



Universidad Autónoma de Baja California



Facultad de Odontología Tijuana

Especialidad en Endodoncia

**CARACTERIZACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA,
COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CITOCOMPATIBILIDAD DE
LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS
BIODENTINE, MTA ANGELUS Y GREY MTA PLUS**

Tesis para obtener:

Grado de Especialidad en Endodoncia

Presenta:

C.D. José Luis Osuna Garibaldi

Directora:

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

Co-directores:

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

Dr. Manuel Alatorre Meda

Tijuana, Baja California, 2017

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC a 16 de mayo de 2017

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **CARACTERIZACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE, MTA ANGELUS Y GREY MTA PLUS**

Propuesto por el **CD José Luis Osuna Garibaldi**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

A T E N T A M E N T E

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

**PRESIDENTE
(DIRECTORA DEL PROYECTO)**

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC a 16 de mayo de 2017

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **CARACTERIZACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE, MTA ANGELUS Y GREY MTA PLUS**

Propuesto por el **CD José Luis Osuna Garibaldi**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

A T E N T A M E N T E

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

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

Ccp.- Archivo.

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA**

Tijuana, BC a 16 de mayo de 2017

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **CARACTERIZACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA, COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CITOCOMPATIBILIDAD DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE, MTA ANGELUS Y GREY MTA PLUS**

Propuesto por el **CD José Luis Osuna Garibaldi**, 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.

**CARACTERIZACIÓN DE LA MICROESTRUCTURA,
COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CITOCOMPATIBILIDAD DE
LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS
BIODENTINE, MTA ANGELUS Y GREY MTA PLUS**

Presenta:

C.D. José Luis Osuna Garibaldi

Directora:

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

Co-directores:

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

Dr. Manuel Alatorre Meda

Tijuana, Baja California, 30 de mayo de 2017

AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar este trabajo de tesis a mi familia, a mi madre y a mi padre. A mi madre por ser un ejemplo de vida y por el apoyo incondicional que me ha brindado.

Agradezco al Dr. Julio Cesar García Briones y la Dra. María de los Ángeles Hofmann Salcedo por su apoyo y motivación para entrar al posgrado.

A la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, Co-directora de esta tesis, por su paciencia, por darme la oportunidad y creer en mí.

También quiero agradecer a todos los docentes que han participado consciente o inconscientemente en mi formación, a mis maestros de licenciatura y de posgrado.

Un especial agradecimiento a mi Directora de tesis la Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez por su esfuerzo, paciencia y dedicación en este trabajo.

Quiero agradecer a mis compañeros de posgrado por todas las enseñanzas y principalmente por ser parte del camino.

AGRADECIMIENTOS

Finalmente, quiero agradecer a las siguientes instituciones:

Al Dr. Pablo Taboada Antelo de la Universidad de Santiago de Compostela, España por la ejecución de los ensayos biológicos.

Al Dr. Sergio Pérez Sicaños y al L.Q. Yasmany García Rodríguez del Instituto Tecnológico de Tijuana por su asesoría en los experimentos de SEM y FT-IR, respectivamente.

Al Dr. Manuel Alatorre Meda del Instituto Tecnológico de Tijuana, Co-director de esta tesis, por su apoyo en el diseño de experimentos.

Al CONACyT por la beca otorgada.

Contenido

AGRADECIMIENTOS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	3
Endodoncia.....	3
Pulpa dental y tejidos perirradiculares.....	4
Pulpa dental.....	4
Tejidos perirradiculares.....	5
Cementos a base de Agregado de Trióxido Mineral.....	7
Los cementos MTA en el mercado.....	8
Aplicaciones de los cementos endodónticos: generalidades.....	9
Terapias en dientes con pulpa vital.....	9
Terapias en dientes con pulpa necrótica.....	10
JUSTIFICACIÓN.....	13
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
HIPÓTESIS.....	17
Hipótesis de trabajo.....	17
Hipótesis nula.....	17
Hipótesis alternativa.....	17
OBJETIVOS.....	19
Objetivo general.....	19
Objetivos específicos.....	19
VARIABLES.....	21
Variables independientes.....	21
Variables dependientes.....	21

Operación de variables	21
MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
Tipo de estudio.....	23
Universo de estudio.....	23
Metodología	23
Materiales	23
Determinación de microestructura y composición elemental.....	23
Determinación de composición química.....	24
Determinación de la citocompatibilidad	24
Condiciones de cultivo celular.....	25
Análisis estadístico	26
RESULTADOS	27
Microestructura y análisis elemental por SEM-EDX.....	27
Composición química por FT-IR.....	30
Citocompatibilidad por ensayos ELISA.....	32
DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	39
Conclusiones.....	39
Recomendaciones.....	39
BIBLIOGRAFÍA.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Micrografías (A, B) y análisis elemental (C) del cemento Biodentine..... 28

Figura 2. Micrografías (A, B) y análisis elemental (C) del cemento MTA Angelus 29

Figura 3. Micrografías (A, B) y análisis elemental (C) del cemento Grey MTA Plus 30

Figura 4. Espectro FT-IR del cemento Biodentine..... 31

Figura 5. Espectro FT-IR del cemento MTA Angelus 32

Figura 6. Espectro FT-IR del cemento Grey MTA Plus..... 32

Figura 7. Viabilidad celular tras la incubación de lixiviados de los cementos..... 33

RESUMEN

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, diagnóstico y tratamiento de las alteraciones pulpares y sus repercusiones sobre los tejidos periapicales.

Debido a su desarrollo científico y tecnológico, la endodoncia es considerada actualmente como una de las ramas más importantes de la odontología, constituyendo una parte integral de diversos tratamientos restauradores y protésicos. El desarrollo de esta disciplina ha involucrado la práctica, adaptación y evolución de distintos conceptos y filosofías a lo largo del tiempo. Podemos mencionar, por ejemplo, avances tecnológicos relativos a los instrumentos y materiales utilizados. Sin embargo, el verdadero adelanto técnico/científico de esta especialidad se produjo cuando el profesional buscó la solución de los problemas clínicos en los principios biológicos, de ahí que el éxito de cualquier tratamiento endodóntico en el largo plazo deberá considerar tanto los aspectos operacionales de la técnica como los aspectos y características biológicas de los tejidos a tratar y sus tejidos adyacentes.

Este trabajo de investigación tuvo como objetivo el caracterizar los cementos endodónticos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus, producidos a base de agregados de trióxido mineral. La caracterización se llevó a cabo empleando técnicas experimentales de vanguardia, tales como SEM-EDX, FT-IR y ensayos ELISA en presencia de células HeLa. Nuestra intención fue identificar diferencias - si las hay- en la microestructura, composición química y citocompatibilidad de los tres cementos objeto de estudio.

INTRODUCCIÓN

Endodoncia

La endodoncia, desde el punto de vista etimológico, es la parte de la odontología que se ocupa del interior del diente (endo = dentro, donto = diente). Es la especialidad odontoestomatológica que se encarga del estudio de la morfología, fisiología y patología de la pulpa dental y de los tejidos perirradiculares, así como del diagnóstico y tratamiento de las enfermedades pulpares y perirradiculares (1, 2). Incluye, por tanto, el diagnóstico diferencial y el tratamiento del dolor orofacial de origen pulpar y periapical; los tratamientos de conductos radiculares indicados cuando la pulpa, inflamada o necrótica, tenga que ser extraída de los mismos; los tratamientos para mantener la vitalidad pulpar y la cirugía periapical; entre otros. También se engloban en esta especialidad los blanqueamientos de piezas dentarias desvitalizadas con alteraciones del color, el tratamiento de las reabsorciones radiculares, el manejo de la pulpa afectada en los traumatismos dentales y los retratamientos de conductos en aquellos casos que han fracasado previamente (1, 2).

Desde una perspectiva general, la endodoncia constituye una ciencia integrada en el conjunto de las ciencias de la salud y se relaciona con otras ciencias, tanto básicas como aplicadas. Por ejemplo, se relaciona con ciencias básicas tales como histología, histopatología, microbiología, inmunología y bioquímica, sólo por citar algunas. Asimismo, también se relaciona con ciencias clínicas y aplicadas tales como cirugía, medicina bucal, periodoncia, ciencia y tecnología de materiales, metalurgia, física, química, estadística, nanotecnología, etc. Todas estas ciencias han contribuido a la evolución de la endodoncia desde los puntos de vista operacional y técnico debido a que han permitido el diseño, desarrollo y aplicación tanto de materiales nuevos como de conceptos de vanguardia (1, 2). Sin embargo, para asegurar el éxito de cualquier tratamiento endodóntico en el largo plazo es necesario considerar, además de los aspectos operacionales de la técnica, los aspectos y características biológicas de los tejidos a tratar y sus tejidos adyacentes (3-5). Teniendo lo anterior en mente 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 endodónticos producidos a base de agregados de trióxidos minerales.

