

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**EVALUACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROFUNDIDAD  
Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DEL CEMENTO SELLADOR  
EDGEBIOCERAMIC SEALER EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS  
DESPUÉS DE LA MEDICACIÓN INTRACONDUCTO CON  $\text{Ca}(\text{OH})_2$**

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

**PRESENTA**

**C.D. SAÚL RURABI HERNÁNDEZ MALDONADO**

**PRESIDENTE**

**(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

**DR. MIGUEL ANGEL CADENA ALCÁNTAR**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

**DR. MANUEL ALATORRE MEDA**

**TIJUANA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO**

**JUNIO 2019**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DEL CEMENTO SELLADOR EDGEBIOCERAMIC SEALER EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE LA MEDICACIÓN INTRACONDUCTO CON  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .**

Propuesto por el **C.D. Saúl Rurabi Hernández Maldonado**, 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**

**Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez**

**PRESIDENTE  
(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DEL CEMENTO SELLADOR EDGEBIOCERAMIC SEALER EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE LA MEDICACIÓN INTRACONDUCTO CON Ca(OH)<sub>2</sub>.**

Propuesto por el **C.D. Saúl Rurabi Hernández Maldonado**, 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**

**Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez**

**SINODAL  
(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo **EVALUACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DEL CEMENTO SELLADOR EDGEBIOCERAMIC SEALER EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE LA MEDICACIÓN INTRACONDUCTO CON  $\text{Ca(OH)}_2$ .**

Propuesto por el **C.D. Saúl Rurabi Hernández Maldonado**, 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**

**Dr. Miguel Angel Cadena Alcántar**

**SINODAL  
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2019

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el **EVALUACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DEL CEMENTO SELLADOR EDGEBIOCERAMIC SEALER EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE LA MEDICACIÓN INTRACONDUCTO CON Ca(OH)<sub>2</sub>**.

Propuesto por el **C.D. Saúl Rurabi Hernández Maldonado**, 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**

**Dr. Manuel Alatorre Meda**

**SINODAL  
(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo

**EVALUACIÓN POR MICROSCOPIA CONFOCAL DE LA PROFUNDIDAD Y  
PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DEL CEMENTO SELLADOR EDGEBIOCERAMIC  
SEALER EN LOS TUBULOS DENTINARIOS DESPUÉS DE LA MEDICACIÓN  
INTRACONDUCTO CON  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .**

**Presenta:**

---

C.D. Saúl Rurabi Hernández Maldonado

**Presidente:**

**(Directora del proyecto)**

---

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

**Sinodales**

**(Co-directores del proyecto)**

---

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

---

Dr. Miguel Angel Cadena Alcántar

---

Dr. Manuel Alatorre Meda

Tijuana, Baja California, 03 de junio de 2019

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero dedicar este trabajo de tesis a mi familia; a mis padres, hermanos y a toda mi familia en general por tener siempre todo su apoyo incondicional en todo momento, cuyo estímulo y oraciones siempre han sido un pilar de apoyo para mí.

Agradezco infinitamente a mi Directora de Tesis, la Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez, que se ha tomado de paciencia, esfuerzo y dedicación incansable para ayudarme a preparar mi Tesis dentro del período estipulado.

Con gratitud abrumadora, agradezco a mi Coordinadora del Programa de Especialidad y Co-directora de esta Tesis, la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, por su inmenso apoyo y valiosa guía durante el recorrido de mi especialidad, por creer y haber confiado en mí.

Me gustaría agradecer al Dr. Miguel Angel Cadena Alcántar, Co-director de esta Tesis por todas sus enseñanzas.

Me gustaría agradecer al Dr. Manuel Alatorre Meda del Instituto Tecnológico de Tijuana, Co-director de esta Tesis, por sus ideas y orientación durante la obtención de imágenes con microscopía de fluorescencia confocal.

Mis más profundos respetos y agradecimientos a todos mis profesores de licenciatura y posgrado, que han participado en mi formación profesional.

Extiendo mi más sincero agradecimiento a mis amigos y colegas por su ayuda, consejos y apoyo; por todas las enseñanzas y principalmente por ser parte del camino.

### **Quiero agradecer a las siguientes instituciones:**

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 del proyecto.

Agradezco al Dr. Ignacio Alfredo Rivero Espejel del Instituto Tecnológico de Tijuana, por su colaboración en la adquisición de imágenes de SEM.

A CONACyT por la beca otorgada, con No. de CVU/Becario/Apoyo: 781604/606806/485000

Por último pero no menos importante; doy gracias a Dios, el Todopoderoso, por bendecirme abundantemente y por darme el tiempo y la inclinación para elegir esta profesión.

**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 .....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xii
RESUMEN .....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
Endodoncia .....	2
Complejo Dentino-pulpar .....	3
Pulpa dental .....	3
Dentina .....	5
Túbulos dentinarios .....	6
Fluido dentinario .....	8
Etiopatogenia de la enfermedad pulpar y periapical .....	8
Vías de invasión bacteriana .....	9
Muerte celular .....	9
Microbiología y tratamiento de las infecciones endodónticas .....	12
Medicación Intraconducto .....	15
Sustancias antibacterianas utilizadas como medicación intraconducto .....	17
Compuestos fenólicos .....	17
Aldehídos .....	17
Hidróxido de calcio .....	17
Irrigantes endodónticos .....	20
Hipoclorito de sodio .....	21
Clorhexidina .....	22

## CONTENIDO

Ácido etilendiaminotetraacético .....	23
Activadores de irrigantes .....	24
Cementos selladores .....	25
Requisitos de los cementos selladores.....	26
Cementos selladores a base de óxido de zinc-eugenol (ZOE).....	27
Cementos selladores a base de hidróxido de calcio .....	28
Cementos selladores a base de resina.....	28
Cementos selladores de ionómero de vidrio.....	28
Cementos selladores biocerámicos .....	29
Mecanismo de acción de los cementos selladores biocerámicos.....	30
EdgeBioCeramic sealer .....	30
Obturación del conducto radicular .....	32
Técnica de obturación de cono único .....	33
Penetración del cemento sellador en los túbulos dentinarios .....	34
Microscopía de fluorescencia confocal (CLSM) .....	36
Bases instrumentales de la microscopía de fluorescencia confocal .....	37
La fluorescencia.....	38
Funcionamiento del microscopio confocal .....	40
JUSTIFICACIÓN .....	42
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	43
HIPÓTESIS .....	44
Hipótesis de trabajo .....	44
Hipótesis nula (H0).....	44
Hipótesis alternativa (H1).....	44
OBJETIVOS .....	45

## CONTENIDO

Objetivo general .....	45
Objetivos específicos .....	45
VARIABLES .....	46
Variables independientes.....	46
Variable dependiente .....	46
Operación de variables .....	46
MATERIALES Y METODOS .....	47
Tipo de estudio .....	47
Universo de estudio .....	47
Criterios de inclusión.....	47
Criterios de exclusion.....	47
Criterios de eliminación.....	48
Metodología .....	48
Preparación de las muestras .....	49
1.- Grupo $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + EdgeBioceramic Sealer.....	52
2.- Grupo EdgeBioceramic Sealer. ....	57
3.- Grupo control Rodamina B y Fluoresceína.....	58
Preparación de las muestra para su caracterización por microscopía de fluorescencia confocal. ....	59
Preparación de las muestra para su caracterización por SEM. ....	65
Análisis de imagen.....	67
Porcentaje de penetración .....	67
Profundidad de penetración.....	67
Análisis estadístico .....	71
RESULTADOS y discusión .....	72

## **CONTENIDO**

CONCLUSIONES.....	80
RECOMENDACIONES .....	82
BIBLIOGRAFÍA .....	83

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Esquema ilustrativo de un órgano dental. ....	3
Figura 2. Dibujo esquemático dental del complejo vasculonervioso. ....	4
Figura 3. Micrografías SEM de la dentina. ....	7
Figura 4. Inflamación hasta necrosis pulpar a partir de la exposición a la caries. ....	11
Figura 5. Biopelícula bacteriana. ....	12
Figura 6. Célula bacteriana y sus componentes estructurales. ....	13
Figura 7. Micrografía SEM de túbulos dentinarios infectados. ....	14
Figura 8. Colocación de medicación intraconducto de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . ....	16
Figura 9. Desinfección endodóntica de un órgano dental. ....	20
Figura 10. Activadores de irrigantes. ....	25
Figura 11. Presentación comercial del cemento sellador EdgeBioCeramic Sealer. ...	31
Figura 12. Obturación con técnica de cono único. ....	33
Figura 13. Microscopio electrónico de barrido. ....	35
Figura 14. Microscopio de fluorescencia confocal. ....	35
Figura 15. Esquema del principio de la microscopía confocal. ....	36
Figura 16. Espectro de absorción y de emisión de dos Fluorocromos. ....	39
Figura 17. Microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 y su esquema básico de su funcionamiento. ....	41
Figura 18. Imágenes radiográficas de incisivos mandibulares en sentido mesiodistal y vestibulopalatino. ....	49
Figura 19. Preparación de las muestras. ....	50
Figura 20. Microbalanza de precisión analítica. ....	51

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 21. Instrumental y material utilizado en el grupo $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + EdgeBioceramic Sealer.....	53
Figura 22. Muestra con medicación intraconducto de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . .....	54
Figura 23. Remoción de hidróxido de calcio. ....	54
Figura 24. Grupo $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + EdgeBioceramic Sealer.....	55
Figura 25. Grupo $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + EdgeBioceramic Sealer. ....	56
Figura 26. Muestras dentro de la incubadora. ....	57
Figura 27. Grupo EdgeBioceramic Sealer. ....	58
Figura 28. Grupo control. ....	59
Figura 29. Sección de las muestras con micromotor.....	60
Figura 30. Muestras desgastadas manualmente.....	60
Figura 31. Micrografías de fluorescencia confocal representativas del grupo $\text{Ca}(\text{OH})_2$ + EdgeBioceramic Sealer.....	62
Figura 32. Micrografías de fluorescencia confocal del grupo EdgeBioceramic Sealer. ....	63
Figura 33. Micrografías de fluorescencia confocal del grupo control.....	64
Figura 34. Corte longitudinal de la muestra.....	65
Figura 35. Liofilizador. ....	66
Figura 36. Muestras preparadas para su visualización de micrografías en SEM. ....	66
Figura 37. Medición de la circunferencia de la pared del conducto.....	68
Figura 38. Medición de las zonas de penetración para el cálculo del porcentaje de penetración.....	69
Figura 39. Medición de la profundidad de penetración.....	70
Figura 40. Micrografías SEM de los túbulos dentinarios de órganos dentarios obturados con el cemento sellador EdgeBioceramic Sealer sin tratamiento preobturación con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , a nivel cervical. ....	77

## **ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 41. Micrografías SEM de los túbulos dentinarios de órganos dentarios obturados con el cemento sellador EdgeBioceramic Sealer con tratamiento preobtención con $\text{Ca(OH)}_2$ , a nivel cervical. ....	78
Figura 42. Mapeo por dispersión de rayos x. ....	79

**ÍNDICE DE GRÁFICAS**

Gráfica 1. Profundidad de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios de incisivos inferiores con y sin tratamiento preobtención con Ca(OH)<sub>2</sub> a nivel apical, medio y cervical. .... 74

Gráfica 2. Gráfica 1. Porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios de incisivos inferiores con y sin tratamiento preobtención con Ca(OH)<sub>2</sub> a nivel apical, medio y cervical. .... 75

**LISTA DE ABREVIATURAS**

<b>ANOVA</b>	Análisis de Varianza
<b>AOBS</b>	Divisor de haz acústico.óptico (Acousto-Optical Beam Splitter)
<b>AOTF</b>	Filtros sintonizables acústicos-Óptico (Acousto-Optic Tunable Filters)
<b>Ca(OH)<sub>2</sub></b>	Hidróxido de calcio
<b>Ca.</b>	Aproximadamente
<b>CHX</b>	Clorhexidina
<b>CLSM</b>	Microscopía de Fluorescencia confocal
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetraacético
<b>NaOCl</b>	Hipoclorito de sodio
<b>SC</b>	Cono Único
<b>SEM</b>	Microscopía Electrónica de Barrido
<b>WL</b>	Longitud de trabajo

**RESUMEN**

El objetivo principal del tratamiento de los conductos radiculares es eliminar la infección existente y proteger el diente descontaminado de una futura invasión microbiana. Numerosos dispositivos y materiales han sido introducidos para eliminar las fuentes de infección del sistema de conductos radiculares, incluidas varias técnicas de instrumentación mecánica, regímenes de irrigación y medicamentos intraconducto. El hidróxido de calcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) se ha utilizado ampliamente en terapias endodóntica para la desinfección de los conductos radiculares infectados. Sin embargo, el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  tiene algunas limitaciones. De acuerdo con los datos actuales, no hay métodos o irrigantes disponibles que puedan eliminar todos los restos de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  del conducto radicular y como resultado, estos restos cambian las propiedades físicas de algunos selladores, reduciendo el flujo y el tiempo de fraguado y evitando la penetración de los selladores en los túbulos dentinarios. La eliminación completa y predecible del apósito de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  antes de la obturación definitiva del conducto radicular es crítica y podría estar directamente relacionada con el resultado del tratamiento.

El objetivo de este estudio fue evaluar por microscopía de fluorescencia confocal la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer en los túbulos dentinarios después de la medicación intraconducto con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

Se utilizaron 26 incisivos mandibulares de reciente extracción con un solo conducto, mismos que fueron divididos al azar en 3 grupos: Grupo  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  + EdgeBioceramic Sealer (n=10), Grupo EdgeBioceramic Sealer (n=10), Grupo control Rodamina B + Fluoresceína (n=4) y dos muestras para SEM. Las muestras se seccionaron a los 3, 5, 7 mm (nivel apical, medio y cervical). Para obtener la profundidad y el porcentaje de penetración de los selladores, cada tercio fue observado con el microscopio de fluorescencia confocal.

# **INTRODUCCIÓN**

## **Endodoncia**

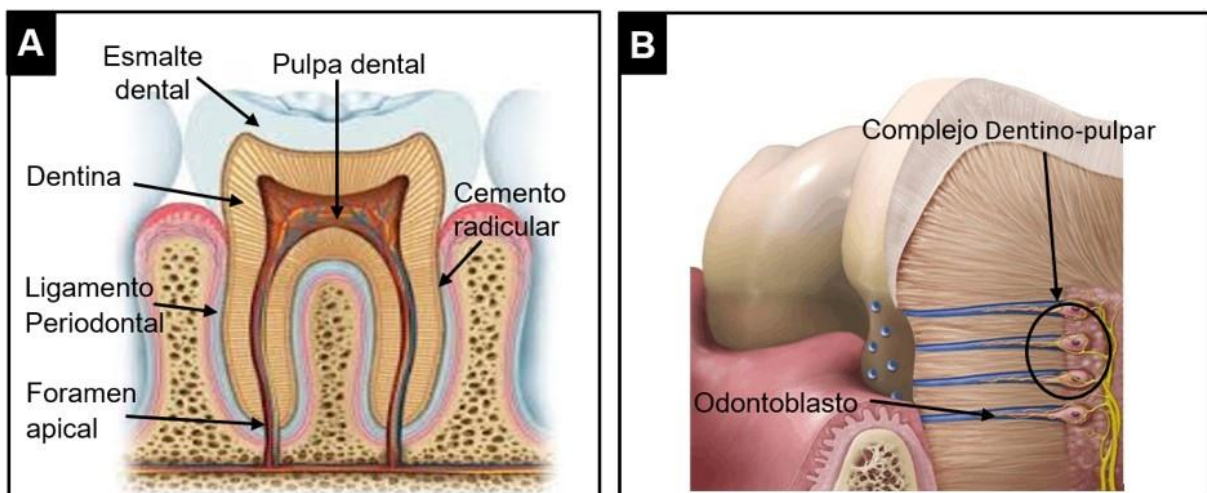
La endodoncia es la rama de la odontología que estudia la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental humana y tejidos perirradiculares. Su estudio y práctica abarcan la ciencias clínicas básicas incluyendo biología de la pulpa normal, etiología, diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades, así como también lesiones de la pulpa y afecciones perirradiculares asociadas (1). Así pues, la endodoncia incluye: I) el diagnóstico diferencial y tratamiento del dolor bucofacial de origen pulpar y periapical, II) tratamientos para mantener la vitalidad de la pulpa, III) los tratamientos de conductos radiculares cuando es inviable conservar su vitalidad o cuando existe necrosis de la misma, IV) tratamientos quirúrgicos para eliminar los tejidos periapicales inflamatorios (consecuencia de patología pulpar), V) la resección apical, hemisección y radicectomía, VI) el tratamiento de la afectación de la pulpa consecutiva a traumatismos, VII) el reimplante de dientes avulsionados, VIII) el blanqueamiento de dientes con alteraciones del color y IX) el retratamiento de dientes que presentan un fracaso de un tratamiento endodóntico previo (2).

La endodoncia se interrelaciona con las demás ciencias de la salud, tanto básicas (morfología, histología, histopatología, microbiología, inmunología, bioquímica, etc.) como clínicas (cirugía, ramas de la medicina interna, medicina bucal, periodoncia, operatoria dental, odontopediatría, etc.) y también con ciencias como la metalurgia, la física, la química y la estadística (2).

Con el objetivo de contextualizar este trabajo de investigación, en las subsecciones siguientes de esta introducción se abordarán distintos conceptos, tanto biológicos como técnicos, relacionados con la terapia intraconducto, así como con las características y aplicación de cementos selladores.

## **Complejo Dentino-pulpar**

La pulpa dental y la dentina funcionan como una unidad, y los odontoblastos son un elemento básico de este sistema. Los odontoblastos se localizan en la periferia del tejido pulpar, con extensiones a la parte interna de la dentina (a través de los túbulos dentinarios) (Figura 1). La dentina no existiría de no ser producida por los odontoblastos y la pulpa dental depende de la protección ofrecida por la dentina y el esmalte. Asimismo, la dinámica integrada del complejo dentino-pulpar implica que los impactos en la dentina pueden alterar los componentes pulpaes, y las alteraciones de la pulpa pueden, a su vez, alterar la calidad y cantidad de dentina producida (3).



**Figura 1.** Esquema ilustrativo de un órgano dental.

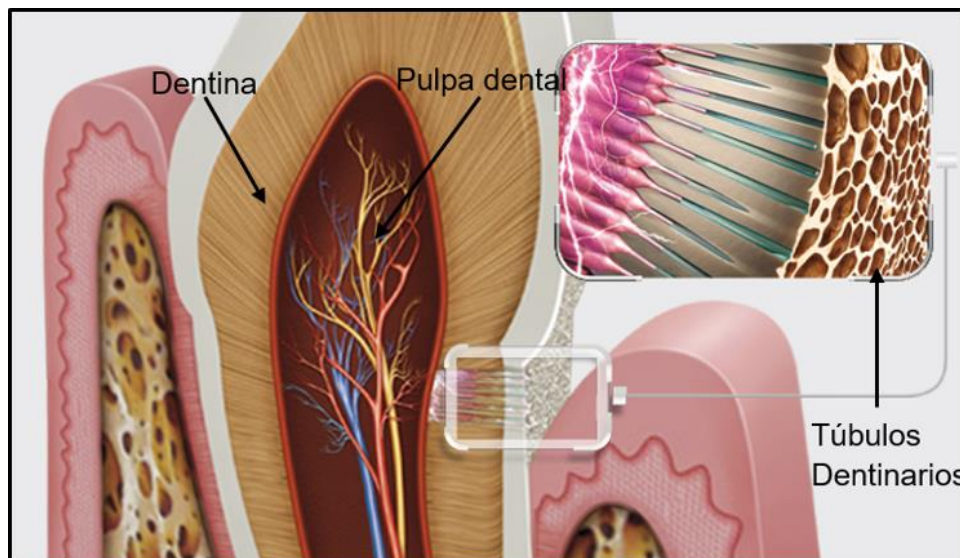
**(A)** Estructura anatómica de un primer molar inferior. **(B)** Complejo dentino-pulpar y su unidad funcional el odontoblasto.

A continuación, se describen características de las estructuras biológicas que componen al complejo dentino-pulpar.

### **Pulpa dental**

La pulpa dental puede ser definida como un tejido conjuntivo laxo especializado, de origen mesenquimatoso, circundado por un tejido duro, calcificado y en continua

formación llamado dentina que ocupa la cámara pulpar y el conducto radicular que condiciona la progresiva disminución del volumen de la pulpa (2,4). La capacidad de este tejido para formar dentina de manera continua habilita a la pulpa para reaccionar y protegerse de los agentes agresores, así como para compensar en parte las pérdidas de esmalte o dentina. La pulpa ocupa la cavidad central del diente -cámara pulpar y conducto radicular- y se comunica con el ligamento periodontal a través del foramen apical o de foraminas apicales, por donde pasan los elementos vasculares y nerviosos (Figura 1) (5).



**Figura 2.** Dibujo esquemático dental del complejo vasculonervioso.

**Se observa arterias, vasos y nervios que se encuentran en la pulpa dental, así como la dentina y sus túbulos dentinarios.**

Existe una relación de interdependencia de la dentina y la pulpa hace que los tejidos sean entendidos y reconocidos como integrantes de un mismo complejo, el llamado “complejo dentino-pulpar”, esto es debido a que eventos que ocurren en la dentina repercuten en la pulpa y viceversa. Así pues, las interacciones de señalización que ocurren en la matriz extracelular pulpar influye en la formación de dentina por los odontoblastos (2,4).

La pulpa es realmente un sistema microcirculatorio y sus mayores componentes vasculares son las arteriolas y las vénulas. No existen verdaderas arterias ni venas que entren o salgan de la pulpa. A diferencia de la mayoría de los tejidos, la pulpa carece de un verdadero sistema colateral, y depende de las relativamente pocas arteriolas que entran a través de los orificios radiculares. La pulpa dental es un órgano sensorial único. Al estar encerrada en una capa protectora de dentina, cubierta a su vez por esmalte, cabría esperar que tuviese poca capacidad de respuesta frente a los estímulos térmicos (3); sin embargo, los nervios sensitivos presentes en la pulpa y de forma restringida en la dentina permite la percepción de estímulos externos, internos o de ambos tipos como los provocados por alimentos fríos o calientes ([Figura 2](#)) (3,5).

A medida que avanza la edad, el volumen pulpar se reduce a causa de la producción de dentina secundaria y de la generación eventual de dentina terciaria. El contenido de células disminuye, mientras aumenta en forma proporcional la cantidad de colágeno. La circulación se reduce debido al estrechamiento de los accesos a través de los forámenes y por procesos degenerativos vasculares (5).

### Dentina

La dentina es un tejido mineralizado, rodeado por el esmalte en la zona de la corona y por el cemento en la zona radicular, que delimita una cavidad, la cámara pulpar y los conductos radiculares, donde se encuentra el tejido pulpar ([Figura 1](#) [Figura 2](#)). La dentina tiene un espesor variable que depende del diente y de la localización; oscila entre 1 y 3 mm y varía durante toda la vida del individuo debido a su formación continua tanto en condiciones fisiológicas como patológicas. Su color blanco amarillento depende del grado de mineralización, de la edad, del estado del tejido pulpar y de determinados pigmentos. Presenta menos translucidez, dureza y radioopacidad que el esmalte, es elástica y permeable (2).

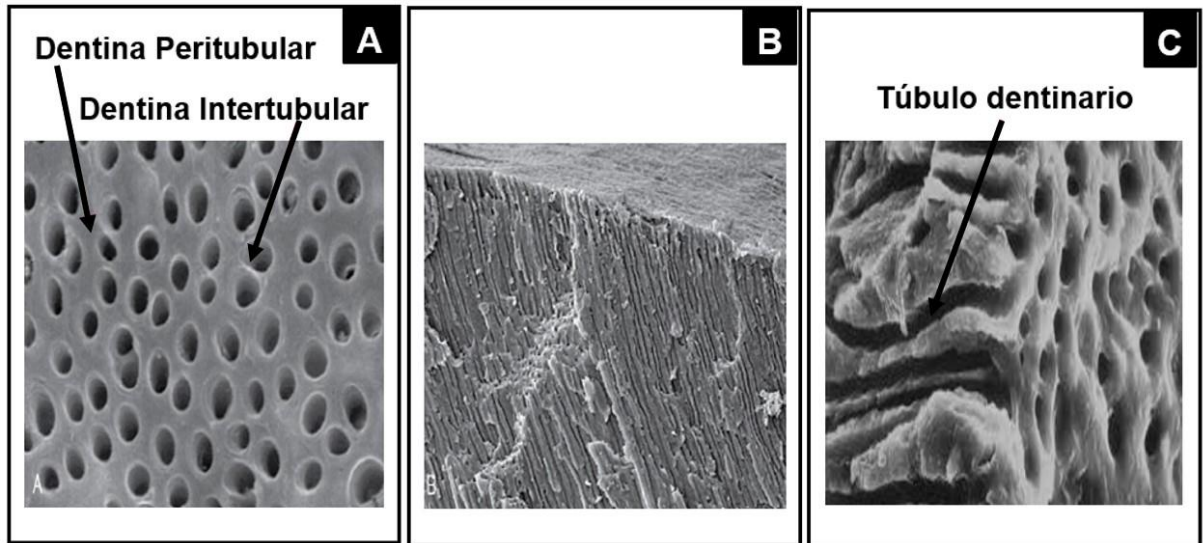
La dentina madura se compone de aproximadamente un 70% de material inorgánico, un 20% de material orgánico y un 10% de agua según el peso. El principal componente inorgánico consiste en hidroxapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ . La matriz orgánica consta de

proteínas, de las cuales la más común es el colágeno tipo I. Entre los componentes de la matriz distintos del colágeno se incluyen fosfoproteínas, proteoglicanos, proteínas que contienen g-carboxiglutamato-n, glucoproteínas ácidas factores de crecimiento y lípidos (3).

La estructura de la dentina está constituida por una serie de túbulos dentinarios que la atraviesan por una matriz o dentina intertubular, estos túbulos forman parte de las prolongaciones odontoblásticas que confieren una comunicación entre la pulpa dental y el túbulo dentinario (2).

### **Túbulos dentinarios**

Son estructuras cilíndricas, huecas, que se extienden desde la pulpa hasta el límite amelodentinario en la corona dental y hasta el cemento radicular en la porción radicular, delimitadas por la dentina peritubular, muy mineralizada, que tiene un espesor variable de 400 nm a la altura de la dentina circumpulpar (dentina que rodea inmediatamente a la pulpa dental) y de 750 nm a la del manto (dentina más próxima al esmalte). Los túbulos tienen un trayecto en «S» itálica que se conoce como curvaturas primarias; en la raíz la curvatura es menos pronunciada y de convexidad apical, mientras que en el ápice los túbulos suelen ser rectos. Además, en todo su trayecto los túbulos presentan curvaturas secundarias o menores cada 12 nm, debido al desplazamiento en espiral de los odontoblastos en sentido centrípeto al formar la dentina ([Figura 3](#)) (2).



