

**UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
Programa Macro de Investigación**

SEMINARIO DE GRADUACIÓN

“Análisis ex vivo de los procesos de biomineralización y adhesión del MTA

FLOW®”

Directora del Proyecto:

Dra. Marianela Benavides García

Profesores Asociados:

Dr. Erick Hernández Meza

Dra. Jessie Reyes Carmona

Sustentantes del Seminario de Graduación

<i>Nombre</i>	<i>Carné</i>
Olman Andrés Chaves Paniagua	B01791
Guillermo Hernández Solís	A83041
Fabiana Iveth López Jiménez	B13723
Mauren Rojas Villarreal	B15798
Maria Fernanda Vargas Sáenz	B16963

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio Brenes, Costa Rica

San José, Costa Rica

2017



HOJA DE APROBACIÓN

MEMORIA

SEMINARIO DE GRADUACIÓN

Nombre del Proyecto: Análisis ex vivo de los procesos de biomineralización y adhesión del MTA FLOW®.

Sustentantes

Fecha: 08/12/2017

Nombre

Carné

Firmas

▪ Olman Andrés Chaves Paniagua	B01791	<u>Olman Andrés</u>
▪ Guillermo Hernández Solís	A83041	<u>Guillermo</u>
▪ Fabiana Iveth López Jiménez	B13723	<u>Fabiana</u>
▪ Mauren Rojas Villarreal	B15798	<u>Mauren</u>
▪ Maria Fernanda Vargas Sáenz	B16963	<u>Maria Fernanda</u>

Miembros del Tribunal

Nombre:

Firma:

<u>Mariangela Benavides García</u>	<u>[Firma]</u>
<u>[Firma]</u>	<u>[Firma]</u>
<u>David [Firma]</u>	<u>[Firma]</u>
<u>[Firma]</u>	<u>[Firma]</u>
<u>Carlos F. Filloz</u>	<u>[Firma]</u>

HOJA DE AUTORIZACIÓN

Vicerrectoría de Investigación
Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información (SIBDI)
Autorización para la digitalización, inclusión y publicación de trabajos finales de graduación (TFG) en el acervo digital del Sistema de Bibliotecas, Documentación e Información de la Universidad de Costa Rica (SIBDI-UCR).

Los abajo firmantes, en su condición de autores del TFG:

« Análisis *ex vivo* de los procesos de biomineralización y adhesión del MTA FLOW® »

AUTORIZAMOS de forma gratuita al SIBDI-UCR, a digitalizar e incluir dicho TFG en el acervo digital del SIBDI-UCR y a publicarlo a través de la página web u otro medio electrónico, para ser accesado según lo que el SIBDI defina para su consulta o divulgación. Dicho texto se publicará en formato PDF, o en el formato que en su momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre y gratuito, permitiendo su consulta e impresión, pero no su modificación. Los autores del TFG, garantizan al SIBDI-UCR que la tesis es el trabajo original que sirvió para la obtención de su Título, que no infringe ni violenta ningún derecho de terceros.

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____ Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____ Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____ Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____ Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____ Fecha: _____

Lic., Licda. _____ # cédula _____

Domicilio: _____

Firma _____ Fecha: _____

Para uso interno. Número de tesis: _____

DEDICATORIA

Queremos dedicar nuestro trabajo en primer lugar a Dios, por la oportunidad de llegar hasta aquí, por guiar el camino de cada uno de nosotros y cuidarnos siempre.

A nuestros padres y familia, por ser el apoyo incondicional que cada uno necesitó; por el amor, el apoyo y las fuerzas que nos dan en todo momento; por la oportunidad que nos dieron de luchar por nuestras metas y convertirnos en profesionales.

A nuestros profesores, por la dedicación y la paciencia, por las ganas de enseñarnos. De todos aprendimos mucho; gracias por formarnos profesionalmente y ser ejemplos a seguir.

RECONOCIMIENTOS

A la Dra. Marianella Benavides, por introducirnos a este proyecto, por ofrecernos su apoyo y ayuda en la realización del mismo.

Al Dr. Erick Hernández, por mostrar siempre disponibilidad para brindar su tiempo y conocimiento en el desarrollo de nuestro proyecto final de graduación.