Pulpa dental y tejidos perirradiculares

Pulpa dental

La pulpa dental es un tejido conjuntivo laxo especializado de origen mesenquimatoso que se localiza en la cámara pulpar y el conducto radicular de los dientes. Su especialización se debe a que tiene células odontoblastos dispuestas en su periferia que son responsables de la formación de la matriz orgánica de la dentina que la recubre. Otros elementos tisulares que componen a la pulpa incluyen axones, tejido vascular, fibras del tejido conectivo, sustancia fundamental, fluido intersticial, fibroblastos, células inmunocompetentes, etc. (1, 6).

La dentina es un tejido duro calcificado y en continua formación, que permite a la pulpa reaccionar y protegerse de agentes agresores, aunque provoca la progresiva disminución de su volumen y limita su capacidad para expandirse durante los episodios de vasodilatación y filtración aumentada. La pulpa y la dentina tienen características histológicas distintas, pero su relación de interdependencia hace que estos tejidos sean entendidos y reconocidos como integrantes de un mismo complejo, denominado complejo dentino-pulpar (1, 6).

La pulpa se comunica con el ligamento periodontal a través del foramen apical por donde pasan elementos vasculares y nerviosos y, en ocasiones, por medio de eventuales conductos laterales (1, 6). La pulpa está constituida por un sistema microcirculatorio cuyos componentes vasculares principales son las arteriolas y vénulas. La microvascularización se establece en la región de los odontoblastos y proporciona un flujo sanguíneo elevado, constituyendo la base funcional de la nutrición y de la capacidad reactiva del complejo dentino-pulpar (1, 6).

La pulpa es un órgano sensorial único que contiene nervios sensitivos a lo largo de toda su extensión, estos hacen anastomosis del centro hacia la periferia dando lugar a un plexo rico en nervios denominado plexo de Raschkow, situado en la zona subodontoblástica. Desde esta zona, las fibras de los nervios sensitivos se insinúan en la capa de odontoblastos y eventualmente penetran en los túbulos dentinarios. Estas terminaciones nerviosas desnudas provocan la sensación de dolor ante los diversos estímulos aplicados sobre el complejo dentino-pulpar (1, 6).

La pulpa es un tejido que cambia con el tiempo. A medida que avanza la edad, el volumen pulpar se reduce a causa de la producción de dentina secundaria y la generación eventual de dentina terciaria. El contenido de células disminuye, mientras aumenta en forma proporcional la cantidad de colágeno. La circulación se reduce debido al estrechamiento de los accesos a través de los forámenes y por procesos degenerativos vasculares. La degeneración de nervios y el aumento de calcificaciones distróficas completan el cuadro de envejecimiento del órgano pulpar, reduciendo su capacidad metabólica y su potencial de reparación (1, 6).

El complejo dentino-pulpar está envuelto por distintos tejidos: en la corona por esmalte dentario y en la raíz por cemento, ligamento periodontal y hueso alveolar. No es de extrañarse, por tanto, que la armonía del complejo pueda ser comprometida si los tejidos circundantes sufren alguna forma de agresión, que pueda llegar a la pulpa por el sistema de conductos radiculares y por el sistema de túbulos dentinarios. Asimismo, patologías pulpares de naturaleza inflamatoria o degenerativa pueden comprometer a sus tejidos circundantes (1).

Tejidos perirradiculares

El periodonto de inserción es el aparato de sostén del diente en el alveolo y está constituido por los tejidos perirradiculares. Estos tejidos, originados del mismo componente embrionario, conforman una unidad funcional mantenida, en el diente adulto, por la actividad metabólica del ligamento periodontal. Los tejidos perirradiculares constan de cemento radicular, ligamento periodontal y hueso alveolar (1, 2, 7).

El **cemento radicular** es un tejido calcificado muy semejante al hueso, que recubre la dentina radicular y la protege reduciendo así su permeabilidad. Asimismo, provee un medio de anclaje a las fibras periodontales en la raíz del diente. Es menos dinámico que el hueso, no se remodela, pero crece de manera continua por aposición de nuevas capas. Es más resistente que el hueso a los procesos de reabsorción. Con su crecimiento continuo, proporciona la reparación fisiológica y anatómica de las reabsorciones radiculares (7-9). Después del tratamiento de conductos, puede promover el sellado parcial o total del foramen apical por formación hipertrófica (1, 10).

El cemento radicular puede ser de 3 tipos: i) cemento celular afibrilar (cubre los dientes en toda la unión amelo cementaria), ii) cemento acelular extrínseco fibroso (confinado en la mitad coronal radicular) y iii) cemento celular intrínseco fibroso (en la mitad apical radicular) (1, 4, 10).

En la matriz de cemento pueden encontrarse muchos factores de crecimiento, como el factor de crecimiento 1 insulinoide (IGF-1), los factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), las proteínas morfogénicas óseas (BMP), el factor B transformante de crecimiento (TGF-B) y el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF). Estos factores de crecimiento se asocian a la proliferación, migración y diferenciación de los cementoblastos durante la cicatrización de la lesión del cemento y pueden ser liberados en determinadas circunstancias (6).

El **ligamento periodontal** es tejido conjuntivo con fibras de colágeno que establecen la inserción del diente en la pared alveolar. Entre sus características principales, se puede destacar que es un tejido rico en células, vasos y nervios, que posee un metabolismo intenso y que tiene el índice de renovación más rápido de todos los tejidos conjuntivos del cuerpo. Interacciona con el cemento y el hueso alveolar, presentando en su superficie las células formadoras y de reabsorción de ambos tejidos (1, 7-9). El ligamento periodontal contiene varias poblaciones celulares heterogéneas y matriz extracelular (MEC). Las células presentes en el ligamento periodontal son: osteoblastos, osteoclastos, fibroblastos, restos

epiteliales de Malassez (REM), macrófagos, cementoblastos y células mesenquimatosas indiferenciadas (6-9).

El **hueso alveolar** de inserción o lámina dura es producido por los osteoblastos del ligamento y fija las haces de fibras periodontales, que en su otro extremo se insertan en el cemento. Es un tejido plástico que experimenta remodelaciones, incluidas las alteraciones promovidas por el tratamiento ortodóntico (7, 9). En las patologías perirradiculares es reabsorbido por los osteoclastos estimulados por los mediadores químicos de la inflamación y por las endotoxinas, entre otros. Su reparación, después de la eliminación de los agentes agresores, la realizan los osteoblastos del ligamento periodontal y de la medula ósea circundante (1).

Cementos a base de Agregado de Trióxido Mineral

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. Las principales indicaciones de los cementos MTA, son el tratamiento pulpar en dientes vitales (pulpotomías, recubrimiento pulpar directo), apicoformaciones (barrera apical), cirugía endodóntica, reparación de perforaciones furcales, laterales y las provocadas por las reabsorciones. Los cementos MTA favorecen la formación de hueso y cemento, y pueden facilitar la regeneración del ligamento periodontal sin provocar inflamación (11-13).

En general, los polvos de MTA consisten de partículas finas hidrófilas que fraguan en presencia de humedad. Sus principales componentes son: silicato tricálcico ($3\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$), silicato dicálcico ($2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$), aluminato tricálcico ($3\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3$), aluminato férrico tetracálcico ($4\text{CaO}\cdot\text{Al}_2\text{O}_3\cdot\text{Fe}_2\text{O}_3$), sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$) y sílice cristalina (SiO_2), además de restos insolubles como óxido de calcio (CaO), sulfato de potasio (K_2SO_4), sulfato de sodio (Na_2SO_4) y óxido de magnesio (MgO). 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 (Bi_2O_3) que hace al material radiopaco (13, 14).

Los cementos MTA en el mercado

La primera marca en comercializar un cemento MTA para uso odontológico fue ProRoot (Dentsply Tulsa Dental, Oklahoma, USA). Comercializado a partir de 1995, el **MTA ProRoot** es un polvo grisáceo diseñado para reparación radicular (13). En 2001 se lanzó al mercado el **MTA Angelus** (Angelus, Londrina, PR, Brasil) que difería en algunos detalles en la composición química del MTA ProRoot, pero tenía un aspecto similar. Actualmente existen dos presentaciones de MTA: MTA-Blanco y MTA-Gris. El MTA-Blanco presenta menor cantidad de óxido de hierro (Fe_2O_3), óxido de aluminio (Al_2O_3) y MgO mismas que son la causa de su cambio de color (12).

