

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS
CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS
CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO
POR ENSAYOS DE LIXIVIADOS**

**TRABAJO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

PRESENTA

C.D. DANNYA GUADALUPE VAL CALDERON

PRESIDENTE

DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

SINODAL

**DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES
HOFMANN SALCEDO**

SINODAL

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

SINODAL

DR. MANUEL ALATORRE MEDA

TIJUANA, BAJA CALIFORNIA; MÉXICO

JUNIO 2023

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”**

Tijuana, Baja California a, 02 de junio de 2023

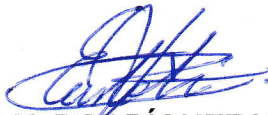
AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO POR ENSAYOS DE LIXIVIADOS.

Propuesto por la C.D. DANNYA GUADALUPE VAL CALDERON, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**



**DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ
PRESIDENTE**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”**

Tijuana, Baja California a, 02 de junio de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO POR ENSAYOS DE LIXIVIADOS.

Propuesto por la C.D. DANNYA GUADALUPE VAL CALDERON, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**A T E N T A M E N T E
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**



**DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES HOFMANN SALCEDO
SINODAL**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”**

Tijuana, Baja California a, 02 de junio de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO POR ENSAYOS DE LIXIVIADOS.

Propuesto por la C.D. DANNYA GUADALUPE VAL CALDERON, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

**ATENTAMENTE
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”**



**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ
SINODAL**

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA
“2023, año de la concienciación sobre las personas con trastorno del espectro autista”

Tijuana, Baja California a, 02 de junio de 2023

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO POR ENSAYOS DE LIXIVIADOS.

Propuesto por la C.D. DANNYA GUADALUPE VAL CALDERON, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

Por lo que el sustentante puede continuar con el proceso del examen recepcional.

A T E N T A M E N T E
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”


DR. MANUEL ALATORRE MEDA
SINODAL

Ccp.- Archivo.

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS
CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS
CERASEAL, EDGEBIOCERAMIC SEALER Y NEOSEALER FLO
POR ENSAYOS DE LIXIVIADOS**

PRESENTA



C.D. DANNYA GUADALUPE VAL CALDERON

PRESIDENTE

(DIRECTORA DEL PROYECTO)



DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

SINODALES

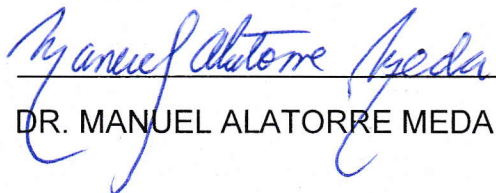
(CO-DIRECTORES DEL PROYECTO)



DRA. MARÍA ELENA DE LOS ÁNGELES
HOFMANN SALCEDO



DRA. ANA GABRIELA CARRILLO
VÁRGUEZ



DR. MANUEL ALATORRE MEDA

Tijuana, Baja California, 02 de junio del 2023

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi gratitud a las siguientes personas:

A mis padres Benny y Martha, ustedes han sido siempre el motor que impulsa mis sueños, quienes estuvieron para mí incondicionalmente y siempre han sido mis mejores guías de vida.

A mis hermanos Leah, Aranza, Selena y Oscar que siempre estuvieron presentes a la distancia, me han impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca abandonarlas.

A mis abuelos Emma y Mario, que todos los días recibía una llamada para darme ánimos y sentir su apoyo.

A mi amigo Rayburn, que siempre creyó en mí y esperaba que cumpliera todos mis sueños, sé que desde el cielo estas orgulloso.

A la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez por confiar en mí y brindarme la oportunidad de ser parte de su posgrado CUPIS UABC.

A mi Directora Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez, sin su ayuda este trabajo no lo hubiese logrado. Gracias por su dedicación, paciencia, perseverancia y tolerancia.

A mi Co-Director Dr. Manuel Alatorre Meda por compartir sus conocimientos.

A mi Co-Directora Dra. María Elena de los Ángeles Hofmann Salcedo por su aportación en este trabajo.

A mis amigos y compañeros de viaje, hoy culmina esta maravillosa aventura y no puedo dejar de recordar el camino recorrido a lo largo de nuestra formación.

Gracias por su apoyo y constancia a todos los que me acompañaron en este recorrido.

Agradecimientos Institucionales

Quiero agradecer a las siguientes instituciones:

A CONACyT por la beca otorgada, No. CVU: 1141317.

A los miembros del Laboratorio de Cultivo Celular y Microscopia Confocal del Instituto Tecnológico de Tijuana, por recibirnos en su Institución y apoyarnos en la realización de la experimentación de este proyecto de investigación.

Finalmente, se agradece a los siguientes proyectos:

Proyecto de CONACyT: INFR-2015-251863 “Fortalecimiento de la infraestructura científica de un laboratorio de cultivo celular para el desarrollo y evaluación biológica de biomateriales poliméricos y nuevas nanoplataformas teragnósticas”. Responsable: Dr. Manuel Alatorre Meda.

Proyecto de CONACyT: PDCPN-2015-89 “Biomateriales producidos a partir de polímeros naturales para tratamiento regenerativo de úlceras del pie diabético”. Responsable: Dr. Manuel Alatorre Meda.

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	IX
LISTA DE ABREVIATURAS	X
I. RESUMEN	11
II. INTRODUCCIÓN	13
2.1. ENDODONCIA	13
2.2. TRATAMIENTO DE CONDUCTOS	13
2.2.1. TRIADA ENDODÓNTICA	13
2.2.2. OBTURACIÓN.....	14
2.2.3. MATERIALES DE OBTURACIÓN	16
2.3.4. CEMENTOS SELLADORES.....	16
2.4. TIPOS DE CEMENTOS SELLADORES.....	17
2.4.1. CEMENTOS SELLADORES DE ÓXIDO DE ZINC Y EUGENOL.....	17
2.4.2. CEMENTOS SELLADORES SIN EUGENOL.....	18
2.4.3. CEMENTOS SELLADORES DE HIDRÓXIDO CALCIO	19
2.4.4. CEMENTOS A BASE DE IONÓMERO DE VIDRIO.....	20
2.4.5. CEMENTOS SELLADORES A BASE DE SILICONA	22
2.4.6. CEMENTOS SELLADORES A BASE DE RESINA EPÓXICA	22
2.4.6. CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS.....	23
2.5. BIOCERÁMICOS.....	24
2.5.1. CEMENTO SELLADOR BIOCERÁMICO CERASEAL.....	26
2.5.2. CEMENTO SELLADOR BIOCERÁMICO EDGEBIOCERMIC SEALER	27

2.5.3. CEMENTO SELLADOR BIOCERÁMICO NEOSEALER FLO	27
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
IV. JUSTIFICACIÓN	30
V. HIPÓTESIS.....	31
5.1. HIPOTESIS DE TRABAJO.....	31
5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)	31
5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1).....	31
VI. OBJETIVOS	32
6.1. OBJETIVO GENERAL.....	32
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	32
VII. VARIABLES.....	33
7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES.....	33
7.2. VARIABLES DEPENDIENTES	33
7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES.....	33
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	34
8.1. TIPO DE ESTUDIO	34
8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO	34
8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL	34
8.4. METODOLOGÍA	35
8.4.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	35
8.4.2. OBTENCIÓN DE LIXIVIADOS EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS SIMULADAS	37
8.4.3. EVALUACIÓN DE CITOCOMPATIBILIDAD	38
8.4.4. EVALUACION DE pH.....	42
VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	45
9.1.1. EVALUACIÓN DE MORFOLOGÍA CELULAR A TRAVÉS DE MICROSCOPIA ÓPTICA A 24 Y 48 H	45
9.2. CITOCOMPATIBILIDAD A TRAVÉS DE ENSAYOS ELISA	58
9.3. EVALUACIÓN DEL pH DE LOS CEMENTOS DE ESTUDIO	61
X. CONCLUSIONES.....	63
10.1. EVALUACIÓN DE LA CITOCOMPATIBILIDAD POR ENSAYOS ELISA	63
10.2. EVALUACIÓN DE pH.....	64
XI. RECOMENDACIONES	65
XII. BIBLIOGRAFÍA.....	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplo de obturación. 15

Figura 2. Cemento óxido de zinc y eugenol. 18

Figura 3. Cemento sellador sin eugenol..... 19

Figura 4. Cemento sellador de hidróxido de calcio. 20

Figura 5. Cemento sellador de ionómero de vidrio..... 21

Figura 6. Cemento sellador a base de silicona. 22

Figura 7. Cemento sellador de resina epóxica. 23

Figura 8. Cemento de silicato de calcio..... 24

Figura 9. Cemento sellador CeraSeal. 26

Figura 10. Cemento sellador EdgeBioceramic Sealer..... 27

Figura 11. Cemento sellador NeoSealer Flo. 28

Figura 12. Fotografía de las muestras de los cementos preparadas para su incubación..... 36

Figura 13. Incubación de las muestras durante 5 días..... 36

Figura 14. Fotografías representativas de las muestras en contacto con medio de cultivo celular para la obtención de los lixiviados. 37

Figura 15. Incubación de las muestras 5 días en agitación vaivén. 37

Figura 16. Obtención de los lixiviados..... 39

Figura 17. Fotografía de placa de 96 pocillos con las células en cultivo en contacto con los lixiviados. 39

Figura 18. Lavado con agua destilada y tinción de células. 40

Figura 19. Lector de placas ELISA para determinar la citocompatibilidad de las muestras. 41

Figura 20. Evaluación de la morfología celular por microscopía óptica..... 42

Figura 21. Fotografía de la muestra en contacto con agua destilada para la obtención de pH..... 43

Figura 22. Medición de pH. 43

Figura 23. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 24 h..... 46

Figura 24. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 24 h..... 47

Figura 25. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 24 h..... 48

Figura 26. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 48 h..... 49

Figura 27. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 48 h..... 50

Figura 28. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 48 h..... 51

Figura 29. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 24 h. 52

Figura 30. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 24 h. 53

Figura 31. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 24 h. 54

Figura 32. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 48 h. 55

Figura 33. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 48 h. 56

Figura 34. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 48 h. 57

Figura 35. Porcentaje de citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo a las 24 h..... 58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 36. Porcentaje de citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo a las 48 h.....	59
Figura 37. Porcentaje de citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo a las 24 y 48 h.....	60
Figura 38. Valores de pH.	61

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Citocompatibilidad (%)..... 41

LISTA DE ABREVIATURAS

Ca	Ion de calcio
ca.	Aproximadamente
CO²	Dióxido de carbono
Ensayos ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (por sus siglas en inglés)
h	Horas
mg	Miligramos
min	Minutos
ml	Mililitros
mm	Milímetros
MTA	Agregado Trióxido Mineral (por sus siglas en inglés)
nm	Nanómetros
pH	Potencial de hidrógeno
S	Segundos
rpm	Revolución por minuto
UV visible	Espectroscopia de ultravioleta visible
μL	Microlitros

I. RESUMEN

Introducción: La Endodoncia es la rama de la odontología encargada del estudio de la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental humana, así como de los tejidos perirradiculares. El éxito del tratamiento endodóntico depende de la correcta realización de la triada endodóntica, que incluye el desbridamiento, la desinfección exhaustiva y la obturación en este estudio nos enfocamos en la obturación, para lograr una correcta obturación es esencial utilizar los cementos selladores estos se utilizan en conjunción con un material núcleo biológicamente aceptable, para ello es importante evaluar la citocompatibilidad de estos cementos debido a la interacción con los tejidos adyacentes al periapice ya sea por contacto directo o por difusión de sus componentes a partir del sistema de conductos radicular. **Objetivo:** Evaluar la citocompatibilidad de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo por ensayos *in vitro* a distintos tiempos. **Metodología:** Para la evaluación de la citocompatibilidad se incubaron las muestras en forma de pastillas (n=6) por 5 días, a 37 °C y 100% de humedad para su completo fraguado. Después, las muestras de los cementos fueron incubados en agitador vaivén a temperatura controlada 37 °C y 70 rpm durante 5 días para producir los lixiviados. Posteriormente, células MDA-MB-231 fueron incubadas por 24 y 48 h en presencia de los lixiviados. Transcurridos los tiempos de incubación, se evaluó la citocompatibilidad de los cementos por microscopía óptica y ensayos colorimétricos ELISA. Adicionalmente, el pH de las muestras de cementos fraguados fue evaluado tras su inmersión en agua destilada a los tiempos de 30 min, 1 h, 1-8 días y 17 días, a temperatura ambiente empleando tiras medidoras de pH. **Resultados:** Los resultados por ensayo ELISA demostraron porcentajes de citocompatibilidad de los cementos de estudio alrededor del 125% (CeraSeal 300 mg), 102% (EdgeBioceramic Sealer 30 mg), 139% (NeoSealer Flo 150 mg) a las 24 h de incubación, con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) a las 48 h del cemento NeoSealer Flo (150 mg) que desplegó un decremento ligero en su citocompatibilidad arrojando un valor de 78%, presentando diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) con respecto al cemento EdgeBioceramic Sealer (30 mg) arrojando un valor de 108%. Con respecto a la morfología y densidad celular observada no hubo cambios evidentes. Finalmente,

los valores de pH de las muestras de los cementos de estudio exhibieron resultados similares, mientras que NeoSealer Flo exhibió un ligero descenso. **Conclusiones:** Las caracterizaciones por microscopía óptica y ensayos ELISA confirmaron de forma cualitativa y cuantitativa la alta citocompatibilidad de los cementos estudiados, a distintas concentraciones, demostrando niveles de viabilidad celular superiores al 70% tras 24 y 48 h de incubación. No obstante, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los cementos tanto en función de su naturaleza como en función de la concentración, confirmándose la Hipótesis Alternativa (H1) de este trabajo de investigación. Por otro lado, los resultados obtenidos de la evaluación del pH exhibieron que los cementos CeraSeal y EdgeBioceramic Sealer mantuvieron valores de pH altos y relativamente constantes (pH 11-12), mientras que el cemento NeoSealer Flo exhibió valores de pH ligeramente inferiores y fluctuantes (pH 9-11, con moda estadística de pH 10).

II. INTRODUCCIÓN

2.1. ENDODONCIA

La Endodoncia es una especialidad de la Odontología, la cual es reconocida como tal por la Asociación Dental Americana en 1963 (1). Es la rama de la odontología encargada del estudio de la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental humana, así como de los tejidos perirradiculares. El objetivo final de la terapia endodóntica es mantener o devolver la salud a los tejidos circundantes del diente, es decir, prevenir o revertir cuadros inflamatorios e infecciosos (2).

El diente al igual que cualquier otro órgano del cuerpo humano está conformado por un conjunto de tejidos histológicos como el esmalte, el complejo dentino-pulpar y el periodonto de inserción, que lo distinguen estructuralmente y funcionalmente.

La pulpa dental es el único tejido blando que conforma al diente, se clasifica como un tejido conectivo laxo ricamente vascularizado e innervado, que se encuentra alojado en la cámara pulpar y en los conductos radiculares, como todo tejido conectivo está formado por células y matriz extracelular (3).

2.2. TRATAMIENTO DE CONDUCTOS

El tratamiento de conducto radicular consiste en la eliminación completa de la pulpa que ha sufrido un daño irreversible y de todo el tejido remanente el desbridamiento, desinfección exhaustiva y obturación del sistema del conducto radicular, de manera que se pueda conservar el diente como una unidad funcional dentro del arco dental (4).

2.2.1. TRIADA ENDODÓNTICA

En 1958, Ingle señaló que deberá llevarse a cabo “la triada endodóntica” basada en el desbridamiento, desinfección exhaustiva y obturación, todos estos tratándose con la misma importancia (5).

II. INTRODUCCIÓN

El desbridamiento y desinfección es la remoción de todo el contenido del sistema de los canales radiculares antes de la obturación y durante la misma: material infectado, material antigénico, sustratos orgánicos, microflora, productos bacterianos, restos de comida, tejidos remanentes, cálculos pulpares, sustancias químicas inflamatorias, materiales de relleno del canal contaminado y detritos dentinarios que se producen durante los procedimientos de conformación del canal (6).

La desinfección facilita la extracción mecánica de los contenidos del canal y la disolución química, la salida de las sustancias de la inflamación y las potencialmente inflamatorias. Una desinfección exhaustiva correcta facilita el uso de los instrumentos para eliminar físicamente las sustancias, la irrigación de los sistemas para eliminar los restos de materiales y la disolución de los contenidos de las zonas inaccesibles gracias a las sustancias químicas que pueden llegar a zonas difíciles de alcanzar (7).

La preparación biomecánica implica dar una forma única a cada conducto radicular, no solo relacionado con su longitud, sino también relacionado con la posición y curvatura de cada raíz y conducto radicular individual, para posteriormente ser obturado (6).

2.2.2. OBTURACIÓN

El concepto académico de la obturación del conducto radicular valoriza tres aspectos esenciales: la capacidad de relleno, el control microbiano y la compatibilidad biológica (8).



Figura 1. Ejemplo de obturación.

Presentación de un órgano dental con un cono de gutapercha dentro del conducto radicular mesiovestibular (9).

El propósito de la obturación endodóntica es, prevenir la reinfección de los conductos radiculares que han sido limpiados y conformados mediante los procedimientos de instrumentación, irrigación y medicación (10).

El objetivo del tratamiento de conductos es prevenir o tratar la periodontitis apical. Esto se conseguirá mediante una buena limpieza y conformación del sistema de conductos y un sellado hermético a los fluidos de los conductos radiculares desde la apertura coronaria hasta su terminación apical que impida la filtración (11).