**Figura 3.** Micrografías SEM de la dentina.

**A)** Túbulos en corte transversal. **(B)** Túbulos en corte longitudinal. **(C)** Anatomía del túbulo dentinario. A-B, 850 y 130x, respectivamente.

Los túbulos ocupan del 1% de la dentina superficial al 30% de la dentina profunda del volumen de dentina intacta. Los túbulos miden entre 1 y 2.5  $\mu\text{m}$  de diámetro. Son ligeramente cónicos, con la porción más ancha situada hacia la pulpa. Esta conicidad es el resultado de la formación progresiva de dentina peritubular de hasta 1 mm, que conlleva una disminución continua del diámetro de luz de los túbulos (3).

El número y el diámetro de los túbulos son variables y dependen del nivel en que se encuentren. En la dentina circumpulpar hay unos 60,000 por  $\text{mm}^2$ , con un diámetro de 4  $\mu\text{m}$ , mientras que, en la dentina superficial, próxima al límite amelodentinario hay unos 15,000 por  $\text{mm}^2$  y tienen un diámetro de 1.7  $\mu\text{m}$ . Los túbulos muestran ramificaciones colaterales o túbulos secundarios que contactan unos con otros, bifurcándose en sus extremos en la dentina superficial o en el manto. En el interior de los túbulos existen las prolongaciones de los odontoblastos o prolongaciones de Tomes; entre el citoplasma celular y la pared del túbulo queda un espacio -el espacio peridentinoblástico- en el que se observa el fluido dentinario o linfa, así como fibras nerviosas amielínicas, fibras colágenas y algunos cristales de hidroxiapatita (2).

### **Fluido dentinario**

Alrededor del 1% de la dentina superficial, pero cerca del 22% del volumen total de dentina está ocupado por fluido libre (i.e. cerca de la pulpa) (3). El fluido dentinario libre es un ultrafiltrado de sangre en los capilares de la pulpa y su composición es similar al del plasma en varios aspectos. El líquido fluye hacia fuera entre los odontoblastos, en el interior de los túbulos de dentina y eventualmente escapa a través de pequeños poros hacia el esmalte y el cemento. La exposición de los túbulos como resultado de una fractura dentaria o durante la preparación de la cavidad a menudo trae como consecuencia la aparición de líquido en la superficie expuesta de la dentina en forma de gotitas diminutas. Este movimiento de líquido hacia el exterior puede ser acelerado deshidratando la superficie de dentina con aire comprimido, calor seco o la aplicación de un papel absorbente. Se piensa que el rápido flujo de líquido a través de los túbulos es una de las causas de la sensibilidad de la dentina (4).

Los productos bacterianos u otros contaminantes pueden introducirse en el fluido dentinario como resultado de una caries dental, procedimientos restauradores o crecimiento de bacterias bajo restauraciones (3). Así pues, el fluido dentinario puede actuar como un sumidero, a través del cual las sustancias perjudiciales pueden entrar en la pulpa y generar una respuesta inflamatoria. Inversamente, el fluido dentinario puede servir como vehículo para la salida de bacterias desde una pulpa necrótica hasta los tejidos perirradiculares. Esto es especialmente significativo en la porción apical del sistema de conductos radiculares para el desarrollo y mantenimiento de la periodontitis apical, ya que las bacterias son el factor etiológico clave (3).

### **Etiopatogenia de la enfermedad pulpar y periapical**

Los dientes comparten el microambiente de la cavidad bucal con alrededor de 500 especies bacterianas (5). La inflamación pulpar y periapical puede iniciarse en respuesta a agentes bacterianos, físicos o químicos, pero los estudios experimentales demuestran que la presencia de bacterias es esencial para la progresión y perpetuación del proceso inflamatorio (2).

### **Vías de invasión bacteriana**

Las bacterias pueden utilizar diversas puertas de entrada hacia la cavidad pulpar tales como (2):

1. Defectos en el sellado marginal. Determinados materiales de restauración pueden facilitar, si no se utilizan correctamente, la filtración de bacterias a través de la interfase material-diente.
2. Los túbulos dentinarios. Los túbulos miden ca. entre 0.5-1 nm de diámetro en la periferia y hasta 3-5 nm cerca de la pulpa, un calibre suficiente para permitir el paso de bacterias (el tamaño de las bacterias oscila ca. entre 1 y 0.3 nm).
3. Infección periodontal. El tejido conectivo pulpar tiene su continuación en el tejido conectivo periodontal a través del foramen apical principal y por conductos laterales presentes en distintas zonas de la raíz.
4. Traumatismos. Los traumatismos dentales agudos tienen su mayor incidencia entre la población infantil, estos generan la entrada de cantidades importantes de microorganismos a la pulpa dental ya que en algunos casos de trauma dental la exposición bacteriana con la pulpa es directa.
5. Anomalías de desarrollo. Los defectos acaecidos durante el desarrollo del diente pueden dejar grietas que permitan el paso de las bacterias hacia la pulpa. Entre estos defectos figuran el Dens invaginatus o Dens in dente.

Una vez que las bacterias del medio oral se han filtrado dentro de la pulpa dental se inicia el proceso de degeneración y muerte celular.

### **Muerte celular**

La muerte celular se puede iniciar por mecanismos fisiológicos o patológicos. Hay 2 mecanismos básicos: i) la necrosis y ii) la apoptosis (2). El término necrosis, que significa muerte de la pulpa, se refiere a una condición histológica originada por una

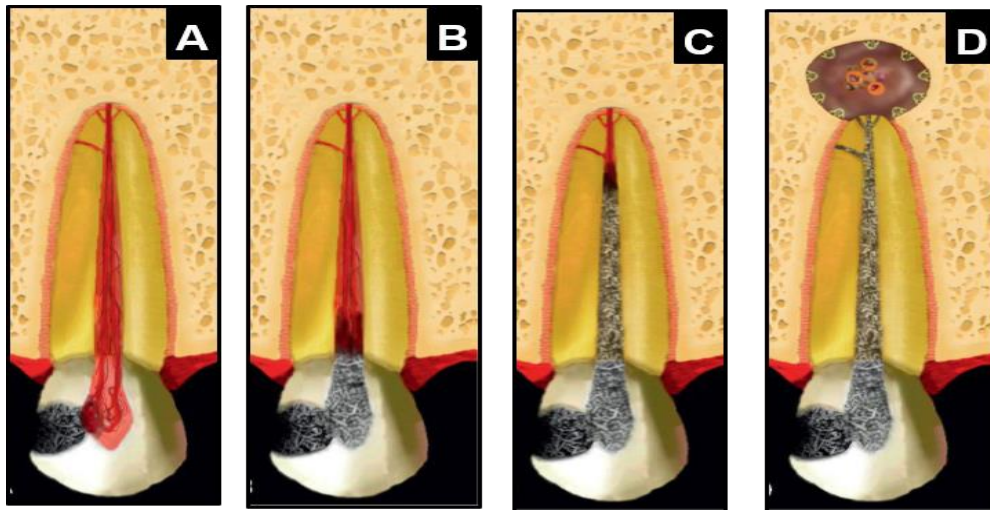
pulpitis irreversible (inflamación pulpar persistente) no tratada, una lesión traumática o cualquier circunstancia que origine interrupción prolongada del suministro de sangre a la pulpa. Las pulpitis agudas y crónicas, así como los estados degenerativos podrían evolucionar, lenta o rápidamente hacia la pulpa (7). Con respecto a la apoptosis, es una muerte celular compleja y genéticamente programada en cuya aparición intervienen sistemas de control homeostático. Cuando la caries o los traumatismos rompen la barrera que aísla a la pulpa, los microorganismos pueden alcanzar el tejido pulpar, desencadenando una respuesta inflamatoria e inmune (2).

A medida que las bacterias avanzan hacia la pulpa, va aumentando el grado de inflamación. La inflamación pulpar comienza como una respuesta inmunológica de bajo grado a los antígenos bacterianos en vez de una reacción inflamatoria aguda. El infiltrado celular inflamatorio inicial consiste casi completamente de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas; el infiltrado típico de una reacción inflamatoria crónica. Adicionalmente, existe una proliferación de pequeños vasos sanguíneos y fibroblastos con depósito de fibras colágenas, razón por la cual no toda reacción inflamatoria resulta en una lesión permanente (8).

La necrosis del tejido se desarrolla cuando los neutrófilos, al morir, liberan metabolitos activos del oxígeno y proteasas. Los neutrófilos contienen más de 20 proteasas, de las cuales las más importantes son la elastasa, gelatinasa y colagenasa. Esta acción combinada resulta en necrosis por licuefacción. Las enzimas lisosomales tienen un rol importante en la digestión de las bacterias fagocitadas; contribuyen a la destrucción del parénquima pulpar debido a que no discriminan entre el tejido del huésped y agentes extraños (3,7).

Al incrementarse el número de bacterias que entran a la pulpa, los mecanismos de defensa son eventualmente vencidos. Debe recordarse que la pulpa tiene un aporte sanguíneo relativamente limitado en relación con el volumen de tejido presente en el espacio de la cámara y los conductos radiculares. Entonces, cuando la demanda de elementos inflamatorios es mayor que la posibilidad que tiene el sistema vascular de transportarlos hasta el sitio del daño, la respuesta inflamatoria no puede ser mayor y

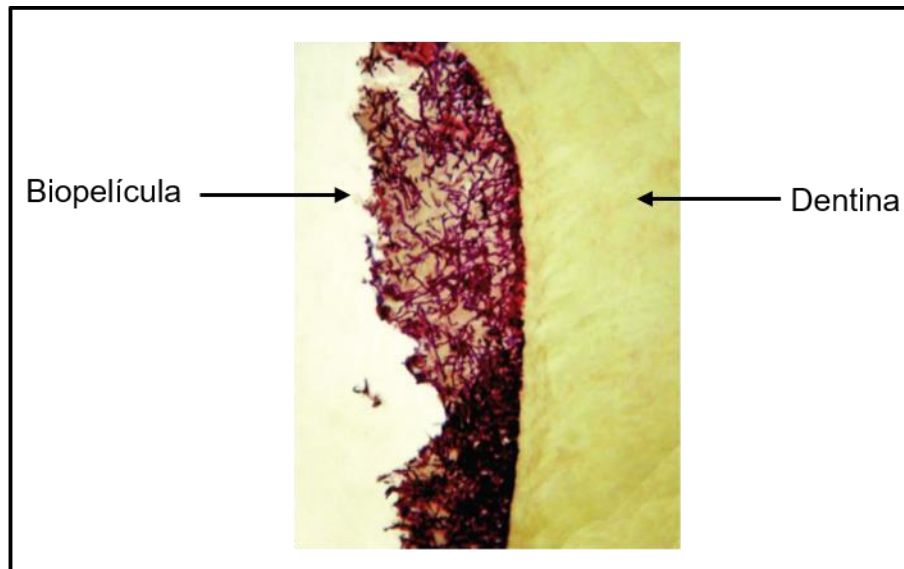
las bacterias pueden crecer sin oposición dentro de la cámara pulpar. Esto último conlleva a la necrosis pulpar (Figura 4) (8).



**Figura 4.** Inflamación hasta necrosis pulpar a partir de la exposición a la caries.

**Proceso de inflamación, necrosis e infección de la pulpa a partir de la exposición a la caries (A), hasta la formación de una periodontitis apical (D).**

Inicialmente en el proceso de degeneración o necrosis, la pulpa dental se infecta debido a la microflora oral autógena. El entorno endodóntico proporciona un hábitat selectivo para el establecimiento de una comunidad microbiana mixta, predominantemente anaerobias, en la porción apical del conducto radicular (Figura 5). Los productos de tal flora polimicrobiana residente en el conducto radicular apical tienen colectivamente varias propiedades biológicas, como antigenicidad, actividad mitogénica, vasoactividad, quimiotaxis, histólisis enzimática y activación de la defensa del huésped (3,5). Con la pulpa necrosada y la cavidad pulpar contaminada por completo, los productos tóxicos bacterianos y las sustancias agresivas derivadas de la necrosis séptica de la pulpa terminan por alcanzar los tejidos perirradiculares (cemento, hueso alveolar y ligamento periodontal) (5).



**Figura 5. Biopelícula bacteriana.**

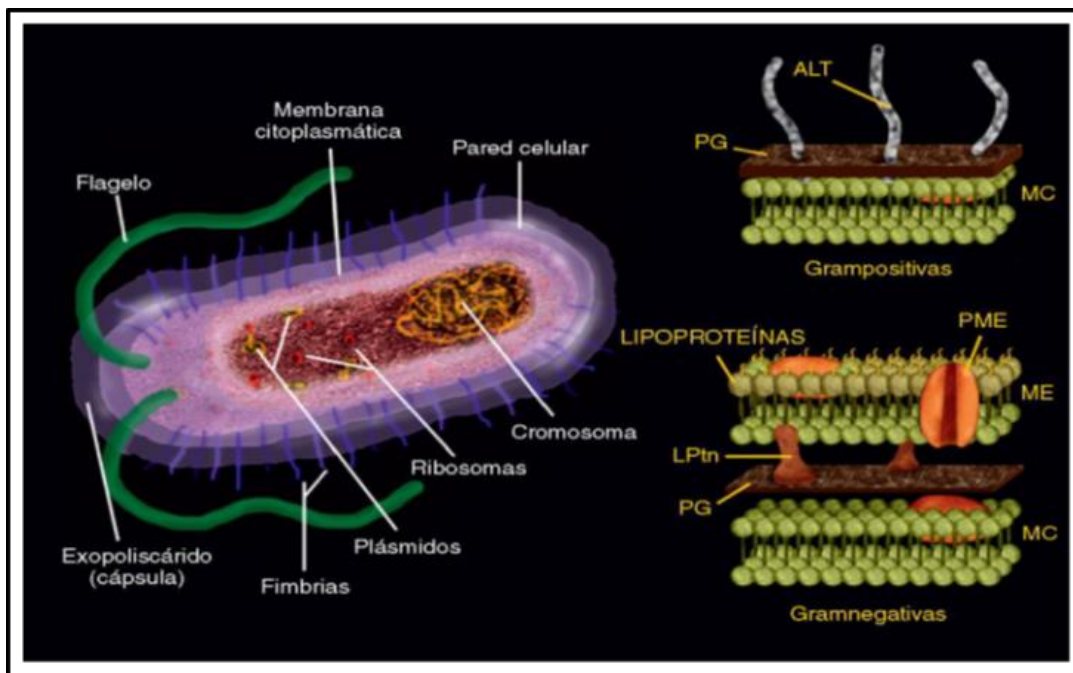
**Biopelícula bacteriana mixta adherida a la superficie de un diente (tinción de Brown y Brenn, 1000x).**

### **Microbiología y tratamiento de las infecciones endodónticas**

La capacidad de un microorganismo de causar enfermedad se denomina patogenicidad. La virulencia indica el grado de patogenicidad de un microorganismo y los factores de virulencia son los productos microbianos, los componentes estructurales o las estrategias que contribuyen a la patogenicidad. Los factores de virulencia de las bacterias consisten en los componentes estructurales celulares y los productos liberados. Los métodos que utilizan las bacterias que contribuyen a la patogenicidad son la capacidad de formar agregados y crear biopelículas, que les confiere protección frente a las defensas del huésped y los agentes antimicrobianos (Figura 5) (4).

Las bacterias ejercen su patogenicidad causando estragos en los tejidos del huésped mediante mecanismos directos o indirectos. Los factores de virulencia bacteriana que causan el daño tisular directo comprenden aquellos que dañan tanto las células del huésped como la matriz intercelular del tejido conjuntivo. Estos factores se relacionan con los productos segregados, como enzimas, exotoxinas, proteínas de shock térmico

y productos finales del metabolismo. Asimismo, los componentes estructurales de las bacterias, como los lipopolisacáridos, los peptidoglucanos, el ácido lipoteicoico, las fimbrias, flagelos y proteínas y vesículas de la membrana exterior, las lipoproteínas, el ADN y los exopolisacáridos, actúan como modulinas estimulando el desarrollo de las reacciones inmunitarias de defensa del huésped, capaces no sólo de defender al huésped frente a la infección sino también de provocar una importante destrucción tisular (Figura 6) (3).



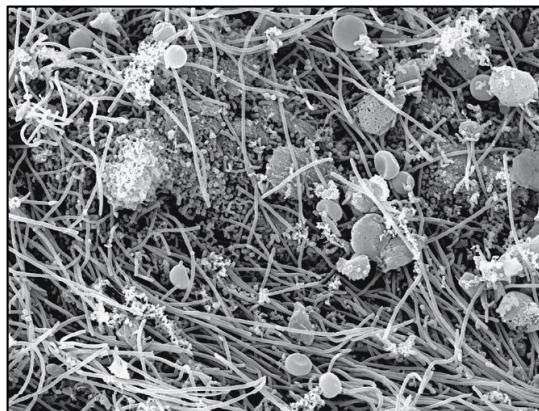
**Figura 6.** Célula bacteriana y sus componentes estructurales.

La célula bacteriana y sus componentes estructurales que pueden actuar como factores de virulencia. Derecha, esquema de la pared de bacterias grampositivas y gramnegativas. ALT, ácido lipoteicoico; LPS, lipopolisacárido (endotoxina); LPtn, lipoproteínas; MC, membrana citoplasmática; ME, membrana exterior; PG, peptidoglucano.

La infección intrarradicar se debe a microorganismos que colonizan el sistema del conducto radicular. Este tipo de infección se pueden subdividir en tres categorías según el momento en que los microorganismos entran en el sistema del conducto radicular: i) la infección primaria, causada por los microorganismos que invaden y

colonizan el tejido necrótico de la pulpa en un primer momento (infección inicial o «virgen»); ii) la infección secundaria, causada por microorganismos que no están presentes en la infección primaria pero que son introducidos en el conducto radicular en algún momento después de la intervención profesional (i.e. es secundaria a la intervención) y iii) la infección persistente, causada por los microorganismos que fueron componentes de la infección primaria y secundaria y que resistieron de alguna forma a los procedimientos antimicrobianos que tienen lugar dentro del conducto y que pudieron persistir (3).

Las especies bacterianas que se detectan con mayor frecuencia en las infecciones primarias, incluidos los casos abscesificados, pertenecen a diversos géneros de bacterias gramnegativas (*Fusobacterium*, *Dialister*, *Porphyromonas*, *Prevotella*, *Tannerella*, *Treponema*, *Campylo-bacter* y *Veillonella*) y grampositivas (*Parvimonas*, *Filifactor*, *Pseudora-mibacter*, *Olsenella*, *Actinomyces*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus Propionibacterium* y *Eubacterium*) (Figura 7) (3).



**Figura 7.** Micrografía SEM de túbulos dentinarios infectados.

**Se observan los túbulos dentinarios infectados por bacterias. Microscopía electrónica de barrido a un acercamiento de 1,000x.**

El tratamiento endodóntico quirúrgico y el no quirúrgico son procedimientos de desbridamiento destinados a destruir y eliminar el ecosistema microbiano asociado con el proceso patológico (3). La eliminación de las bacterias y sus productos del

interior de los conductos radiculares es uno de los pasos más importantes de la terapia endodóntica ya que estos son considerados los agentes etiológicos principales de los estados de necrosis pulpar y de las lesiones periapicales (9).

La mayoría de las bacterias infectantes pueden ser removidas por los procedimientos endodónticos de rutina, tales como la instrumentación e irrigación del espacio pulpar; sin embargo, en algunos casos la instrumentación químico-mecánica sola es incapaz de desinfectar completamente el sistema de conducto radicular debido a su complejidad anatómica, volviéndose necesario utilizar medicación intraconducto (10). La medicación intraconducto es un auxiliar valioso en la desinfección del sistema de conductos radiculares, sobre todo en lugares inaccesibles a la instrumentación, como las ramificaciones del conducto principal y los túbulos dentinarios (5).

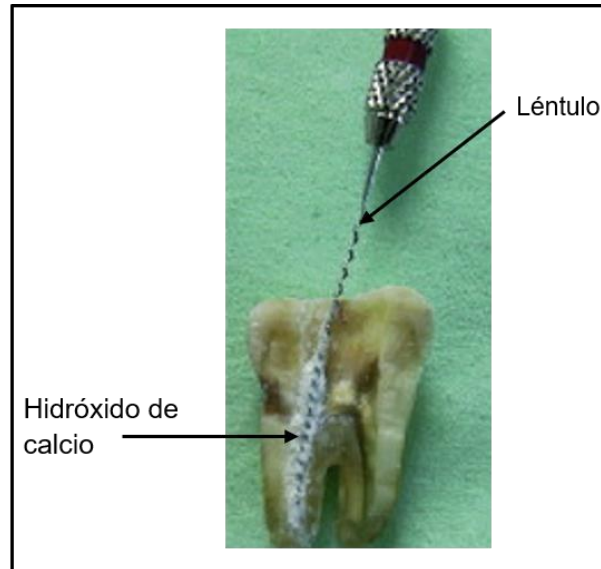
### **Medicación Intraconducto**

La medicación intraconducto o medicación tópica implica el uso interno de un medicamento con la intención de lograr efectos terapéuticos locales y no sistémicos, utilizados para mejorar las condiciones del conducto radicular entre las sesiones necesarias para la conclusión del tratamiento endodóntico ([Figura 8](#)) (5,6).

El medicamento debe poseer una alta actividad antibacterial combinada con una baja toxicidad tisular. De hecho, un medicamento que posee una baja toxicidad por un largo período de tiempo, debe ser tan efectivo en la desinfección del conducto que uno que tiene una actividad antimicrobiana alta pero se disipa rápidamente. A esto se le agrega que debe poseer propiedades físico-químicas que permitan su difusión a través de los túbulos dentinarios y ramificaciones laterales del sistema de conductos radiculares y un tiempo suficiente de acción para eliminar bacterias (11) .

El uso de medicamentos intraconductos entre citas ha sido rutina en la práctica endodóntica por muchos años como coadyuvante en el control de la contaminación bacteriana. Messer y Chen, hacen el siguiente razonamiento: primero el medicamento puede reducir la flora microbiana por debajo de los niveles logrados durante la preparación del conducto, particularmente por penetrar en áreas donde los

instrumentos o irrigantes no llegan. Segundo, un agente antimicrobiano al permanecer en el conducto entre citas puede prevenir la reinfección del conducto radicular o reducir el riesgo de proliferación de bacterias residuales (11).



**Figura 8.** Colocación de medicación intraconducto de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

**Imagen representativa de un molar inferior donde se muestra la aplicación de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  como medicación intraconducto por medio de un léntulo de forma manual.**

Chong y Pitt Ford destacan algunas ventajas del uso de la medicación intraconducto en el tratamiento de dientes con conductos infectados (2):

1. La eliminación de las bacterias que puedan persistir en los conductos tras su preparación.
2. La neutralización de los residuos tóxicos y antigénicos remanentes.
3. La reducción de la inflamación de los tejidos periapicales.
4. La disminución de los exudados persistentes en la zona apical.
5. La constitución de una barrera mecánica ante la posible filtración de la obturación temporal, teniendo en cuenta su escasa estanqueidad.

Aunque algunas de estas indicaciones son cuestionables y su papel es, en todo caso, secundario a la instrumentación e irrigación de los conductos radiculares, la medicación intraconducto con materiales poco irritantes puede estar indicada en el tratamiento de dientes infectados (2).

### **Sustancias antibacterianas utilizadas como medicación intraconducto**

#### **Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos fueron el grupo de sustancias más utilizadas en la medicación intraconducto. Poseen una acción antibacteriana variable en función de su composición química ya que, además del fenol, que presenta anillos de benceno con un grupo hidroxilo, muchos preparados incorporan otras sustancias. Entre los compuestos fenólicos destacan los siguientes: eugenol, paraclorofenol, cresatina o acetato de metacresilo y timol. Son antisépticos potentes en contacto directo con las bacterias. Cuando se deposita en el interior de los conductos radiculares, su efecto no se limita a ellos sino que, a través del ápice, se ha demostrado su distribución sistémica, detectándose en sangre y en orina, por lo tanto actualmente no son muy utilizados (2).

#### **Aldehídos**

El formaldehído, el paraformaldehído o trioximetileno, el formocresol y el glutaraldehído son potentes antibacterianos, pero pueden causar necrosis de los tejidos periapicales sin ocasionar ningún alivio del dolor. Su principal indicación es el tratamiento de la pulpa expuesta en dientes temporales (2).

#### **Hidróxido de calcio**

El hidróxido de calcio ( $\text{Ca}[\text{OH}]_2$ ) fue introducido por B. W. Hermann en 1920 como material para el tratamiento y llenado de conductos radiculares. El  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  es un polvo blanco inodoro que tiene una baja solubilidad en agua y libera lentamente los iones de

calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e hidroxilo ( $\text{OH}^-$ , responsables de su naturaleza altamente alcalina), tiene un pH alto (12.5 - 12.8) y se clasifica químicamente como una base fuerte (12).

Actualmente, el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  es el medicamento intraconducto más usado en la terapia endodóntica, sus principales propiedades se atribuyen al efecto de su disociación de iones en tejidos vitales, como la inducción de deposición de tejidos duros y ser antibacteriano (12). Se utiliza para estimular la apexificación, para reparar perforaciones, para el tratamiento de fracturas radiculares y resorciones inflamatorias de las raíces, para el tratamiento de conductos radiculares infectados y lesiones periapicales, estos últimos comúnmente asociados a una necrosis pulpar (2,12).

Este medicamento es efectivo contra la mayoría de los patógenos endodónticos (2), debe colocarse idealmente de forma profunda y densa en el espacio del conducto para que ejerza sus efectos biológicos en contacto directo con los tejidos y que las bacterias del conducto infectado puedan ser eliminadas (11).

Investigaciones clínicas comparativas han demostrado que el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  es el medicamento que presenta mayor eficacia en la erradicación de las bacterias de los conductos radiculares. Estudios *in-vitro* han relacionado el efecto beneficioso del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  con la descomposición de los ácidos grasos de la pared celular bacteriana Gramnegativa por los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y los radicales  $\text{OH}^-$  (12). Kim y colaboradores mencionan que la actividad antimicrobiana del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  está relacionada con la liberación de iones  $\text{OH}^-$  en contacto con fluidos acuosos. Estos iones son radicales libres altamente oxidantes que muestran una reactividad extrema con las biomoléculas. El efecto letal sobre los microorganismos se ha atribuido entonces, a los siguientes mecanismos: daño a la membrana citoplásmica bacteriana, desnaturalización de proteínas y / o daño al ADN. Sin embargo, es difícil establecer el mecanismo principal involucrado en la muerte de las bacterias. Kontakiotis y colaboradores sugirieron que la capacidad del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  para absorber dióxido de carbono puede contribuir a su actividad antibacteriana (13). Se ha reportado que la penetración de microorganismos en los túbulos dentinarios infectados se extiende generalmente de 50 a 100  $\mu\text{m}$ . Sin embargo, se ha demostrado que la aplicación de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en los conductos radiculares en conjunto con la irrigación e instrumentación

promueve la eliminación de microorganismos de forma eficiente (14). Se ha reportado que el léntulo espiral es el instrumento más efectivo para transportar pasta de  $\text{Ca(OH)}_2$  hasta la longitud de trabajo (Figura 8) (11,15,16).