Además de estas presentaciones pioneras, existen otras marcas comerciales con ligeras variaciones, como lo es el **Biodentine** que se introdujo en 2009 (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Cedex Francia). El Biodentine está compuesto de 3CaO-SiO_2 , carbonato de calcio (CaCO_3) y óxido de zirconio (ZrO_2), que se mezclan con un solvente que contiene agua y cloruro de calcio (CaCl_2) para acelerar la fijación y policarboxilato modificado como agente plastificante (15). El Biodentine preserva la viabilidad de los fibroblastos gingivales y promueve la formación de tejido mineralizado, aunque una presenta una radiopacidad baja (15).

Otra presentación comercial de este tipo de cementos es el **MTA Plus** (Avalon Biomed Inc. Bradenton, FL, USA) que tiene una composición similar a la del MTA ProRoot. Además de ser un producto de menor costo, presenta la ventaja de ser un polvo más fino, con tamaños de partícula inferiores a $1\ \mu\text{m}$ (50% más pequeños que otros cementos de trióxido de mineral), favoreciendo en mayor medida la liberación de iones, absorción de agua, porosidad y solubilidad en comparación con el MTA ProRoot (16, 17).

Aplicaciones de los cementos endodónticos: generalidades

Los materiales dentales han sido parte importante en el diario evolucionar de la estomatología. En el área de endodoncia, diversos materiales han sido utilizados para la reparación de procesos radiculares. Idealmente, un material de reparación debe ser no-tóxico, bacteriostático, no reabsorbible, además de ser capaz de asegurar un sellado hermético óptimo y promover, en la medida de lo posible, la cicatrización y regeneración tisular (14). Dentro de los diferentes materiales que se han empleado para este propósito se encuentran: amalgamas, ionómeros de vidrio, hidróxido de calcio, hidroxiapatita, cemento de óxido de zinc y eugenol, gutapercha, cementos zinquenólicos y de óxido de zinc mejorados, cementos de oxifosfato de zinc, cementos MTA, etc. Como ya se ha mencionado, los cementos MTA han generado un interés creciente para su uso como cementos endodónticos, presentando, entre otros, propiedades físicas, químicas y biológicas mejoradas, lo que los habilita como materiales muy apropiados para terapias tanto en pulpa vital como en pulpas necróticas (11, 12, 14).

Terapias en dientes con pulpa vital

Las terapias en dientes con pulpa vital son procedimientos realizados con el fin de preservar la vitalidad pulpar, siendo aceptados cuando existe una exposición pulpar por fractura, preparación cavitaria o caries profunda. Este tipo de terapias incluye: i) el recubrimiento pulpar directo, ii) la pulpotomía y iii) la apicogénesis (6).

El **recubrimiento pulpar directo** consiste en la colocación directa de un preparado medicamentoso sobre la pulpa expuesta sin extirpar el tejido blando. Está indicado en pulpas previamente sanas que han sido expuestas a un traumatismo o restauración dental. Históricamente, el hidróxido de calcio ha sido el medicamento de elección para el tratamiento de pulpas mecánicamente expuestas. No obstante, en años recientes han surgido estudios que sugieren el uso de cementos MTA como una alternativa viable para este tipo de procedimientos, incluso para exposiciones pulpares por caries. Dichos estudios han demostrado la capacidad de estos materiales para formar un puente reparador de dentina y mantener la vitalidad continuada de la pulpa dental (1, 6).

La **pulpotomía** consiste en la extirpación parcial de la pulpa viva (generalmente la parte coronaria o cameral), seguida de la aplicación de un medicamento, permitiendo la conservación de la vitalidad pulpar (18). La pulpa remanente, debidamente protegida y tratada, mantiene de forma indefinida sus funciones sensoriales, defensivas y de formación de dentina (6, 19). La pulpotomía puede ser: i) parcial, indicada en traumatismos con exposición del tejido pulpar sano y ii) total, indicada en los casos con una inflamación pulpar que afecta a grados más profundos de la pulpa coronal (6, 19).

La **apicogénesis** es un tipo de terapia pulpar recomendado para dientes permanentes inmaduros. El objetivo de esta terapia es preservar la vitalidad pulpar del diente para permitir que termine la formación su raíz (1, 2, 19). A la fecha se han explorado distintas técnicas endodónticas para lograr la obturación de los grandes conductos de dientes inmaduros. No obstante, el pronóstico de retención permanente de estos dientes es limitado comparado con los dientes totalmente desarrollados. Factores tales como el grado de desarrollo radicular y el estado de la pulpa intervienen en la determinación del tratamiento a efectuar (6). Los estados irreversibles y de necrosis pueden llegar a determinar la utilización de técnicas inductoras (1, 2, 19).

Terapias en dientes con pulpa necrótica

Los cementos MTA han sido empleados también para tratamientos en dientes con pulpa necrótica. Entre estas terapias podemos encontrar: i) la apicoformación, ii) tratamientos en reabsorción radicular, iii) tratamientos de perforación radicular y de furca, y iv) la obturación retrograda (1, 2, 19).

La **apicoformación** o cierre del extremo radicular es el proceso por el cual un diente permanente inmaduro y no vital, que ha perdido la capacidad de desarrollo radicular, es inducido para formar una barrera calcificada en el extremo radicular. Este tratamiento está indicado en dientes con ápices abiertos y paredes dentinarias delgadas en los que no es posible crear un tope apical que facilite una obturación efectiva del conducto mediante la instrumentación clásica o en los que

pueda ocurrir una fractura de sus paredes. Su objetivo es estimular la formación de una barrera de tejido duro que permita el relleno óptimo del conducto y proteja la raíz debilitada de una fractura durante y después del cierre apical (1, 2, 19).

La **reabsorción radicular** es una condición asociada con un proceso fisiológico o patológico, que resulta en una pérdida de dentina y cemento radicular. Se produce por lesiones e irritaciones del ligamento periodontal o de la pulpa dental. Puede surgir como secuela de un traumatismo dentario, movimientos ortodónticos e infecciones pulpares crónicas o de las estructuras periodontales. Este proceso activo destructivo puede estar acompañado por reabsorción ósea (1, 2, 19).

Existen 2 tipos de **reabsorción radicular** en los que la pulpa juega un papel importante: i) reabsorción radicular inflamatoria externa, en la cual la pulpa necrótica infectada proporciona el estímulo para la inflamación del ligamento periodontal que incluye pérdida de cemento radicular, reabsorción radicular y reabsorción ósea y ii) reabsorción radicular inflamatoria interna, donde la pulpa inflamada es la implicada en la reabsorción del tejido radicular. Se cree que la pulpa infectada necrótica coronal proporciona un estímulo para la inflamación pulpar en sus zonas apicales. El objetivo del tratamiento endodóntico en las reabsorciones es eliminar el aporte sanguíneo a las células que provocan la reabsorción (1, 2, 19).

Las **perforaciones radiculares o de furca** pueden ocurrir durante la terapia de conductos, la preparación del espacio para postes o por la extensión de una reabsorción interna en los tejidos perirradiculares. La reparación de perforaciones de estos tipos se puede lograr por vía coronal o por un acercamiento quirúrgico. Entre los materiales endodónticos que se han explorado para el tratamiento de perforaciones radiculares se encuentran el cavit, la amalgama, óxido de zinc y eugenol, la gutapercha, el hidróxido de calcio, la hidroxiapatita y los cementos MTA. Entre estos materiales, los cementos MTA destacan por su capacidad alta de sellado (13).

La **obtención retrógrada** es imprescindible cuando a pesar de la obturación del conducto, el sellado hermético no es conseguido mediante los procedimientos

endodónticos convencionales. Este procedimiento es un recurso extremo y se indica en los casos en que los conductos radiculares son inaccesibles por vía coronaria debido a la presencia de obstáculos tales como fragmentos de un instrumento, calcificaciones, material obturador, malformaciones, reabsorción interna o defectos de instrumentación, entre otros (1, 2, 19).

A la fecha existen numerosos materiales que han sido propuestos como elementos de obturación retrograda, entre ellos podemos encontrar: la gutapercha, la amalgama, los cementos a base de óxido de zinc eugenol, las resinas compuestas, los cementos de policarboxilato, los cementos de fosfato de zinc, los ionómeros de vidrio, etc. Aunque son muy utilizados en la práctica clínica, estos materiales presentan los siguientes inconvenientes: i) son incapaces de evitar la salida de irritantes del conducto radicular infectado, ii) no promueven la reparación de los tejidos periapicales y iii) despliegan niveles de biocompatibilidad variables (1, 2, 19). Contrario a lo anterior, los cementos MTA han sido asociados a la formación de cemento radicular y a la regeneración de los tejidos perirradiculares hasta un estado casi normal (13). Además, dada su composición, destacan sobre otros materiales debido a que pueden utilizarse en ambiente húmedo (13).