La obtención de un “sellado hermético” es un tema muy frecuente como un objetivo fundamental en el tratamiento de conductos; su término hermético significa sellado contra la entrada o salida del aire, ya que se debe evitar cualquier filtración de fluidos y evitar la supervivencia de las bacterias. Es importante tener un buen sellado tanto en la región apical como en la región coronal para así lograr el éxito del tratamiento.

Preparación del conducto radicular: limpieza y conformación (12).

La obturación del espacio radicular preparado se ha logrado utilizando una amplia variedad de materiales seleccionados por sus propiedades intrínsecas y

características de manejo. Estos materiales del núcleo se han clasificado como cementos, pastas, plásticos o sólidos (13).

El esfuerzo anterior para formar un sellado hermético es rellenar el conducto radicular con gutapercha, siempre que la gutapercha tenga mejores propiedades y biocompatibilidad que el cemento sellador (14).

2.2.3. MATERIALES DE OBTURACIÓN

En la actualidad tenemos distintos materiales de obturación, la gutapercha, en sus diversas formas, ha seguido siendo el modelo como material de obturación de conductos radiculares durante el transcurso del siglo pasado. El desarrollo de materiales de núcleo y técnicas de administración ha generado sistemas basados en resina y gutapercha basados en portadores. Estos materiales de obturación se combinan con selladores para proporcionar una obturación adecuada del espacio del conducto radicular que, idealmente, previene la aparición de enfermedades endodónticas y fomenta la cicatrización periapical cuando existe patología (6).

Los cementos selladores se diferencian de las pastas, pues la interacción química de sus componentes conduce a su posterior endurecimiento o fraguado. Los cementos selladores no son el elemento fundamental de la obturación, sino que funcionan en conjunto con otros elementos de la obturación, como los conos de gutapercha entre sí, o sellan los espacios entre los elementos de la obturación y la pared dentinal (Figura 1) (12).

2.3.4. CEMENTOS SELLADORES

Los cementos selladores tienen como finalidad ocupar los espacios entre la gutapercha y las paredes del conducto radicular, como también los que existan entre los propios conos de gutapercha (15).

Grossman señaló que, independientemente de su tipo, el cemento tendría que reunir los siguientes requisitos: 1) ser homogéneo para suscitar buena adhesividad entre él y las paredes del conducto 2) producir un sellado hermético 3) debe ser radiopaco 4) las partículas del polvo deben ser finas, para fácil mezclado 5) no debe experimentar

contracción después de su endurecimiento 6) no debe manchar la estructura dentaria 7) debe ser bacteriostático 8) fraguar lentamente 9) insoluble ante los fluidos bucales 10) debe ser bien tolerado por los tejidos 11) debe ser soluble a los solventes comunes (8).

El cemento sellador debe poseer ciertas características que son determinantes para asegurar el éxito del tratamiento endodóntico. El cemento sellador estará en contacto directo con los tejidos periapicales por un tiempo prolongado, su biocompatibilidad es de gran importancia y es muy importante estudiar la citocompatibilidad de estos mismos. La toxicidad de un sellador puede retardar la cicatrización de los tejidos periapicales o causar una reacción tisular inflamatoria.

2.4. TIPOS DE CEMENTOS SELLADORES

Existen distintos tipos de cementos, estos varían dependiendo de la fórmula con la que fueron realizados y la comercializadora que los distribuye, entre estas incluye materiales a base de óxido de zinc y eugenol, base de hidróxido de calcio, resinas sintéticas, base de ionómero de vidrio, resinas polivinílicas, cementos policarboxilatos y silicona (15).

2.4.1. CEMENTOS SELLADORES DE ÓXIDO DE ZINC Y EUGENOL

Estos cementos ocupan gran lugar en Endodoncia debido a la frecuencia con que son usados uno de estos cementos más conocidos es el sellador de Rickert o sellador de Kerr (Pulp Canal Sealer), el cual fue utilizado desde 1948 con excelentes resultados. Los cementos a base de óxido de zinc – eugenol presentan una característica desfavorable, debido a la presencia de eugenol en su fórmula, ya que se ha comprobado que el eugenol es directamente responsable de la citotoxicidad de los cementos endodónticos que los contienen; así mismo esta irritación tisular es directamente proporcional a la cantidad presente en la mezcla (16).



Figura 2. Cemento óxido de zinc y eugenol.

Presentación del cemento sellador a base de óxido de zinc y eugenol de la casa comercial VIARDEN (17).

El Óxido de Zinc con Endurecedor, tiene todas las propiedades terapéuticas de los cementos de óxido de zinc y eugenol (Figura 2), pero con mayor resistencia a la compresión y menor solubilidad y disminución en el tiempo de fraguado, lo que se traduce en aumento de la productividad del consultorio dental (17).

2.4.2. CEMENTOS SELLADORES SIN EUGENOL

Su desarrollo parte de un apósito periodontal, Nogenol es un sellador del conducto radicular, sin los efectos irritantes del eugenol. La base contiene óxido de zinc, sulfato de bario y oxiclورو de bismuto (18).



Figura 3. Cemento sellador sin eugenol.

Presentación del cemento sellador cemento sellador a base de óxido de zinc sin eugenol de la casa comercial GC América Inc (7).

Cemento sellador a base de óxido de zinc sin eugenol con nombre de Nogenol (Figura 3), es ideado para superar las características irritantes de los cementos con eugenol convencionales (7).

2.4.3. CEMENTOS SELLADORES DE HIDRÓXIDO CALCIO

Los cementos a base de hidróxido de calcio poseen aceptable biocompatibilidad y capacidad de sellado, tiene además una acción antiinflamatoria, antimicrobiana, estimula la formación de tejido óseo mineralizado y contribuye al proceso de reparación tisular, todo esto se debe a su elevado pH promovido por la disolución de sus iones calcio e hidroxilo. Estas propiedades físico-químicas permiten que tenga diversas aplicaciones clínicas tales como: tratamiento de pulpas vitales o necróticas, apexificaciones, apexogénesis, reabsorciones radiculares internas y externas, con el propósito de mejorar las propiedades biológicas y garantizar un buen sellado de los sistemas de conductos radiculares, ya que previenen la regeneración de las bacterias residuales, controlan la entrada de bacterias dentro del conducto y estimulan la formación de tejidos de reparación en la región periapical (19).



Figura 4. Cemento sellador de hidróxido de calcio.

Presentación del cemento sellador a base de de hidróxido de calcio de casa comercial Kerr Endodontics (20).

Sealapex es un cemento sellador radicular de polímero de hidróxido de calcio sin eugenol, que promueve una rápida cicatrización y formación de tejido duro (Figura 4). de calcio de obturación de canales contiene un tubo de base y catalizador. El cemento Sealapex es fácil de mezclar y de aplicar, no mancha la estructura dental y se reabsorbe fuera del diente (20).

2.4.4. CEMENTOS A BASE DE IONÓMERO DE VIDRIO

Los ionómeros vítreos fueron desarrollados por Wilson y Kent en 1974. En la mayoría de los Ionómeros Vítreos el líquido es esencialmente un ácido poliacrílico entre el 35% y 50% con ciertos aditivos como el ácido itacónico. Tiene la capacidad de crear enlaces hidrógeno con el colágeno y los componentes inorgánicos de la estructura dentaria, particularmente con el calcio. Esta quelación proporciona un enlace químico entre el material y la estructura dental. Algunos líquidos contienen ácido tartárico,

II. INTRODUCCIÓN

maleico o ambos que actúan como agentes endurecedores y aceleradores para acortar el tiempo de fraguado. El polvo del ionómero es un vidrio de alúminosilicato. Si se deshidrata durante las 24 horas siguientes a la preparación, la mezcla se agrietaría y se quebraría. Si absorbiese agua durante los diez o treinta minutos siguientes a la preparación, la matriz experimentaría una rápida erosión. Sólo se obtiene una buena dureza de superficie cuando llega a formarse sin haber perdido o añadido agua durante el período inicial de endurecimiento (21).

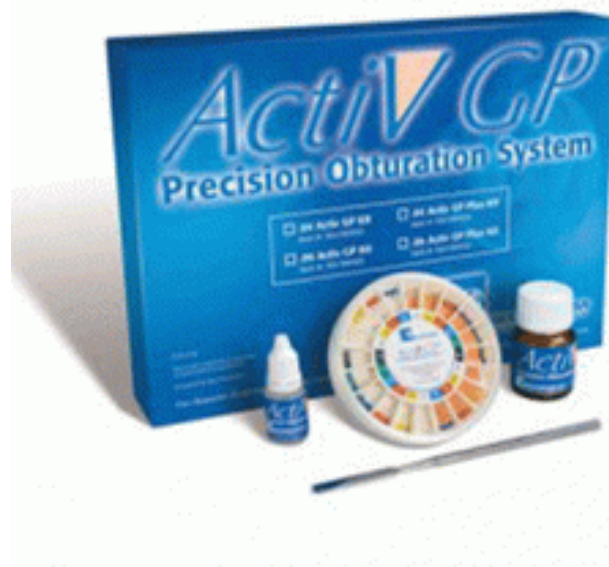


Figura 5. Cemento sellador de ionómero de vidrio.

Presentación del cemento sellador a base de ionómero de vidrio de la casa comercial Brasseler USA (22).

Activ GP es un sistema de obturación único y patentado que consiste en un sellador de ionómero de vidrio y puntas de gutapercha altamente activas (Figura 5). Las puntas de gutapercha están verificadas con láser y se han sometido a dos procesos patentados de impregnación y recubrimiento de la gutapercha con partículas de ionómero de vidrio (22).

2.4.5. CEMENTOS SELLADORES A BASE DE SILICONA

Los materiales de polivinil siloxano se utilizan desde hace muchos años en Odontología, por que poseen una buena adaptabilidad a los espacios y baja absorción de agua por lo cual no se distorsionan, además son biocompatibles, ya que la silicona es un material inerte y biocompatible ampliamente utilizado en medicina como material de implante (23).



Figura 6. Cemento sellador a base de silicona.

Presentación del cemento sellador a base de silicona de la casa comercial COLTENE (24).

RoekoSeal es un polivinilsiloxano que se expande ligeramente al fraguar, fluye hasta en el canal radicular más pequeño, es biocompatible, cumplen con todos los requisitos de un sellante del canal radicular (Figura 6) (24).

2.4.6. CEMENTOS SELLADORES A BASE DE RESINA EPÓXICA

Este grupo de cementos obturadores de conductos radiculares gozan de gran aceptación por sus propiedades y están basados en la química de las resinas, estos cementos tienen una característica general de presentar buena adhesión a las paredes del conducto radicular, aspecto que ha sido adjudicado a la presencia de resina en su fórmula (25).



Figura 7. Cemento sellador de resina epóxica.

Presentación del cemento sellador a base de resina epóxica de la casa comercial DENTSPLY (26).

AH Plus es una pasta de dos componentes pasta/pasta, para sellar el conducto radicular. Base de resina amino epóxica, tiene sellado a largo plazo, magnífica estabilidad dimensional, propiedades autoadhesivas, gran radiopacidad (Figura 7) (26).

2.4.6. CEMENTOS SELLADORES BIOCERÁMICOS

Los biocerámicos son materiales cerámicos, inorgánicos, no metálicos y biocompatibles diseñados para uso médico y odontológico, están constituidos por alúmina, zirconio, vidrio bioactivo, cerámica de vidrio, silicato de calcio, hidroxiapatita y fosfatos de calcio reabsorbibles. Las categorías que se le otorgan a los materiales biocerámicos son: 1) Bioinertes: capaces de rellenar tejidos y ser tolerados por el organismo, 2) Bioactivos: tolerados por el organismo con capacidades de osteoconducción, 3) Biodegradables: con capacidad de ser degradados en ambiente biológico y reemplazado por hueso (27).

El cemento MTA Fillapex es un sellador de resina a base de MTA en su composición, además de salicilato de resina, resinas naturales y diluidas, resina de nanopartículas, trióxido de bismuto, nanopartículas de silicato y pigmentos (Figura 8). Tiene baja solubilidad y es de fácil manejo; entre sus propiedades se destaca su pH alcalino y su efecto antimicrobiano, además es bioactivo y similar al MTA por su capacidad para integrarse al tejido dentinario con el que entra en contacto (28).

Este material provenía originalmente de una combinación de silicato de calcio y fosfato de calcio. El fosfato de calcio mejora las propiedades de fraguado de los selladores biocerámicos dando como resultado una composición química y una estructura cristalina similar a la de los materiales de apatita dental y ósea, mejorando así la unión del sellador a la raíz de la dentina (29).



Figura 8. Cemento de silicato de calcio.

Presentación del cemento sellador cemento sellador a base de silicato de calcio la casa comercial angelus (30).

2.5. BIOCERÁMICOS

En endodoncia, los materiales biocerámicos fueron introducidos en la década del 90 con el desarrollo y descripción del Agregado de Trióxido Mineral (MTA), un derivado del cemento de Portland (31).

Diversas líneas de investigación buscan demostrar la presencia de biomineralización en la interface biocerámico - dentina, evaluar la capacidad de inducir la proliferación de fibroblastos periodontales, establecer la diferenciación de células de la pulpa dental y determinar la bioactividad de los biocerámicos (32).

II. INTRODUCCIÓN

El sellador biocerámico se diferencia de un sellador tradicional por ser hidrofílico y por lo tanto la humedad en el canal y los túbulos es una ventaja, a diferencia de la mayoría de los selladores donde la humedad es perjudicial para su rendimiento. Además, el sellador se expande ligeramente y es insoluble en los fluidos tisulares (33).

El fraguado de los biocerámicos son materiales hidrofílicos que utilizan el agua presente en los túbulos dentinarios para su hidratación, contienen entre otros materiales silicato de calcio que luego de pasar por este proceso de hidratación forma un gel de silicato de calcio o hidrogel e hidróxido de calcio (34).

Posterior a esto, los iones de fosfato presentes reaccionan con el hidróxido de calcio produciendo la precipitación de hidroxiapatita en la interface dentina/material BC y agua, creando no solo una unión física con el tejido dentario, sino también química. El agua generada participa nuevamente en el proceso de hidratación (34).

Los selladores a base de silicato de calcio premezclados y listos para usar son nuevos selladores que facilitan la biomineralización, el proceso por el cual un organismo vivo sintetiza una sustancia mineral, la bioactividad que implica la síntesis de depósitos de fosfato de calcio en la superficie de los materiales colocados en un fluido corporal mímico (35).

La bioactividad de los materiales en base a silicato de calcio como MTA se atribuye a la capacidad de liberar iones de calcio (Ca^{2+}) y producir precipitados cristalinos de tipo apatita cuando están en contacto con fluidos fisiológicos que contienen fosfato. El aumento resultante en pH y concentración de (Ca^{2+}) aumenta la saturación del fluido que contiene fosfato con respecto a la apatita y, por lo tanto, promueve la precipitación (36). Los iones (Ca^{2+}), cuando entran en contacto con el tejido conectivo forman dióxido de carbono, el que reacciona con hidróxido de calcio formando cristales de calcita (carbonato de calcio), que sirven como núcleo de calcificación. La alcalinidad del medio estimula la formación de fibronectina, que con los cristales de calcita inducen la formación de colágeno tipo I y junto con el calcio induce mineralización (36).

Los beneficios que aportan los cementos selladores biocerámicos al ser en forma premezclada es mayor estabilidad a comparación de cementos selladores convencionales, no sufren contracción de fraguado por contar ya con medidas estipuladas del fabricante a su manipulación. Otra característica es que poseen en su

II. INTRODUCCIÓN

capacidad de producir hidroxapatita durante su proceso de fraguado, generando un enlace químico entre la dentina y el material de obturación. Presentan además un pH muy alcalino durante las primeras 24 horas de fraguado (elevada actividad antibacteriana), fácil manejo para el odontólogo gracias a su jeringa premezclada, introduciéndose así directamente dentro del conducto radicular y cuentan con un tiempo de trabajo aproximado de 3 a 4 horas a temperatura ambiente (12).

Algunos de los cementos selladores biocerámicos que podemos encontrar en el mercado son: CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo, entre otros.

2.5.1. CEMENTO SELLADOR BIOCERÁMICO CERASEAL

CeraSeal (Meta Biomed Co., Cheongju, Corea) es un sellador endodóntico premezclado recientemente lanzado que contiene silicatos de calcio, óxido de circonio y agente espesante (Figura 9) (37). Según los fabricantes, estos selladores tienen propiedades físicas clínicamente adecuadas y citocompatibilidad (38).

Aporta un entorno biocompatible perfecto en los tejidos del conducto radicular: 1) gran capacidad de sellado, 2) acción antimicrobiana y 3) biocompatibilidad alta. Este cemento sellador tiene un pH de 12.73 lo cual demuestra alta tasa antimicrobiana y un tiempo de fraguado de 5 horas y 30 minutos (39).



Figura 9. Cemento sellador CeraSeal.

Presentación del cemento sellador CeraSeal de la casa comercial METABIOMED (39).

2.5.2. CEMENTO SELLADOR BIOCERÁMICO EDGEBIOCERMIC SEALER

EdgeBioceramic Sealer presenta una fórmula única biocerámico sin resina que lo hace altamente biocompatible e hidrófilo ya que libera activamente iones de calcio al momento de su utilización y mezclado adecuado (Figura 10). A diferencia de los cementos selladores que anteriormente se utilizaban, este tiene una característica importante; no se contrae, por lo tanto, no es necesario compactar la gutapercha, por lo que simplemente con impregnar las paredes del sistema del conducto radicular es suficiente para su efectividad. Este cemento es antibacteriano por su alcalinidad (pH 12). Además, el EdgeBioceramic Sealer presenta un flujo ideal, que es consistente con la norma ISO 6786 /2001 y tiene un tiempo de trabajo de 4 horas, este llega su fraguado total a las 12 horas (40).



