

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA

ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA



EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE Y NEOMTA PLUS

Trabajo terminal para obtener el

DIPLOMA DE ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

PRESENTA:

C.D. MIGUEL ANGEL RAMÍREZ HERRERA

PRESIDENTE

(DIRECTOR DEL PROYECTO):

DR. MIGUEL ANGEL CADENA ALCÁNTAR

SINODAL

(CO-DIRECTOR)

DRA. ANA GABRIELA CARRILLO VÁRGUEZ

SINODAL

(CO-DIRECTOR)

DRA. EUSTOLIA RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

Tijuana, Baja California

Junio 2018

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, BC a de 13 de junio del 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE Y NEOMTA PLUS**

Propuesto por el **C.D. Miguel Angel Ramírez Herrera**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

ATENTAMENTE

Dr. Miguel Angel Cadena Alcántar
PRESIDENTE
(DIRECTOR DEL PROYECTO)

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, BC a de 13 de junio del 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE Y NEOMTA PLUS**

Propuesto por el **C.D. Miguel Angel Ramírez Herrera**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

ATENTAMENTE

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

SINODAL
(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

Ccp.- Archivo.

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA TIJUANA
ESPECIALIDAD EN ENDODONCIA

Tijuana, BC a 13 de junio de 2018

AL COMITÉ DE ESTUDIOS DE POSGRADO

Por medio del presente, me permito informar que el trabajo: **EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE Y NEOMTA PLUS**

Propuesto por el **C.D. Miguel Angel Ramírez Herrera**, fue revisado y ha sido aprobado para su impresión.

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

ATENTAMENTE

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

SINODAL
(CO-DIRECTORA DEL PROYECTO)

Ccp.- Archivo.

EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES BIOACTIVAS DE LOS CEMENTOS ENDODÓNTICOS BIODENTINE Y NEOMTA PLUS

PRESENTA

C.D. Miguel Angel Ramírez Herrera

DIRECTOR

Dr. Miguel Angel Cadena Alcántar

CO-DIRECTORES

Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez

Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez

Tijuana, Baja California, 13 de junio del 2018

CONTENIDO

1. RESUMEN	1
1.1 ABSTRACT	2
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1 Endodoncia	4
2.2 Pulpa dental y tejidos perirradiculares	4
2.3 Patología Periapical	5
2.4 Tejido Óseo, Hidroxiapatita y Mineralización	6
2.5 Biomateriales	7
2.5.1 Fosfatos de Calcio	8
2.5.2 Materiales Biocerámicos	9
2.6 Agregado de Trióxido Mineral	11
2.6.1 Aplicaciones de los cementos endodónticos a base de MTA	12
2.6.1.1 Recubrimiento Pulpar Indirecto	12
2.6.1.2 Recubrimiento Pulpar Directo	13
2.6.1.3 Pulpotomía	13
2.6.1.4 Reparación de Perforaciones	14
2.6.1.5 Obturación Retrógrada	14
2.6.1.6 Barreras Apicales	15
2.7 Bioactividad del MTA	15
2.8 Cementos a base de MTA	16
2.8.1 Biodentine (Septodont)	16
2.8.2 NeoMTA Plus (Abalon Biomedic)	18
2.9 Pruebas de Bioactividad in vitro	19
3. JUSTIFICACIÓN	21
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23

5. HIPÓTESIS	24
6. OBJETIVOS	25
6.1 OBJETIVO GENERAL	25
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
7. VARIABLES	26
7.1 VARIABLES INDEPENDIENTES	26
7.2 VARIABLES DEPENDIENTES	26
8. MATERIALES Y MÉTODOS	27
8.1 MATERIALES	27
8.2 METODOLOGÍA	28
8.2.1 COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LOS MATERIALES	28
8.2.2 ELABORACIÓN DE MUESTRAS	29
8.2.3 CAPACIDAD FORMADORA DE APATITA	30
8.2.4 MEDICIÓN DEL PH	32
9. RESULTADOS	34
9.1 COMPOSICIÓN ELEMENTAL	34
9.2 CAPACIDAD FORMADORA DE APATITA	36
9.3 ESPECTOMETRÍA DE DISPERSIÓN DE RAYOS X (EDS)	41
9.3.1 Análisis Estadístico de la Proporción Calcio - Fósforo	48
9.4 pH	55
9.3.1. Análisis Estadístico del pH	57
10. DISCUSIÓN	69
11. CONCLUSIONES	74
12. AGRADECIMIENTOS	76
13. REFERENCIAS	78

1. RESUMEN

El agregado de trióxido mineral (MTA) es un polvo que consta de partículas finas hidrofílicas, principalmente de silicatos tricálcicos, que fraguan en presencia de humedad, generando un gel coloidal con múltiples usos en endodoncia: recubrimiento pulpar directo o indirecto, pulpotomías, obturación retrógrada en cirugía periapical, reparación de perforaciones y la formación de barreras apicales.

Los cementos hidráulicos a base de silicato de calcio poseen bioactividad; es decir, tienen la capacidad de liberar iones de hidroxilo (OH) y de calcio (Ca^{2+}) y producir precipitados de tipo apatita cuando entran en contacto con fluidos fisiológicos que contienen fosfato. Los precipitados se forman a través de la disolución del hidróxido cálcico que se forma durante la reacción de hidratación inicial, que provoca aumentos en el pH y la concentración de Ca^{2+} .

La liberación de calcio y de iones hidroxilo permiten al MTA promover la regeneración y remineralización de los tejidos duros y mejorar su capacidad de sellado mediante la deposición de cristales de calcio y fosfato en espacios potenciales entre la dentina y el material de obturación radicular. Además, la mejora del pH ambiental, genera actividad antibacteriana.

Los exámenes in vitro, es decir el pH y el análisis superficial de la capacidad de formación de apatita, son útiles para predecir su bioactividad in vivo. Diferentes materiales pueden exhibir grados variables de bioactividad in vitro basados en sus composiciones. El objetivo del presente estudio es comparar la bioactividad de NeoMTA Plus (Abalon) y Biodentine (Septodont) mediante dichas pruebas.

1.1 ABSTRACT

Mineral trioxide aggregate (MTA) is a powder that consists of fine hydrophilic particles, mainly tricalcium silicates, which set in the presence of moisture, generating a colloidal gel with multiple uses in endodontics: direct or indirect pulp capping, pulpotomy, retrograde filling in periapical surgery, repair of perforations and the formation of apical barriers.

Hydraulic cements based on calcium silicate have bioactivity; they have the capacity to release hydroxyl (OH) and calcium (Ca²⁺) ions and produce apatite-type precipitates when they come into contact with phosphate-containing physiological fluids. The precipitates are formed through the solution of the calcium hydroxide that is formed during the initial hydration reaction, which causes increases in the pH and concentration of Ca²⁺.

The release of calcium and hydroxyl ions allow MTA to promote the regeneration and remineralization of hard tissues and improve their sealing capacity by depositing calcium and phosphate crystals in potential spaces between the dentin and the root filling material. In addition, the improvement of the environmental pH generates antibacterial activity.

In vitro tests, that is, pH and superficial analysis of apatite formation capacity, are useful for predicting its bioactivity in vivo. Different materials may exhibit varying degrees of in vitro bioactivity based on their compositions. The objective of the present study is to compare the bioactivity of NeoMTA Plus (Abalon) and Biodentine (Septodont) by means of said tests.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Endodoncia

Endodoncia es la rama de la odontología encargada del estudio de la morfología de la cavidad pulpar, la fisiología y la patología de la pulpa dental, así como la prevención y eliminación de las alteraciones pulpares y sus repercusiones sobre los tejidos perirradiculares. La endodoncia se interrelaciona con las demás ciencias de la salud, tanto básicas como clínicas, además de ciencias como la metalurgia, la física, la química y la estadística ^(1,2).

El ámbito clínico de la endodoncia incluye el diagnóstico y el tratamiento del dolor orofacial de origen pulpar y/o periapical; los tratamientos para mantener la vitalidad de la pulpa; los tratamientos de conductos radiculares cuando no es viable conservar su vitalidad o cuando existe necrosis de la misma; los tratamientos quirúrgicos para eliminar los tejidos periapicales inflamados, consecuencia de la patología pulpar; el tratamiento de la afectación pulpar por traumatismos, así como reimplante de dientes avulsionados; y el retratamiento de dientes que presentan un fracaso de un tratamiento endodóncico previo ⁽²⁾.

2.2 Pulpa dental y tejidos perirradiculares

La pulpa dental es un tejido conjuntivo laxo especializado de origen mesenquimatoso localizado en la cámara pulpar y los conductos radiculares de los órganos dentarios. La especialización del tejido conjuntivo de la pulpa se debe a las células dispuestas en su periferia, los odontoblastos, responsables de la formación de la matriz orgánica de la dentina, que se mineraliza y recubre la pulpa. Esa relación de interdependencia de dentina y pulpa hace con que esos tejidos sean integrantes de un mismo sistema, el complejo dentino-pulpar ⁽³⁾.

La pulpa está constituida por un 25% de materia orgánica y un 75% de agua. La materia orgánica está compuesta por odontoblastos, fibroblastos, macrófagos, células

dendríticas, linfocitos, células mesenquimatosas indiferenciadas, mastocitos, fibras de colágeno, reticulares y de oxitalano; y sustancia fundamental (glucosaminoglucanos, proteoglucanos, colágeno, elastina, interleucina-1, bronectina) ⁽²⁾.

La pulpa contiene nervios sensitivos a lo largo de toda su extensión, estos hacen anastomosis del centro hacia la periferia. Desde la zona subodontoblástica, las fibras sensitivas se insinúan en la capa de odontoblastos y eventualmente penetran en los túbulos dentinarios. Estas terminaciones nerviosas libres provocan la sensación de dolor ante los diversos estímulos aplicados sobre el complejo dentino-pulpar ^(2,4).

La pulpa está delimitada por dentina, 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 dentina está constituida por una serie de túbulos dentinarios que la atraviesan y por una matriz compuesta por 70% de materia inorgánica, 18% de materia orgánica y 12% de agua. La materia inorgánica está constituida principalmente por cristales de hidroxiapatita de menor tamaño que los del esmalte, mientras que la materia orgánica está compuesta de colágeno tipo I (90% de la matriz) y de proteínas similares a las del hueso ⁽²⁾.

La pulpa dental está en comunicación con el periodonto a través del foramen apical y los conductos laterales. El periodonto es el aparato de sostén del diente en el alveolo y está constituido por los tejidos perirradiculares, que consisten en el cemento radicular, el ligamento periodontal y el hueso alveolar ⁽³⁾.

2.3 Patología Periapical

Bajo condiciones normales y fisiológicas, la pulpa dental está bien protegida de las lesiones y elementos dañinos en la cavidad oral por una cubierta de tejido duro externo de los dientes y el periodonto intacto. La exposición de la pulpa dental y los tejidos pe-

irradiculares a los microorganismos da como resultado el desarrollo de la patología pulpar y perirradicular.

Como cualquier tejido conectivo, la pulpa responde a esto con inflamación. La inflamación está dirigida a neutralizar y eliminar el agente dañino. Cuando la caries se extiende a la vecindad de la pulpa, la respuesta puede ser destructiva y resultar en necrosis del tejido ⁽⁵⁾.

2.4 Tejido Óseo, Hidroxiapatita y Mineralización

La porción inorgánica del hueso y los tejidos dentales mineralizados, que constituye cerca del 65%, está compuesta principalmente por calcio y fósforo, junto con otros componentes como bicarbonato, citrato, magnesio, sodio y potasio, los cuales juegan un papel importante en la función remodeladora del hueso. Calcio y fósforo existen primordialmente en forma de cristales de hidroxiapatita, $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ la cual les confiere su dureza característica, debido a su relación con las fibras de colágeno ^(6,7).

La hidroxiapatita se encuentra en distintas partes del cuerpo como constituyente de varios tipos de tejido calcificado. Así el esmalte de los dientes contiene 95% de HAp, la dentina 75% y el cemento 35%. La HAp estequiométrica presenta una razón atómica Ca/P = 1,67⁽⁸⁾. Su fórmula química es $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ con 39 % en peso de calcio y 18,5% de fósforo.

En los organismos vivos la hidroxiapatita no es estequiométrica sino que presenta una razón Ca/P menor que 1,67 y que muestra trazas de CO_3 , Mg, Na, F y Cl. La HAp es más estable en cuanto más cercana sea esta razón a 1,67. También es importante señalar que cuanto menor sea esta razón (HAp deficiente), mayor la bioactividad que presenta.

La fase mineral de los huesos contiene principalmente microcristales de fosfatos de calcio, siendo la hidroxiapatita la más importante. Otros minerales presentes incluyen fosfato di-cálcico $Ca_2P_2O_7$, fosfato de calcio dibásico $CaHPO_4$, fosfato tricálcico

$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y varias fases de fosfatos de calcio amorfos. También hay iones presentes como citrato, carbonato, flúor e hidroxil, los que provocan pequeñas diferencias microestructurales en los tejidos óseos. Algunas impurezas que pueden estar presentes incluyen magnesio, sodio y trazas de cloro y de hierro. Vale la pena mencionar que al pH y temperatura del cuerpo humano solo la hidroxiapatita y el fosfato dicálcico son químicamente estables ⁽⁸⁾.

La calcificación es el resultado de las interacciones fisicoquímicas entre el calcio y el fosfato que conducen a la formación de una fase mineral en los tejidos blandos. La calcificación es generalmente un evento no fisiológico, la mineralización es generalmente fisiológica. La biomineralización es el proceso a través del cual las células orquestan la deposición de minerales, depositando la hidroxiapatita (HA) en la matriz extracelular (EMC) de los tejidos. Las moléculas estructurales de la EMC y una serie de enzimas, dirigen la entrada y la fijación de sales minerales exclusivamente en hueso y tejidos dentales mineralizados ⁽⁷⁾.

2.5 Biomateriales

Un biomaterial puede ser cualquier material empleado para sustituir una parte o una función del cuerpo de forma segura, confiable y fisiológicamente aceptable ⁽⁹⁾.

En la actualidad, el desempeño de un biomaterial, se mide en función a dos características principales: la biocompatibilidad, es decir la capacidad de provocar una respuesta satisfactoria del tejido para una aplicación específica, una vez insertado en el cuerpo humano ⁽¹⁰⁾ y la biofuncionalidad, la capacidad de reunir ciertas características físicas y mecánicas, que lo hagan útil para la función requerida en el sitio implantado ⁽¹¹⁾. De acuerdo a la respuesta biológica en el organismo, los materiales biocompatibles se pueden clasificar en bioinertes, biotolerables y bioactivos ⁽¹²⁾.

Un material bioinerte no induce respuesta local del sistema inmunológico, es decir, no tiene la capacidad de interactuar con el tejido huésped, sea química o biológicamente. Mientras que un material biotolerable induce una respuesta mínima, siendo

aceptada por el organismo receptor. La respuesta típica del tejido óseo, se trata de un encapsulamiento del material por una capa de tejido fibroso ⁽⁸⁾.

Un material bioactivo permite una respuesta biológica específica en la interfase con el tejido vivo, posibilitando la formación de una ligación entre el tejido y el propio material ⁽¹³⁾. El tejido es capaz de interactuar íntimamente con el material depositándose directamente sobre la superficie del mismo y sin la intervención de la capa de tejido fibroso. Los materiales bioactivos mejor conocidos son, los biovidrios, las vitrocerámicas bioactivas y las cerámicas basadas en fosfato de calcio.

Un biomaterial puede además ser clasificado de acuerdo a la biocompatibilidad, en función a sus características:

Osteoconducción: los materiales bioinertes y bioactivos pueden permitir el crecimiento óseo en su superficie, es decir; debe poseer características deseables para el depósito de tejido óseo.

Osteoinducción: es un mecanismo que estimula o promueve la formación ósea en el sitio del implante. Aunque la inducción ósea por biomateriales ha sido descrita por muchos grupos, su mecanismo permanece siendo objeto de controversia y no se sabe aún si es el biomaterial o la interacción del biomaterial con las proteínas corpóreas, el responsable por la inducción ósea.

Osteointegración: proceso en el cual una fijación rígida de material aloplástico, clínicamente asintomática, es conseguida y mantenida en el hueso durante una carga funcional ⁽¹⁴⁾.

2.5.1 Fosfatos de Calcio

Entre los muchos biomateriales, los compuestos basados en el calcio, básicamente carbonatos y fosfatos, han adquirido mucho interés, debido a que la fase inorgánica del tejido óseo está constituida principalmente por fosfatos de calcio.

Las propiedades físicas, químicas y estructurales de las sales de fosfatos son similares a las de los tejidos óseos, se les ha reconocido una gran influencia en la regeneración de estos. El desarrollo de tecnologías novedosas ha provisto materiales con propiedades que los hacen muy adecuados para su uso dental.

Durante la década de 1920, estos materiales estaban disponibles únicamente como polvos y solo se empleaban como materiales de relleno, pero poco después se descubrió su capacidad para promover la formación de tejido óseo nuevo, especialmente cuando la razón atómica Ca/P de estas sales está entre 1,5 y 1,7.

El éxito que logran las aplicaciones in vivo de fosfatos de calcio depende de varios factores, pero unos muy importantes son, además de la razón atómica Ca/P, la porosidad y la estructura cristalina que tenga el material usado como implante ⁽⁸⁾.

Los fosfatos de calcio, sintéticos y biológicos, poseen variada composición química, estructura cristalográfica y solubilidad en agua. Es posible distinguir entre estos CaPs, a través de la aplicación de métodos y técnicas de caracterización como, la espectroscopia infrarroja (IR) y la difracción de rayos X (DRX); ya que cada compuesto presenta un espectro IR o un patrón de DRX que es intrínseco y característico del mismo ⁽⁸⁾.

2.5.2 Materiales Biocerámicos

Las enfermedades y defectos óseos y dentales son una de las afecciones médicas más importantes, que frecuentemente, necesitan un uso extensivo de materiales sintéticos; éstos materiales para reparaciones y reemplazos de tejido duros necesitan funcionar física y/o biológicamente en contacto íntimo con el tejido vivo.

Los denominados biocerámicos, son materiales que inducen la integración biológica del tejido en un defecto tisular in situ. Se han desarrollado en forma de bultos, partículas, pastas y revestimientos con propiedades de unión ósea ⁽¹⁵⁾.

Los biomateriales cerámicos, típicamente son materiales inorgánicos y no metálicos, que son térmica y químicamente estables. Entre sus propiedades, además de una de alta resistencia y durabilidad; tienen la ventaja de ser biocompatibles, hemocompatibles, moldeables, estériles, no tóxicos y no inmunogénicos, y, debido a sus enlaces iónicos o covalentes, tienen altas temperaturas de fusión, dureza, baja conductividad eléctrica, bajas conductividad térmica y baja reactividad química ⁽⁸⁾.

La integración del tejido óseo en los biocerámicos se debe a la biomineralización de una capa delgada de fosfato de calcio en la interfaz entre la cerámica y el tejido óseo del huésped. Se observa que esta capa de fosfato de calcio es casi independiente de los tipos cerámicos. En modelos animales implica que después de la implantación esta capa de fosfato de calcio se forma en la superficie bioactiva en un período temprano, y luego media la integración de la matriz ósea para metabolizar como parte del tejido⁽¹⁵⁾.

El fosfato de calcio formado en los biocerámicos es una solución sólida de nanocristalina $\text{HA}(\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$, que contiene iones de sodio, magnesio, cloro y carbonato, y se hibrida con biomacromoléculas ⁽¹⁶⁾. El fosfato de calcio, debido a las características similares a los minerales de los huesos, recluta células óseas y las hace proliferar con preferencia a los fibroblastos, diferenciando y produciendo una matriz extracelular compuesta de fosfato de calcio y colágeno biológicos. Se supone que las cerámicas bioactivas tienen una fase superficial equivalente biológicamente a un mineral o matriz ósea, que induce espontáneamente una integración química con el hueso para disminuir la energía interfacial.

El fluido corporal intersticial es el primer medio que una cerámica bioactiva interactúa después de alojarse en un defecto óseo. Se especula que la superficie cerámica cambia estructuralmente para la biomineralización del fosfato de calcio por interacción con el fluido. El fluido corporal, es decir, el plasma sanguíneo, contiene diversas proteínas que deben estar significativamente implicadas en la biomineralización, cuyo mecanismo es complicado in vitro e in vivo para describir la química superficial básica de la

cerámica bioactiva. Por lo tanto, el plasma sanguíneo tiene un alto potencial para inducir la nucleación y el crecimiento del cristal de fosfato de calcio ⁽¹⁵⁾.

