

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**PROGRAMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**



**PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DE LOS CEMENTOS  
SELLADORES AH PLUS, MTA FILLAPEX Y BIOROOT RCS EN LOS TÚBULOS  
DENTINARIOS UTILIZANDO LA TÉCNICA DE OBTURACIÓN DE CONO ÚNICO:  
CARACTERIZACIÓN IN-VITRO POR MICROSCOPIA CONFOCAL**

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

**PRESENTA**

**C.D. ALEJANDRA GUADALUPE ANGULO MUÑOZ**

**PRESIDENTE**

**(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)**

**DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ**

**SINODAL**

**(CO-DIRECTOR DEL PROYECTO)**

**DR. MANUEL ALATORRE MEDA**

**TIJUANA, BAJA CALIFORNIA**

**JUNIO DEL 2018**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DE LOS CEMENTOS SELLADORES AH PLUS, MTA FILLAPEX Y BIOROOT RCS EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS UTILIZANDO LA TÉCNICA DE OBTURACIÓN DE CONO ÚNICO: CARACTERIZACIÓN IN-VITRO POR MICROSCOPIA CONFOCAL.**

Propuesto por el **C.D. Alejandra Guadalupe Angulo Muñoz**, 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**

**PRESIDENTE  
(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DE LOS CEMENTOS SELLADORES AH PLUS, MTA FILLAPEX Y BIOROOT RCS EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS UTILIZANDO LA TÉCNICA DE OBTURACIÓN DE CONO ÚNICO: CARACTERIZACIÓN IN-VITRO POR MICROSCOPIA CONFOCAL.**

Propuesto por el **C.D. Alejandra Guadalupe Angulo Muñoz**, 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**

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

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA  
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, B.C. a 23 de mayo de 2018

**AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DE LOS CEMENTOS SELLADORES AH PLUS, MTA FILLAPEX Y BIOROOT RCS EN LOS TÚBULOS DENTINARIOS UTILIZANDO LA TÉCNICA DE OBTURACIÓN DE CONO ÚNICO: CARACTERIZACIÓN IN-VITRO POR MICROSCOPIA CONFOCAL.**

Propuesto por el **C.D. Alejandra Guadalupe Angulo Muñoz**, 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.

**PROFUNDIDAD Y PORCENTAJE DE PENETRACIÓN DE LOS CEMENTOS  
SELLADORES AH PLUS, MTA FILLAPEX Y BIOROOT RCS EN LOS TÚBULOS  
DENTINARIOS UTILIZANDO LA TÉCNICA DE OBTURACIÓN DE CONO ÚNICO:  
CARACTERIZACIÓN IN-VITRO POR MICROSCOPIA CONFOCAL.**

**Presenta:**

---

C.D. Alejandra Guadalupe Angulo Muñoz

**Directora:**

---

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

**Co-directores:**

---

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

---

Dr. Manuel Alatorre Meda

Tijuana, Baja California, 29 de mayo de 2018

## AGRADECIMIENTOS

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

Con gratitud abrumadora, agradezco a mi Directora de 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.

Mi más sincero y especial agradecimiento a la Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez, Co-Directora de esta tesis, que se ha tomado de paciencia, esfuerzo y dedicación para ayudarme a preparar mi tesis dentro del período estipulado.

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.

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.

Agradezco al C.D. Gustavo Martínez Coronilla de la Facultad de Medicina UABC, por su ayuda en la obtención del reactivo fluorescente necesario en este estudio.

## AGRADECIMIENTOS

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

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.

### **Agradecimientos a proyectos:**

Proyecto de PRODEP: UABC-PTC-689 “Síntesis y caracterización fisicoquímica/biológica de membranas reabsorbibles a partir de polímeros naturales para el tratamiento regenerativo de lesiones periodontales irreversibles”. Responsable: Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez.

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   |
| CONTENIDO.....                                      | iv  |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....                             | vii |
| ÍNDICE DE GRÁFICAS.....                             | ix  |
| LISTA DE ABREVIATURAS.....                          | x   |
| RESUMEN .....                                       | 1   |
| INTRODUCCIÓN .....                                  | 2   |
| Endodoncia .....                                    | 2   |
| Complejo Dentino-Pulpar .....                       | 2   |
| Pulpa.....  | 2   |
| Dentina.....  | 4   |
| Microbiología endodóntica .....                     | 6   |
| Obturación .....                                    | 8   |
| Propiedades de un material de obturación.....       | 8   |
| Clasificación de los materiales de obturación ..... | 8   |
| Gutapercha .....                                    | 9   |
| Cemento sellador.....                               | 10  |
| Cementos a base de resina .....                     | 11  |
| AH Plus.....  | 12  |
| Cementos a base de MTA .....                        | 13  |
| MTA Fillapex.....                                   | 13  |
| Cementos selladores biocerámicos .....              | 14  |
| BioRoot RCS.....                                    | 15  |

|  |    |
|--|----|
| Técnicas de Obturación .....   | 16 |
| Técnica de cono único .....  | 16 |
| Penetración de los cementos selladores a los túbulos dentinarios ..... | 17 |
| Microscopía de fluorescencia confocal .....                            | 19 |
| La fluorescencia.....  | 21 |
| Funcionamiento del equipo .....  | 22 |
| Ventajas de la microscopía de fluorescencia confocal.....              | 22 |
| ANTECEDENTES .....   | 25 |
| JUSTIFICACIÓN .....  | 30 |
| PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....                                       | 31 |
| HIPÓTESIS .....  | 32 |
| Hipótesis de trabajo .....   | 32 |
| Hipótesis nula (H0).....   | 32 |
| Hipótesis alternativa (H1) .....                                       | 32 |
| OBJETIVOS .....  | 33 |
| Objetivo general .....   | 33 |
| Objetivos específicos .....  | 33 |
| VARIABLES .....  | 34 |
| Variables independientes.....  | 34 |
| Variables dependientes.....  | 34 |
| Operación de variables .....   | 34 |
| MATERIALES Y MÉTODOS .....   | 35 |
| Tipo de estudio.....   | 35 |
| Universo de estudio .....  | 35 |
| Criterios de inclusión.....  | 35 |

|   |    |
|---|----|
| Criterios de exclusión.....   | 35 |
| Criterios de eliminación.....   | 35 |
| Metodología .....   | 36 |
| Preparación de las muestras .....   | 36 |
| Grupo AH Plus.....  | 39 |
| Grupo MTA Fillapex .....  | 42 |
| Grupo BioRoot RCS.....  | 45 |
| Grupo Control Rodamina B.....   | 48 |
| Preparación de las muestra para su caracterización por microscopía de fluorescencia confocal..... | 49 |
| Análisis de las imágenes.....   | 54 |
| Porcentaje de penetración .....   | 54 |
| Profundidad de penetración .....  | 56 |
| Análisis estadístico.....   | 57 |
| RESULTADOS.....   | 58 |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....  | 62 |
| Conclusiones.....   | 62 |
| Recomendaciones .....   | 63 |
| BIBLIOGRAFÍA .....  | 64 |

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Complejo dentino-pulpar. .... 3

Figura 2. Micrografía SEM de túbulos dentinarios. .... 5

Figura 3. Micrografía SEM de túbulos dentinarios infectados. .... 6

Figura 4. Presentación comercial del cemento sellador AH Plus (Dentsply de Trey). .... 12

Figura 5. Presentación comercial del cemento sellador MTA Fillapex (Angelus). .... 14

Figura 6. Presentación comercial del cemento sellador BioRoot RCS (Septodont). .... 15

Figura 7. Microscopía estereoscópica. .... 17

Figura 8. Microscopía electrónica de barrido (SEM). .... 18

Figura 9. Microscopía óptica tradicional. .... 18

Figura 10. Microscopía de fluorescencia confocal. .... 19

Figura 11. Esquema del principio de la microscopía fluorescente confocal. .... 20

Figura 12. Espectro de absorción y de emisión de la Rodamina B. .... 21

Figura 13. Microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 y su esquema básico de su funcionamiento. .... 24

Figura 14. Dientes incisivos mandibulares. .... 37

Figura 15. Radiografías representativas de los incisivos mandibulares objeto de estudio, vistas bucolingual (izquierda) y mesiodistal (derecha). .... 38

Figura 16. Remoción de las coronas anatómicas de los especímenes. .... 39

Figura 17. Campo de trabajo. .... 39

Figura 18. Pesado del cemento sellador AH Plus en una microbalanza de precisión... 40

Figura 19. Preparación del cemento sellador AH Plus cargado con Rodamina B y obturación de las muestras. .... 41

Figura 20. Incubación de las muestras. .... 42

Figura 21. Radiografías de los incisivos obturados con el cemento sellador AH Plus. . 42

Figura 22. Pesado del cemento sellador MTA Fillapex en una microbalanza de precisión. .... 43

Figura 23. Preparación del cemento sellador MTA Fillapex cargado con Rodamina B y obturación de las muestras. .... 44

|   |    |
|---|----|
| Figura 24. Radiografías de los incisivos obturados con el cemento sellador MTA Fillapex.....  | 45 |
| Figura 25. Pesado del cemento sellador BioRoot RCS en una microbalanza de precisión.....  | 46 |
| Figura 26. Preparación del cemento sellador BioRoot RCS cargado con Rodamina B y obturación de las muestras. ....                               | 47 |
| Figura 27. Radiografías de los incisivos obturados con el cemento sellador BioRoot RCS.....   | 47 |
| Figura 28. Muestras listas para su recorte en tercios.....  | 50 |
| Figura 29. Sección de las muestras con micromotor.....  | 50 |
| Figura 30. Desgaste manual de cada tercio con lijas de agua de diferentes granos. ...   | 51 |
| Figura 31. Muestras desgastadas manualmente. ....   | 51 |
| Figura 32. Muestra en el interior de una Caja de Petri con base de cubreobjetos. ....   | 52 |
| Figura 33. Fotografía de la muestra montada en la platina del el microscopio de fluorescencia confocal Leica SP8 TCS. ....                      | 52 |
| Figura 34. Micrografías confocal representativas de cada grupo.....   | 53 |
| Figura 35. Medición de la circunferencia de la pared del conducto para el cálculo del porcentaje de penetración de los cementos selladores..... | 54 |
| Figura 36. Medición de las zonas de penetración para el cálculo del porcentaje de penetración de los cementos selladores. ....                  | 55 |
| Figura 37. Medición de la profundidad de penetración.....   | 56 |

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

|  |    |
|--|----|
| Gráfica 1. Porcentaje de penetración de los cementos MTA Fillapex, AH Plus y BioRoot RCS hacia los túbulos dentinarios de incisivos centrales inferiores a nivel apical, medio y cervical. ....          | 60 |
| Gráfica 2. Profundidad de penetración de los cementos MTA Fillapex, AH Plus y BioRoot RCS a lo largo de los túbulos dentinarios de incisivos centrales inferiores a nivel apical, medio y cervical. .... | 61 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                      |   |
|----------------------|---|
| <b>ANOVA</b>         | Análisis de la Varianza   |
| <b>AOBS</b>          | Divisor de haz acústico-óptico (Acousto-Optical Beam Splitter)            |
| <b>AOTF</b>          | Filtros sintonizables acústico-óptico (Acousto-Optic Tunable Filters)     |
| <b>ca.</b>           | Alrededor de  |
| <b>CI</b>            | Irrigación Convencional   |
| <b>CLSM</b>          | Microscopía de Fluorescencia Confocal                                     |
| <b>CW</b>            | Onda Continua   |
| <b>EDTA</b>          | Ácido Etilendiaminotetraacético   |
| <b>e.g.</b>          | Por ejemplo   |
| <b>ER: YAG LASER</b> | Láser de granate de itrio y aluminio dopado con erbio: láser de erbio YAG |
| <b>i.e.</b>          | Es decir  |
| <b>MTA</b>           | Agregado de Trióxido Mineral  |
| <b>PIPS</b>          | Activación de flujo fotoacústico inducida por fotones                     |
| <b>PUI</b>           | Irrigación Pasiva con Ultrasonido   |

## LISTA DE ABREVIATURAS

**SC**

Cono Único

**SEM**

Microscopía Electrónica de Barrido

## RESUMEN

El éxito de la terapia endodóntica depende de la combinación de varios factores, entre los que figuran: una buena preparación biomecánica, la desinfección total por medio de irrigación y una correcta obturación del sistema de conductos radiculares. Esta última etapa es crítica ya que a través de ella se debe asegurar un sellado homogéneo y tridimensional del conducto, que haga factible su hermetismo total y evite por tanto la microfiltración de bacterias. Entre otros, los cementos selladores deben sellar los conductos tanto lateral como apicalmente y adaptarse íntimamente a la dentina del conducto radicular. Por lo tanto, la penetración del cemento sellador en los túbulos dentinarios constituye un requisito ineludible para la ejecución de una terapia endodóntica exitosa, ya que mejora la conexión del sellador y la dentina, aumentando así su capacidad de sellado y retención.

El objetivo de este estudio fue evaluar y comparar la profundidad y el porcentaje de penetración de los cementos selladores AH Plus, MTA Fillapex y BioRoot RCS en los túbulos dentinarios de conductos radiculares obturados con la técnica de cono único. Los parámetros objeto de estudio fueron evaluados por microscopía de fluorescencia confocal.

Se utilizaron 34 dientes incisivos mandibulares de reciente extracción con un solo conducto, mismos que fueron divididos al azar en 4 grupos: Grupo AH Plus (n=10), Grupo MTA Fillapex (n=10), Grupo BioRoot RCS (n=10) y Grupo control Rodamina B (n=4). Las muestras se seccionaron en tres partes de 0.4 mm cada una a niveles 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 el campo de la odontología que estudia la morfología de la cavidad pulpar, la fisiología y la patología de la pulpa dental, así como la prevención y el tratamiento de las alteraciones pulpares y de sus repercusiones sobre los tejidos periapicales (1).

La endodoncia, como conjunto de conocimientos metódicamente formado y ordenado, constituye una ciencia, integrada en el conjunto de las ciencias de la salud. Su objetivo es el estudio de la estructura, la morfología, la fisiología y la patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares. En su ámbito integra las ciencias básicas y clínicas que se ocupan de la biología de la pulpa, así como la etiopatogenia, el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de las enfermedades y lesiones de la misma y de los tejidos perirradiculares asociados (2).

La endodoncia se relaciona 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).

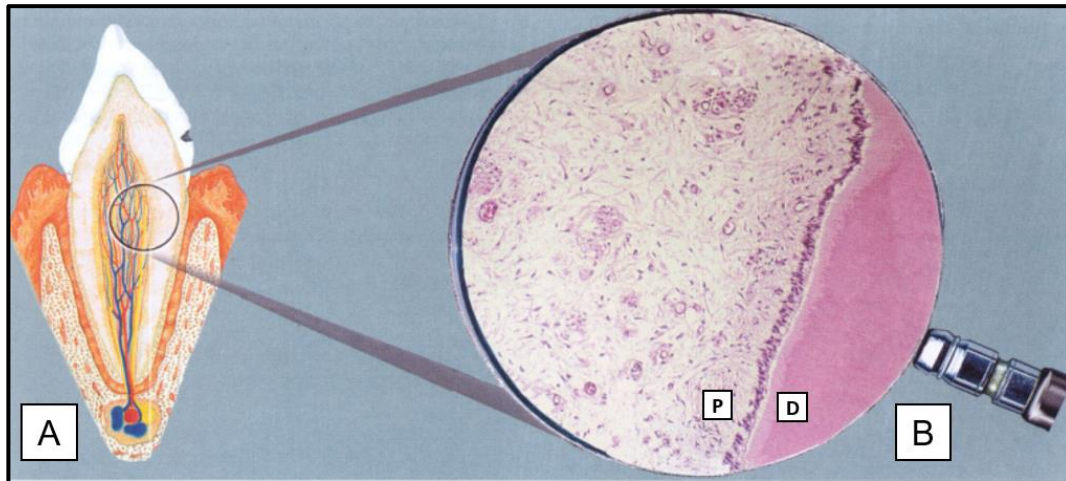
Teniendo en cuenta lo anterior y con el objetivo de contextualizar este trabajo de investigación, en las sub-secciones siguientes de esta introducción se abordarán distintos conceptos, tanto biológicos como técnicos, relacionados con las características y aplicación de cementos selladores.

### **Complejo Dentino-Pulpar**

#### **Pulpa**

La pulpa es un tejido conectivo laxo que está encerrado en el interior de la cámara

pulpar y de los conductos radiculares (Figura 1), lo que condiciona que su volumen vaya disminuyendo en el transcurso de los años por la continua formación de dentina. La pulpa reproduce generalmente la morfología externa del diente, y en ella pueden distinguirse varias áreas anatómicas de gran importancia en el tratamiento endodóntico (2).



**Figura 1. Complejo dentino-pulpar.**

**A. Esquema de un canino inferior en donde es posible observar la relación de la pulpa con la dentina que la circunda y con los tejidos periapicales, a través del foramen apical. B. Microfotografía del complejo dentina (D)-pulpa (P) a un acercamiento de 10X.**

La pulpa está constituida por un 25% de materia orgánica y un 75% de agua. La materia orgánica está compuesta por células (dentinoblastos, fibroblastos, fibrocitos, macrófagos o histiocitos, células dendríticas, linfocitos, células mesenquimatosas indiferenciadas y mastocitos), fibras (colágenas, reticulares y de oxitalano) y sustancia fundamental (glucosaminoglucanos, proteoglucanos, colágeno, elastina, interleucinas-1, fibronectina) (2).