Figura 10. Cemento sellador EdgeBioceramic Sealer.

Presentación del cemento sellador EdgeBioceramic de la casa comercial EdgeEndo (40).

2.5.3. CEMENTO SELLADOR BIOCERÁMICO NEOSEALER FLO

NeoSealer Flo es un sellador de canales radiculares biocerámico bioactivo con propiedades de manejo superiores, que promueve la formación de hidroxiapatita para apoyar el proceso de cicatrización (Figura 11). A diferencia de los selladores convencionales, NeoSealer Flo es biocompatible, antimicrobiano, dimensionalmente estable y sin resina, cuenta con un pH alto lo que lo caracteriza como altamente antimicrobiano y su fraguado final es de 4 a 10 horas (41).



Figura 11. Cemento sellador NeoSealer Flo.

Presentación del cemento sellador NeoSealer Flo de la casa comercial Avalon Biomed (41).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La utilización de cementos selladores en Endodoncia es de gran importancia, por ello se requiere de realizar estudios de citocompatibilidad previo a su aplicación clínica para desempeñar la función deseada de acuerdo al tratamiento, sin provocar reacciones adversas tales como toxicidad, irritaciones a los tejidos periradiculares o carcinogenicidad, y al mismo tiempo generando una mejor respuesta al proceso de cicatrización de los tejidos y asimismo evitar respuestas inflamatoria, optimizando el desempeño clínico.

IV. JUSTIFICACIÓN

Es fundamental la evaluación de la actividad biológica de los cementos selladores Endodónticos ya que estos interaccionan con los tejidos perirradiculares por contacto directo tanto como por difusión por el sistema de conductos radiculares. Con base en lo anterior, el presente proyecto se evaluó la citocompatibilidad de tres cementos selladores de reciente lanzamiento al mercado: CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo.

V. HIPÓTESIS

5.1. HIPOTESIS DE TRABAJO

La caracterización biológica planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar diferencias -si las hay- en la citocompatibilidad de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo.

5.2. HIPÓTESIS NULA (H0)

Las células cultivadas en presencia y ausencia de lixiviados de los tres cementos objeto de estudio desplegarán porcentajes de viabilidad iguales, con un nivel de confianza del 95%.

5.3. HIPÓTESIS ALTERNATIVA (H1)

Las células cultivadas en presencia de lixiviados de cualquiera de los cementos presentarán diferencia estadísticamente significativa en su viabilidad, ya sea con respecto a las células sin tratar o con respecto a las células cultivadas en presencia de lixiviados del otro cemento, con un nivel de confianza del 95%.

VI. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la citocompatibilidad de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo por ensayos *in vitro* a distintos tiempos.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Preparar pastillas de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo.
2. Obtener muestras de lixiviados a partir de la incubación de las pastillas de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo (a concentraciones de 30, 150 y 300 mg) en condiciones fisiológicas simuladas.
3. Evaluar la citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo después de la exposición directa de sus lixiviados a células en cultivo a 24 y 48 h, a través de ensayos ELISA de acuerdo a la norma ISO: 10993.
4. Evaluar el pH de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo tras su inmersión en agua destilada a 30 min, 1 h, 1-8 días y 17 días.
5. Llevar a cabo análisis estadístico de los resultados obtenidos.

VII. VARIABLES

7.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

1. Tipo de cemento endodóntico (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo).
2. Concentración de los cementos (30, 150 y 300 mg).
3. Tiempo de incubación en contacto con células MDA-MB-231 en cultivo.

7.2. VARIABLES DEPENDIENTES

1. Citocompatibilidad de los cementos endodónticos.

7.3. OPERACIÓN DE VARIABLES

Se evaluó la citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo. Para su análisis, las muestras fueron preparadas siguiendo las recomendaciones de los fabricantes. La citocompatibilidad fue caracterizada mediante ensayos de lixiviados a las 24 y 48 h de acuerdo a la norma ISO: 10993, a través de ensayos inmunoenzimáticos ELISA.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Experimental.

8.2. UNIVERSO DE ESTUDIO

Para los ensayos de citocompatibilidad se evaluaron tres Sistemas y un Control (n =6):

Sistema 1: Lixiviados del cemento CeraSeal a distintas concentraciones.

Sistema 2: Lixiviados del cemento EdgeBioceramic Sealer a distintas concentraciones.

Sistema 3: Lixiviados del cemento NeoSealer Flo a distintas concentraciones.

Control: Células en cultivo sin tratar.

Para evaluar el cambio de pH se estudiaron tres muestras (n=1):

Muestra 1: Cemento CeraSeal (300 mg) fraguado e inmerso en agua destilada.

Muestra 2: Cemento EdgeBioceramic Sealer (300 mg) fraguado e inmerso en agua destilada.

Muestra 3: Cemento NeoSealer Flo (300 mg) fraguado e inmerso en agua destilada.

8.3. MATERIALES E INSTRUMENTAL

Los cementos endodónticos empleados para este estudio fueron utilizados siguiendo las indicaciones del fabricante. El cemento sellador CeraSeal de la marca Meta Biomed (Colmar, Pennsylvania). El cemento sellador EdgeBioceramic Sealer de la marca EdgeEndo (Albuquerque, New México). El cemento sellador NeoSealer Flo es de la marca Avalon Biomed (Houston, Texas). Se empleó una micro balanza analítica Pioneer de la marca Ohaus para estandarizar el peso de las muestras de cemento. Para permitir el completo fraguado de los cementos se empleó una incubadora modelo Symphony de la marca VWR. Para los ensayos de citocompatibilidad las

células MDA-MB-231 fueron adquiridas de los Laboratorios American Type Culture Collection (ATCC). El medio de cultivo celular Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Sigma-Aldrich) fue de la marca Corning. Se emplearon placas de cultivo de 96 pocillos (Costar, USA). Para la tinción celular se empleó una solución de cristal violeta al 0.1% compuesta por ácido fosfórico 200 mM, ácido fórmico 200 mM y ácido 2-(M-morfolino)-etanosulfónico (MES) 200 mM a pH 6. Se utilizó un agitador orbital (Rotomix, Type 48200). Para determinar la citocompatibilidad se empleó un Lector de microplacas iMark, BIO-RAD operando a una longitud de onda de 595 nm. Los lixiviados de cada muestra se obtuvieron en el interior de tubos falcón de 15 mL. Para la evaluación del pH se empleó agua destilada y tiras indicadoras de pH (Fermont). Se trabajó en condiciones de esterilidad en una cabina de flujo laminar de la marca Ulbrecht. Para la evaluación de la morfología celular se empleó un microscopio invertido (Olympus CKX53). Se utilizó un agitador Vortex (Vortex-2 gene digital Scientific industries).

Para la producción de lixiviados se utilizaron tubos falcón de 15 mL estériles, medio de cultivo DMEM con suplemento de suero fetal bovino (FBS, por sus siglas en inglés), 0.1 mM de aminoácidos no esenciales (NEAA, por sus siglas en inglés), 2 mM de L-Glutamina (L-Glu), 1 mM piruvato de sodio y 1% de penicilina estreptomicina (pen-strep) y solución de 0.25% de tripsina-EDTA.

8.4. METODOLOGÍA

8.4.1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo fueron preparados en forma de pastillas siguiendo las indicaciones del fabricante y depositados sobre una loseta de papel estéril. Posteriormente, para permitir el fraguado de los cementos, las losetas con los cementos fueron colocadas dentro de una caja de Petri de vidrio estéril que en su interior contendrá una caja de Petri estéril de menor tamaño dentro de la cual se colocaron dos rollos de algodón estériles a los que se les agregó 3 mL de agua destilada estéril para mantener la humedad dentro del sistema, que posteriormente fue sellado con Parafilm para evitar evaporación al entorno (Figura

12) (42). Las pastillas de los cementos fueron incubadas a 37 °C por 5 días y 100% para permitir su fraguado completo (Figura 13). Tras el fraguado de los cementos después de 5 días, las pastillas fueron pesadas en una microbalanza para estandarizar su peso a 30, 150 y 300 mg.

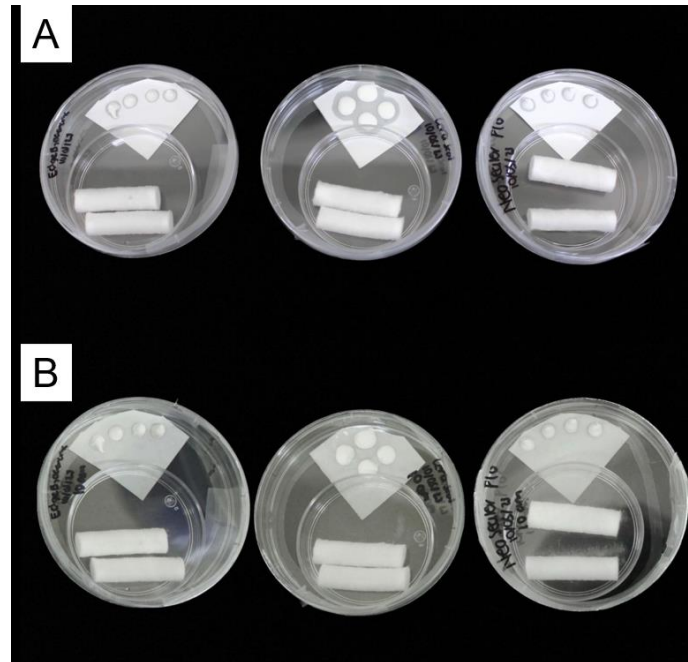


Figura 12. Fotografía de las muestras de los cementos preparadas para su incubación.

En la Figura se observa A) las muestras de los cementos previo a su incubación y B) las muestras fraguadas después de 5 días.

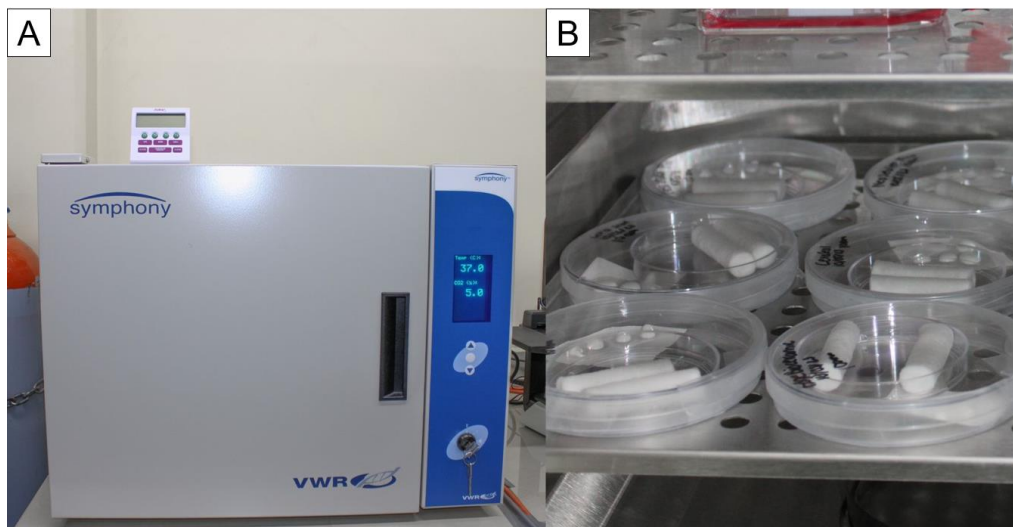


Figura 13. Incubación de las muestras durante 5 días.

En la Figura se observa A) la incubadora con los parámetros de incubación requeridos y B) las muestras preparadas para su estudio.

8.4.2. OBTENCIÓN DE LIXIVIADOS EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS SIMULADAS

Una vez estandarizados los pesos de las pastillas de los cementos fraguados (Sistemas 1, 2 y 3), fueron depositadas en el interior de un tubo falcón de 15 mL estéril con 3 mL de medio de cultivo celular (DMEM) (Figura 14), los tubos fueron posteriormente sellados con Parafilm e incubados en agitador vaivén a temperatura controlada 37 °C y 70 rpm durante 5 días (Figura 15).

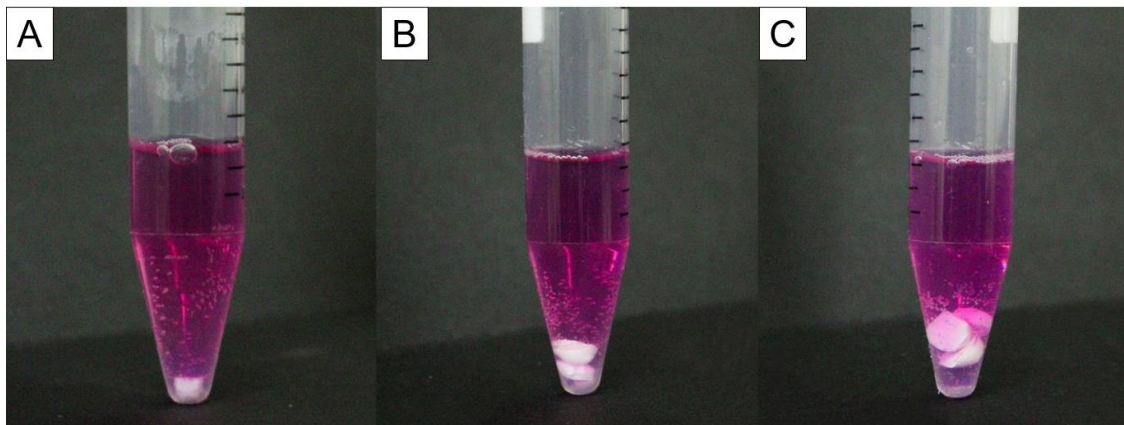


Figura 14. Fotografías representativas de las muestras en contacto con medio de cultivo celular para la obtención de los lixiviados.

En la Figura A) se muestra una pastilla de 30 mg, así como B) pastillas con peso total de 150 mg, y C) pastillas con peso total de 300 mg.

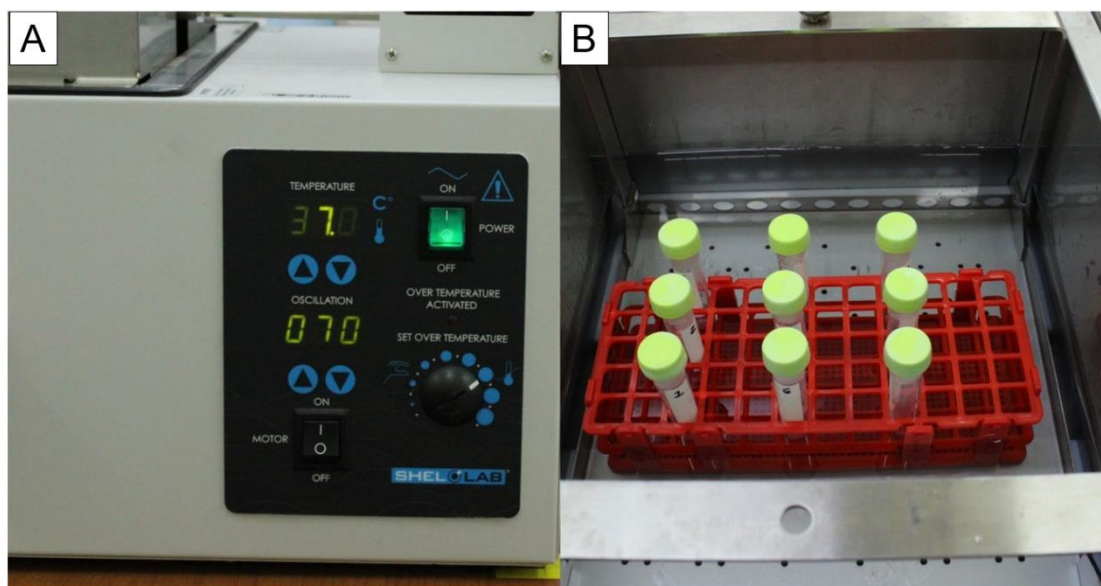


Figura 15. Incubación de las muestras 5 días en agitación vaivén.

En la Figura se observa A) la incubadora con los parámetros de agitación requeridos y B) las muestras preparadas para su estudio.

8.4.3. EVALUACIÓN DE CITOCOMPATIBILIDAD

8.4.3.1. Condiciones de cultivo celular

Para los ensayos de citocompatibilidad se empleó la línea celular MDA-MB-231 que fue cultivada en medio de cultivo DMEM con suplemento de suero fetal bovino (FBS, por sus siglas en inglés), 0.1 mM de aminoácidos no esenciales (NEAA, por sus siglas en inglés), 2 mM de L-Glutamina (L-Glu), 1 mM piruvato de sodio y 1% de penicilina-estreptomicina (pen-strep). La incubación de las células se realizó en condiciones de estándar de cultivo a 37 °C, 5% CO₂ y 100% de humedad. Una vez que las células alcanzaron una confluencia óptima del 80-90% fueron subcultivadas empleando una solución de 0.25% de tripsina-EDTA e incubadas en 4 min a condiciones estándar de cultivo. Las células fueron desprendidas de los frascos de cultivo y posteriormente resuspendidas en medio de cultivo fresco para ser sembradas en placas de 96 pocillos a una densidad de 10,000 células/pocillo en 100 µL de medio de cultivo celular e incubadas durante 24 h en condiciones de estándar de cultivo.