Antes de la obturación final del conducto radicular, la medicación con  $\text{Ca(OH)}_2$  debe eliminarse por completo para permitir una adaptación óptima de los materiales de relleno de raíz a las paredes del conducto. Sin embargo, los informes sobre técnicas de eliminación muestran volúmenes residuales de  $\text{Ca(OH)}_2$  que van del 3% al 20%, predominantemente en la región apical (17). Estos residuos afectan la resistencia de la unión entre el material de relleno y la dentina y comprometen el sellado interfacial. Además, pueden reaccionar con el cemento sellador aumentando su viscosidad y reduciendo su tiempo de trabajo (17,18). Estos residuos también se ven involucrados en la penetración de los selladores en los túbulos dentinarios, que comprometen notablemente la calidad del sello provisto por el relleno de la raíz (9,18). Finalmente, la solubilidad del  $\text{Ca(OH)}_2$  en los fluidos tisulares puede, a largo plazo, dejar vacíos en la interfaz de cemento / dentina, lo que podría favorecer la proliferación bacteriana (13,17,19). Por lo tanto, la eliminación completa y predecible del apósito de  $\text{Ca(OH)}_2$  antes del llenado del conducto radicular es crítica y podría estar directamente relacionada con el resultado del tratamiento (19).

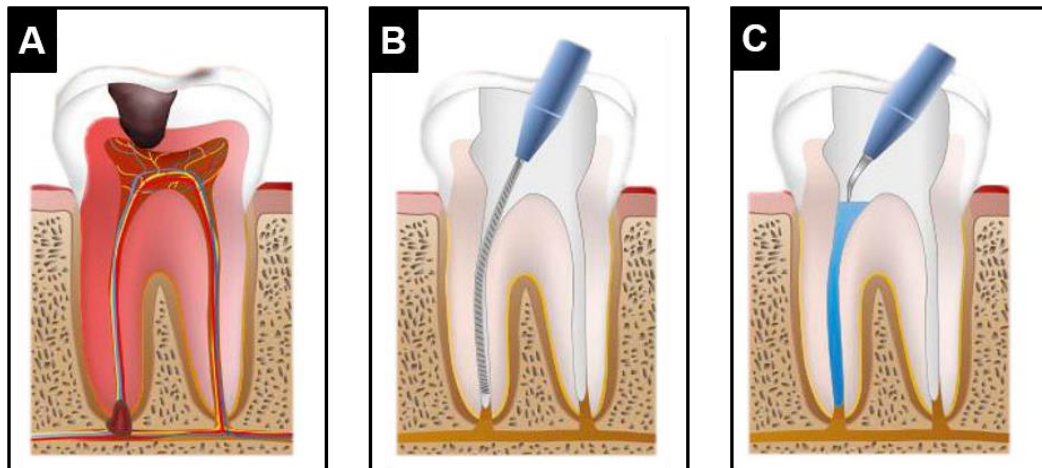
Se ha sugerido que los restos de  $\text{Ca(OH)}_2$  deben eliminarse mediante diferentes soluciones irrigadoras como hipoclorito de sodio (NaOCl), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o ambas soluciones y la ayuda de limas endodónticas (11,20). Si el  $\text{Ca(OH)}_2$  no puede eliminarse completamente del conducto radicular, se evitará la penetración de los cementos selladores en los tubos dentinarios del conducto radicular (12,13).

La eliminación del  $\text{Ca(OH)}_2$  antes de la obturación final se realiza de forma rutinaria ya sea mediante irrigación con NaOCl, solución salina o instrumentación en un movimiento de escariado. Margelos y colaboradores han demostrado que el uso de una solución al 15% de EDTA y NaOCl interviene, ya que los irrigantes no eliminan el hidróxido de calcio del canal radicular, pero la combinación de estos dos irrigantes con instrumentos manuales mejora la eficiencia de remoción (12,13,21). La eliminación

de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  se ha investigado utilizando una gama de productos y técnicas. El método descrito con mayor frecuencia es la instrumentación del conducto radicular mediante un instrumento endodóntico y abundante riego. Sin embargo, las irregularidades del conducto puede ser inaccesible para los procedimientos de irrigación convencionales y el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  puede permanecer en estas extensiones. Los dispositivos activados de manera sónica y ultrasónica se introdujeron recientemente para mejorar la fase de irrigación. Su diseño permite la activación segura de soluciones intraconducto y podría producir una agitación vigorosa del fluido intraconducto (19).

### Irrigantes endodónticos

Para aumentar la eficacia de la preparación mecánica y la eliminación de bacterias, la instrumentación debe complementarse con soluciones de irrigación activas. La irrigación se define como el lavado de una cavidad o herida corporal con agua o un líquido medicado. Por otro lado, la aspiración se define como el proceso de eliminar líquidos o gases del cuerpo por succión (Figura 9) (3).



**Figura 9.** Desinfección endodóntica de un órgano dental.

Imagen ilustrativa que representa. (A) Órgano dental con caries profunda y contaminación del conducto radicular. (B) Instrumentación. (C) Irrigación.

Los objetivos de la irrigación son mecánicos y biológicos. El objetivo mecánico es eliminar residuos, lubricando el conducto y disolviendo tejido orgánico e inorgánico. La función biológica de los irrigantes se relaciona con su efecto antimicrobiano. En los dientes con pulpa mortificada, la irrigación se integra al conjunto de acciones destinadas a promover la desinfección del conducto radicular y la neutralización de las toxinas presentes en su contenido necrótico. Estos objetivos llevan a escoger soluciones irrigadoras que posean acción antiséptica, poder disolvente de la materia orgánica y capacidad para neutralizar toxinas presentes, sin ser agresivas -al menos en forma acentuada- para los tejidos periapicales (3,5).

En cualquier condición se exige de la solución irrigadora una buena capacidad de limpieza, como requisito fundamental. La experiencia clínica permite recomendar, entre otras las siguientes soluciones irrigadoras (5).

### **Hipoclorito de sodio**

El hipoclorito de sodio (NaOCl) es la solución irrigante más utilizada en endodoncia por su eficacia frente a los patógenos presentes en los conductos radiculares y la remoción de la pulpa (3). Es un excelente antibacteriano, capaz de disolver tejido necrótico, tejido pulpar vital y los componentes orgánicos de dentina y la biopelícula (5).

En la lista de las propiedades que convierten al NaOCl en la opción más adecuada para la irrigación de los conductos radiculares se destacan (5):

- a) Buena capacidad de limpieza.
- b) Poder antibacteriano afectivo.
- c) Neutralizante de productos tóxicos.
- d) Disolvente de tejidos orgánicos.
- e) Acción rápida, desodorizante y blanqueante.

La efectividad antimicrobiana del NaOCl parece ser similar a la del  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  en lo que se refiere a la influencia de los iones de  $\text{OH}^-$  sobre la membrana citoplasmática bacteriana. Además, el pH elevado del NaOCl interfiere en la integridad de la membrana citoplasmática, promueve alteraciones biosintéticas, con inhibición enzimática irreversible (acción oxidante). Con la formación de cloraminas ocurre interferencia en el metabolismo celular, con oxidación irreversible del grupo sulfhidrilo (SR) de enzimas bacterianas (cisteína). Se puede observar la degradación de ácidos grasos y fosfolípidos por el proceso de peroxidación lipídica (reacción de saponificación) (4).

El contacto del NaOCl con la materia orgánica desencadena reacciones de saponificación, neutralización de aminoácidos y de cloraminación. Interpretando estas reacciones químicas, se observa que el NaOCl actúa como solvente de materia orgánica y de grasa, transformando esos ácidos grasos (aceites y grasas) en sales de ácidos grasos (jabón) y glicerol (alcohol), que reduce la tensión superficial. Pecora y colaboradores reportan que el NaOCl no se representa en forma de polvo, solamente en solución acuosa; en este estado, se observa un equilibrio químico dinámico, presentándose como una sal no disociada (2).

### **Clorhexidina**

La clorhexidina (CHX) en líquido y en gel se ha recomendado como solución irrigante y sus diferentes propiedades se han probado en varios estudios *in vitro* e *in vivo*. Se han realizado estudios sobre la eficacia antibacteriana de la CHX a diferentes concentraciones. Se ha demostrado que la CHX al 2% es un antibacteriano más eficaz que la CHX al 0.12%, de forma que la eficacia antibacteriana depende claramente de su concentración. Dado que el NaOCl sigue siendo el irrigante más utilizado, la eficacia antibacteriana de la CHX se ha comparado con la del NaOCl. Los resultados de estos estudios no son concluyentes, pero en general no se han observado diferencias significativas entre las dos soluciones. A diferencia del NaOCl, la CHX no es un disolvente tisular. Por tanto, el NaOCl sigue siendo la primera solución irrigante en endodoncia (3).

### **Ácido etilendiaminotetraacético**

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) se propone a menudo como solución de irrigación porque puede quelar y eliminar la porción mineralizada del barrillo dentinario. Es un ácido poliaminocarboxílico. Este sólido incoloro e hidrosoluble se produce a gran escala para muchas aplicaciones. Su importancia como quelante surge de su capacidad para secuestrar iones metálicos di- y tricatiónicos como  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . Después de ser unidos por EDTA, los iones metálicos están en solución, pero con menor reactividad (3).

El EDTA suele utilizarse a una concentración del 17% y puede eliminar el barrillo dentinario cuando está en contacto directo con la pared del conducto durante menos de 1 min. El proceso descalcificante es autolimitado. En la preparación de conductos radiculares el EDTA tiene un valor limitado solo como irrigante. Dado que puede descalcificar hasta  $50\ \mu$ , puede abrir un conducto ocluido muy fino. Esta profundidad, añadida de dos paredes no puestas, se traduce en una abertura de  $100\ \mu$ , equivalente a la punta de una lima # 10 (3).

El desbridamiento del sistema de conductos radiculares es esencial para el éxito endodóntico. La conformación de los conductos radiculares crea una capa de frotis que consta de sustancias orgánicas e inorgánicas, incluidos fragmentos de procesos odontoblásticos, microorganismos, y materiales necróticos. Se ha demostrado que la capa de frotis inhibe la penetración de desinfectantes intracanales y selladores en los túbulos dentinarios, lo que puede comprometer el sellado del relleno de la raíz. Se han utilizado muchas soluciones de irrigación para reducir los desechos residuales, el tejido necrótico y las bacterias, así como la capa de frotis formada por la instrumentación mecánica del sistema del conducto radicular. El uso alternativo de NaOCl, un agente desproteinizante, y EDTA, un agente quelante de Ca se ha recomendado para la eliminación eficaz de la capa de frotis para mejorar la limpieza del sistema de conductos radiculares (22).

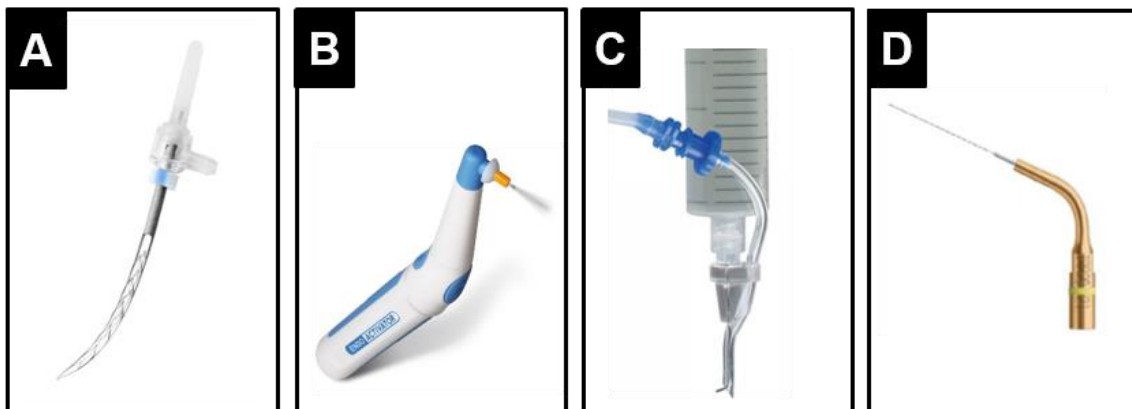
La irrigación con EDTA está indicada durante y al finalizar la conformación debido a que aumenta la permeabilidad dentinaria, lo que favorece la acción de la medicación intraconducto y contribuye a la adaptación íntima de los materiales de obturación (5).

### Activadores de irrigantes

La limpieza y desinfección de todas las áreas del conducto radicular mediante soluciones irrigadoras se considera esencial para el éxito del tratamiento endodóntico. Numerosos estudios han demostrado que durante la preparación mecánica, quedan muchas zonas del conducto que ni siquiera son tocadas por los instrumentos, actuando únicamente sobre el cuerpo central del conducto (23). La irrigación con aguja es el método convencional para suministrar irrigantes dentro del sistema de conductos radiculares, pero para alcanzar la longitud total del conducto radicular, la punta de la aguja debe insertarse dentro de 1 mm de la longitud de trabajo (WL), lo que aumenta el riesgo del irrigante de que se extruya fuera del foramen apical. No obstante, el fenómeno de bloqueo de vapor (burbuja) podría evitar el contacto directo del irrigante con la pared del conducto radicular, especialmente en su porción más apical, haciendo que la acción del irrigante sea ineficaz (24). Tomando en cuenta estos factores, se han diseñado un gran número de dispositivos para la limpieza y desinfección del sistema de conductos radiculares, en busca de procedimientos de administración más efectivos del irrigante, y de sistemas de agitación del irrigante que faciliten que éste pueda alcanzar las zonas de difícil acceso, donde los instrumentos manuales y rotatorios no pueden llegar (23).

Por lo tanto, para mejorar la eficacia y la distribución de los irrigantes, se han desarrollado diferentes técnicas y dispositivos de irrigación, como EndoActivator, Irrisafe, Self-Adjusting File y Endovac (Figura 10). *EndoActivator* (Dentsply, Tulsa Dental Specialties, Tulsa, OK) es un dispositivo sónico que utiliza frecuencias en los rangos de 2 a 3 kHz para activar las soluciones irrigantes. Se ha informado que este dispositivo produce una activación hidrodinámica de los irrigantes que se puede limpiar de manera segura el sistema de conductos radiculares y las irregularidades morfológicas como los conductos laterales y los deltas apicales. Irrisafe (Satelec

Acteon Group, Merignac, Francia) es un dispositivo ultrasónico que funciona en el rango de 25 a 30 kHz que activa la solución de irrigación mediante transmisión acústica y microcavitación; esta técnica se conoce como irrigación ultrasónica pasiva (PUI) y permite la administración de irrigantes hasta la WL del conducto radicular, a diferencia de la aguja endodóntica convencional. La Self-Adjusting File (ReDent Nova, Ra'anana, Israel) es una lima hueca y flexible que se adapta tridimensionalmente al conducto de la raíz. Durante la técnica de instrumentación, esta lima permite el riego continuo que, en combinación con el movimiento de vibración, influye en la capacidad de limpieza en el conducto radicular, particularmente en el tercio apical. El EndoVac (KerrEndo, Condado de Orange, CA) es un sistema de irrigación de presión negativa apical que succiona la solución irrigante por medio de una microcánula ubicada en el WL. Por lo tanto, se evitan el efecto de bloqueo de vapor y el riesgo de extrusión de NaOCl más allá del foramen apical. Además, se ha demostrado que el EndoVac mejora la limpieza del tercio apical con respecto a la irrigación con aguja convencional (24).



**Figura 10. Activadores de irrigantes.**

Imagen representativa de diferentes activadores de irrigantes. (A) Self-Adjusting File. (B) EndoActivator. (C) Endovac. (D) Irrisafe.

### Cementos selladores

Una gran variedad de materiales para rellenar el sistema de conductos radicular han sido utilizados a través de los años. Actualmente, los métodos empleados con mayor frecuencia en la obturación de los conductos radiculares se basan en el uso de conos

semisólidos de gutapercha como material base. Sin embargo, este material no sella el conducto por sí solo, por ello, un cemento sellador es necesario para cubrir la dentina y para rellenar las irregularidades y discrepancias entre el material de obturación y las paredes del conducto logrando así un sellado hermético (3).

Los selladores suelen proyectarse a través de los conductos accesorios o laterales y pueden ayudar al control microbiano al expulsar los microorganismos ubicados en las paredes del conducto radicular o en los túbulos dentinarios (3).

Los selladores se utilizan como lubricantes y ayudan al preciso asentamiento del material de relleno sólido durante la compactación. En los conductos donde se elimina la capa de desecho dentinario, muchos selladores demuestran un aumento de sus propiedades adhesivas sobre la dentina, además de fluir a través de los túbulos dentinarios limpios (25).

### **Requisitos de los cementos selladores**

En 1958 Grossman enumeró los requisitos y características que debe poseer un cemento sellador de conductos radiculares ideal. Estos requisitos siguen vigentes hoy en día y se enlistan a continuación (25):

1. Debe proporcionar adhesión entre el material y la pared del conducto al fraguar.
2. Debe producir un sellado hermético.
3. Debe ser radiopaco para poder observarse radiográficamente.
4. Debe poseer partículas finas de polvo que se mezclen fácilmente con el líquido.
5. No debe contraerse al fraguar.

6. No debe pigmentar la estructura dentaria.
7. Debe ser bacteriostático, o por lo menos no favorecer la reproducción de bacterias.
8. Debe fraguar con lentitud para permitir un tiempo de trabajo adecuado para la colocación del material de obturación.
9. Debe ser insoluble en fluidos bucales.
10. Debe ser bien tolerado por los tejidos periapicales.
11. Debe ser soluble en un solvente común para retirarlo del conducto radicular si fuese necesario.

En la actualidad existen diferentes tipos de cementos selladores: selladores a base de óxido de zinc y eugenol, selladores a base de hidróxido de calcio, selladores a base de fosfato de calcio, selladores a base de ionómeros vidrios, selladores a base de resinas, selladores a base de siliconas y selladores biocerámicos (a base de silicato de calcio) estos últimos han demostrado tener características de biocompatible así como excelentes propiedades tanto físicas como químicas (26).

### **Cementos selladores a base de óxido de zinc-eugenol (ZOE).**

El vehículo de la mezcla para estos materiales es el eugenol. El polvo contiene óxido de zinc en finas partículas para incrementar la fluidez del cemento, es radiopaco y el tiempo de manipulación se ajusta para permitir un adecuado tiempo de trabajo. Estos cementos admiten a la adición de sustancias químicas, por ejemplo, el paraformaldehído por su efecto antimicrobiano, los germicidas por su acción antiséptica y los corticosteroides contra las reacciones inflamatorias. Sin embargo, los selladores que poseen un efecto antiséptico producen irritación moderada a severa en los tejidos periapicales por lo que su uso debe ser considerado cuidadosamente (2,3).

### **Cementos selladores a base de hidróxido de calcio**

Estos selladores se promocionan por ejercer un efecto terapéutico debido a su contenido de hidróxido de calcio. Sin embargo, para que el hidróxido de calcio sea eficaz, debe disociarse en ion  $\text{Ca}^{2+}$  e ion  $\text{OH}^-$ , esto genera la preocupación de que se disuelva el contenido sólido del sellador y deje espacios en la obturación, debilitando por tanto, el sellado del conducto radicular, entre los cementos a base de hidróxido de calcio se encuentran Sealapex, Apexit y Apexit Plus (2,3).

### **Cementos selladores a base de resina**

Los cementos selladores a base de resina han sido introducidos en la práctica endodóntica por sus características favorables tales como la adhesión a la estructura dentaria, el largo tiempo de trabajo, la facilidad de manipulación y el buen sellado. también se ha demostrado que nunca se reabsorbe completamente en el caso de extrusión apical. Se ha encontrado que tanto los selladores a base de ZOE como los a base de resina son citotóxicos para los tejidos, especialmente cuando se comparan con los selladores biocerámicos (27). Entre los cementos selladores a base de resina se encuentran el AH Plus, AH26, Top Seal (3).

### **Cementos selladores de ionómero de vidrio**

Entre las ventajas de este material se mencionan la adhesión a la dentina, por lo que se adapta a las paredes del conducto, radioopacidad similar al del cemento de Grossman, contracción mínima, excelente estabilidad dimensional, buen sellado y escasa irritación tisular. Sin embargo, su principal desventaja es la dificultad de ser retirado del conducto radicular en caso de ser necesario un retratamiento, ya que hasta ahora no se conoce solvente alguno para los ionómeros de vidrio, algunos de ellos son El Ketac-Endo, Activ GP (3).

### **Cementos selladores biocerámicos**

Los materiales biocerámicos son cerámicas biocompatibles adecuadas para su uso en el cuerpo humano tanto en el área médica como en la odontológica ya que estos cumplen una determinada función fisiológica en el cuerpo humano, que es la base fundamental de un material biocompatible (28).

Se clasifican como:

1. Bioinerte: no interactúan con los sistemas biológicos.
2. Bioactivo: pueden sufrir interacciones con el tejido circundante.
3. Biodegradable, soluble o reabsorbible: materiales que podrían reemplazar o incorporarse en los tejidos.

Los materiales basados en biocerámica se introdujeron en la endodoncia en la década de 1990, primero como materiales de relleno retrógrados y luego como cementos selladores de conductos radiculares. Las ventajas potenciales de los materiales biocerámicos en endodoncia están relacionadas con sus propiedades físico-químicas y biológicas. Los biocerámicos son biocompatibles, no tóxicos, no sufren contracción de fraguado; todo lo contrario, tienen una expansión de 0.002 mm y no se reabsorben. y, por lo general, químicamente estables en el entorno biológico. Una ventaja adicional de estos materiales es su capacidad para formar hidroxiapatita durante el proceso de fraguado y, en última instancia, crear una unión entre la dentina y el material de obturación (28). Presentan además un pH muy alcalino 12.9 que aumenta sus propiedades bactericidas durante las primeras 24 horas de fraguado (elevada actividad antibacteriana). Son fáciles de usar, ya que poseen un tamaño de partícula menor a 2  $\mu$ , lo que permite ser usados en una jeringa premezclada (puede ser usado con "capillarytips" de 0.12 mm de diámetro u otras) (26).

En un estudio realizado por Giacomino y colaboradores donde compararon en líneas celulares de osteoblasto el potencial osteogénico de los cementos biocerámicos EndoSequence BC Sealer y ProRoot ES, en comparación con los selladores Roth y

AH Plus. Observaron que EndoSequence BC Sealer y ProRoot ES fueron significativamente más biocompatibles y promovieron la diferenciación osteoblástica, una bioactividad que no se encuentra en los selladores AH Plus y Roth (27) .

### **Mecanismo de acción de los cementos selladores biocerámicos**

Los cementos biocerámicos comparten una reacción de fraguado común, en que los silicatos de calcio del polvo al hidratarse forman un gel de silicato de calcio e hidróxido de calcio. Posteriormente el agua reacciona con los silicatos de calcio, para que estos precipiten generando un hidrato-silicato de calcio, generándose finalmente un precipitado de Hidroxiapatita. Durante este proceso, el agua juega un papel fundamental en el control del nivel de hidratación y el fraguado del material (29).

Además son hidrofílicos, fraguan sólo ante la exposición a un ambiente húmedo, humedad que es proporcionada por los túbulos dentinarios, así como también al contener la dentina un 20% de agua en relación a su volumen, esta agua sería la que inicia el proceso de fraguado del cemento y la consecuente formación de hidroxiapatita (26).

Algunos cementos selladores biocerámicos son: EdgeBioceramic Sealer, EndoSequence BC Sealer y BioRoot RCS.

De interés para este estudio es el cemento sellador EdgeBioceramic Sealer, a continuación, se describen algunas características.

### **EdgeBioCeramic sealer**

El cemento sellador EdgeBioCeramic Sealer presenta una fórmula única biocerámica sin resina que lo hace altamente biocompatible e hidrófilo ya que libera activamente iones de  $\text{Ca}^{2+}$  (Figura 11). A diferencia de los cementos selladores convencionales, EdgeBioceramic Sealer no se contrae y, por lo tanto, no es necesario compactar la gutapercha, es suficiente con cubrir las paredes del conducto con el cemento y colocar el cono de gutapercha a longitud de trabajo (30). El tamaño de partícula pequeño y la

naturaleza hidrófila de EdgeBioCeramic Sealer permiten que fluya fácilmente hacia las irregularidades del conducto. Este material cuenta con una alta fuerza de adhesión, forma un cierre hermético, es antibacteriano por su alcalinidad (pH 12). En comparación con los selladores convencionales, tiene propiedades antibacterianas superiores. Además, EdgeBioCeramic Sealer posee un flujo ideal, que es consistente con la norma ISO 6786 / 2001 (30).



**Figura 11.** Presentación comercial del cemento sellador EdgeBioCeramic Sealer.

**Este cemento viene en una jeringa con un contenido de 2 g, la formula ya viene premezclada y contiene sus propias puntas de aplicación.**

El cemento EdgeBioCeramic Sealer está compuesto por silicato tricálcico, óxido de zirconio, silicato dicálcico e hidróxido de calcio. No se requiere mezclar, el sellador puede aplicarse inmediatamente e introducirse directamente en el conducto radicular. El tiempo de trabajo puede ser de más de 4 horas a temperatura ambiente. El tiempo de fraguado es de 4 horas, sin embargo, en conductos radiculares muy secos el tiempo de fraguado puede llegar a completarse en un lapso de hasta de más de 10 horas; reduciéndose así la probabilidad de recolonización bacteriana del conducto radicular (30).

### **Obturación del conducto radicular**

La obturación de los conductos radiculares constituye la última fase del tratamiento de conductos. Aunque se le debe otorgar la misma importancia que todas las otras fases, se le ha concedido un papel relevante ya que involucra el sellado permanente del sistema de conductos radiculares. La finalidad básica de la obturación de los conductos consiste en aislarlos por completo del resto del organismo, para mantener los resultados de su preparación (2). La obturación previene la filtración coronal y la contaminación bacteriana, y sella el ápice con respecto a los fluidos tisulares periapicales y a los irritantes que permanecen en el conducto radicular (3).

La gutapercha es el principal material usado para la obturación de los conductos radiculares desde su introducción por Bowman en 1867. Se trata de un polímero orgánico natural (poliisopreno). Las diferentes formas estereoquímicas de la gutapercha le confieren propiedades distintas, aunque su composición química sea la misma. De las distintas formas existentes, en endodoncia se utilizan la  $\beta$  y la  $\alpha$  (2).