La pulpa esta vazcularizada por arteriolas que penetran por las foraminas apicales y en el centro de la pulpa forman un amplio plexo del que salen vasos de menor calibre hacia la periferia, formando el plexo capilar subdentinoblástico. La capa muscular de estas arteriolas es muy delgada con respecto a otras localizaciones. Las vénulas

acompañan a los capilares y poseen una luz más amplia; existen anastomosis directas con las arteriolas sin interposición capilar. También hay vasos linfáticos que se inician en el centro de la pulpa y salen por el foramen apical (2).

La pulpa esta ricamente inervada, y sus fibras nerviosas pueden penetrar por el foramen apical o por los conductos accesorios. Existen fibras responsables del control del flujo vascular, fibras que perciben los movimientos de fluidos en la dentina y fibras responsables del bloqueo de la transmisión del dolor en determinadas circunstancias (2).

Algunas de las funciones de la pulpa dental son:

Formativa. Esta función no solo se ha de contemplar durante el desarrollo embrionario, sino durante toda la vida del diente con la formación de dentina secundaria fisiológica o en situaciones patológicas de dentina secundaria reparativa o terciaria.

Nutritiva. Corre a cargo de los vasos sanguíneos existentes en la pulpa y que penetran, fundamentalmente, por el foramen apical.

Sensitiva. Corresponde a los 3 posibles mecanismos de sensibilidad dentinaria.

Protección. La pulpa realiza la protección mediante la formación de dentina secundaria reparativa o terciaria o por las células propias del tejido conectivo que responden ante un proceso, infeccioso o no (2).

### **Dentina**

La dentina es un tejido mineralizado de color blanco amarillento que delimita la cavidad donde se encuentra el tejido pulpar del diente. Este tejido se encuentra rodeado por esmalte en la zona de la corona y por cemento en la zona radicular; su espesor oscila entre 1 y 3 mm pero este puede variar en función tanto del órgano dental del que se trate como de la localización donde este se encuentre. A lo largo de toda la vida existe una formación continua del tejido dada tanto por condiciones fisiológicas como por

condiciones patológicas (2).



**Figura 2. Micrografía SEM de túbulos dentinarios.**

**Túbulos dentinarios cortados transversalmente. Se observa dentina peritubular e intertubular. Microscopía electrónica de barrido a un acercamiento de 3,000 X.**

La dentina está compuesta por un 70% de materia inorgánica, un 18% de materia orgánica y un 12% de agua. La materia inorgánica está constituida preferentemente por cristales de hidroxiapatita, mientras que la materia orgánica está compuesta de colágeno tipo I y de proteínas similares a las del hueso (2). Con respecto a su estructura, la dentina está constituida por una matriz o dentina intertubular y por una serie de túbulos dentinarios que la atraviesan.

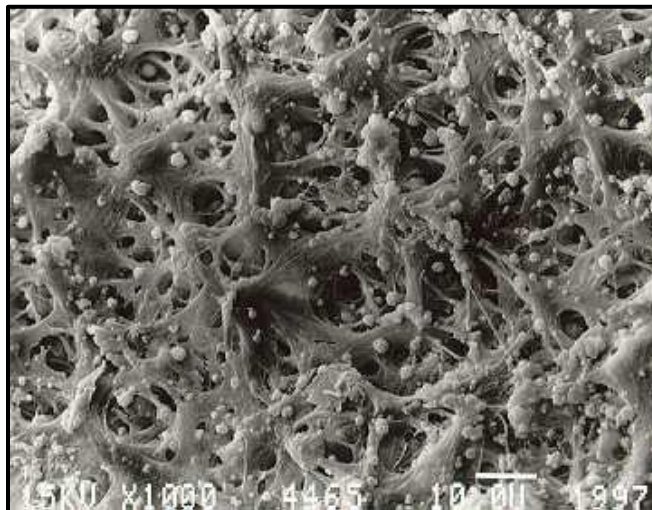
Los túbulos dentinarios (Figura 2) son estructuras cilíndricas, huecas, que se extienden desde la pulpa hasta el límite amelo-dentinario y están delimitados por la dentina peritubular, que tiene un espesor variable de 400 nm a la altura de la dentina circumpulpar y de 750 nm a la del manto. Los túbulos tienen un trayecto en “S” itálica que se conoce como curvaturas primarias o mayores, de convexidad coronaria en la corona; en la raíz la curvatura es menos pronunciada y de convexidad apical, mientras

que en el ápice los túbulos presentan curvaturas secundarias o menores cada 12  $\mu\text{m}$  (2).

El número y el diámetro de los túbulos son variables y dependen del nivel. 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 (2).

### **Microbiología endodóntica**

De las 600 especies microbianas relacionadas con la cavidad oral, en cada individuo solo se identifican de 50 a 150. Las bacterias pueden utilizar diversas puertas de entrada hacia la cavidad pulpar. En función de su magnitud y proximidad, la patología se instaura rápidamente o de forma prolongada (2).



**Figura 3. Micrografía SEM de túbulos dentinarios infectados.**

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

Una de las vías de invasión bacteriana es por los túbulos dentinarios, que miden, aproximadamente, entre 0.5-1  $\mu\text{m}$  de diámetro en la periferia y hasta 3-5  $\mu\text{m}$  cerca de la pulpa, un calibre suficiente para permitir el paso de bacterias (el tamaño medio de las bacterias es de 1  $\mu\text{m}$ , y el de las menores, de 0.3  $\mu\text{m}$ ). Cerca de la pulpa hay de 50,000 a 60,000 túbulos dentinarios por  $\text{mm}^2$ . Las bacterias, en el interior de los túbulos, avanzan más por división que por desplazamiento autónomo (Figura 3); su progresión puede facilitarse por la presión ejercida durante la inserción de determinados materiales de obturación. Este mecanismo de invasión es la causa más frecuente de afectación pulpar (2).

Las enfermedades pulpares y periapicales se relacionan principalmente con microorganismos y sus subproductos en el sistema de conductos radiculares (3). Esta microflora continúa para formar una biopelícula compleja, donde puede ocurrir la penetración en los túbulos dentinarios (4). El principal objetivo del tratamiento endodóntico es la eliminación de microorganismos del espacio del conducto radicular y la prevención de la reinfección. Los microorganismos persisten en áreas tales como conductos laterales y los túbulos dentinarios porque estas áreas proporcionan protección contra acciones desinfectantes de irrigantes (hipoclorito de sodio) y medicamentos intraconducto (hidróxido de calcio) (5).

El factor más importante en la falla del tratamiento endodóntico es la filtración de exudados periapicales hacia conductos que no están completamente obturados. Aproximadamente el 60% de los casos fallidos son causados por conductos radiculares completamente sin obturar (6).

El éxito de la terapia endodóntica depende de una buena preparación biomecánica, la desinfección por medio de la irrigación del sistema de conductos radiculares y de su correcta obturación. Esta última etapa es crítica (7) ya que debe tener características específicas como un sellado homogéneo y tridimensional que busca lograr hermetismo y evitar la microfiltración bacteriana (8).

### **Obturación**

La obturación del conducto radicular complementa el expresivo escalón de la triada endodóntica (apertura coronaria, saneamiento y sellado endodóntico). Asimismo, refuerza el concepto de la importancia de eliminar los espacios vacíos en el interior del diente (9).

Obturación se define como el reemplazo del contenido del conducto radicular y del espacio creado por la instrumentación biomecánica, por un material que lo rellene en forma permanente, tridimensional y estable, cerrando toda comunicación con la cavidad oral y el periodonto apical (10).

### **Propiedades de un material de obturación**

#### Propiedades biológicas

1) Buena tolerancia tisular; 2) ser reabsorbido en el periápice en caso de sobreobturación; 3) estimular o permitir la aposición de tejido fibroso de reparación; 4) acción antimicrobiana; 5) no desencadenar respuesta inmune en los tejidos apicales y periapicales; y 6) no ser mutagénico o cancerígeno (11).

#### Propiedades físico-químicas

1) Fácil de introducir en el conducto radicular; 2) ser plástico en el momento de la introducción y sólido posteriormente; 3) propiciar buen tiempo de trabajo; 4) permitir sellado en el conducto radicular lo más hermético posible; 5) no contraerse; 6) no ser permeable; 7) ser fluido; 8) buena viscosidad y adherencia; 9) no ser soluble dentro del conducto; 10) ser radiopaco; 11) tener pH próximo a neutro; 12) no manchar o pigmentar las estructuras dentales; 13) ser susceptible de esterilización; y 14) ser de fácil remoción (11).

### **Clasificación de los materiales de obturación**

Se clasifican dentro de dos grupos, materiales en estado sólido y materiales en estado plástico.

### Materiales sólidos

1) Conos de gutapercha y 2) conos de resina.

### Materiales plásticos

Cementos, de los cuales pueden ser: 1) a base de óxido de zinc; 2) a base de resina; 3) a base de hidróxido de calcio; 4) a base de ionómero de vidrio; 5) a base de silicona; 6) a base de MTA; y 7) biocerámicos (11).

## **Gutapercha**

La palabra gutapercha es de origen malayo: gatah “goma” y pertja “árbol”. Es una sustancia vegetal obtenida de un árbol de la familia de las Sapotáceas, del género Pallaquium, existente en Sumatra y en Filipinas, aunque se encuentra también en otras partes del mundo, como en la selva amazónica (Brasil) (11).

La gutapercha es un polímero de isopreno que está compuesto de un 66% de óxido de zinc, 20% de gutapercha, 11% de metales pesados, 3% de ceras o resinas y colorantes. Químicamente existen dos formas de gutapercha, alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ). La gutapercha alfa se utiliza en sistemas de obturación termoplastificados y la beta es la gutapercha comercial, con un punto de fusión de 64°C, convirtiéndose en gutapercha alfa al calentarla a 46 °C y regresando a la forma beta al enfriarse rápidamente con gran contracción que debemos de compensar con condensación vertical. Es insoluble en agua, ligeramente soluble en eucaliptol, soluble en éter, xilol, benceno, halotano, trementina y cloroformo (9).

La gutapercha es un material de referencia como relleno del conducto radicular. Cumple con la mayoría de los criterios establecidos por Grossman para el buen desempeño de un material de relleno, tales como: 1) es de fácil de introducción al interior de los conductos radiculares; 2) presenta estabilidad dimensional; 3) es impermeable; 4) es bacteriostático; 5) no es irritante para los tejidos periapicales; 6) es radiopaco; 7) no produce cambios de coloración en el órgano dentario; 8) es estéril; 9)

sella la totalidad del conducto tanto lateral como apicalmente; y 10) se retira con facilidad del conducto en caso de ser necesario. Sin embargo, debido a su falta de fluidez y adhesión a las irregularidades del conducto, la gutapercha debe ser combinada con un cemento sellador, el cual actúa como interfaz entre el material y la estructura dentaria. El cemento sellador mejora el sellado durante la compactación al penetrar en áreas pequeñas, normalmente inaccesibles, i.e. los túbulos dentinarios (12). Además, el cemento sellador puede ayudar a la desinfección del conducto y aporta un efecto lubricante, facilitando la técnica de obturación (10, 13).

### **Cemento sellador**

La función de un cemento sellador es eliminar la interfaz existente entre el material núcleo de relleno y las paredes dentinarias del conducto radicular con la finalidad de conseguir una obturación tridimensional (14).

De acuerdo con Grossman, un buen cemento sellador debe reunir las siguientes características:

1) Debe adherirse al material núcleo de obturación y a las paredes dentinarias del conducto radicular; 2) sellar herméticamente los conductos radiculares; 3) radiopaco; 4) ausencia de contracción al fraguar; 5) bacteriostático; 6) no provocar cambios de color; 7) tiempo de fraguado lo suficientemente lento para poder realizar la técnica de obturación; 8) insoluble en fluidos; 9) biocompatible; 10) no debe ser mutagénico, ni carcinogénico; y 11) no debe generar reacción inflamatoria al ponerse en contacto con los tejidos periapical (14).

La mayoría de los selladores tienen estas capacidades, especialmente cuando la capa de barrillo dentinario se elimina de la dentina con EDTA. Además, los selladores también pueden ejercer un efecto antibacteriano, y por lo tanto su capacidad para penetrar en los túbulos dentinarios puede ser especialmente beneficioso para controlar o matar las bacterias que pueden estar localizadas allí. Por lo tanto, es importante que el porcentaje de la interfaz sellador / dentina que está cubierto por el sellador y el grado

de penetración de los túbulos por el sellador sea lo más grande posible en todos los casos, ya sea previamente infectado o no (12).

La penetración de cementos selladores en los túbulos dentinarios se considera un resultado deseable por varias razones: aumentará la interfaz entre el material y la dentina, mejorando así la capacidad de sellado y la retención del material puede mejorarse mediante un bloqueo mecánico. La penetración de cementos selladores en los túbulos dentinarios está influenciada por una serie de factores que incluyen eliminación de la capa de barrillo dentinario, permeabilidad de la dentina, técnica de obturación y variaciones en las propiedades físicas y químicas de los cementos selladores (15).

Se pueden agrupar de acuerdo con sus componentes básicos, como: óxido de zinc-eugenol, hidróxido de calcio, resinas, ionómero de vidrio, siliconas, MTA y biocerámicos (4).

Algunas propiedades de los selladores son bien conocidas. Los selladores de óxido de zinc-eugenol tienen actividad antibacteriana, mientras que presentan cierta toxicidad cuando se colocan directamente en tejidos vitales; los selladores basados en resina tienen una fuerza de unión eficiente a la dentina; los selladores basados en hidróxido de calcio presentan biocompatibilidad, baja citotoxicidad y propiedades antimicrobianas; recientemente los selladores basados en MTA presentan excelentes propiedades fisicoquímicas; y los cementos biocerámicos muestran pH alcalino, actividad antibacteriana, radiopacidad y biocompatibilidad (16, 17).

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

Es una combinación macromolecular sintética del grupo de resinas epoxi. Estos cementos se indican con frecuencia por su excelente adherencia a la dentina, aspecto que ha sido adjudicado a la presencia de resina en su fórmula. Esta adhesividad otorga a los cementos de éste grupo propiedades de sellado apical sobresaliente. Se le atribuyen propiedades físico-químicas: estabilidad dimensional, radiopacidad

satisfactoria, adhesividad, solubilidad, etc.

Entre los cementos a base de resina encontramos: AH26, AH Plus y TopSeal.

### AH Plus

Es un sellador a base de resina epoxi amina, considerado como estándar de oro por sus propiedades físicas y químicas, como la radiopacidad, biocompatibilidad, el flujo y el sellado (18). Sus ventajas son: 1) propiedades sellantes de larga duración; 2) excelente estabilidad dimensional; y 3) propiedades autoadhesivas.

Su presentación es pasta-pasta, colocadas en dos tubos de 4 ml c/u (Figura 4), con la composición según el fabricante: (i) Pasta A: resina epóxica, tungstenato de calcio, óxido de circonio, aerosil y pigmento y (ii) Pasta B: amina adamantina; N,N-dibencil-5-oxanonandiamina-1,9; TCD-diamina; tungstenato de calcio; óxido de circonio; aerosil; y aceite de silicona (1). Su tiempo de trabajo es de 4 horas a 23°C y su tiempo de fraguado es de 8 horas a 37°C. La proporción adecuada de la mezcla es por partes iguales de ambas pastas (1:1).



**Figura 4. Presentación comercial del cemento sellador AH Plus (Dentsply de Trey).**

**El cemento se prepara a partir de la combinación de dos pastas a base de resina (A y B), contenidas en tubos de 4 ml.**

## **Cementos a base de MTA**

Existen varios cementos endodónticos preparados a base de agregado de trióxido mineral (MTA, por sus siglas en inglés). Su composición química básica parte del cemento Portland tipo 1, un cemento común en la construcción de edificios, carreteras, puentes, presas y obras en general. Los cementos MTA son, por tanto, cementos Portland modificados para uso odontológico. Los cementos MTA favorecen la formación de hueso y cemento, y pueden facilitar la regeneración del ligamento periodontal sin provocar inflamación.

En general, los polvos de MTA consisten de partículas finas hidrófilas que fraguan en presencia de humedad. Sus principales componentes son: silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, aluminato férrico tetracálcico, sulfato de calcio dihidratado y sílice cristalina, además de restos insolubles como óxido de calcio, sulfato de potasio, sulfato de sodio y óxido de magnesio. Finalmente, pueden también contener pequeñas cantidades de algunos otros óxidos minerales con el objetivo de dotar al material de propiedades químicas y físicas necesarias para su aplicación clínica, tales como el óxido de bismuto que hace al material radiopaco (19).

### **MTA Fillapex**

Primer sellador con contenido de MTA. Es un material de resina de salicilato que contiene un 13.2% de partículas de MTA fragmentadas con silicato di- y tricálcico, sílice (como carga) y óxido de bismuto (como medio de contraste) (20). Es biocompatible, de alta radiopacidad, excelente fluidez, expansión de fraguado, libera iones calcio, tiempo de trabajo adecuado y de fácil remoción. Tiene un tiempo de trabajo de 35 minutos y un tiempo de fraguado de 130 minutos (16). Es comercializado en tres presentaciones: (i) pasta base y pasta catalizador, colocadas en dos tubos de 7.2 y 4.8 g, respectivamente (Figura 5); (ii) pasta base y pasta catalizador, colocadas en dos tubos de 18 y 12 g, respectivamente; y (iii) jeringa automezclable de 4 g. La proporción adecuada de la mezcla es por partes iguales de ambas pastas (1:1).



Figura 5. Presentación comercial del cemento sellador MTA Fillapex (Angelus).

El cemento se prepara a partir de la combinación de una pasta base y una pasta catalizador, contenidas en tubos de 7.2 y 4.8 g, respectivamente.

## Cementos selladores biocerámicos

Los biocerámicos son materiales cerámicos biocompatibles adecuados para uso humano específicamente diseñados para uso médico y odontológico, que se han utilizado previamente en la endodoncia como materiales de reparación radicular y como materiales de retrobturación radicular (21).