Por último, pero no menos importante, queremos dar un agradecimiento especial a la Dra. Jessie Reyes Carmona por su gran compromiso, tiempo, dedicación y conocimiento brindado en la parte de investigación del proyecto.

HOJA DE REVISIÓN POR EL FILÓLOGO

12 de noviembre del 2017

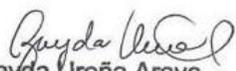
Señores
Tribunal Examinador
Facultad de Odontología
Universidad de Costa Rica
SD

Estimados señores:

He revisado y corregido en todos los aspectos filológicos: la redacción, construcción de párrafos, ortografía, puntuación, morfología, sintaxis, los vicios del lenguaje que se trasladan a lo escrito y otros temas relacionados con el campo filológico, del trabajo final del Seminario de Graduación denominado *Análisis ex vivo de los procesos de biomineralización y adhesión del MTA FLOW®*, presentado por los estudiantes **Olman Andrés Chaves Paniagua**, carné B01791, **Guillermo Hernández Solís**, carné A83041, **Fabiana Iveth López Jiménez**, carné B13723, **Mauren Rojas Villarreal**, carné B15798 y **María Fernanda Vargas Sáenz**, carné B16963, para optar por el grado académico de Licenciatura en Odontología.

Con las correcciones realizadas en este trabajo de investigación, este es un documento con valor filológico, y cumple con los requisitos necesarios para ser presentado y defendido como trabajo final de graduación, ante las autoridades universitarias correspondientes.

Atentamente,


Zayda Ureña Araya
Filóloga

ÍNDICE GENERAL

HOJA DE APROBACIÓN.....	ii
HOJA DE AUTORIZACIÓN	iii
DEDICATORIA.....	iv
RECONOCIMIENTOS	v
HOJA DE REVISIÓN POR EL FILÓLOGO	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ABREVIATURAS	xii
RESUMEN.....	xiii
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Justificación	2
1.2 Planteamiento del problema.....	3
1.3 Pregunta de investigación	4
1.4 Antecedentes.....	5
1.5 Objetivos.....	22
1.5.1 Objetivo general.....	22
1.5.2 Objetivos específicos.....	22
CAPÍTULO II MÉTODOS.....	23
2.1 Materiales y métodos	24
2.1.1 Análisis del proceso de biomineralización.	27
2.1.2 Evaluación de la fuerza de adhesión-Resistencia al desplazamiento (<i>Push-out</i>).....	28
2.1.3 Evaluación de la interface cemento/dentina.....	30
CAPÍTULO III DESARROLLO.....	31
3.1 Resultados	32
3.1.1 Análisis del proceso de biomineralización	32
3.1.2 Evaluación de la fuerza de adhesión-Resistencia al desplazamiento (<i>Push-out</i>).....	40
3.1.3 Evaluación de la interface cemento/dentina.....	41
3.2 Discusión de resultados.....	50
CAPÍTULO IV CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	60
4.1 Conclusiones.....	61
CAPÍTULO V PARTE FINAL.....	62