2.6 Agregado de Trióxido Mineral

El agregado de trióxido mineral (MTA) se desarrolló en la Universidad de Loma Linda para su uso como material de retrobturación radicular en tratamientos endodónticos quirúrgicos ⁽¹⁷⁾ y para obturación terminal para sellar comunicaciones entre el conducto radicular y tejido periapical ⁽¹⁸⁾.

En 1993 fue aprobado por la Administración Federal de Medicamentos (FDA) en los Estados Unidos; y se comercializó como ProRoot MTA (Tulsa Dental Products, Tulsa, OK, EE. UU.). Inicialmente se produjo una versión gris, pero más recientemente se ha puesto a disposición una versión en blanco.

El MTA es un polvo que consta de partículas finas hidrofílicas que fraguan en presencia de humedad. La hidratación del polvo genera un gel coloidal con un pH de 12.5 que forma una estructura dura, este pH es muy similar al del Hidróxido de Calcio, y puede posibilitar efectos antibacterianos. Compuesto principalmente de silicatos tricálcicos, los cementos MTA son materiales radiopacos que forman un gel de hidratación de silicato cálcico autoajustable cuando se manipulan con agua ⁽¹⁹⁾.

Su composición química básica parte del cemento Portland tipo 1, un cemento comúnmente utilizado en el área de la construcción. Los cementos MTA son, por tanto, cementos Portland modificados para uso odontológico. Sus principales componentes son: silicato tricálcico (3CaO-SiO_2), silicato dicálcico (2CaO-SiO_2), aluminato tricálcico ($3\text{CaO-Al}_2\text{O}_3$), aluminato férrico tetracálcico ($4\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-Fe}_2\text{O}_3$), sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4\text{-2H}_2\text{O}$) 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). Pueden contener también 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.

El tiempo de fraguado del material está entre tres y cuatro horas. El material tiene una fuerza compresiva baja, lo que provoca que no pueda ser usado en áreas funcionales. Otras características del MTA son su baja solubilidad y una radiopacidad mayor que la dentina. Además el MTA ha demostrado una buena biocompatibilidad, un excelente sellado a la microfiltración, una buena adaptación marginal que reduce la microfiltración de bacterias ⁽²⁰⁾.

2.6.1 Aplicaciones de los cementos endodónticos a base de MTA

A partir del desarrollo del agregado de trióxido mineral (MTA) a principios de la década de 1990, los cementos hidráulicos basados en silicato de calcio han ganado atención como los materiales de elección para diversas aplicaciones endodónticas, principalmente porque poseen una excelente biocompatibilidad y capacidad de sellado, además de que favorecen la formación de hueso y cemento, y pueden facilitar la regeneración del ligamento periodontal sin provocar inflamación.

El uso de MTA para diversas aplicaciones en endodoncia, como recubrimiento pulpar directo, recubrimiento pulpar indirecto, material de obturación retrógrada en cirugía periapical, reparación de perforaciones laterales o de furca y la formación de barreras apicales en raíces con ápices abiertos, ha demostrado resultados clínicos prometedores ⁽²¹⁾.

2.6.1.1 Recubrimiento Pulpar Indirecto

Históricamente, el hidróxido de calcio había sido un estándar para el recubrimiento pulpar. Sin embargo, sus efectos desfavorables como la reabsorción interna, la degradación con el tiempo y las propiedades de sellado deficientes, brindaban resultados poco

satisfactorios. Por lo tanto, este tratamiento conservador había disminuido en el transcurso del tiempo, pero con el desarrollo de materiales como el MTA, este escenario ha cambiado. El material pareció tener éxito debido a su pequeño tamaño de partícula, capacidad de sellado, pH alcalino, fragua en presencia de humedad y su liberación lenta de iones de calcio. El MTA induce la proliferación de células de pulpa, la liberación de citocinas y la posterior formación de tejido duro con la síntesis de una dentina mineralizada similar a la de la hidroxiapatita biológica ⁽²²⁾.

2.6.1.2 Recubrimiento Pulpar Directo

Es su colocación directa 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. Anteriormente, el hidróxido de calcio ha sido el medicamento de elección para el tratamiento de pulpas mecánicamente expuestas. 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 ⁽¹⁹⁾.

2.6.1.3 Pulpotomía

Es la extirpación parcial de la pulpa cameral viva, seguida de la aplicación de un medicamento, permitiendo la conservación de la vitalidad pulpar. La pulpa remanente, debidamente protegida y tratada, mantiene de forma indefinida sus funciones sensoriales, defensivas y de formación de dentina.

El recubrimiento pulpar y la pulpotomía sólo están indicados en dientes con ápices inmaduros cuando se expone la pulpa, y se quiere mantener su vitalidad. Estos tratamientos están contraindicados si existe sintomatología de pulpitis irreversible. El MTA ha demostrado que estimula la formación de puentes de dentina adyacente a la pulpa dental. Esta formación de dentina puede ser debida a la capacidad de sellado, alcalinidad y biocompatibilidad ⁽⁵⁾.

2.6.1.4 Reparación de Perforaciones

Las vías de comunicación entre el sistema del conducto radicular y el periodonto, como las perforaciones iatrogénicas, deben sellarse con materiales restauradores que eviten las filtraciones bacterianas. Debido a que estos materiales entran en contacto con los tejidos vitales, deben ser biocompatibles y deberían favorecer la regeneración de los tejidos implicados.

Se han utilizado muchos materiales para sellar las vías de comunicación entre el sistema del conducto radicular y la cavidad oral, así como los tejidos perirradiculares; estos incluyen cementos a base de amalgama, óxido de zinc eugenol como Super-EBA (Harry J. Bosworth Co., Skokie, IL) e IRM (LD Caulk Co., Milford, DE), Cavit (ESPE America, Norristown, PA), resinas compuestas y cementos de ionómero de vidrio. Las principales desventajas de estos materiales incluyen microfiltración, grados variables de toxicidad y sensibilidad a la presencia de humedad ⁽¹⁹⁾.

2.6.1.5 Obturación Retrógrada

La colocación de los materiales de obturación retrógrada en una cavidad preparada después una apicectomía, durante un tratamiento de cirugía endodóntica, está indicada para evitar la penetración de los irritantes del sistema del conducto radicular en los tejidos perirradiculares. Anteriormente se han utilizado numerosos materiales, cuya principal desventaja es su incapacidad para evitar la filtración, la falta de completa biocompatibilidad con los tejidos vitales y su incapacidad para promover su regeneración a su estado físico y normal. Diversos estudios han demostrado que el uso de MTA como material de obturación retrógrada se asoció con menor inflamación, formación de cemento sobre el MTA y regeneración de los tejidos perirradiculares hasta un estado casi normal ⁽²³⁾.

2.6.1.6 Barreras Apicales

La creación de una barrera apical con MTA está indicada en dientes con pulpa necrótica y ápices abiertos. Varios materiales (hidróxido de calcio, fosfato tricálcico, colágeno, fosfato de calcio, etc.) se han empleado anteriormente como barrera apical, para que la gutapercha pueda condensarse, y así prevenir una posible extrusión de material durante el tratamiento. Este material estimula la formación de tejido duro sin producir inflamación en el área adyacente al ápice de las raíces inmaduras ⁽⁵⁾.

2.7 Bioactividad del MTA

Los cementos hidráulicos a base de silicato de calcio poseen bioactividad; es decir, tienen la capacidad de liberar iones de hidroxilo (OH) y de calcio (Ca²⁺) y producir precipitados de tipo apatita cuando entran en contacto con fluidos fisiológicos que contienen fosfato. Dicha formación de precipitado similar a la apatita se considera la base de las propiedades biológicas favorables de estos materiales. Los precipitados se forman a través de la disolución del hidróxido cálcico que se forma durante la reacción de hidratación inicial, que provoca aumentos en el pH y la concentración de Ca²⁺ y mejora la sobresaturación del fluido que contiene fosfato con respecto a los fosfatos cálcicos.

La liberación de calcio y de iones hidroxilo permite al MTA promover la regeneración y remineralización de los tejidos duros y mejorar su capacidad de sellado mediante la deposición de cristales de calcio y fosfato en huecos y espacios potenciales entre la dentina y el material de relleno de raíz. Además, la alta solubilidad y la mejora del pH ambiental, pueden crear actividad antibacteriana reduciendo las bacterias en las biopepículas ⁽¹⁹⁾.

2.8 Cementos a base de MTA

2.8.1 Biodentine (Septodont)

Con el propósito de mejorar algunos inconvenientes del MTA como sus propiedades mecánicas, manipulación y su largo tiempo de fraguado, es que se han desarrollado nuevos materiales basados en silicato de calcio. Entre estos materiales se encuentra el Biodentine (Septodont, Francia, 2009), recomendado como material de restauración además de las indicaciones endodónticas similares a las del MTA.

El principal objetivo de la casa comercial Septodont fue desarrollar un material basado en silicato de calcio, con propiedades superiores a los ya existentes. Esto fue logrado al producir su propio silicato de calcio, controlando cada paso de la formulación del material a partir de las purezas de las materias primas, logrando además un bajo nivel de porosidad lo que determina una mayor resistencia mecánica. Se incorporó al líquido un agente reductor de agua (polímero hidrosoluble), cuya función es mantener el balance entre el contenido de agua y la consistencia de la mezcla. Estas características pueden considerar a Biodentine como sustituto de la dentina y un material para ser utilizado en restauraciones de carácter semi-permanente.

Biodentine es un cemento parecido al cemento Portland, compuesto por polvo (silicato tricálcico, carbonato cálcico y óxido de circonio) y líquido (agua, cloruro cálcico y policarboxilato como plastificante). Desarrollado inicialmente como material de restauración, está indicado también como material de recubrimiento pulpar directo, en el tratamiento de las reabsorciones, perforaciones radiculares, apexificaciones y material de obturación retrógrada.

La presentación de Biodentine es en dos componentes, polvo y líquido, es preparado según las indicaciones de la casa comercial, agregando 5 gotas de líquido al polvo dentro de una cápsula. Estos componentes son triturados con un amalgamador por 30 segundos a 4000 revoluciones por minuto, obteniendo así una consistencia de pasta cremosa, la cual es fácil de manejar ⁽²⁴⁾.

BIODENTINE	
POLVO	LÍQUIDO
Silicato Tricálcico (3CaO-SiO₂): Regula la reacción de fraguado	Cloruro de calcio dihidratado (CaCl₂.2H₂O): Acelerador
Carbonato de Calcio (CaCO₃): Relleno	Polímero hidrosoluble: Reduce la viscosidad. Facilita la manipulación.
Dióxido de zirconio (ZrO₂): Radiopacidad	H₂O

Tabla 1. Composición de Biodentine (Septodont).

Fue introducido al mercado como material con propiedades mecánicas similares a la dentina; investigaciones subsecuentes demostraron que puede ser utilizado como material para restauración hasta por 6 meses en órganos dentarios posteriores, también se reportaron resultados prometedores cuando es utilizado como material de recubrimiento pulpar indirecto en órganos dentarios con lesiones cariosas profundas y signos de pulpitis reversible ⁽²⁵⁾.

Entre sus ventajas, respecto a otros cementos a base de MTA, presenta un reducido tiempo de fraguado (pocos minutos frente a algunas horas que requiere el MTA) y mejores propiedades mecánicas. Además, en contacto con la dentina presenta una excelente capacidad de sellado confirmada en estudios in vitro.

Este material cuenta con resistencia a la microfiltración debido a que forma un anclaje mineral con los túbulos dentinarios. Además tiene la propiedad biológica de formar puentes de dentina sin producir respuesta inflamatoria pulpar.

Biodentine, al igual que el MTA, ha demostrado que libera hidróxido de calcio, induciendo la reparación de dentina y una actividad antibacteriana. Debido a que este material puede estar en contacto con el tejido pulpar y tejidos periapicales, la biocompatibilidad es crucial. Aun así, la diferenciación de células pulpares en células odontoblasticas y la mineralización inducida por este material no es totalmente conocida.

Según el fabricante Biodentine se considera un material bioactivo. Goldberg (2009) describió la bioactividad de este material, demostrando la formación de apatita cuando se sumerge en solución de fosfato. Aunque aún no existe suficiente evidencia sobre la bioactividad del material derivada de estudios clínicos, los resultados de estudios preliminares in vitro y en animales de experimentación lo sitúan como una alternativa para la regeneración del complejo dentinopulpar ⁽²⁶⁾.

2.8.2 NeoMTA Plus (Abalon Biomedic)

NeoMTA Plus (Avalon Biomed Inc, Bradenton, FL, EE. UU. 2017) es un nuevo cemento bioactivo de silicato tricálcico en polvo fino; se mezcla con un gel a base de agua que imparte buenas propiedades de manejo y resistencia al lavado. La relación de mezcla de polvo a gel se puede variar, siendo mezclado de 1: 1 a 4: 1 dependiendo de si desea la consistencia fluida o una mezcla espesa dependiendo del tratamiento en que se empleará ⁽²⁷⁾.

El fabricante declara que las indicaciones incluyen la aplicación de este material para terapias pulpares vitales (recubrimientos pulpares, pulpotomías o como base cavitaria), apexificación, reparaciones radiculares (por reabsorción o perforación) y sellado de conductos radiculares.

Contiene óxido de tantalio (Ta_2O_5) como agente radiopacidor, sustituyendo el óxido de bismuto (Bi_2O_3), contenido en la mayoría de los cementos basados en MTA, el cual juega un papel crucial en los procesos de hidratación de silicatos de calcio así como también en la posible decoloración de los dientes, especialmente cuando está en contacto con el hipoclorito de sodio.

Sin embargo, poca información está disponible actualmente sobre este material, y su reacción de hidratación todavía no se comprende bien ⁽²⁸⁾.

2.9 Pruebas de Bioactividad in vitro

Los estudios in vitro sobre el mecanismo de biomineralización se han documentado para confirmar ampliamente la reproducción de fosfato de calcio en diferentes biocerámicos. Estos estudios utilizaron un fluido corporal simulado acelular sin proteínas (SBF o PBS) con pH (7.40). PBS es una solución que reproduce la formación in vivo de fosfato de calcio en la cerámica bioactiva y, por lo tanto, es un recurso de solución útil para diseñar un proceso biomimético para sintetizar fosfato de calcio biológicamente activo in vitro. Los procesos biomiméticos podrían ser aquellos que imitan la etapa primitiva de formación de fosfato de calcio, la etapa avanzada de hibridación de proteínas funcionales sobre la misma, o la etapa biológica de formación de tejido por células funcionales.

Se aplicaron caracterizaciones más precisas utilizando XPS, AES y TEM-EDX a estos grupos funcionales en función del tiempo de inmersión, lo que indica que inducen la nucleación del fosfato de calcio a través de formaciones de un fosfato de calcio amorfo, que finalmente se estabiliza en una apatita cristalina. Se supone que la nucleación del fosfato de calcio implica una interacción electrostática de los grupos funcionales de la superficie con los recursos de iones de calcio y fosfato en el fluido ⁽²⁹⁾.

Durante este proceso, los iones de silicato ricos en grupos Si-OH se liberan para absorber e inducir la nucleación del fosfato de calcio insitu sobre el sustrato. Posteriormente, el sustrato se sumerge en PBS para hacer que los núcleos de fosfato de calcio crezcan en el recubrimiento. Este proceso produce una película gruesa, densa y uniforme, compuesta de nanocristales de fosfato cálcico biológicamente activo, que se ha demostrado que media en la integración tisular muy temprana in vivo ⁽³⁰⁾.

Sus aplicaciones clínicas han progresado en gran medida en las cirugías ortopédicas y dentales. Los estudios in vitro e in vivo sobre la química de la superficie de la cerámica bioactiva están inspirando tecnologías tan desafiantes para nuevos materiales bio-interactivos con funciones físicas, químicas y biológicas mejoradas o novedosas ⁽³¹⁾.

3. JUSTIFICACIÓN

Los cementos a base de MTA han aumentado la posibilidad de realizar nuevos tratamientos y mejorar los procedimientos previamente establecidos, incrementando o prolongando la conservación de órganos dentarios en boca; por lo que han seguido en constante desarrollo nuevas formulaciones de MTA para mejorar sus propiedades fisicoquímicas, sin afectar su biocompatibilidad o bioactividad, siendo esta última de mucha importancia en cuestiones de regeneración y remineralización de los tejidos duros, así como su capacidad de sellado y propiedades antimicrobianas, indispensables para el éxito clínico y biológico.

Los exámenes de la bioactividad in vitro de los cementos hidráulicos basados en silicato de calcio, es decir la capacidad de formación de apatita, la liberación de calcio y el pH, son útiles para predecir su bioactividad in vivo.

Debido a la amplia variedad de biocerámicos tipo MTA actualmente en el mercado, el especialista en endodoncia debe conocer el comportamiento y los efectos de dichos materiales, con el fin de brindar la mejor opción de tratamiento disponible a los pacientes.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una amplia selección de materiales biocerámicos comerciales tipo MTA está disponible actualmente para el reemplazo de dentina, recubrimiento pulpar, pulpotomía, creación de barreras apicales en dientes con ápices abiertos, reparación de perforaciones radiculares y defectos de resorción, así como material de obturación retrógrada.

Se han desarrollado una variedad de modelos experimentales y métodos empleados por investigadores en la comunidad endodóntica para estudiar las propiedades de los materiales biocerámicos con el fin de comprender y predecir su comportamiento bioactivo y cómo cumplen los objetivos mecánicos, químicos y microbiológicos establecidos en estos materiales. Diferentes materiales pueden exhibir grados variables de bioactividad in vitro basados en sus composiciones.

El propósito del presente estudio es comparar in vitro el potencial bioactivo de los cementos NeoMTA Plus y Biodentine, mediante el análisis de su capacidad formadora de apatita y medición de pH.

5. HIPÓTESIS

- **HIPÓTESIS NULA**

La capacidad de formación de precipitados de apatita superficial y de alcalinización de NeoMTA Plus no difieren a las de Biodentine.

- **HIPÓTESIS 1**

La capacidad de formación de precipitados de apatita superficial y alcalinizante de NeoMTA Plus son mayores a las de Biodentine.

- **HIPÓTESIS 2**

La capacidad de formación de precipitados de apatita superficial y alcalinizante de NeoMTA Plus son menores a las de Biodentine.

6. OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Comparar in vitro el potencial bioactivo de los cementos NeoMTA Plus y Biodentine.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Análisis elemental de los cementos antes y después de su hidratación.
2. Observar el potencial formador de hidroxiapatita superficial mediante el uso de Microscopio Electrónico de Barrido en diferentes periodos de evaluación.
3. Analizar la composición y distribución elemental superficial con EDX en diferentes periodos de evaluación.
4. Calcular la Proporción Ca/P de los resultados obtenidos con EDX.
5. Medir el pH en diferentes periodos de evaluación.

7. VARIABLES

7.1 VARIABLES INDEPENDIENTES

- Cemento Biodentine (Septodont®)
- Cemento NeoMTA Plus (Avalon Biomed®)
- Tiempo en solución PBS (Phosphate Buffer Solution)

7.2 VARIABLES DEPENDIENTES

- Composición elemental completa
- Composición elemental superficial
- Proporción Calcio / Fósforo
- Morfología superficial
- pH

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1 MATERIALES

- Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) (TESCAN®)
- Espectroscopio de Energía Dispersiva de Rayos X (EDX) (BRUKER ® 125eV)
- Espectrómetro de Plasma Inducido (ICP)
- pHmetro (OHAUS ®, Waterproof pen meter)
- Incubadora
- Estufa de temperatura constante (Yamato ® DKN402C)
- NeoMTA Plus (Avalon Biomed®)
- Biodentine (Septodont®)
- Amalgamador (Ibident®)
- Agitador (VWR® Standard Hot Plate Stirrers)
- Moldes de plástico
- Báscula analítica
- Recipientes de polipropileno estériles
- Loseta de Vidrio
- Agua Destilada
- Agua Desionizada
- PBS (SIGMA ® Phosphate buffer solution)
- Pizeta
- Cajas Petri de plástico
- Soluciones calibradoras de pH de 4.0, 7.0 y 10
- Pipeta de 10mL
- Viales de Vidrio
- Porta Amalgamas
- Espátula de plástico
- Condensadores endodónticos Schilder
- Cubre objetos
- KimWipes®

8.2 METODOLOGÍA

8.2.1 COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LOS MATERIALES

1. Previa a las pruebas de potencial bioactivo, se analizó la composición elemental de los materiales tanto antes y después de su preparación y fraguado.
2. Después de su preparación según las instrucciones de su respectivo fabricante, las muestras se colocaron en porta objetos (Figura 1A) y fueron introducidas en una estufa de temperatura constante a 37°C durante 4 horas para permitir su fraguado.