Se clasifican como:

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

Los materiales basados en biocerámica que habitualmente contienen silicato de calcio y / o fosfato de calcio han atraído considerable atención debido a sus propiedades físicas y biológicas, tales como su pH alcalino, estabilidad química dentro del entorno biológico y falta de contracción. Tampoco son tóxicos y son biocompatibles.

## BioRoot RCS

Última generación de sellador de conductos radiculares, bioactivo y biocompatible, basado en silicato tricálcico de elevada pureza. Este novedoso material de relleno, permite realizar una obturación permanente del canal radicular sin necesidad de una técnica térmica de gutapercha o condensación lateral en frío. Gracias a su anclaje físico-mecánico en los túbulos dentinarios, permite una técnica en frío con cono único para posibles retratamientos del conducto.

BioRoot RCS proporciona un óptimo sellado con alta resistencia a las microfiltraciones. La mineralización de la dentina crea y estimula la formación de hidroxiapatita. Dispone de propiedades antimicrobianas únicas gracias a su elevado pH (>11) y la liberación de hidróxido de calcio, previniendo la proliferación bacteriana. Gracias a su bioactividad estimula la regeneración ósea y la curación periapical.



**Figura 6. Presentación comercial del cemento sellador BioRoot RCS (Septodont).**

**El cemento se prepara a partir de la combinación de un precursor en polvo y un líquido contenidos en un frasco de 15 g y 35 ampolletas de 0.20 ml, respectivamente.**

Consiste en polvo y líquido (Figura 6). De acuerdo con el fabricante, el polvo tiene principalmente silicato de tricalcio, povidona como agente de adherencia y dióxido de

zirconio como medio de contraste. El líquido es una solución acuosa de cloruro de calcio (acelerador de curado) con policarboxilato (superplastificantes) (20). Con un tiempo de trabajo de más de 10 minutos y un tiempo de fraguado menor a 4 horas.

### **Técnicas de Obturación**

En la literatura se pueden encontrar diversas técnicas y sistemas para la obturación de conductos radiculares (técnica de condensación lateral, técnica de condensación vertical, técnica de cono único, técnica de McSpadden, técnica de Schilder, system B, sistema ThermaFill, sistema obtura II, sistema UltraFill, etc). Todos estos recursos se desarrollan con el propósito de obturar tridimensionalmente la rica y compleja morfología interna de los conductos, que deberá ser perfectamente sellada.

### **Técnica de cono único**

Con la introducción de la técnica de preparación estandarizada se popularizó el método del relleno del conducto radicular con una sola punta de gutapercha cónica, que abarca la longitud total del conducto, asociada a un sellador. La teoría que sustentaba el uso de esta técnica era sencilla y atractiva. Se preparaba el conducto, dándole una forma redonda de tamaño estándar, mediante ensanchadores y, a continuación, se opera con una punta de gutapercha de diámetro equivalente. Sin embargo, se pudo observar que pocas veces se conseguía una preparación totalmente redonda, principalmente en conductos curvos. Además, se necesitan cantidades sustanciales de sellador para rellenar las áreas del conducto radicular y eso daría como resultado mayor filtración. Con ésta técnica se reduce el tiempo dedicado a la técnica de compactación lateral (22). Sin embargo, la técnica de un solo cono puede dar lugar a vacíos en el conducto de forma irregular (10). No obstante, actualmente con la introducción de nuevas técnicas de preparación rotatoria y nuevos materiales para el sellador radicular, esta técnica es nuevamente preconizada como una alternativa para la obturación de conductos en el tratamiento endodóntico (22).

## Penetración de los cementos selladores a los túbulos dentinarios

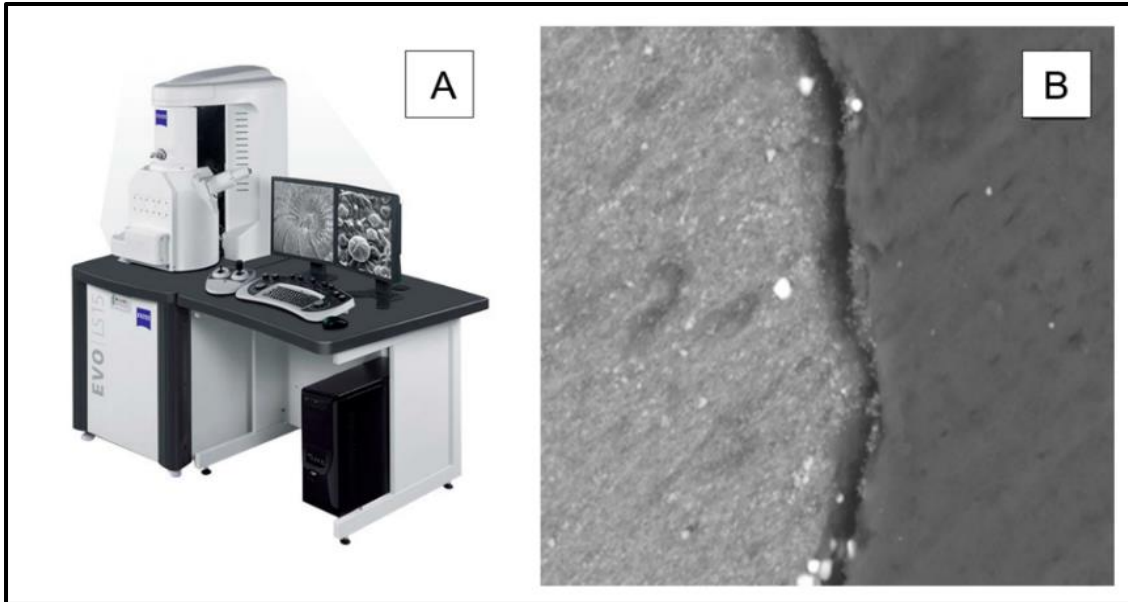
El análisis de la interfaz dentina / sellador permite la determinación de qué técnica de obturación podría llenar los conductos radiculares con menos espacios vacíos.

Varias técnicas de microscopía se utilizan actualmente para evaluar la interfaz sellador / dentina, incluida la microscopía estereoscópica (Figura 7), la microscopía electrónica de barrido (SEM) (Figura 8), microscopía óptica tradicional (Figura 9) y la microscopía de fluorescencia confocal (CLSM) (Figura 10). En comparación con la microscopía estereoscópica, la microscopía óptica tradicional y la SEM, CLSM tiene la ventaja de proporcionar información detallada sobre la presencia y distribución de selladores o adhesivos dentro de los túbulos dentinarios, en la circunferencia local de las paredes del conducto radicular, a relativamente poca ampliación y muestras no deshidratadas mediante el uso de un sellador fluorescente marcado con Rodamina B. En consecuencia, el porcentaje y la penetración de los selladores a las paredes del conducto radicular se puede lograr fácilmente con 1 o 2 imágenes CLSM (12).



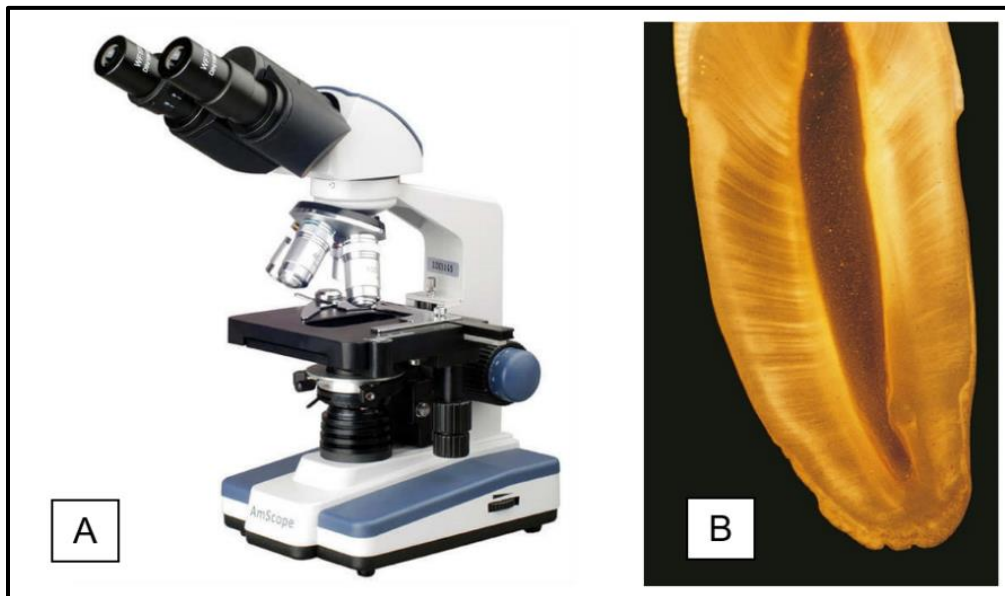
Figura 7. Microscopía estereoscópica.

En la imagen A se observa un microscopio estereoscópico de la marca Zeiss y en la imagen B se muestra una micrografía tomada con este microscopio de un corte horizontal de un diente obturado, con un acercamiento de 1X.



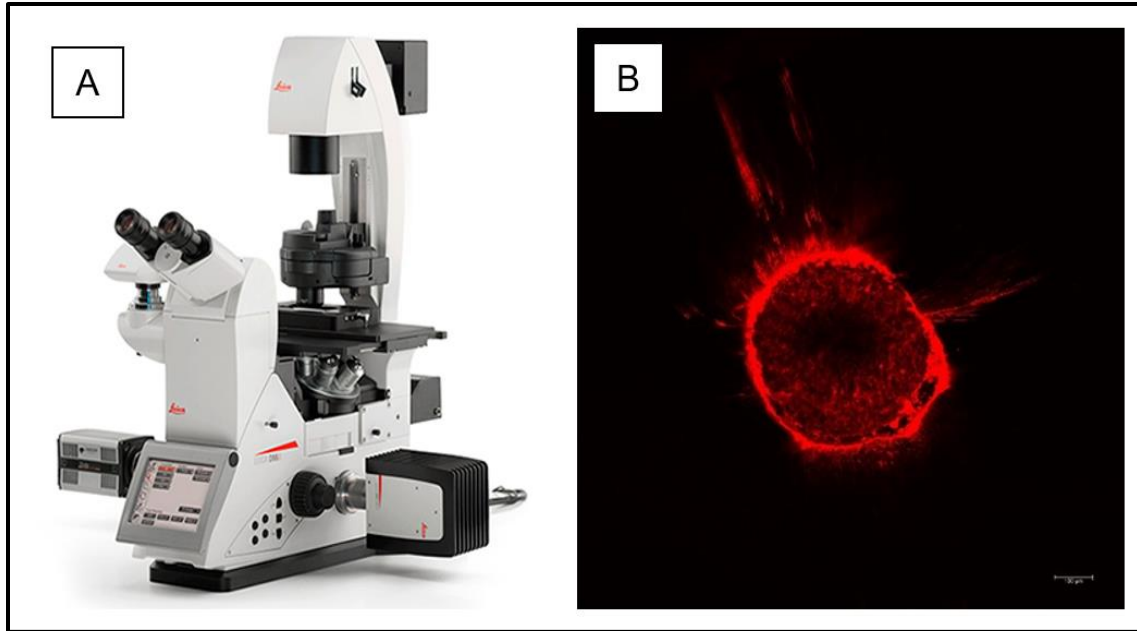
**Figura 8. Microscopía electrónica de barrido (SEM).**

En la imagen A se observa un microscopio electrónico de barrido de la marca Zeiss y en la imagen B se observa una micrografía tomada con éste microscopio de un corte horizontal de un diente obturado, con un acercamiento de 1,000X.



**Figura 9. Microscopía óptica tradicional.**

En la imagen A se observa un microscopio óptico tradicional de la marca AmScope y en la imagen B se observa una micrografía tomada con este microscopio de un corte longitudinal de un diente, a un acercamiento de 1X.



**Figura 10. Microscopía de fluorescencia confocal.**

En la imagen A se observa un microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 y en la imagen B se observa una micrografía tomada con este microscopio de un corte transversal de un diente obturado en donde se puede apreciar la profundidad del cemento sellador a un acercamiento de 7.5X (Esta micrografía fue tomada por nuestro grupo en el contexto del presente proyecto de investigación).

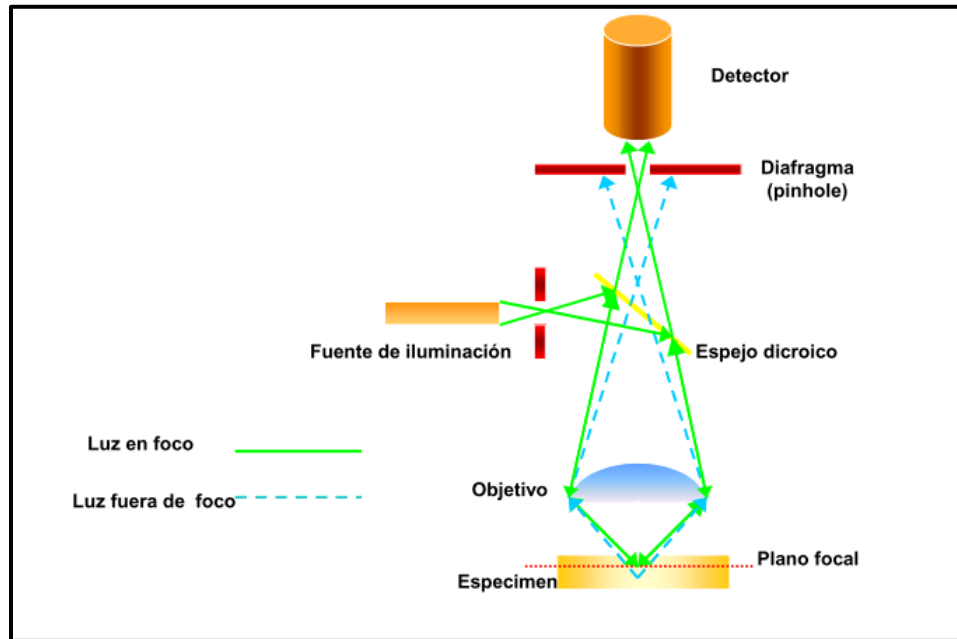
### **Microscopía de fluorescencia confocal**

La microscopía de fluorescencia confocal (Figura 10) es una técnica de observación microscópica con alta sensibilidad que está logrando excelentes resultados en diversas ramas de la ciencia (medicina, biología, materiales, geología, etc).

Su éxito se debe a las indudables ventajas que ofrece frente a la microscopía óptica tradicional, microscopía estereoscópica y microscopía electrónica de barrido (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 (23).

El principio de la microscopía de fluorescencia confocal se basa en la eliminación de la luz reflejada o fluorescente procedente de los planos fuera de foco (Figura 11). Para

ello, se ilumina una pequeña zona de la muestra y se toma el haz luminoso que proviene del plano focal, eliminándose por medio de diafragmas los haces procedentes de los planos inferiores y superiores (23).



**Figura 11. Esquema del principio de la microscopía fluorescente confocal.**

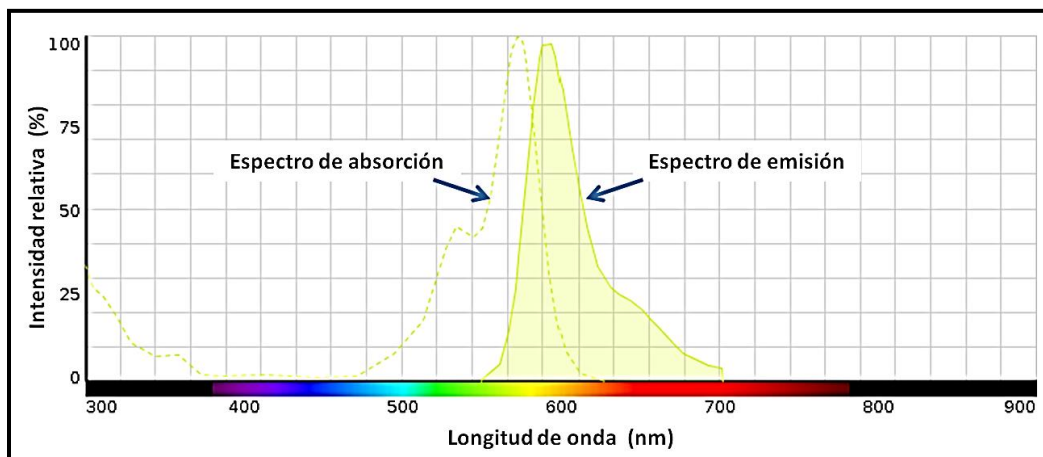
El principio del funcionamiento del microscopio de fluorescencia confocal se basa en la existencia de dos diafragmas (pinhole), uno entre la fuente de luz y el objetivo y el otro entre el objetivo y el detector. Ambos pinhole deben de estar perfectamente alineados de forma que el segundo de ellos únicamente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

El principio de operación del microscopio de fluorescencia confocal es por epiluminación y detección de la fluorescencia procedente del punto focal, es decir con muestras que al incidir la luz sobre ellas reflejan toda o parte de la luz incidente (microscopía de reflexión), donde la luz recogida es la proveniente del punto focal (con la ayuda de diafragmas), ubicada espectralmente en una longitud de onda superior con respecto a la de la luz de excitación (fluorescencia). En el sentido estricto de la palabra, la microscopía de fluorescencia confocal solo es aplicable a muestras que emiten fluorescencia, aunque el microscopio de trabajo puede en paralelo adquirir imágenes ópticas en campo claro y campo oscuro dependiendo de los detectores con los que

esté equipado (23).