8.4.3.2. Cultivo celular en presencia de los lixiviados

Después de 24 h de incubación de las células en las placas de 96 pocillos, se añadieron 100 µL de lixiviados de cada uno de los Sistemas de estudio (n = 6) (Figura 16). Posteriormente, las células fueron incubadas en presencia de los lixiviados a los tiempos de 24 y 48 h en condiciones estándar de cultivo (Figura 17). Transcurridos los tiempos de incubación las células fueron observadas bajo microscopía óptica para evaluar su morfología.

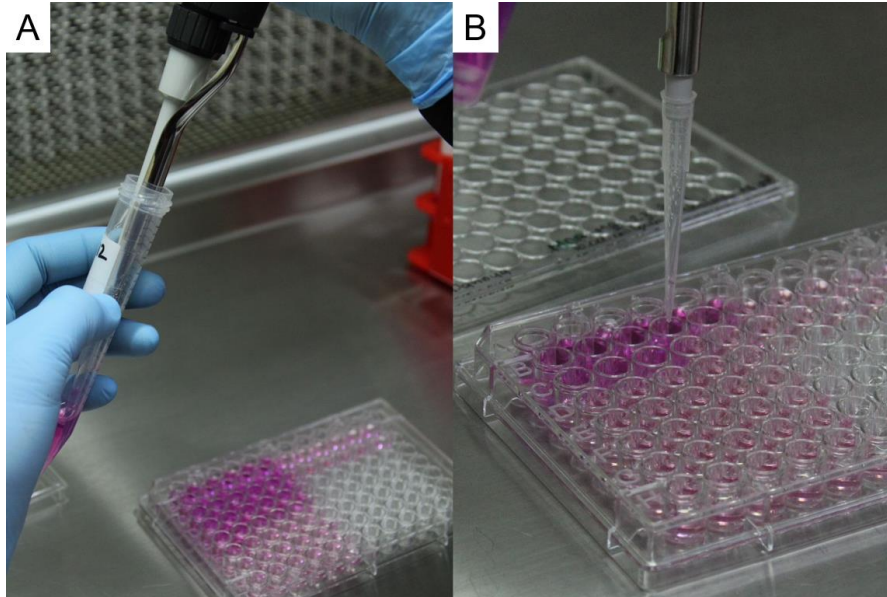


Figura 16. Obtención de los lixiviados.

En la Figura se observa A) y B) se muestra la colocación de los 100 μ L de lixiviados en los pocillos con células MDA-MB 231.

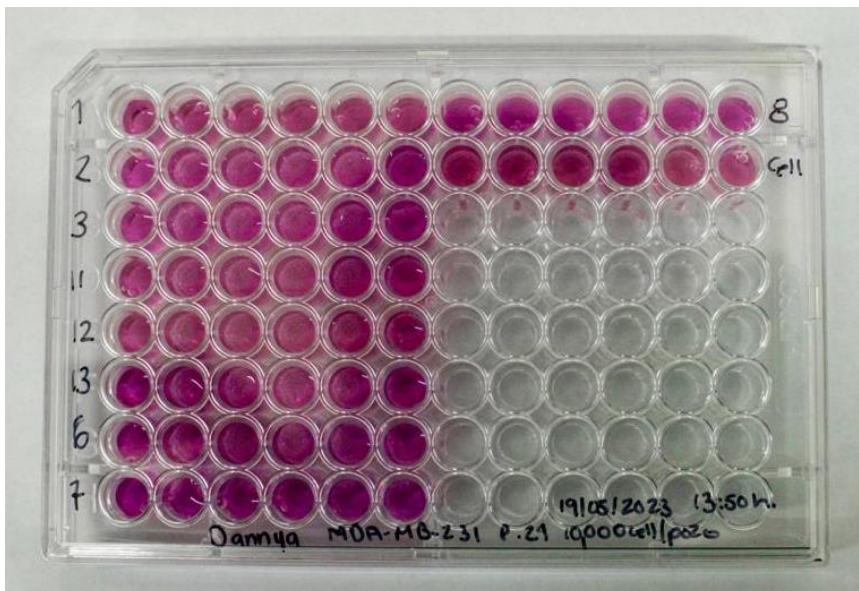


Figura 17. Fotografía de placa de 96 pocillos con las células en cultivo en contacto con los lixiviados.

8.4.3.3. Tinción celular para ensayo colorimétrico ELISA

Transcurrido el tiempo de incubación de las células en presencia de los lixiviados (24 y 48 h), el medio de cultivo celular con los lixiviados fue aspirado de los pocillos. Posteriormente se añadieron 10 μ L de glutaraldehído al 11% y se mantuvo en

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

agitación orbital durante 15 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo, se aspiró el glutaraldehído y se realizó dos lavados con 100 μ L de agua destilada.

Se realizó la tinción celular añadiendo 100 μ L de solución de cristal violeta al 0.1% y se mantuvo en agitación orbital durante 15 min a temperatura ambiente (Figura 18).

Transcurrido este tiempo, se aspiró la solución de cristal violeta y se realizó nuevamente dos ciclos de lavado empleando 100 μ L de agua destilada para remover el excedente de cristal violeta. Finalmente, las placas con las células teñidas se dejaron a temperatura ambiente durante 12 h en condiciones de oscuridad para permitir el completo secado de los pocillos.

Posteriormente, para realizar la medición en el lector de placas ELISA, el cristal violeta adherido a las células se disolvió empleando una solución de ácido acético al 10% (300 μ L/pocillo) y se mantuvo en agitación orbital durante 15 min a temperatura ambiente. La lectura de absorbancia de las muestras se realizó a una longitud de onda de 595 nm (Figura 19).

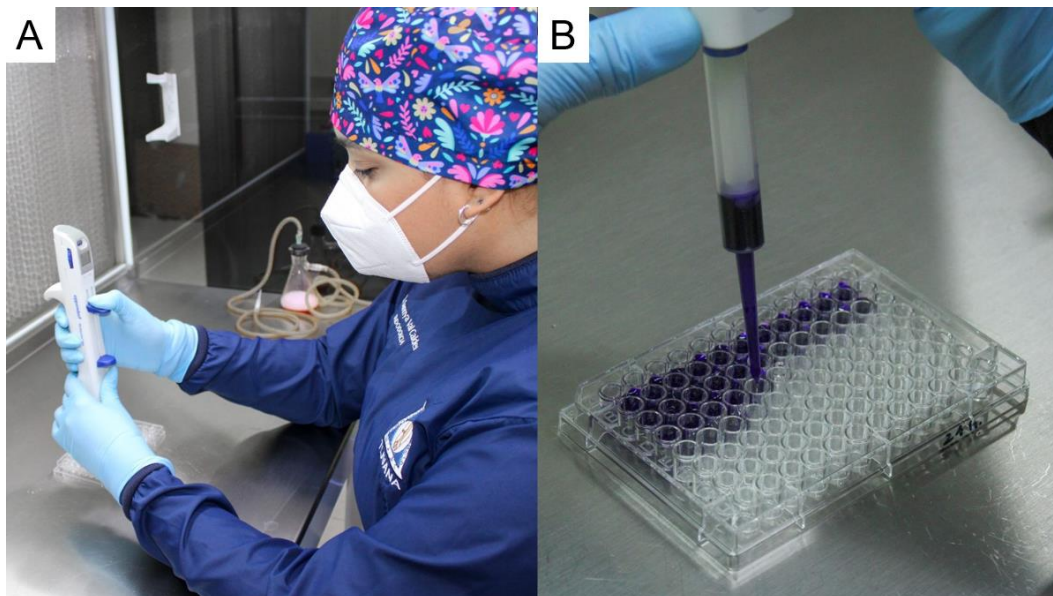


Figura 18. Lavado con agua destilada y tinción de células.

En la Figura A) se muestra el ciclo lavado de las células empleando 100 μ L de agua destilada y B) se muestra la tinción celular añadiendo 100 μ L de solución de cristal violeta al 0.1%.

El porcentaje de citocompatibilidad de los sistemas de estudio se calculó empleando la siguiente expresión:

Ecuación 1. Citocompatibilidad (%).

$$\text{Citocompatibilidad (\%)} = \frac{\text{Absorbancia de células expuestas a lixiviados}}{\text{Absorbancia de células no expuestas}} \times 100$$

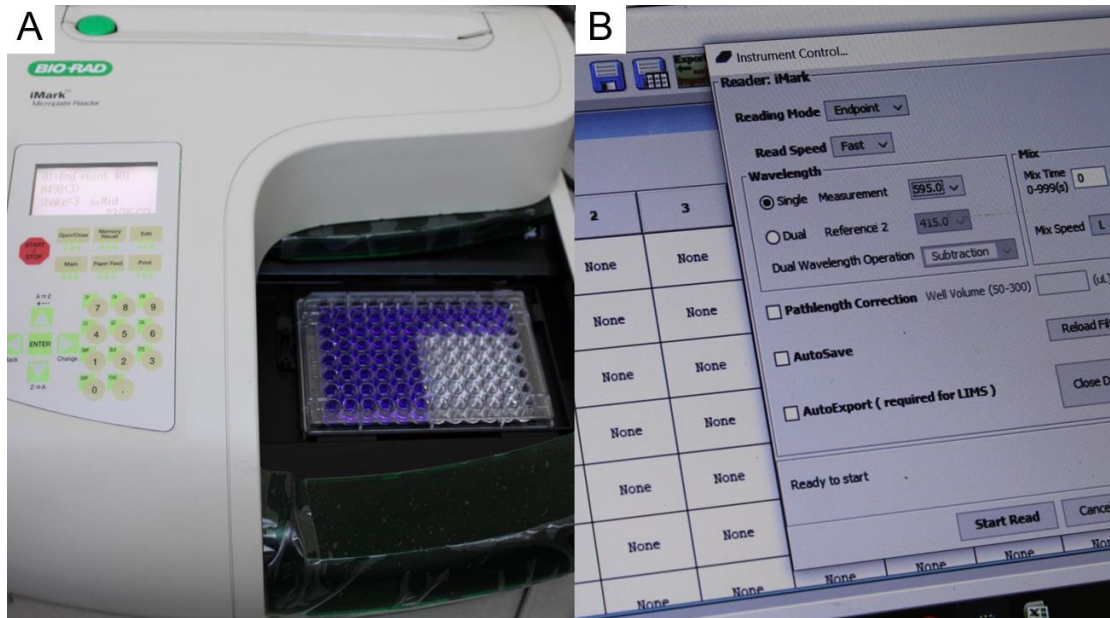


Figura 19. Lector de placas ELISA para determinar la citocompatibilidad de las muestras.

En la Figura A) se muestra el lector de placas ELISA iMark B) se muestra el software para obtener los resultados de la medición de absorbancia.

8.4.3.4. Evaluación de la morfología celular por microscopía óptica

Después de las 24 y 48 h de incubación de las células MDA-MB-231 en presencia de los lixiviados de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo la morfología de las células sin teñir y teñidas con cristal violeta al 0.1% fue evaluada empleando un microscopio óptico invertido a una magnificación de 4x y 20x (Figura 20).

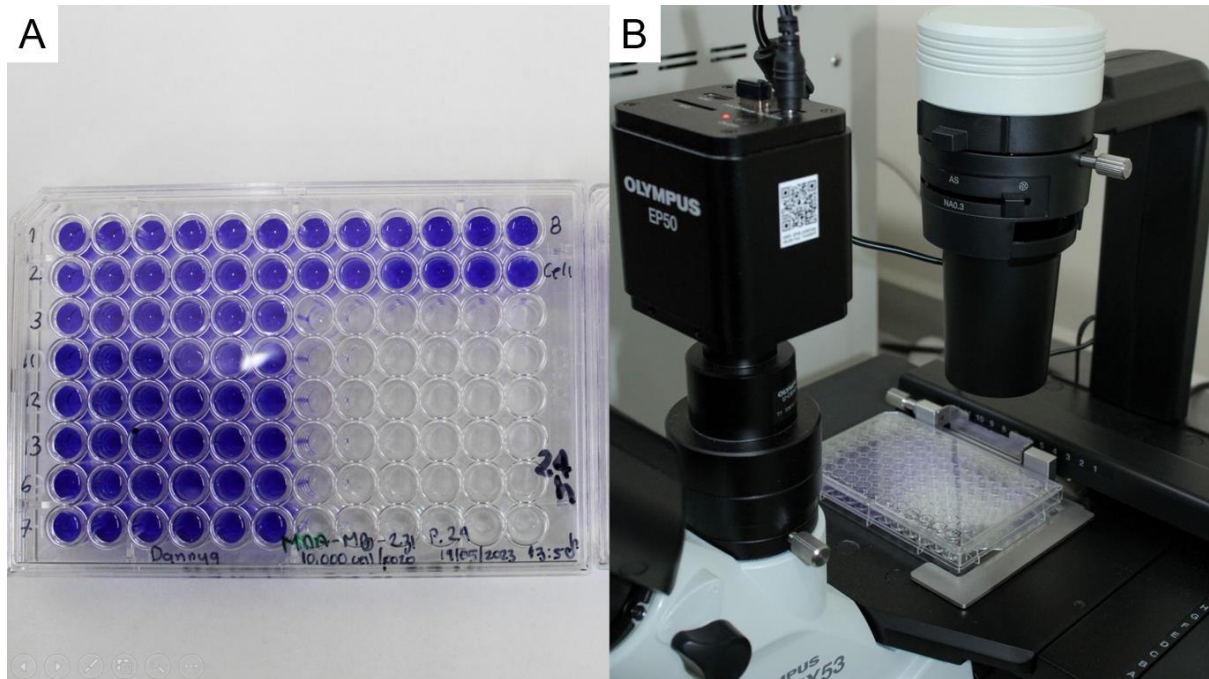


Figura 20. Evaluación de la morfología celular por microscopía óptica.

En la Figura A) se muestra las placas de 96 pocillos teñidas con cristal violeta B) se muestra la evaluación morfológica celular bajo microscopía óptica.

8.4.4. EVALUACION DE pH

Las muestras de cemento fraguado después de 5 días ($n=1$) fueron preparadas siguiendo la metodología descrita en la sección (8.4.1. Preparación de las muestras) y posteriormente estandarizadas a un peso de 300 mg. Posteriormente, las pastillas de cemento fueron inmersas en tubos falcón estériles en 3 mL de agua destilada (Figura 21). El pH fue medido a los tiempos de 1 h, 1-8 días y 17 días a 37 °C; para ello, las tiras medidoras de pH fueron inmersas en el seno del líquido y posteriormente comparadas con el patrón de referencia (previo a cada medición las muestras fueron agitadas en un Vortex durante 30 segundos) (Figura 22).

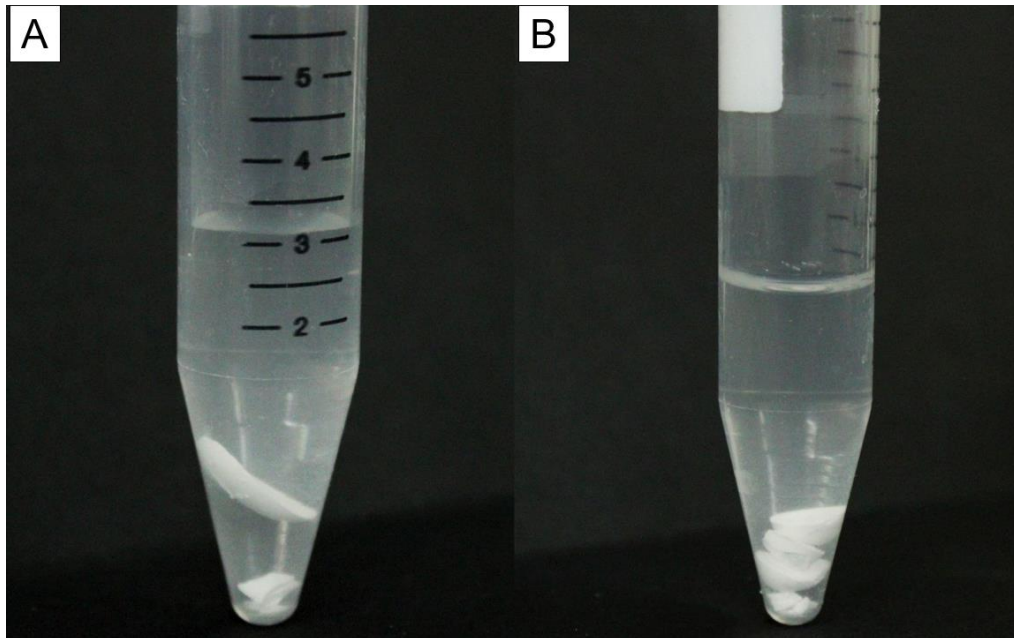


Figura 21. Fotografía de la muestra en contacto con agua destilada para la obtención de pH.

En la Figura se muestra los tubos falcón con 3 mL de agua destilada y las pastillas inmersas en el seno del líquido A y B.