JUSTIFICACIÓN

Existen en el mercado distintos tipos de cementos endodónticos cuya eficiencia a nivel clínico ha sido demostrada. No obstante, pocos de ellos han sido objeto de una caracterización sistemática desde los puntos de vista fisicoquímico y biológico que permita entender y predecir su comportamiento. Considerando lo anterior, y teniendo como objetivo el generar conocimiento desde una perspectiva general que nos permita entender y predecir el comportamiento de cementos endodónticos producidos a base de agregados de trióxido mineral, el presente estudio se enfocará en la caracterización de la microestructura, composición química y citocompatibilidad de los cementos endodónticos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el presente proyecto se plantea la caracterización de la microestructura, composición química y citocompatibilidad de los cementos endodónticos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus.

HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo

La caracterización fisicoquímica/biológica planteada en este trabajo de investigación nos permitirá identificar diferencias -si las hay- en la microestructura, composición química y citocompatibilidad de los tres cementos endodónticos objeto de estudio.

Hipótesis nula

Las células en cultivo en presencia y ausencia de lixiviados de los tres cementos endodónticos desplegarán porcentajes de citocompatibilidad iguales e invariantes con el tiempo, con un nivel de confianza del 95%.

Hipótesis alternativa

Las células en cultivo en presencia de lixiviados de al menos un cemento endodóntico presentará un porcentaje de citocompatibilidad distinto al de las células libres de lixiviados o variante con el tiempo, con un nivel de confianza del 95%.

OBJETIVOS

Objetivo general

El objetivo general de este proyecto es caracterizar la microestructura, composición química y citocompatibilidad de los cementos endodónticos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus.

Objetivos específicos

1. Caracterizar la microestructura de los cementos objeto de estudio.
2. Caracterizar la composición química y elemental de los cementos objeto de estudio.
3. Caracterizar la citocompatibilidad de los cementos objeto de estudio en función del tiempo.

VARIABLES

Variables independientes

1. Tipo de cemento endodóntico.
2. Tiempo de incubación en contacto con células HeLa en cultivo.

Variables dependientes

1. Microestructura de los cementos endodónticos.
2. Composición química y elemental de los cementos endodónticos.
3. Citocompatibilidad de los cementos endodónticos.

Operación de variables

A los cementos objeto de estudio se les determinará su microestructura, composición química y citocompatibilidad. Para su análisis, las muestras serán preparadas siguiendo las recomendaciones de los fabricantes. La microestructura y composición elemental serán caracterizadas por Microscopía Electrónica de Barrido-Energía Dispersiva de Rayos X (SEM-EDX, por sus siglas en inglés). La composición química será caracterizada por Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR, por sus siglas en inglés). Finalmente, la citocompatibilidad será caracterizada por ensayos inmunoenzimáticos ELISA.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Experimental

Universo de estudio

Cementos endodónticos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus.

Metodología

Materiales

Todos los cementos fueron de origen comercial. El cemento Biodentine fue de la marca Septodont (Saint-Maur-des-Fossés, Cedex, Francia). El cemento MTA Angelus (blanco) fue de la marca Angelus (Londrina, PR, Brasil). El cemento Grey MTA Plus fue de la marca Avalon Biomed Inc. (Bradenton, FL, USA). El bromuro de potasio (KBr) fue adquirido de Sigma-Aldrich. Las células HeLa fueron adquiridas de los laboratorios American Type Culture Collection (ATCC). Todos los medios y agentes de cultivo celular fueron adquiridos de Invitrogen. El reactivo de proliferación celular cck-8 fue de la marca Dojindo. Los cementos fueron preparados siguiendo las indicaciones del fabricante.

Determinación de microestructura y composición elemental

Los cementos fueron preparados en forma de cubos según las indicaciones de cada fabricante en condiciones de esterilidad. Una vez preparados, los cementos fueron almacenados en frascos de plástico cerrados y secos por ca. 1 semana a temperatura ambiente. Después, los cementos fueron sometidos a un proceso de secado en el interior de frascos de vidrio secos a una temperatura de 50 °C por 72 h. Después, cada cemento fue molido hasta preparar un talco empleando un mortero y un pistilo de ágata. 5 mg de cada talco fueron dispersados en 1.5 mL de etanol y la mezcla fue sometida a sonicación por 5 min, hasta formarse una suspensión turbia. 20 µL de cada suspensión fueron pipeteados sobre portamuestras de aluminio y el solvente se dejó evaporar a temperatura ambiente. Después de la completa evaporación del solvente, las muestras fueron recubiertas

con una monocapa de oro empleando un equipo de la marca SPI Plasma Current. Finalmente, las micrografías SEM fueron adquiridas empleando un equipo TESCAN modelo VEGA 3, operando a un voltaje de 15 keV. El análisis elemental de las muestras (SEM-EDX) fue llevado a cabo empleando un detector Bruker.

Determinación de composición química

Los cementos fueron preparados en forma de cubos según las indicaciones de cada fabricante en condiciones de esterilidad. Una vez preparados, los cementos fueron almacenados en frascos de plástico cerrados y secos por ca. 1 semana a temperatura ambiente. Después, los cementos fueron sometidos a un proceso de secado en el interior de frascos de vidrio secos a una temperatura de 50 °C por 72 h. Después, cada cemento fue molido hasta preparar un talco empleando un mortero y un pistilo de ágata. Se prepararon pastillas de 2 mg de muestra en 80 mg de KBr. Las pastillas fueron analizadas empleando un espectrofotómetro Varian 640-IR, fijando un intervalo de barrido entre 700 y 4000 cm^{-1} y doce ciclos de lectura.

Determinación de la citocompatibilidad

La citocompatibilidad de los cementos fue evaluada por ensayos inmunoenzimáticos ELISA tras la exposición de sus lixiviados hacia células HeLa en cultivo, de acuerdo con la norma ISO 10993-5: 2009 (20). Los cementos fueron preparados en forma de cubos según las indicaciones de cada fabricante en condiciones de esterilidad. Una vez preparados, los cementos fueron almacenados en frascos de plástico cerrados y secos por ca. 1 semana a temperatura ambiente. Después, los cementos fueron sometidos a un proceso de secado en el interior de frascos de vidrio secos a una temperatura de 50 °C por 72 h. Después, cada cemento fue pesado y sumergido en medio de cultivo celular DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS), 0.1 mM de aminoácidos no esenciales (NEAA), 2 mM de L-Glutamina (L-Glu), 1 mM piruvato de sodio y 1% de penicilina-estreptomicina (pen-strep) para producir lixiviados (10 mg/mL). Las muestras fueron incubadas por 96 h a condiciones estándar de

cultivo (ver abajo). Tras su incubación, 100 μ L de solución de lixiviados fueron pipeteados hacia las células en cultivo sembradas con 24 h de anticipación (1000 células/pozo, cultivadas en placas de 96 pozos, 100 μ L de suspensión celular por pozo). Las células conteniendo los lixiviados fueron incubadas por 24 y 48 h adicionales. El medio de cultivo fue cambiado por medio fresco conteniendo el reactivo cck-8 a los tiempos establecidos (20 μ L de cck-8 en 200 μ L de medio fresco). Tras la adición del cck-8, las células fueron incubadas por 3 h adicionales y entonces se determinó la densidad óptica (DO) del formazan para cada pozo. Las mediciones se llevaron a cabo empleando un equipo lector de microplacas de la marca BIO-RAD modelo 680, operando a una longitud de onda de 450 nm. La actividad metabólica de las células después de su exposición a los lixiviados, representada como el porcentaje de viabilidad celular, fue calculada mediante la normalización de la lectura de DO del formazan a partir de las células expuestas a los lixiviados con respecto a la lectura de DO del formazan a partir de células control no expuestas (100% de viabilidad) (20). Los resultados presentados son el promedio de la medición de 6 pozos para cada cemento a cada tiempo.

Condiciones de cultivo celular

Las células HeLa fueron cultivadas en medio de cultivo DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS), 0.1 mM de aminoácidos no esenciales (NEAA), 2 mM de L-Glutamina (L-Glu), 1 mM piruvato de sodio y 1% de penicilina-estreptomicina (pen-strep) e incubadas a condiciones estándar de cultivo (37 °C, 5% CO₂, atmósfera húmeda). Las células fueron subcultivadas al alcanzar una confluencia óptica del 80–90%. Para su subcultivo, las células confluentes fueron tratadas con una solución 0.25% de tripsina-EDTA e incubadas por 4 min a condiciones estándar de cultivo. Las células fueron desprendidas de los frascos de cultivo, resuspendidas en medio de cultivo fresco y sembradas en las placas de cultivo para su experimentación (20).

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los ensayos biológicos fue llevado a cabo empleando el test ANOVA (análisis de la varianza) de un factor. La diferencia estadística fue considerada como significativa a $p < 0.05$.