## La fluorescencia

Se denomina fluorescencia a la propiedad que tienen ciertas moléculas de emitir luz una longitud de onda superior a la luz de excitación. Dependiendo de su fuente de emisión, la fluorescencia puede clasificarse como fluorescencia primaria (autofluorescencia) y fluorescencia secundaria. La fluorescencia primaria es la que se da de forma natural en determinadas sustancias (e.g. clorofila, algunos tejidos frescos, etc.) Por el contrario, la fluorescencia secundaria es la que proviene de agentes de tinción fluorescentes con los que se pueden tratar muestras que no tienen autofluorescencia, estos agentes son denominados fluorocromos (e.g. fluoresceína, rodamina, cumarina y cianina).



**Figura 12. Espectro de absorción y de emisión de la Rodamina B.**

**Los máximos de absorción y emisión se ubican a 573 y 591 nm, respectivamente.**

Todos los fluorocromos presentan un espectro de excitación y un espectro de emisión característicos (Figura 12). 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 (23). En la Figura 12 se presentan los espectros de absorción y emisión de la Rodamina B, empleado como agente fluorescente de tinción en este trabajo.

### **Funcionamiento del equipo**

En la Figura 13 se muestra el esquema de un microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 (Mannheim, Alemania). Su funcionamiento es el siguiente: de las distintas líneas de láser que tiene el equipo, el selector de excitación AOTF nos permite seleccionar la que deseamos utilizar. El haz de láser atraviesa el filtro óptico acústico AOBS (objetivo) e ilumina un punto de la muestra. Un conjunto de espejos galvanométricos permite desplazar el láser por toda la zona de muestra. 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 en función de sus longitudes de onda. Diafragmas ubicados arriba y abajo de la muestra permiten seleccionar la luz procedente del plano focal exclusivamente. La luz de fluorescencia emitida del plano focal incide en un fotomultiplicador donde es transformada en una señal eléctrica que se digitaliza mediante un convertidor analógico digital y se almacena en la computadora. La imagen del espécimen es visualizada en la pantalla de la computadora a medida que el láser barre toda la zona de muestra. Una platina con enfoque motorizado permite variar de forma automática la posición del plano focal (23).

### **Ventajas de la microscopía de fluorescencia confocal**

- Mayor resolución. Para un objetivo de inmersión en aceite con una apertura numérica de 1.4 y una longitud de onda de 442 nm es posible alcanzar resoluciones de 0.14  $\mu\text{m}$  en el plano horizontal y 0.23  $\mu\text{m}$  en el plano vertical, mucho mayores a las obtenidas por un microscopio óptico.
- Mayor contraste. Gracias a la posibilidad de teñir muestras con fluorocromos distintos, se pueden obtener imágenes de compartimentos o partes de una misma muestra con

emisión de luz en puntos distintos puntos del espectro; ofreciendo un contraste sin precedentes, especialmente con respecto a muestras sin autofluorescencia.

- Posibilidad de realizar secciones ópticas. Variando el plano de enfoque, es posible obtener secciones ópticas de la muestra que dan información a distintos niveles en el eje vertical.

- Reconstrucción 3D. A partir de las secciones ópticas es posible aplicar técnicas de reconstrucción 3D que nos permitan visualizar las estructuras.

- Imágenes multidimensionales. El microscopio de fluorescencia confocal nos permite estudiar imágenes en 2 y 3 dimensiones a lo largo del tiempo. Es posible programar el equipo para obtener imágenes durante un periodo de tiempo determinado.

- Imágenes Lambda. Si el equipo cuenta con un detector espectral podremos tomar imágenes a diferentes longitudes de onda (lambda scan) y a partir de ellas deducir el espectro de emisión de un fluorocromo determinado.

- Análisis de imágenes. Al obtenerse la imagen de modo electrónico es posible digitalizarla y aplicar sobre ella toda una serie de técnicas de análisis de imagen como: realce de imágenes para mejorar su calidad, combinación de imágenes para comparar cambios en el tiempo, medida de intensidades, medidas morfométricas, etc. (23).

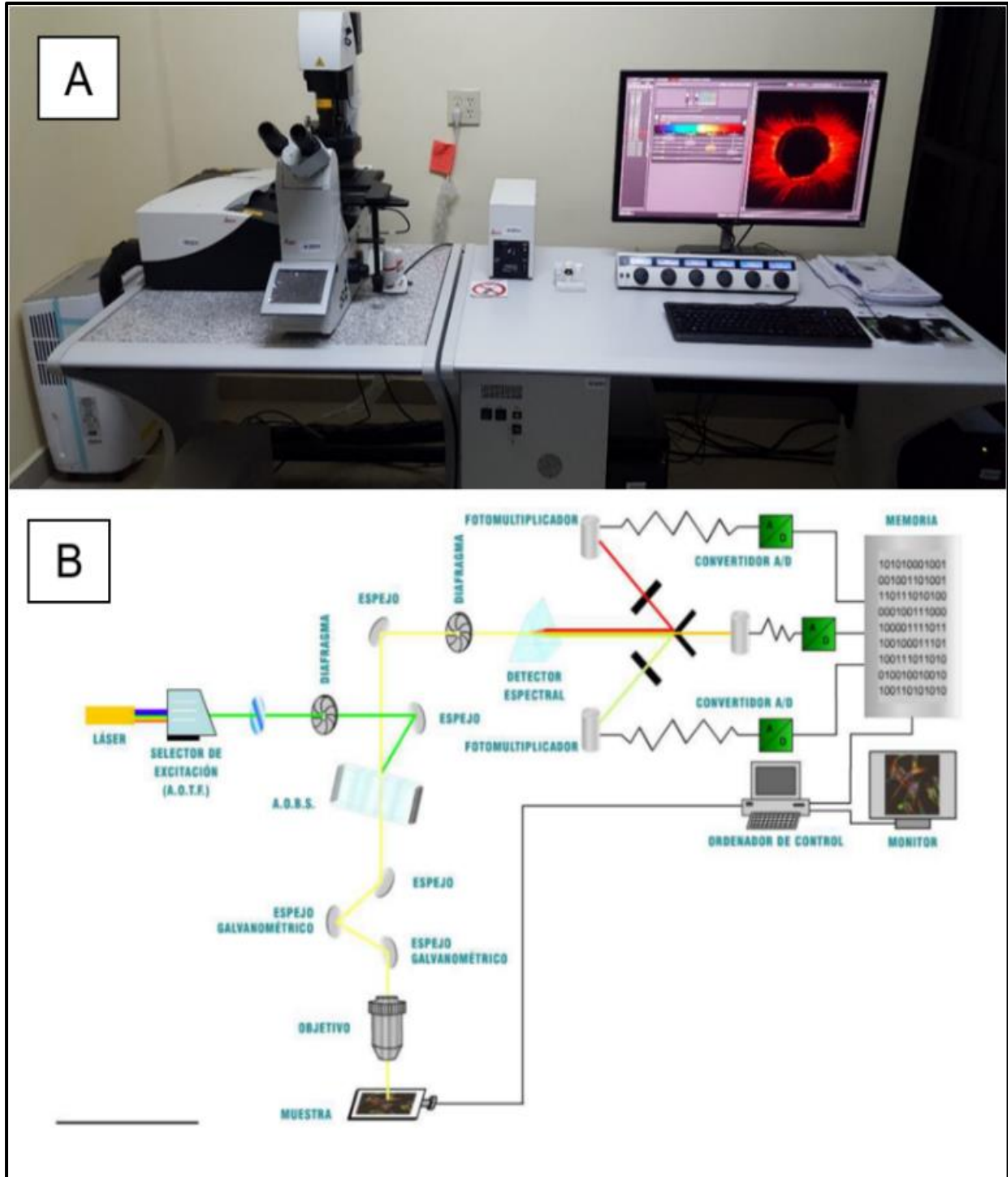


Figura 13. Microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 y su esquema básico de su funcionamiento.

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

## ANTECEDENTES

En la literatura se pueden encontrar diversas técnicas y sistemas para la obturación de conductos radiculares. Todos estos recursos se han desarrollado con el propósito de obturar tridimensionalmente la morfología interna de los conductos, que deberán ser perfectamente sellados.

**Torabinejad (2009)** afirmó que el objetivo pertinente del tratamiento de conductos es eliminar la entidad microbiana y cualquier predilección futura de la reinfección. Para lograr esto, se requiere un sello adecuado para denigrar cualquier posibilidad de proliferación de bacterias y la aparición futura de cualquier patología. El sellador junto con el material obturador sólido actúa sinérgicamente para crear un sello hermético (19). Sin embargo, **Trope (2015)** encontró que la calidad de la restauración coronal tiene mayor importancia para el estado perirradicular que la calidad del tratamiento endodóntico (21). Otros investigadores también mostraron que hay una correlación entre la calidad de la restauración coronal y el estado perirradicular de dientes endodonciados, pero **Siqueira y Cols. (2005)** en un estudio epidemiológico, realizado en una muestra de 2051 dientes endodonciados, concluyeron que, además de la calidad de la restauración, la calidad de la obturación del conducto radicular demostró ser el factor más crítico y significativo para la salud perirradicular (24).

**Zapata y Cols. (2009)** compararon el porcentaje y la profundidad de la penetración del sellador en los túbulos dentinarios durante la obturación usando AH Plus, GuttaFlow y Sealapex en los conductos radiculares con la técnica de compactación lateral. Se usaron treinta conductos radiculares obturados con la técnica de compactación lateral usando GuttaFlow (n=10), Sealapex (n=10) y AH Plus (n=10); se analizaron mediante microscopía de fluorescencia confocal. Los dientes se seccionaron a 3 y 5 mm del ápice, y los análisis estadísticos se realizaron mediante análisis de varianza-prueba de Tukey. El estudio concluyó que Sealapex mostró una penetración más profunda en los túbulos dentinarios, no hubo diferencia en el porcentaje de adaptación a las paredes del conducto radicular entre los 3 selladores evaluados (12).

La introducción de materiales de obturación resinosos prometen una obturación eficiente del conducto radicular, es por eso que **Chandra y Cols. (2012)** evaluaron la profundidad de penetración de 4 selladores a base de resina (AH Plus, RealSeal, EndoRez y RoekoSeal) en los túbulos dentinarios con la ayuda de microscopía de fluorescencia confocal. En el estudio se trabajó con ochenta dientes de una sola raíz, fueron instrumentados y divididos en 4 grupos compuestos por 20 dientes cada uno. Las muestras se obturaron con los selladores de resina AH Plus, RealSeal, EndoRez y RoekoSeal, respectivamente. El material central en todos los grupos fue Resilon. Los dientes se seccionaron en los tercios coronal, medio y apical y se observaron con un microscopio de fluorescencia confocal para determinar la profundidad de penetración del sellador en los túbulos dentinarios. Se concluyó que el sellador de resina RealSeal exhibió la penetración máxima (5).

La vibración ultrasónica tiene gran capacidad de limpieza cuando se asocia con los irrigantes, **Akcay y Cols. (2016)** evaluaron las características físicas y químicas de los selladores de conductos radiculares y los diferentes sistemas de agitación del irrigante que puedan influir en la profundidad de la penetración. El objetivo de este estudio in vitro fue utilizar un microscopio de fluorescencia confocal para evaluar la penetración de los selladores AH Plus, iRoot SP, MTA Fillapex, and GuttaFlow Bioseal en los túbulos dentinarios después de la aplicación de diferentes técnicas de irrigación final. En el estudio se preparó un total de 156 premolares mandibulares extraídos de una sola raíz instrumentado hasta #40 y se distribuyeron aleatoriamente en cuatro grupos de acuerdo con el tipo de sellador (n = 39): AHPlus, iRoot SP, MTA Fillapex y GF Bioseal. Cada grupo se subdividió aleatoriamente en tres grupos de acuerdo con el protocolo de irrigación final (n = 13): irrigación con aguja convencional (CI), activación de flujo fotoacústico inducida por fotones (PIPS) e irrigación pasiva con ultrasonido (PUI). Después de los procedimientos de irrigación final, los conductos radiculares se obturaron con gutapercha y sellador mezclado con 0,1% de Rodamina B. Las muestras se seccionaron a 2, 5 y 8 mm desde el ápice, y todas las secciones se examinaron con un microscopio de fluorescencia confocal para calcular el área de penetración del túbulo dentinario. Los datos se analizaron mediante el análisis de varianza de tres vías

y las pruebas post hoc de Tukey. Como conclusiones encontraron que el área de penetración del túbulo dentinario se vio significativamente afectada por la selección del sellador del conducto radicular, el procedimiento de irrigación final y el tercio del conducto radicular. El uso de iRoot con punta PIPS o PUI fue ventajoso en la penetración de los túbulos dentinarios (25). Por otra parte, **Ozkocak y Cols. (2015)** estudiaron la resistencia de unión de AH Plus, EndoSequence BC Sealer y RealSeal después de varias soluciones de irrigación y la irradiación con láser Er: YAG en la dentina del conducto radicular. En este estudio se utilizaron 100 dientes unirradiculares de reciente extracción. Los dientes se seccionaron transversalmente 4 mm por debajo de la unión cemento-esmalte. Los dientes se dividieron en 3 grupos principales por sellador AH Plus, EndoSequence BC Sealer y Real Seal y luego se dividido en 5 subgrupos por tratamiento de dentina (agua destilada, hidróxido de calcio, hipoclorito de sodio, EDTA y láser Er: YAG). Las muestras se colocaron inmediatamente a 37°C y 100% de humedad durante 1 semana. Tres muestras aleatorias de cada grupo fueron examinadas bajo microscopía electrónica de barrido. El estudio concluyó que la fuerza de unión de los selladores está influenciada por sus propiedades y diversos tratamientos de la superficie de la dentina. El estudio por microscopía electrónica de barrido mostró que, aunque los túbulos dentinarios estaban abiertos, en el examen de perfil los selladores no penetraron en los túbulos dentinarios en todas las muestras (6).

El retratamiento endodóntico es un procedimiento realizado en un diente que ya recibió un intento previo de tratamiento. Sin embargo, este intento resultó en una condición que requiere una nueva intervención de endodoncia para lograr el éxito clínico y radiográfico, por lo que **Kok y Cols. (2014)** evaluaron la penetrabilidad de dos selladores endodónticos (AH Plus y MTA Fillapex) en túbulos dentinarios, sometidos a tratamiento endodóntico y, posteriormente, a retratamiento endodóntico. El estudio involucró treinta incisivos extraídos, usando el sistema rotatorio ProTaper hasta el instrumento F3 y se dividieron en tres grupos según el sellador endodóntico utilizado para el llenado del conducto: AH Plus, MTA Fillapex y grupo de control sin usar EDTA previamente a la obturación del conducto radicular. El colorante Rodamina B se incorporó a los selladores para proporcionar la fluorescencia que permitirá la evaluación de microscopía de fluorescencia confocal. Todos los especímenes se

rellenaron con conos de gutapercha utilizando la técnica de condensación lateral. Las muestras se sometieron a un retratamiento endodóntico utilizando un sistema de retratamiento ProTaper, se repararon hasta instrumentos F5 y se rellenaron con conos de gutapercha y el mismo sellador utilizado durante el tratamiento endodóntico. El tinte de fluoresceína (verde) se incorporó al sellador para distinguirlo de la primera obturación. Las raíces se seccionaron a 2 mm del ápice y se evaluaron mediante CLSM. Encontraron que la penetrabilidad del sellador es alta durante el tratamiento endodóntico. Sin embargo, MTA Fillapex y AH Plus no penetran en los túbulos dentinarios después del retratamiento endodóntico (18).

Los agentes quelantes son sustancias que juegan un papel importante en el desbridamiento de los conductos ya que cumplen la función de facilitar la preparación biomecánica, al desintegrar tanto el barrillo dentinario, como el componente calcificado y mineralizado de las paredes dentinarias y de esta forma permitir la penetración del cemento sellador dentro de los túbulos dentinarios, **Kuci y Cols. (2014)** evaluaron la penetración al túbulo dentinario de AH26 y MTA Fillapex en conductos radiculares obturados mediante la técnica de condensación lateral fría y condensación vertical caliente en presencia o ausencia de barrillo dentinario. En el estudio se usaron cuarenta y cinco dientes premolares mandibulares de una sola raíz. Las coronas fueron removidas y los conductos radiculares fueron instrumentados con riego continuo de hipoclorito sódico al 2.6%. La irrigación final fue con EDTA al 5% y con hipoclorito de sodio. Los conductos se secaron y obturaron utilizando AH26 y MTA Fillapex marcados con Rodamina B en combinación con la condensación lateral en frío y la técnica de condensación vertical caliente. Las raíces se seccionaron horizontalmente a distancias de 4, 8 y 12 mm del ápice. Se midió en cada sección, la penetración del sellador en los túbulos dentinarios usando microscopía de fluorescencia confocal. Concluyeron que se puede lograr una mayor penetración del sellador con la combinación de MTA Fillapex y condensación lateral en frío y con la combinación de condensación vertical caliente y AH26. La eliminación de la capa de barrillo dentinario fue crítica para la penetración de MTA Fillapex; sin embargo, no sucedió lo mismo con AH26 (26).

Es importante la comparación de materiales nuevos de obturación con la finalidad de ayudar a mejorar la terapia endodóntica, **McMichael y Cols. (2016)** midieron la penetración de los túbulos de EndoSequence BC Sealer, QuickSet2, NeoMTA Plus y MTA Fillapex, utilizando técnicas de obturación con onda continua (CW) y cono único (SC). El estudio incluyó ochenta dientes de una sola raíz se dividieron aleatoriamente en 8 grupos de 10 y se obturaron con 1 de los selladores mencionados anteriormente mezclados con Rodamina B usando la técnica CW o SC. Los dientes se seccionaron a 1 y 5 mm del ápice y se examinaron con un microscopio de fluorescencia confocal. Se midió el porcentaje de penetración del sellador y la penetración máxima del sellador. Concluyeron que las técnicas CW y SC produjeron una penetración tubular similar en los niveles de 1 mm y 5 mm con los selladores BC Sealer, QuickSet2 y NeoMTA Plus (27).