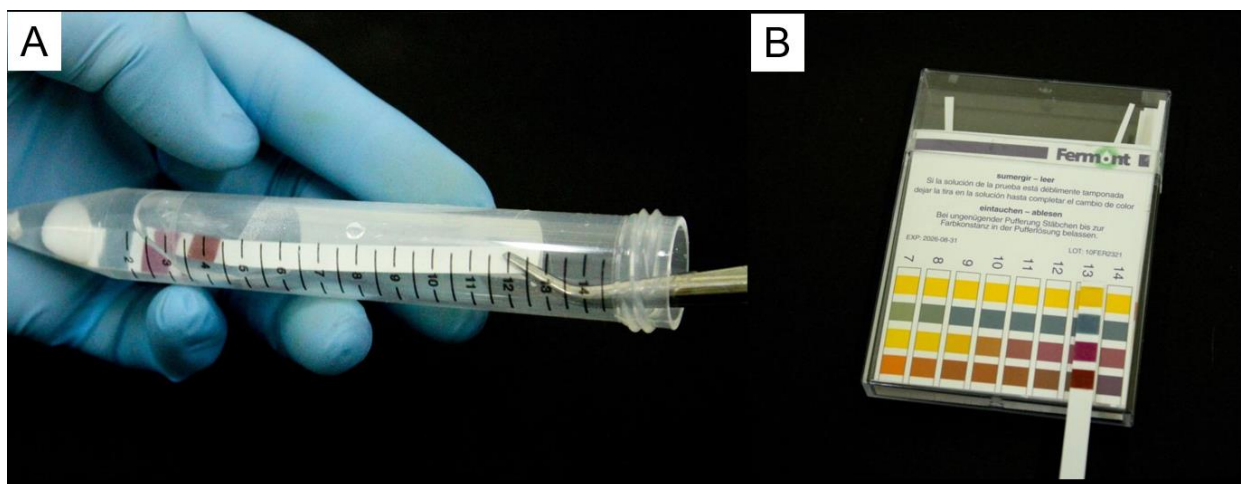


Figura 22. Medición de pH.

En la Figura A) se observa la toma de la muestra con la tira medidora de pH, y B) su comparación con el patrón de referencia.

VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo empleando el método de Análisis de la Varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) de un factor en conjunto con el método post hoc Tukey y Bonferroni. La diferencia estadística será considerada como significativa a $p < 0.05$.

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.1.1. EVALUACIÓN DE MORFOLOGÍA CELULAR A TRAVÉS DE MICROSCOPIA ÓPTICA A 24 Y 48 H

Para evaluar de forma cualitativa la citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo, las células MDA-MB-231 fueron observadas por microscopia de campo claro tras la exposición con los lixiviados a 24 y 48 h de incubación. Se evaluó la morfología celular sin teñir (Figura 23, Figura 24, Figura 25, Figura 26, Figura 27 y Figura 28) y teñidas con cristal violeta al 0.1%, empleando una magnificación de 4x y 20x (Figura 29, Figura 30, Figura 31, Figura 32, Figura 33 y Figura 34).

A partir de las Figura 23, Figura 24, Figura 25, Figura 26, Figura 27, Figura 28, Figura 29, Figura 30, Figura 31, Figura 32, Figura 33, Figura 34 se puede observar que las células expuestas a los lixiviados de las muestras de los cementos de estudio, exhibieron una morfología celular y una proliferación sostenida similar a la presentada por las células cultivadas en ausencia de lixiviados (grupo Control). Estos resultados demuestran de forma cualitativa que no existió alteración celular tras la exposición de los lixiviados de ambos cementos a las 24 y 48 h exhibiendo una alta citocompatibilidad, que fue evaluada de forma cuantitativa por ensayos ELISA.

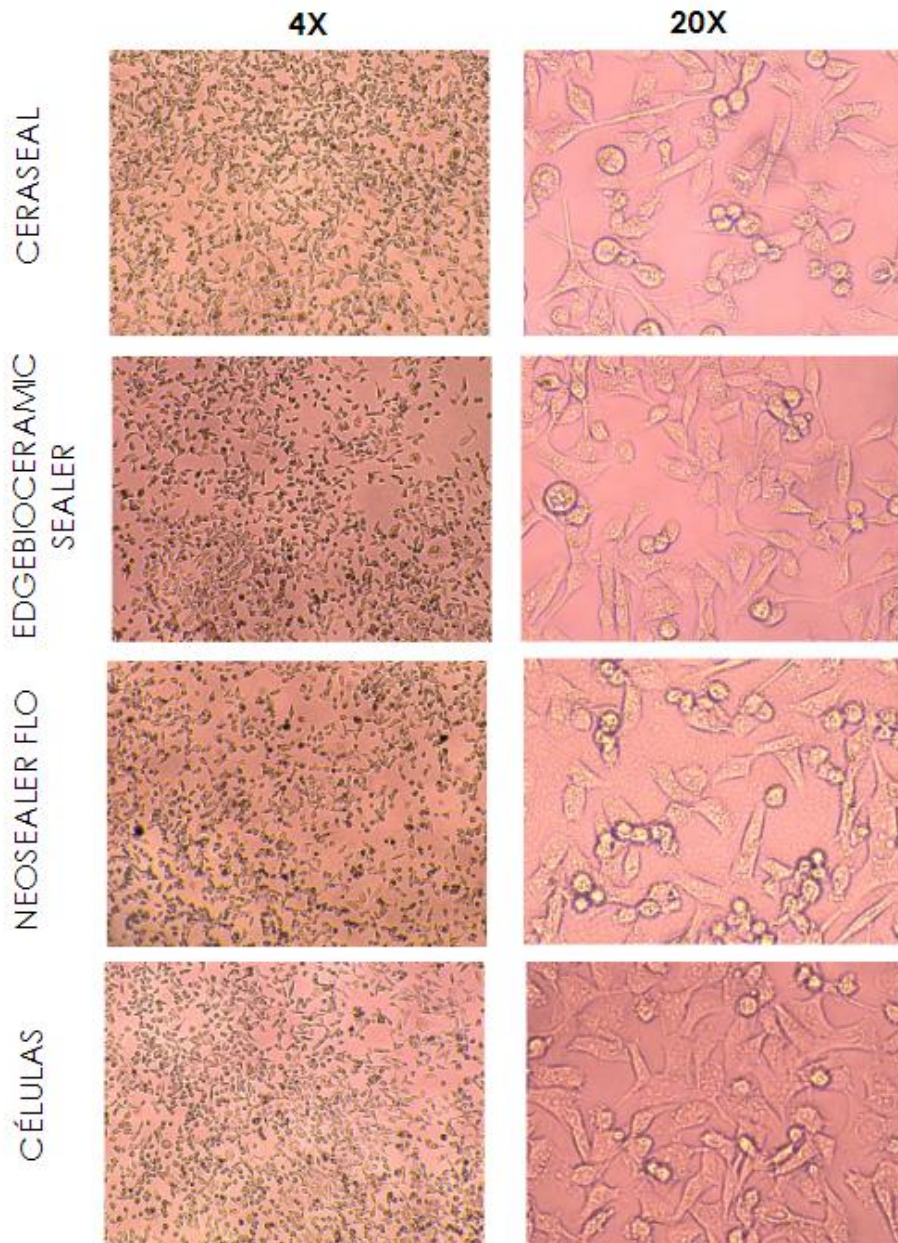


Figura 23. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 24 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (sin teñir) posterior a 24 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioCeramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo sin tratar).

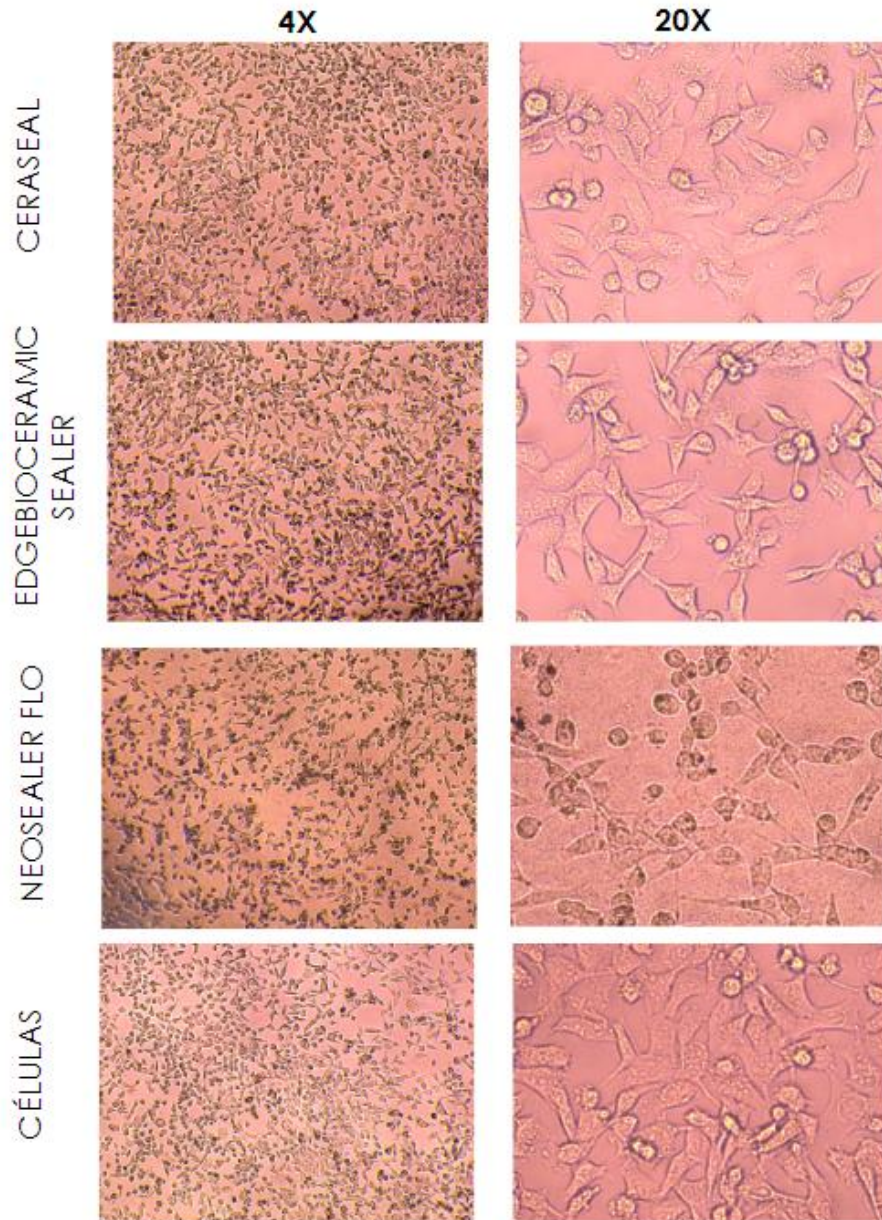


Figura 24. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 24 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (sin teñir) posterior a 24 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioCeramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo).

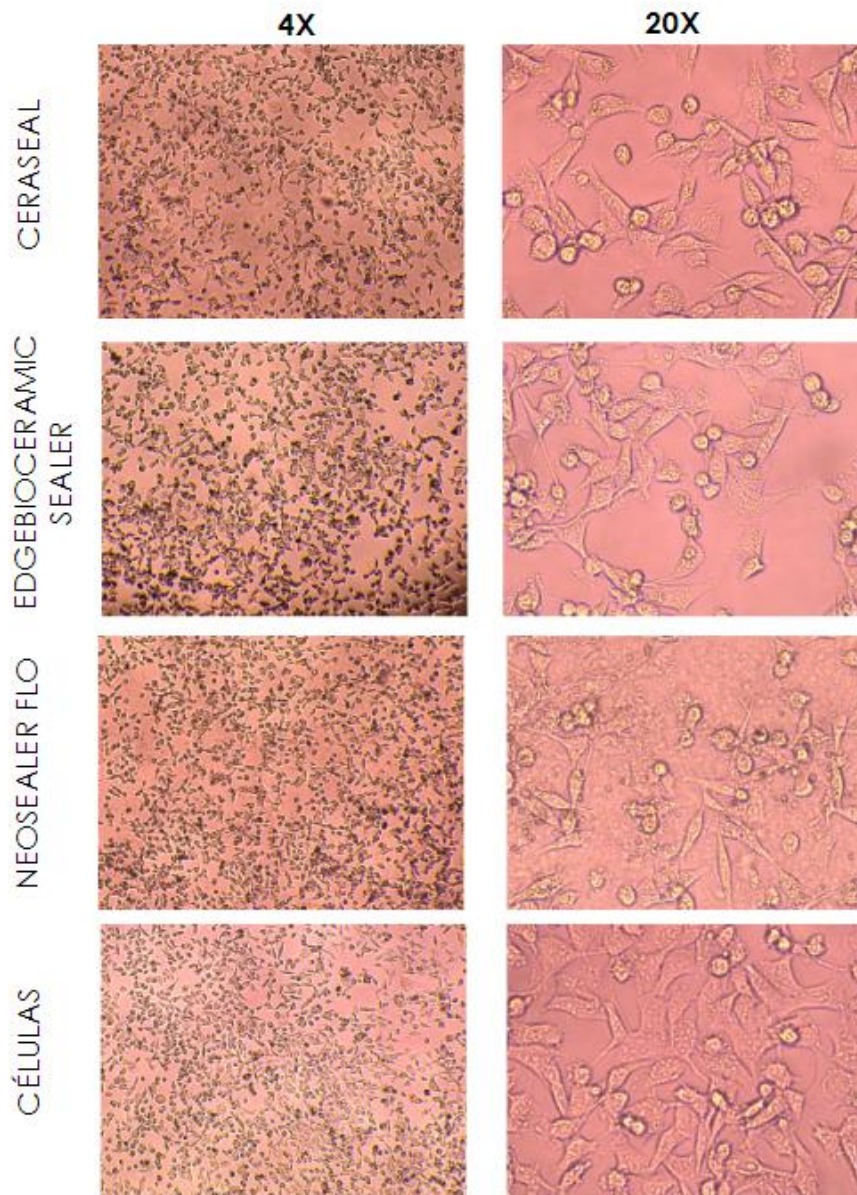


Figura 25. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 24 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (sin teñir) posterior a 24 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo).

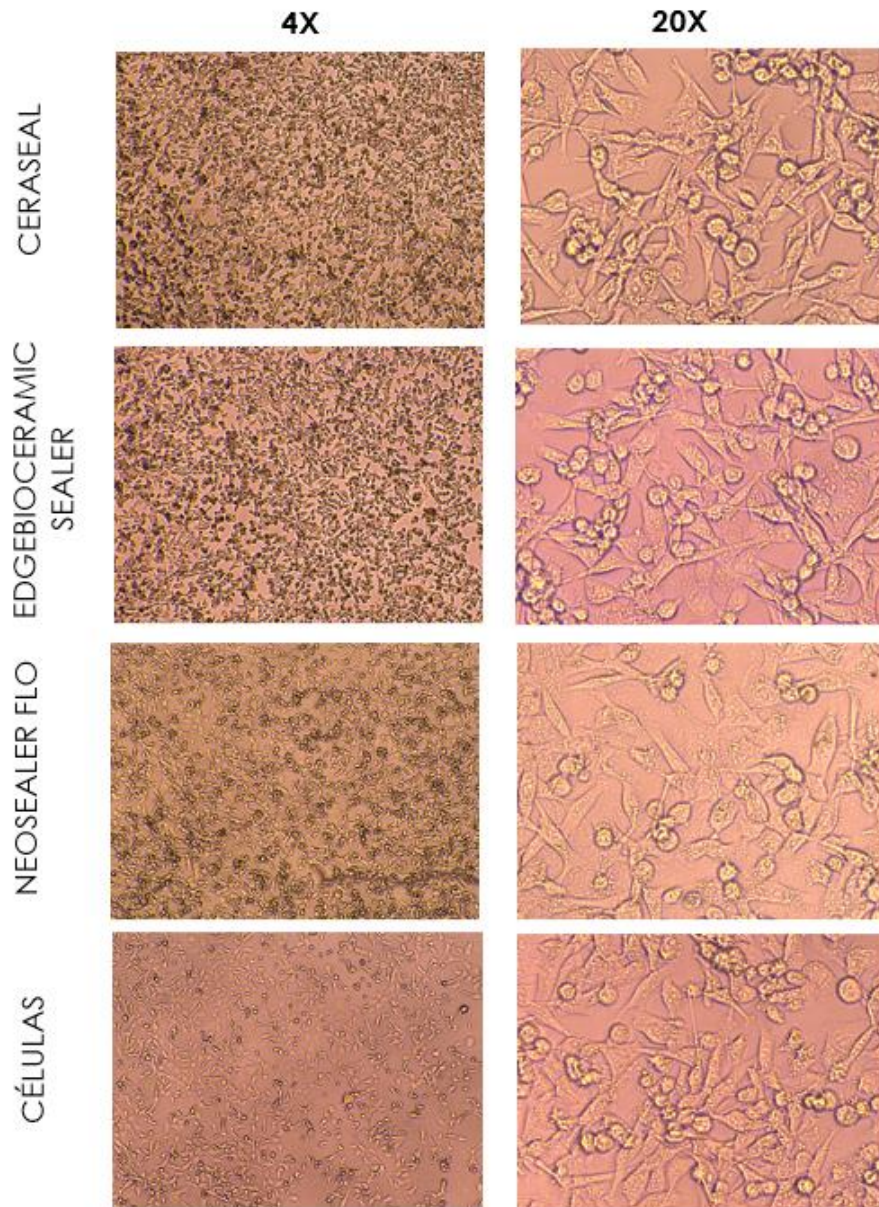


Figura 26. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 48 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (sin teñir) posterior a 48 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioCeramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo).