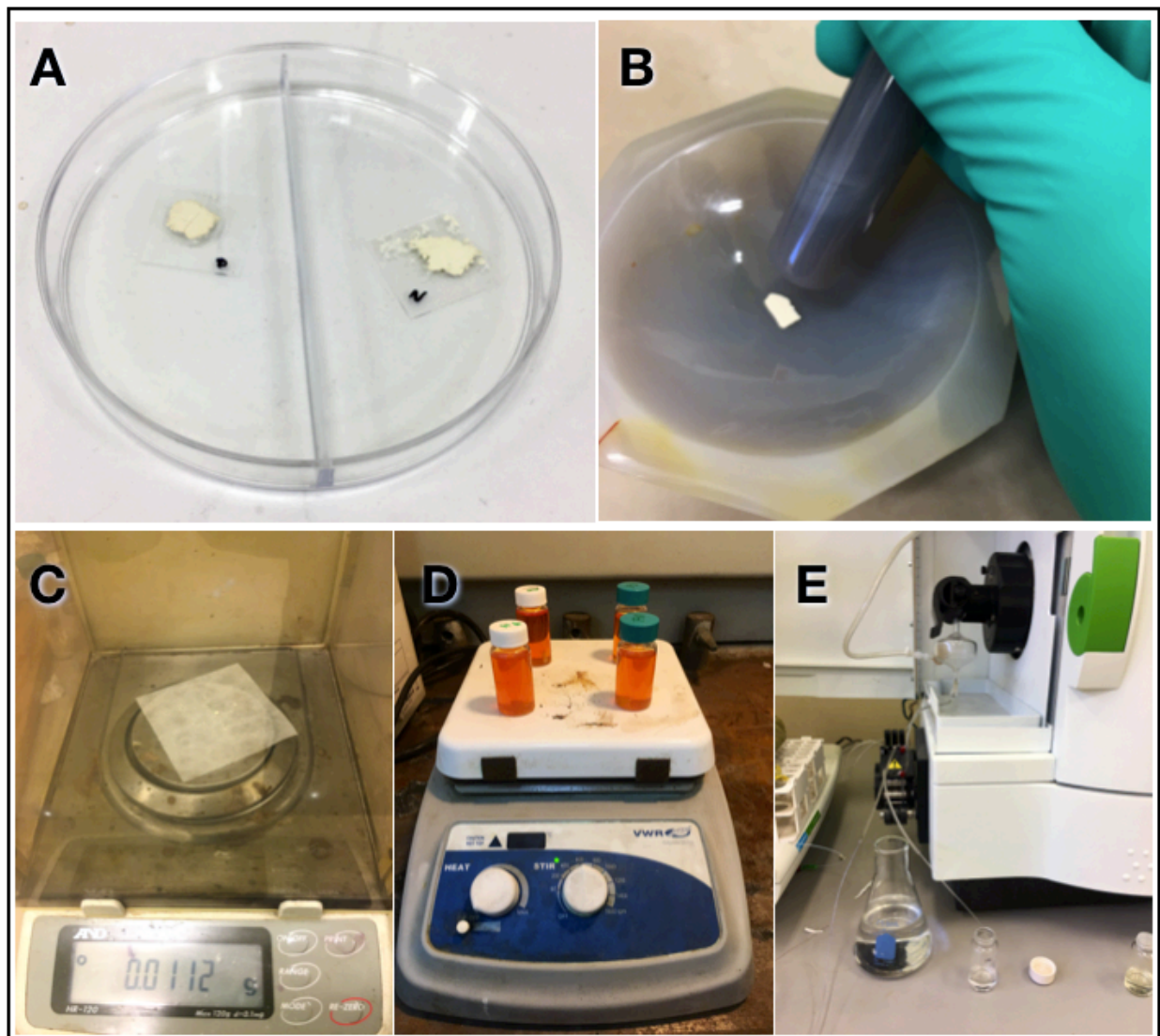


Figura 1. Procedimiento para el análisis de la composición elemental de los cementos. (A) Muestras de Biodentine y NeoMTA Plus en cubreobjetos. (B) Trituración de las muestras con mortero. (C) Pesado de las muestras trituradas previo a su colocación en los viales. (D) Agitación Magnética. (E) Estudio con ICP.

3. Las muestras fraguadas de cada material fueron trituradas en un mortero (Fig. 1B)
4. 100 mg de muestra fueron colocados en viales con 3mL de ácido clorhídrico y 7 mL de ácido nítrico para su digestión química.
5. Las muestras puras fueron colocadas directamente en los viales con la solución.
6. Los viales fueron colocados en un agitador magnético durante 24 horas para asegurar su completa disolución (Fig. 1D).
7. Las soluciones fueron diluidas con agua destilada previo a su análisis con ICP (Fig.1E).

8.2.2 ELABORACIÓN DE MUESTRAS

1. Cada material se preparó según las instrucciones de su respectivo fabricante; Biodentine: agregando 5 gotas a la cápsula (7g) y mezclando por 30 segundos en amalgamador. NeoMTA Plus: mezclando una porción de polvo con la cuchara dispensadora (100mg) con una gota de gel, en loseta de vidrio y espátula de metal estériles.
2. Las cantidades de polvo fueron pesadas en báscula analítica antes de su mezclado con el vehículo (200mg).
3. Se utilizó un molde de plástico transparente con cavidades de 7mm de diámetro por 4mm de profundidad. El material fue llevado al molde con un porta amalgama estéril y condensado con instrumentos Schilder y espátula de plástico.
4. Las muestras se almacenaron en incubado-

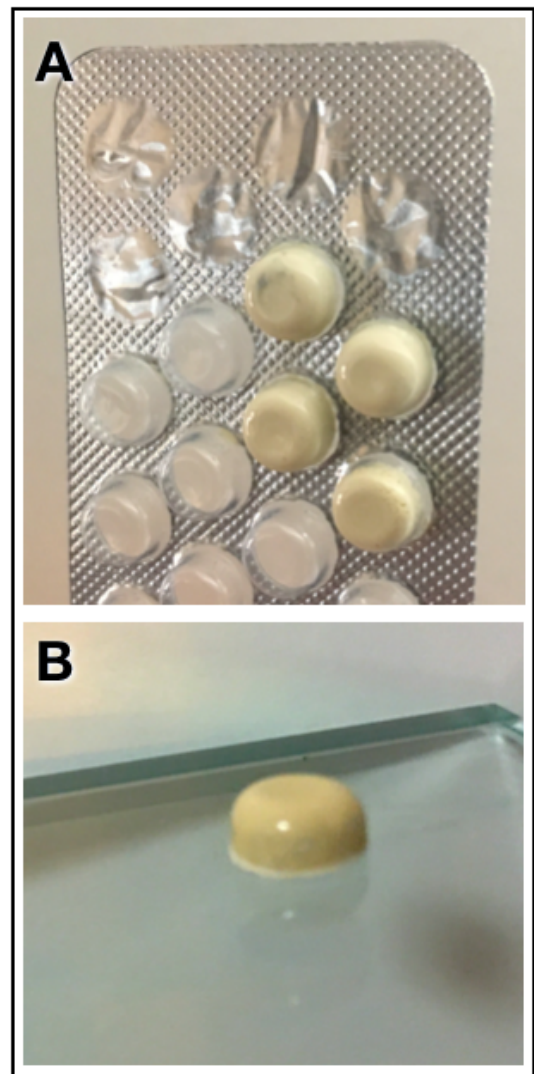


Figura 2. Elaboración de muestras. (A) Molde de plástico. (B) Muestra después de retirarla del molde

ra a 37°C por 4 horas en humedad relativa para permitir el fraguado inicial de los materiales.

5. Las muestras se pesan nuevamente para corroborar la estandarización.

8.2.3 CAPACIDAD FORMADORA DE APATITA

- 5 muestras de cada material (NeoMTA Plus y Biodentine), fueron introducidas independientemente en viales de vidrio con 5mL de solución PBS (SIGMA Phosphate buffer solution, NaCl 0.138 M; KCl - 0.0027 M; pH 7.4, polvo suficiente para 1L) preparada con agua desionizada.

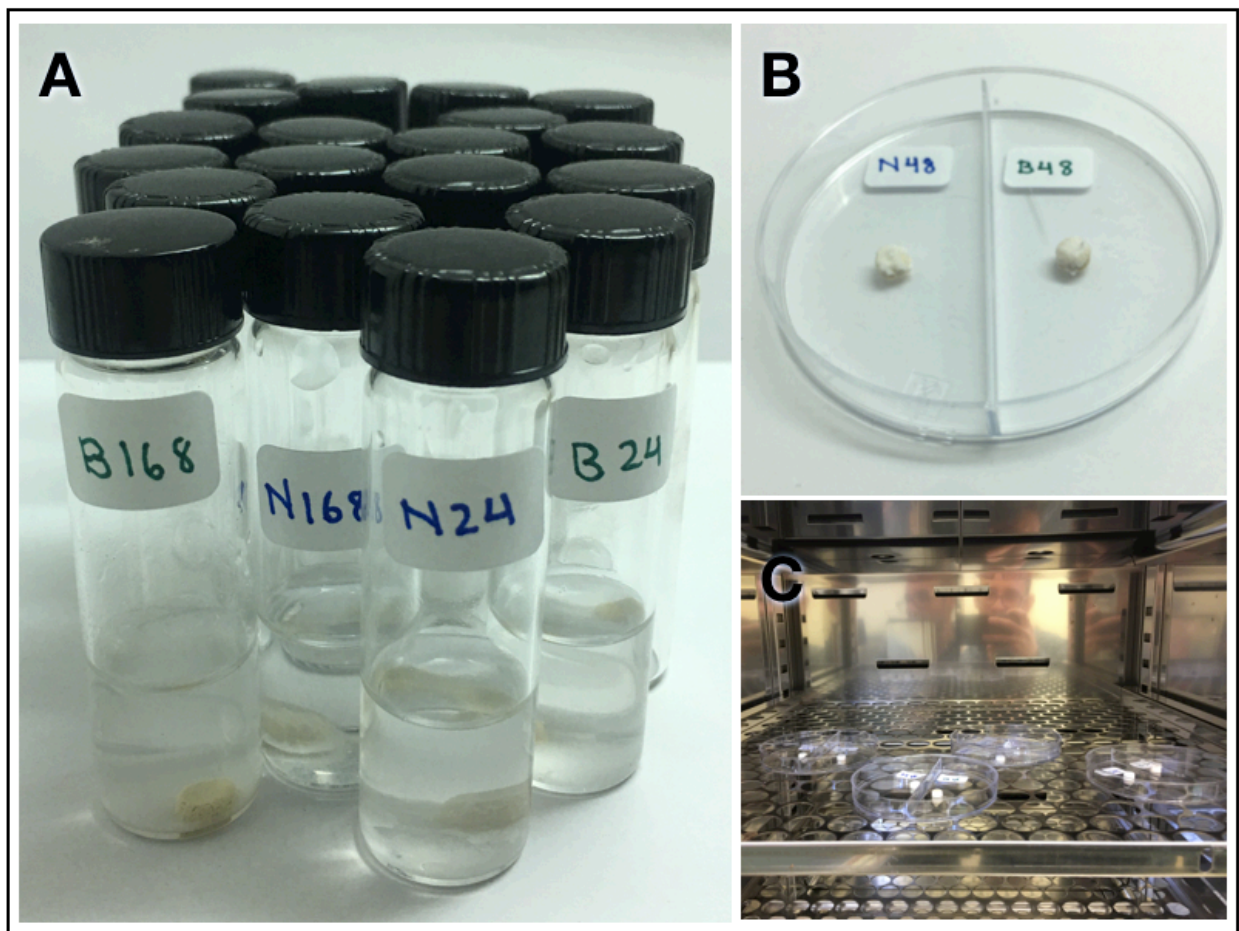


Figura 3. Muestras para estudio de capacidad formadora de apatita. (A) Muestras de cementos en viales de vidrio con PBS. (B y C) Muestras en cajas Petri en estufa de temperatura constante.

2. Después de cada periodo de evaluación (0min, 10min, 24hrs y 7días) las muestras fueron lavadas cuidadosamente sumergiéndolas unos segundos en agua destilada para eliminar la solución PBS.
3. Las muestras fueron colocadas en cajas Petri e introducidas en una estufa a 37°C con succión baja durante 24 horas para eliminar el exceso de humedad.
4. Se utilizó el Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) colocando las muestras en grafito.
5. Se analizó con EDX la composición elemental de la superficie de cada muestra por periodo de evaluación.
6. Análisis estadístico con software SPSS.

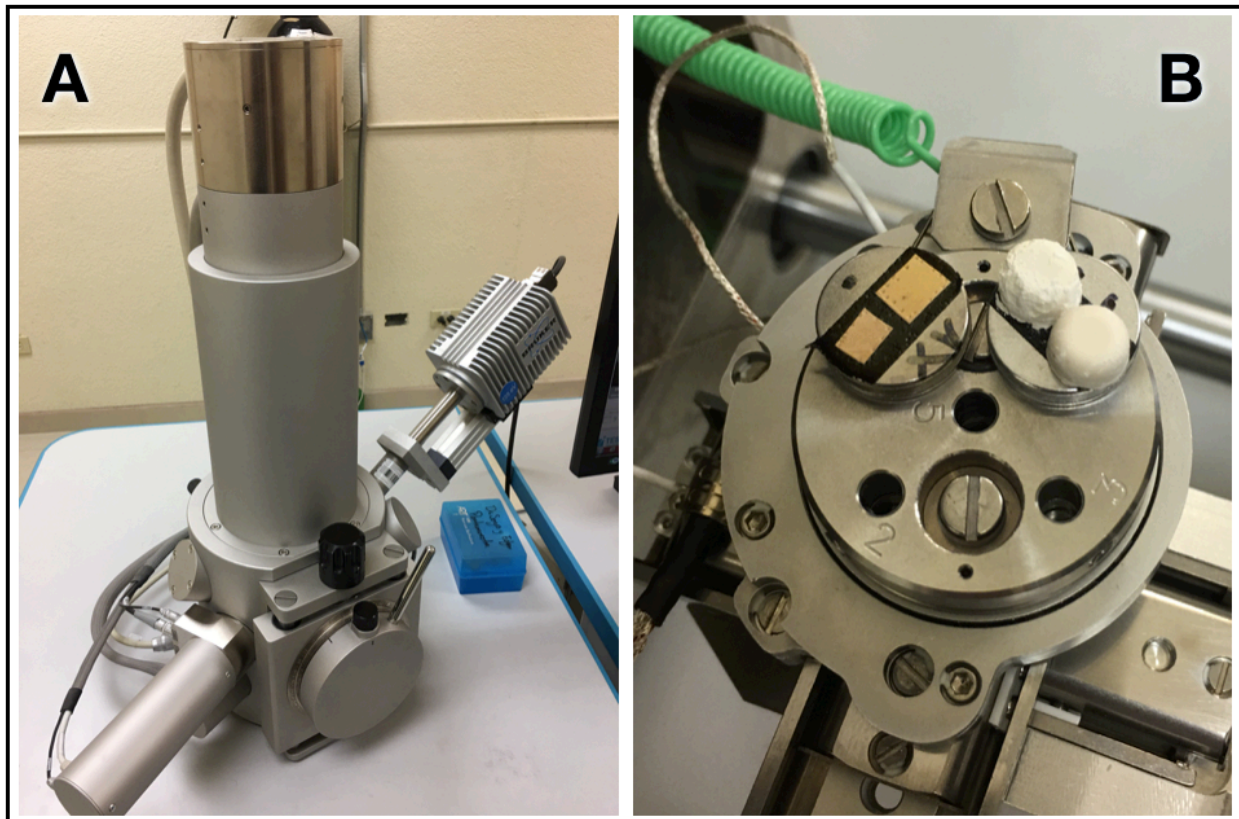


Figura 4. (A) Microscopio Electrónico de Barrido. (B) Montaje de muestras en el Microscopio Electrónico de Barrido.

8.2.4 MEDICIÓN DEL PH

1. 5 muestras de cada material, preparadas como fue mencionado anteriormente, se introducen en recipientes de polipropileno estéril con 40mL de agua destilada.
2. Antes de la medición, la muestra es retirada del recipiente
3. Se mide el pH utilizando un pHmetro (OHAUS, Waterproof pen meter) previamente calibrado con soluciones de ph 4, 7 14.
4. Los periodos de evaluación fueron de 0, 10min, 3hrs, 24hrs, 72hrs y 168hrs.
5. Previo a su medición
6. Análisis Estadístico con software SPSS.

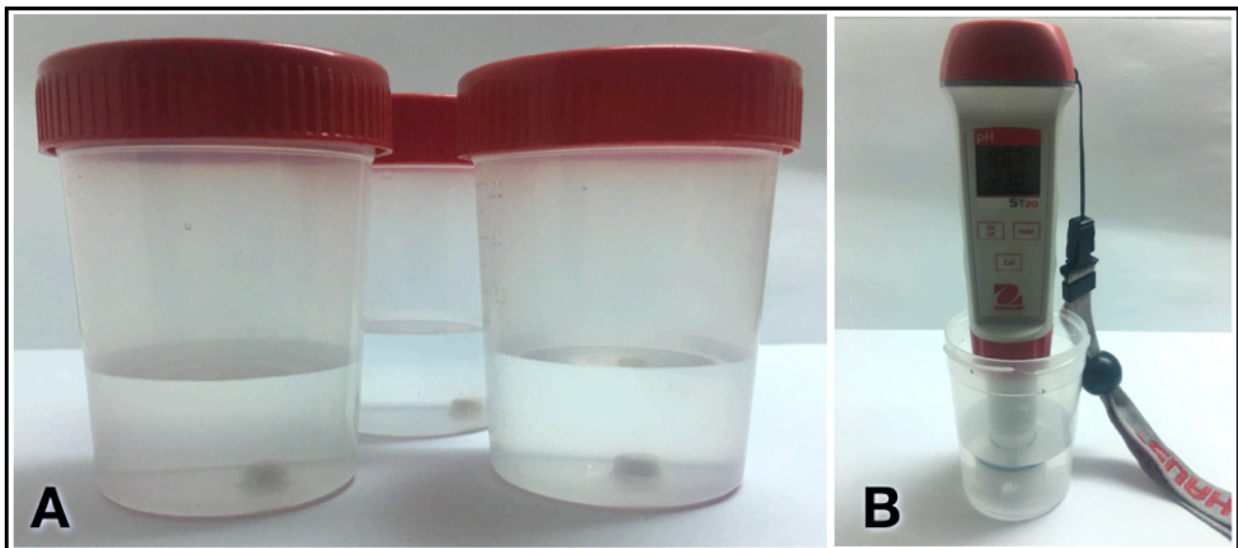


Figura 5. (A) Muestras de cementos en recipientes de polipropileno con agua destilada (B) Medición del pH con pHmetro OHAUS ®

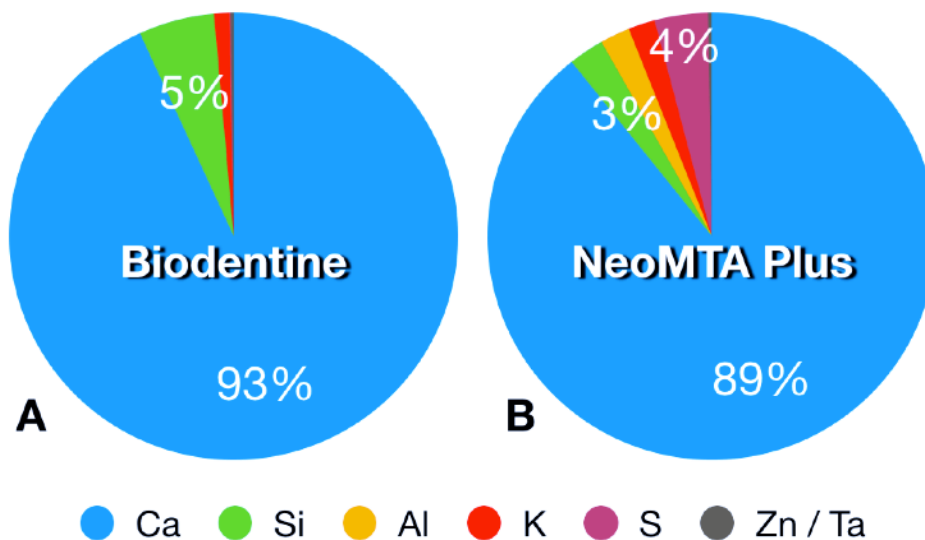
9. RESULTADOS

9.1 COMPOSICIÓN ELEMENTAL

	BIODENTINE		NEOMTA PLUS	
	NO HIDRATADO (ppm)	HIDRATADO (ppm)	NO HIDRATADO (ppm)	HIDRATADO (ppm)
Ca	119.4	117.6	87.3	84.14
Al	0.386	0.022	1.885	2.028
K	0.958	1.381	0.850	1.82
S	2.69	0.129	3.822	3.636
Si	7.019	6.886	7.913	2.416
Zn	0.373	0.257	0	0
Ta	0	0	0.341	0.238

Tabla 2. Composición elemental de Biodentine y NeoMTA Plus con ICP, Calcio (Ca), Aluminio (Al), Potasio (K), Azufre (S), Silicio (Si), Zirconio (Zn), en mg/L (ppm).