## JUSTIFICACIÓN

Existen en el mercado distintos tipos de cementos selladores cuya eficacia a nivel clínico ha sido demostrada. No obstante, son pocos los estudios que comparan de manera directa su capacidad de penetración a túbulos dentinarios de órganos dentales seccionados a los niveles apical, medio y cervical.

La información obtenida a partir de este proyecto nos permitirá identificar diferencias -si las hay- en la profundidad y porcentaje de penetración de los cementos selladores AH Plus, MTA Fillapex y BioRoot RCS en los túbulos dentinarios de conductos radiculares obturados con la técnica de cono único. Esta información puede ser de interés clínico y tecnológico para estudios posteriores.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Entre las estrategias de obturación más empleadas en la actualidad figuran las basadas en el uso de conos semisólidos de gutapercha. La gutapercha despliega distintas características destacadas para su uso en el tratamiento de conductos, tales como: estabilidad dimensional, facilidad de manejo, radiopacidad, biocompatibilidad y actividad antibacteriana, solo por citar algunas. Sin embargo, este material carece de adhesión hacia las paredes dentinarias del conducto radicular; haciendo necesario el empleo conjunto de un cemento sellador capaz de penetrar en los túbulos dentinarios además de cubrir y rellenar tanto irregularidades como discrepancias entre la gutapercha y las paredes. Considerando lo anterior, en este proyecto se plantea la evaluación por microscopia de fluorescencia confocal de la profundidad y el porcentaje de penetración de los cementos selladores AH Plus, MTA Fillapex y BioRoot RCS en los túbulos dentinarios de conductos radiculares obturados con la técnica de cono único.

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis de trabajo**

La caracterización por microscopía de fluorescencia confocal planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar diferencias -si las hay- en la profundidad y porcentaje de penetración a los túbulos dentinarios de los tres cementos selladores endodónticos objeto de estudio.

### **Hipótesis nula (H0)**

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

### **Hipótesis alternativa (H1)**

Al menos uno de los tres cementos presentará diferencia estadísticamente significativa en su efectividad de penetración (con un nivel de confianza del 95%) con al menos uno de los otros dos cementos, en al menos uno de los siguientes criterios: i) profundidad de penetración para cada cemento en función de los tres tercios, ii) porcentaje de penetración para cada cemento en función de los tres tercios, iii) profundidad de penetración para cada tercio en función de los tres cementos y iv) porcentaje de penetración para cada tercio en función de los tres cementos.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Comparar la profundidad y el porcentaje de penetración de los cementos selladores AH Plus, MTA Fillapex y BioRoot RCS en los túbulos dentinarios de órganos dentales obturados con la técnica de cono único, empleando microscopía de fluorescencia confocal.

### Objetivos específicos

1. Remover la corona anatómica e instrumentar los órganos dentales para su obturación.
2. Cargar los cementos objeto de estudio con el colorante fluorescente Rodamina B.
3. Obturar los órganos dentales con los cementos selladores cargados empleando la técnica de cono único.
4. Validar por imágenes radiográficas la obturación correcta de los conductos radiculares.
5. Seccionar los órganos dentales obturados a los niveles apical, medio y cervical.
6. Adelgazar los cortes hasta obtener laminillas de aproximadamente 400  $\mu\text{m}$  de espesor para su caracterización por imagen.
7. Caracterizar las laminillas preparadas por microscopía de fluorescencia confocal.
8. Determinar la profundidad y porcentaje de penetración de los cementos a partir de las micrografías obtenidas empleando un software de análisis de imagen.
9. Llevar a cabo análisis estadístico para determinar si existe diferencia significativa en la efectividad de penetración de los cementos objeto de estudio.

## **VARIABLES**

### **Variables independientes**

1. Cementos Selladores AH Plus, MTA Fillapex y BioRoot RCS.
2. Tercios apical, medio y cervical.

### **Variables dependientes**

1. Profundidad de penetración de los cementos a los túbulos dentinarios.
2. Porcentaje de penetración de los cementos a los túbulos dentinarios.

### **Operación de variables**

Se determinará si hay diferencia significativa en la profundidad y porcentaje de penetración de los cementos selladores objeto de estudio. 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) en función de los tercios manteniendo cada cemento como constante y otra en la que se evaluará la extensión de cada parámetro en función de los cementos manteniendo cada tercio como constante.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Tipo de estudio**

Experimental.

### **Universo de estudio**

Cementos selladores endodónticos AH Plus, BioRoot RCS y MTA Fillapex. 10 órganos dentales obturados con cada cemento sellador, seccionados a los niveles apical, medio y cervical (en total 30 muestras para cada cemento). Como blanco de comparación se estudiaron 4 órganos dentales tratados con Rodamina B en solución acuosa, seccionados a los niveles apical, medio y cervical (en total 12 muestras).

### **Criterios de inclusión**

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

### **Criterios de exclusión**

- Dientes con conductos calcificados.
- Dientes con resorción interna y externa.
- Dientes con curvaturas apicales.
- Dientes con micro fracturas.
- 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 34 dientes incisivos mandibulares de reciente extracción. Todos los cementos fueron de origen comercial. El cemento sellador AH Plus fue de la marca Dentsply (Ballaigues, Suiza). El cemento sellador MTA Fillapex fue de la marca Angelus (Londrina, PR, Brasil). El cemento sellador BioRoot RCS fue de la marca Septodont (St. Maur-des-Foses, Francia). La Rodamina B fue adquirida de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Las limas manuales #10, #15 y #20 tipo K fueron de la marca SybronEndo (Orange, CA) y las limas rotatorias #30/06 Edge Sequel Sapphire fueron obtenidas de EdgeEndo (Albuquerque, Nuevo México, USA). El motor endodóntico que se usó fue Elements Motor de SybronEndo (Orange, CA). Los conos de gutapercha 30/06 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 etilendiaminotetracético (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); y el ultrasonido de la marca Varios 350 NSK (Kanuma Tochigi, Japón). 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.

### **Preparación de las muestras**

Un total de 34 incisivos mandibulares humanos (Figura 14) fueron seleccionados de

una colección de dientes que se habían extraído por razones ajenas a este estudio. Las muestras fueron sumergidas en una solución acuosa de hipoclorito de sodio por 48 h para su desinfección y fueron almacenadas en agua destilada hasta su uso. Se tomaron radiografías digitales periapicales en las direcciones bucolingual y mesiodistal en cada diente seleccionado para verificar que tuvieran un solo conducto (Figura 15) (25). La preparación de los especímenes fue realizada por el mismo operador. A las muestras se les removió la corona anatómica en la unión cemento/esmalte, utilizando un micromotor y disco de diamante. Después, se introdujo una lima #10 en el conducto para confirmar su permeabilidad y el punto de referencia fue fijado con un tope de silicón a la altura en la que la lima alcanzó el foramen apical. La longitud así estandarizada fue de 14 mm (Figura 16). La longitud de trabajo fue establecida a 13 mm para cada muestra. Los conductos fueron instrumentados manualmente hasta la lima #20. Después, fueron instrumentados con un sistema rotatorio Edge Sequel Sapphire hasta la lima 30/06 usando un motor Elements Motor operando a 500 rpm y 410 g cm de torque (18).

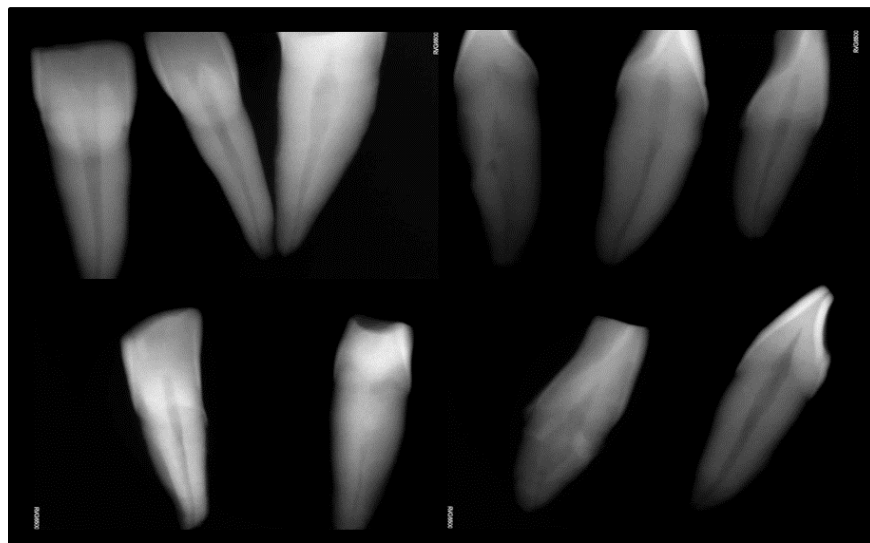


**Figura 14. Dientes incisivos mandibulares.**

**En la imagen se observan los especímenes listos para la remoción de la corona anatómica y su posterior instrumentación, desinfección y obturación.**

Como protocolo de irrigación se usaron 1.5 ml de una solución acuosa de hipoclorito de

sodio al 5.25% entre lima y lima, con una jeringa desechable hipodérmica de 5 ml y una aguja de salida lateral. Se llevaron a cabo tres ciclos de activación ultrasónica de 20 s con soporte para limas tipo U #20 de 120°. Para la irrigación final, se empleó 1 ml de una solución acuosa de EDTA al 17% durante 1 min para eliminar el barrillo dentinario. Se llevaron a cabo tres ciclos de activación ultrasónica de 20 s con soporte para limas tipo U #20 de 120°, irrigando luego con 5 ml de solución salina, a fin de lograr la correcta neutralización del EDTA y la limpieza del conducto (8). Los dientes se almacenaron en agua destilada a temperatura ambiente hasta la obturación. Justo antes de la obturación, las muestras fueron sumergidas en resina de ortodoncia para evitar contaminación con Rodamina B del exterior al interior de la muestra; posteriormente, los conductos fueron secados con puntas de papel. Una vez lista la preparación biomecánica y la desinfección, las muestras se asignaron aleatoriamente en 4 grupos: 10 órganos dentales para el grupo AH Plus, 10 para el grupo MTA Fillapex, 10 para el grupo BioRoot RCS y 4 como grupo control para Rodamina B (Figura 17) (27).



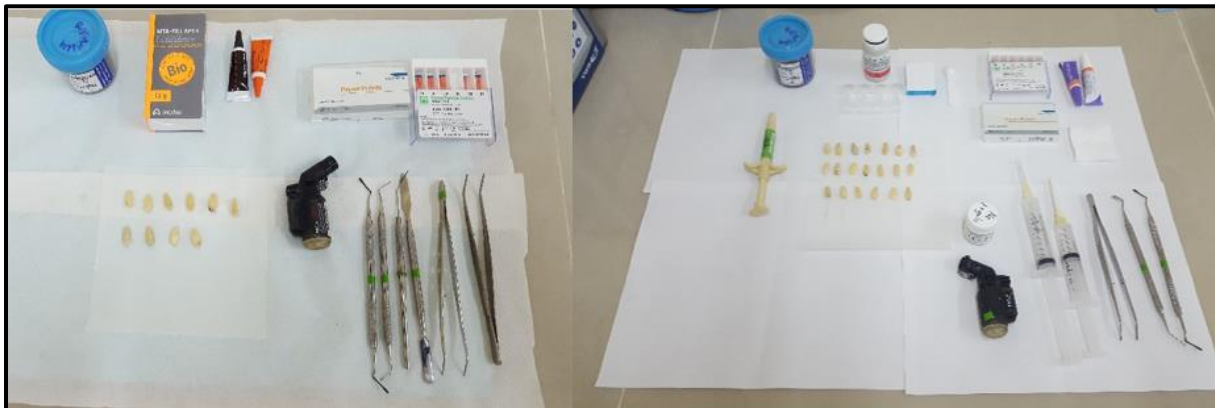
**Figura 15. Radiografías representativas de los incisivos mandibulares objeto de estudio, vistas bucolingual (izquierda) y mesiodistal (derecha).**

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



**Figura 16. Remoción de las coronas anatómicas de los especímenes.**

A cada muestra se le removi6 la corona anatómica con un micromotor y disco de diamante a 500 rpm a una longitud estandar de 14mm.



**Figura 17. Campo de trabajo.**

Campo de trabajo con las muestras listas para la obturaci6n con los cementos selladores AH Plus, BioRoot RCS y MTA Fillapex.

### **Grupo AH Plus**

El cemento sellador fue mezclado segun las instrucciones del fabricante en proporciones exactas, mismas que fueron pesadas utilizando una microbalanza de precisi6n analítica. Para permitir la caracterizaci6n por microscopía de fluorescencia confocal, el cemento fue cargado con Rodamina B a una concentraci6n aproximada de 1%. La preparaci6n fue de la siguiente manera: en una loseta de papel, 1) se pesaron

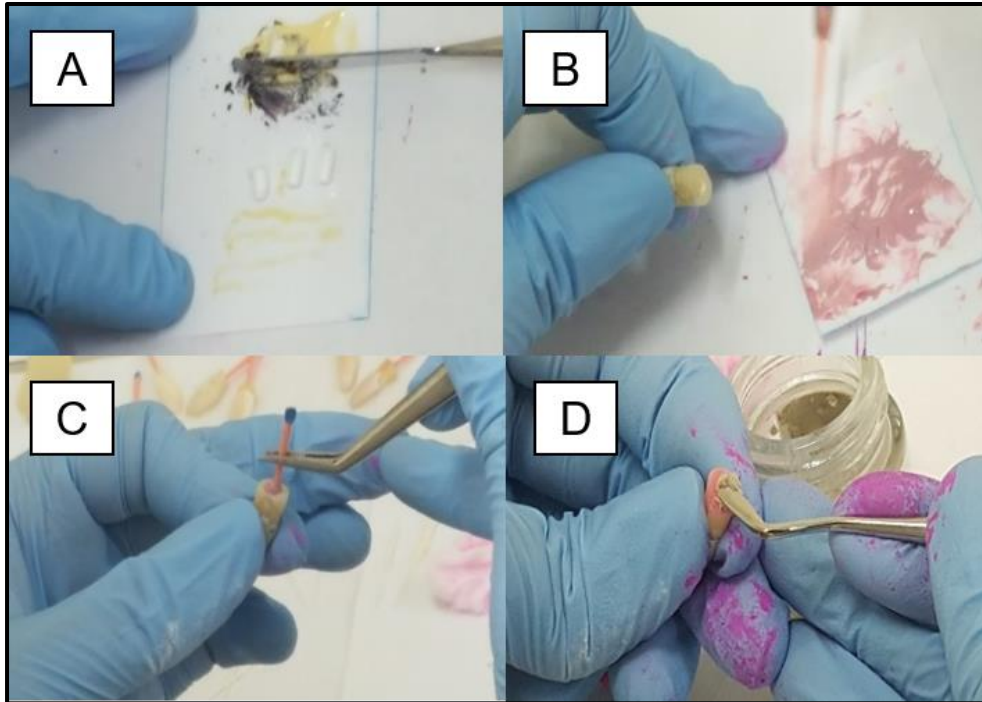
152.6 mg de la Pasta A, 2) se pesaron 151.6 mg la Pasta B y 3) se pesaron 3.038 mg de Rodamina B (equivalentes a ca. 1% en peso de sólidos totales) (Figura 18). Éste procedimiento se realizó tres veces para poder obturar las 10 muestras.



**Figura 18. Pesado del cemento sellador AH Plus en una microbalanza de precisión.**

**Se pesaron las pastas A y la pasta B en cantidades iguales y la Rodamina B a una razón de 1% en peso colorante/cemento.**

Posteriormente se procedió a mezclar la Pasta A con la Rodamina B y una vez teniendo una mezcla homogénea se mezcló con la Pasta B. La aplicación del sellador se hizo bombeando el cemento dentro del conducto con un cono de gutapercha #30/06, usando la técnica de cono único. El exceso de gutapercha se eliminó utilizando glick #2 calentado con un mechero y se realizó una compactación vertical al nivel del acceso. Se colocó Cavit G para sellar (Figura 19).



**Figura 19. Preparación del cemento sellador AH Plus cargado con Rodamina B y obturación de las muestras.**

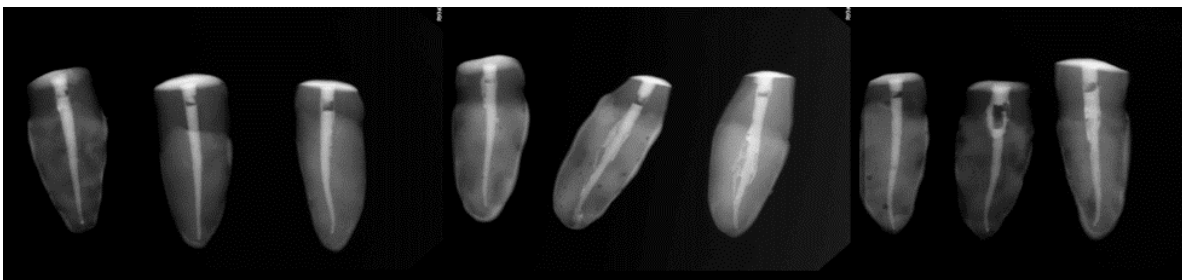
En el panel A se muestra la incorporación de la Rodamina B con la pasta A hasta su completa homogenización. En el panel B se muestra la incorporación de la pasta A cargada con Rodamina B a la pasta B hasta su completa homogenización. En el panel C se muestra la introducción del sellador al conducto por bombeo con el cono de gutapercha. En el panel D se muestra sellado del acceso del conducto con Cavit G.