RESULTADOS

Microestructura y análisis elemental por SEM-EDX

Los cementos fueron caracterizados en términos de su microestructura y composición elemental por SEM-EDX. En las figuras 1-3 se muestran micrográficas representativas y perfiles de composición elemental de los cementos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus, respectivamente. En lo que respecta a la microestructura, se puede observar a partir de de estas figuras que los tres cementos dieron lugar a la formación de granos amorfos, mismos que presentan una superficie aparentemente rugosa y una ausencia clara de poros (ver acercamientos: figuras 1A, 1B y 1C). Por otro lado, se puede observar a partir de las figuras 1C, 2C y 3C que los cementos MTA Angelus y Grey MTA Plus presentan la misma composición elemental aunque en distintas proporciones, misma que está compuesta por los elementos oxígeno (O), carbono (C), aluminio (Al), silicio (Si), calcio (Ca), bismuto (Bi) y magnesio (Mg). En lo que respecta al Biodentine, este cemento presenta los elementos O, C, Si, Ca, Mg y cloro (Cl). Los porcentajes de cada elemento en cada cemento se presentan en los insertos de las figuras.

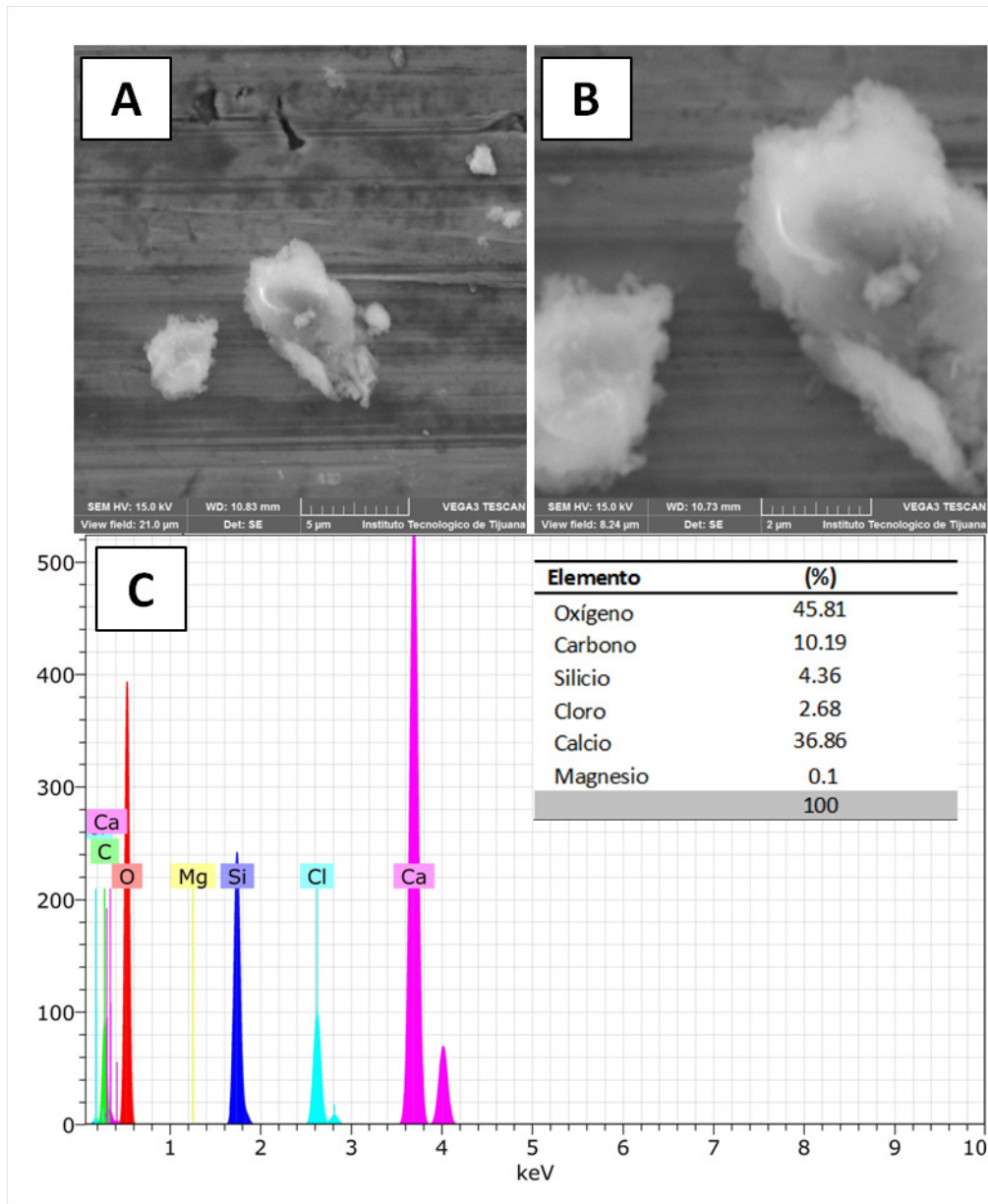


Figura 1. Micrografías (A, B) y análisis elemental (C) del cemento Biodentine
 Las barras de escala en (A) y (B) corresponden a 5 y 2 mm, respectivamente. El inserto en (C) enlista los elementos presentes en la muestra y sus porcentajes.

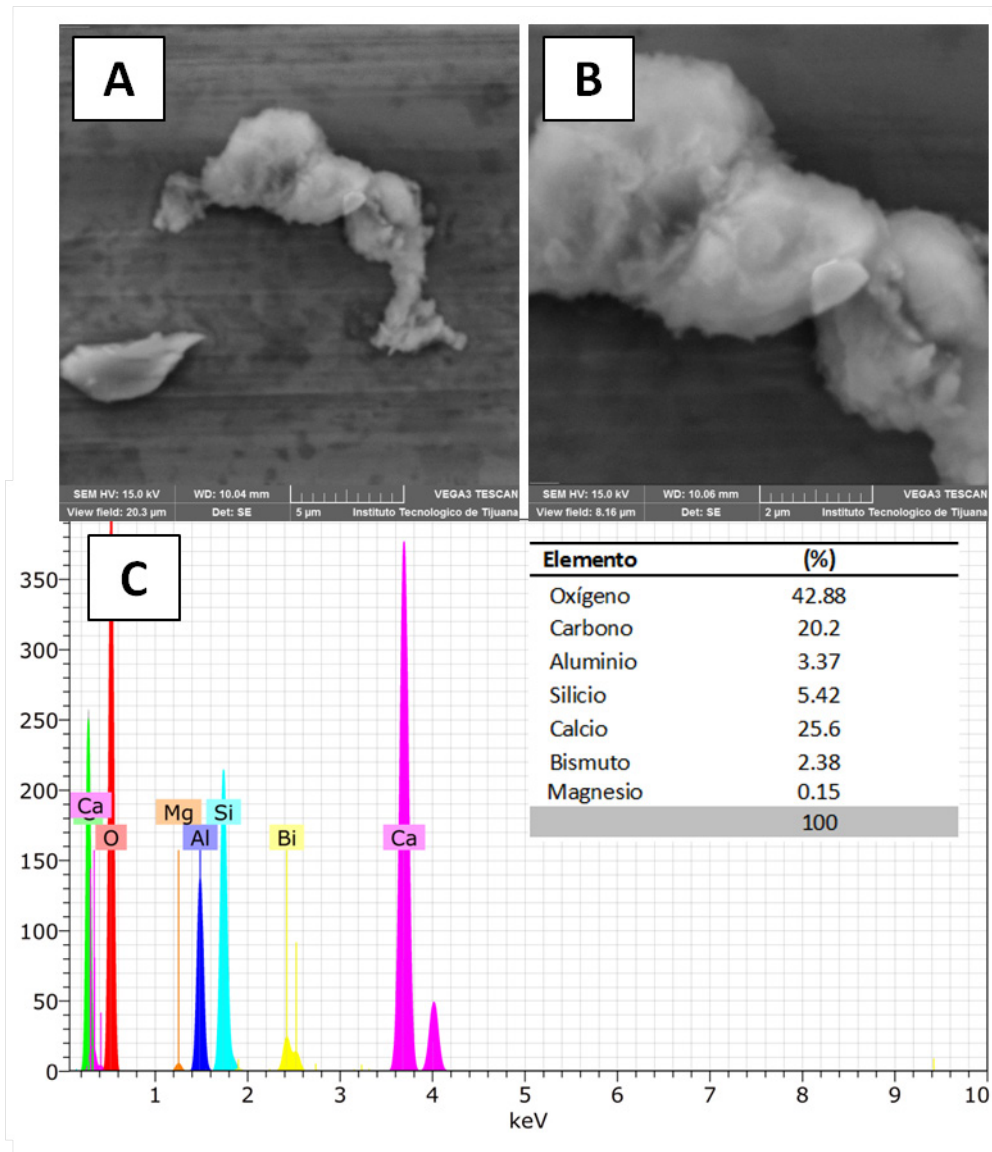


Figura 2. Micrografías (A, B) y análisis elemental (C) del cemento MTA Angelus

Las barras de escala en (A) y (B) corresponden a 5 y 2 mm, respectivamente. El inserto en (C) enlista los elementos presentes en la muestra y sus porcentajes.