5.1 Cronograma	63
Referencias bibliográficas	65
Anexos	69

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de media, valores mínimo y máximo, desvío-padrón de la prueba estadística.....	32
Tabla 2. Valores totales de la liberación de ion calcio.	35
Tabla 3. Valores Medios de fuerza de adhesión (MPa) y desviación estándar (SD) para todos los grupos.	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. A. Medición de la pieza dental. B. Discos de dentina obtenidos a partir de un corte transversal en la máquina de corte de alta precisión. C. Discos de dentina estandarizados en 2mm de grosor con cavidades de 1.5 mm de diámetro.	25
Figura 2. Fotos representativas de los cementos utilizados. A. MTA Angelus. B. Biodentine. C. MTA FLOW.	26
Figura 3. Fotos representativas durante la obturación de las muestras con los diversos cementos (Biodentine).....	26
Figura 4. Prueba de Resistencia al desplazamiento–Push-out en la máquina Universal de Ensayos.	29
Figura 5. Valores medios de la cantidad (gr) de precipitados formados por los cementos	33
Figura 6. Valores medios de pH de las soluciones en contacto con los cementos en los diferentes periodos experimentales.....	33
Figura 7. A y B. Áreas con precipitados más compactos y con áreas con franca mineralización (flechas).....	36
Figura 8. Precipitados esféricos con prolongaciones aciculares.	37
Figura 9. A. Fotomicrografía en MEB de los precipitados aciculares analizados por EDAX. B. Espectro de EDAX mostrando la presencia de calcio y fósforo en una proporción Ca/P de 1,58. Tabla con la concentración molecular de los elementos proporcionado por EDAX-SEM.	38
Figura 10. A. Fotomicrografía en MEB de los precipitados compactos analizados por EDAX. B. Espectro de EDAX mostrando la presencia de calcio y fósforo en una proporción Ca/P de 1,84. Tabla con la concentración molecular de los elementos proporcionado por EDAX-SEM.	39
Figura 11. Gráfico demostrando los valores medios (MPa) de los grupos a 72 h y posterior al Modelo Ex Vivo.....	41
Figura 12. Microfotografías representativas del Grupo 1–MTA Angelus.....	42
Figura 13. Microfotografías representativas del Grupo 2–Biodentine.....	43
Figura 14. Microfotografías representativas de las muestras obturadas con el MTA Flow®	44
Figura 15. Microfotografía representativa de las muestras obturadas con el MTA Angelus –Grupo 1.....	46
Figura 16. Microfotografía representativa de las muestras obturadas con Biodentine– Grupo 2.	47
Figura 17. Microfotografías representativas de las muestras obturadas con MTA FLOW® –Grupo 3 en A y Grupo 4 en B.....	48
Figura 18. Microfotografías representativas de las muestras obturadas con MTA FLOW® –Grupo 5.....	49
Figura 19. Discos de dentina obturados y almacenados de forma individual en PBS.....	69

Figura 20. Incubadora a una temperatura de 37 °C, y las muestras colocadas dentro de la misma.....	69
Figura 21. Formación de precipitados sobre discos de dentina obturados, e inmersos en PBS.....	70
Figura 22. pH Pen, PH-50 EXTECH, EE.UU.....	70

ABREVIATURAS

Ca.....	Calcio
CaO.....	Óxido de calcio
Ca(OH) ₂	Hidróxido de calcio
Ca/P.....	Calcio/Fosfato
CO ₃	Trióxido de carbono
COX-2.....	Ciclooxigenasa-2
EDTA.....	Ácido etilendiamínico tetraacético
IL-1 β	Interleuquina-1 β
i-NOS.....	Óxido nítrico sintetasa inducible
kgf.....	Kilopondio
MEB.....	Microscopía electrónica de barrido
MPa.....	Megapascal
MPO.....	Mieloperoxidasa
MTA.....	Mineral de trióxido agregado
N.....	Newton
NF- κ B.....	Factor nuclear kappa B
PBS.....	Tampón fosfato salino
PGs.....	Prostaglandinas
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
TNF- α	Factor de necrosis tumoral- α
VEGF.....	Factor de crecimiento endotelial vascular

RESUMEN

Objetivo general

Evaluar en un modelo *ex vivo* el proceso de biomineralización y prueba de adhesión *Push-out* del MTA FLOW®.

Materiales y métodos

Se utilizaron 76 dientes unirradiculares humanos; de los mismos se obtuvieron 2 discos de dentina de 2 mm de espesor del tercio medio radicular, los cuales se obtuvieron realizando cortes transversales con un disco de diamante SBT (Baytechnology sur, San Clemente, CA, Estados Unidos). Se amplió el canal con una Gates Glidden #6, dando una cavidad estandarizada en 1.5 mm de diámetro. Se colocaron en EDTA 17% por 3 minutos, posterior en NaOCl al 1% durante 3 minutos y por último en agua destilada por 1 minuto.