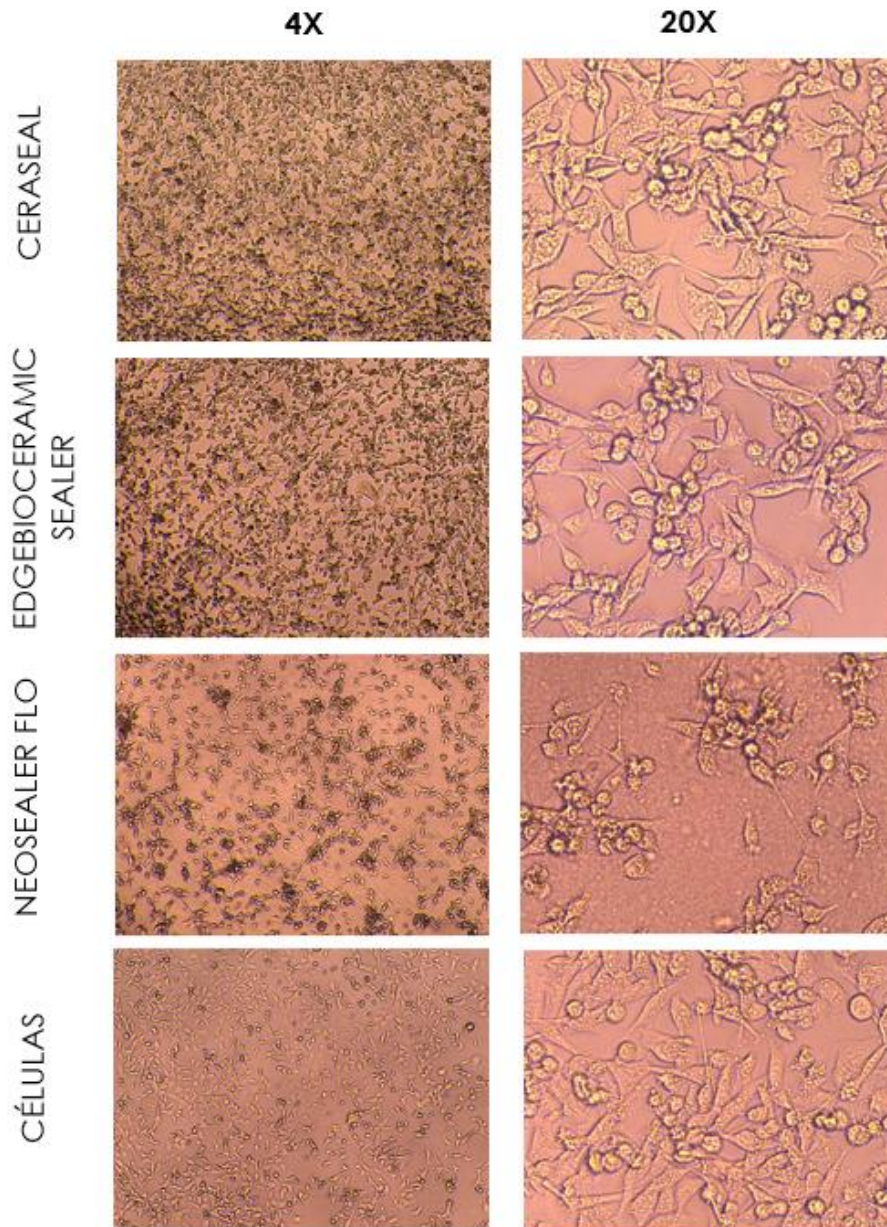


Figura 27. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 48 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (sin teñir) posterior a 48 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioCeramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo).

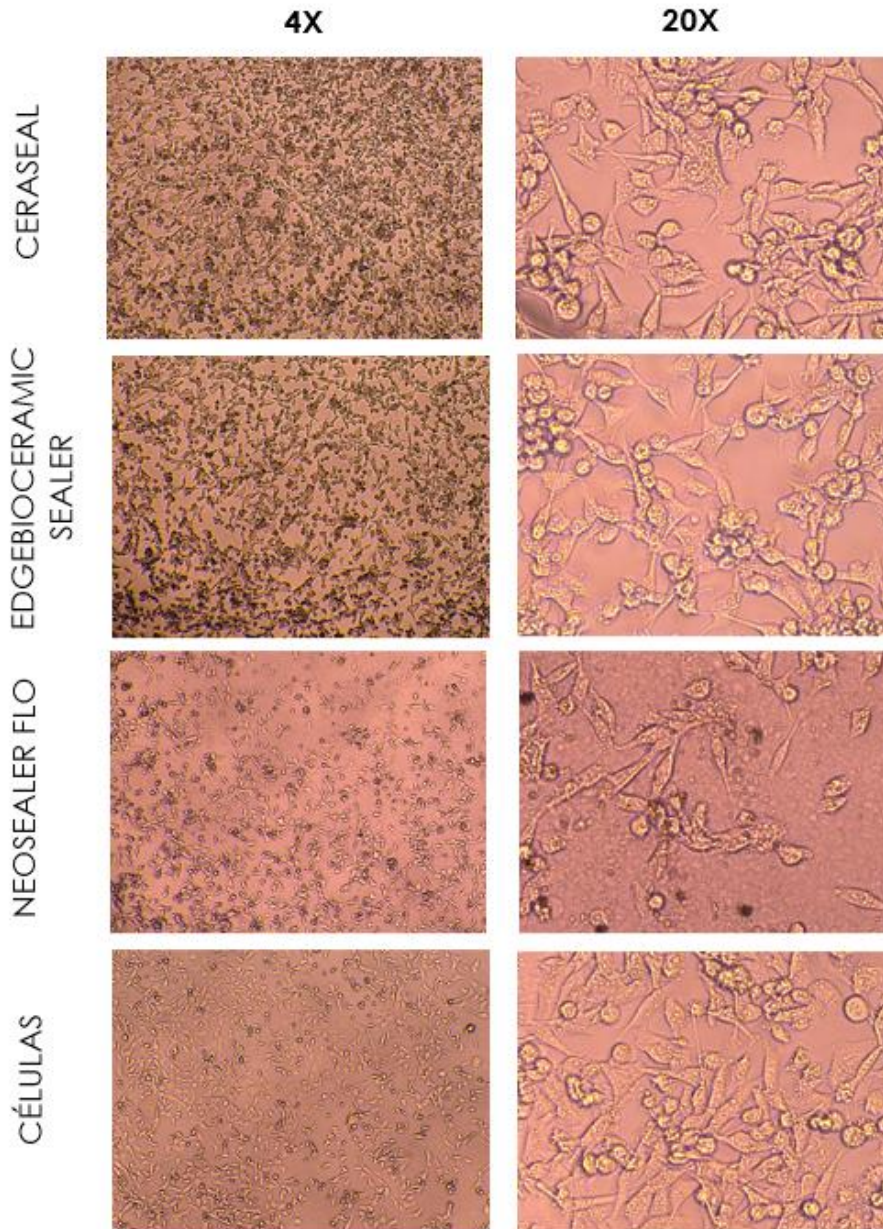


Figura 28. Morfología de las células sin teñir después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 48 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (sin teñir) posterior a 48 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioCeramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo).

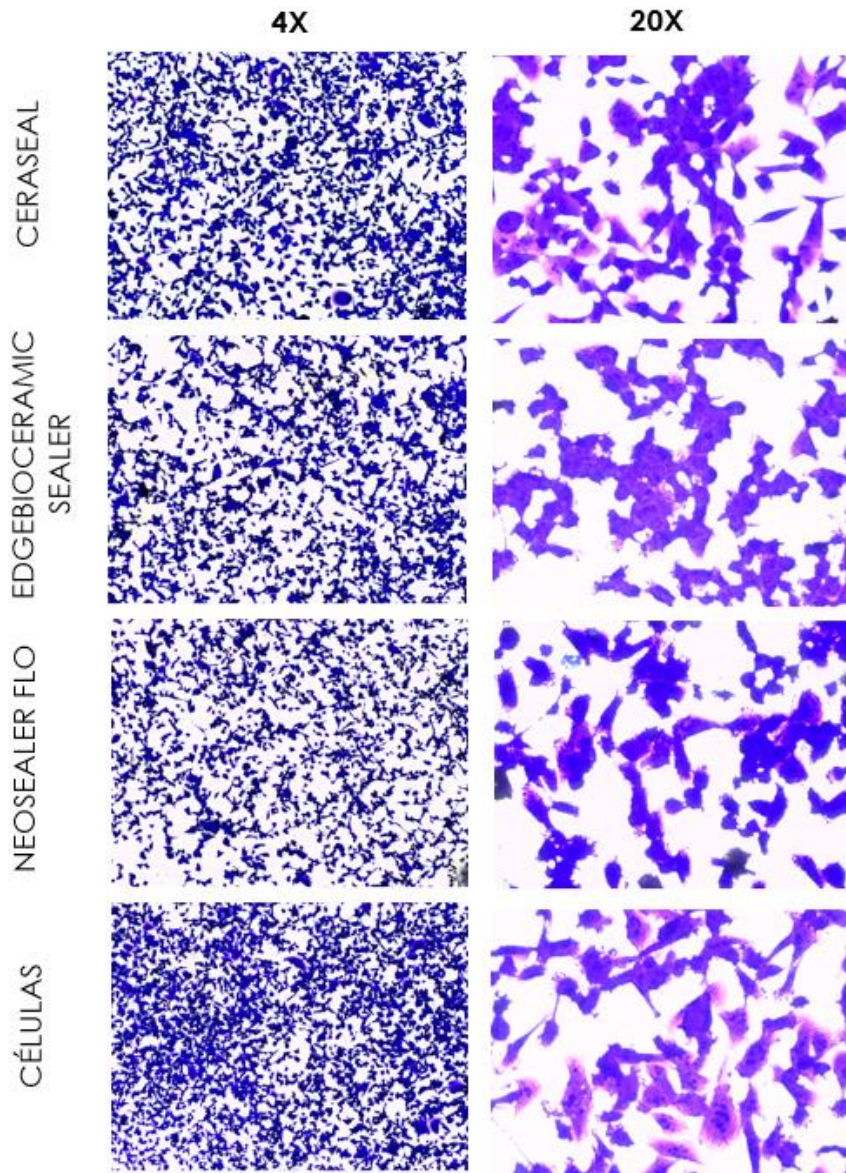


Figura 29. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 24 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (teñidas con cristal violeta al 0.1%) posterior a 24 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo sin tratar).

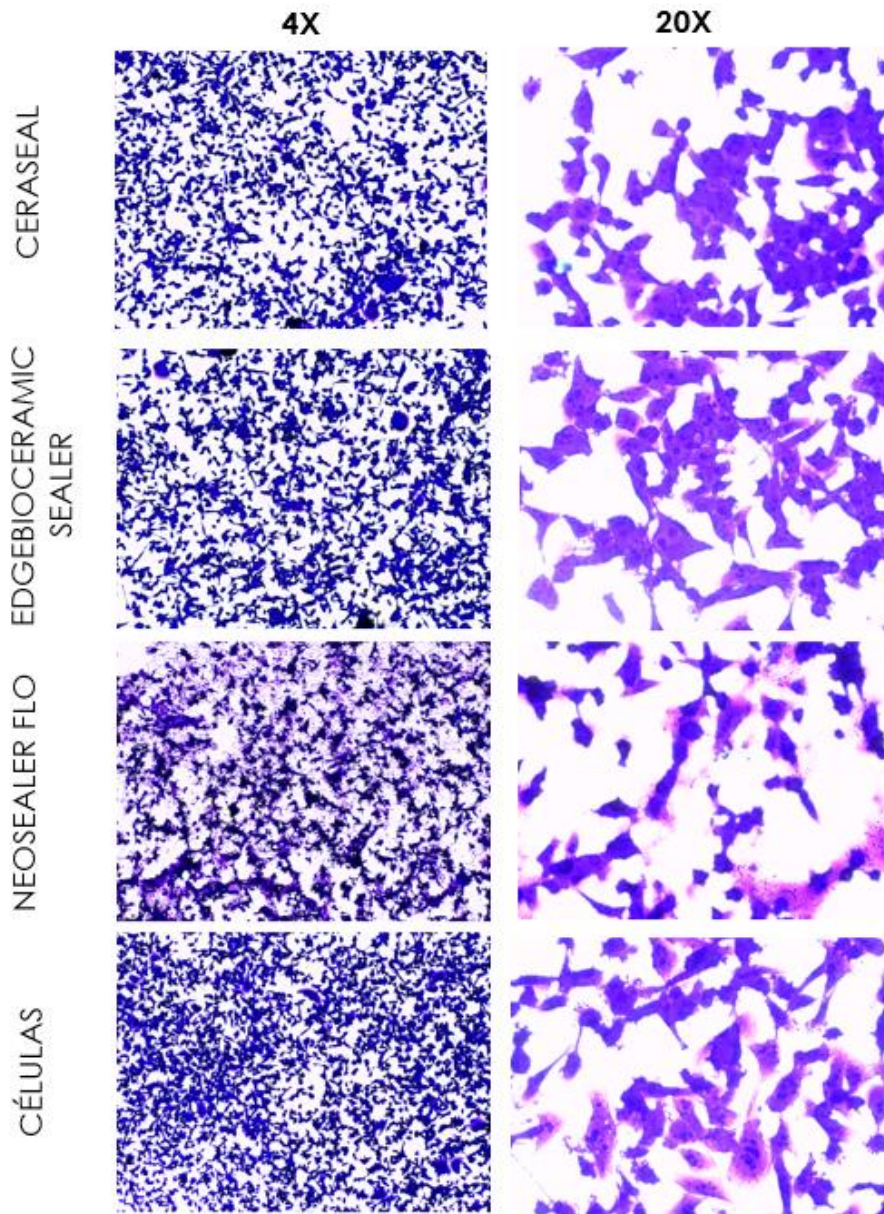


Figura 30. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 24 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (teñidas con cristal violeta al 0.1%) posterior a 24 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo sin tratar).

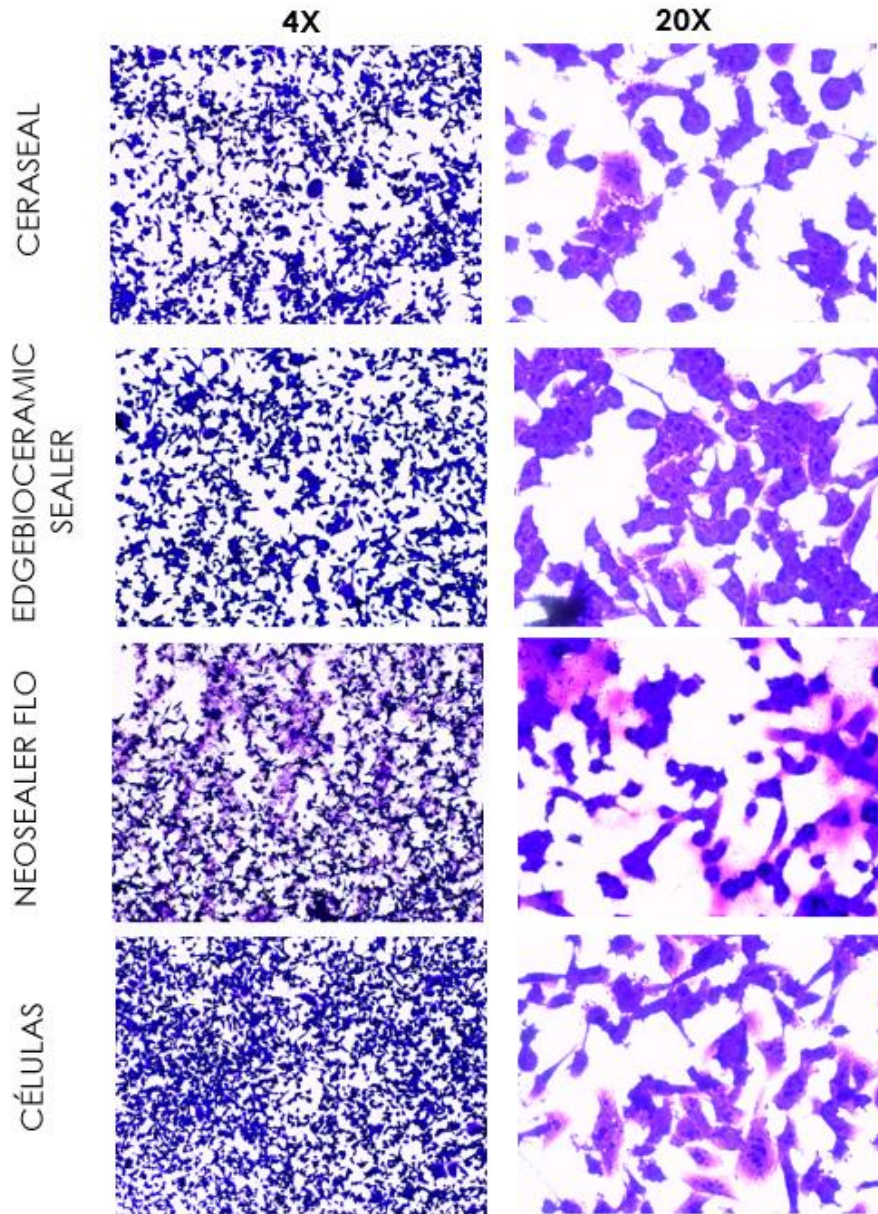


Figura 31. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 24 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (teñidas con cristal violeta al 0.1%) posterior a 24 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo sin tratar).