La mayoría de las técnicas de obturación emplean un núcleo central (gutapercha) y un cemento sellador. Con independencia del núcleo central, el uso de un cemento sellador es esencial en todas las técnicas para lograr la impermeabilidad a los fluidos y para conseguir un sellado adecuado del sistema de conductos radiculares (3).

Hasta ahora hay pocas pruebas que confirmen que un método de obturación es mejor que otro y aún debe determinarse la influencia de la técnica de tratamiento en el éxito/fracaso. Diversos estudios sugieren que la compactación vertical caliente puede ser superior a la lateral, aunque no hay pruebas definitivas (3).

En la actualidad existen diversas técnicas de obturación, entre ellas destacan las técnicas de: compactación lateral, compactación vertical caliente, compactación con ola continua, compactación lateral en caliente, inyección termoplástica, gutapercha basada en un transportador y técnica de cono único (3). A continuación, se describe la técnica de obturación de cono único, técnica de interés para este estudio.

### Técnica de obturación de cono único

La técnica de cono único es una técnica que utiliza apenas un cono principal o maestro que puede tener diferentes conicidades (Figura 12), y que a lo largo de los años fue retomando su popularidad debido a la capacidad de adaptarse mejor a la conformación de los sistemas rotatorios de níquel-titanio (Ni-Ti) sin la necesidad de usar conos accesorios, reduciendo así el tiempo de trabajo, permitiendo una obturación más fácil y rápida, disminuyendo tanto la fatiga del paciente como la del operador. En relación con la calidad de la obturación, la microfiltración apical y la penetración de bacterias, esta técnica es semejante a las otras técnicas existentes (31). Taşdemir y colaboradores compararon la capacidad de sellado de tres técnicas de obturación: cono único, condensación lateral y condensación vertical caliente, en 80 premolares mandibulares en conductos instrumentados por dos sistemas rotatorios diferentes; ProTaper y Mtwo, por medio de infiltración bacteriana. En las tres técnicas se utilizó el cemento endodóntico AH Plus. Los resultados mostraron que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos evaluados. Los autores concluyeron que las obturaciones realizadas con la técnica de cono único, condensación lateral y condensación lateral tibia mostraron niveles similares de eficacia de sellado, independiente de la técnica de instrumentación empleada (32).



**Figura 12.** Obturación con técnica de cono único.

**Imagen representativa de un conducto radicular relleno de gutapercha obturado con la técnica de cono único, observado en un estereomicroscopio digital con un aumento de 25x.**

Los cementos Biocerámicos (BC) son bien utilizados en técnicas de cono único ya que la capacidad de flujo es superior y la capacidad de expansión permite un mejor sellado dentro de la anatomía de los conductos radiculares que de otra manera es inaccesible (33).

### **Penetración del cemento sellador en los túbulos dentinarios**

Los cementos selladores endodónticos se utilizan junto con un material de relleno o núcleo (gutapercha) para lograr un sellado impermeable entre el material, núcleo y la pared del conducto radicular (34). Se puede considerar como una medida del rendimiento de un cemento sellador su capacidad para penetrar en los túbulos dentinarios (35). La penetración de los selladores endodónticos en los túbulos dentinarios se considera un resultado deseable porque disminuye la interfaz entre el material del núcleo y la dentina, mejora la capacidad de sellado y la retención del núcleo mediante bloqueo mecánico (34). De-Deus y colaboradores no encontraron correlación entre la penetración del sellador y la capacidad de sellado de los materiales de obturación, aunque la penetración del sellador hacia los túbulos dentinarios puede constituir una barrera física para bloquear la entrada de microorganismos (35). Además, una penetración profunda del sellador promueve mayor eliminación de bacterias dado que de esta forma puede ejercer sus propiedades antibacterianas en sitios de difícil acceso, y en el caso de que persistan bacterias viables dentro de los túbulos dentinarios, aislarlas de posibles fuentes de nutrientes (34).

Tanto el microscopio de fluorescencia confocal como el microscopio electrónico de barrido son herramientas que pudieran ser utilizadas para medir la capacidad de penetración de un cemento sellador dentro de los túbulos dentinarios. Sin embargo, la microscopía de fluorescencia confocal tiene la ventaja de proporcionar información detallada sobre la presencia y distribución de selladores o adhesivos dentales dentro de los túbulos dentinarios en la circunferencia total de las paredes del conducto radicular. Lo anterior es posible gracias a la detección de colorantes fluorescentes que son cargados a los sistema de interés (selladores, adhesivos, etc.) previo a la caracterización (Figura 13Figura 14) (36).

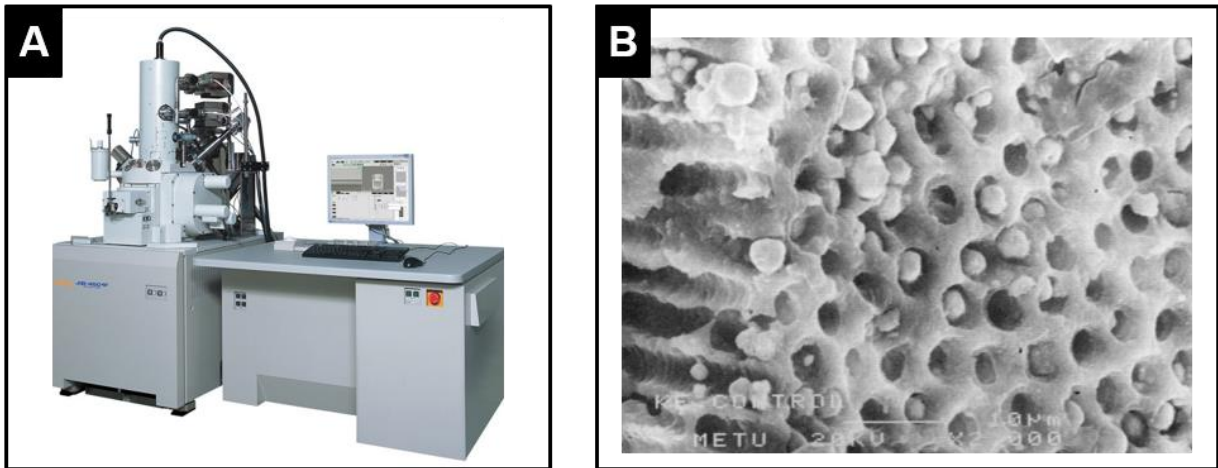


Figura 13. Microscopio electrónico de barrido.

(A) Imagen física de un microscopio electrónico de barrido (SEM). (B) Micrografía SEM que muestra la penetración en los túbulos dentinarios del cemento sellador Ketac Endo. (2000x).



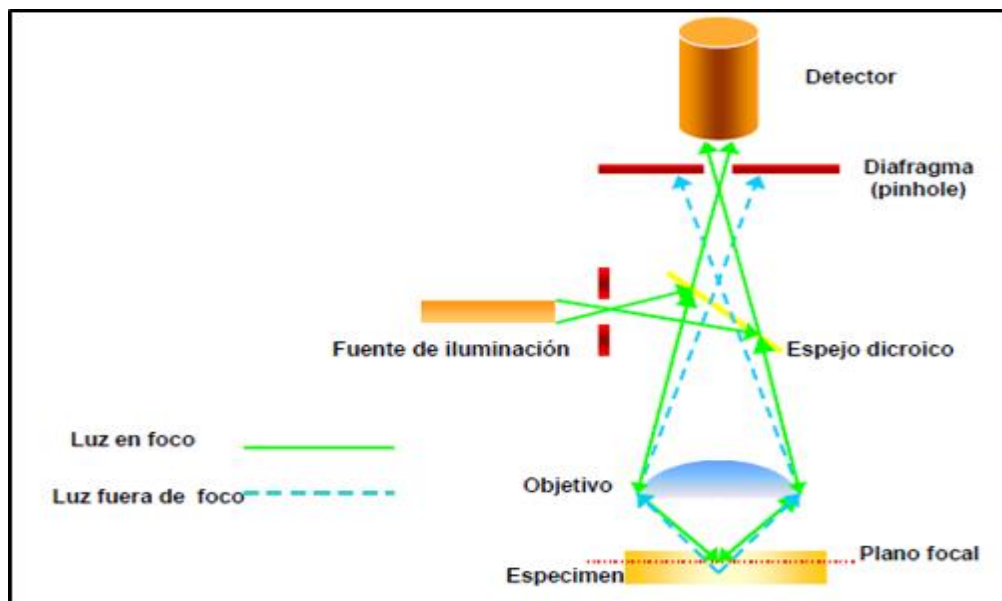
Figura 14. Microscopio de fluorescencia confocal.

En esta imagen observamos, (A) Microscopio de fluorescencia confocal. (B) Penetración en los túbulos dentinarios del cemento sellador cargado con rodamina B.

## Microscopía de fluorescencia confocal (CLSM)

El desarrollo de la microscopía confocal surgió hace más de 50 años con la generación de un primer aparato diseñado por Marvin L. Minsky en 1957. Sin embargo, pasarían todavía 30 años antes de que la microscopía confocal empezara a usarse en las ciencias biológicas (37). Su éxito se debe a las indudables ventajas que ofrece frente a la microscopía óptica tradicional (imágenes de mayor nitidez y contraste, mayor resolución vertical y horizontal, etc.) y sobre todo a la posibilidad de obtener "secciones ópticas" de la muestra, lo que permite su estudio tridimensional (38).

El principio de la microscopía de fluorescencia confocal se basa en eliminar la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco. Para ello se ilumina una pequeña zona de la muestra y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose los haces procedentes de los planos inferiores y superiores (Figura 15) (38).



**Figura 15.** Esquema del principio de la microscopía confocal.

El principio del funcionamiento del microscopio de fluorescencia confocal se basa en la existencia de dos diafragmas (pinhole), uno entre la fuente de luz y el objetivo y el otro entre el objetivo y el detector. Ambos pinhole deben de estar perfectamente alineados de forma que el segundo de ellos únicamente deje llegar al detector la luz procedente del plano focal.

### Bases instrumentales de la microscopía de fluorescencia confocal

Parte de la luz procedente de la fuente de iluminación atraviesa un primer diafragma, esta es reflejada mediante un espejo dicróico y se enfoca en un punto del espécimen mediante la lente de un objetivo. La señal emitida por el punto iluminado (fluorescencia) vuelve por el mismo camino óptico, pasa a través del espejo dicróico y es enfocada en un detector. Posteriormente, un segundo diafragma o *pinhole* es colocado delante del detector para eliminar las señales procedentes de la zona fuera de foco (Figura 15) (38).

El principio del funcionamiento del microscopio de fluorescencia confocal se basa en la existencia de dos diafragmas (*pinhole*), uno entre la fuente de luz y el objetivo y el otro entre el objetivo y el detector. Ambos *pinhole* deben de estar perfectamente alineados de forma que el segundo de ellos únicamente deje llegar al detector la luz procedente del plano focal (38).

La utilización de un láser como fuente de luz permite focalizar la iluminación en una región muy pequeña de la muestra y con una gran intensidad. Dado que sólo se ilumina una pequeña zona de la muestra (punto focal), para poder visualizarla se necesita un sistema de barrido que permita muestrear todos los puntos y un sistema de formación de la imagen donde se recoja la información de cada uno de estos puntos. El sistema de barrido puede ser de dos tipos: i) beam scanning (el haz del láser se desplaza por la muestra) y ii) stage scanning (la muestra se desplaza mientras el haz permanece inmóvil). El beam scanning es el más utilizado, tiene la ventaja de una mayor velocidad de barrido y por tanto de formación de la imagen, además el espécimen no necesita ser movido durante el muestreo. El sistema stage scanning presenta como principal ventaja el permitir la observación de una zona tan grande como se desee sin tener que ceñirse al campo visual del objetivo (38).

La fluorescencia emitida por la muestra (que se recoge como luz reflejada) es recogida en un fotomultiplicador donde se transforma en una señal de vídeo que se digitaliza y almacena en un ordenador, visualizándose a través de un monitor (38).

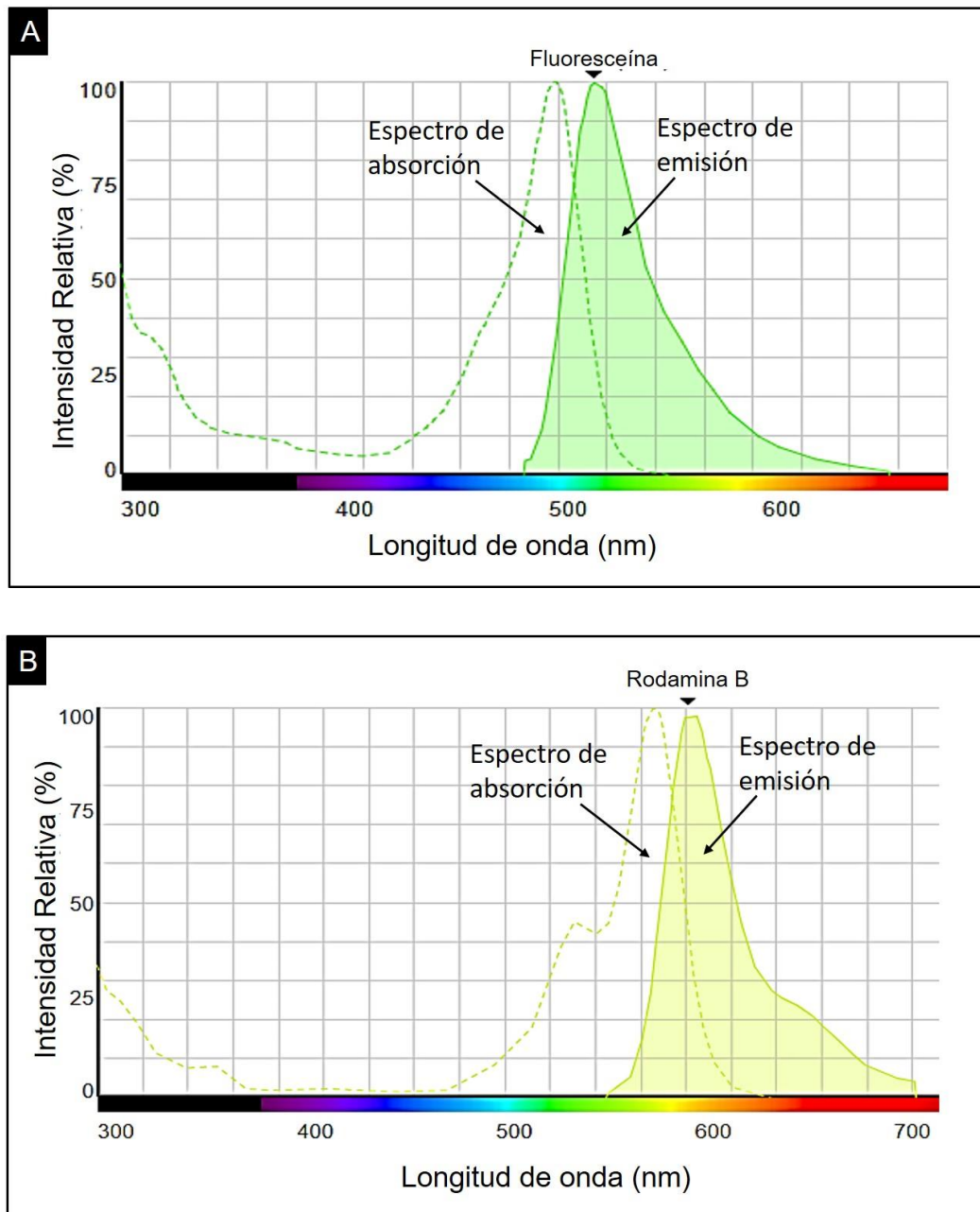
El método de trabajo del microscopio de fluorescencia confocal combina un fenómeno de la luz con una técnica de imagen de alta eficiencia: la emisión de fluorescencia y la eliminación. La fluorescencia es un fenómeno óptico que presentan cierto tipo de materiales (denominados fluorescentes) que al ser iluminados con una longitud de onda específica, emiten luz en una longitud de onda superior (aunque de menor energía). En lo que se refiere a la eliminación, esto significa que la fuente de iluminación y el lente que colecta la luz resultante del experimento están ubicados en el mismo lugar con respecto a la muestra (ya sea por arriba o por debajo de ella), de manera tal que lo que se recoge es únicamente la luz que refleja el material después de su iluminación (38).

### **La fluorescencia.**

Se denomina fluorescencia a la propiedad que tienen ciertas moléculas de absorber luz de una determinada longitud de onda y emitirla en una longitud de onda superior. La fluorescencia puede darse de forma natural en determinadas sustancias (clorofila, algunos tejidos frescos, entre otros.), denominándose fluorescencia primaria o autofluorescencia. En otros casos para que la muestra que se desea observar tenga fluorescencia es preciso teñirla con un marcador fluorescente, denominado fluorocromo. En este caso hablaríamos de fluorescencia secundaria (38).

Todos los fluorocromos se caracterizan por tener un espectro de excitación y un espectro de emisión. El espectro de excitación es el intervalo de longitudes de onda en las que un fluorocromo absorbe luz, o lo que es lo mismo es excitado. El espectro de emisión es el intervalo de longitudes de onda en las que un fluorocromo emite luz. Ambos espectros presentan dos picos que se corresponden con la máxima absorción y la máxima emisión, respectivamente ([Figura 16](#)) (38). Estos máximos son a los que preferentemente se debe excitar y recoger la luz para obtener resultados óptimos del experimento. Para los materiales que presentan autofluorescencia, estos espectros, y en particular los máximos, deben ser obtenidos experimentalmente por las técnicas de espectroscopia de UV-Vis y espectroscopia de fluorescencia, respectivamente. Para

el caso de los fluorocromos comerciales, ambas longitudes de onda (máximos) son especificadas por el fabricante (39).



**Figura 16.** Espectro de absorción y de emisión de dos Fluorocromos.

**(A)** Rodamina B, los máximos de absorción 573 y 591 nm, respectivamente. **(B)** Fluoresceína, los máximos de absorción y emisión se ubican a 496 y 515 nm respectivamente.

### **Funcionamiento del microscopio confocal**

En la [Figura 17](#) se muestra el esquema de un microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 y su funcionamiento se detalla a continuación. De las distintas líneas de láser que tiene el equipo el selector de excitación AOTF nos permite seleccionar la que deseamos utilizar, el haz del láser atraviesa un filtro óptico acústico AOBS y atravesando el objetivo, ilumina un punto de la muestra. Un conjunto de espejos galvanométricos permite desplazar el láser por toda la zona de la muestra (beam scanning). La señal luminosa emitida vuelve por el mismo camino óptico, atraviesa el filtro AOBS siguiendo un camino distinto al del haz incidente y llega a un sistema de detección espectral donde es dividida por un prisma en función de sus longitudes de onda. Un diafragma delante del detector espectral permite seleccionar la luz procedente del plano focal. Esta luz incide en un fotomultiplicador donde es transformada en una señal eléctrica que se digitaliza mediante un convertidor analógico digital y se almacena en un ordenador. La imagen del espécimen es visualizada como luz monocromática en la pantalla del ordenador a medida que el láser barre toda la zona de muestra. Una vez construida la imagen, con la ayuda de un software se le asigna el color que le corresponde considerando el canal en el que la luz fue recogida. Como ha sido mencionado, la región del espectro donde se recoge la luz deberá coincidir con el máximo de emisión del fluorocromo estudiado (38).

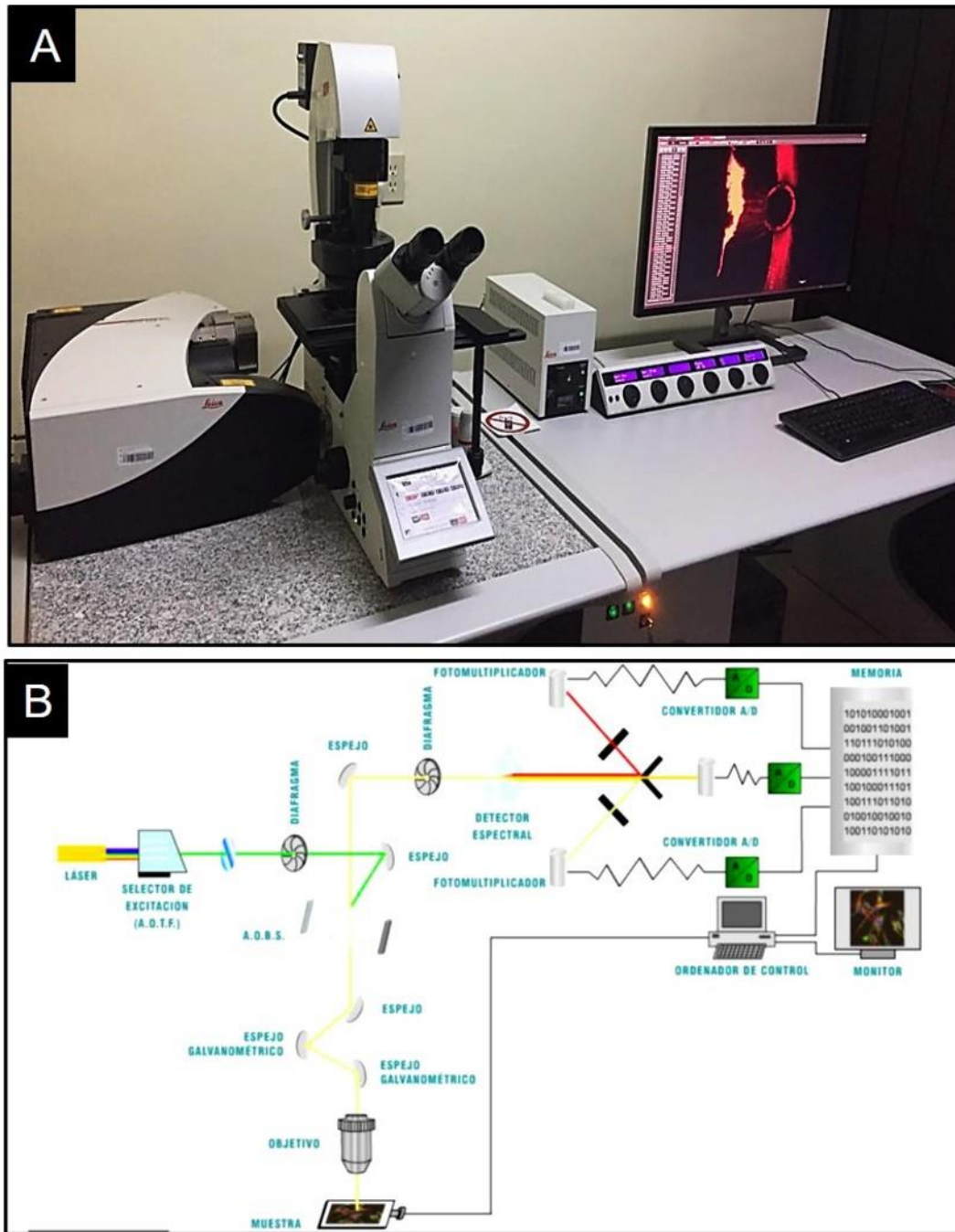


Figura 17. Microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 y su esquema básico de su funcionamiento.

La imagen (A) muestra un microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 y la imagen (B) muestra su funcionamiento básico.

## **JUSTIFICACIÓN**

La medicación intraconducto con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  previa a la obturación del sistema de conductos es un procedimiento reconocido como favorable para la erradicación de bacterias resistentes al proceso de instrumentación químico-mecánico. Sin embargo, la generación de residuos de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  derivados de la medicación puede reducir e incluso bloquear la penetración del cemento sellador hacia los túbulos dentinarios, dando como resultado una probabilidad alta de fracaso del tratamiento endodóntico.

Considerando lo anterior, resulta imprescindible evaluar el porcentaje y profundidad de penetración de cualquier cemento sellador de interés, en particular si se trata de uno de reciente lanzamiento al mercado. En el presente estudio se propone la caracterización *in vitro* por microscopia de fluorescencia confocal de la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios después de la medicación intraconducto con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . El cemento EdgeBioceramic Sealer es nuevo en el mercado; por lo tanto, la información obtenida a partir de este proyecto puede ser de interés clínico y tecnológico para estudios posteriores.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

En el presente proyecto se plantea la caracterización *in vitro* de la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios después de la medicación intraconducto con  $\text{Ca(OH)}_2$ , a nivel apical, medio y cervical.

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis de trabajo**

La caracterización por microscopía de fluorescencia confocal planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar de manera cuantitativa diferencias -si las hay- en la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer en los túbulos dentinarios de órganos dentarios con y sin medicación intraconducto previa, a nivel apical, media y cervical.

### **Hipótesis nula (H0)**

No se encontrará diferencia estadísticamente significativa (con un nivel de confianza del 95%) al comparar la efectividad de penetración del cemento sellador en ninguno de los siguientes criterios: i) profundidad de penetración con y sin medicación previa en función de los tres tercios, ii) porcentaje de penetración con y sin medicación previa en función de los tres tercios, iii) profundidad de penetración para cada tercio en función del tratamiento previo y iv) porcentaje de penetración para cada tercio en función del tratamiento previo.

### **Hipótesis alternativa (H1)**

Se encontrará diferencia estadísticamente significativa (con un nivel de confianza del 95%) al comparar la efectividad de penetración del cemento sellador en al menos uno de los siguientes criterios: i) profundidad de penetración con y sin medicación previa en función de los tres tercios, ii) porcentaje de penetración con y sin medicación previa en función de los tres tercios, iii) profundidad de penetración para cada tercio en función del tratamiento previo y iv) porcentaje de penetración para cada tercio en función del tratamiento previo.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

El objetivo general de este proyecto es caracterizar por ensayos *in vitro* de microscopía de fluorescencia confocal la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios de órganos dentarios con y sin medicación intraconducto previa con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , a nivel apical, media y cervical.

### **Objetivos específicos**

La caracterización por microscopía de fluorescencia confocal planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar de manera cuantitativa diferencias -si las hay- en la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer en los túbulos dentinarios de órganos dentarios con y sin medicación intraconducto previa, a nivel apical, media y cervical.

1. Evaluar por ensayos *in vitro* de microscopía de fluorescencia confocal el porcentaje de penetración hacia túbulos dentinarios de órganos dentarios con y sin medicación intraconducto previa, a nivel apical, media y cervical.
2. Evaluar por ensayos *in vitro* de microscopía de fluorescencia confocal la profundidad de penetración hacia túbulos dentinarios de órganos dentarios con y sin medicación intraconducto previa, a nivel apical, media y cervical.
3. Llevar a cabo análisis estadísticos de los resultados obtenidos empleando el método ANOVA de dos factores en conjunto con el método Post-hoc Tukey.
4. A partir de los análisis estadísticos, confirmar la validez de una de las dos hipótesis planteadas ( $H_0$  o  $H_1$ ).