El análisis elemental arrojado por el ICP nos señala que las muestra puras (no hidratadas) de ambos materiales están compuestas principalmente por Calcio (Ca) y Silicio (Si), así como evidencia de la presencia de que Aluminio (Al), Potasio (K) y Azufre (S). Zirconio (Zn) solo fue detectado en Biodentine y Tantalio en NeoMTA Plus, elementos que forman parte del compuesto que aporta la radiopacidad de los cementos.



Gráfica 1. Porcentajes de la composición elemental de los cementos hidratados. (A) Biodentine. (B) NeoMTA Plus

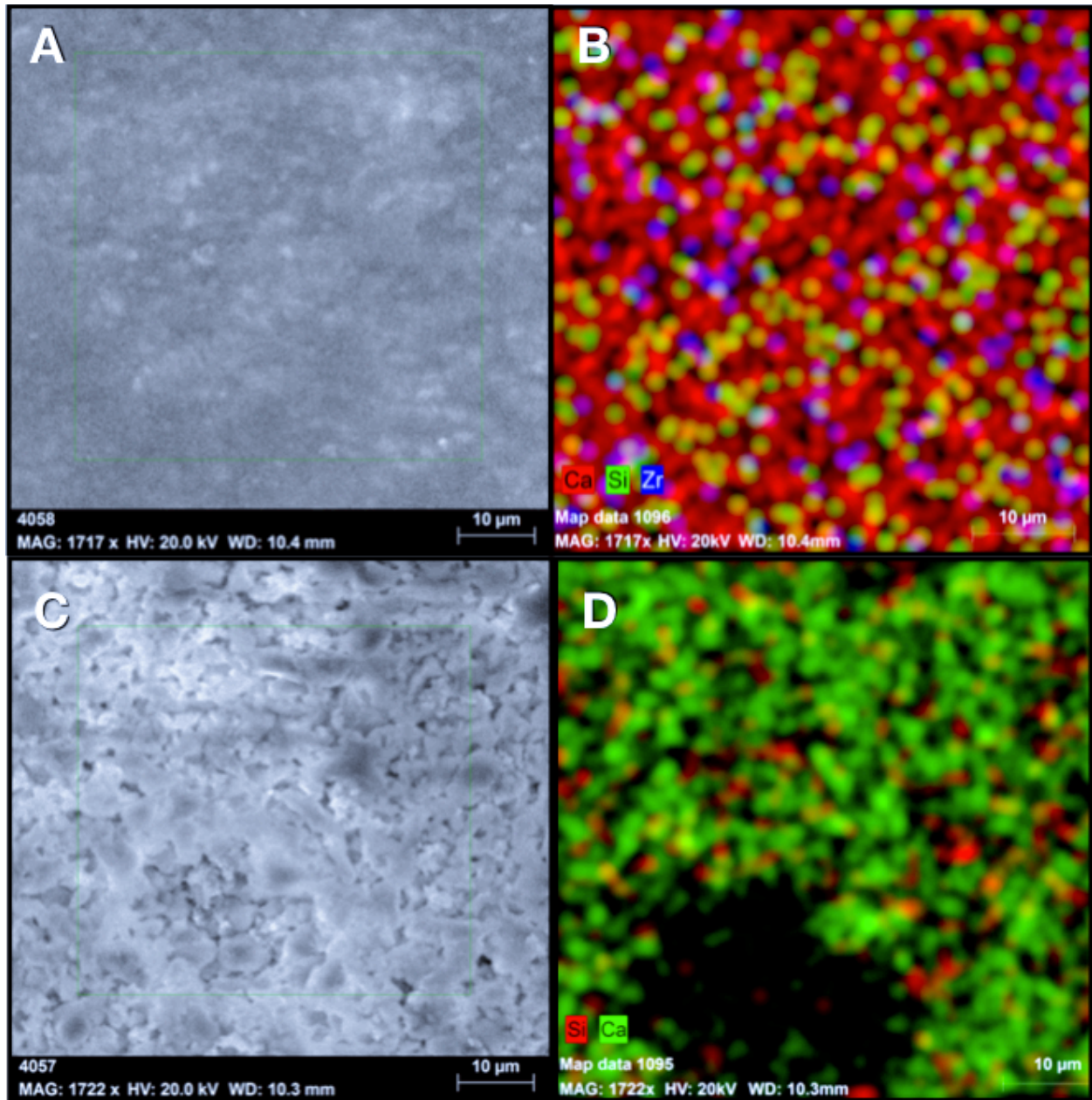


Figura 6. Mapeo de la distribución elemental de muestras recién mezcladas. A. Superficie analizada de muestra de Biodentine. B. Mapeo elemental de Ca, Si y Zr, de Biodentine. C. Superficie analizada de muestra de NeoMTA Plus. D. Mapeo Elemental de Ca y Si de NeoMTA Plus.

El mapeo de la distribución elemental de las muestras de los cementos recién hidratados mostró una distribución más regular en la superficie de Biodentine (B) que en la de NeoMTA Plus (D) donde se predominó la presencia de Calcio con puntos aleatorios de Silicio, además de espacios correspondientes a fosas (5-3µm) que no reflejaron resultados.

9.2 CAPACIDAD FORMADORA DE APATITA

● BIODENTINE

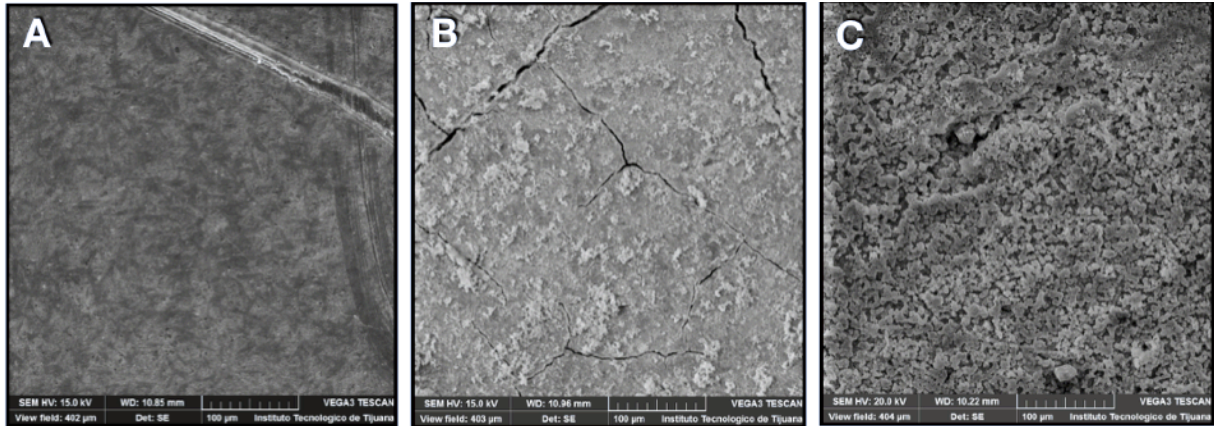


Figura 7. SEM 100um, Biodentine (Septodont). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

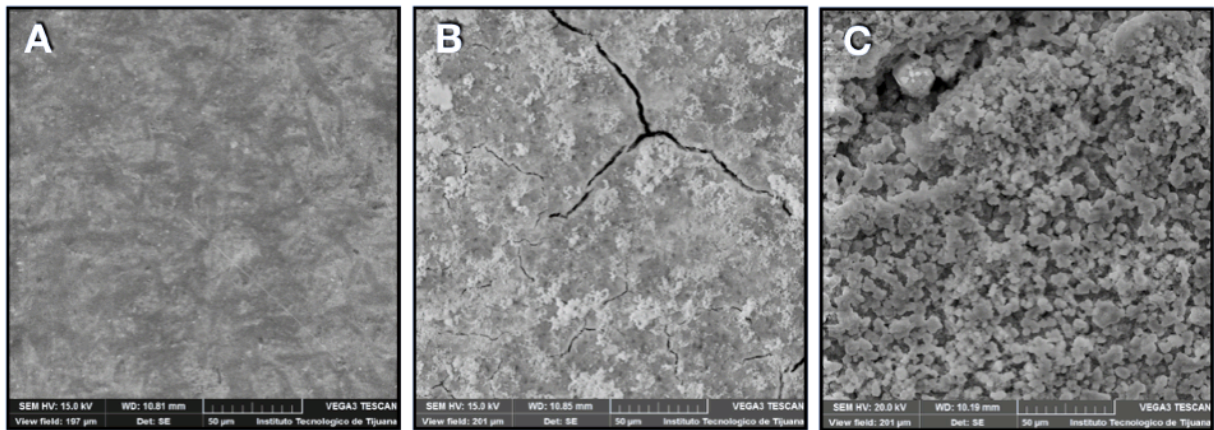


Figura 8. SEM 50um, Biodentine (Septodont). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

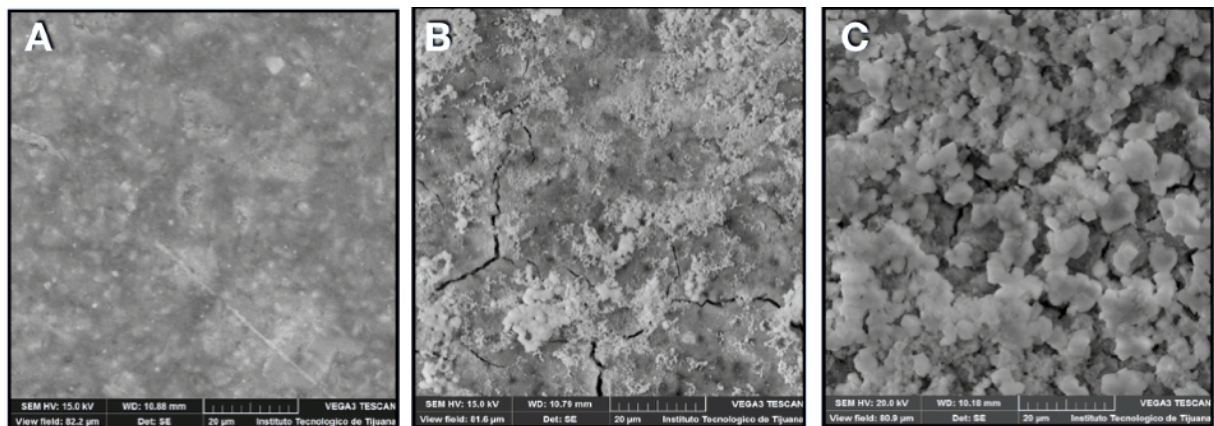


Figura 9. SEM 20um, Biodentine (Septodont). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

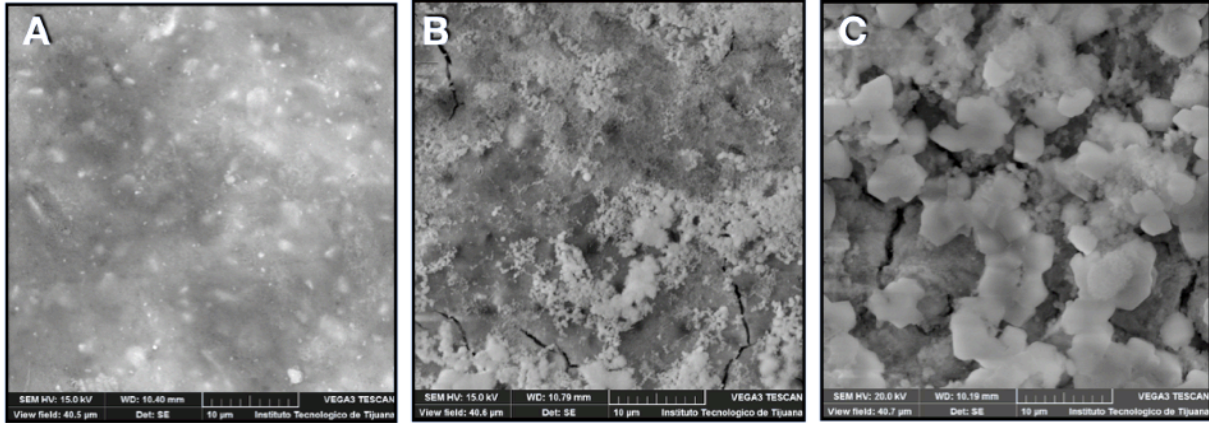


Figura 10. SEM 10um, Biodentine (Septodont). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

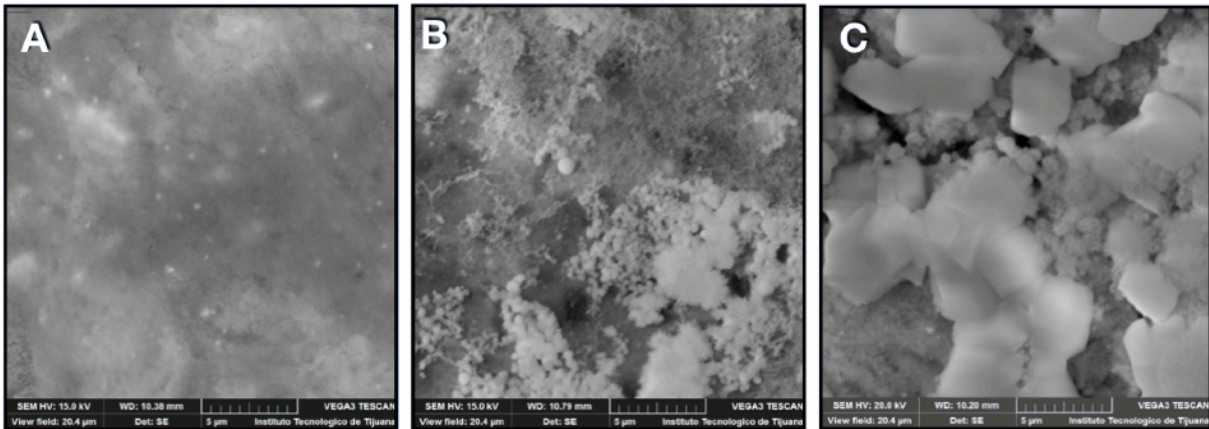


Figura 11. SEM 5um, Biodentine (Septodont). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

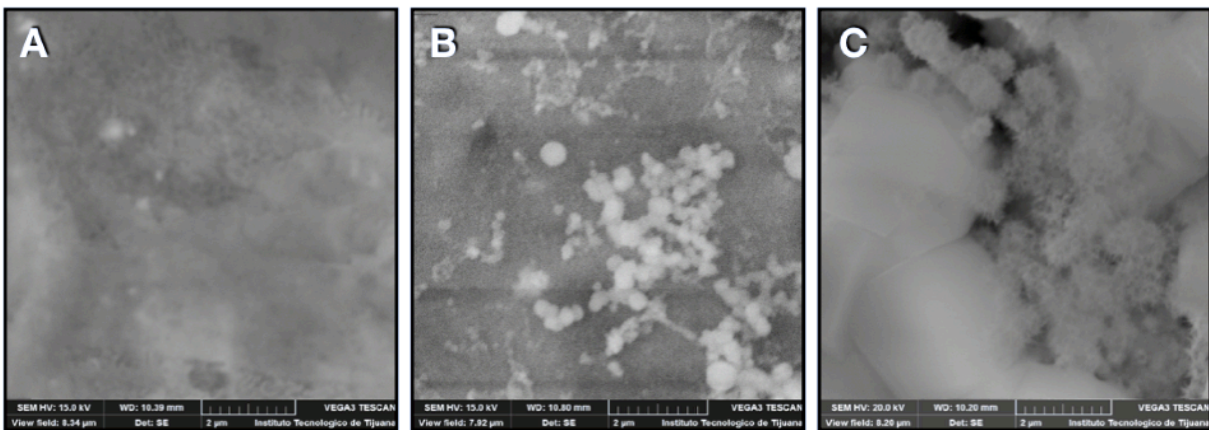


Figura 12. SEM 2um, Biodentine (Septodont). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

● NEOMTA PLUS

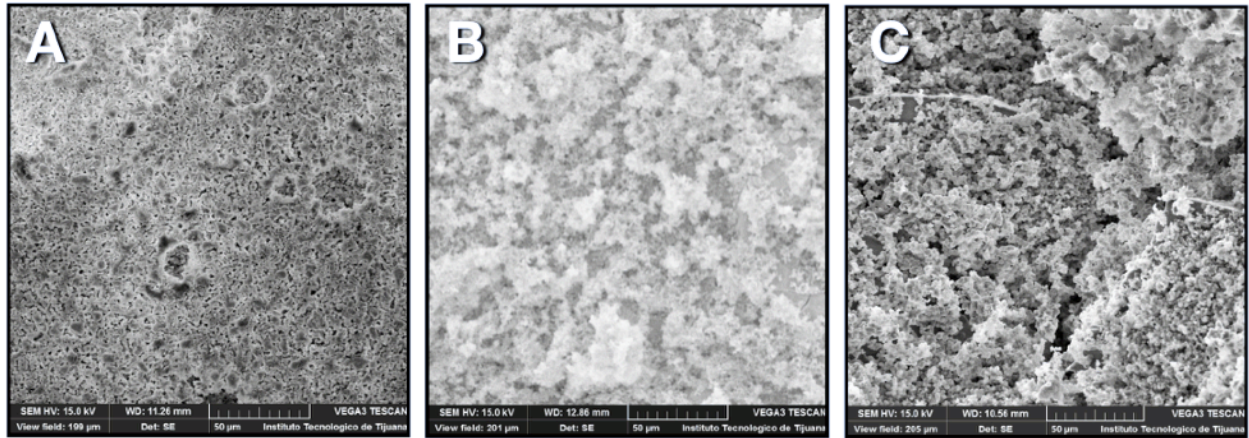


Figura 13. SEM 50um, NeoMTA Plus (Avalon). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