Para el fraguado de los cementos, las muestras fueron colocadas inmediatamente después de la obturación en el interior de la incubadora a 37 °C y 100% de humedad durante 1 semana (Figura 20). Pasado este tiempo, se tomaron radiografías digitales periapicales en las direcciones bucolingual y mesiodistal para verificar la correcta obturación de los conductos (Figura 21) (6).



**Figura 20. Incubación de las muestras.**

Las muestras fueron incubadas inmediatamente después de su obturación en el interior de una incubadora a 37 °C y 100% de humedad por 7 días.



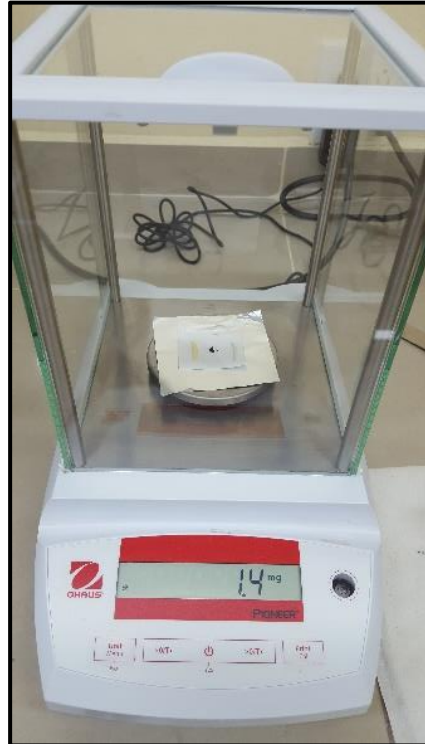
**Figura 21. Radiografías de los incisivos obturados con el cemento sellador AH Plus.**

Se tomaron radiografías digitales para verificar la correcta obturación de las muestras con el cemento sellador AH Plus.

### **Grupo MTA Fillapex**

El cemento sellador fue mezclado según las instrucciones del fabricante en proporciones exactas, mismas que fueron pesadas utilizando una microbalanza de precisión analítica. Para permitir la caracterización por microscopía de fluorescencia confocal, el cemento fue cargado con Rodamina B a una concentración aproximada de

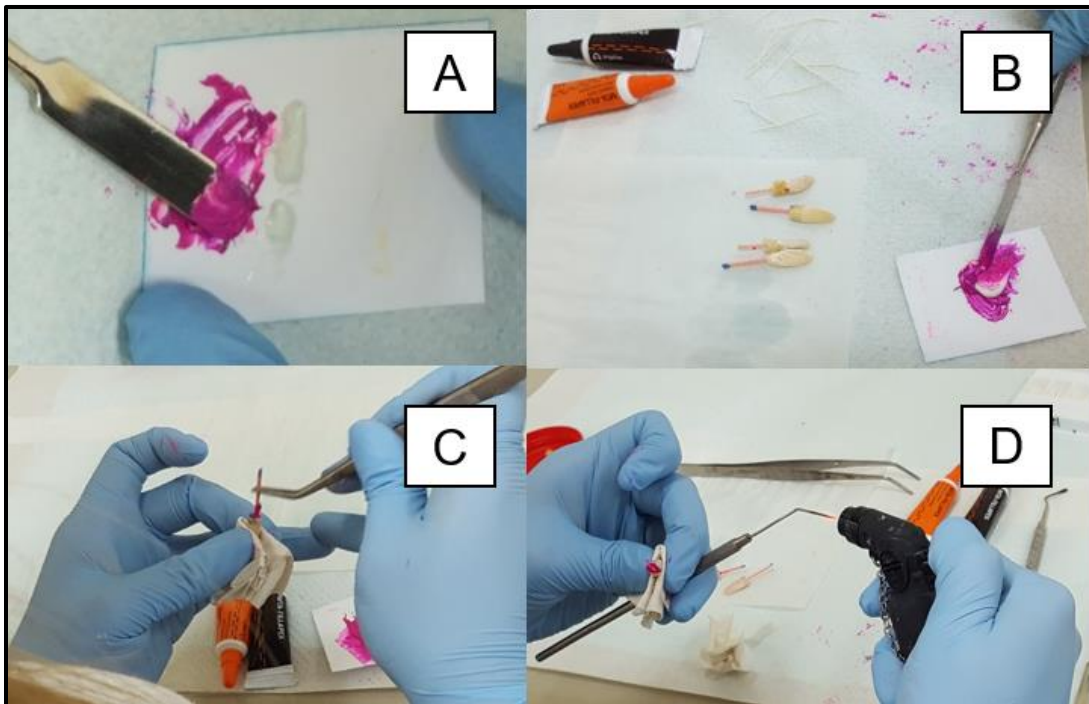
1%. La preparación fue de la siguiente manera: en una loseta de papel, 1) se pesaron 72.3 mg de la pasta Base, 2) se pesaron 72.4 mg de la pasta Catalizador y 3) se pesaron 1.4 mg de Rodamina B (equivalentes a ca. 1% en peso de sólidos totales) (Figura 22). Éste procedimiento se realizó tres veces para poder obturar las 10 muestras.



**Figura 22. Pesado del cemento sellador MTA Fillapex en una microbalanza de precisión. Se pesaron las pastas Base y Catalizador en cantidades iguales, y la Rodamina B a una razón de 1% en peso colorante/cemento.**

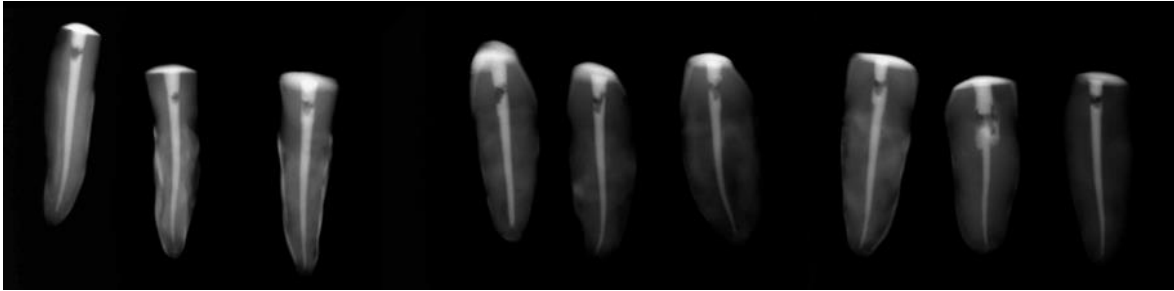
Posteriormente se procedió a mezclar la pasta Base con la Rodamina B y una vez teniendo una mezcla homogénea se mezcló con la pasta Catalizador. La aplicación del sellador se hizo bombeando el cemento dentro del conducto con un cono de gutapercha #30/06, usando la técnica de cono único. El exceso de gutapercha se eliminó utilizando glick #2 calentado con un mechero y se realizó una compactación vertical al nivel del acceso. Se colocó Cavit G para sellar (Figura 23). Para el fraguado de los cementos, las muestras fueron colocadas inmediatamente después de la

obtención en el interior de la incubadora a 37 °C y 100% de humedad durante 1 semana (Figura 20). Pasado este tiempo, se tomaron radiografías digitales periapicales en las direcciones bucolingual y mesiodistal para verificar la correcta obturación de los conductos (Figura 24).



**Figura 23. Preparación del cemento sellador MTA Fillapex cargado con Rodamina B y obturación de las muestras.**

En el panel A se muestra la incorporación de la Rodamina B a la pasta Base hasta su completa homogenización. En el panel B se muestra la incorporación de la pasta Base cargada con la Rodamina B a la pasta Catalizador hasta su completa homogenización. En el panel C se muestra la introducción del sellador al conducto por bombeo con el cono de gutapercha. En el panel D se muestra el recorte del exceso de gutapercha con el condensador calentado con un mechero.

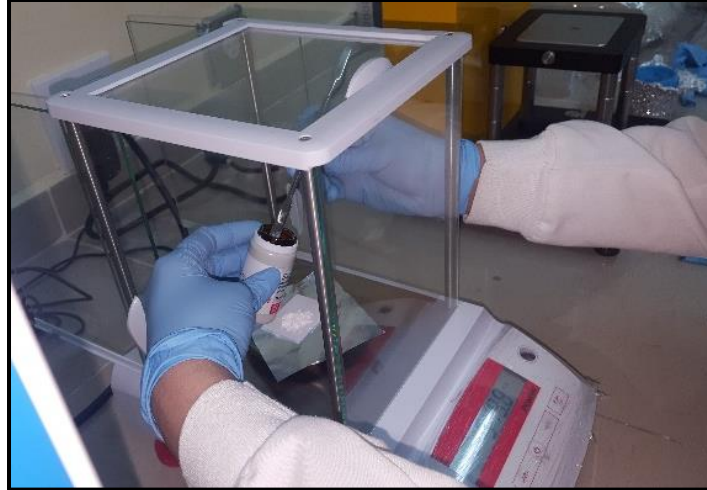


**Figura 24. Radiografías de los incisivos obturados con el cemento sellador MTA Fillapex. Se tomaron radiografías digitales para verificar la correcta obturación de las muestras con el cemento sellador MTA Fillapex.**

### **Grupo BioRoot RCS**

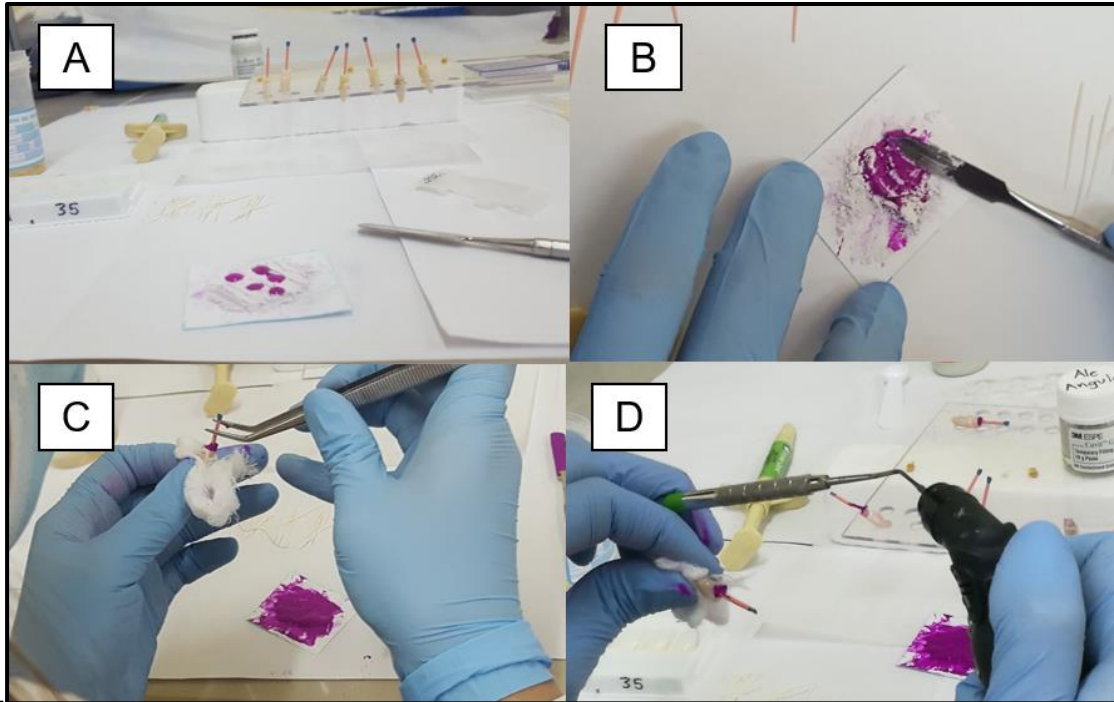
El cemento sellador fue mezclado según las instrucciones del fabricante en proporciones exactas, mismas que fueron pesadas utilizando una microbalanza de precisión analítica. Para permitir la caracterización por microscopía de fluorescencia confocal, el cemento fue cargado con Rodamina B a una concentración aproximada de 1%. La preparación fue de la siguiente manera: 1) en una loseta de papel se pesaron 551 mg de polvo (equivalentes a una medida), 2) en otra loseta de papel se pesaron 5.4 mg de la Rodamina B (equivalentes a ca. 1% en peso de sólidos totales) (Figura 25) y 3) se procedió a mezclar el polvo con la Rodamina B hasta tener una mezcla homogénea, posteriormente y se le agregaron 5 gotas de líquido según las recomendaciones del fabricante (Figura 26). Éste procedimiento se realizó tres veces para poder obturar las 10 muestras.

La aplicación del sellador se hizo bombeando el cemento dentro del conducto con un cono de gutapercha #30/06, usando la técnica de cono único. El exceso de gutapercha se eliminó utilizando glick #2 calentado con un mechero y se realizó una compactación vertical al nivel del acceso. Se colocó Cavit G para sellar (Figura 26).



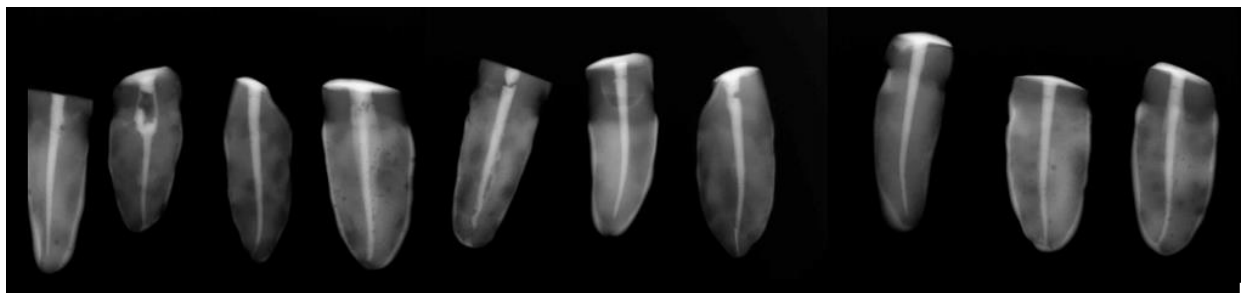
**Figura 25. Pesado del cemento sellador BioRoot RCS en una microbalanza de precisión. Se pesaron el polvo del cemento sellador y la Rodamina B a una razón de 1% en peso colorante/cemento.**

Para el fraguado de los cementos, las muestras fueron colocadas inmediatamente después de la obturación en el interior de la incubadora a 37 °C y 100% de humedad durante 1 semana (Figura 20). Pasado este tiempo, se tomaron radiografías digitales periapicales en las direcciones bucolingual y mesiodistal para verificar la correcta obturación de los conductos (Figura 27).



**Figura 26. Preparación del cemento sellador BioRoot RCS cargado con Rodamina B y obturación de las muestras.**

En el panel se observa la incorporación del líquido al polvo cargado con la Rodamina B. En el panel B se muestra el mezclado del líquido - polvo cargado hasta su completa homogenización. En el panel C se observa la introducción del sellador al conducto por bombeo con el cono de gutapercha. En el panel D se muestra el recorte del exceso de gutapercha con el condensador calentado con un mechero.



**Figura 27. Radiografías de los incisivos obturados con el cemento sellador BioRoot RCS. Se tomaron radiografías digitales para verificar la correcta obturación de las muestras con el cemento sellador BioRoot RCS.**

### **Grupo Control Rodamina B**

Se realizó un grupo de control para asegurarse de que la extensión de Rodamina B 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 4 incisivos mandibulares sometidos al mismo protocolo de instrumentación y desinfección que los dientes experimentales. Los conductos se obturaron siguiendo el mismo protocolo utilizado para los dientes experimentales, con la salvedad de que en el grupo control se introdujeron ca. 100  $\mu$ l de solución acuosa de Rodamina B (1% peso/volumen) mediante jeringa con aguja endodóntica de salida lateral, misma que fue bombeada con un cono de gutapercha. Después de 1 semana de incubación a 37°C en 100% de humedad, se procesaron las muestras para su análisis. 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.

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

Tras la confirmación de una obturación correcta por análisis radiográficos, cada órgano dental fue seccionado horizontalmente a lo largo de su eje longitudinal para obtener cortes a los niveles apical medio y cervical, empleando un micromotor dental y un disco de diamante a velocidad baja, ca. 500 rpm (Figura 28).

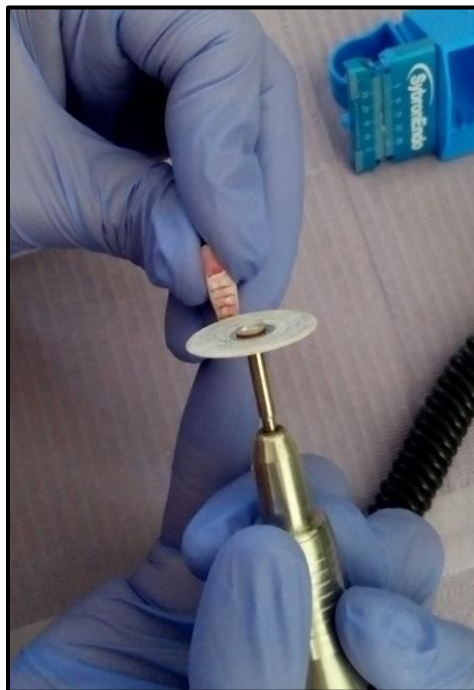
Se obtuvieron tres cortes de cada órgano dental a profundidades de 3, 5 y 7 mm (apical, medio y coronal) del ápice radicular y ca. 1.5 mm de grosor (Figura 29). Cada tercio obtenido fue adelgazado manualmente con lijas de agua de granos #400, #500, #600, #1000 y #2000 hasta alcanzar un grosor de ca. 0.4 mm (Figura 30 y Figura 31).