Se dividieron los discos de dentina aleatoriamente en 5 grupos (n=30) y se obturaron con diferentes cementos, como se describe a continuación:

- **Grupo 1:** MTA Angelus (Angelus Dental, Brasil).
- **Grupo 2:** Biodentine (Septodont, Francia).
- **Grupo 3:** MTA Flow® Consistencia Putty (Masilla) (Ultradent, EE.UU)
- **Grupo 4:** MTA Flow® Consistencia Thick (Gruesa) (Ultradent, EE.UU)
- **Grupo 5:** MTA Flow® Consistencia Thin (Ligera) (Ultradent, EE.UU)

Posteriormente, las muestras de todos los grupos fueron subdivididos en 3, de acuerdo con la evaluación a seguir:

- **Subgrupo 1 (n=5):** Análisis del proceso de biomineralización.
- **Subgrupo 2 (n=20):** Evaluación de la fuerza de adhesión-Resistencia al desplazamiento (*Push-out*).
- **Subgrupo 3 (n=5):** Evaluación de la interface cemento/dentina.

Resultados

Análisis del proceso de biomineralización

Fue posible observar que las muestras obturadas con Biodentine–G2 promovieron una mayor precipitación (véase la figura 5). Sin embargo, no hubo diferencia estadística significativa al compararse con la cantidad de precipitados formados por G1, G3, G4 ($p= 0.0536$). No obstante, sí hubo diferencia estadística significativa entre el G2 vs. G5 ($P < 0.05$).

Las muestras del Grupo 2-Biodentine presentaron el pH más alto (véase la figura 6) en todos los intervalos; el MTA Flow® mostró un comportamiento muy similar en todo el período de observación. El pH de la solución en contacto con el disco de dentina permaneció en 7,2 durante todo el período experimental.

El análisis de la liberación de ion calcio determinó que fue el Grupo 2–Biodentine el que liberó mayor cantidad de ion calcio (véase la tabla 2).

Evaluación de la fuerza de adhesión-resistencia al desplazamiento (Push-out)

Al hacer el ensayo de la resistencia al desplazamiento (véase la tabla 3) 72 horas post-obturación, se encontró una diferencia significativa entre el G2 y G5 ($p=0.0090$); al realizar la misma prueba post inmersión en PBS por 15 días se observó diferencia significativa al comparar G1, G2, G3, G4 vs. G5 ($p=0.0147$).

Evaluación de la interface cemento/dentina

En todos los grupos fue posible observar la formación de la capa intermediaria de apatita carbonatada de forma parcial. De forma general se observaron zonas de biomineralización en la interface; sin embargo, no fueron continuas.

Conclusiones

1. El MTA Flow® tiene la capacidad de biomineralizar, al igual que el MTA Angelus y el Biodentine variando en mayor y menor grado, de acuerdo con las distintas consistencias del material.
2. El MTA Flow® en sus consistencias Putty (masilla) y Thick (gruesa) no mostró diferencias significativas en cuanto a la fuerza de resistencia al desplazamiento, comparado con el MTA Angelus y el Biodentine. Sin embargo, se obtuvo una menor fuerza al desplazamiento en el grupo de MTA Flow®Thin (ligera).
3. El MTA Flow® en sus consistencias Putty (masilla) y Thick (gruesa) muestra una buena adaptación a la dentina, similar a la observada con el MTA Angelus, aunque el grosor de la interface fue menor, comparada con el Biodentine, y el MTA Flow® en su consistencia Thin (ligera). A pesar de presentar una buena infiltración tubular, se observan brechas y un selle periférico defectuoso.

CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN

1.1 Justificación

Los materiales de relleno del conducto radicular son necesarios cuando la pulpa ya no ocupa el espacio del conducto radicular. Las principales funciones de los cementos endodónticos son: (i) el selle de espacios vacíos, los canales accesorios y forámenes múltiples, (ii) la formación de un enlace entre el núcleo del material de relleno y la pared del conducto radicular, y (iii) actuar como lubricante mientras facilita la colocación del relleno y a la vez encapsula cualquier bacteria remanente (1).

En 1993, el Dr. Mahmoud Torabinejad y colaboradores presentan un material biocompatible y bioactivo, al que llaman MTA (Mineral Trióxido Agregado). El mismo es utilizado como material de recubrimiento pulpar, relleno temporal, reparación de perforaciones en raíces o furcas, así como apexificaciones. A pesar del alto índice de éxito clínico, el MTA presentó algunos inconvenientes, entre ellos un tiempo de fraguado extenso y difícil manipulación. En el año 2011 se desarrolló un nuevo material en la Universidad del Mediterráneo (Marsella, Francia) conocido como Biodentine, el cual se trata de un cemento bioactivo y biocerámico, que se formula utilizando métodos basados en la tecnología del MTA y presenta mejoras en cuanto a cualidades físicas y de manipulación (2).