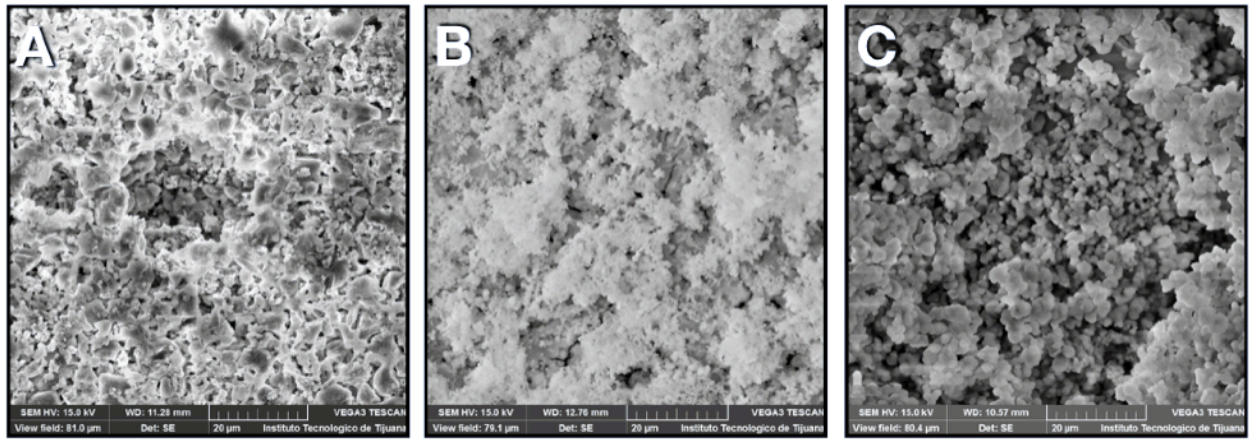


Figura 14. SEM 20um, NeoMTA Plus (Avalon). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

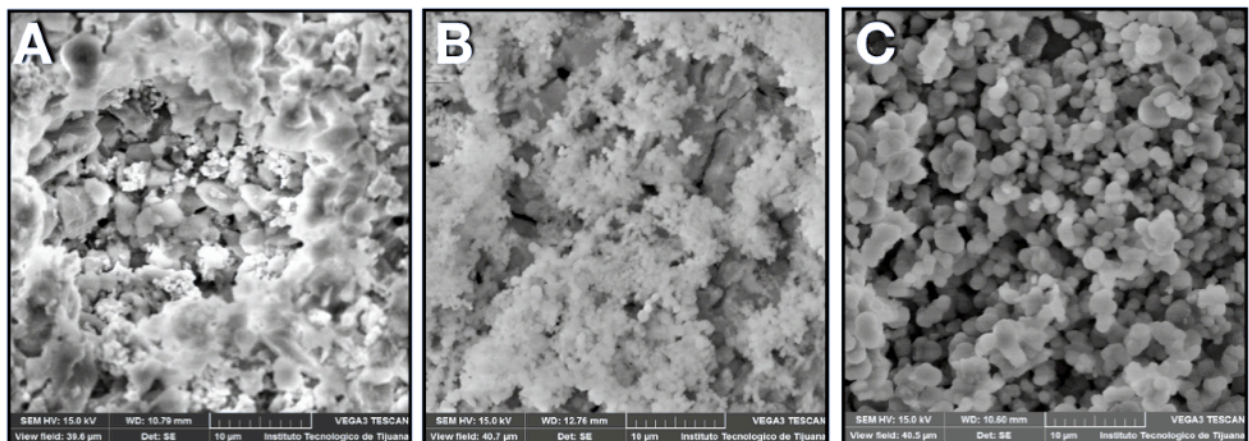


Figura 15. SEM 10um, NeoMTA Plus (Avalon). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

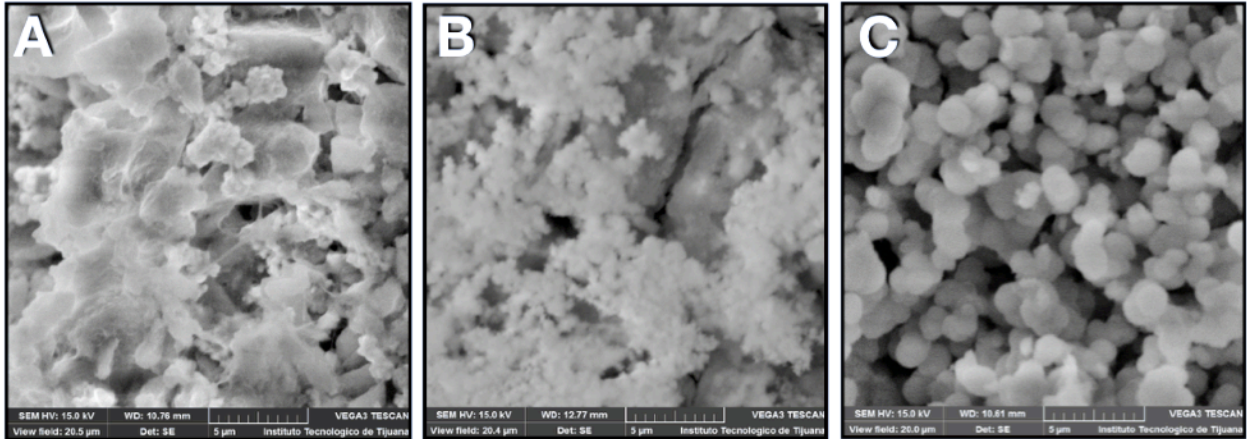


Figura 16. SEM 5um, NeoMTA Plus (Avalon). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

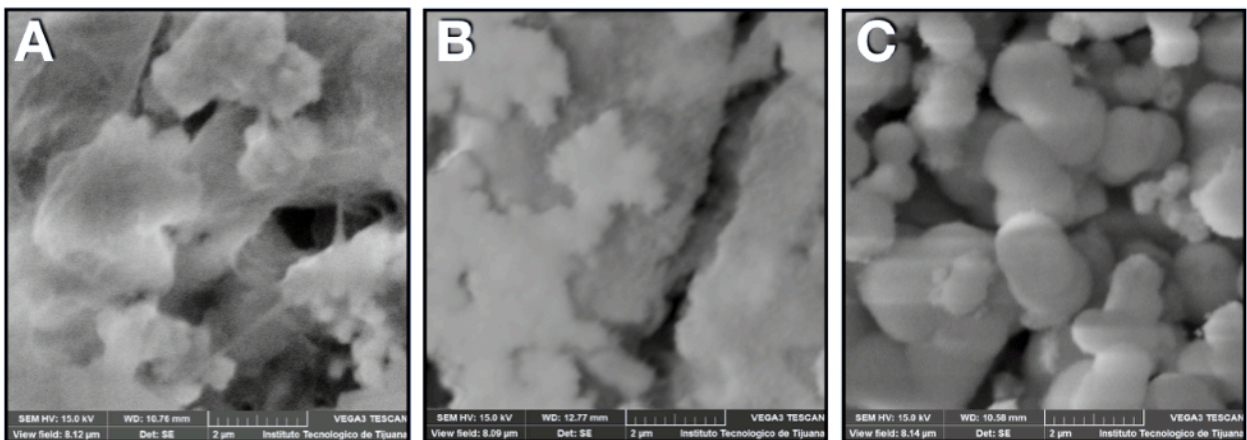


Figura 17. SEM 2um, NeoMTA Plus (Avalon). A. 0hrs; B. 24hrs; C. 168hrs.

En las micrografías obtenidas por el Microscopio Electrónico de Barrido se puede observar en las muestras fraguadas sin sumergir de Biodentine, superficies lisas, al no presentar irregularidades ni porosidades; mientras que en las de NeoMTA Plus se observó estructuras globulares de partículas esféricas compuestas principalmente por Calcio (Ca) y Silicio (Si) según su posterior análisis con el EDS, además de múltiples porosidades entre 1 y 3µm de diámetro.

Después de 1 hora de inmersión en PBS (Fig 12), la superficie lisa de Biodentine fue cubierta por precipitados de fosfatos de calcio en forma de esferulitas bien delimitadas de diferentes diámetros (entre 2 a 5 μ m), observando resultados similares en la superficie de las muestras de NeoMTA Plus hasta después de las 24 horas de inmersión.

A las 168 horas (Figs 2C-12C, la superficie de las muestras de Biodentine estaban cubiertas principalmente por precipitados de calcio en formas de placas irregulares de bordes bien delimitados de aproximadamente de 6x4 μ m, además de estructuras globulares y espiculares en menor disposición; mientras que la superficie de las muestras de NeoMTA Plus se encontraron cubiertas por completo por una capa homogénea de esférulitas bien delimitadas de diversos diámetros (2-5 μ m).

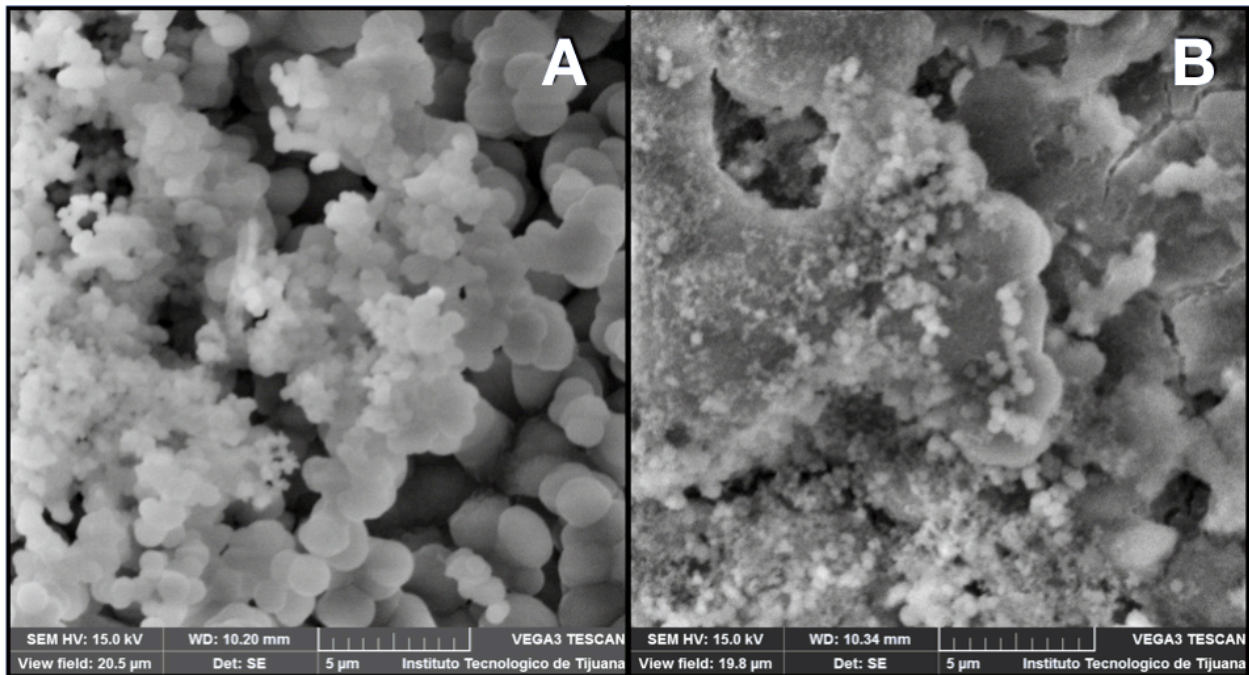
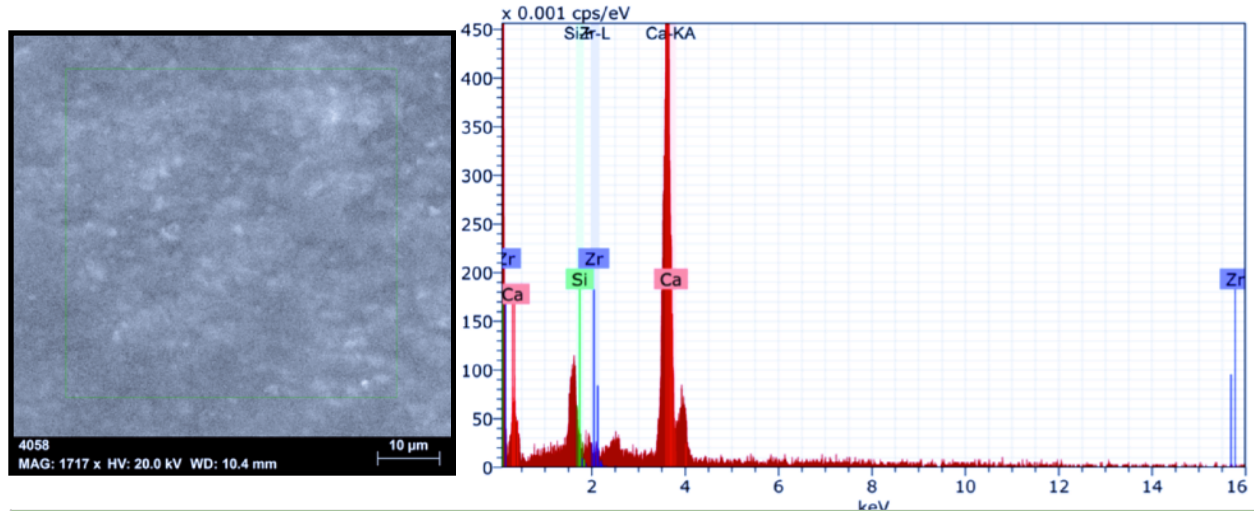


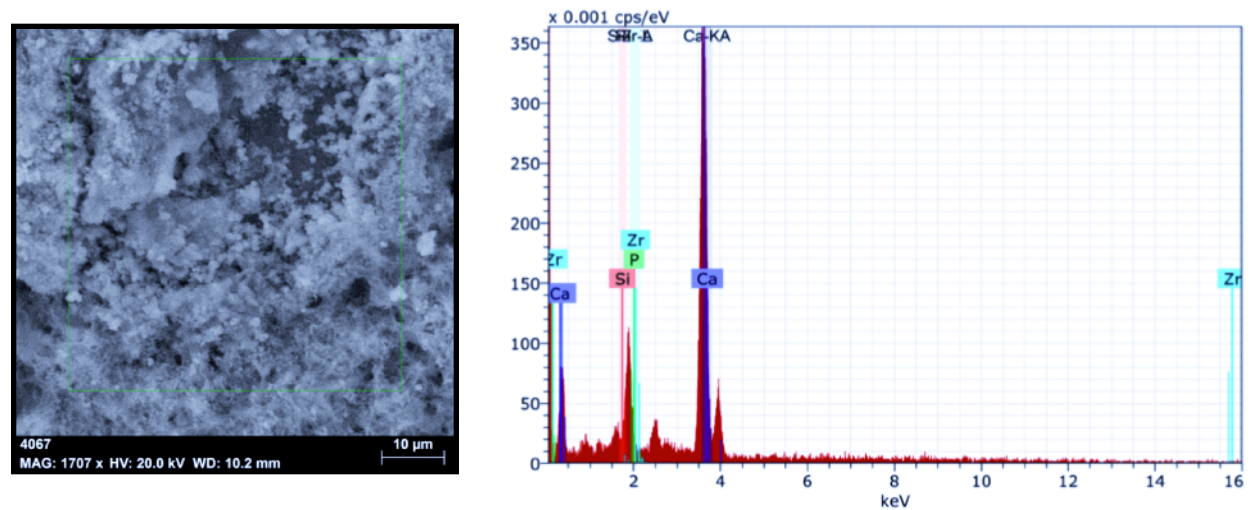
Figura 18. SEM 5 μ m, Biodentine (A) y NeoMTA Plus (B) a 1hr de inmersión.

9.3 ESPECTOMETRÍA DE DISPERSIÓN DE RAYOS X (EDS)

● BIODENTINE

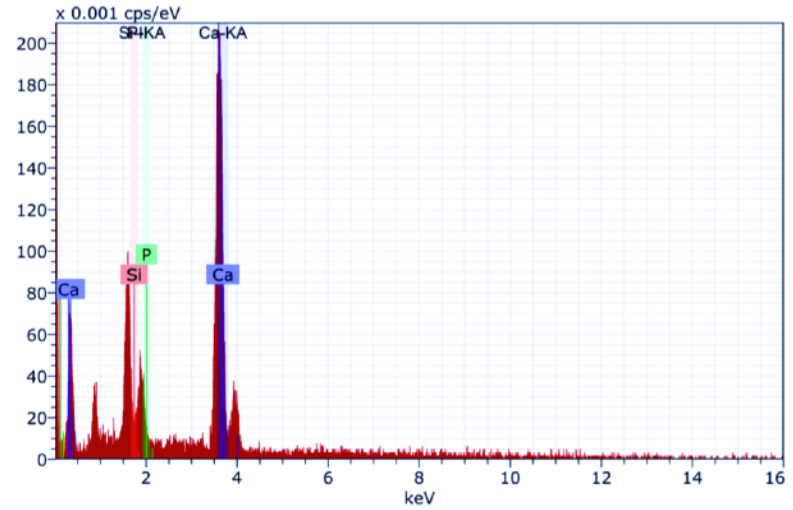
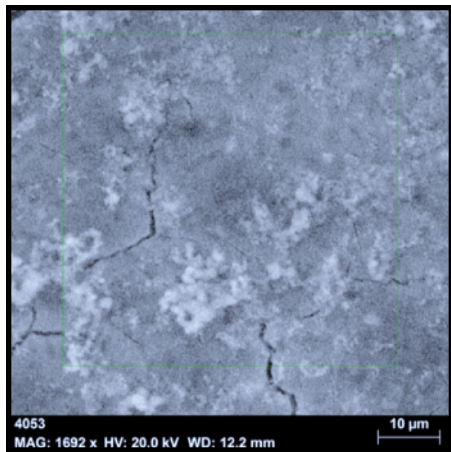


BIODENTINE 0 hrs		
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P
95.78	0%	0

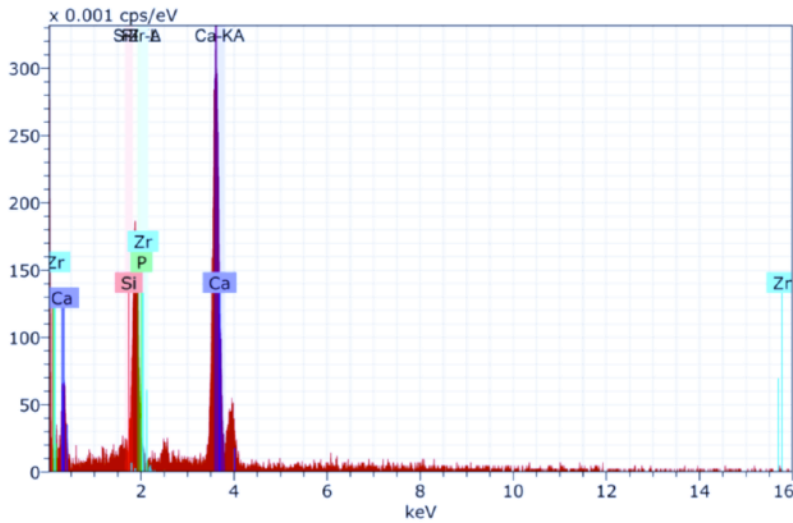
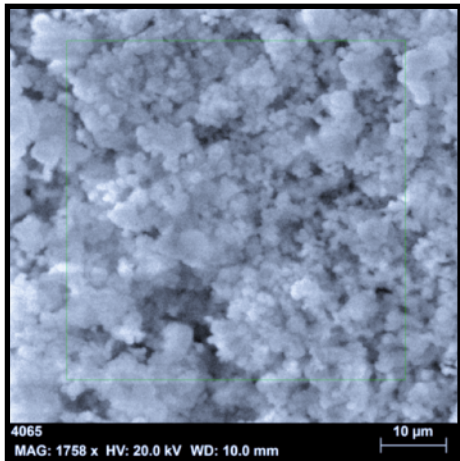


BIODENTINE 1 hr			
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
94.24	0	0	0

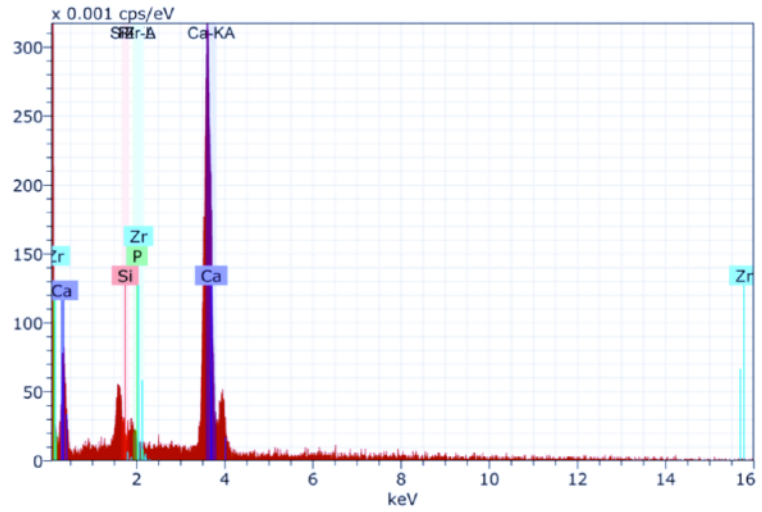
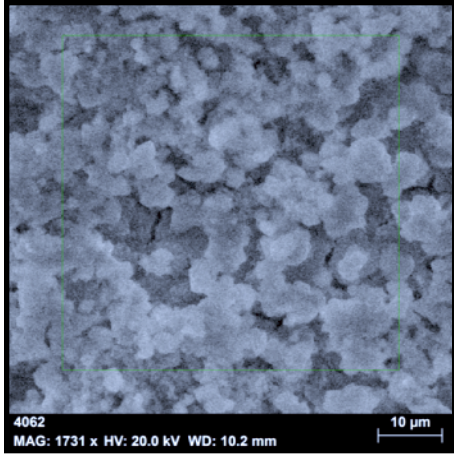
RESULTADOS