Las muestras se montaron en una caja de Petri con base de cubreobjetos de vidrio para microscopia confocal (Figura 32) y se examinaron con un microscopio de fluorescencia confocal Leica TCS SP8 invertido, operando con un láser de 552 nm 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 (Figura 12). 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 (12). Se obtuvo un total de 330 imágenes, las cuales fueron ensambladas hasta obtener 105 imágenes de los 105 tercios totales (Figura 34).



**Figura 28. Muestras listas para su recorte en tercios.**

En la imagen se muestra el micromotor con el disco de diamante y las muestras obturadas con los cementos selladores AH Plus, MTA Fillapex, BioRoot RCS.



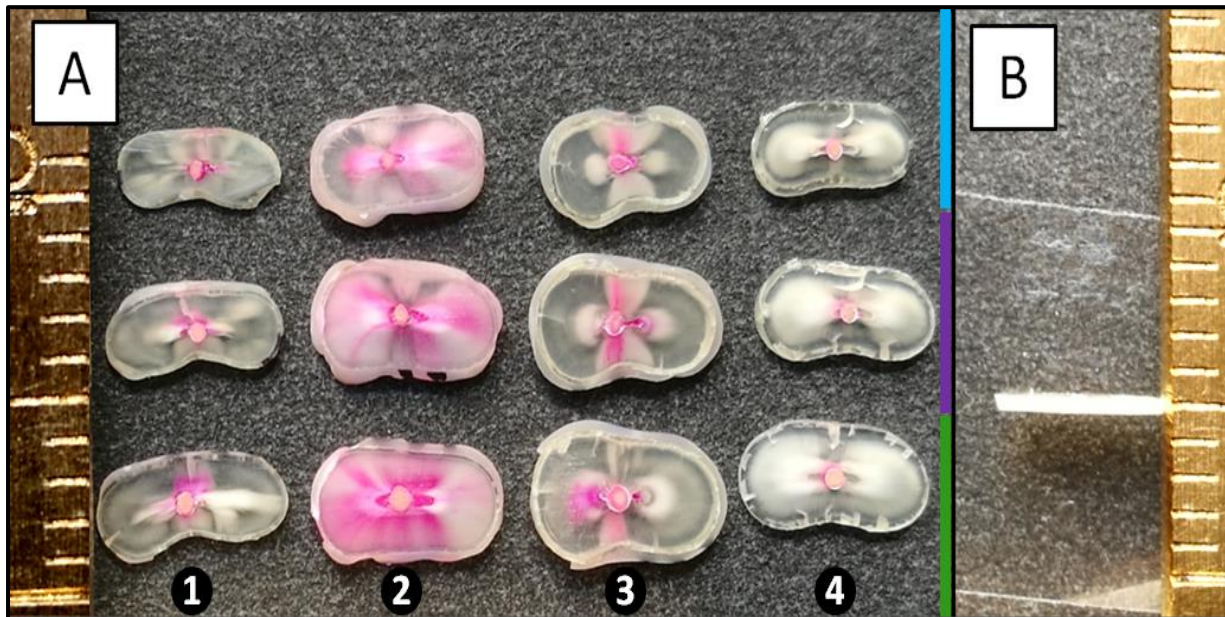
**Figura 29. Sección de las muestras con micromotor.**

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. Desgaste manual de cada tercio con lijas de agua de diferentes granos.**

Se realizó el desgaste manual de cada tercio (apical, medio y cervical) de las muestras hasta alcanzar un grosor de ca. 0.4 mm, con lijas de agua de granos #400, #500, #600, #1000 y #2000.



**Figura 31. Muestras desgastadas manualmente.**

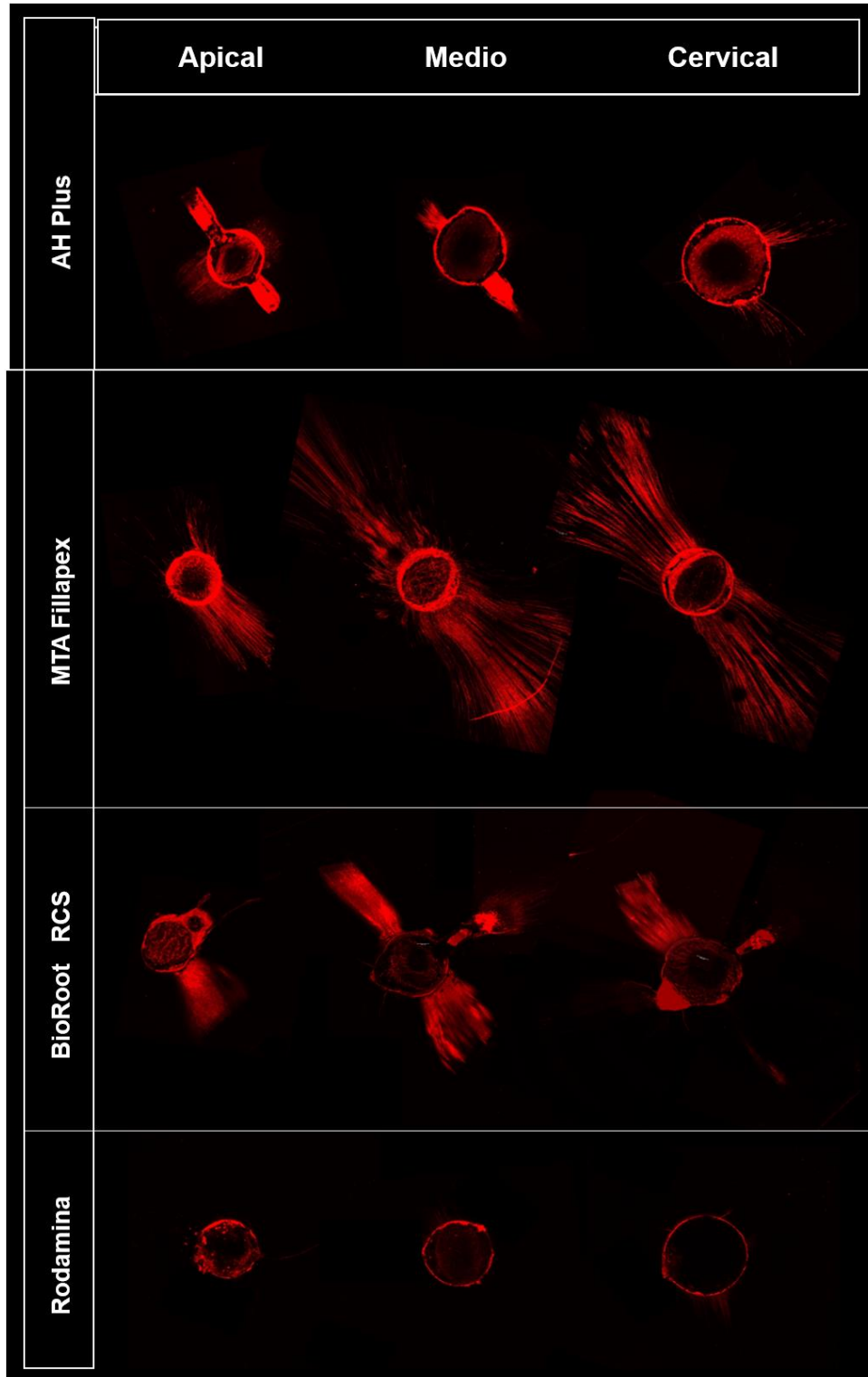
En el panel A se observan los tercios apical (azúl), medio (morado) y cervical (verde) de las muestras obturadas con los cementos selladores AH Plus (1), MTA Fillapex (2), BioRoot RCS (3) y el control de Rodamina B (4). En el panel B se observa una muestra representativa del espesor de las muestras (ca. 0.4 mm). En ambos paneles se muestra una regla graduada en milímetros.



**Figura 32. Muestra en el interior de una Caja de Petri con base de cubreobjetos.**



**Figura 33. Fotografía de la muestra montada en la platina del el microscopio de fluorescencia confocal Leica SP8 TCS.**



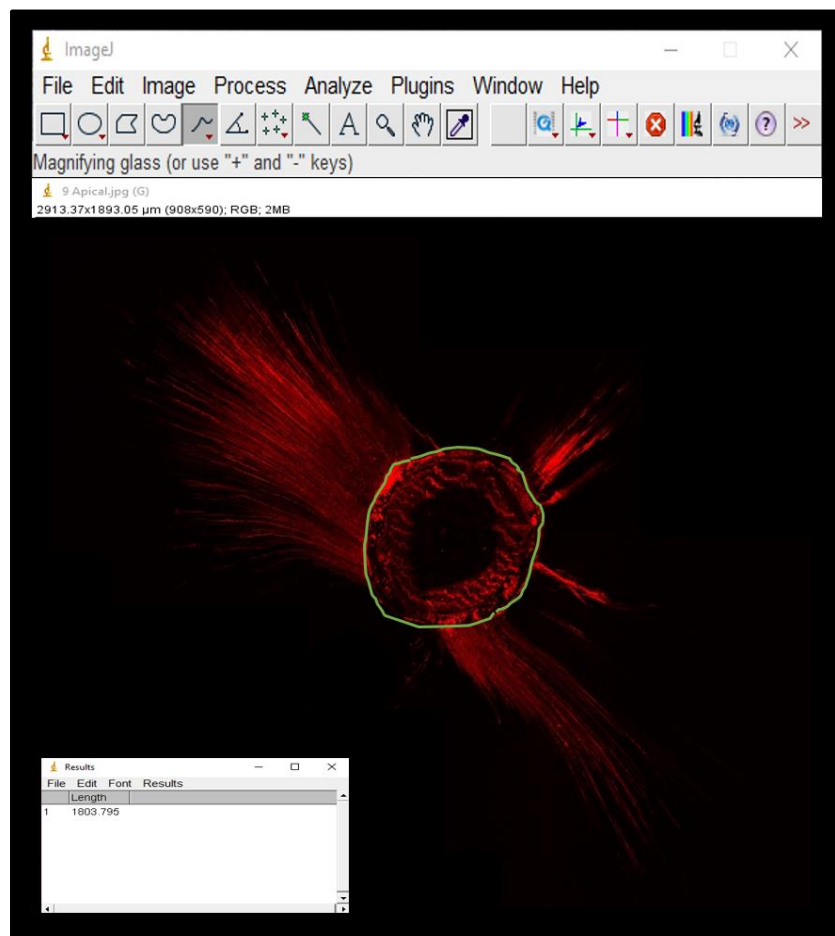
**Figura 34. Micrografías confocal representativas de cada grupo.**

Se muestran tres micrografías representativas de cada tercio (apical, medio y cervical) para cada grupo: AH Plus, MTA Fillapex, BioRoot RCS y Rodamina B, a un acercamiento 7.5X.

## Análisis de las imágenes

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.

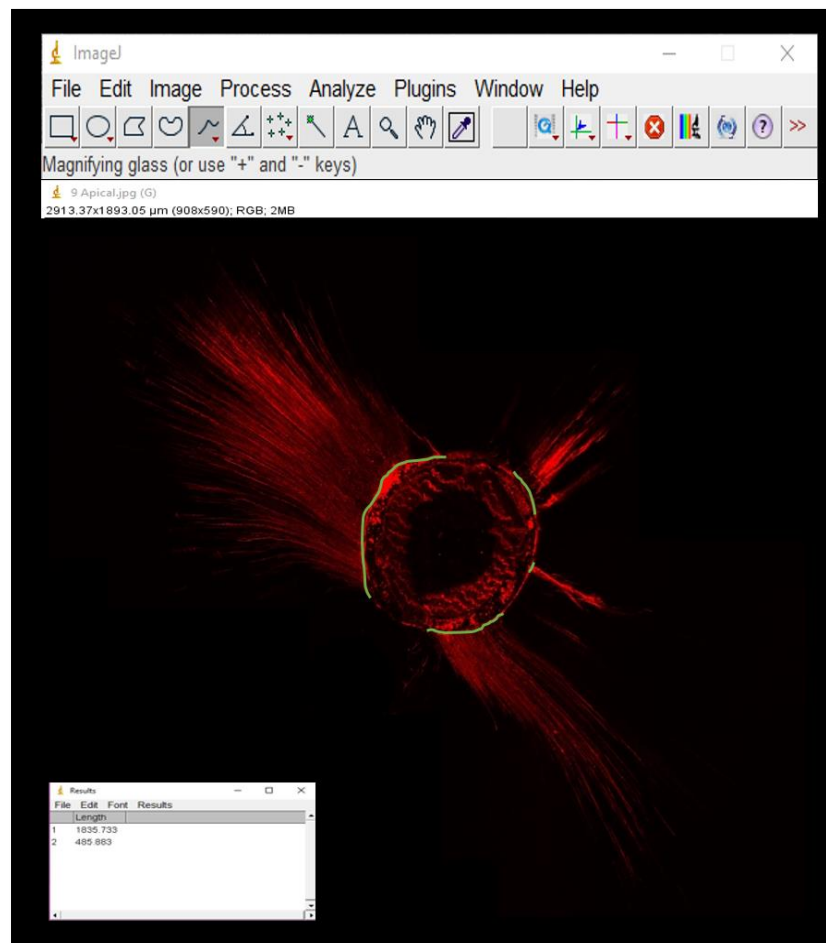
## Porcentaje de penetración



**Figura 35. Medición de la circunferencia de la pared del conducto para el cálculo del porcentaje de penetración de los cementos selladores.**

Se muestra en color verde la medición de la circunferencia total de la pared del conducto. Se empleó el programa ImageJ. El valor obtenido se representa en  $\mu\text{m}$ .

Para calcular el porcentaje de penetración de cada cemento sellador, se trazó una línea sobre la circunferencia que demarcaba la pared del conducto radicular, empleando la herramienta de “lazo libre”. A continuación, se midió longitud total de la circunferencia trazada (Figura 35) y de los segmentos de la misma a partir de los cuales se extendían túbulos penetrados con el cemento (Figura 36). El porcentaje de penetración se determinó a partir de la división de la sumatoria de segmentos que presentaban penetración hacia los túbulos entre la longitud total de la circunferencia trazada (12). La herramienta de medición fue calibrada con ayuda de la barra de escala de cada micrografía previo al a trazado y medición de la circunferencia y sus segmentos.

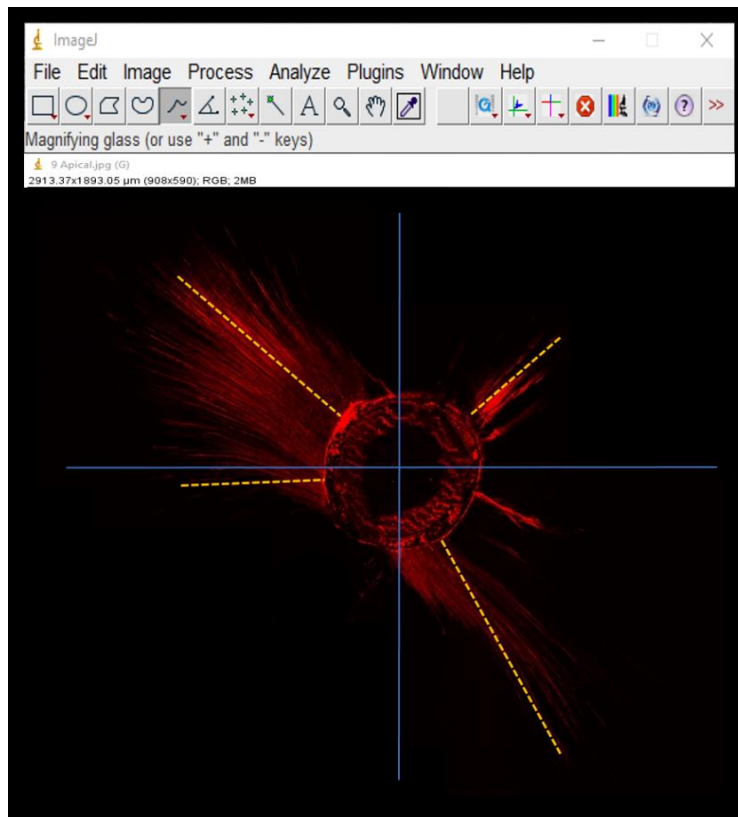


**Figura 36. Medición de las zonas de penetración para el cálculo del porcentaje de penetración de los cementos selladores.**

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

## 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 “cuadrado”. 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 37). 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 37) (28, 29).



**Figura 37. 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

La eficiencia de penetración de cada cemento fue caracterizada por microscopia de fluorescencia confocal (empleando el colorante Rodamina B como marcador fluorescente) en términos de (i) el porcentaje de penetración y (ii) la profundidad de penetración; los resultados obtenidos de estas caracterizaciones se presentan en las **Gráfica 1** y **Gráfica 2**, respectivamente.