Conforme se ha evolucionado en la formación de nuevas técnicas para la formulación de materiales bioactivos, se han introducido al mercado nuevos materiales, entre ellos el MTA Flow®. Este cemento se conoce como el primer

MTA biocerámico, y está diseñado para mezclarse rápida, suave y fácilmente en diferentes consistencias de acuerdo con su uso. Además, puede dispensarse en jeringas con puntas especiales, garantizando una colocación más precisa y sencilla.

Una de las principales diferencias del MTA Flow® con respecto a otros materiales de su tipo es que se comercializa como un material capaz de presentarse en tres distintas consistencias, de acuerdo con usos específicos; por esta razón resulta relevante, además de determinar su capacidad de biomineralización, la fuerza de adhesión y adaptación marginal en la interface dentina-material, la posibilidad de presentar variaciones según su consistencia, en comparación con materiales ampliamente estudiados, como el MTA Angelus y Biodentine.

1.2 Planteamiento del problema

Los cementos para endodoncia son de gran importancia; estos se encargan de rellenar el espacio del conducto radicular para evitar el crecimiento y colonización bacteriana dentro del mismo (1). La mayoría de los cementos endodónticos tradicionales son biocompatibles; es decir, no interaccionan biológicamente con el organismo y solo ocupan el espacio (3). Por otro lado, materiales tales como MTA y Biodentine, además de presentar propiedades biocompatibles, presentan la capacidad de promover el desarrollo de apatita carbonatada, lo que los hace bioactivos (4). El auge que alcanzaron estos

cementos, por su capacidad de promover la biomineralización, llevó a la creación del MTA Flow® (Ultradent, EE.UU), uno de los cementos bioactivos más recientes. Sus fabricantes lo comercializan atractivamente por presentar tres diferentes consistencias, con el objetivo de cubrir distintos procedimientos que contactan con la pulpa y los tejidos perirradiculares (5). Para lograr cada una de las tres consistencias, se cambian las proporciones de polvo y gel de base acuosa. Por lo tanto, nace la inquietud si al cambiar esta relación polvo-gel, se afectan las características físico-químicas del material y de alguna manera se compromete el éxito del tratamiento.

El MTA Flow® sugiere un fácil uso y bioactividad adecuada. Sin embargo, al tratarse de un material muy reciente, existe poca información al respecto, por lo que surge la necesidad de realizar diferentes análisis para probar cualidades tales como: capacidad de biomineralización, fuerza de adhesión a dentina y adaptación marginal en la interface dentina-cemento. Por lo anteriormente mencionado se plantea la siguiente pregunta de investigación:

1.3 Pregunta de investigación

¿El cambio en la consistencia del MTA Flow®, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, altera su capacidad de biomineralización, adhesión y adaptación marginal a la dentina?

1.4 Antecedentes

La remoción del tejido pulpar del canal radicular es necesario cuando su vitalidad se ha perdido debido a trauma, caries dental, daños iatrogénicos durante procedimientos dentales, o el desgaste excesivo del diente. Rellenar u obturar con un selle hermético el conducto radicular es necesario cuando la pulpa dental ha sido eliminada; de otra manera, el espacio vacío sería colonizado por bacterias, llevando a la reinfección y fracaso del tratamiento (6).

Los materiales de relleno del conducto radicular son necesarios cuando la pulpa ya no llena el espacio del conducto radicular. Las principales funciones de los cementos endodónticos son: (i) el selle de vacíos, canales accesorios y forámenes múltiples, (ii) la formación de un enlace entre el núcleo del material de relleno y la pared del conducto radicular, y (iii) actuar como lubricante mientras facilita la colocación del relleno y a la vez encapsula cualquier bacteria remanente (1). Existen dos metodologías de tratamiento para el sellado del conducto radicular, cuya elección depende del desarrollo de la raíz. Estos incluyen procedimientos de apexificación para raíces inmaduras y obturación del conducto radicular para raíces completamente formadas (6).