BIODENTINE 24 hrs			
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
91.45	2	45.73	35.78

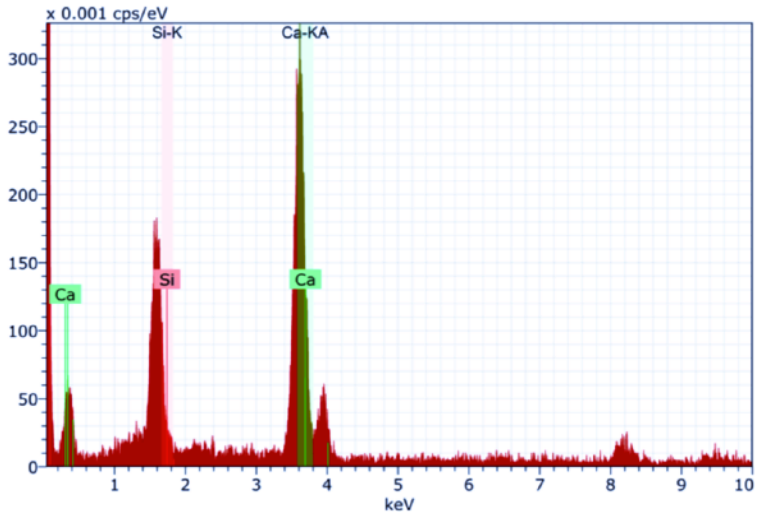
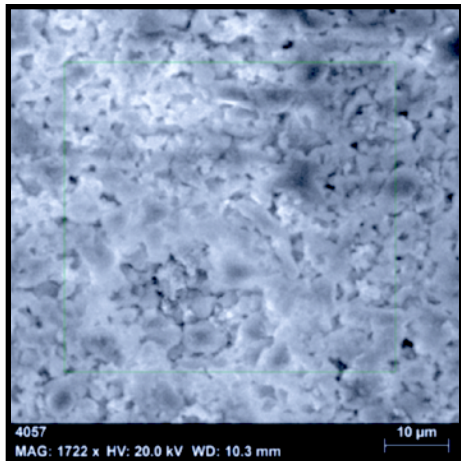


BIODENTINE 48 hrs			
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
81.39	11.47	7.10	5.48



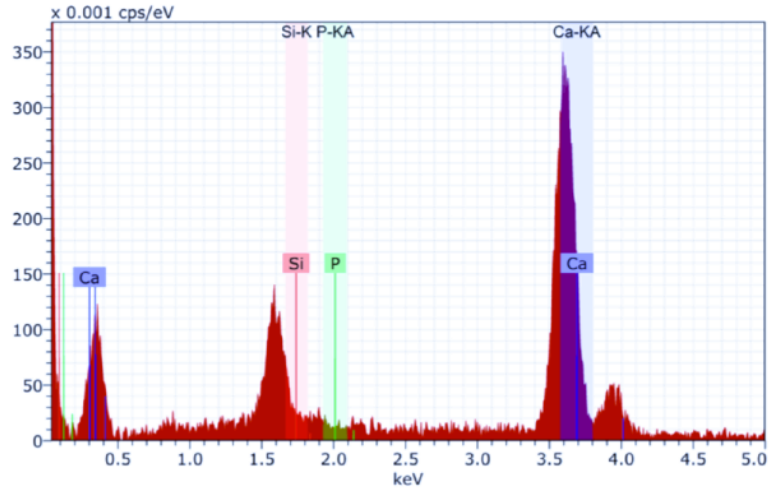
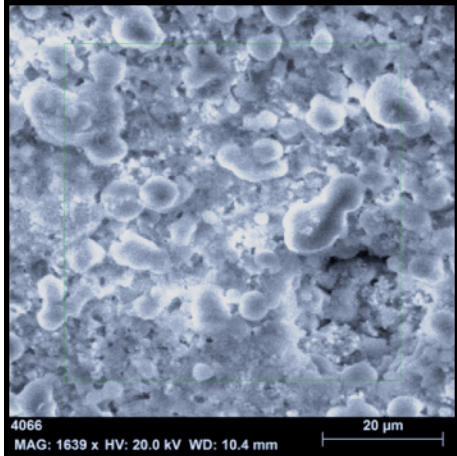
BIODENTINE 168 hrs			
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
85.15	7.47	11.40	8.87

● NEOMTA PLUS

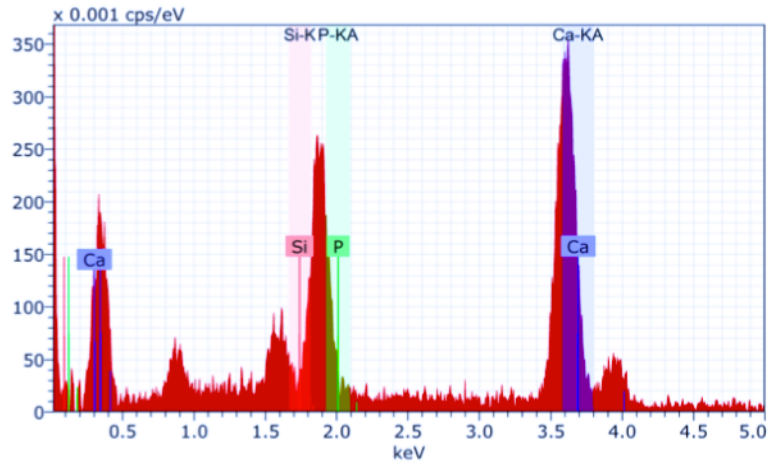
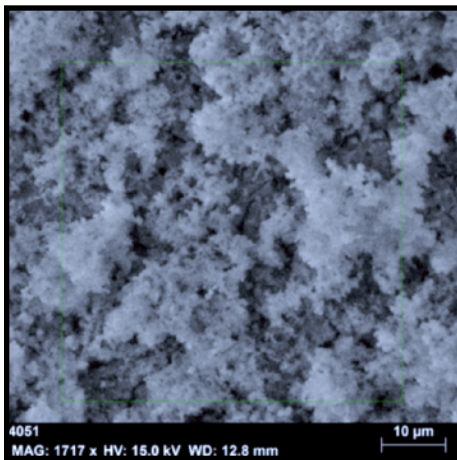


NEOMTA PLUS 0 hrs		
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P
93.51	0	0

RESULTADOS

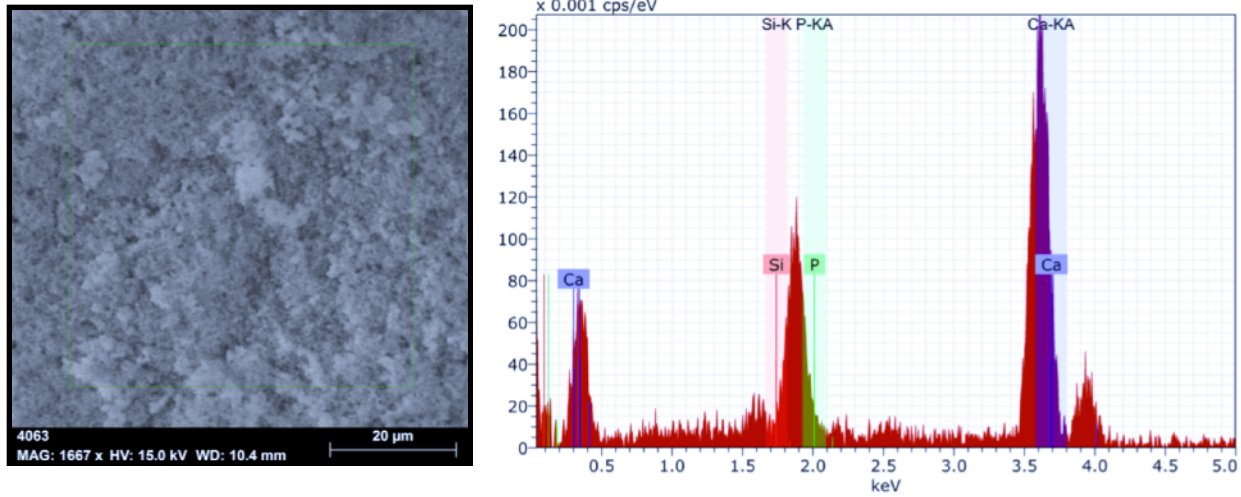


NEOMTA PLUS 1 hr			
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
98.53	0	0	0



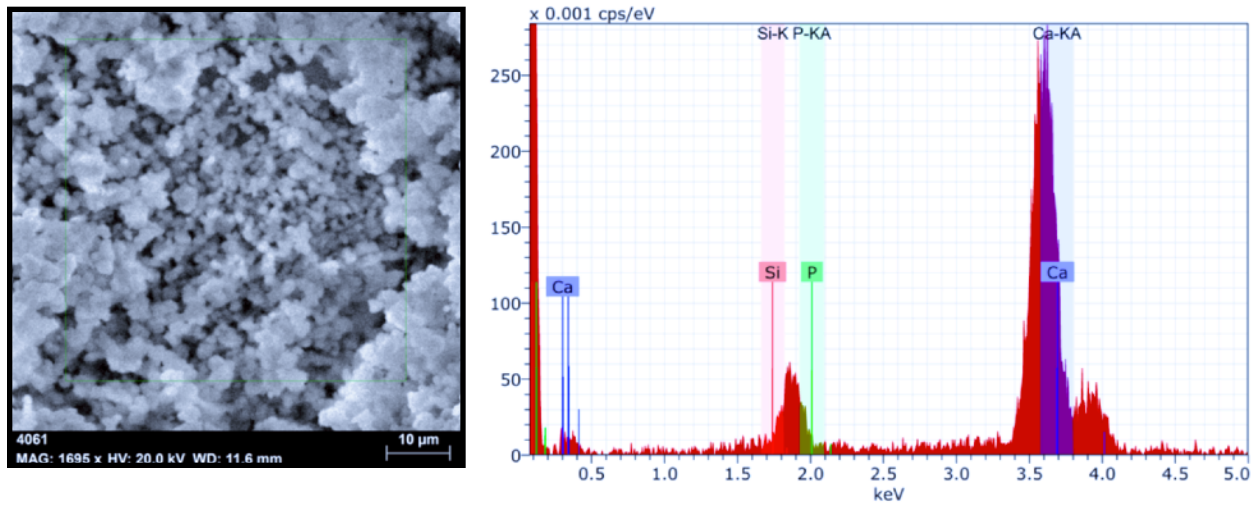
NEOMTA PLUS 24 hrs			
PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
89.79	5.26	17.06	13.17

RESULTADOS



NEOMTA PLUS 48 hrs

PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
87.93	6.76	13.01	10



NEOMTA PLUS 168 hrs

PORCENTAJE DE Ca (%)	PORCENTAJE DE P (%)	RELACIÓN Ca/P (%)	RELACIÓN Ca/P (mol)
87.69	6.81	12.88	9.95

RELACIÓN Ca/P																
BIODENTINE																
MUESTRA	1			2			3			4			5			M
	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca/P
0 min	95.78	0	0.00	94.08	0	0.00	95.79	0	0	94.14	0	0.00	94.69	0	0	0.00
1hr	94.24	1.98	47.60	98.23	0.67	146.61	91.98	1.65	55.75	97.58	0.86	113.47	96.55	1.77	54.55	83.59
24 hrs	91.45	2.00	45.73	93.71	1.58	59.31	80.36	12.46	6.45	75.29	15.10	4.99	65.56	29.13	2.25	23.74
48 hrs	81.39	11.47	7.10	76.49	13.95	5.48	83.39	9.90	8.42	78.84	12.11	6.51	69.31	25.14	2.76	6.05
168 hrs	85.15	7.47	11.40	88.87	8.49	10.47	71.81	21.69	3.311	68.45	31.40	2.18	70.40	25.18	2.80	6.03

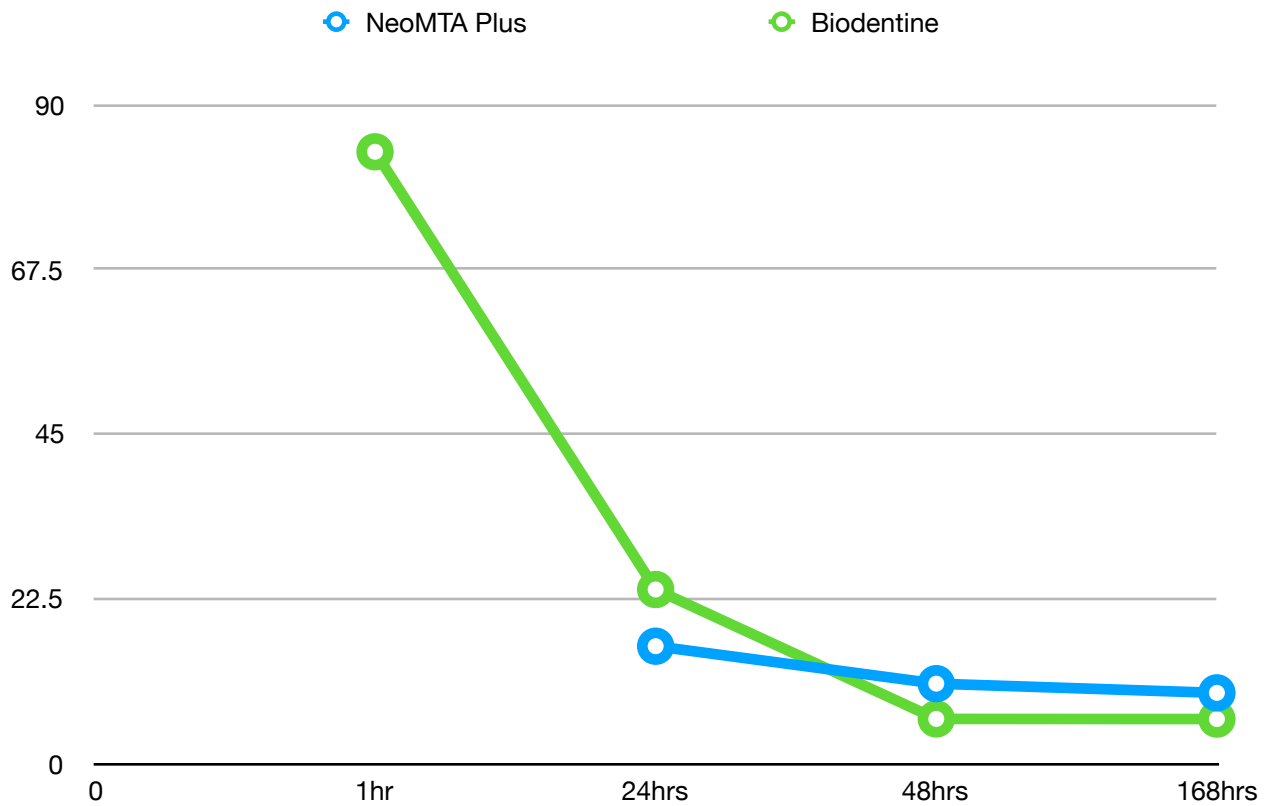
Tabla 3. Relación Calcio / Fósforo de las 5 muestras de Biodentine a 0, 1, 24, 48 y 168 horas.
 Ca= % de Calcio en el punto de muestreo superficial
 P= % de Fósforo en el punto de muestreo superficial
 M= Media

RELACIÓN Ca/P																
NEOMTA PLUS																
MUESTRA	1			2			3			4			5			M
	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca	P	Ca/P	Ca/P
0 min	93.51	0	0.00	90.99	0	0.00	94.77	0	0	92.70	0	0.00	92.45	0	0	0.00
1hr	98.53	0	0.00	97.92	0	0.00	94.20	0	0	91.93	0	0.00	96.50	1.85	0.00	0.00
24 hrs	89.74	5.26	17.06	87.11	7.89	11.04	93.35	4.65	20.08	90.79	5.21	17.43	89.74	6.26	14.34	15.99
48 hrs	87.93	6.76	13.01	84.35	8.38	10.07	87.20	7.18	12.14	83.44	8.89	9.39	85.25	8.75	9.74	10.87
168 hrs	87.69	6.81	12.88	84.56	8.29	10.20	85.40	9.34	9.14	81.39	9.98	8.16	84.98	11.08	7.67	9.61

Tabla 4. Relación Calcio / Fósforo de las 5 muestras de NeoMTA Plus a 0, 1, 24, 48 y 168 horas.
 Ca= % de Calcio en el punto de muestreo superficial
 P= % de Fósforo en el punto de muestreo superficial
 M= Media

RELACIÓN Ca/P		
	BIODENTINE	NEOMTA PLUS
0 min	0.00	0.00
1hr	83.59	0.00
24 hrs	23.74	15.99
48 hrs	6.05	10.87
168 hrs	6.03	9.61

Tabla 5. Promedios de la Relación Calcio / Fósforo (%) de las muestras de Biodentine y NeoMTA Plus a 0, 1, 24, 48 y 168 horas.



Gráfica 2. Evolución de la relación Calcio / Fósforo de las muestras de Biodentine (n=5) y NeoMTA Plus (n=5) en los diferentes periodos de evaluación hasta 7 días (promedios).

9.3.1 Análisis Estadístico de la Proporción Calcio - Fósforo

Descriptivos									
		N	M	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
Biodentine	Inmediato	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	1 hr	5.0	83.6	44.1	29.6	-19.3	145.2	47.6	146.6
	24 hrs	5.0	23.7	26.7	12.0	-9.5	57.0	2.3	59.3
	48 hrs	5.0	6.1	2.1	1.0	3.4	8.7	2.8	8.4
	168 hrs	5.0	6.0	4.5	2.0	0.4	11.6	2.2	11.4
	Total	25.0	19.8	37.5	7.5	4.3	35.2	0.0	146.6
NeoMTAPIus	Inmediato	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	1 hr	5.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	24 hrs	5.0	16.0	3.4	1.5	11.7	20.3	11.0	20.1
	48 hrs	5.0	10.9	1.6	0.7	8.9	12.9	9.4	13.0
	168 hrs	5.0	9.6	2.1	0.9	7.0	12.2	7.7	12.9
	Total	25.0	7.3	6.7	1.3	4.5	10.1	0.0	20.1

Tabla 6. Análisis Estadístico Descriptivo de la proporción Ca/F

Se realiza prueba de Levene para evaluar la igualdad de varianzas.

Prueba de homogeneidad de varianzas					
		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Biodentine	Se basa en la media	15.49	4.00	20.00	0.00
	Se basa en la mediana	7.03	4.00	20.00	0.00
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	7.03	4.00	7.56	0.01
	Se basa en la media recortada	14.62	4.00	20.00	0.00
NeoMTAPlus	Se basa en la media	6.82	4.00	20.00	0.00
	Se basa en la mediana	2.86	4.00	20.00	0.05
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2.86	4.00	8.63	0.09
	Se basa en la media recortada	6.54	4.00	20.00	0.00

Tabla 7. Prueba de Levene - homogeneidad de varianzas.

Basado en la media, no hay igualdad de varianzas ($p < 0.05$). Por lo tanto, se realiza una prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes.

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de Biodentine es la misma entre las categorías de LECTURA.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.001	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de NeoMTAPlus es la misma entre las categorías de LECTURA.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	.000	Rechazar la hipótesis nula.
Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de .05.				