## **VARIABLES**

### **Variables independientes**

- Condiciones de tratamiento previo a la obturación: con y sin medicación con  $\text{Ca(OH)}_2$ .
- Tercio apical, medio y cervical

### **Variable dependiente**

- 1.- Profundidad de penetración del cemento a los túbulos dentinarios.
- 2.- Porcentaje de penetración del cemento a los túbulos dentinarios.

### **Operación de variables**

Se determinará si hay diferencia estadísticamente significativa en la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador objeto de estudio hacia los túbulos dentinarios de órganos dentarios con y sin medicación intraconducto con  $\text{Ca(OH)}_2$  previa a la obturación, a nivel apical, medio y cervical. Estos parámetros serán evaluados de manera cuantitativa por microscopia de fluorescencia confocal. Para ello, se llevarán a cabo dos comparaciones cruzadas: una en la que se evaluará la extensión de cada parámetro (profundidad y porcentaje de penetración) para cada condición de tratamiento previo a la obturación en función de cada tercio y otra en la que se evaluará la extensión de cada parámetro para cada tercio en función del tratamiento previo a la obturación.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Tipo de estudio**

Experimental

### **Universo de estudio**

Cemento sellador EdgeBioceramic Sealer y medicación intraconducto con  $\text{Ca(OH)}_2$ , se utilizaron un total de 10 órganos dental para cada grupo: Grupo 1.- Colocación de  $\text{Ca(OH)}_2$  antes de la obturación definitiva [ $\text{Ca(OH)}_2$  + EdgeBioceramic Sealer]. Grupo 2.- Obturado con EdgeBioceramic Sealer. Seccionados a los niveles apical, medio y cervical (en total 30 muestras por cada grupo). Como blanco de comparación se estudiaron 4 órganos dentales tratados con Rodamina B y Fluoresceína en solución acuosa, seccionados a los niveles apical, medio y cervical (en total 12 muestras). Para el estudio de SEM se utilizaron 2 muestras.

### **Criterios de inclusión**

- Dientes humanos permanentes de reciente extracción.
- Dientes incisivos mandibulares.
- Dientes con 1 conducto.
- Dientes con ápice maduro.

### **Criterios de exclusion**

- Dientes con conductos calcificados.
- Dientes con resorción interna y externa.
- Dientes con curvaturas apicales.
- Dientes con microfracturas.

- Dientes con grietas o fracturas a lo largo de la raíz.
- Dientes con caries.

### **Criterios de eliminación**

- Dientes con obturación deficiente.
- Dientes con instrumentos separados.
- Dientes con fractura radicular.

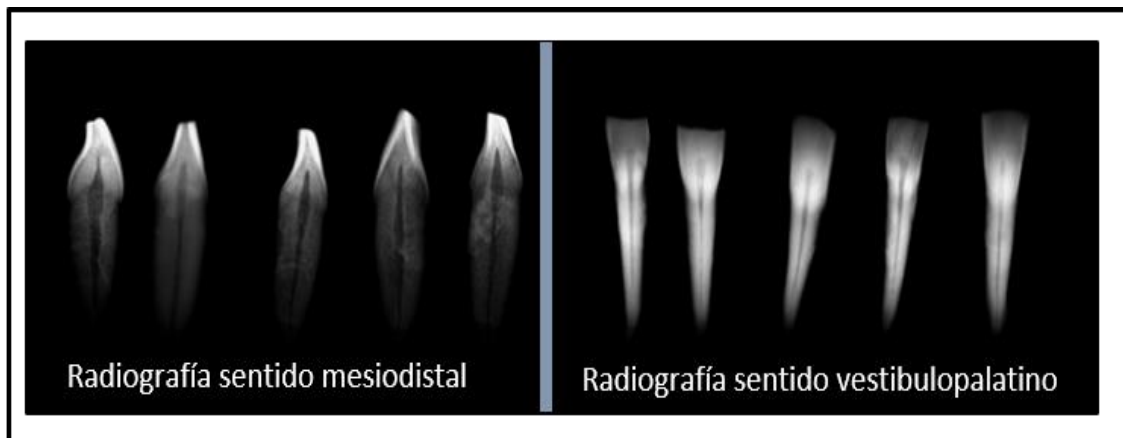
### **Metodología**

Se usaron 26 dientes incisivos mandibulares de reciente extracción. El cemento sellador es de origen comercial EdgeBioCeramic™ Sealer (EDGEENDO). La Rodamina B y la fluoresceína fueron adquirida de Sigma- Aldrich (St. Louis, MO, USA). Hidróxido de calcio en polvo (Viadent). Las limas manuales #10, #15 y #20 tipo K fueron de la marca SybronEndo (Orange, CA) y las limas rotatorias #30/04 Edge Sequel Sapphire fueron obtenidas de Edge Endo (Albuquerque, Nuevo México, USA). El motor endodóntico que se uso fue X-Smart (Dentsply Maillefer). Los conos de gutapercha 30/04 y puntas de papel #30 fueron de la marca Hygenic, Coltene (Langenau, Alemania). Como irrigantes se usaron una solución acuosa de hipoclorito de sodio al 5.25% de la marca Cloralex (Monterrey, México); una solución acuosa de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) al 17% SmearClear de SybronEndo (Orange, CA) y solución salina de la marca PISA (Jalisco, México). Las agujas con salida lateral calibre 30 para irrigación fueron de Ultradent (South Jordan, UT); EndoActivator (Dentsply Tulsa Especialidades Dentales, Tulsa, OK). Usamos Cavit G de 3M ESPE (St. Paul, MN), resina de ortodoncia Enlight Ormco (Orange, CA) y un mechero marca Eagle (China). El radiovisógrafo Carestream de la marca Kodak (Rochester, NY, USA) se utilizó para verificar la correcta obturación. Para el seccionamiento de las muestras se utilizó un Micromotor MDC III (Jalisco, México); un disco de diamante C01/220 de 0.30 mm MDC (Jalisco, México) y lijas de agua granos #400, #500, #600, #1000 y #2000 de Comex (México D.F., México). Se empleó un microscopio de fluorescencia

confocal TCS SP8 marca Leica (Mannheim, Alemania). Para pesar cada cemento sellador y la Rodamina B se utilizó una microbalanza de precisión Ohaus (Parsippany, NJ, USA). El fraguado de las muestras se llevó a cabo en el interior de una incubadora VWR Symphony (West Chester, USA). La experimentación se llevó a cabo empleando agua destilada. Análisis Estadístico

### Preparación de las muestras

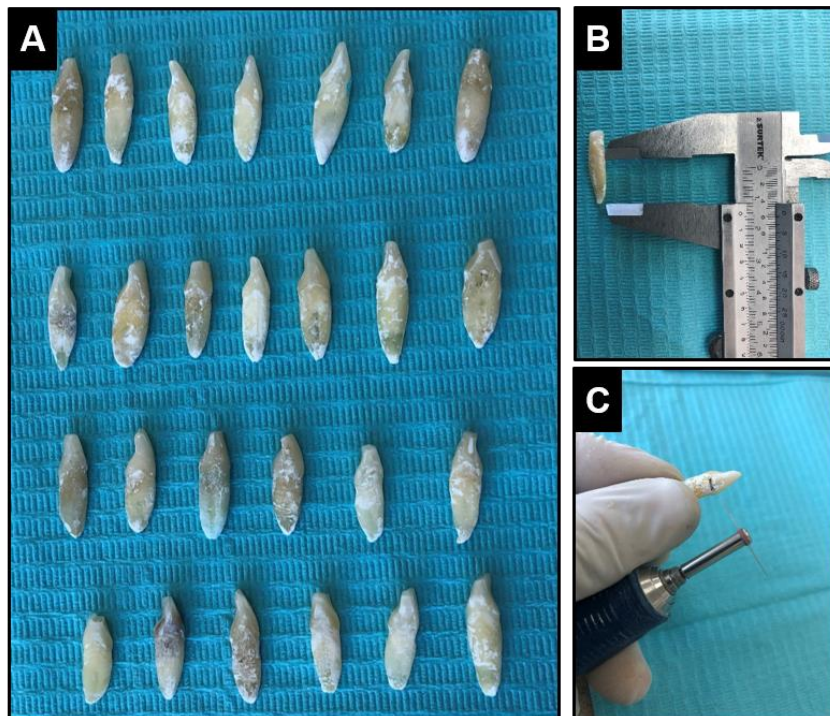
Para este estudio fueron utilizados un total de 24 incisivos mandibulares humanos de reciente extracción, se desconocen los motivos por los cuales fueron extraídos estos órganos dentales. Los dientes se sumergieron durante 48 horas en 3.0% NaOCl para eliminar los desechos orgánicos. Posteriormente, se eliminó el sarro de las superficies de la raíz de cada muestra con instrumentos ultrasónicos, se lavaron con agua destilada para la eliminación de cualquier cálculo o tejido blando de la superficie de la raíz (16). Se tomaron radiografías a cada una de las muestras en sentido mesiodistal y bucolingual con la finalidad de observar que todas tuvieran un solo conducto radicular (Figura 18).



**Figura 18.** Imágenes radiográficas de incisivos mandibulares en sentido mesiodistal y vestibulopalatino.

A través de las radiografías se verificó la presencia de un solo conducto. Las radiografías fueron tomadas empleando un radiovisógrafo Kodac.

Las 24 muestras seleccionadas según los criterios de inclusión fueron estandarizadas a una longitud de 14 milímetros, cada muestra fue medida con un vernier desde la punta de su ápice hasta alcanzar dicha longitud donde se realizaron los cortes con un disco de diamante en un micromotor, el corte coincidió aproximadamente con la zona anatómica amelocementaria (cuello anatómico) (Figura 19). Posterior a la estandarización se hizo la permeabilidad del conducto radicular con una lima # 10 y se procedió a la toma de WL, esta se obtuvo sobrepasando el foramen apical visiblemente y retrocediendo 1 mm. El siguiente paso fue la instrumentación, esta se llevó a cabo inicialmente con instrumentos manuales hasta alcanzar un diámetro #.20 mm para posteriormente utilizar el sistema rotatorio de Edge Sequel Sapphire hasta la lima 30/04 usando un motor X-Smart operando a 500 rpm y 410 g cm de torque (40).

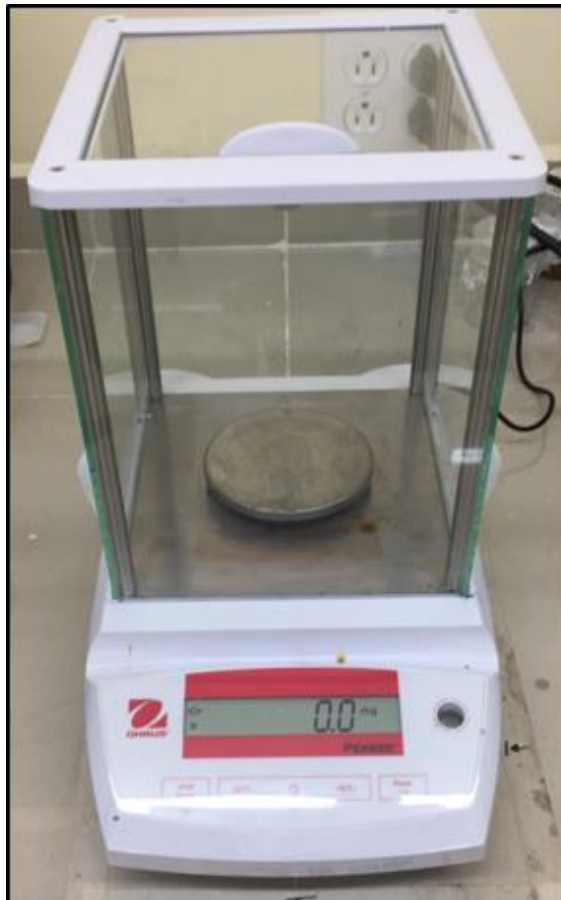


**Figura 19.** Preparación de las muestras.

Imágenes ilustrativas de la preparación de las muestras. (A) muestras seleccionadas y desinfectadas, (B) las muestras se midieron con un vernier para su estandarización, (C) el corte de cada muestra se realizó con micromotor y un disco de diamante.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se utilizó una jeringa de plástico hipodérmica de 10 ml con aguja de salida lateral #30 para realizar el protocolo de irrigación, entre cada instrumento se utilizaron 2 ml de NaOCl al 5.25%, al finalizar la instrumentación se realizó una irrigación con 5 ml de EDTA al 17% durante 3 min. después transcurrido este tiempo se retiró el EDTA con una irrigación copiosa de solución salina para después almacenar las muestras en agua destilada. De las 24 muestras seleccionadas e instrumentadas se formaron 3 grupos: 10 muestras para el grupo  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  + EdgeBioceramic Sealer, 10 muestras para el grupo EdgeBioceramic Sealer y 4 para grupo control.

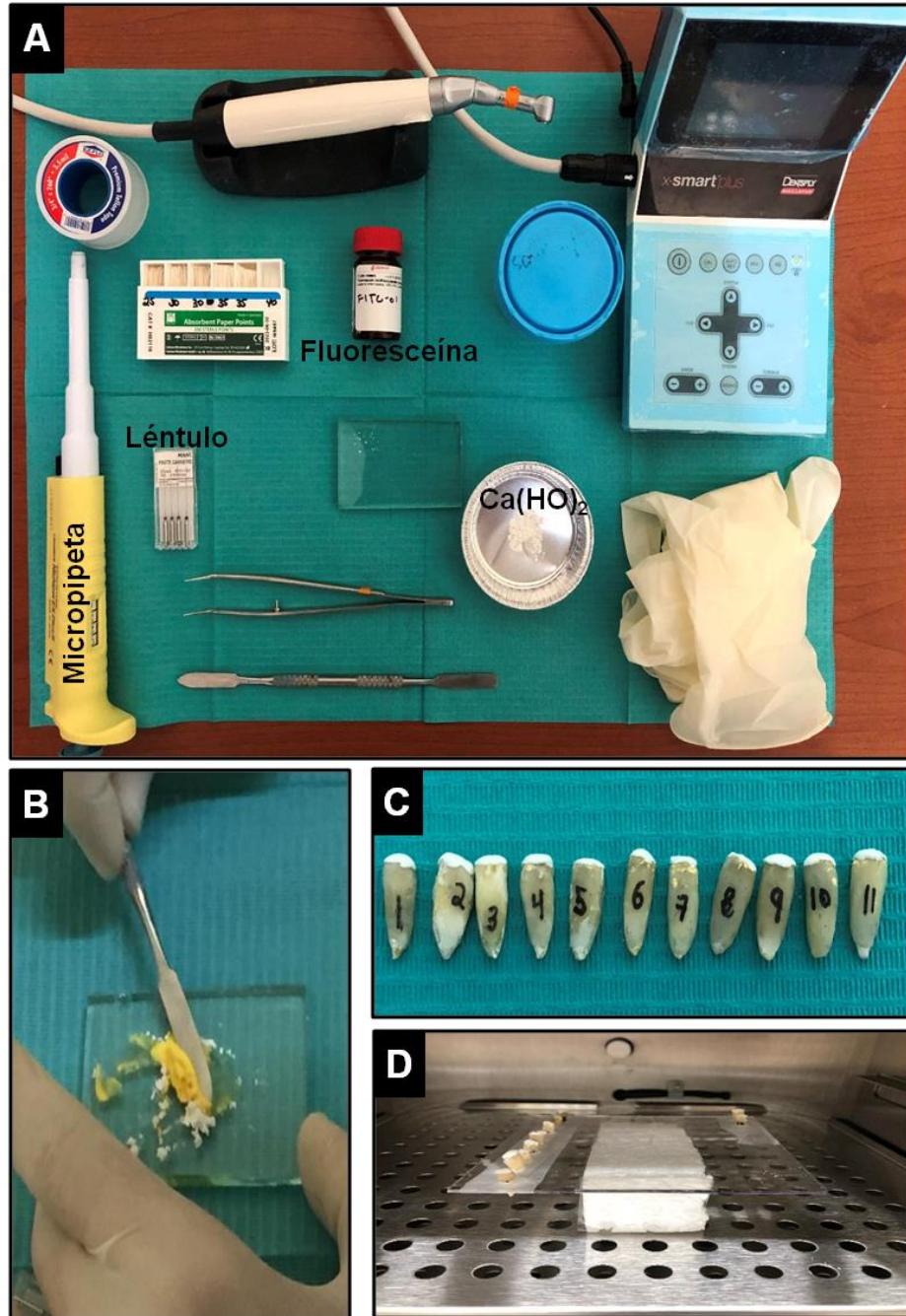


**Figura 20.** Microbalanza de precisión analítica.

Se pesó el cemento sellador EdgeBioceramic Sealer, la Rodamina B a una razón de .1% y Fluoresceína a una razón del .1%.

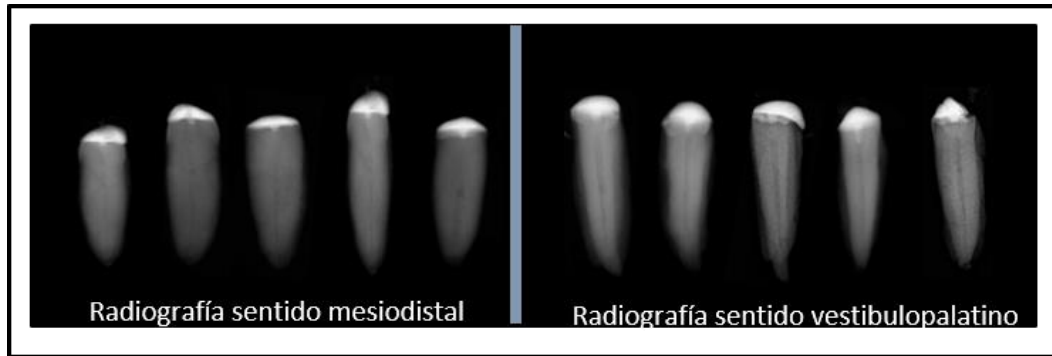
### 1.- Grupo $\text{Ca(OH)}_2$ + EdgeBioceramic Sealer.

Una vez instrumentadas las muestras se colocó la medicación intraconducto con  $\text{Ca(OH)}_2$ , el polvo se mezcló con solución salina en una proporción de 1:1 (15). Para efectuar la concentración exacta para 4 muestras, se utilizó una micropipeta donde se succionaron  $230\mu\text{L}$  de líquido, y una microbalanza de precisión analítica para obtener  $230\text{mg}$  de  $\text{Ca(OH)}_2$  (Figura 20). Para poder observar el comportamiento del  $\text{Ca(OH)}_2$  en el microscopio confocal se agregó un fluorocromo llamado Fluoresceína, de este polvo se utilizó el .1% de acuerdo con la concentración del  $\text{Ca(OH)}_2$ . Una vez obtenidas las concentraciones requeridas, en un recipiente de aluminio se mezcló primeramente el polvo de Fluoresceína con el polvo de  $\text{Ca(OH)}_2$ , cuando se encontró homogéneamente distribuida la fluoresceína en el  $\text{Ca(OH)}_2$  se vertió en una loseta de vidrio y se mezcló con solución fisiológica con ayuda de una espátula de acero inoxidable (Figura 21). El resultado de esta mezcla se llevó al conducto radicular por medio de un lentulo a 1000 rpm a favor de las manecillas del reloj con movimientos de entrada y salida hasta dejar completamente llenos los conductos, por último se compactó con una torunda de algodón y se colocó Cavit G para sellar la entra del conducto radicular. Se tomaron imágenes radiográficas (Figura 22) para observar la medicación dentro del conducto radicular y descartar espacios en ella , posteriormente las muestras se metieron en una incubadora con 100% de humedad a  $37^\circ\text{C}$  durante 7 días (16).



**Figura 21.** Instrumental y material utilizado en el grupo  $\text{Ca(OH)}_2$  + EdgeBioceramic Sealer.

Imágenes ilustrativas del grupo  $\text{Ca(OH)}_2$  + EdgeBioceramic Sealer. (A) Instrumental y material utilizado. (B) Mezcla de  $\text{Ca(OH)}_2$  más fluoresceína. (C) Órganos dentales con  $\text{Ca(OH)}_2$  selladas con Cavit G. (D) Incubación de las muestras a 37 °C y 100% de humedad.



**Figura 22.** Muestra con medicación intraconducto de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

Imagen radiográfica donde se muestra el sentido mesiodistal y vestibulopalatino de las muestras llenas de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  como medicación intraconducto.

Una vez transcurridos 7 días las muestras se sacaron de la incubadora. Para retirar la medicación intraconducto de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  se utilizó el ultimo instrumento rotatorio utilizado 30/04 y una irrigación de 3 ml de NaOCl (Figura 23) (15),(16).



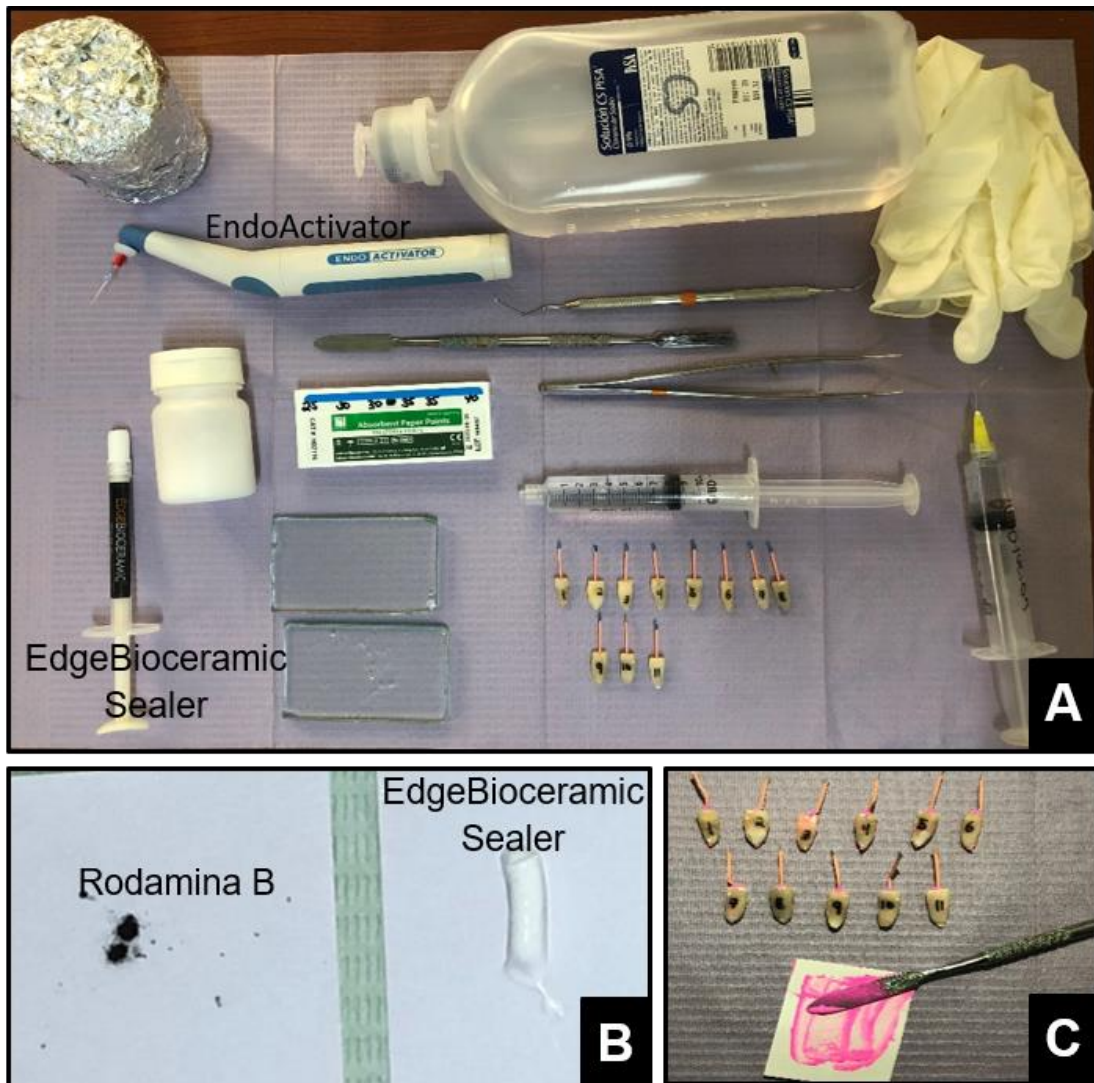
**Figura 23.** Remoción de hidróxido de calcio.

Imagen que representa la eliminación de hidróxido de calcio dentro del conducto radícula con el instrumento rotatorio 30/04.

Secuencialmente se realizó una activación sónica final de los irrigantes utilizando el dispositivo EndoActivator, los conductos se irrigaron con 3 ml NaOCl al 5.25% y se agitó sónicamente hasta la longitud de trabajo con el Sistema EndoActivator. Específicamente, se utilizó una punta de polímero # 25/02 con un movimiento de

## MATERIALES Y MÉTODOS

bombeo durante 60 s. a 10,000 ciclos por minuto, y de la misma manera se hizo la activación sónica con 3 ml de EDTA al 17% durante 3 min. (16), (Figura 24). Luego con 5 ml de solución salina se irrigó, a fin de lograr la correcta neutralización del EDTA y la limpieza del conducto. Posterior a esto se hizo el secado de los conductos con puntas de papel y se tomaron imágenes radiográficas de prueba de cono (Figura 25-A).

