrado acción citotóxica en grandes diluciones y se demostró que la extracción previa al material con solventes adecuados reduce la citotoxicidad.¹

Los materiales odontológicos no se consideran sustancias inertes porque estos, cuando se aplican en el cuerpo, promueven un daño tisular; también pueden ocasionar una respuesta específica local o sistémica, por eso es fundamental entender los mecanismos de interacción de los materiales con el ambiente biológico en el cual se aplica, considerando las sustancias que ellos liberan y las propiedades de su superficie, además de otras características.

Las investigaciones *in Vitro* son el límite máximo de sensibilidad celular frente a los materiales; si su resultado es no tóxico, probablemente así será tóxico *in Vivo*; pero si es tóxico, su éxito clínico se hace cuestionable, pues habrá presencia de mecanismos de inflamación y reparación.

A esto se le agrega el estudio realizado por Mjor y Langelan en el cual no encontraron relación entre el grado de irritación pulpar *in Vivo* y la citotoxicidad *in Vitro* de ciertos materiales. Northup explica las ventajas de el modelo *in Vitro*, observando que las resinas dentales colocadas en cavidades profundas con fondo cercano a la pulpa, e incluso con pulpa expuesta, solo producen una reacción toxica ligera a pesar de manifestar una elevada toxicidad *in Vitro*. Esto se le atribuye a que en las técnicas *in Vitro*, la acción de los migrantes tóxicos es constante sobre las células, mientras que *in Vivo* la acción es temporal, debido a la rápida migración de todo el monómero residual gracias a la acción lixivante y diluyente de la saliva.¹⁸

Todos los materiales que se usan en pacientes deberían tener absoluta biocompatibilidad con el tejido orgánico. Considerando la importancia que tiene conocer los efectos tóxicos de estos materiales, se deben realizar investigaciones acerca de los daños que pueden llegar a causar los componentes de estos materiales que a diario son utilizados en la práctica odontológica y que se han convertido en un material muy solicitado por los pacientes, principalmente porque permite hacer una restauración más estética, propiedad que no se podría obtener con otros materiales.

V. REFERENCIAS

- [1] Rios M, Cepero J, Davidenko N, Krael R, González A, Pérez K, Bello J, Evaluación toxológica in-vitro de material espoliméricos de restauración dental compuestos por BIS-MAG, 5. Anuario de Toxicología, 2001; 1(1):65-72.
- [2] Saldarriaga O, Peláez A. Resinas compuestas: restauraciones adhesivas para el sector posterior. CES Odontología, 2003; 6(2):61-82.
- [3] Hernández, M. R., Rodríguez, T. B., Fernández, V. C., Cepero, J., & Sosa, V. M. R. Red funcional de implantología: impacto sobre la normalización de la evaluación biológica de equipos médicos. Revista CENIC Ciencias Biológicas, 2006; 37(3):224-226.
- [4] Norma Técnica Colombiana NTC 5036
- [5] Freshney RI. Culture of animal cells. New York, NY: John Wiley & Sons; 1996.
- [6] Roche molecular biochemicals. Apoptosis and cell proliferation 2nd revised edition
- [7] Dueñas A, Criollo WD, de Bernal AJM, Piamba JE. Enfermedad perinatal y viabilidad celular renal postmortem in vitro en el Hospital Universitario del Valle, Cali. Colombia Médica, 1996; 27(3, 4):110-116.
- [8] Guzmán H. Biomateriales odontológicos de uso clínico. Bogotá, Colombia: Ecoe; 1999.
- [9] Saravia M. Nanotecnología y su aplicación en odontología estética y restauradora. Caso clínico; 2003. Disponible en: [http://www.odontologia-online.com/publicaciones/estetica-](http://www.odontologia-online.com/publicaciones/estetica-dental/124-nanotecnologia-y-su-aplicacion-en-odontologia-estetica-y-restauradora-caso-clinico.html)

[dental/124-nanotecnologia-y-su-aplicacion-en-odontologia-estetica-y-restauradora-caso-clinico.html](http://www.odontologia-online.com/publicaciones/estetica-dental/124-nanotecnologia-y-su-aplicacion-en-odontologia-estetica-y-restauradora-caso-clinico.html)

- [10] Costa CAS, Hebling J. Biología del complejo dentinopulpar en relación a su protección mediante adhesivos. Adhesión en Odontología Restauradora. Curitiba, Brasil: Maio; 2003.
- [11] Mount GJ, Hume WR. Conservación y restauración de la estructura dental. Madrid, España: Harcourt Brace; 1999.
- [12] Torres J. Restauraciones estéticas directas e indirectas a nivel posterior; 2001.
- [13] Bercovitz B, Hollond G, Moxhom E. Atlas en color y texto de anatomía oral histológica y embriológica. 2a ed. Maryland Heights, MO: Mosby
- [14] de Souza-Costa, Vaerten MA, Edwards CA, Hanks CT. Cytotoxic effects of current dental adhesive systems on immortalized odontoblast cell line MDPC-23. Dental Materials, 1999; 15:434-441.
- [15] Ivara M. Embriología e histología oral humana. Madrid, España: Salvat; 1989.
- [16] Keiser K, Johnson C. Cytotoxicity of mineral trioxide aggregate using human periodontal ligament fibroblast. Journal of Endodontics, 2001; 26(5):288-291.
- [17] Osorio RM, Hefti A, Vertucci FJ, Shawley AL. Cytotoxicity of endodontic materials. J Endod., 1998; 24(2):91-96.
- [18] Henestroza G. Adhesión en odontología restauradora. Curitiba, Brasil: Asociación Latino-Americana de Operatoria Dental y Biomateriales.
- [19] Roche Applied Science. Cytotoxicity Detection Kit (LDH). A non-radioactive alternative to the [3H]-thymidine release assay and the [51Cr]-release assay.
- [20] Roche Molecular Biochemicals. Cell Proliferation Kit II (XTT)Colorimetric assay (XTT based) for the non-radioactive quantification of cell proliferation and viability, version, 3 octubre de 1999: cat.No.1465015, Roche
- [21] Torabinejad M, Hong CU, Ford TP, Kettering JD. Cytotoxicity of four root end filling materials. Journal of Endodontics, 1995; 21(10):489-492.
- [22] Wennberg A, Hasselgren G. Cytotoxicity evaluation of temporary filling materials. Internationals Endodontics Journals, 1981; 14:121-124.

CURRÍCULOS

Gonzalo Arana Gordillo. Odontólogo de la Universidad Central del Ecuador, con Especialización en Biomateriales, Operatoria Dental y Estética de la Universidad Militar Nueva Granada (Bogotá, Colombia), y en Docencia para la Educación Superior de la Universidad Santiago de Cali [USC]. Investigador, docente y asesor científico del Programa de Odontología de la Facultad de Salud, en el área de Biomateriales y Operatoria Dental de la USC.

Carolina Martínez Silva. Miembro del grupo de investigación en Biomateriales y Estética Dental [BEO].

Cristian Giraldo. Miembro del grupo de investigación en Biomateriales y Estética Dental [BEO].

Harold Gil Ocampo. Miembro del grupo de investigación en Biomateriales y Estética Dental [BEO].

Juan Carlos Gómez Giraldo. Miembro del grupo de investigación en Biomateriales y Estética Dental [BEO].

Luisa Fernanda Alegría A. Miembro del grupo de investigación en Biomateriales y Estética Dental [BEO].

William David Criollo. Máster en Epidemiología, Master en Administración de Salud, con pre-grado en Bacteriología y Laboratorio Clínico de la Universidad del Valle (Cali-Colombia). Director de la investigación. Especialista en Cultivos Celulares.