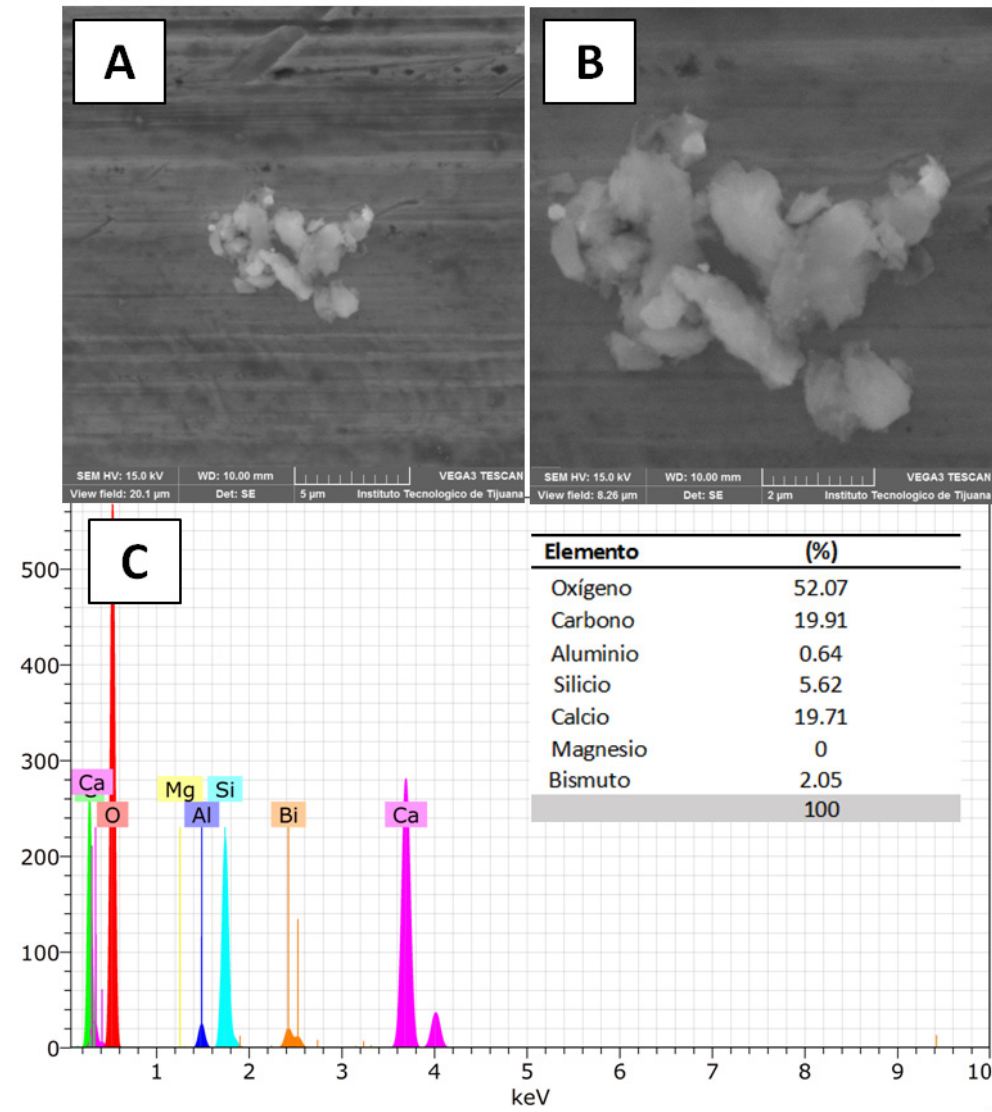


Figura 3. Micrografías (A, B) y análisis elemental (C) del cemento Grey MTA Plus

Las barras de escala en (A) y (B) corresponden a 5 y 2 mm, respectivamente. El inserto en (C) enlista los elementos presentes en la muestra y sus porcentajes.

Composición química por FT-IR

Los cementos fueron caracterizados en términos de su composición química por espectroscopia de FT-IR. En las figuras 4-6 se muestran los espectros FT-IR de los cementos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus, respectivamente. Como se puede observar a partir de estas figuras, los tres cementos presentaron bandas en cuatro regiones específicas del espectro. Presentaron una banda ancha y

fuerte centrada en ca. 3400 cm^{-1} (marcada en verde), que se atribuye a la vibración de estiramiento de los grupos O-H debidos a la presencia de agua ligada en los cementos (hidratación) (21); un conjunto de bandas débiles y solapadas en la región de $1700 - 1600\text{ cm}^{-1}$ (marcadas en violeta), que se atribuyen a la vibración de flexión de los grupos H-O-H, también debidos a la hidratación (21); dos bandas delgadas solapadas en el intervalo $1500 - 1400\text{ cm}^{-1}$ (marcadas en amarillo), que se atribuyen a los modos de vibración (ν_3) de los grupos CO_3 (21) y, finalmente, una serie de bandas en la región de $1000 - 400\text{ cm}^{-1}$ (marcadas en azul), que se atribuyen a las vibraciones de las moléculas de $n\text{CaO-SiO}_2$ (donde n puede adoptar valores de 1, 2 o 3) (22).