Para cada uno de estos objetivos, se utilizan materiales específicos con características ideales en cada caso. Los materiales en odontología pueden ser clasificados como biocompatibles y bioactivos. La biocompatibilidad es la capacidad de un material externo de entrar en contacto con la estructura de organismo vivo (tejido u órgano) y ser aceptado dentro de ciertos límites

fisiológicos. No deben ser peligrosos para el organismo, ni contener sustancias tóxicas que puedan ser liberadas y absorbidas, no causar alergias, ni ser carcinógenos (7). Todos los materiales en odontología son considerados como biocompatibles.

La bioactividad, por su parte, describe el efecto beneficioso de un material al unirse a un tejido vivo. La capacidad del material de interactuar con la materia viva, y permitir la integración del biomaterial al medio ambiente, además estimula la formación de otro tejido. Cuando un material bioactivo es implantado, ocurren una serie de mecanismos bioquímicos y biofísicos en la interface con el tejido, resultando en la formación de una capa de apatita carbonatada. Entre los materiales bioactivos actuales, en odontología, se encuentran el MTA, el Ca(OH)_2 y el Biodentine (8), los cuales han sido ampliamente utilizados como materiales para promover tanto la dentinogénesis como la cementogénesis (9). Estos materiales presentan un pH de 12 (alcalino) (10).

El hidróxido de calcio (Ca(OH)_2) es un material en forma de polvo granular, fino con propiedades básicas, con pH de 12.4; se obtiene mediante la calcinación de carbonato de calcio, lo que forma óxido de calcio, el cual, al ser hidratado, da como resultado CaOH : $\text{CO}_3 \text{Ca} = \text{CaO} + \text{CO}_2$, $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} = \text{Ca (OH)}_2$. Aunque la referencia más antigua del mismo data de 1838 y la misma se le atribuye a Nygren, no es hasta en 1930 que el mismo se comienza a utilizar en la práctica odontológica como agente para pulpotomías, y es llamado “Calxyl” por BM Hermann (11).

Su éxito en endodoncia se debe a los múltiples beneficios que ofrece, entre ellos: acción higroscópica, mitogénica, inmunológica, antimicrobiana, elevación para el umbral del impulso nervioso y aumento del pH. Fue ampliamente utilizado en diferentes tratamientos dentales como la realización de curetaje pulpar, cemento obturador, tratamiento pulporadiciares, medicación intraconducto, luxaciones, avulsiones, fracturas radiculares, lesiones complicadas como perforaciones endodónticas, reabsorciones externas e internas y lesiones endoperiodontales (11).

Es la disociación de Ca(OH)_2 , en iones calcio e iones hidroxilo, lo que da propiedades beneficiosas en el campo de la odontología. Dentro de las principales propiedades del ion calcio se encuentran: (i) acción higroscópica al disminuir el extravasamiento de líquido de los capilares, lo que conlleva a una disminución de formación de exudado y de esta manera disminuir el dolor; (ii) acción mitogénica, lo cual fue demostrado en estudios donde las piezas dentales restauradas con este material presentaron mayor división celular; (iii) estimulación del sistema inmunitario y activación del sistema de complemento; (iv) elevación del umbral del dolor, mediante el cloruro de calcio, el cual, al ser colocado en la dentina recién cortada, es capaz de disminuir el impulso y la actividad nerviosa (11).

Dentro de las propiedades del ion hidroxilo se destacan: (i) acción antimicrobiana, que al presentar un pH elevado hace que se disminuya el crecimiento, metabolismo y división celular de las bacterias. Esto se debe a que las bacterias tienen un gradiente de pH, en el que su membrana citoplasmática es capaz de funcionar, con lo cual la bacteria recibe energía para el transporte de

nutrientes y componentes orgánicos hacia el interior. Los microorganismos trabajan en medios ácidos, y al contacto con $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se eleva el pH del medio, por lo cual se inhibe ese proceso. (ii) Efecto mineralizador: el mismo favorece la activación de enzimas que ayudan en el mecanismo de reparación apical y el proceso de mineralización. Entre estas enzimas encontramos la fosfatasa alcalina, adenosina trifosfatos y pirofosfatasa calcio-dependiente (11).