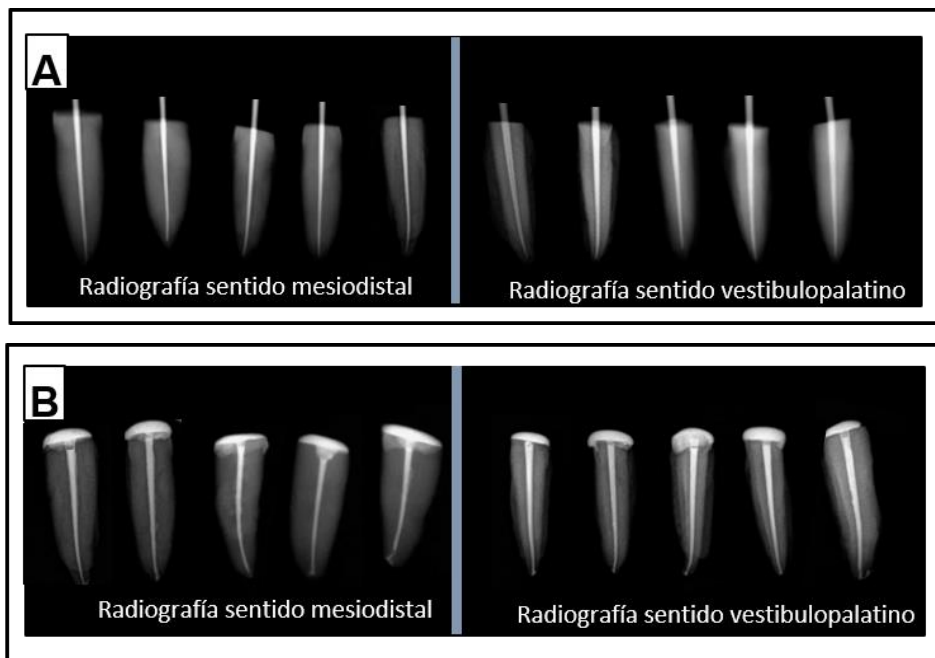


**Figura 24.** Grupo  $\text{Ca(OH)}_2$  + EdgeBioceramic Sealer.

Imágenes ilustrativas del grupo  $\text{Ca(OH)}_2$  + EdgeBioceramic Sealer. (A) Instrumental y material necesario para obturación. (B) Porción de rodamina B al .1% y cemento sellador. (C) Mezcla de rodamina B y el sellador con obturación de las muestras con la técnica de cono único.

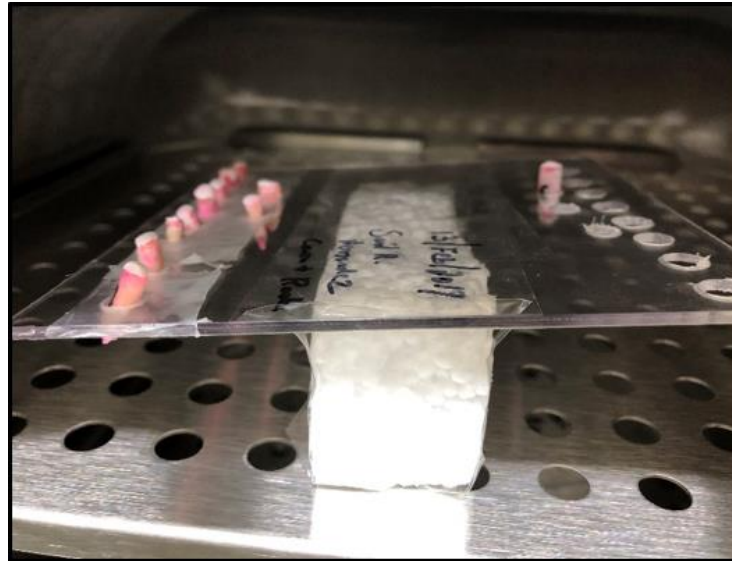
## MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar la obturación final se pesó el cemento sellador y la Rodamina B (fluorocromo) para obtener nuevamente una concentración de Rodamina B al .1% respecto al cemento sellador. La Rodamina B fue necesaria para dar un nueva caracterización al cemento sellador, diferente a la utilizada en el  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , ya que la Rodamina B y la Fluoresceína son fluorocromos que su espectro de excitación y emisión es en diferente longitud de onda (39). El cemento sellador calculando para 4 muestras fue de 300 mg de EdgeBioceramic Sealer y de Rodamina B un peso de .3 mg, una vez obtenidos el pesos deseados se incorporó el cemento sellador a la Rodamina B y se mezcló con una espátula hasta alcanzar una condición homogénea entre estos dos componentes, ya obtenida la mezcla, la aplicación del sellador se hizo bombeándolo dentro del conducto radicular con un cono de gutapercha #30/04, usando la técnica de cono único se obturo y el exceso de gutapercha se eliminó utilizando un glick #2 calentado con un mechero y se realizó una compactación vertical al nivel del acceso. Se colocó Cavit G para sellar.



**Figura 25.** Grupo  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  + EdgeBioceramic Sealer.

Imagen radiográfica donde se muestra el sentido mesiodistal y vestibulopalatino de la obturación de las muestras. (A) Prueba de conos. (B) Obturación final.



**Figura 26. Muestras dentro de la incubadora.**

**Incubación de las muestras después de su obturación final a una temperatura de 37°C al 100% de humedad.**

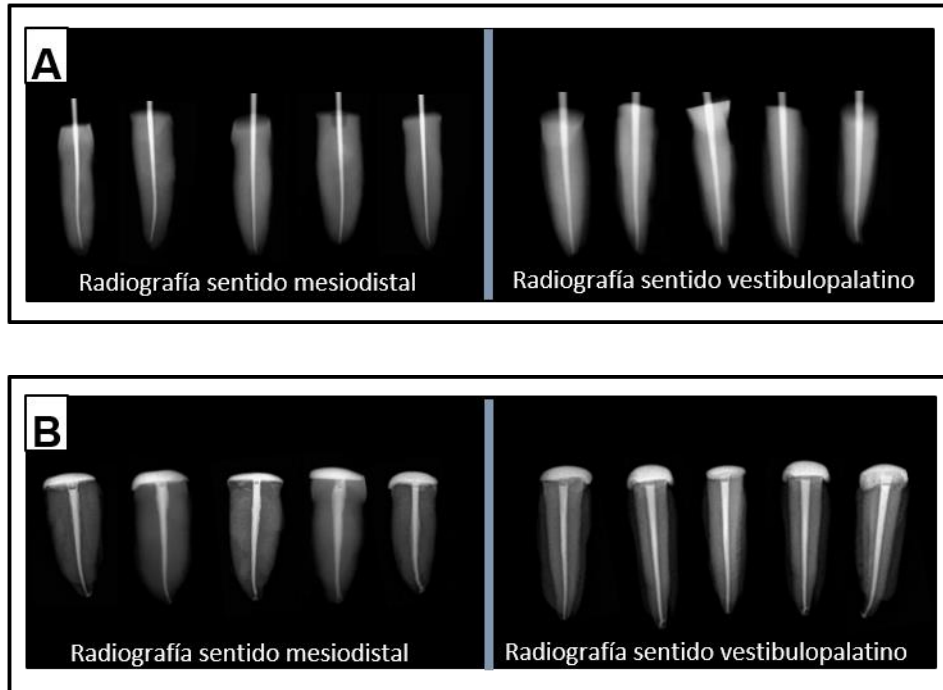
Por último, se hicieron tomas radiográficas en sentido bucolingual y mesiodistal (Figura 25-B) para corroborar la correcta obturación y nuevamente se metieron las muestras a una incubadora a 37°C con 100% de humedad durante 7 días con la finalidad de obtener el fraguado del sellador (Figura 26).

## **2.- Grupo EdgeBioceramic Sealer.**

En este grupo no se colocó  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  como medicación intraconducto, por lo tanto inmediatamente después de la instrumentación del conducto radicular se realizó la irrigación sónica utilizando el dispositivo EndoActivator, con 3 ml al 5.25% de NaOCl y se agita sónicamente hasta la longitud de trabajo con el Sistema EndoActivator. Específicamente, se utilizó una punta de polímero # 25/02 con un movimiento de bombeo durante 60 s. a 10.000 ciclos por minuto, después de esto y de la misma manera se hizo la agitación sónica con 3 ml de EDTA al 17% durante 3 min. (16). Luego con 5 ml de solución salina se irriego, a fin de lograr la correcta neutralización

del EDTA y la limpieza del conducto. Posterior a esto se hizo el secado de los conductos con puntas de papel.

Para realizar la obturación final se utilizó el mismo protocolo, mismos instrumentos, las mismas medidas que las mencionadas en el grupo de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  + EdgeBioceramic Sealer, y las mismas angulaciones radiográficas (Figura 27).



**Figura 27.** Grupo EdgeBioceramic Sealer.

**Imágenes radiográficas donde se muestra el sentido mesiodistal y vestibulopalatino de la obturación de las muestras del grupo EdgeBioceramic Sealer. (A) Prueba de conos. (B) Obturación final.**

### **3.- Grupo control Rodamina B y Fluoresceína**

Se realizó un grupo de control para asegurarse de que la extensión de Rodamina B y Fluoresceína observada en el Microscopio de fluorescencia Confocal era equivalente a la extensión del sellador, para asegurar que no había difusión de Rodamina B libre de cemento a través de los túbulos dentinarios. Este grupo consistió en 5 incisivos mandibulares sometidos al mismo protocolo de instrumentación y desinfección que los

dientes experimentales. Los conductos se instrumentaron, irrigaron y obturaron siguiendo el mismo protocolo utilizado para los dientes experimentales, con la salvedad de que en el grupo control se utilizaron 2ml de solución salina con 1 mg de Rodamina B y 1 mg de Fluoresceína para formar una solución acuosa de estos dos fluorocromos, misma que se colocó en una jeringa de insulina y se introdujo en el conducto radicular por medio de una aguja con salida lateral, esta fue bombeada con el cono de gutapercha (Figura 28). Después de 7 incubación a 37°C y 100 % de húmeda las muestras estuvieron listas para ser tratadas y analizadas. La ausencia de difusión de Rodamina B libre de cemento a los túbulos se confirma con la ausencia de color observable en la imagen en el interior de los mismos.



**Figura 28.** Grupo control.

**Imagen representativa del grupo control. En una jeringa de insulina se colocaron 2ml de solución salina con 1 mg de Rodamina B y 1 mg de Fluoresceína para llevarla al conducto radicular.**

**Preparación de las muestra para su caracterización por microscopía de fluorescencia confocal.**

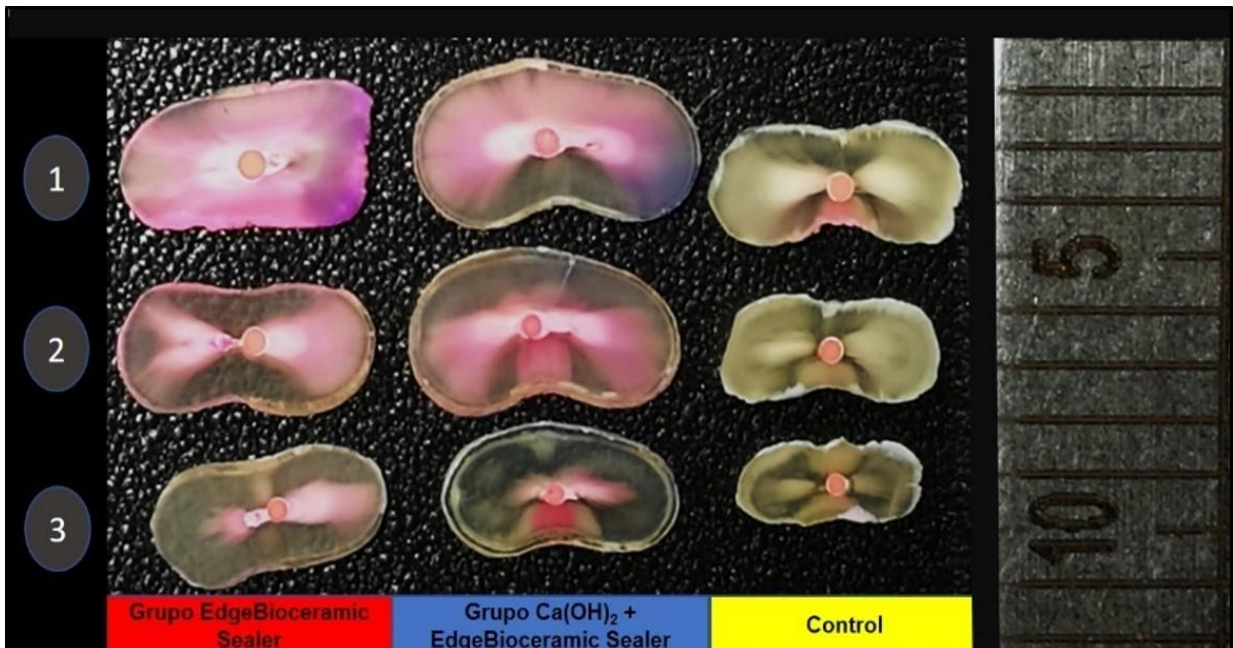
Una vez que cumplió el periodo de incubación en todos los grupos, las muestras se prepararon para poder ser observadas en el microscopio de fluorescencia confocal. Estas se seccionaron de una manera transversal al eje longitudinal del diente a una profundidad de 3, 5 y 7 mm del ápice radicular (Figura 29), estas longitudes

representan el tercio apical, medio y cervical respectivamente, el corte se hizo con un disco de diamante y un micromotor a 500 rpm.



**Figura 29.** Sección de las muestras con micromotor.

Se seccionó cada espécimen en tres tercios (apical, medio y cervical) a 3, 5 y 7 mm del ápice radicular con un grosor de ca. 1.5 mm con micromotor y un disco de diamante a 500 rpm.



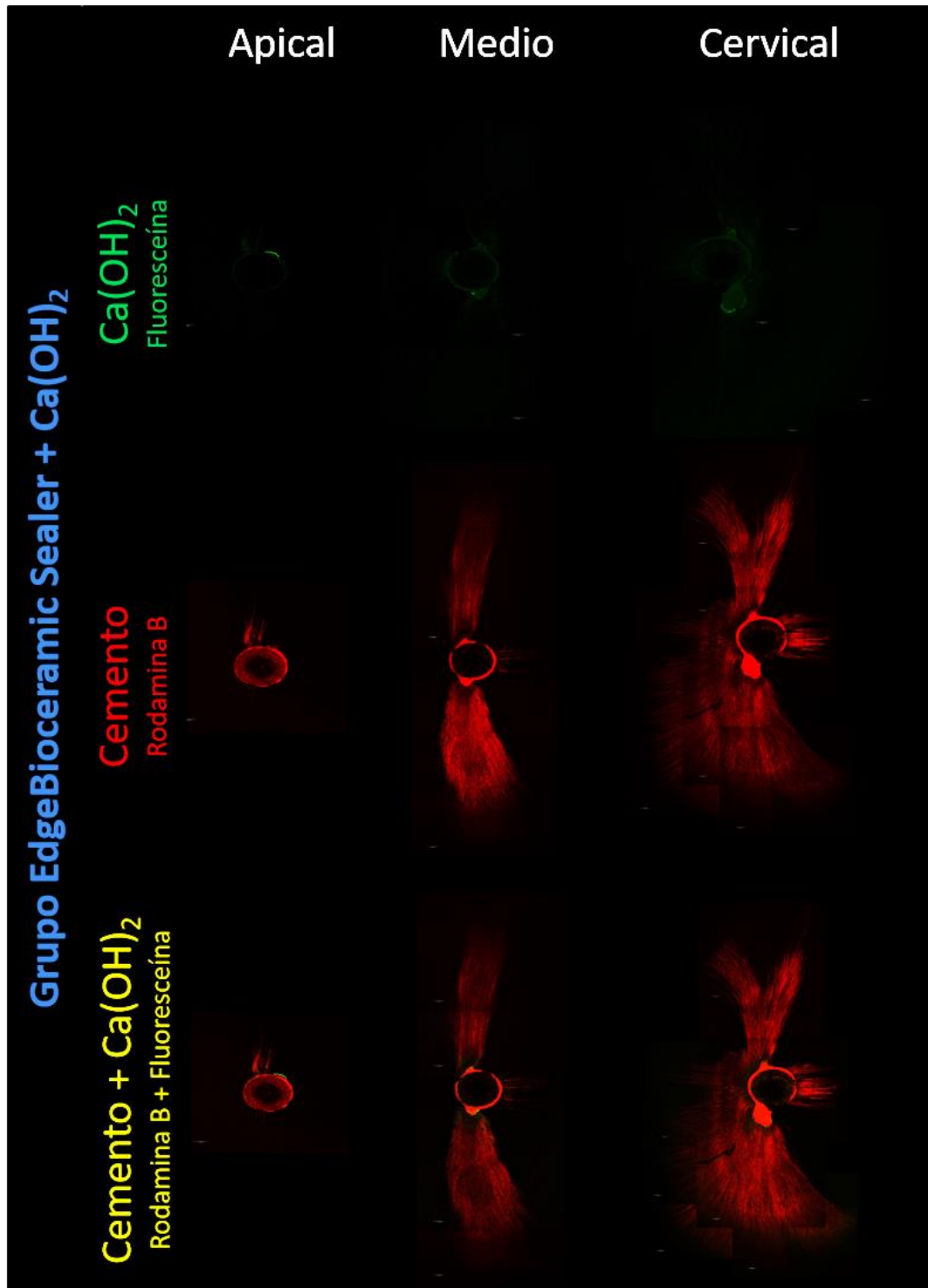
**Figura 30.** Muestras desgastadas manualmente.

Se observan los tercios apical (3), medio (2) y cervical (1) de las muestras obturadas con el cementos selladores EdgeBioceramic Sealer (Rojo),  $\text{Ca(OH)}_2$  + EdgeBioceramic Sealer (Azul) y Control (amarillo).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

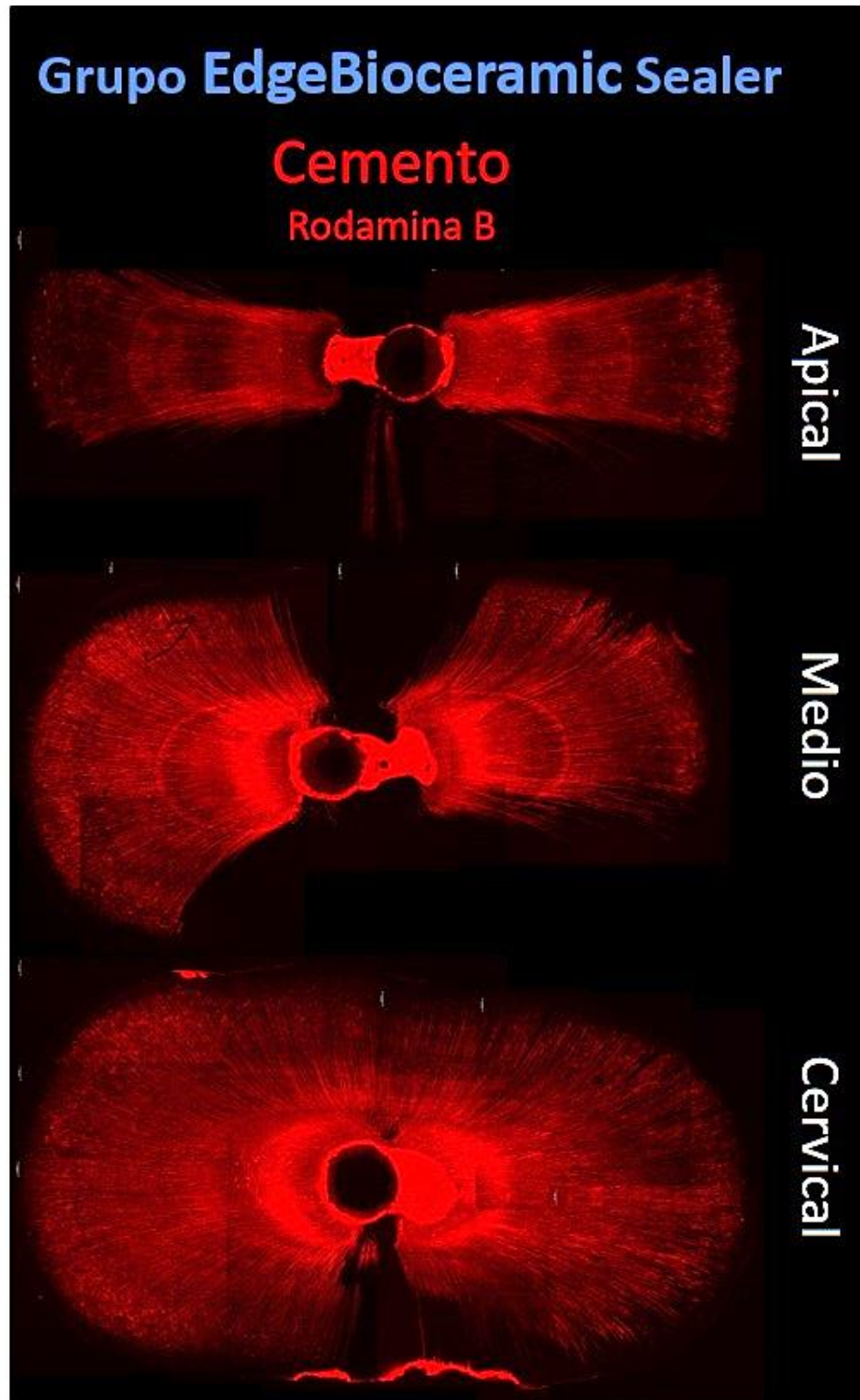
De cada órgano dental se obtuvieron 3 cortes, el grosor aproximado fue de 1.5 mm, la cara apical de cada uno de los cortes (41), se pulió manualmente con lijas de agua de granos #400, #500, #600, #1000 y #2000 secuencialmente hasta dejar una superficie completamente lisa y pulida (Figura 30).

Las muestras se montaron en una caja de Petri con base de cubreobjetos de vidrio para microscopia confocal y se examinaron con un microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 invertido, operando con un láser de 552 nm para Rodamina B y de 488 para Fluoresceína a 0.5% de intensidad y un objetivo de 10X (empleando aceite como de inmersión) y un alejamiento óptico de 7.5X (Figura 33). La ventana de emisión estudiada para la Rodamina B fue de 562-700 nm y para Fluoresceína 495-545. El campo de visión para cada imagen fue de 1.55 x 1.55 mm<sup>2</sup>. En los casos en los que la muestra no pudo examinarse en una sola imagen (debido a su profundidad de penetración), se tomaron más imágenes parciales que luego fueron como una imagen individual utilizando el programa Photoshop (36). Se obtuvo un total de 1041 imágenes, las cuales fueron ensambladas hasta obtener 72 imágenes de los 81 tercios totales (Figura 31Figura 32Figura 33).



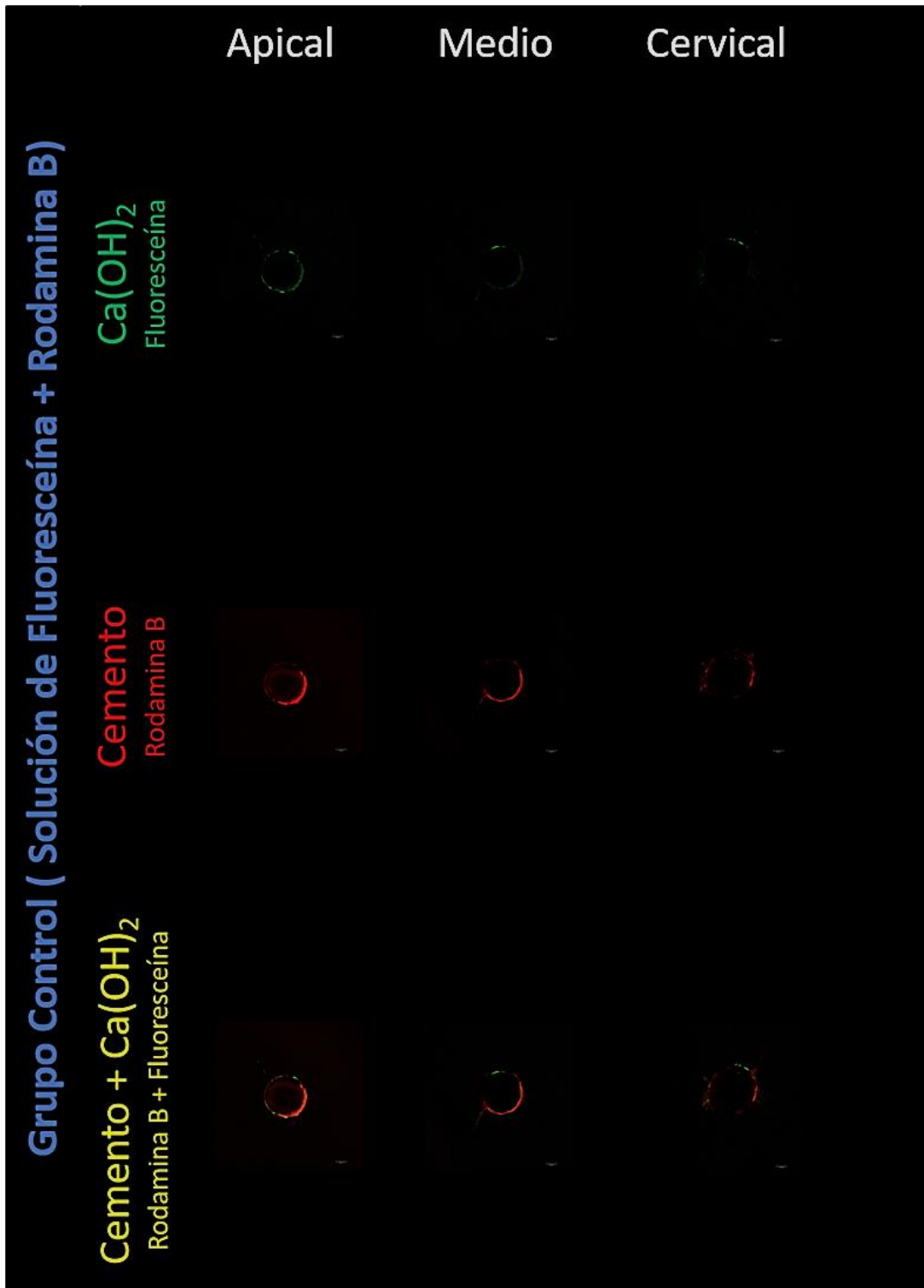
**Figura 31.** Micrografías de fluorescencia confocal representativas del grupo Ca(OH)<sub>2</sub> + EdgeBioceramic Sealer.

Se muestran tres micrografías representativas de cada tercio (apical, medio y cervical) del grupo Ca(OH)<sub>2</sub> + EdgeBioceramic Sealer.



**Figura 32.** Micrografías de fluorescencia confocal del grupo EdgeBioceramic Sealer.

Se muestran tres micrografías representativas de cada tercio (apical, medio y cervical) del grupo EdgeBioceramic Sealer.



**Figura 33.** Micrografías de fluorescencia confocal del grupo control.

Se muestran tres micrografías representativas de cada tercio (apical, medio y cervical) del grupo control.

### **Preparación de las muestra para su caracterización por SEM.**

Se adquirieron imágenes por microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) para observar la obturación del conducto radicular, enfocándonos en la penetración del cemento sellador en los túbulos dentinarios, así como también mediante un mapeo se pudo observar la composición química que prevalece en el cemento sellador utilizado.

Las muestras preparadas fueron acorde al grupo  $\text{Ca(OH)}_2$  + EdgeBioceramic y al grupo EdgeBioceramic Sealer. Ambas fueron sometidas al mismo protocolo descrito anteriormente en cada uno de los grupos con la excepción que se omitió el cargado de Rodamina B y Fluoresceína respectivamente.