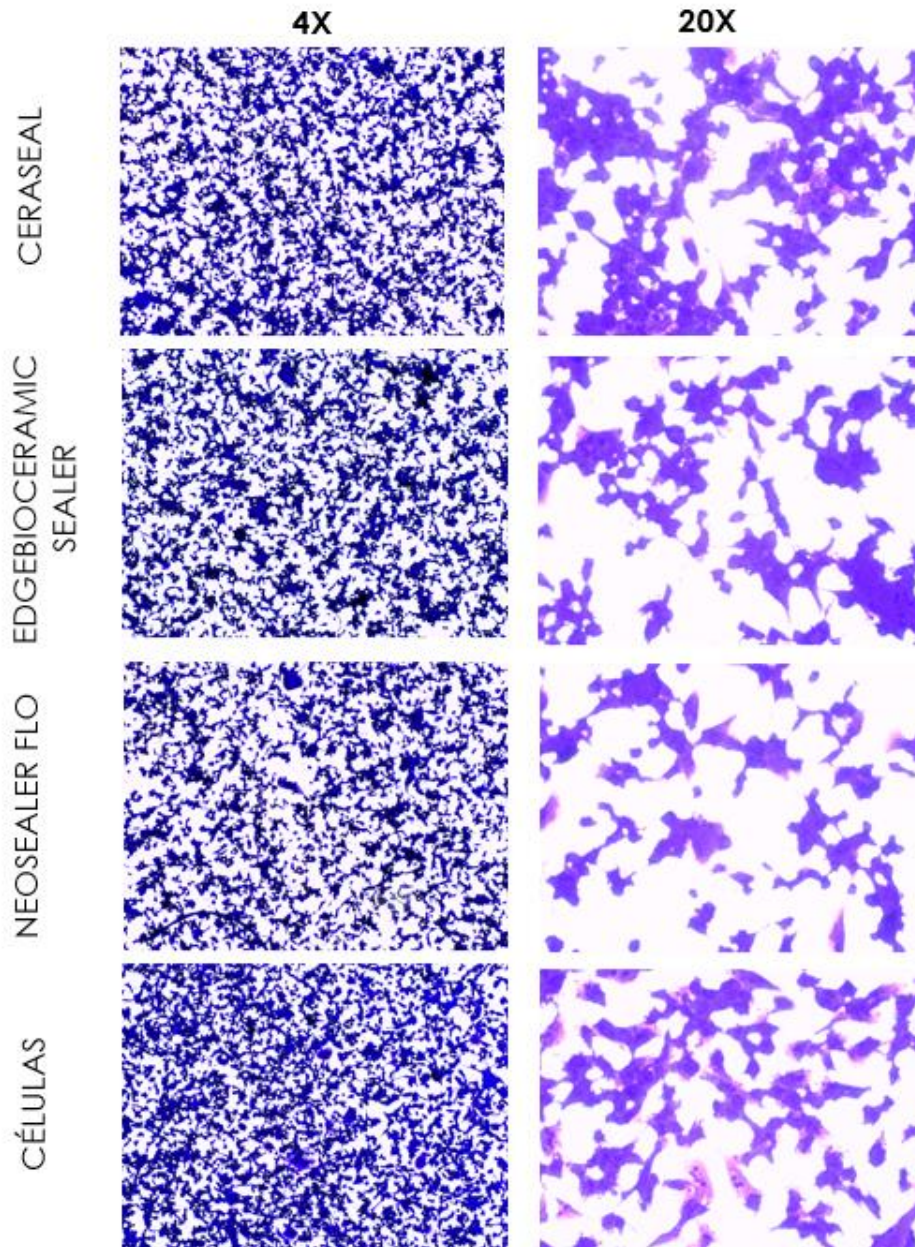


Figura 32. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 30 mg de los cementos durante 48 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (teñidas con cristal violeta al 0.1%) posterior a 48 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo sin tratar).

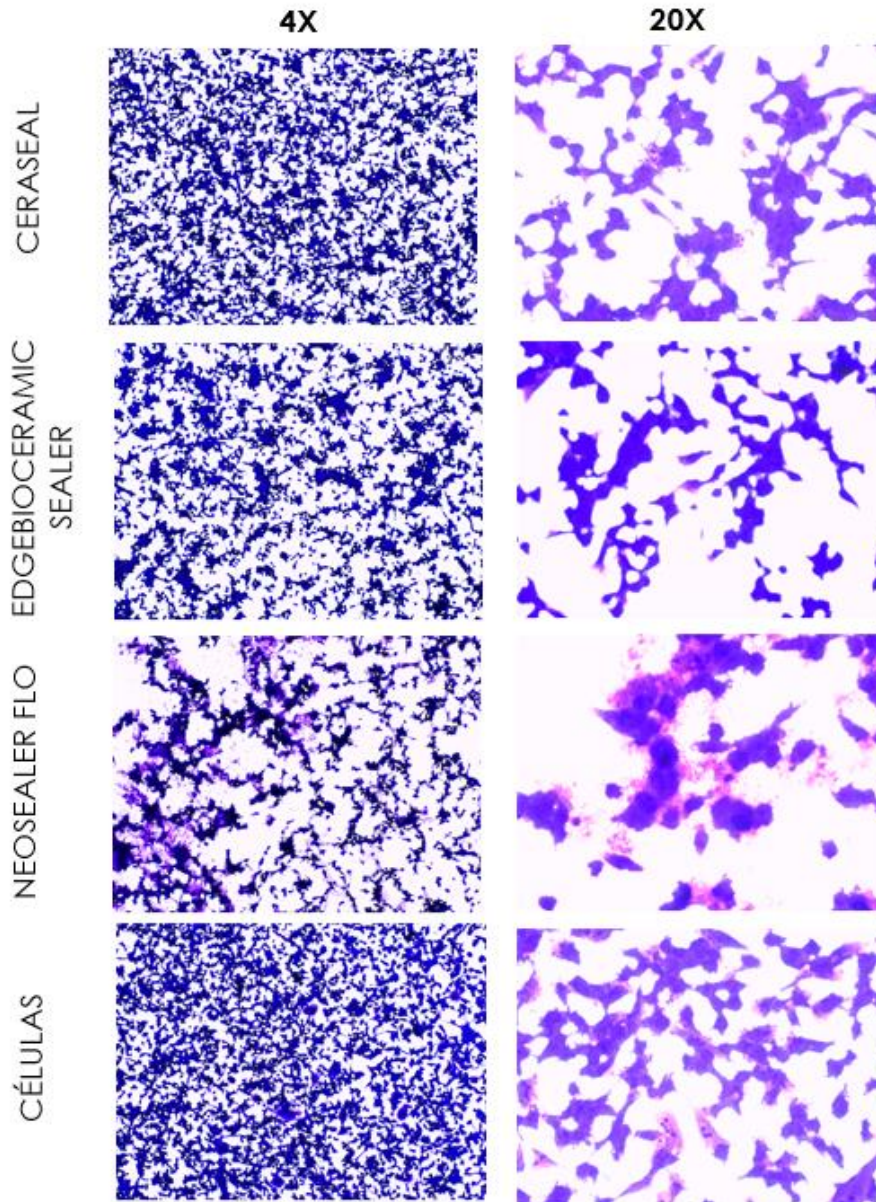


Figura 33. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 150 mg de los cementos durante 48 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (teñidas con cristal violeta al 0.1%) posterior a 48 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo sin tratar).

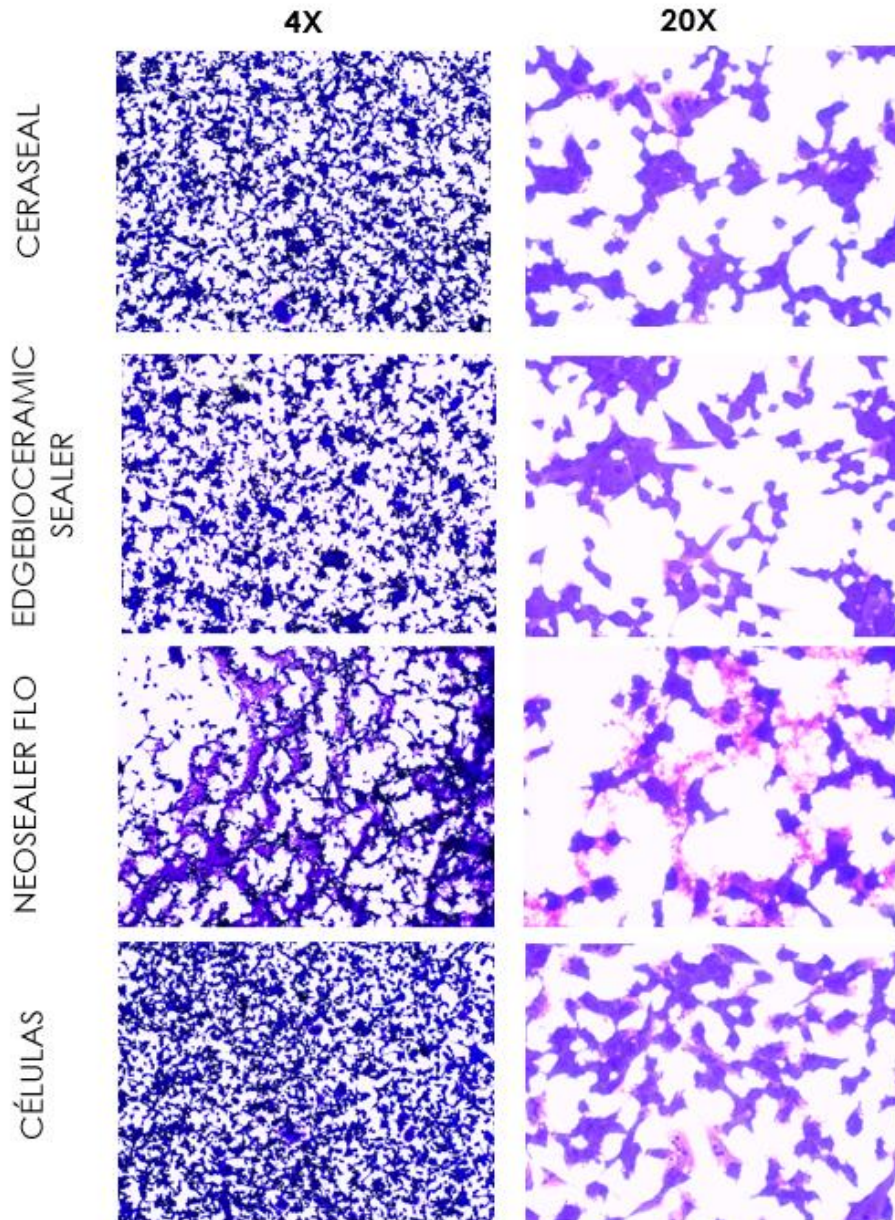


Figura 34. Morfología de las células teñidas con cristal violeta después de su incubación con los lixiviados de 300 mg de los cementos durante 48 h.

En la Figura se muestra de izquierda a derecha micrografías ópticas de células MDA-MB-231 a una magnificación de 4x y 20x (teñidas con cristal violeta al 0.1%) posterior a 48 h de incubación celular en contacto con los lixiviados de los Sistemas 1-2-3 y grupo Control (CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo y células en cultivo sin tratar).

9.2. CITOCOMPATIBILIDAD A TRAVÉS DE ENSAYOS ELISA

Para evaluar de forma cuantitativa la citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo, las células MDA-MB-231 fueron incubadas en presencia de los lixiviados de los cementos durante 24 y 48 h en condiciones de cultivo estándar. El porcentaje de citocompatibilidad se determinó a través de ensayos ELISA con tinción de cristal violeta al 0.1%, los resultados obtenidos se muestran en la Figura 35, Figura 36 y Figura 37.

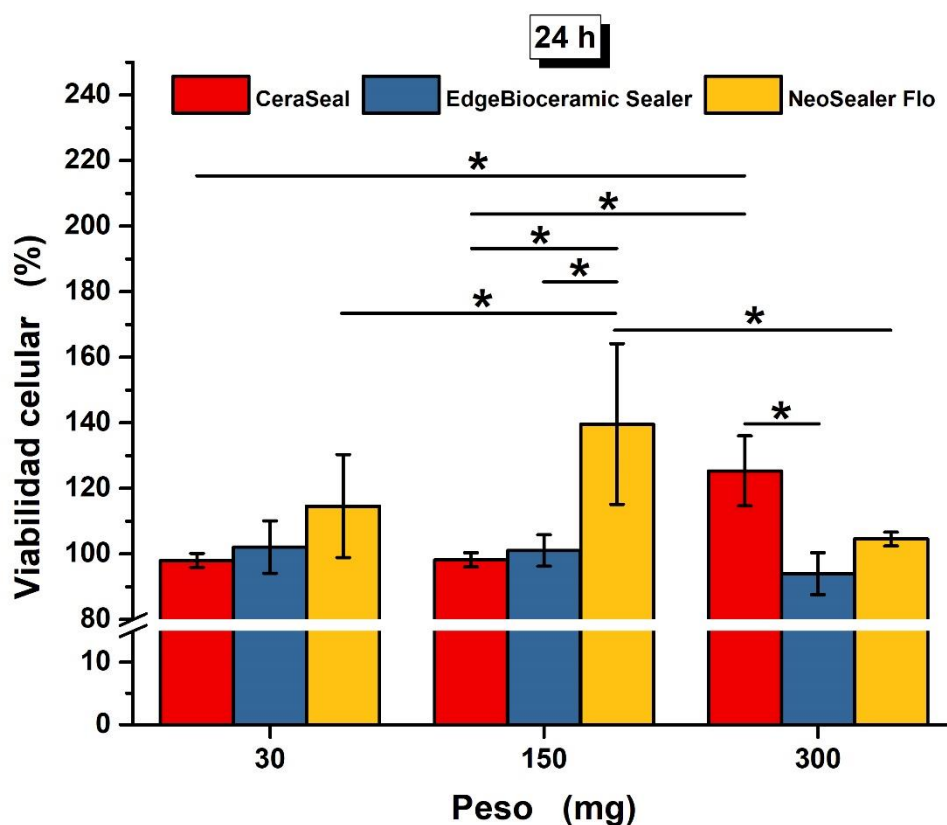


Figura 35. Porcentaje de citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo a las 24 h.

A partir de la Figura 35 se puede observar que los cementos objeto de estudio exhibieron un porcentaje de citocompatibilidad alto a las 24 h, mostrando valores de 98% (CeraSeal), 102% (EdgeBioceramic Sealer) y 114% (NeoSealer Flo) para las concentraciones de 30 mg; valores de 98% (CeraSeal), 101% (EdgeBioceramic

Sealer) y 139% (NeoSealer Flo) para las concentraciones de 150 mg; y valores de 125% (CeraSeal), 94% (EdgeBioceramic Sealer) y 104% (NeoSealer Flo) para las concentraciones de 300 mg. A partir de estos resultados se puede confirmar que los cementos objetos de estudio a las 24 h pueden clasificarse como citocompatibles en virtud de que un material debe exhibir niveles de viabilidad celular del 70% para ser considerados como citocompatibles.

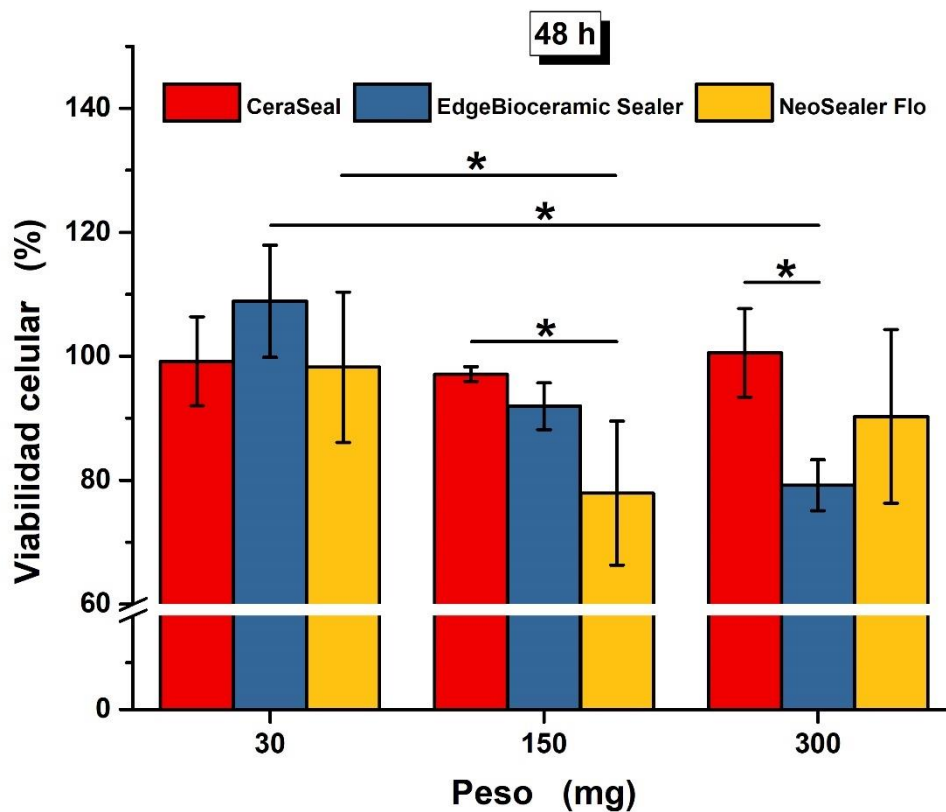


Figura 36. Porcentaje de citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo a las 48 h.