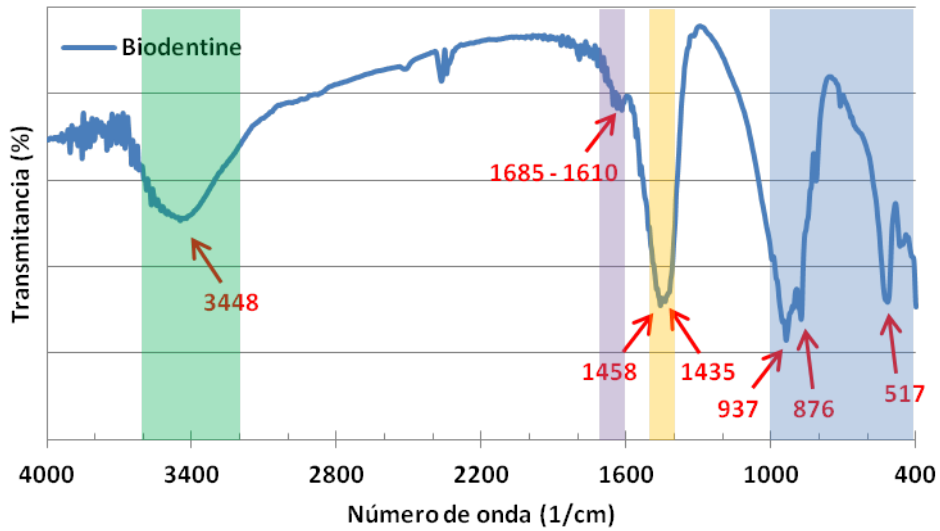


Figura 4. Espectro FT-IR del cemento Biodentine

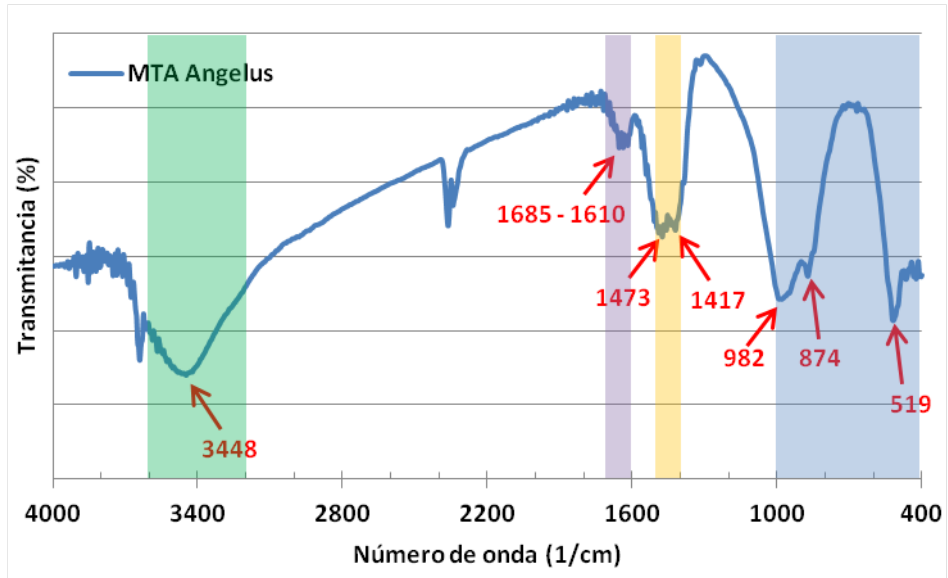


Figura 5. Espectro FT-IR del cemento MTA Angelus

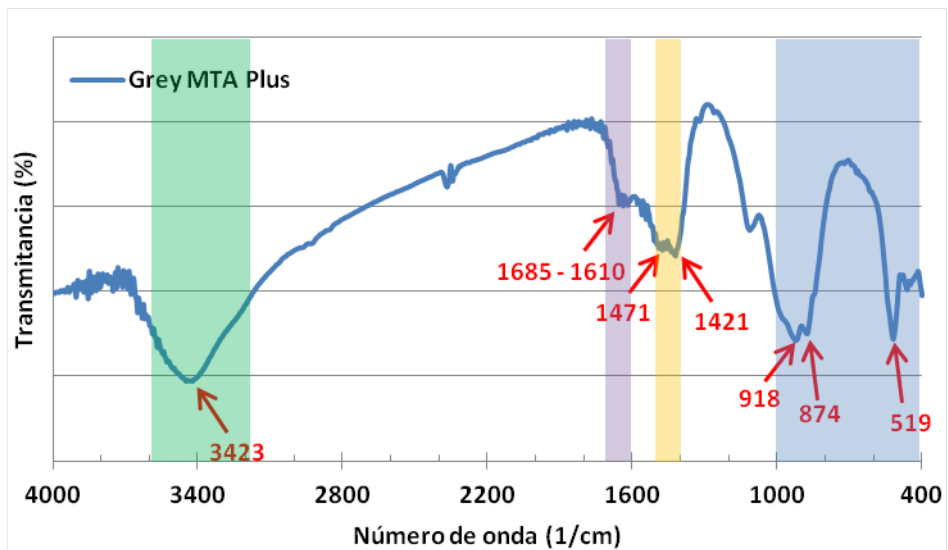


Figura 6. Espectro FT-IR del cemento Grey MTA Plus

Citocompatibilidad por ensayos ELISA

La citocompatibilidad de los cementos se determinó por ensayos ELISA tras el cultivo de células HeLa en presencia de sus lixiviados a 24 y 48 h, empleando

como blanco de comparación células cultivadas libres de lixiviados. Los resultados se muestran en la figura 7.

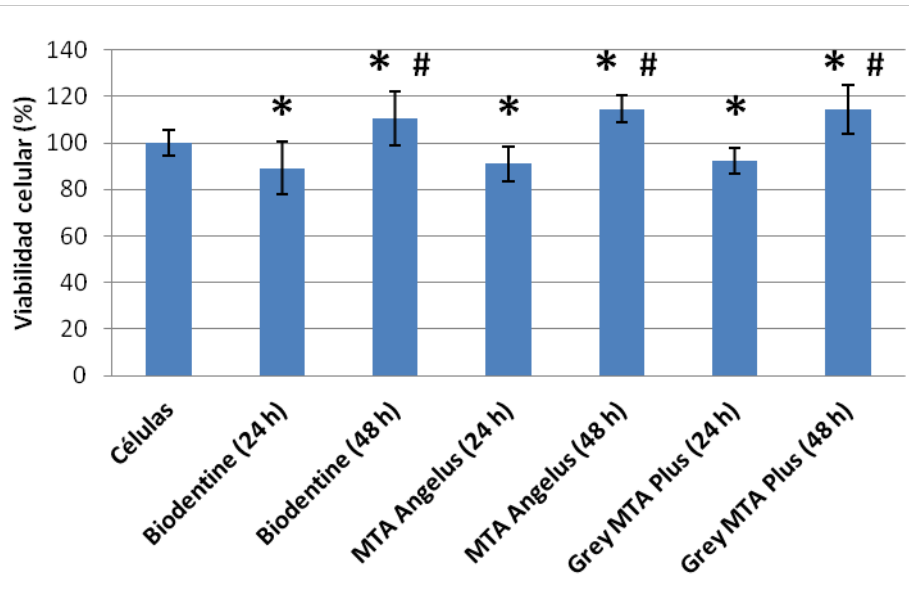


Figura 7. Viabilidad celular tras la incubación de lixiviados de los cementos

Los signos (*) y (#) denotan diferencia significativa en viabilidad celular ($p < 0.05$) con respecto a las células libres de lixiviados y a las células cultivadas por 24 h en presencia de lixiviados de cada uno de los tres cementos, respectivamente.

Se puede observar a partir de la figura 7 que las células incubadas en presencia de lixiviados de los tres cementos presentaron una viabilidad alta a 24 h, de alrededor del 90%, con diferencia significativa con respecto a las células libres de lixiviados. Dicha viabilidad se incrementó a valores por encima del 100% en los tres casos una vez alcanzadas las 48 h de incubación, con diferencia significativa entre ambos tiempos (24 y 48 h) y de igual forma con respecto a las células libres de lixiviados.

DISCUSIÓN

El presente estudio fue planteado con el objetivo de caracterizar los cementos endodónticos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus en términos de su microestructura, composición química y citocompatibilidad. La caracterización estructural y de composición elemental llevada a cabo por SEM-EDX (figuras 1-3) demostró que todos los cementos presentaron características estructurales similares, a saber: la formación de granos amorfos, rugosos y sin porosidad aparente. Estos resultados, en particular el de la porosidad, pueden ser considerados como positivos para el uso de estos materiales en endodoncia en virtud de que entre sus cometidos se encuentra el sellado hermético de las piezas dentarias, tanto a nivel coronario como a nivel radicular, donde la ausencia de poros es necesaria para evitar la entrada de bacterias y su posterior diseminación hacia los tejidos perirradiculares (11-14).

En lo que respecta a la composición química de los cementos, los fabricantes del Biodentine reportan que es una formulación preparada a base de 3CaO-SiO_2 , CaCO_3 y ZrO_2 , que utiliza como solvente para su preparación una solución acuosa de CaCl_2 y excipientes (15). Por su parte, los fabricantes del MTA Angelus reportan que está compuesto por 3CaO-SiO_2 , 2CaO-SiO_2 , $3\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$, CaO , MgO y Bi_2O_3 (12, 13). Finalmente, los fabricantes del Grey MTA Plus reportan que está compuesto de 3CaO-SiO_2 (16, 17). Como puede observarse a partir de las figuras 1C, 2C y 3C, los resultados obtenidos por SEM-EDX exhiben de manera clara los elementos esperados para cada muestra; en particular, la presencia de O, C, Al, Si, Ca, Bi y Mg para los cementos MTA Angelus y Grey MTA Plus y la presencia de O, C, Si, Ca, Mg y Cl para el cemento Biodentine. La combinación e hidratación de estos elementos es lo que da lugar a la formación o modificación de los compuestos constituyentes reportados por los fabricantes (13, 14). Tal como lo muestran los resultados de FT-IR (figuras 4-6), para los tres cementos se infiere la presencia de compuestos carbonatados y silicatos de calcio. Las bandas en el intervalo de $1500 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ reflejan la formación de CaCO_3 en sus distintas fases (e.g. calcita, aragonito y vaterita), mientras que las bandas ubicadas en la

región de $1000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ revelan la formación de 3CaO-SiO_2 y 2CaO-SiO_2 en sus fases minerales alita y belita, respectivamente; todos ellos presentando cierto grado de hidratación reflejado por la presencia de las bandas ubicadas a ca. 3400 (O-H) y en el intervalo de $1700 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ (H-O-H) (21, 22). En lo que respecta a la carbonatación, se trata de un proceso de envejecimiento natural de los cementos que puede variar con las condiciones ambientales al momento y horas después del fraguado/secado de la pasta precursora, además de con los tiempos y grados de hidratación de las muestras (21). Al observar las intensidades de las bandas en el intervalo $1500 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ es aparente que el cemento Biodentine es la muestra que tiene una mayor concentración de compuestos carbonatados, seguida de los cementos MTA Angelus y Grey MTA Plus. Por otro lado, en lo que se refiere a la concentración de silicatos de calcio, se puede observar a partir de las intensidades de las bandas en el intervalo $1000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ que los tres cementos presentan porcentajes altos de 3CaO-SiO_2 y 2CaO-SiO_2 , aunque en distintas proporciones de uno con respecto al otro. Específicamente, los cementos Biodentine y Grey MTA Plus presentan una proporción alta de 3CaO-SiO_2 en su forma mineral (alita), reflejada por las bandas en el intervalo $940 - 870 \text{ cm}^{-1}$. Por su parte, el cemento MTA Angelus presentó también evidencia de contener 2CaO-SiO_2 en su forma mineral (belita), reflejada por el corrimiento y ensanchamiento de la banda ubicada a 918 cm^{-1} (MTA Angelus) a un número de onda de 982 cm^{-1} (23). La presencia de 3CaO-SiO_2 promueve una hidratación más rápida de los cementos, mientras que la presencia de 2CaO-SiO_2 aminora reacciones exotérmicas y de expansión volumétrica durante el fraguado que podrían poner en riesgo la integridad tanto de la pieza dentaria como de los tejidos perirradiculares (24).