Una vez que se cumplió el periodo de incubación requerido para cada muestra, estas fueron ranuradas a lo largo del eje longitudinal por la cara vestibular y lingual con un disco de diamante sin sobrepasar a la zona del conducto radicular (Figura 34), ya ranuradas estas se separaron por completo aplicando fuerza con un instrumento metálico tratando de no contaminar ni dañar la obturación (16).



**Figura 34.** Corte longitudinal de la muestra.

**Muestra seccionada a lo largo del eje longitudinal del diente para su visualización por SEM, donde se observa la obturación del conducto radicular.**

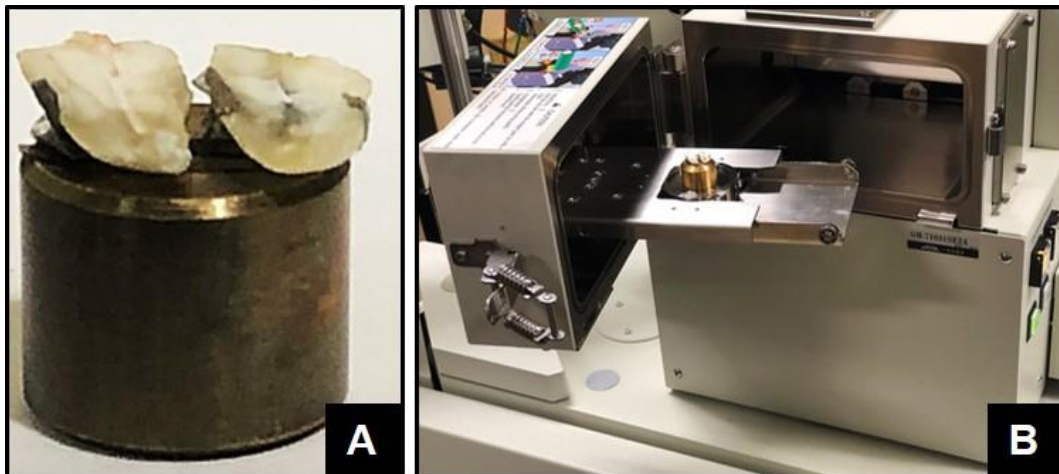
La presencia de humedad es crítica cuando se trata de obtener imágenes nítidas en el SEM, por lo tanto, después de realizar el corte las muestras se dejaron durante un

periodo de 7 días en un liofilizador para retirar la humedad de las muestras (Figura 35). Una vez transcurrido este tiempo, se colocaron las muestras en el “portamuestras” para ser observadas por SEM (Figura 36 A y B).



**Figura 35.** Liofilizador.

**Incorporación de las muestras dentro de un liofilizador para su deshidratación.**



**Figura 36.** Muestras preparadas para su visualización de micrográficas en SEM.

**(A)** En esta figura observamos los cortes sujetos al “portamuestras”. **(B)** Muestra en posición para ser ingresada dentro del microscopio.

### Análisis de imagen

Las micrografías confocal fueron importadas en formato jpg y analizadas con el programa ImageJ. Con la ayuda de las herramientas de este software, se determinó la profundidad y el porcentaje de penetración de los cementos selladores a los túbulos dentinarios, tal como se describe a continuación.

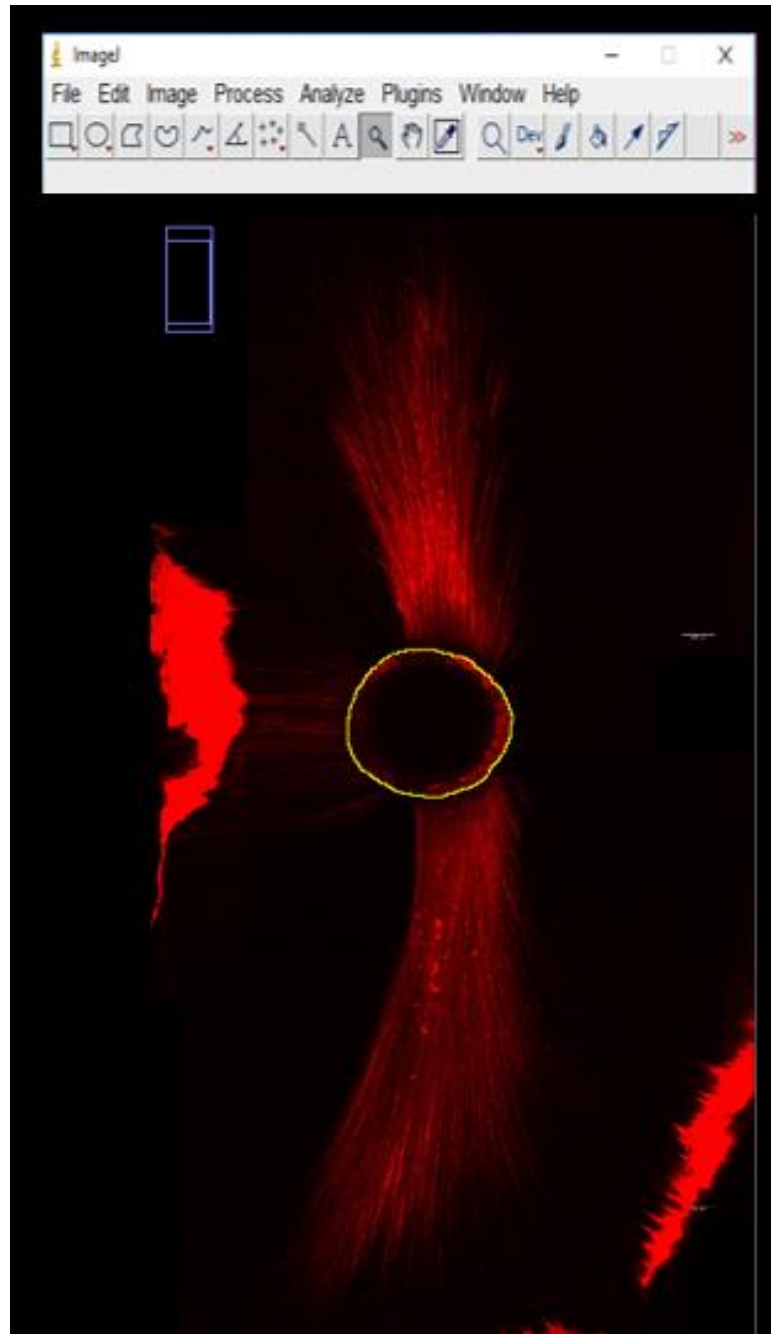
### Porcentaje de penetración

Para calcular el porcentaje de penetración tanto del cemento sellador como del  $\text{Ca(OH)}_2$ , se trazó una línea sobre la circunferencia que demarcaba la pared del conducto radicular, empleando la herramienta de “lazo libre” (Figura 37). A continuación, se midió la longitud total de la circunferencia trazada y de los segmentos de la misma a partir de los cuales se extendían túbulos penetrados con el cemento (Figura 38). El porcentaje de penetración se determinó a partir de la sumatoria de segmentos que presentaban penetración hacia los túbulos entre la longitud total de la circunferencia trazada (36). La herramienta de medición fue calibrada en micras con ayuda de la barra de escala de cada micrografía previo al trazado y medición de la circunferencia y sus segmentos.

### Profundidad de penetración

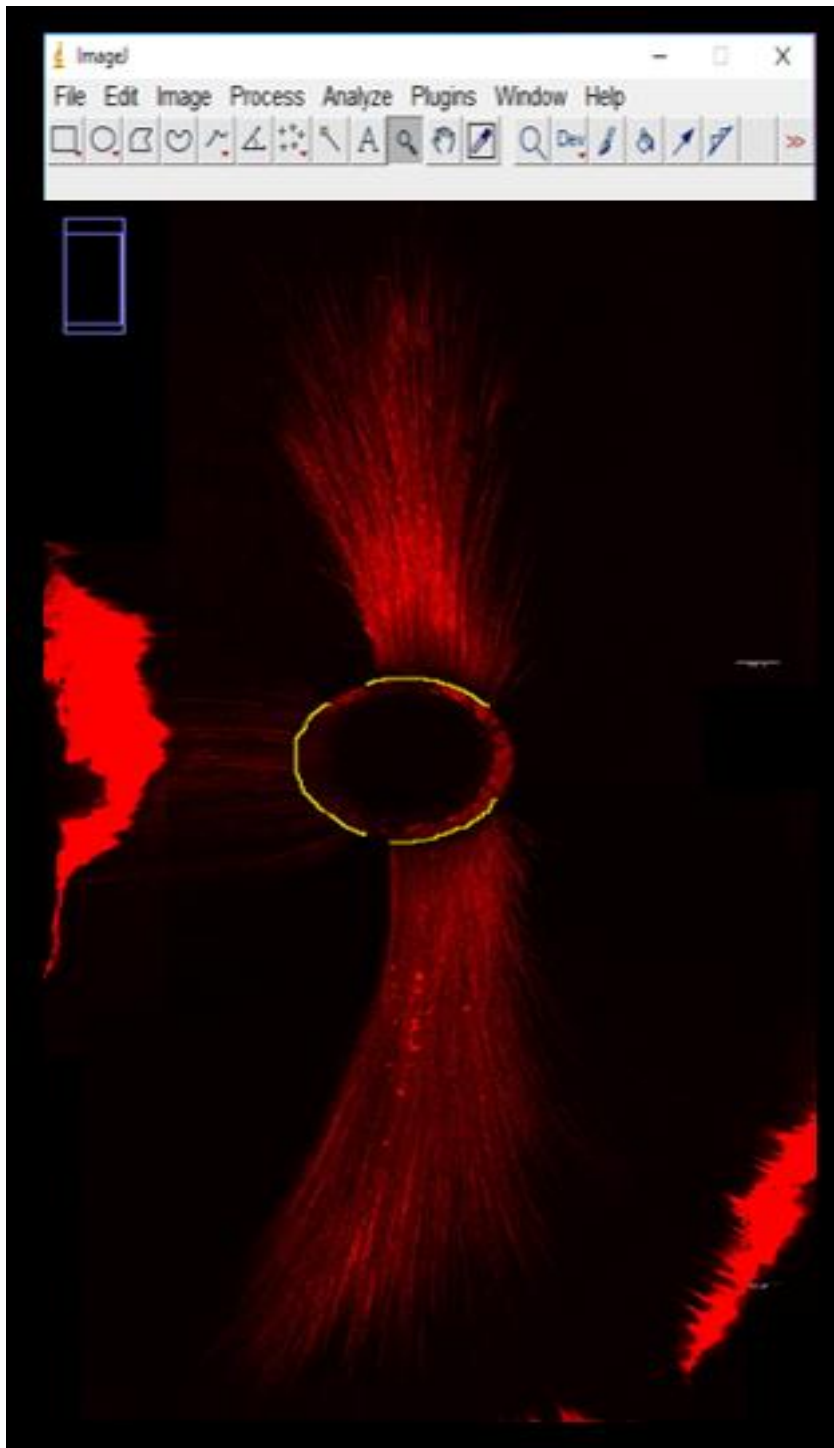
Para calcular la profundidad de penetración, la imagen fue dividida en cuadrantes tomando el centro del conducto radicular como origen, empleando la herramienta “cuadriculado”. A continuación, con la ayuda de la herramienta “lazo libre”, se trazó una línea recta a lo largo del túbulo más largo de cada cuadrante con la restricción de que la línea trazada debía pasar por el centro del conducto radicular (es decir, túbulos que describieran trayectorias con origen distinto al centro del conducto radicular no eran considerados en la medición, independientemente de que fueran los de mayor longitud en el cuadrante respectivo) (Figura 39). Finalmente, la profundidad de penetración se determinó como el promedio de la longitud de los cuatro túbulos

medidos a partir de la pared del conducto radicular (uno por cada cuadrante) (Figura 39) (42).



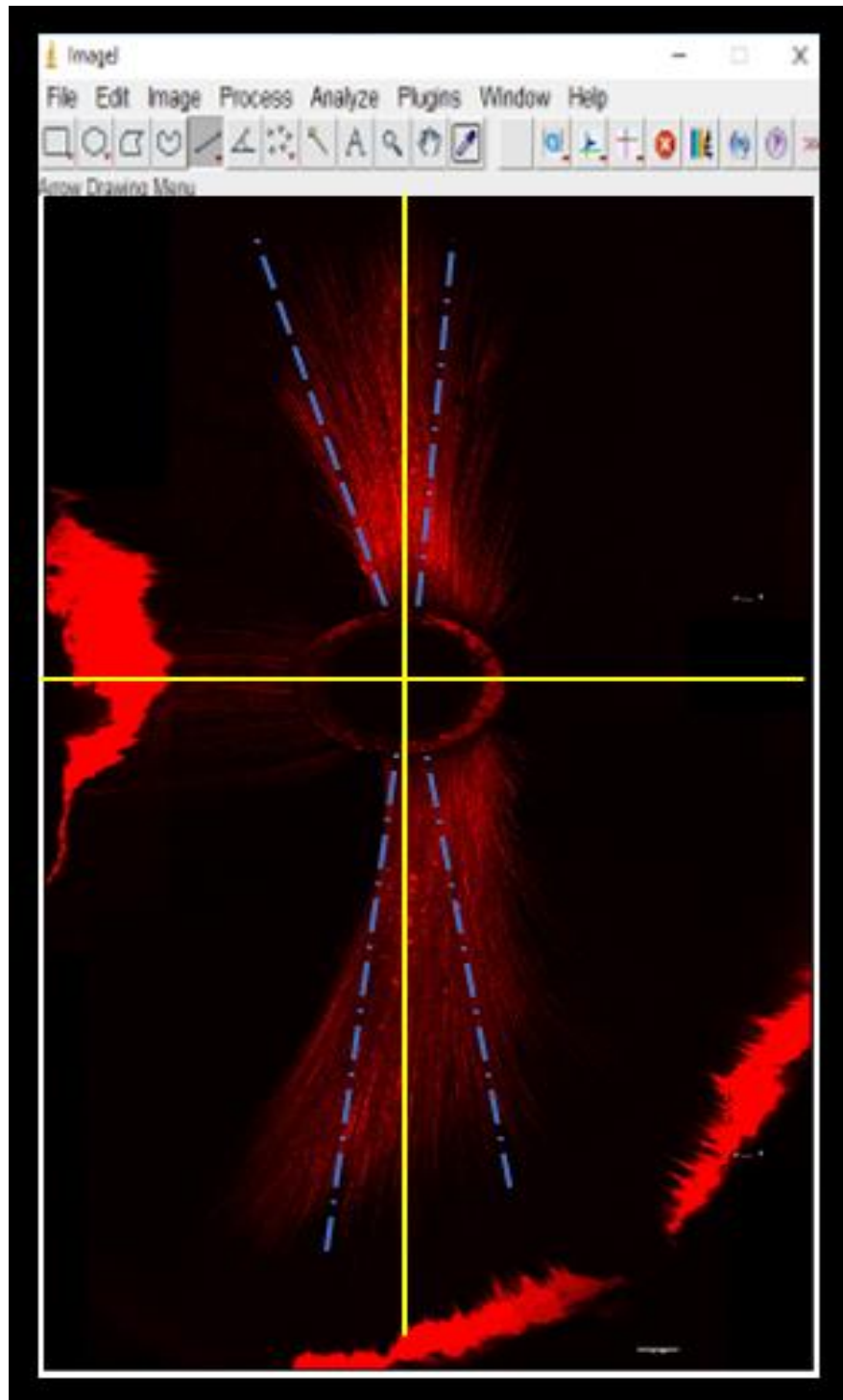
**Figura 37.** Medición de la circunferencia de la pared del conducto.

**Cálculo del porcentaje de penetración de los cementos selladores. Se muestra en color amarillo la medición de la circunferencia total de la pared del conducto. Se empleó el programa ImageJ. El valor obtenido se representa en  $\mu\text{m}$ .**



**Figura 38.** Medición de las zonas de penetración para el cálculo del porcentaje de penetración.

Se observa en color amarillo la medición de las zonas de penetración. Se empleó el programa ImageJ. El valor obtenido se representa en  $\mu\text{m}$ .



**Figura 39.** Medición de la profundidad de penetración.

Medición de la profundidad de penetración. Se observa en color amarillo la medición de la profundidad de penetración. La imagen fue dividida en cuatro cuadrantes (líneas de color azul). Se empleó el programa ImageJ. El valor obtenido se representa en  $\mu\text{m}$ .

**Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo empleando el método “t de Student” de Análisis de la Varianza (ANOVA). La diferencia estadística fue considerada como significativa a  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Microscopía de fluorescencia confocal**

La eficiencia de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios fue caracterizada por microscopía de fluorescencia confocal en dientes con y sin tratamiento preobturación con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  (empleando Rodamina B e Isotiocianato de Fluoresceína como colorantes fluorescentes) en términos de (i) la profundidad de penetración y (ii) el porcentaje de penetración; los resultados obtenidos de estas caracterizaciones se presentan en las [Gráfica 1](#) [Gráfica 2](#) respectivamente.

En la [Gráfica 1](#) se muestra la profundidad de penetración del cemento en función de la condición preobturación a nivel apical, medio y cervical. De manera general, el cemento presentó una tendencia creciente en su penetración en función del tercio estudiado, sin diferencia estadísticamente significativa entre las condiciones de preobturación. Las longitudes de penetración observadas fueron de ca. 330-950  $\mu\text{m}$ , 1190-1800  $\mu\text{m}$  y 1615-2120  $\mu\text{m}$  para los tercios apical, medio y cervical, respectivamente, donde el primer valor se refiere al promedio observado en los dientes con tratamiento preobturación. Para la condición con tratamiento preobturación se observó diferencia estadísticamente significativa entre los tercios apical-medio y apical-cervical. Sin embargo, para la condición sin tratamiento preobturación se observó diferencia estadísticamente significativa únicamente entre los tercios apical-cervical.

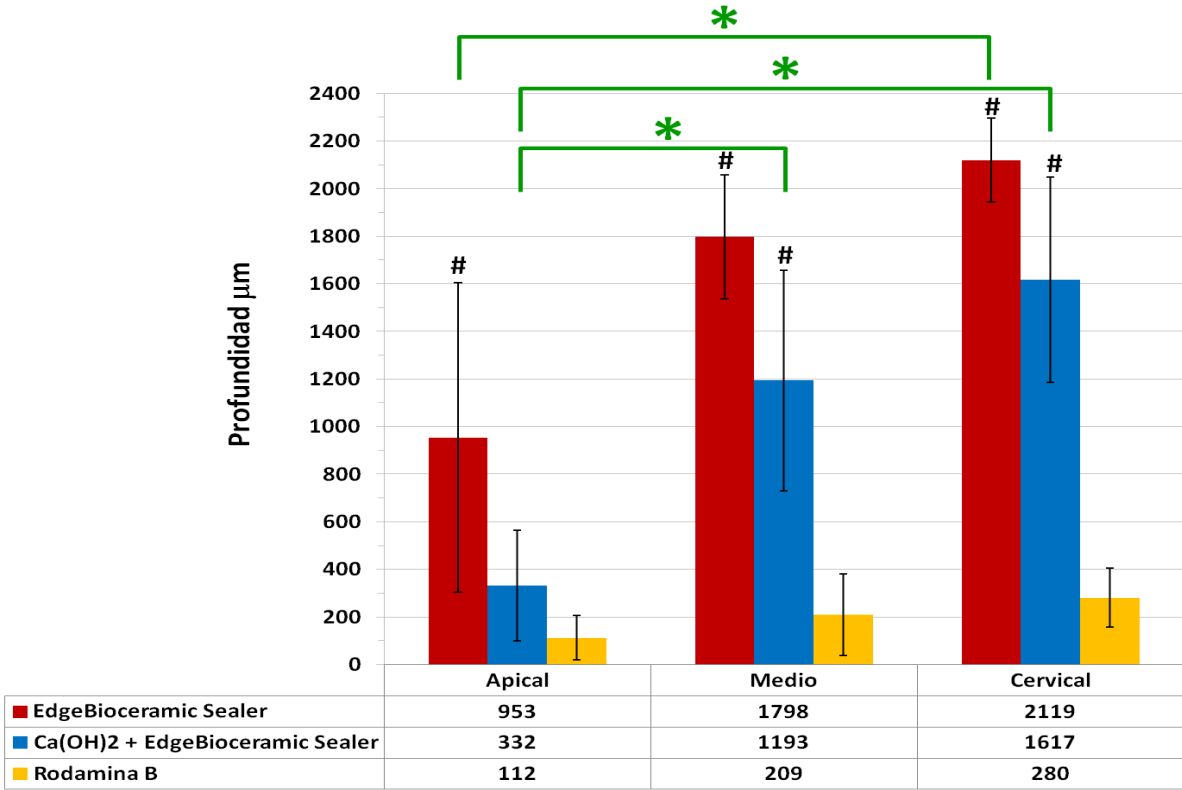
Muy importante, en los tercios medio y cervical se observó diferencia estadísticamente significativa entre ambas condiciones preobturación y una solución de Rodamina B empleada como control, no siendo esto observado para el tercio apical en el cual solo hay diferencia estadísticamente significativa entre la condición sin tratamiento preobturación y el control. Para explicar este resultado es necesario considerar la diferencia entre la profundidad de penetración del cemento en ambas condiciones preobturación en el tercio apical. Aunque no hay diferencia estadísticamente

significativa entre las condiciones de preobtención en este tercio ( $p > 0.05$ ), existe una proporción de ca. 3:1 en la profundidad de penetración del cemento en dientes sin tratamiento con respecto a dientes con tratamiento. Lo anterior nos hace asumir que la posible generación de residuos de  $\text{Ca(OH)}_2$  y la obliteración natural de los túbulos dentinarios en el tercio apical provocan una disminución moderada en la profundidad de penetración del cemento en este tercio en particular, dando como resultado que la fluorescencia emitida por el cemento en condiciones de tratamiento preobtención es equivalente a la emitida por el control de Rodamina B.

En la [Gráfica 2](#) se muestra el porcentaje de penetración del cemento en función de la condición preobtención a nivel apical, medio y cervical. De manera general, el cemento presentó una tendencia creciente en su penetración en función del tercio estudiado, sin diferencia estadísticamente significativa entre las condiciones de preobtención. Los porcentajes de penetración observados fueron de ca. 34-37%, 64-74% y 85-92% para los tercios apical, medio y cervical, respectivamente, donde el primer valor se refiere al promedio observado en los dientes con tratamiento preobtención. En ambas condiciones (con y sin tratamiento preobtención) se observó diferencia estadísticamente significativa únicamente entre los tercios apical-cervical.

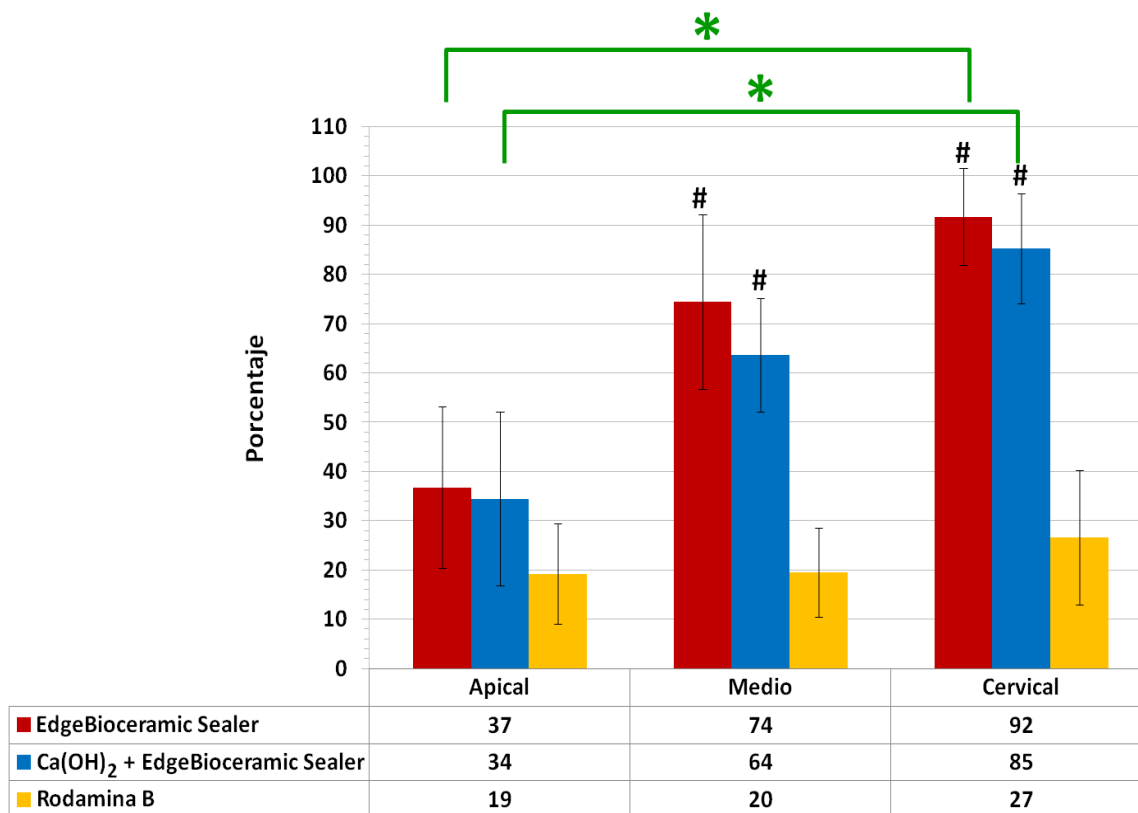
Muy importante, en los tercios medio y cervical se observó diferencia estadísticamente significativa entre ambas condiciones preobtención y una solución de Rodamina B empleada como control, no siendo esto observado para el tercio apical. Considerando que no hay diferencia estadísticamente significativa entre ambas condiciones en ninguno de los tercios, asumimos que el resultado observado en el tercio apical con respecto al control se debe mayoritariamente a la obliteración de los túbulos dentinarios.

Es importante mencionar que los datos de los blancos de solución acuosa de Isotiocianato de Fluoresceína no fueron incluidos en los gráficos aquí presentados en virtud de que su emisión de fluorescencia fue despreciable.



**Gráfica 1.** Profundidad de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios de incisivos inferiores con y sin tratamiento preobturación con Ca(OH)<sub>2</sub> a nivel apical, medio y cervical.

Como blanco positivo se empleó una disolución acuosa del colorante fluorescente Rodamina B. Las columnas representan el valor promedio de los resultados obtenidos y las barras representan la desviación estándar. Los símbolos \* y # representan los casos donde se encontró diferencia estadísticamente significativa tras las comparaciones cruzadas de las muestras objeto de estudio a las distintas condiciones y tercios, y las comparaciones de las muestras con respecto a los blancos de Rodamina B en cada tercio, respectivamente (\*, # p < 0.05).