Comparación entre parejas para Biodentine

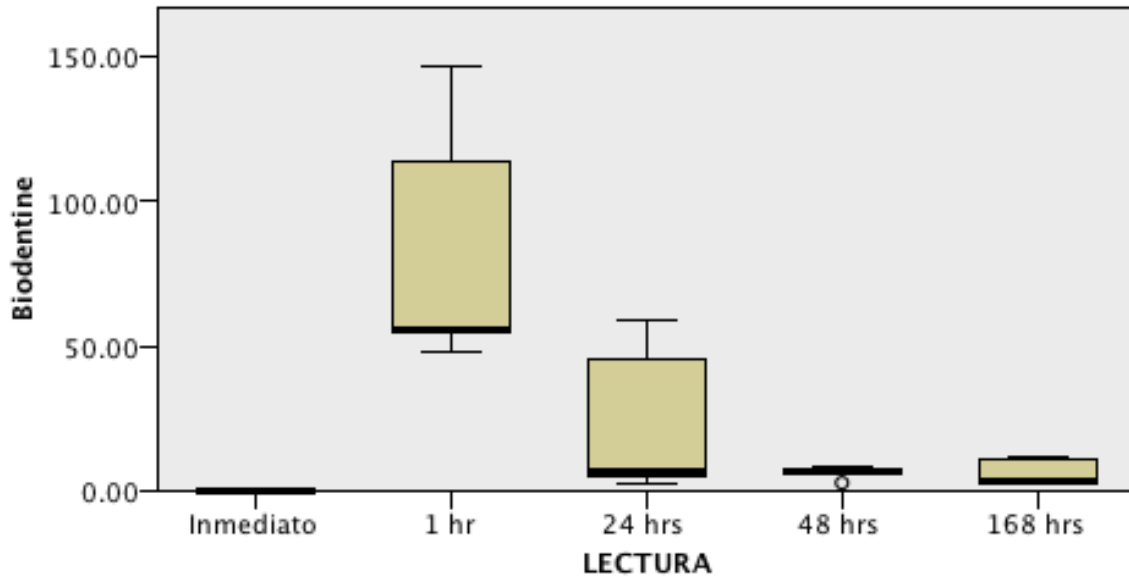
Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de LECTURA.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
Inmediato-168 hrs	-9.000	4.637	-1.941	.052	.523
Inmediato-48 hrs	-10.000	4.637	-2.157	.031	.310
Inmediato-24 hrs	-11.600	4.637	-2.502	.012	.124
Inmediato-1 hr	-19.400	4.637	-4.184	.000	.000
168 hrs-48 hrs	1.000	4.637	.216	.829	1.000
168 hrs-24 hrs	2.600	4.637	.561	.575	1.000
168 hrs-1 hr	10.400	4.637	2.243	.025	.249
48 hrs-24 hrs	1.600	4.637	.345	.730	1.000
48 hrs-1 hr	9.400	4.637	2.027	.043	.426
24 hrs-1 hr	7.800	4.637	1.682	.093	.925

Resultados:

- Después de 1 hora, La relación Ca/P aumentó significativamente ($p < 0.05$).
- A partir de las 24 horas, la relación Ca/P no aumentó significativamente ($p > 0.05$).

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes



Comparación entre parejas para NeoMTAPlus

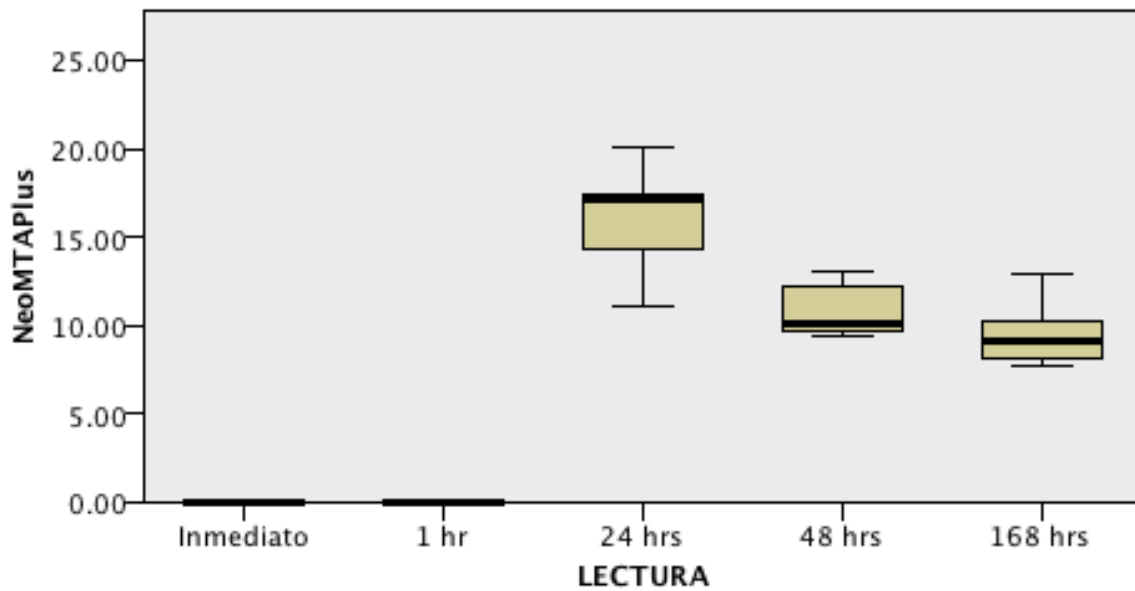
Cada nodo muestra el rango promedio de muestras de LECTURA.

Muestra 1-Muestra 2	Estadístico de contraste	Error Error	Desv. Estadístico de contraste	Sig.	Sig. ajust.
Inmediato-1 hr	.000	4.505	.000	1.000	1.000
Inmediato-168 hrs	-9.100	4.505	-2.020	.043	.434
Inmediato-48 hrs	-11.500	4.505	-2.553	.011	.107
Inmediato-24 hrs	-16.900	4.505	-3.752	.000	.002
1 hr-168 hrs	-9.100	4.505	-2.020	.043	.434
1 hr-48 hrs	-11.500	4.505	-2.553	.011	.107
1 hr-24 hrs	-16.900	4.505	-3.752	.000	.002
168 hrs-48 hrs	2.400	4.505	.533	.594	1.000
168 hrs-24 hrs	7.800	4.505	1.732	.083	.834
48 hrs-24 hrs	5.400	4.505	1.199	.231	1.000

Resultados:

- No hay diferencia significativa de la relación Ca/P inmediata y a la primera hora ($p > 0.05$).
- Después de 24 horas, la relación Ca/P aumentó significativamente ($p < 0.05$).
- No hay diferencia significativa de la relación Ca/P entre las 24 y 48 hrs. ($p > 0.05$).
- No hay diferencia significativa de la relación Ca/P entre las 48 y 168 hrs. ($p > 0.05$).

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes



COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS

Se realiza una prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes:

Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de LECTURA INMEDIATA es la misma entre las categorías de CERÁMICO.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	1.000 ¹	Retener la hipótesis nula.
2	La distribución de LECTURA A LA HORA es la misma entre las categorías de CERÁMICO.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.008 ¹	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de LECTURA A LAS 24 HRS es la misma entre las categorías de CERÁMICO.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.690 ¹	Retener la hipótesis nula.
4	La distribución de LECTURA A LAS 48 HRS es la misma entre las categorías de CERÁMICO.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.008 ¹	Rechazar la hipótesis nula.
5	La distribución de LECTURA A LAS 168 HRS es la misma entre las categorías de CERÁMICO.	Prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes	.421 ¹	Retener la hipótesis nula.
Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de .05.				
¹ Se muestra la significación exacta para esta prueba.				

Resultados:

No hay diferencia significativa entre las relaciones Ca/P de ambos materiales inmediatamente, a las 24 horas y 168 horas. ($p > 0.05$).

La relación Ca/P es significativamente mayor en Biodentine a la hora que NeoMTAPlus ($p < 0.05$).

La relación Ca/P es significativamente mayor en NeoMTAPlus a las 48 horas que en Biodentine ($p < 0.05$).

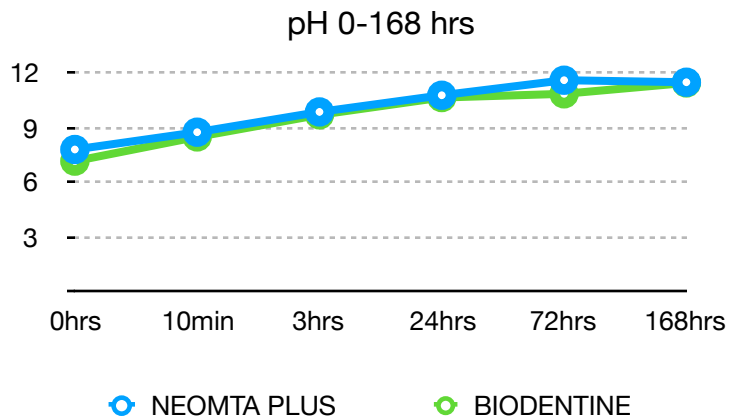
9.4 pH

Ambos materiales indujeron la alcalinización del medio de almacenamiento (agua destilada) a partir de los 10 min de inmersión, alcanzando Biodentine su punto máximo a las 168 horas (11.4) y NeoMTA Plus a las 72 horas (11.57).

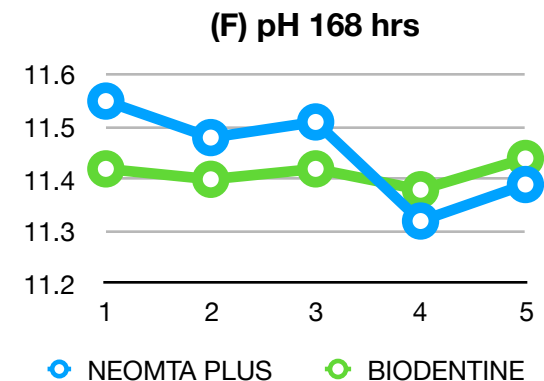
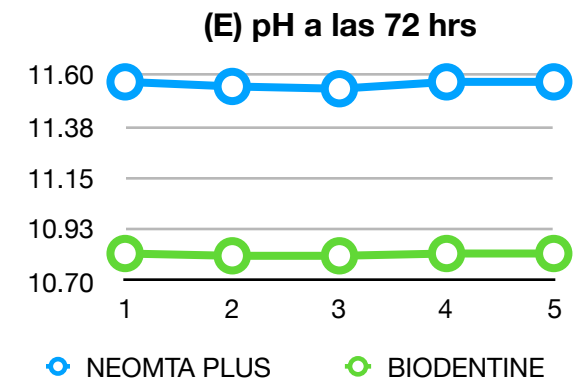
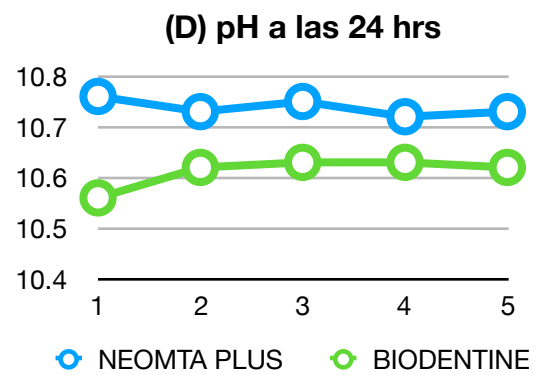
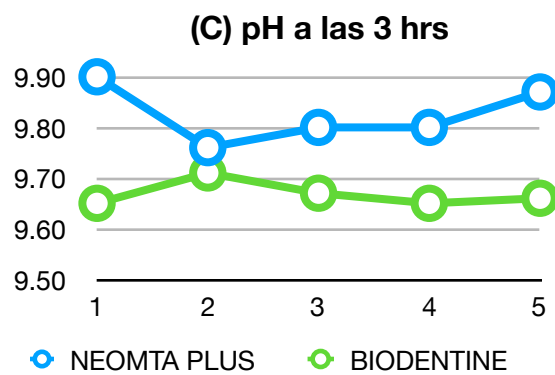
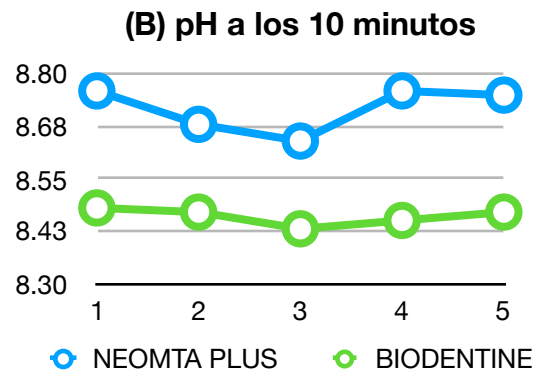
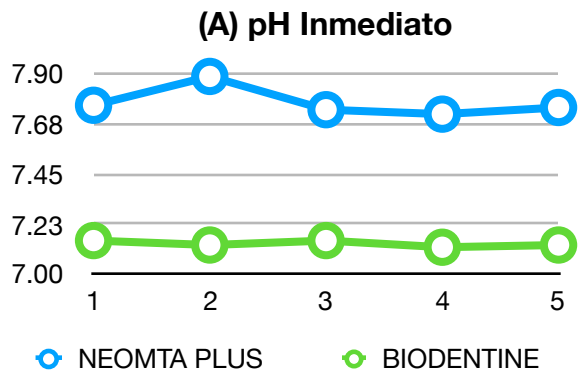
Diferencias significativas entre ambos materiales fueron detectadas durante las primeras horas de inmersión; sin embargo a partir de las 168 horas la diferencia no fue significativa.

pH										
	BIODENTINE					NEOMTA PLUS				
MUESTRA	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
0 min	7.15	7.13	7.15	7.12	7.13	7.76	7.89	7.74	7.72	7.75
10 min	8.48	8.47	8.43	8.45	8.47	8.76	8.68	8.64	8.76	8.75
3 hrs	9.65	9.71	9.67	9.65	9.66	9.90	9.76	9.80	9.80	9.87
24 hrs	10.56	10.62	10.63	10.63	10.62	10.76	10.73	10.75	10.72	10.73
72 hrs	10.82	10.81	10.81	10.82	10.82	11.57	11.55	11.54	11.57	11.57
168 hrs	11.42	11.40	11.42	11.38	11.44	11.55	11.48	11.51	11.32	11.39

Tabla 8. pH de agua destilada con Biodentine (n=5) y NeoMTA Plus (n=5) en los diferentes periodos de evaluación.



Gráfica 3. Evolución del pH de agua destilada con Biodentine (n=5) y NeoMTA Plus (n=5) en los diferentes periodos de evaluación hasta 7 días (promedios).



Gráfica 4. pH de cada muestra de agua destilada con Biodentine (n=5) y NeoMTA Plus (n=5) en los diferentes periodos de evaluación. (A) Inmediato, (B) 10 minutos, (C) 3 horas, (D) 24 horas, (E) 72horas, (F) 168 horas.

9.3.1. Análisis Estadístico del pH

		N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media	
						Límite inferior	Límite superior
LECTURA INMEDIATA	Biodentine	5	7.1360	.01342	.00600	7.1193	7.1527
	NeoMTA Plus	5	7.7720	.06760	.03023	7.6881	7.8559
	Total	10	7.4540	.33834	.10699	7.2120	7.6960
LECTURA A LOS 10 MINUTOS	Biodentine	5	8.4600	.02000	.00894	8.4352	8.4848
	NeoMTA Plus	5	8.7180	.05495	.02458	8.6498	8.7862
	Total	10	8.5890	.14146	.04473	8.4878	8.6902
LECTURA A LAS 3 HORAS	Biodentine	5	9.6680	.02490	.01114	9.6371	9.6989
	NeoMTA Plus	5	9.8260	.05727	.02561	9.7549	9.8971
	Total	10	9.7470	.09310	.02944	9.6804	9.8136
LECTURA A LAS 24 HRS	Biodentine	5	10.6120	.02950	.01319	10.5754	10.6486
	NeoMTA Plus	5	10.7380	.01643	.00735	10.7176	10.7584
	Total	10	10.6750	.07012	.02217	10.6248	10.7252
LECTURA A LAS 72 HRS	Biodentine	5	10.8160	.00548	.00245	10.8092	10.8228
	NeoMTA Plus	5	11.5600	.01414	.00632	11.5424	11.5776
	Total	10	11.1880	.39225	.12404	10.9074	11.4686
LECTURA A LAS 168 HRS	Biodentine	5	11.4120	.02280	.01020	11.3837	11.4403
	NeoMTA Plus	5	11.4500	.09354	.04183	11.3339	11.5661
	Total	10	11.4310	.06724	.02126	11.3829	11.4791

Tabla 9. Análisis Estadístico Descriptivo - Desviación estándar.

Descriptivos			
		Mínimo	Máximo
LECTURA INMEDIATA	Biodentine	7.12	7.15
	NeoMTA Plus	7.72	7.89
	Total	7.12	7.89
LECTURA A LOS 10 MINUTOS	Biodentine	8.43	8.48
	NeoMTA Plus	8.64	8.76
	Total	8.43	8.76
LECTURA A LAS 3 HORAS	Biodentine	9.65	9.71
	NeoMTA Plus	9.76	9.90
	Total	9.65	9.90
LECTURA A LAS 24 HRS	Biodentine	10.56	10.63
	NeoMTA Plus	10.72	10.76
	Total	10.56	10.76
LECTURA A LAS 72 HRS	Biodentine	10.81	10.82
	NeoMTA Plus	11.54	11.57
	Total	10.81	11.57
LECTURA A LAS 168 HRS	Biodentine	11.38	11.44
	NeoMTA Plus	11.32	11.55
	Total	11.32	11.55

Tabla 10. Análisis Estadístico Descriptivo - Valores Mínimo y Máximo.

Se realiza una prueba *t de student* para muestras independientes, con el objetivo de comparar el pH de cada uno de los materiales a distintas horas (comparación entre grupos).

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
LECTURA INMEDIATA	Se asumen varianzas iguales	3.583	.095	-20.635	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-20.635	4.315	.000
LECTURA A LOS 10 MINUTOS	Se asumen varianzas iguales	11.303	.010	-9.865	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-9.865	5.041	.000
LECTURA A LAS 3 HORAS	Se asumen varianzas iguales	6.018	.040	-5.657	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-5.657	5.460	.002
LECTURA A LAS 24 HRS	Se asumen varianzas iguales	.704	.426	-8.345	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-8.345	6.265	.000
LECTURA A LAS 72 HRS	Se asumen varianzas iguales	12.226	.008	-109.697	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-109.697	5.174	.000
LECTURA A LAS 168 HRS	Se asumen varianzas iguales	10.255	.013	-.883	8	.403
	No se asumen varianzas iguales			-.883	4.474	.422

Tabla 11. Análisis Estadístico Descriptivo - Prueba T de Student para igualdad de variantes y medidas.

Prueba de muestras independientes					
		prueba t para la igualdad de medias			
		Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
				Inferior	Superior
LECTURA INMEDIATA	Se asumen varianzas iguales	-.63600	.03082	-.70708	-.56492
	No se asumen varianzas iguales	-.63600	.03082	-.71917	-.55283
LECTURA A LOS 10 MINUTOS	Se asumen varianzas iguales	-.25800	.02615	-.31831	-.19769
	No se asumen varianzas iguales	-.25800	.02615	-.32506	-.19094
LECTURA A LAS 3 HORAS	Se asumen varianzas iguales	-.15800	.02793	-.22240	-.09360
	No se asumen varianzas iguales	-.15800	.02793	-.22801	-.08799
LECTURA A LAS 24 HRS	Se asumen varianzas iguales	-.12600	.01510	-.16082	-.09118
	No se asumen varianzas iguales	-.12600	.01510	-.16257	-.08943
LECTURA A LAS 72 HRS	Se asumen varianzas iguales	-.74400	.00678	-.75964	-.72836
	No se asumen varianzas iguales	-.74400	.00678	-.76126	-.72674
LECTURA A LAS 168 HRS	Se asumen varianzas iguales	-.03800	.04306	-.13729	.06129
	No se asumen varianzas iguales	-.03800	.04306	-.15272	.07672

Tabla 12. Análisis Estadístico Descriptivo - Prueba T para igualdad de medidas.