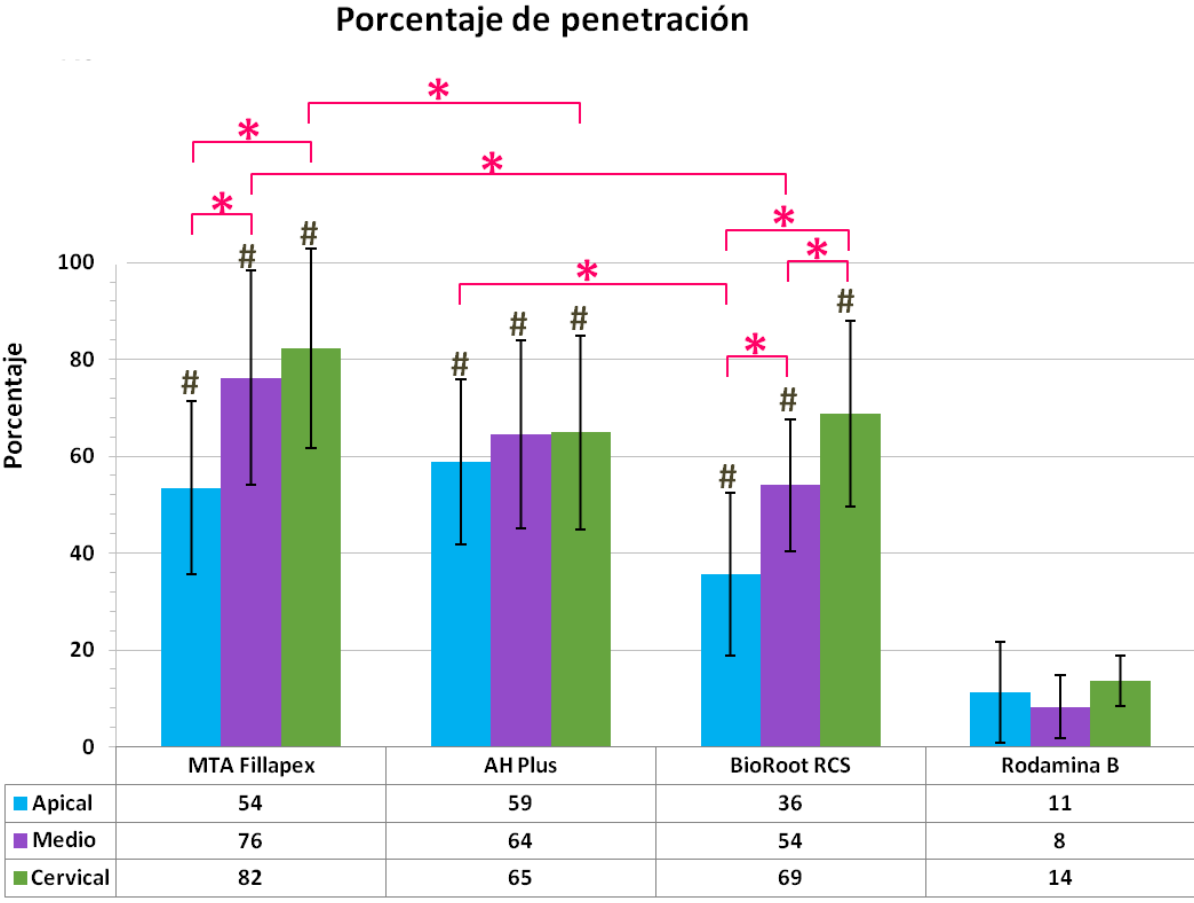
En la **Gráfica 1** se muestra el porcentaje de penetración para los cementos objeto de estudio a nivel apical, medio y cervical. De manera general, todos los cementos presentaron una tendencia creciente en su penetración a los túbulos en función del tercio estudiado, adoptando porcentajes de penetración de ca. 40-60%, 50-80% y 70-80% para los tercios apical, medio y cervical, respectivamente. Estas diferencias resultaron ser significativas solo para los casos de los cementos MTA Fillapex y BioRoot RCS; el cemento AH Plus, aunque presentó la tendencia descrita, no desplegó diferencia significativa entre los distintos tercios. Por otro lado, al hacer comparaciones cruzadas entre cementos para cada tercio, se observó que el cemento MTA Fillapex fue el que desplegó mayor porcentaje de penetración de los tres, en particular para los tercios medio y cervical, presentando diferencia significativa con respecto a los cementos BioRoot RCS y AH Plus, respectivamente. Finalmente, en lo que respecta al tercio apical, se observó diferencia significativa entre los cementos AH Plus y BioRoot RCS únicamente.

Muy importante, los tres cementos presentaron diferencia significativa en todos y cada uno de los tercios estudiados con respecto a la disolución acuosa de Rodamina B empleada como control positivo en la experimentación.

En la **Gráfica 2** se muestra la profundidad de penetración de los cementos objeto de estudio hacia los túbulos dentinarios a nivel apical, medio y cervical. Al igual que para la caracterización anterior, se observa una tendencia creciente en la penetración de los cementos hacia los túbulos dentinarios, desplegando longitudes de penetración de ca.

400-600  $\mu\text{m}$ , 500-1000  $\mu\text{m}$  y 600-1000  $\mu\text{m}$  para los tercios apical, medio y cervical, respectivamente. Estas diferencias resultaron ser significativas solo para los casos de los cementos MTA Fillapex y BioRoot RCS; el cemento AH Plus, aunque presentó la tendencia descrita, no desplegó diferencia significativa entre los distintos tercios. En lo que respecta a las comparaciones cruzadas entre cementos para cada tercio, nuevamente se distinguió el cemento MTA Fillapex como el más efectivo en términos de su penetración, en particular para los tercios medio y cervical, ambos presentando diferencia significativa con respecto al cemento AH Plus. En lo que respecta a la profundidad de penetración en el tercio apical, no se observó diferencia significativa entre los tres cementos estudiados. Nuevamente, los tres cementos presentaron diferencia significativa en todos y cada uno de los tercios estudiados con respecto a la disolución acuosa de Rodamina B empleada como control.

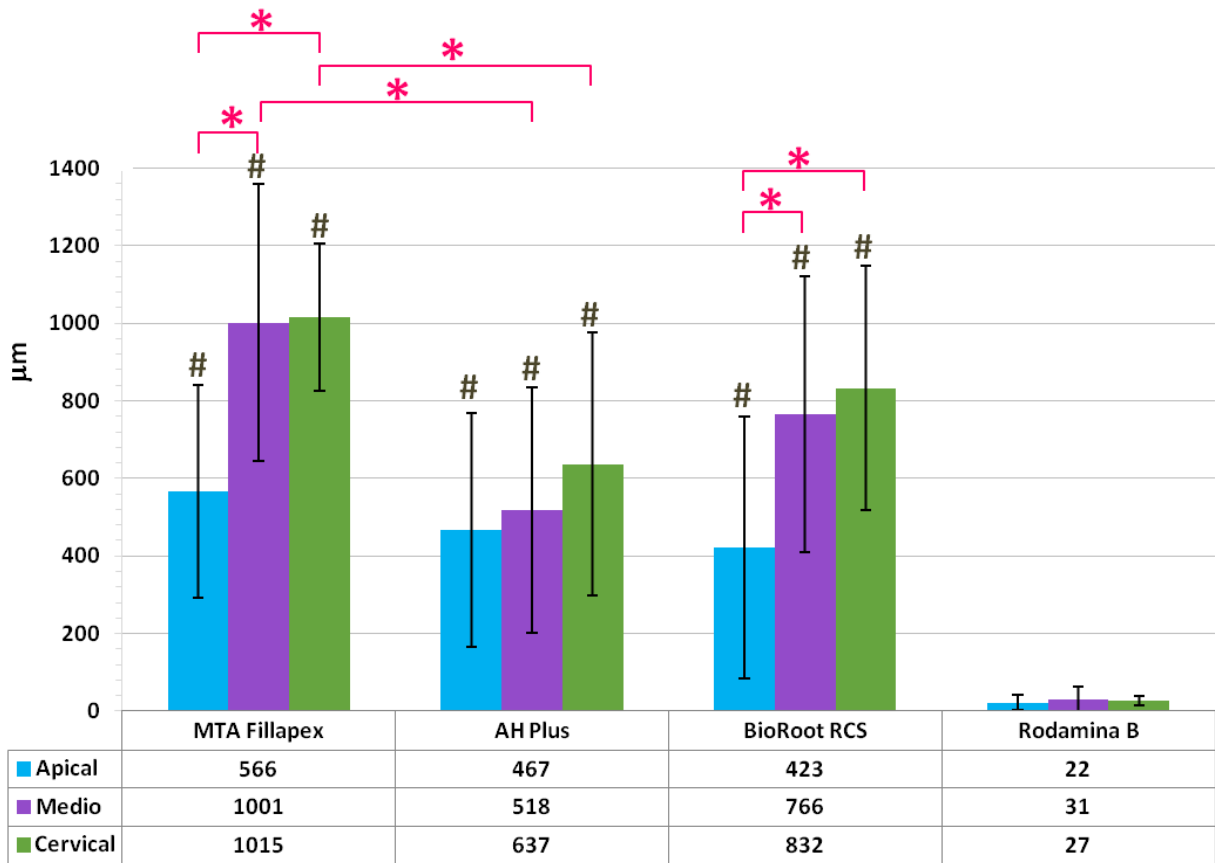
A la luz de los resultados aquí presentados, se confirma la hipótesis alternativa (H1) de esta investigación, distinguiéndose el cemento MTA Fillapex como el más efectivo en términos de (i) el porcentaje de penetración y (ii) la profundidad de penetración, aunque presentando diferencias significativas en función del tercio estudiado. Esta observación concuerda perfectamente con lo reportado en la literatura, donde a través de estudios comparativos con otros cementos y empleando técnicas de obturación distintas, el MTA Fillapex ha sido validado como un cemento sellador con gran capacidad de penetración (18, 25–27). Por otro lado, en lo que respecta a la técnica de caracterización empleada, se valida a la microscopia de fluorescencia confocal como una técnica de vanguardia, versátil y muy adecuada para la evaluación de la capacidad de penetración de cementos endodónticos selladores.



**Gráfica 1. Porcentaje de penetración de los cementos MTA Fillapex, AH Plus y BioRoot RCS hacia los túbulos dentinarios de incisivos centrales inferiores 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 asteriscos representan los casos donde se encontró diferencia significativa tras las comparaciones (\*  $p < 0.05$ ).

Profundidad de penetración



Gráfica 2. Profundidad de penetración de los cementos MTA Fillapex, AH Plus y BioRoot RCS a lo largo de los túbulos dentinarios de incisivos centrales inferiores 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 significativa tras las comparaciones entre los cementos y las comparaciones de cada uno de los tercios de los cementos con respecto a su tercio correspondiente tratado con la disolución acuosa de Rodamina B (\*, # p < 0.05).

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### Conclusiones

Se caracterizó por microscopia de fluorescencia confocal la eficacia de penetración de los cementos selladores AH Plus, MTA Fillapex y BioRoot RCS en los túbulos dentinarios de órganos dentales obturados con la técnica de cono único, en términos de (i) el porcentaje de penetración y (ii) la profundidad de penetración. Las conclusiones se enlistan a continuación:

1. En lo que respecta al porcentaje de penetración, los cementos selladores MTA Fillapex y BioRoot RCS desplegaron una tendencia creciente en los valores adoptados al ser evaluados en los tercios apical, medio y cervical, con diferencia significativa entre ellos (con un nivel de confianza del 95%).
2. Para los tercios medio y cervical, el cemento sellador con mayores porcentajes de penetración fue el MTA Fillapex, presentando diferencia significativa con respecto a los cementos BioRoot RCS y AH Plus, respectivamente (con un nivel de confianza del 95%).
3. Para el tercio apical, el cemento sellador con mayores porcentajes de penetración fue el AH Plus, con diferencia significativa con respecto al cemento BioRoot RCS (con un nivel de confianza del 95%).
4. En lo que respecta a la profundidad de penetración, los cementos selladores MTA Fillapex y BioRoot RCS desplegaron una tendencia creciente en los valores adoptados al ser evaluados en los tercios apical, medio y cervical, con diferencia significativa entre ellos (con un nivel de confianza del 95%).
5. Para los tres tercios estudiados, el cemento sellador con mayor profundidad, presentando diferencia significativa en los tercios medio y cervical con respecto al cemento AH Plus (con un nivel de confianza del 95%).

6. Todos los cementos en todos los tercios presentaron diferencia significativa tanto en el porcentaje como en la profundidad de penetración con respecto a la solución acuosa de Rodamina B (con un nivel de confianza del 95%).
7. En lo que respecta a la técnica de caracterización empleada, se valida a la microscopia de fluorescencia confocal como una técnica de vanguardia, versátil y muy adecuada para la evaluación de la capacidad de penetración de cementos endodónticos selladores.
8. A la luz de estos resultados aquí presentados, el cemento MTA Fillapex se distinguió como el más efectivo en términos del porcentaje y profundidad de penetración a los túbulos dentinarios, aunque presentando diferencias significativas en función del tercio estudiado.
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 que aquí se presenta a diferentes muestras de estudio, en donde se incluyan dientes premolares y caninos, esto con el objetivo de validar si la eficiencia de penetración de los cementos objeto de estudio varía con la anatomía natural de los órganos dentales los resultados varían con los obtenidos en éste estudio.

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Soares IJ, Goldberg F. Endodoncia, Técnica y Fundamentos. 1st ed. Panamericana EM, editor. 2002. 326 p.
2. Canalda C, Brau E. Endodoncia: Técnicas clínicas y bases científicas. 2a ed. Masson, editor. Elsevier; 2006. 416 p.
3. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol.* 1965;20(3):340–9.
4. Patel D V., Sherriff M, Ford TRP, Watson TF, Mannocci F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: A confocal microscopic study. *Int Endod J.* 2007;40(1):67–71.
5. Chandra SS, Shankar P, Indira R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: A confocal microscopic study. *J Endod [Internet]. Elsevier Ltd; 2012;38(10):1412–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2012.05.017>*
6. Ozkocak I, Sonat B. Evaluation of Effects on the Adhesion of Various Root Canal Sealers after Er:YAG Laser and Irrigants Are Used on the Dentin Surface. *J Endod [Internet]. Elsevier Ltd; 2015;41(8):1331–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2015.03.004>*
7. Zhang W, Li Z, Peng B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology [Internet]. Mosby, Inc.; 2009;107(6):e79–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.02.024>*
8. Briceño VI, Gil LBM, Cíodaro AR, De la Espriella CM. Comparación de la interfase cemento sellador-dentina en dos técnicas de obturación : condensación lateral y condensación híbrida mixta. *Univ Odontológica.* 2015;34(73):21–8.
9. Estrela C. Ciencia Endodóntica. 1st ed. Latinoamerica, Artes Médicas; 2004. 1032 p.
10. Schilder H, Hargreaves KM. Filling root canals in three dimensions. *J Endod.* 2006;32(4):281–90.

11. Leonardo MR. Endodoncia - Tratamiento de conductos radiculares, principios técnicos y biológicos. 2 Volúmenes. 1st ed. Latinoamérica, Artes Medicas; 2005. 1372 p.
12. Zapata RO, Bramante CM, Graeff MS, Del Carpio Perochena A, Vivian 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]. Elsevier Inc.; 2009;108(3):450–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.04.024>
13. Cohen S, Burns RC. *Vías de la Pulpa*. 8th ed. Mosby, editor. Elsevier Science; 2002. 1028 p.
14. Zhou H, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng Y, Haapasalo M. Physical Properties of 5 Root Canal Sealers. *J Endod* [Internet]. Elsevier Ltd; 2013;39(10):1281–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0099239913005499>
15. Mamootil K, Messer HH. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. *Int Endod J*. 2007;40(11):873–81.
16. Candeiro GTDM, Campelo FC, Húngaro MAD, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod*. 2012;38(6):842–5.
17. Silva RV, Silveira FF, Horta MCR, Duarte MAH, Cavenago BC, de Morais IG, et al. Filling effectiveness and dentinal penetration of endodontic sealers: A stereo and confocal laser scanning microscopy study. *Braz Dent J*. 2015;26(5):541–6.
18. Kok D, Da Rosa RA, Barreto MS, Busanello FH, Santini MF, Pereira JR, et al. Penetrability of AH plus and MTA fillapex after endodontic treatment and retreatment: A confocal laser scanning microscopy study. *Microsc Res Tech*. 2014;77(6):467–71.
19. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 1999;25(3):197–205.
20. Prüllage RK, Urban K, Schäfer E, Dammaschke T. Material Properties of a Tricalcium Silicate-containing, a Mineral Trioxide Aggregate-containing, and an Epoxy Resin-based Root Canal Sealer. *J Endod*. 2016;42(12):1784–8.

21. Trope M, Bunes ALF, Debelian G. Root filling materials and techniques : bioceramics a new hope ? *Endod Top*. 2015;32(1):86–96.
22. Wu MK, Van Der Sluis LWM, Ardila CN, Wesselink PR. Fluid movement along the coronal two-thirds of root fillings placed by three different gutta-percha techniques. *Int Endod J*. 2003;36(8):533–40.
23. 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/Microcopia de laser confocal PDF.pdf](http://www.vet.unicen.edu.ar/html/Departamentos/Samp/Microbiologia/Microcopia%20de%20laser%20confocal%20PDF.pdf)
24. Siqueira JF, Rôças IN, Alves FRF, Campos LC. Periradicular status related to the quality of coronal restorations and root canal fillings in a Brazilian population. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2005;100(3):369–74.
25. Akcay M, Arslan H, Durmus N, Mese M, Capar ID. Dentinal tubule penetration of AH Plus, iRoot SP, MTA fillapex, and guttaflow bioseal root canal sealers after different final irrigation procedures: A confocal microscopic study. *Lasers Surg Med*. 2016;48(1):70–6.
26. Kuçi A, Alaçam T, Yavaş Ö, Ergul-Ulger Z, Kayaoglu G. Sealer penetration into dentinal tubules in the presence or absence of smear layer: A confocal laser scanning microscopic study. *J Endod*. 2014;40(10):1627–31.
27. McMichael GE, Primus CM, Opperman LA. Dentinal tubule penetration of tricalcium silicate sealers. *J Endod* [Internet]. Elsevier Ltd; 2016;42(4):632–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2015.12.012>
28. 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. *Int Endod J*. 2004;37(12):840–8.
29. Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG. A Confocal Laser Scanning Microscope Investigation of the Epiphany Obturation System. *J Endod*. 2007;33(8):957–61.