El MTA, por su parte, fue desarrollado en el año 1993 por Mahmoud Torabinejad, en la Universidad Loma Linda, California (EE.UU.). Inicialmente se confeccionó como un material de obturación apical en tratamientos endodónticos. Funciona como material bioactivo. Puede ser polvo gris, o blanco, de partículas finas hidrofílicas que fraguan en presencia de humedad. Los componentes del MTA son: silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, aluminoferrita tetracálcico, sulfato de calcio dihidratado y óxido de bismuto (como radiopacador). Está compuesto por cemento Portland (12). Cuando el MTA es colocado, el cambio dimensional es menor a 0.1% de expansión (13). Estudios recientes sugieren que el MTA tiene la capacidad de modular la reparación tisular y también la deposición de tejido duro, debido a su capacidad para promover la precipitación de apatita carbonatada. El MTA libera iones calcio, los cuales interactúan con el fosfato de la matriz dentinaria o el tejido tisular, produciendo una fase amorfa de fosfato triacálcico (9).

Estudios *in vivo* han demostrado con el uso de MTA la formación de precipitados de apatita aglomerados, denotando una mineralización más intensa (9). La interface MTA-dentina muestra un proceso intratubular de mineralización, a

tan solo 12h de su implantación. Estas estructuras crecieron en tamaño, volviéndose más compactas y densas a través del tiempo. Por el contrario, no se logra observar el mismo proceso de mineralización intratubular en la interface Ca(OH)_2 -dentina, sugiriendo que el Ca(OH)_2 promueve un menor y deficiente proceso de biomineralización con la dentina en comparación con el MTA (9).

Cordeiro et al. (9), en un estudio donde evaluaron la interacción del MTA con la dentina, observaron la formación de cristales semejantes a la apatita en las fibrillas de colágeno del tejido; además, según el aumento de tiempo de implantación la cristalización fue mayor y parecía que los precipitados crecían en tamaño. En una magnificación más alta, numerosas esferas amorfas de fosfato de calcio, a lo largo de la superficie de las fibrillas de colágeno, sugirieron la presencia de un soporte mineral dentro de las fibrillas de colágeno. Avanzado el tiempo de implantación, las fibrillas de colágeno en las regiones más altamente mineralizadas exhibieron la apariencia de una mazorca, lo cual es sugestivo de mineralización interfibrilar. Esta deposición mineral y maduración incrementó con el tiempo y, al día 7, una capa formada cubría completamente la superficie de los túbulos dentinarios (9).

El MTA y Ca(OH)_2 han demostrado la capacidad de inducir la formación de tejido mineralizado en diferentes sitios de la cavidad oral y tejido dental. Se sugiere que tanto el MTA como Ca(OH)_2 modulan la reparación de tejido dental, a través de su capacidad de movilizar componentes bio-activos de la matriz de dentina. Su interacción con dentina produce factor de crecimiento y movilización de otras moléculas bioactivas, lo cual consecuentemente estimula eventos

reparativos culminando en formación de tejido mineral. A pesar de la similitud entre ambos mecanismos de acción, se ha observado que el Ca(OH)_2 presenta una menor y más pequeña mineralización intratubular; lo anterior debido a que la pasta de Ca(OH)_2 presenta una mayor solubilidad, evitando que el material se mantenga en íntimo contacto con la dentina (9).

El proceso de mineralización intratubular observado por Cordeiro et al. (9), no estuvo delimitado a la interface biomaterial-dentina, sino que se observa a través de toda la superficie dentinaria. La biomineralización ocurre simultáneamente tanto en dentina como en tejido duro, promoviendo una capa de apatita que permite la integración del biomaterial dentro del ambiente (9).

Al inicio, con el MTA, se presentó una serie de preocupaciones, incluyendo elementos traza e inclusión de aluminio debido al cemento Portland, la estabilidad del óxido de bismuto, problemas con la manipulación y colocación del material, además de presentar un tiempo de fraguado largo, de aproximadamente 3 a 4 horas (6, 14). Estas últimas, principalmente, promovieron la necesidad de investigación para su mejora y fabricación de otros materiales de segunda generación, que abordaron la cuestión de los oligoelementos y el aluminio mediante el uso de cemento tricálcico puro de silicato en lugar de cemento Portland y fueron nombradas biocerámicas. Además, el óxido de bismuto se sustituye por radioopacadores alternativos y la manipulación es más fácil, ya que estos materiales contienen aditivos que mejoran las propiedades del material. Las biocerámicas se suministran en forma de masilla y pasta para las cirugías de raíz y reparación de perforaciones (6).