Finalmente, en lo relativo a sus propiedades biológicas, la figura 7 muestra que los tres cementos presentaron porcentajes de citocompatibilidad altos a ambos tiempos de estudio de 24 y 48 h. A 24 h se observa que la viabilidad celular tras la incubación en presencia de los lixiviados de las tres muestras se mantiene en valores de alrededor del 90%, con diferencia significativa con respecto a las células libres de lixiviados. A 48 h se observa que la viabilidad de las células

expuestas a los lixiviados crece a valores superiores al 100%, con diferencia significativa con respecto a las células libres de lixiviado y a las células incubadas a 24 h. Aunque se confirma la hipótesis alternativa de este trabajo de investigación (ver página 17), estos resultados revelan una alta citocompatibilidad de los tres cementos objeto de estudio, misma que es independiente de las pequeñas diferencias en composición química observadas. Es importante mencionar en este punto que cualquier material que dé lugar a una viabilidad celular superior al 70% puede ser considerado como citocompatible (25).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Se llevó a cabo la caracterización de los cementos endodónticos Biodentine, MTA Angelus y Grey MTA Plus en términos de su microestructura, composición química y citocompatibilidad. Las conclusiones se enlistan a continuación:

1.- En lo que respecta a la microestructura, los resultados de SEM-EDX demostraron que los tres cementos dieron lugar a la formación de granos amorfos, mismos que presentan una superficie aparentemente rugosa y una ausencia clara de poros.

2.- En lo que respecta a su composición química, los resultados de SEM-EDX en combinación con FT-IR confirmaron algunos datos reportados por los fabricantes de cada cemento, a saber: la presencia de agua ligada (hidratación), silicatos tricálcico y dicálcico y compuestos carbonatados. En general, se observó que los tres cementos presentaron grados altos de hidratación. En particular, los cementos Biodentine y Grey MTA Plus presentaron una proporción alta de 3CaO-SiO_2 en su forma mineral (alita), mientras que el cemento MTA Angelus presentó también evidencia de contener 2CaO-SiO_2 en su forma mineral (belita). Asimismo, se observó que el cemento Biodentine presentó concentraciones altas de compuestos carbonatados, seguido de sus homólogos MTA Angelus y Grey MTA Plus.

3.- En lo que respecta a su citocompatibilidad, aunque se confirmó la hipótesis alternativa de este trabajo, los ensayos ELISA demostraron que los tres cementos son citocompatibles a 24 y 48 h, independientemente de sus diferencias en composición química.

Recomendaciones

Como trabajo a futuro se recomienda ampliar la caracterización que aquí se presenta a tiempos mayores de hidratación, variando el porcentaje de hidratación y las condiciones de envejecimiento, esto con el objetivo de controlar y explorar en

mayor medida las reacciones químicas que ocurren durante el proceso de fraguado (e.g. la formación natural de compuestos carbonatados). En el mismo contexto, también se recomienda completar la caracterización con técnicas experimentales adicionales tales como microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés), para definir mejor la morfología y microestructura de los cementos y difracción de rayos X, para confirmar las proporciones de las fases minerales de los silicatos tricálcico (alita) y dicálcico (belita). La presencia de los silicatos tricálcico y dicálcico es necesaria para aminorar reacciones exotérmicas y de expansión volumétrica durante el fraguado, mismas que podrían poner en riesgo la integridad tanto de la pieza dentaria como de los tejidos perirradiculares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Soares IJ, Goldberg F, González M. Endodoncia : técnica y fundamentos: Buenos Aires, Argentina : Médica Panamericana; 2012.
2. Canalda Sahli C, Brau Aguadé E. Endodoncia : técnicas clínicas y bases científicas: Barcelona , España : Masson; 2014.
3. Machado ME dL, Lombardi RA. Endodoncia : de la biología a la técnica: Colombia : Amolca; 2009.
4. Leonardo MR. Endodoncia : tratamiento de conductos radiculares : principios técnicos y biológicos: São Paulo : Artes Médicas; 2005.
5. Seltzer S. Endodoncia : consideraciones biológicas en los procedimientos endodónticos: Argentina : Mundi Prensa; 1979.
6. Cohen S, Burns RC. Endodoncia : los caminos de la pulpa: México, D. F. : Médica Panamericana; 1994.
7. Lindhe J, Karring T, Araújo M. Chapter 1. The Anatomy of Periodontal Tissues. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editors. Clinical Periodontology and Implant Dentistry. 1. 5th ed: Blackwell Munksgaard; 2008.
8. Palumbo A. Chapter 1. The Anatomy and Physiology of the Healthy Periodontium. In: Panagakos F, editor. Gingival Diseases - Their Aetiology, Prevention and Treatment: INTECH; 2011.
9. Fiorellini JP, Kim DM, Uzel NG. Chapter 2. Anatomy of the Periodontium. In: Newman MG, Takei HH, Klokkevold PR, Carranza FA, editors. Carranza's Clinical Periodontology. 11th ed: Elsevier Saunders; 2012.
10. Leonardo MR, Maurício Leal Jc. Endodoncia : tratamiento de los conductos radiculares: Buenos Aires : Médica Panamericana; 1994.
11. Miñana Gómez M. El Agregado de Trióxido Mineral (MTA) en Endodoncia. RCOE. 2002;7:283-9.
12. Encinas FS, Pérez-Bryan RB, Rodríguez MD. Diferentes tipos de MTA como materiales de obturación a retro. ENDODONCIA. 2010;28(3):153-66.
13. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. Journal of Endodontics. 1999;25(3):197-205.

14. Chaple Gil AM, Herrero Herrera L. Generalidades del Agregado de Trióxido Mineral (MTA) y su aplicación en Odontología: Revisión de la Literatura. *Acta Odontológica Venezolana*. 2007;45:467-72.
15. Margunato S, Taşlı PN, Aydın S, Karapınar Kazandağ M, Şahin F. In Vitro Evaluation of ProRoot MTA, Biodentine, and MM-MTA on Human Alveolar Bone Marrow Stem Cells in Terms of Biocompatibility and Mineralization. *Journal of Endodontics*. 2015;41(10):1646-52.
16. Gandolfi MG, Siboni F, Primus CM, Prati C. Ion Release, Porosity, Solubility, and Bioactivity of MTA Plus Tricalcium Silicate. *Journal of Endodontics*. 2014;40(10):1632-7.
17. Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Mestieri LB, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM, et al. Bioactivity of MTA Plus, Biodentine and an experimental calcium silicate-based cement on human osteoblast-like cells. *International Endodontic Journal*. 2017;50(1):39-47.
18. Krakow AA, Berk H, Grøn P. Therapeutic induction of root formation in the exposed incompletely formed tooth with vital pulp. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1977;43(5):755-65.
19. Lasala A. *Endodoncia*: Barcelona, España : Ediciones Científicas y Técnicas ; México : Salvat; 1992.
20. Rodríguez-Velázquez E, Silva M, Taboada P, Mano JF, Suárez-Quintanilla D, Alatorre-Meda M. Enhanced Cell Affinity of Chitosan Membranes Mediated by Superficial Cross-Linking: A Straightforward Method Attainable by Standard Laboratory Procedures. *Biomacromolecules*. 2014;15(1):291-301.
21. Ylmén R, Jäglid U. Carbonation of Portland Cement Studied by Diffuse Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *International Journal of Concrete Structures and Materials*. 2013;7(2):119-25.
22. Vazquez-Moreno T, Blanco-Varela MT. Tabla de frecuencias y espectros de absorción infrarroja de compuestos relacionados con la química del cemento. *Materiales de Construcción*. 1981;182:31-48.
23. Fernández-Carrasco L, Torrens-Martín D, Morales LM, Martínez-Ramírez S. Infrared Spectroscopy in the Analysis of Building and Construction Materials. In:

Theophanides T, editor. Infrared Spectroscopy - Materials Science, Engineering and Technology. 1: INTECH; 2012. p. 369-82.

24. Deus GD, Camilleri J, Primus CM, Duarte MAH, Bramante CM. Introduction to Mineral Trioxide Aggregate. In: Camilleri J, editor. Mineral Trioxide Aggregate in Dentistry - From Preparation to Application. 1: Springer-Verlag; 2014. p. 1-18.

25. Rey-Rico A, Silva M, Couceiro J, Concheiro A, Alvarez-Lorenzo C. Osteogenic efficiency of in situ gelling poloxamine systems with and without bone morphogenetic protein-2. Eur Cell Mater. 2011;21(4):317-40.