**Gráfica 2.** Gráfica 1. Porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios de incisivos inferiores con y sin tratamiento preobturación con Ca(OH)<sub>2</sub> a nivel apical, medio y cervical.

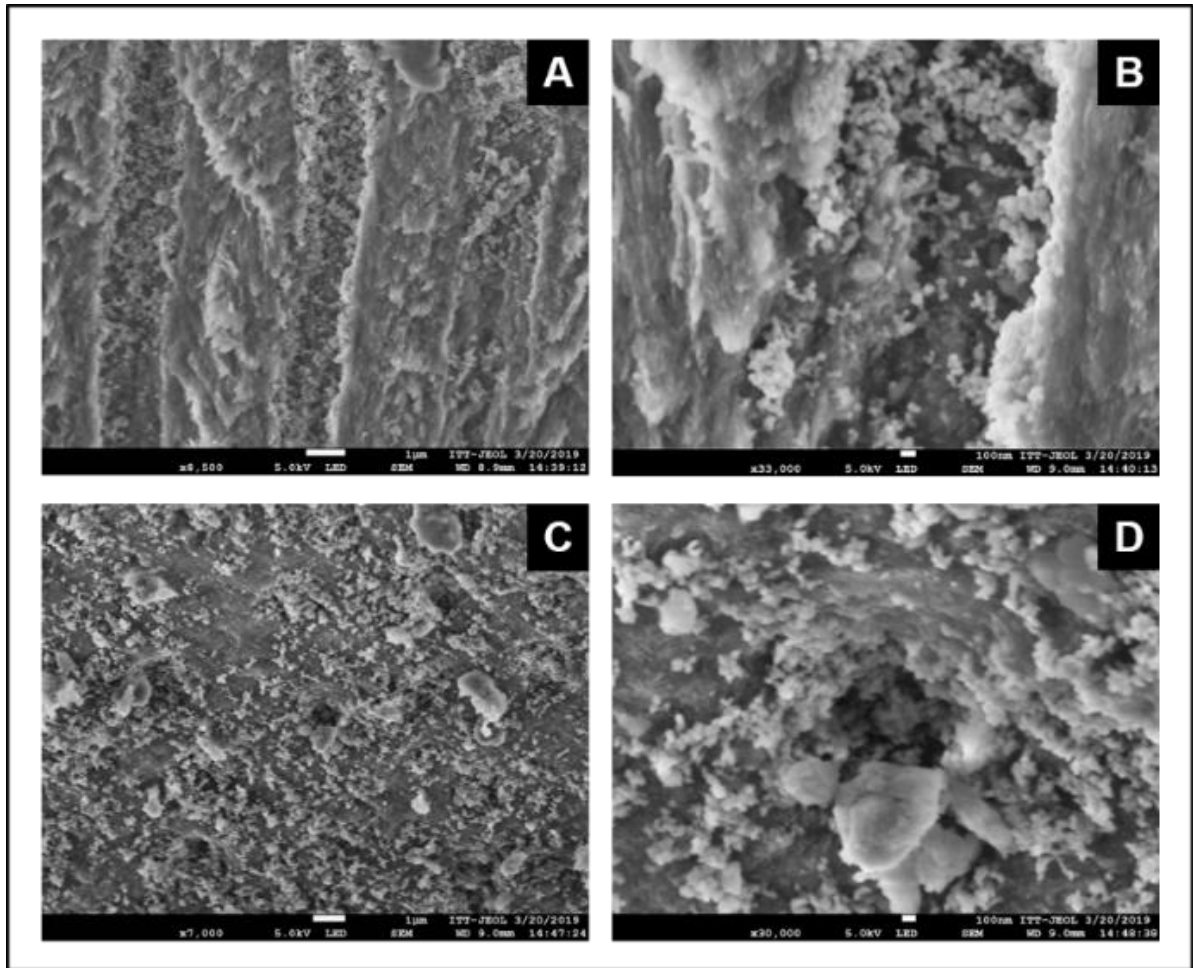
Como blanco positivo se empleó una disolución acuosa del colorante fluorescente Rodamina B. Las columnas representan el valor promedio de los resultados obtenidos y las barras representan la desviación estándar. Los símbolos \* y # representan los casos donde se encontró diferencia estadísticamente significativa tras las comparaciones cruzadas de las muestras objeto de estudio a las distintas condiciones y tercios, y las comparaciones de las muestras con respecto a los blancos de Rodamina en cada tercio, respectivamente (\*, #  $p < 0.05$ ).

### Microscopía electrónica de barrido

Adicional a los objetivos planteados en este proyecto se obtuvieron micrografías SEM de los órganos dentarios obturados con el cemento sellador EdgeBioceramic Sealer, con y sin tratamiento preobturación con  $\text{Ca(OH)}_2$  (Figura 40 Figura 41), respectivamente.

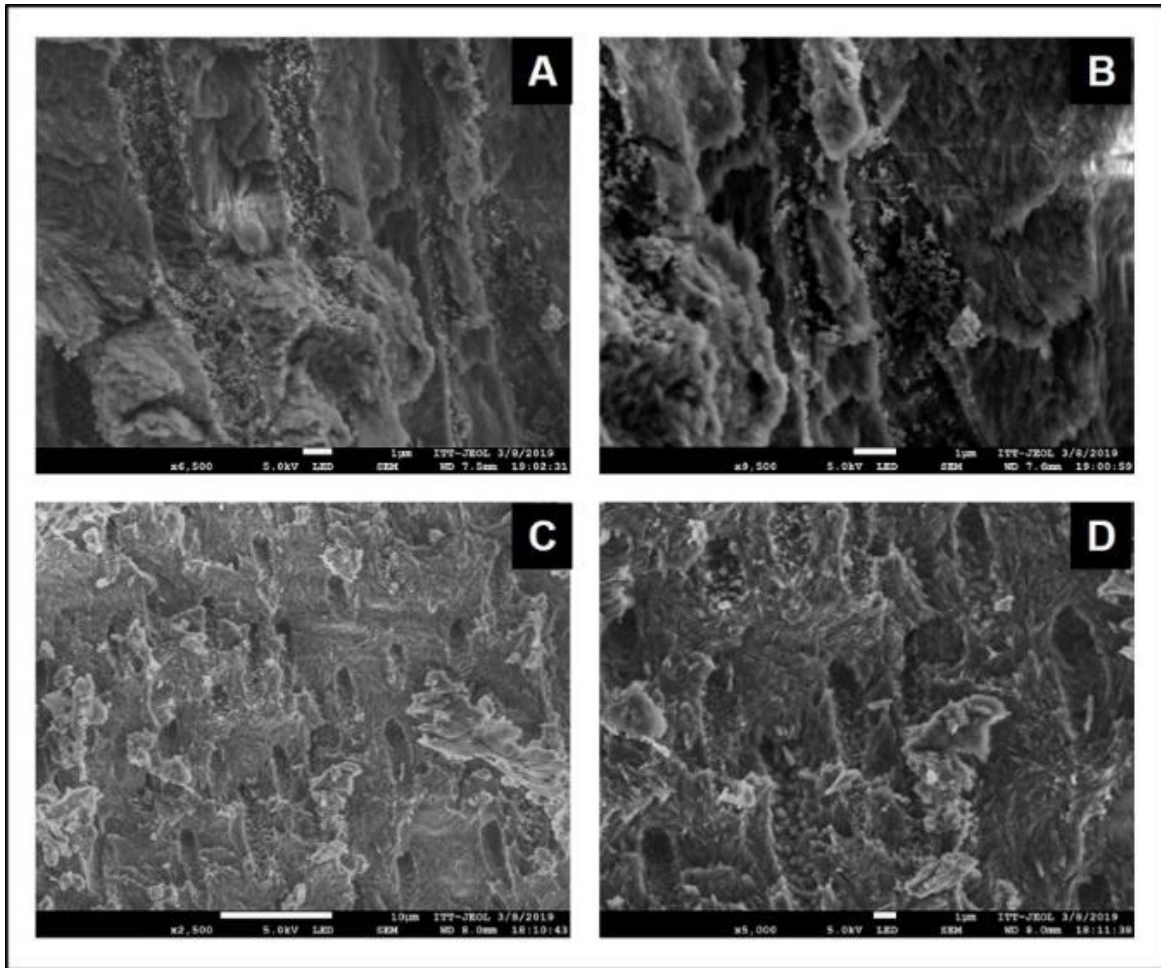
En las Figura 40Figura 41 se pueden apreciar los túbulos dentinarios en sentido longitudinal y transversal con la presencia del cemento sellador en su interior. Como se puede observar en las imágenes, las partículas del cemento se encuentran depositadas a lo largo de los túbulos dentinarios, aunque sin una concentración alta que promueva el bloqueo total de la luz del túbulo. Si bien, esta es una imagen que ayuda a establecer una relación de tamaños entre el tamaño de partícula de cemento y el del diámetro del túbulo dentinario (a nivel cervical), esta técnica no es suficiente para validar la profundidad y porcentaje de penetración del cemento en cuestión debido a la anatómicas del diente y a las condiciones de preparación de la muestra. En este punto es conveniente mencionar que para su visualización por SEM, la muestra requiere ser seccionada y montada en el equipo y los procedimientos de corte, separación y montaje pueden alterar la interacción túbulo-cemento e incluso desprender este último por secciones. Teniendo en mente lo anterior, estas imágenes deben ser consideradas meramente como orientativas.

Por otro lado, en la Figura 42 se muestra el análisis elemental resultante del mapeo por dispersión de rayos x de una zona con cemento. A partir de esta imagen se observan elementos constituyentes del cemento biocerámico objeto de estudio, a saber: silicato tricálcico, óxido de zirconio, silicato dicálcico e hidróxido de calcio.



**Figura 40.** Micrografías SEM de los túbulos dentinarios de órganos dentarios obturados con el cemento sellador EdgeBioceramic Sealer sin tratamiento preobturación con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , a nivel cervical.

(A) Corte longitudinal de los túbulos dentinarios. (B) Corte longitudinal de un túbulo dentinario a 33kx donde se observa la penetración del cemento. (C) Vista transversal de la pared del conducto radicular (D) Vista transversal de un túbulo dentinario a 30kx donde se observa en perspectiva la penetración del cemento. Las barras de escala equivalen a 1  $\mu\text{m}$  (paneles A y C) y 100 nm (paneles B y D).



**Figura 41.** Micrografías SEM de los túbulos dentinarios de órganos dentarios obturados con el cemento sellador EdgeBioceramic Sealer con tratamiento preobturación con  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , a nivel cervical.

**(A)** Corte longitudinal de los túbulos dentinarios. **(B)** Corte longitudinal de un túbulo dentinario a 9.5kx donde se observa la penetración del cemento. **(C)** Vista transversal de la pared del conducto radicular. **(D)** Vista transversal de un túbulo dentinario a 3kx donde se observa en perspectiva la penetración del cemento. Las barras de escala equivalen a 1  $\mu\text{m}$  (paneles A,B y D) y 10  $\mu\text{m}$  (panel C).

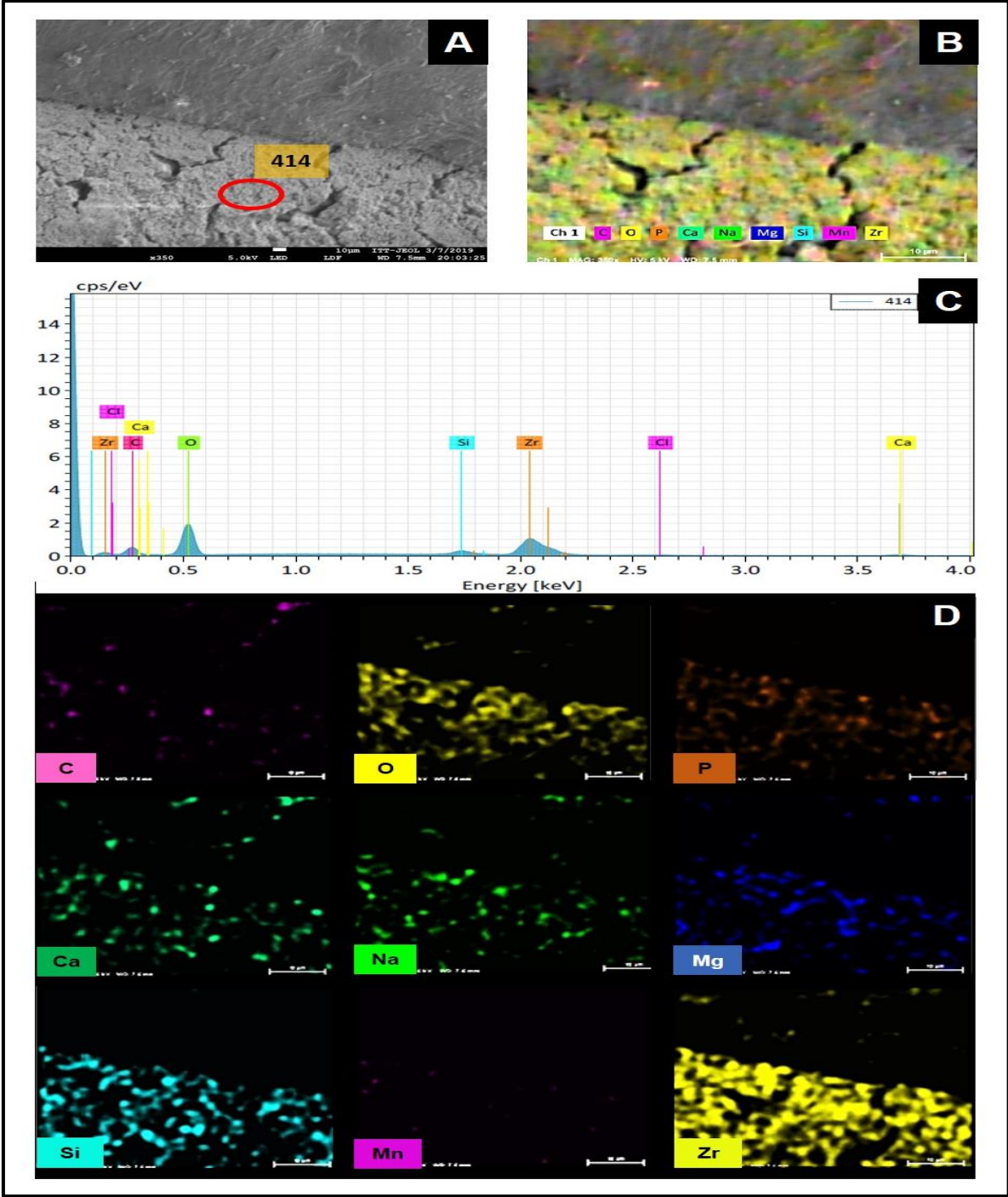


Figura 42. Mapeo por dispersión de rayos x.

Análisis elemental resultante del mapeo por dispersión de rayos x del cemento sellador EdgeBioCeramic Sealer en una zona de un órgano dentario obturado.

**CONCLUSIONES**

Se caracterizó por microscopia de fluorescencia confocal la profundidad y porcentaje de penetración del cemento sellador EdgeBioceramic Sealer hacia los túbulos dentinarios en dientes con y sin tratamiento preobturación con  $\text{Ca(OH)}_2$  a los niveles apical medio y cervical. Las conclusiones se enlistan a continuación:

**Profundidad de penetración**

1. El cemento objeto de estudio presentó una tendencia creciente en su profundidad de penetración al ser evaluado en los tercios apical, medio y cervical, sin diferencia estadísticamente significativa entre las condiciones de preobturación ( $p < 0.05$ ).
2. Para la condición con tratamiento preobturación se observó diferencia estadísticamente significativa entre los tercios apical-medio y apical-cervical ( $p < 0.05$ ).
3. Para la condición sin tratamiento preobturación se observó diferencia estadísticamente significativa únicamente entre los tercios apical-cervical ( $p < 0.05$ ).
4. En el tercio apical no se observó diferencia estadísticamente significativa entre la emisión de fluorescencia del cemento en condiciones de tratamiento con  $\text{Ca(OH)}_2$  y la emisión de fluorescencia del control ( $p > 0.05$ ), así como una proporción de ca. 3:1 en la profundidad de penetración del cemento en dientes sin tratamiento con respecto a dientes con tratamiento (aunque sin diferencia significativa entre condiciones,  $p > 0.05$ ). Por lo anterior, se concluye que la posible generación de residuos de  $\text{Ca(OH)}_2$ , en combinación con la obliteración natural de los túbulos dentinarios en este tercio, provocan una disminución en la profundidad de penetración del cemento estudiado.

### Porcentaje de penetración

5. El cemento objeto de estudio presentó una tendencia creciente en su porcentaje de penetración al ser evaluado en los tercios apical, medio y cervical, sin diferencia estadísticamente significativa entre las condiciones de preobtención ( $p < 0.05$ ).
6. En ambas condiciones de tratamiento preobtención se observó diferencia estadísticamente significativa únicamente entre los tercios apical-cervical ( $p < 0.05$ ).
7. En el tercio apical no se observó diferencia estadísticamente significativa entre la emisión de fluorescencia del cemento en ambas condiciones de tratamiento preobtención y la emisión de fluorescencia del control ( $p > 0.05$ ). Por lo anterior, se concluye que la obliteración natural de los túbulos dentinarios en este tercio es el factor que ejerce mayor influencia en la disminución del porcentaje de penetración del cemento estudiado.

### En general

8. Considerando los resultados obtenidos, se valida a la microscopía de fluorescencia confocal como una técnica de vanguardia, versátil y muy adecuada para la evaluación de la capacidad de penetración de cementos endodónticos selladores.
9. Con base en todo lo anterior, se confirma la hipótesis alternativa (H1) de este proyecto.

## **RECOMENDACIONES**

Como trabajo a futuro se recomienda ampliar la caracterización del cemento objeto de estudio, tanto en términos de su eficiencia de penetración por técnicas adicionales de imagen, como de sus características fisicoquímicas y geológicas.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Accreditation D. Commission on Dental Accreditation Accreditation Standards for Advanced Specialty Education Programs in Endodontics.
2. Canalda Carlos BE. Endodoncia, Técnicas Clínicas y Bases Científicas Cient, Bases. 3.a edició. MASSON E, editor. España, S.L: MASSON; 2014.
3. Stephen Cohen, Hargreaves KM. Vías de la Pulpa. 10.<sup>a</sup> Edici. Elsevier, editor. España; 2011. 496-562 p.
4. Estrela C. Ciencia Endodóntica. 2005th ed. Americana, editor. Vol. 39, Animal Genetics. Brasil; 2008. 561-563 p.
5. Goldber S. \_Endodoncia, Técnica y Fundamentos-Soares&Golberg.pdf. 2002. p. 03-316.
6. Stephen Cohen RCB. Vías de la Pulpa. 8.a. Madrid, España: Elsevier España, S.A; 2004.
7. Zorzín J, Wießner J, Wießner T, Lohbauer U, Petschelt A, Ebert J. Removal of radioactively marked calcium hydroxide from the root canal: Influence of volume of irrigation and activation. J Endod. 2016;42(4):637–40.
8. Trowbridge HO. Review of dental pain-histology and physiology. J Endod. 1986;12(10):445–52.
9. Kim O. Influence of calcium hydroxide intracanal medication on apical seal. Int Endod J. 2002;623–8.
10. Zhang W, Li Z, Peng B. Assessment of a new root canal sealer ' s apical sealing ability. YMOE [Internet]. 2009;107(6):e79–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.02.024>

11. Çalt S, Serper A. Dentinal tubule penetration of root canal sealers after root canal dressing with calcium hydroxide. *J Endod.* 1999;25(6):431–3.
12. Practice P. Incomplete calcium hydroxide removal from the root canal : a case report. 1997;418–21.
13. Ma J, Shen Y, Yang Y, Gao Y, Wan P, Gan Y, et al. In vitro study of calcium hydroxide removal from mandibular molar root canals. *J Endod* [Internet]. 2015;41(4):553–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.11.023>
14. Komabayashi T, D'souza RN, Dechow PC, Safavi KE, Spångberg LSW. Particle Size and Shape of Calcium Hydroxide. *J Endod* [Internet]. 2009;35(2):284–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2008.11.017>
15. Uzunoglu-Özyürek E, Erdoğan Ö, Aktemur Türker S. Effect of Calcium Hydroxide Dressing on the Dentinal Tubule Penetration of 2 Different Root Canal Sealers: A Confocal Laser Scanning Microscopic Study. *J Endod.* 2018;44(6):1018–23.
16. Alturaiki S, Ms DDS, Lamphon H, Ms DDS, Edrees H, Ms DDS, et al. Efficacy of 3 Different Irrigation Systems on Removal of Calcium Hydroxide from the Root Canal: *J Endod* [Internet]. 2015;(21):1–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2014.07.033>
17. Silva LJM, Pessoa OF, Teixeira MBG, Gouveia CH, Braga RR. Micro-CT evaluation of calcium hydroxide removal through passive ultrasonic irrigation associated with or without an additional instrument. 2014;(Schwartz 2006):1–6.
18. Balvedi RPA, Versiani MA, Manna FF, Biffi JCG. A comparison of two techniques for the removal of calcium hydroxide from root canals. *Int Endod J.* 2010;43(9):763–8.
19. Wiseman A, Cox TC, Paranjpe A, Flake NM, Cohenca N, Johnson JD. Efficacy of Sonic and Ultrasonic Activation for Removal of Calcium Hydroxide from Mesial Canals of Mandibular Molars : A Microtomographic Study. *J Endod* [Internet]. 2011;37(2):235–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2010.11.019>

20. Tas T. Efficacy of several techniques for the removal of calcium hydroxide medicament from root canals. 2011;505–9.
21. Nandini S, Velmurugan N, Kandaswamy D. Removal Efficiency of Calcium Hydroxide Intracanal Medicament With Two Calcium Chelators: Volumetric Analysis Using Spiral CT, An In Vitro Study. *J Endod*. 2006;32(11):1097–101.
22. Mancini M, Cerroni L, Iorio L, Armellin E, Conte G, Cianconi L. Smear Layer Removal and Canal Cleanliness Using Different Irrigation Systems ( EndoActivator , EndoVac , and Passive Ultrasonic Irrigation ): Field Emission Scanning Electron Microscopic Evaluation in an In Vitro Study. *J Endod* [Internet]. 2013;39(11):1456–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2013.07.028>
23. Jj S. Sistemas ultrasónicos para la irrigación del sistema de conductos radiculares. 2014;30(2):79–94.
24. Generali L, Cavani F, Serena V, Pettenati C, Righi E, Bertoldi C. Effect of Different Irrigation Systems on Sealer Penetration into Dentinal Tubules. *J Endod* [Internet]. 2017;43(4):652–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2016.12.004>
25. Grossman. An improved root canal cement. *J Am Dent Assoc*. 1958;VO LUME 56:381–5.
26. Kenneth A, Dennis G. Bioceramics Part 1: The Clinician ' s Viewpoint b. 2012;(January).
27. Giacomino CM, Wealleans JA, Kuhn N. Comparative Biocompatibility and Osteogenic Potential of Two Bioceramic Sealers. *J Endod* [Internet]. 2019;45(1):51–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.08.007>
28. Wang Z. Bioceramic materials in endodontics. *Endod Top*. 2015;3–30.
29. Malhotra S, Hegde MN, Shetty C. Bioceramic Technology in Endodontics.

- 2014;4(12):2446–54.
30. EdgeEndo. EdgeEndo [Internet]. [cited 2019 May 12]. Available from: [https://edgeendo.com/wp-content/uploads/2018/05/EdgeBioCeramic-Sealer-Flyer\\_2.pdf](https://edgeendo.com/wp-content/uploads/2018/05/EdgeBioCeramic-Sealer-Flyer_2.pdf)
  31. Review ADER. Ventajas y desventajas de la técnica de cono único. 2016;73(4):170–4.
  32. Tas T, Yildirim T, Buruk K, Cora S, Tahan E, Tuncel B, et al. Comparison of the sealing ability of three filling techniques in canals shaped with two different rotary systems : A. (Lc):129–34.
  33. Chybowski EA, Glickman GN, Patel Y, Fleury A, Solomon E, He J. Clinical Outcome of Non-Surgical Root Canal Treatment Using a Single-cone Technique with Endosequence Bioceramic Sealer: A Retrospective Analysis. J Endod [Internet]. 2018;44(6):941–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.02.019>
  34. Chandra SS, Shankar P, Indira R. Depth of Penetration of Four Resin Sealers into Radicular Dentinal Tubules : A Confocal Microscopic Study. J Endod [Internet]. 2012;38(10):1412–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2012.05.017>
  35. McMichael GE, Primus CM, Opperman LA. Dentinal tubule penetration of tricalcium silicate sealers. J Endod [Internet]. 2016;42(4):632–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2015.12.012>
  36. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Graeff MSZ, del Carpio Perochena A, Vivan RR, Camargo EJ, et al. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: A confocal laser scanning microscopy study. Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology [Internet]. 2009;108(3):450–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.04.024>

37. López-Macay A, Fernández-Torres J, Zepeda A, Nacional U. Principios y aplicaciones de la microscopia láser confocal en la investigación biomédica. *Investig en Discapac* [Internet]. 2016;5(3):156–64. Available from: [www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)  
<http://www.medigraphic.com/rid>  
[www.medigraphic.org.mx](http://www.medigraphic.org.mx)
38. Nistal ÁM. Microscopía láser confocal. *Serv Proceso Imágenes Univ Oviedo* [Internet]. 2003;1–20. Available from: [http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Departamentos/Samp/Microbiologia/Microscop ia de laser confocal PDF.pdf](http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Departamentos/Samp/Microbiologia/Microscopia%20de%20laser%20confocal%20PDF.pdf)
39. Thermofisher. No Title [Internet]. 2019 [cited 2019 May 27]. Available from: [https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/cell-analysis/labeling-chemistry/fluorescence-spectraviewer.html?SID=srch-svtool&UID=2761old\\_2](https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/cell-analysis/labeling-chemistry/fluorescence-spectraviewer.html?SID=srch-svtool&UID=2761old_2)
40. EdgeEndo. sapphire 1-855-985-3636 • [Internet]. 2019 [cited 2019 May 12]. Available from: <https://www.edgeendo.com/wp-content/uploads/2015/08/DFU-Sequel-Sapphire4.pdf>
41. Jeong JW, Degraft-johnson A, Dorn SO, Fiore PM Di. Dentinal Tubule Penetration of a Calcium Silicate – based Root Canal Sealer with Different Obturation Methods. *J Endod* [Internet]. 2017;1–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2016.11.023>
42. Bitter K, Paris S, Martus P, Schartner R, Kielbassa AM. A Confocal Laser Scanning Microscope investigation of different dental adhesives bonded to root canal dentine. 2004;840–8.