En lo que respecta la Figura 36 se puede observar que los cementos objeto de estudio exhibieron un porcentaje de citocompatibilidad alto a las 48 h, mostrando valores 99% (CeraSeal), 108% (EdgeBioceramic Sealer) y 98% (NeoSealer Flo) para las concentraciones de 30 mg; valores de 97% (CeraSeal), 92% (EdgeBioceramic Sealer) y 90% (NeoSealer Flo) para las concentraciones de 150 mg; y valores de 100% (CeraSeal), 79% (EdgeBioceramic Sealer) y 90% (NeoSealer Flo) para las

concentraciones de 300 mg. En este estudio se decidió mantener los lixiviados en contacto con las células por hasta 48 h con el objetivo de llevar a cabo una caracterización muy rigurosa.

En lo que respecta al análisis estadístico de los resultados demostró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de citocompatibilidad del cemento CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer, NeoSealer Flo a las 24 y 48 h incubación celular (Post-hoc de Tukey, * $p < 0.05$) (Figura 37). Asimismo, se encontró diferencia estadísticamente significativa en el porcentaje de citocompatibilidad entre los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo las 48 h de incubación celular (Post-hocs de Tukey y Bonferroni, * $p < 0.05$). Con base a lo anterior se confirma la Hipótesis Alternativa (H1) de este trabajo de investigación.

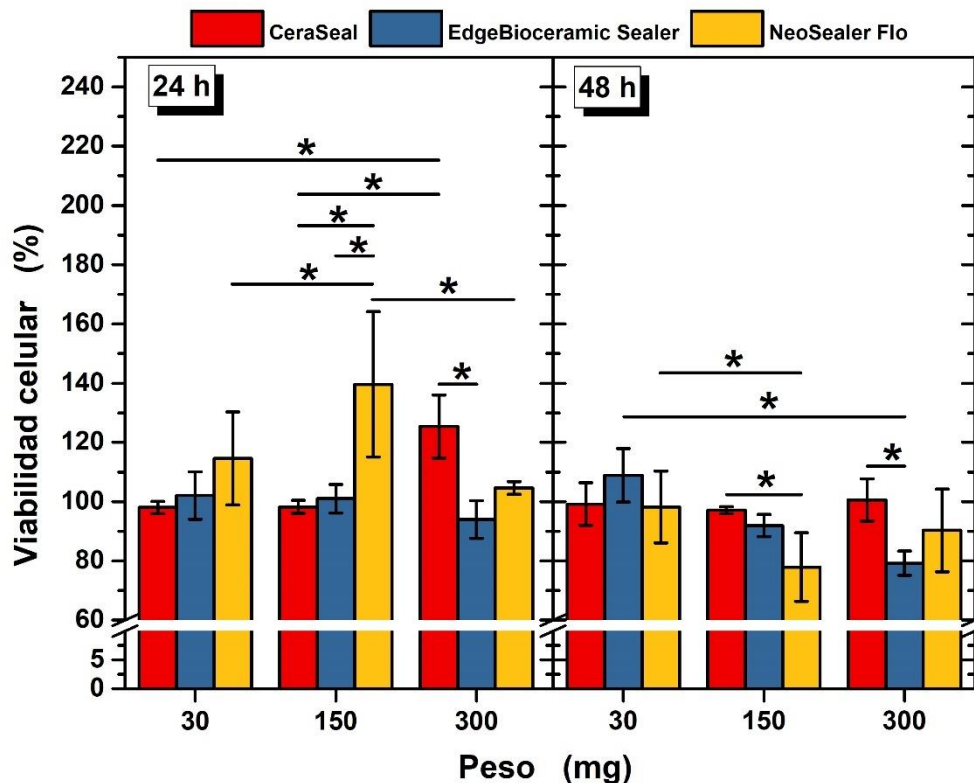


Figura 37. Porcentaje de citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo a las 24 y 48 h.

Las columnas representan el promedio de los resultados obtenidos y las barras verticales representan la desviación estándar ($n=6$), de acuerdo con la Ecuación 1. Los asteriscos representan los casos en donde se encontró diferencia estadísticamente significativa tras las comparaciones (* $p < 0.05$).

9.3. EVALUACIÓN DEL pH DE LOS CEMENTOS DE ESTUDIO

La evaluación del pH de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo se llevó a cabo después de 5 días de fraguado en condiciones de cultivo estándar (37 °C, 100% de humedad). Para ello, se prepararon pastillas de los cementos de estudio que fueron estandarizadas a un peso de 300 mg. Las pastillas fueron depositadas en el interior de tubos falcón con 3 mL de agua destilada (ver Sección 8.4.4). El pH de las muestras de estudio fue medido a los tiempos 30 min, 1 h, 1-8 días y 17 días a 37 °C.

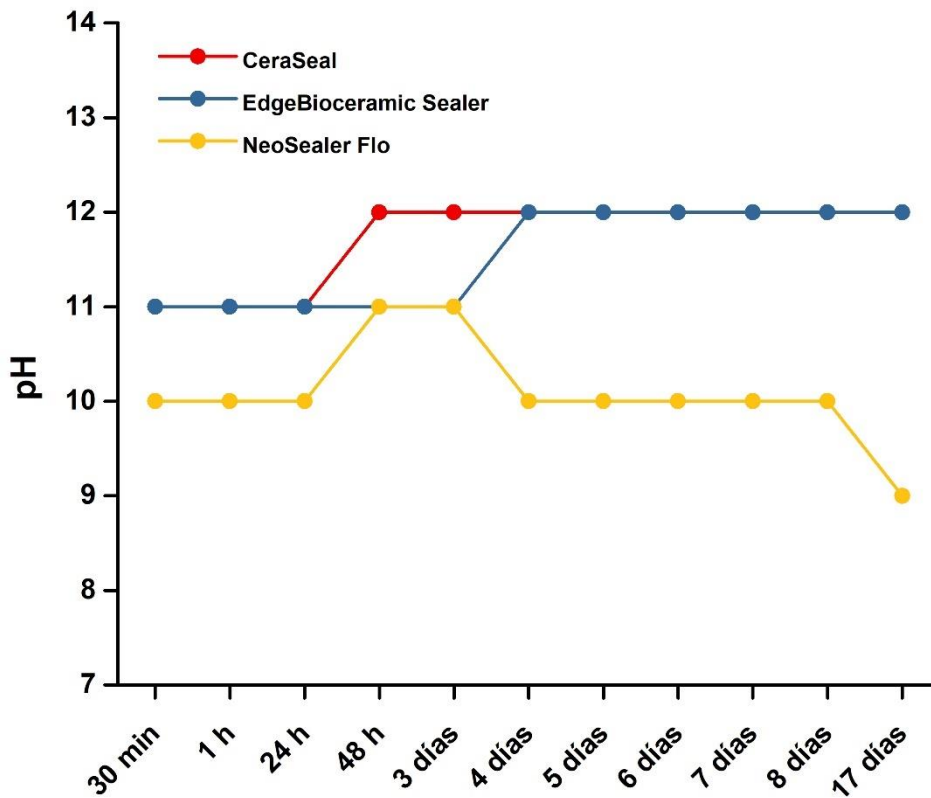


Figura 38. Valores de pH.

En la Figura se observan los gráficos con los valores de pH de las muestras de los cementos fraguados CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo medidos a distintos tiempos a temperatura ambiente.

IX. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 38, se puede observar el pH exhibido por los cementos objeto de estudio a distintos tiempos. El cemento CeraSeal exhibió un pH de 11 a los 30 min, que se incrementó hasta un pH de 12 hasta los 17 días. En el caso de EdgeBioceramic Sealer exhibió un pH de 11 a los 30 min, que se incrementó hasta un pH 12 a los 17 días. En el caso del cemento NeoSealer Flo exhibió un pH de 10 a los 30 min, que se incrementó hasta un pH de 11 a las 48 horas, un descenso a 10 a los 4 días y a 9 a los 17 días. Los resultados mostraron que el cemento CeraSeal y EdgeBioceramic Sealer mantuvieron un valor de pH máximo de 12 y constante a partir de los 4 días, requerido para asegurar un ambiente alcalino en el interior del conducto radicular para la erradicación bacteriana.

X. CONCLUSIONES

10.1. EVALUACIÓN DE LA CITOCOMPATIBILIDAD POR ENSAYOS ELISA

En este proyecto de investigación se evaluó la citocompatibilidad de los cementos selladores CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo, a través del cultivo de células MDA-MB-231 en presencia de sus lixiviados, por ensayos *in vitro* a 24 y 48 h.

1. La morfología de las células expuestas a los lixiviados de los cementos de estudio, observada por microscopia de campo claro, confirmó que no existe alteración celular tras periodos de 24 y 48 h en condiciones estándar de cultivo, exhibiendo una alta citocompatibilidad.

2. Los ensayos ELISA confirmaron de forma cuantitativa la alta citocompatibilidad de los cementos CeraSeal, EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo, observada por microscopia óptica.

3. Tras 24 h de cultivo, se observaron niveles de viabilidad celular de ca. 100% (e incluso mayores) para los tres cementos en las tres concentraciones estudiadas. Estos niveles, superiores al 70%, confirman la citocompatibilidad de estos cementos en este punto de tiempo, independientemente de la concentración de sus lixiviados.

4. Tras 48 h de cultivo, se observó que los niveles de viabilidad celular de ca. 100% fueron preservados para el cemento CeraSeal, independientemente de su concentración; sin embargo, los cementos EdgeBioceramic Sealer y NeoSealer Flo exhibieron un ligero decremento en su viabilidad celular con la concentración, aunque manteniéndose superior al 70% en todos los casos.

5. Los análisis estadísticos demostraron diferencias estadísticamente significativas entre los cementos ($p < 0.05$), tanto en función de su naturaleza como en función de su concentración, en ambos tiempos de estudio (24 y 48 h).

6. Con base en estos resultados, se confirma la hipótesis alternativa (H1) de este proyecto.

10.2. EVALUACIÓN DE pH

Además de la citocompatibilidad, se evaluó la evolución del pH de muestras de los cementos inmersas en agua destilada a temperatura ambiente tras periodos de incubación de 30 min, 1 h, 1-8 días y 17 días.

7. Los cementos CeraSeal y EdgeBioceramic Sealer exhibieron valores de pH alto: de 11 a periodos cortos de tiempo, que incrementó a 12 a partir de los días 2 y 4 (CeraSeal y EdgeBioceramic Sealer, respectivamente), que se mantuvo constante hasta el final del experimento (17 días).

8.- El cemento Neo Sealer Flo, exhibió un pH fluctuante entre 9 y 11 a lo largo del experimento, siendo el valor de pH 10 el valor correspondiente a la moda.

XI. RECOMENDACIONES

Se recomienda complementar este estudio con caracterizaciones químicas y fisicoquímicas para evaluar la composición de los cementos, así como con estudios de actividad antibacteriana.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Vertucci FJ. Root canal morphology and its relationship to endodontic procedures. *Endod Topics*. 2005 Mar;10(1):3–29.
2. American Association of Endodontic [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <http://aae.org>
3. Gómez María CA. *Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental*. 4th ed. México ; 2009.
4. Salvat, editor. La Sala, A (1981) “Endodoncia.” Tercera. España;
5. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1998 Jan;85(1):86–93.
6. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. *Dent Clin North Am*. 1974 Apr;18(2):269–96.
7. Hargreaves M. *Vías de la Pulpa*. 11th ed. ELSEVIER CASTELLANO; 2016.
8. Estrela C. *Ciencia Endodontica* . 1st ed. 2005.
9. Clinica Dental [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://clinicadentallopezvaldes.com/>
10. Ray HA, Trope M. Periapical status of endodontically treated teeth in relation to the technical quality of the root filling and the coronal restoration. *Int Endod J*. 1995 Jan;28(1):12–8.
11. Walton Richard, Torabinejad Mahmoud. *Principles and practice of endodontics* . 3rd ed.
12. Soares, Goldberg. *Endodoncia: técnica y fundamentos*. 2nd ed. Argentina; 2012.
13. Grossman L. *Endodontic practice*. 10th ed. Lea, Febiger, editors. Philadelphia; 1982.

14. Tomson RME, Polycarpou N, Tomson PL. Contemporary obturation of the root canal system. *Br Dent J*. 2014 Mar 21;216(6):315–22.
15. Cervino G, Laino L, D'Amico C, Russo D, Nucci L, Amoroso G, et al. Mineral Trioxide Aggregate Applications in Endodontics: A Review. *Eur J Dent*. 2020 Oct 29;14(04):683–91.
16. Ramalho L, Santana E, Ramalho M. Influência da proporção pó: líquido nas propriedades biológicas de cimento endodôntico à base de óxido de zinco e eugenol. 2000;
17. Odontology BG [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://plus.odontologybg.com/producto/oxido-de-zinc-con-endurecedor-viarden/>
18. Al-Khatib ZZ, Baum RH, Morse DR, Yesilsoy C, Bhambhani S, Furst ML. The antimicrobial effect of various endodontic sealers. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1990 Dec;70(6):784–90.
19. Brito F, Dextre T, Olano T. Actividad antimicrobiana y biocompatibilidad de los cementos endodónticos a base de hidróxido de calcio. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*. 2016;
20. Universum Dental [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://universum-dental.com.mx/products/sealapex-cemento-endodoncia-kerr>
21. Harry A. *Odontología Estética. Selección y colocación de materiales*. 1st ed. 1988.
22. Inside Dentistry [Internet]. Available from: <https://www.aegisdentalnetwork.com/id/products/brasseler-usa/activ-gp>
23. Silva EJNL, Neves AA, De-Deus G, Accorsi-Mendonça T, Moraes AP, Valentim RM, et al. Cytotoxicity and Gelatinolytic Activity of a New Silicon-Based Endodontic Sealer. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2015 Oct 18;13(4):376–80.

24. RoekoSeal COLTENE. [Internet]. Available: <https://www.gedesa.com/producto/roeko-seal-automix-kit-obturador-endodoncia-coltene/>
25. Ingle J, West J. Obturación del espacio radicular. 4th ed. México; 1996.
26. Dentsplay Sirona [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://www.dentsplysirona.com/es-ib/productos/endodoncia/obturacion.html/Endodoncia/Obturaci%2525c3%2525b3n/Selladores/AH-Plus-AH-Plus-Jet/p/DET-60620110/c/1000311.html>
27. Haapasalo M, Parhar M, Huang X, Wei X, Lin J, Shen Y. Clinical use of bioceramic materials. *Endod Topics*. 2015 May;32(1):97–117.
28. Ghasemi N. Antimicrobial effects of Apexit Plus, Epiphany, MTA Fillapex and Dorifill sealers on *Enterococcus faecalis* at different time intervals. Tabriz University. 2015;
29. Villa N, Santos VV dos, Costa UM da, Mendes AT, Duarte PHM, Rosa RA da, et al. A New Calcium Silicate-Based Root Canal Dressing: Physical and Chemical Properties, Cytotoxicity and Dentinal Tubule Penetration. *Braz Dent J*. 2020 Nov;31(6):598–604.
30. DEPOSITO DENTAL Reisix [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://depositodentalreisix.com/consumibles/consumibles-de-endodoncia/material-de-obturacion/mta-fillapex-cemento-obturador-endodontico-bioceramico-12-grs.html>
31. AL-Haddad A, Che Ab Aziz ZA. Bioceramic-Based Root Canal Sealers: A Review. *Int J Biomater*. 2016;2016:1–10.
32. Bramante CM, Kato MM, Assis GF, et al. Biocompatibility and setting time of CPM-MTA and white Portland cement clinker with or without calcium sulfate. *Journal of Applied Oral Science*. 2013 Feb;21(1):32–6.
33. Duarte MAH, Bernardineli N, Moraes IG de, et al. Biocompatibility and setting time of CPM-MTA and white Portland cement clinker with or

- without calcium sulfate. *Journal of Applied Oral Science*. 2013 Feb;21(1):32–6.
34. Camilleri J. Mineral trioxide aggregate: present and future developments. *Endod Topics*. 2015 May;32(1):31–46.
 35. Menéndez Sanchón J. Estudio comparativo in vitro de la adaptación marginal de dos materiales biocerámicos en obturaciones retrógradas. *Odontología Investigación*. 2021 Feb 25;7(1).
 36. Reyes-Carmona JF, Felipe MS, Felipe WT. Biomineralization Ability and Interaction of Mineral Trioxide Aggregate and White Portland Cement With Dentin in a Phosphate-containing Fluid. *J Endod*. 2009 May;35(5):731–6.
 37. López-García S, Myong-Hyun B, Lozano A, García-Bernal D, Forner L, Llena C, et al. Cytocompatibility, bioactivity potential, and ion release of three premixed calcium silicate-based sealers. *Clin Oral Investig*. 2020 May 9;24(5):1749–59.
 38. Park M, Kim I, Kim HJ, Kwak SW, Kim H. Physicochemical properties and cytocompatibility of newly developed calcium silicate-based sealers. *Australian Endodontic Journal*. 2021 Dec 24;47(3):512–9.
 39. DENTALIS IBERIA [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://dentalisiberia.com>.
 40. EDGEENDO [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://web.edgeendo.com>
 41. AVALON BIOMED [Internet]. [cited 2022 Sep 4]. Available from: <https://www.avalonbiomed.com>
 42. Luna-Alonso P, Rodríguez-Velázquez E, Alatorre-Meda M, Hofmann-Salcedo M, Carrillo-Vázquez A. Evaluación in vitro de la citocompatibilidad de los cementos selladores EdgeBioceramic Sealer y EndoSequence BC Sealer. [Tijuana, Baja California]: Universidad Autónoma de Baja California; 2021.