RESULTADOS:

- El pH de NeoMTAPlus es significativamente mayor ($p < 0.05$) que el de Biodentine a las 0 hrs.
- El pH de NeoMTAPlus es significativamente mayor ($p < 0.05$) que el de Biodentine a los 10 min.
- El pH de NeoMTAPlus es significativamente mayor ($p < 0.05$) que el de Biodentine a las 3 hrs.
- El pH de NeoMTAPlus es significativamente mayor ($p < 0.05$) que el de Biodentine a las 24 hrs.
- El pH de Biodentine es significativamente mayor ($p < 0.05$) que el de NeoMTAPlus a las 72 hrs.
- No hay diferencia significativa ($p > 0.05$) en el pH del Biodentine y el NeoMTAPlus a las 168 hrs.

Se realiza una prueba t de student para comparaciones múltiples, para comparar el aumento del pH en cada material (comparación intra-grupos).

● **BIODENTINE**

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
pH Biodentine	Inmediato	5	7.1360	.01342	.00600
	10 min	5	8.4600	.02000	.00894

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
pH Biodentine	Se asumen varianzas iguales	1.116	.322	-122.930	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-122.930	6.994	.000

El pH del Biodentine aumenta significativamente ($p < 0.05$) después de 10 minutos.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
pH Biodentine	10 min	5	8.4600	.02000	.00894
	3 hrs	5	9.6680	.02490	.01114

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
pH Biodentine	Se asumen varianzas iguales	.041	.845	-84.577	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-84.577	7.644	.000

- El pH del Biodentine aumenta significativamente ($p < 0.05$) entre 10 minutos y 3 horas.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
pH Biodentine	3 hrs	5	9.6680	.02490	.01114
	24 hrs	5	10.6120	.02950	.01319

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
pH Biodentine	Se asumen varianzas iguales	.091	.770	-54.684	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-54.684	7.781	.000

- El pH del Biodentine aumenta significativamente ($p < 0.05$) entre 3 y 24 horas.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
pH Biodentine	24 hrs	5	10.6120	.02950	.01319
	72 hrs	5	10.8160	.00548	.00245

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
pH Biodentine	Se asumen varianzas iguales	3.874	.085	-15.205	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-15.205	4.276	.000

- El pH del Biodentine aumenta significativamente ($p < 0.05$) entre 24 y 72 hrs.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
pH Biodentine	72 hrs	5	10.8160	.00548	.00245
	168 hrs	5	11.4120	.02280	.01020

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
pH Biodentine	Se asumen varianzas iguales	6.113	.039	-56.826	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-56.826	4.460	.000

- El pH del Biodentine aumenta significativamente ($p < 0.05$) entre 72 y 168 hrs.

● **NeoMTA Plus**

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
NeoMTA Plus	Inmediato	5	7.7720	.06760	.03023
	10 min	5	8.7180	.05495	.02458

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NeoMTA Plus	Se asumen varianzas iguales	.002	.970	-24.280	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-24.280	7.680	.000

- El pH del NeoMTAPlus aumenta significativamente ($p < 0.05$) después de 10 minutos.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
NeoMTA Plus	10 min	5	8.7180	.05495	.02458
	3 hrs	5	9.8260	.05727	.02561

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NeoMTA Plus	Se asumen varianzas iguales	.004	.952	-31.214	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-31.214	7.986	.000

- El pH del NeoMTAPlus aumenta significativamente ($p < 0.05$) entre 10 min y 3 horas.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
NeoMTA Plus	3 hrs	5	9.8260	.05727	.02561
	24 hrs	5	10.7380	.01643	.00735

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NeoMTA Plus	Se asumen varianzas iguales	10.571	.012	-34.227	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-34.227	4.654	.000

- El pH del NeoMTAPlus aumenta significativamente ($p < 0.05$) entre 3 horas y 24 horas.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
NeoMTA Plus	24 hrs	5	10.7380	.01643	.00735
	72 hrs	5	11.5600	.01414	.00632

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NeoMTA Plus	Se asumen varianzas iguales	.218	.653	-84.783	8	.000
	No se asumen varianzas iguales			-84.783	7.826	.000

- El pH del NeoMTAPlus aumenta significativamente ($p < 0.05$) entre 24 y 72 hrs.

Estadísticas de grupo					
	LECTURA	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
NeoMTA Plus	72 hrs	5	11.5600	.01414	.00632
	168 hrs	5	11.4500	.09354	.04183

Prueba de muestras independientes						
		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias		
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)
NeoMTA Plus	Se asumen varianzas iguales	13.213	.007	2.600	8	.032
	No se asumen varianzas iguales			2.600	4.183	.057

- El pH del NeoMTAPlus disminuye significativamente ($p < 0.05$) entre 72 y 168 hrs.

10. DISCUSIÓN

El propósito del presente estudio fue comparar in vitro el potencial bioactivo de los cementos NeoMTA Plus y Biodentine, mediante la evaluación de su acción alcalinizante y su capacidad de formación de apatita superficial.

Según el análisis con ICP (Espectrómetro de Plasma Inducido), ambos materiales cuentan con una composición elemental similar, resaltando que Biodentine posee mayor cantidad de partículas por millón (ppm) de Calcio (Ca) en un mismo volumen de muestra que NeoMTA Plus, además de la presencia de Zirconio (Zn) y Tantalio (Ta) como agentes radiopacidores respectivamente.

Cuando se sumergen en fluidos, los cementos de silicato de calcio liberan rápidamente iones de calcio y crean un pH alcalino, lo que conduce a la enucleación y cristalización de hidroxiapatita en la superficie del cemento.

Ambos materiales presentaron actividad alcalinizante a partir de los 10 minutos de inmersión en el medio, NeoMTA Plus alcanzó su punto más alto en menor tiempo que Biodentine, sin embargo a partir de ese momento (72hrs) NeoMTA Plus empezó a disminuir significativamente su actividad, mientras que Biodentine aumentó su pH de manera gradual manteniéndose estable hasta las 168 horas.

Siboni y cols.⁽²⁸⁾ en el 2017 evaluaron las propiedades de NeoMTA Plus comparado con MTA Plus (Prevest, India), donde ambos materiales indujeron la actividad alcalinizante sin diferencias significativas detectadas durante las primeras horas de inmersión (pH >11), con estabilidad a los 3 días; sin embargo MTA Plus fue asociado con una disminución mas pronta en su alcalinización. Gandolfi y cols.⁽³²⁾ en el 2014 compararon a su vez el MTA Plus con ProRoot MTA con monitoreos hasta los 28 días, a los que ProRoot MTA se neutralizó (pH 7.1) mientras que MTA Plus aún reflejaba valores alcalinos (8.7).

Alta alcalinidad en periodos prolongados de tiempo están asociados con la actividad antimicrobiana de los cementos a base de silicato de calcio, esto debido al hidróxido de calcio producido por los iones hidroxilo disociados de las moléculas de agua en contacto con los iones de calcio de los cementos ⁽³²⁾. El incremento del pH del medio después de 10 minutos indica la reacción e hidratación.

Valores de pH alcalinos aceleran la enucleación y cristalización de apatita, porque la solubilidad de la apatita disminuye y se mantienen los iones hidróxido que estimulan la liberación de fosfatasa alcalina y la proteína morfogénica ósea 2, que participan en el proceso de mineralización ⁽³³⁾.

Al ser inmersos en fluidos corporales, el calcio y los iones hidróxido de los materiales se combina con el fosfato de los fluidos circundantes, causando la precipitación de una capa superficial de fosfatos de calcio ⁽³²⁾.

El análisis SEM-EDX mostró diferentes morfologías de superficie dependiendo del tiempo de inmersión. En el presente estudio, Biodentine desarrolló una capa rica en calcio fosfato que contiene iones de carbonato a la hora de inmersión en solución fisiológica simulada.

Después de 1 día de almacenamiento en PBS, la superficie externa de NeoMTA Plus era más amorfa e irregular que la de Biodentine, con muchos depósitos visibles compuestos de agregados de nanoesferulitas de apatita con estructuras alargadas ocasionales. Muchas esferulitas (0.1-0.8 micras) precipitadas en la superficie del cemento formaron grupos de cuerpos esferoidales distribuidos aleatoriamente sobre la superficie del cemento.

EDX y los microanálisis puntuales mostraron picos de Ca y P, sugiriendo la presencia de depósitos de fosfato de calcio. La ausencia de otros elementos en la superficie sugiere su acumulación principalmente de silicatos de calcio en su fase subsuperficial.

Después de 7 días en PBS, los depósitos de apatita formaron una capa distribuida uniformemente en toda la superficie. Los depósitos parecían estar compuestos de agregados de esferulitas, cuyo microanálisis puntuales y el análisis elemental mostraron Ca y P.

La relación Ca / P del análisis elemental de EDX puntual disminuyó durante el tiempo de remojo (Ca / P 83.59 [%] después de 1 día y 6.03 [%] después de 7 días para Biodentine, y 16 [%] después de 24 horas y 9.61 [%] después de 7 días) indicando la maduración de una fase de apatita carbonatada, donde los iones carbonato reemplazan a los iones fosfato en la estructura de apatita (el ion carbonato puede sustituir tanto al OH de la apatita como al ion fosfato). La relación Ca/P es significativamente mayor en Biodentine a la hora que NeoMTAPlus ($p < 0.05$). y significativamente mayor en NeoMTAPlus a las 48 horas que en Biodentine ($p < 0.05$). Sin embargo, no hay diferencia significativa entre las relaciones Ca/P de ambos materiales inmediatamente, a las 24 horas y 168 horas. ($p > 0.05$).

Sawson ⁽³⁴⁾ en el 2017 comparó la bioactividad de NeoMTA Plus con MTA Angelus, donde después de 7 días de incubación en PBS, precipitados de calcio cubrieron los cristales de la superficie de ambos materiales, sin embargo, a pesar de que las partículas de MTA Angelus fueron de mayor diámetro y de una estructura más uniforme, Neo MTA Plus reflejó una proporción Ca/P más favorable. Sin embargo, ambos presentaron relación des de Ca/P altas, lo cual además de la formación de precipitados de hidroxiapatita se formó carbonato de calcio. La presencia de estos precipitados indica que ambos materiales son bioactivos.

Entre las pruebas de las propiedades de NeoMTA Plus realizadas por Siboni y cols.⁽²⁸⁾ en el 2017, evaluaron la capacidad de formación de apatita, sumergiendo en solución balanceada de Hank (HBSS) muestras de dicho cemento en comparación con MTA Plus, donde ambos materiales mostraron una capa similar de agregados de esferulitas a los 7 días de inmersión, sin embargo la relación Ca/P fue mayor en NeoMTA Plus que en MTA Plus, en el que el depósito formado fue compuesto principalmente por calcita y apatita, mientras que sólo fue encontrada calcita en NeoMTA Plus, debido a la

formación de hidróxido de calcio durante el almacenamiento, el cual forma carbonato de calcio al exponerse al aire ⁽⁵⁾.

Los cementos demostraron ser agentes remineralizante y reservorios capaces de promover la deposición de apatita, la cual puede mejorar la capacidad de sellado en la interfase dentina-cemento, así como de las porosidades marginales alrededor de las restauraciones y contribuir a la bioremineralización de la dentina circundante⁽³⁵⁾. Además, la formación de apatita en la superficie externa puede contribuir a la expansión del cemento y mantener un sellado estable cuando se coloca en retropreparaciones apicales, promoviendo el crecimiento de osteoblastos.

Durante los procedimientos quirúrgicos, la sangre y el suero pueden contaminar rápidamente la superficie externa del cemento inmediatamente después de su colocación dentro del órgano dentario. Por lo tanto, se puede suponer que la formación de apatita puede ocurrir en presencia de tales fluidos in vivo ⁽³⁶⁾. El flujo continuo de sangre y fluidos biológicos en el sitio quirúrgico proporciona constantemente nuevo fosfato y puede aumentar la cantidad de apatita formada en la superficie del cemento ⁽³²⁾.

11. CONCLUSIONES

Este estudio in vitro pretende estudiar las propiedades bioactivas de dos materiales a base de silicato de calcio, demostrando que ambos cementos poseen una alta bioactividad; y que la morfología de la superficie y la composición química se modifican rápidamente por inmersión en solución buffer fosfato.

El hallazgo significativo de este estudio es que la formación de apatita (revelada por la formación de depósitos de esferulitas de fosfatos de calcio tipo apatita) se inicia después de 1 hora de inmersión en una solución que contiene fosfato, en el caso de Biodentine; y un espesor uniforme de la capa de apatita se forma a los 7 días en ambos cementos.

Biodentine (Septodont®) demostró evidencias tempranas de potencial de formación de apatita y una capacidad de incrementar el pH local por mayor tiempo que NeoMTA Plus (Avalon Biomed®), por lo que se rechaza la hipótesis nula.

Sin embargo, basándonos en la relación Ca/P obtenida, ambos materiales demostraron un nivel de maduración química sin diferencias significativas a la semana de inmersión, así como una actividad alcalinizante a la que pueden atribuírsele propiedades antimicrobianas, por lo que Biodentine y NeoMTA Plus son excelentes alternativas para su uso en tratamientos endodónticos, proporcionando una ventaja clínica significativa sobre los cementos tradicionales.

Se recomienda la realización de pruebas de liberación de calcio, caracterización y biocompatibilidad, entre otros estudios experimentales, para poder formar un perfil completo de cada material y así poder tomar decisiones clínicas con base a los resultados.

12. AGRADECIMIENTOS

Quiero dedicar este trabajo de tesis a mi familia.

Agradezco a la Dra. Ana Gabriela Carrillo Vázquez, coordinadora de la Especialidad en Endodoncia y Co-directora de tesis, por creer en mí y brindarme la oportunidad de crecer como profesional y como persona.

Un especial agradecimiento al Dr. Miguel Angel Cadena Alcántar, mi Director de Tesis, por su apoyo, orientación y disposición para la realización de este trabajo.

A mi Co-Directora de tesis y madrina de generación, la Dra. Eustolia Rodríguez Velázquez, por su esfuerzo, paciencia, dedicación y motivación a dar siempre lo mejor.

Al C.D.E.E Luis Hernán Carrillo Vázquez, por todo su apoyo, confianza y sobretodo por su amistad.

Al Dr. Sergio Pérez Sicaños y al Instituto Tecnológico de Tijuana por su asesoría y disposición en los experimentos.

A las Dras. María de los Ángeles Hofmann Salcedo y Ana María Ley por su apoyo y motivación para entrar al posgrado.

También quiero agradecer a todos los docentes que han participado en mi formación, tanto a mis maestros de licenciatura como de posgrado.

A CONACYT por la beca otorgada.

A Lore y Paola, por haberme brindado el valor para emprender éste proyecto y por sus muestras de aliento durante el mismo.

Finalmente quiero agradecer a mis compañeros de posgrado, quienes se convirtieron en mi motor para seguir adelante.

13. REFERENCIAS

1. Soares IJ, Goldberg F, González M. Endodoncia : técnica y fundamentos: Buenos Aires, Argentina : Médica Panamericana; (2012)
2. Canalda Sahli C, Brau Agudé E. Endodoncia : técnicas clínicas y bases científicas: Barcelona , España : Masson; (2014).
3. Bergenholtz G, Horsted-Bindslev P. Endodoncia, Göteborg, Sweden, Manual Moderno, (2011).
4. Cohen S, Burns RC. Endodoncia: los caminos de la pulpa: México, D. F. : Médica Panamericana; (1994).
5. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. Journal of Endodontics. 1999;25(3):197-205.
6. García-Garduño, La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, vol. 9, núm. 2, diciembre, 2006, pp. 90-95
7. Leonardo MR. Endodoncia : tratamiento de conductos radiculares : principios técnicos y biológicos: São Paulo : Artes Médicas; 2005.
8. Sáenz ramírez, A. (2004). Biomateriales. Tecnología en Marcha, 17(1), 34-43.
9. J.B. Park, S. Lakes. Biomaterials: An introduction, 3ra Ed. Springer. New York (2007).
10. D.F. Williams. Definitions in biomaterials. In: Progress in Biomedical Engineering (Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials). Amsterdam: Elsevier. v. 4, (1987)

11. P.V. Giannoudis, H. Dinopoulos, E. Tsiridis. *Injury* 36 (2005) S20-S27.
12. M. Vallet-Regí. "Introduction to the world of biomaterials", *Ann Quim Int Ed*, v. 93, (1997) p. S6 – S14.
13. S.F. Hulbert, J.C. Bokros, L.L. Hench, J. Wilson, G. Heimke. In: *Ceramics in Clinical Applications*. Ed.: P. Vincenzini. Amsterdam: Elsevier, (1987) p. 3.
14. G.A. Zarb, T. Albrektsson. *J Periodont Rest Dent* 11 (1991) 88-91.
15. Lee et al.. (2006). Ceramic bioactivity: progresses, challenges and perspectives. *Biomedical Materials*, 1(2), R31-R37.
16. Kitsugi T, Yamamuro T and Kokubo T 1990 *J. Biomed. Mater. Res.* 24 259
17. 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.
18. 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.
19. Pariookh, M & Torabinejad, M. (2010). Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. *Journal of Endodontics*, 36(1), 16-27.
20. Marciano, .M.A, Hungaro duarte, M.A & Camilleri, J. (2016). Calcium silicate-based sealers: Assessment of physicochemical properties, porosity and hydration. *Dental materials*, 32(2), e30-e40.
21. Miñana Gómez M. El Agregado de Trióxido Mineral (MTA) en Endodoncia. *RCOE*. 2002;7:283-9.

22. Vimi G, Kumar S, Clinical and radiographic evaluation of indirect pulp treatment with MTA and calcium hydroxide in primary teeth (in-vivo study). *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* (2015) Apr-Jun;33 (2):104-10
23. Encinas FS, Pérez-Bryan RB, Rodríguez MD. Diferentes tipos de MTA como materiales de obturación a retro. *ENDODONCIA.* 2010;28(3):153-66.
24. Cedrés, C, Laborde , J.C & Giani, A. (2014). A new biocompatible alternative: BIO-DENTINE. *Actas Odontológicas* , 11(1), 11-16.
25. Hassan Garip et al. Effect of the angle of apical resection on apical leakage, measured with a computerized fluid filtration device. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, 2011; Vol 111, Issue 3, e50-e55.
26. Ilson José Soares, Fernando Goldberg. *Endodoncia: técnica y fundamentos.* Editorial medica Panamericana 2002, pág. XVIII.
27. Tanomaru-filho, M & Faria, G. (2017). Biocompatibility and mineralized nodule formation of Neo MTA Plus and an experimental tricalcium silicate cement containing tantalum oxide. *International Endodontic Journal*, 50(2), e31-e39.
28. Siboni F, Taddei P, Properties of NeoMTA Plus and MTA Plus cements for endodontics, Laboratory of Biomaterials and Oral Pathology, Dental School, *International Endodontic Journal*, 50, e83–e94, 2017
29. Barrios A et al.. (2005). Estudio Comparativo De La Bioactividad De Diferentes Materiales Cerámicos Sumergidos En Fluido Simulado Del Cuerpo. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* , 25(1), 23-30.
30. Shen et al.. (2015). What do different tests tell about the mechanical and biological properties of bioceramic materials?. *Endodontic Topics*, 32(1), 47-85.
31. Yamamoto, S. Han, L, Evaluation of the Ca ion release, pH and surface apatite formation of a prototype tricalcium silicate cement, *International Endodontic Journal*, 50, e73–e82, (2017).

32. Gandolfi, M. Et al. (2010) Apatite-forming ability (bioactivity) of ProRoot MTA. International Endodontic Journal, 43, 917–929, 2010
33. Gandolfi, M. Et al. (2014) Ion Release, Porosity, Solubility, and Bioactivity of MTA Plus, MTA Plus Tricalcium Silicate Properties, (J Endod 2014;:-:1–6)
34. Sawsan, T. Chemistry and Bioactivity of NeoMTA Plus™ versus MTA Angelus® Root Repair Materials, Hindawi, Journal of Spectroscopy, Volume 2017, Article ID 8736428, (1-9)
35. Weller RN (2007) Calcium- phosphate phase transformation produced by the interaction of the Portland cement component of white mineral trioxide aggregate with a phosphate-containing fluid. Journal of Endodontics 33, 1347–51.
36. Holland R, (2007) Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and periapical tissue response in dogs' teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. Journal of Endodontics 33, 693–7.