Los biocerámicos son materiales cerámicos diseñados específicamente para uso médico y dental. Incluyen alúmina, zirconia, vidrio bioactivo, cerámica de vidrio, hidroxiapatita y fosfatos de calcio (3). La formulación química de las biocerámicas no solo se trata de una fase de cemento y una de radiopacidad, sino también de fosfato de calcio monobásico, lo que proporciona iones de fosfato libres en solución para potenciar la biomineralización (6).

Esta nueva generación de materiales contiene aditivos tales como dióxido de silicio y un gran número contiene cloruro de calcio, que se utiliza para acelerar el tiempo de fraguado de los materiales; además, un polímero soluble en agua para mejorar el flujo del material, facilitando así su manipulación (6).

Los materiales biocerámicos se clasifican en bioactivos o bioinertes, esto en función de su interacción con el tejido vivo circundante. Materiales bioactivos, como el vidrio o el fosfato de calcio, interactúan con el tejido circundante para fomentar el crecimiento de tejidos más duraderos. Materiales bioinertes como la zirconia y la alumina producen una respuesta insignificante del tejido circundante, sin un efecto biológico o fisiológico (15). Los materiales bioactivos se clasifican, además, según su estabilidad como degradables y no degradables.

Existen dos ventajas principales asociadas al uso de materiales biocerámicos como cementos endodónticos, en primer lugar, donde su biocompatibilidad evita el rechazo de los tejidos circundantes (15) y en segundo lugar, los materiales biocerámicos que, al contener fosfato de calcio, mejoran las propiedades de fijación de las biocerámicas, resultando en una composición

química y una estructura cristalina similar a la apatita de los dientes y huesos, mejorando así la unión dentina-cemento-raíz (16). Sin embargo, una de las principales desventajas de estos materiales es la dificultad de retirarlos del conducto radicular para un posterior retratamiento (17).

Los materiales bioactivos deben presentar ciertas propiedades: fácil aplicación, estabilidad dimensional, no ser lavables, con un tiempo de trabajo adecuado, proporcionar un selle hermético, permitir colocar una restauración que genere tejido en el lugar donde se posiciona (7).

Los materiales biocerámicos bioactivos como el MTA, Biodentine y $\text{Ca}(\text{OH})_2$ han demostrado ser materiales capaces de inducir la formación de tejido mineralizado en diferentes sitios del tejido dental; es por esto que sus aplicaciones potenciales en odontología han aumentado. El resultado que muestra el tejido dental, a ambos materiales, se basa en el mecanismo de acción que involucra la liberación de calcio e iones hidroxilo. Este proceso de mineralización ocurre simultáneamente con la respuesta inflamatoria aguda (18).

El mecanismo de acción de estos materiales es el mismo entre ellos. El trióxido de calcio es uno de los componentes; este se convierte en óxido de calcio, el cual en un medio húmedo, se transforma en hidróxido de calcio, el cual se disocia en iones hidroxilo e iones calcio. Los iones calcio se convierten en bióxido de carbono en el tejido conectivo y después en cristales de carbonato de calcio (lo que conocemos como “calcita”). Estas estimulan la diferenciación de los fibroblastos en osteoblastos, odontoblastos y cementoblastos; los cuales son los

encargados de sintetizar y depositar colágeno, formando una matriz orgánica extracelular y la deposición de tejido duro (19).

Los biomateriales evocan varias vías de señalización para desencadenar la cascada inflamatoria. Citoquinas proinflamatorias, como la interleuquina-1 β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral- α (TNF- α), y prostaglandinas (PGs), son moléculas mensajeras involucradas en la iniciación del proceso inflamatorio, y esto a su vez contribuye a una secuencia de eventos de curación. Además, la mieloperoxidasa (MPO), un indicador leucocito polimorfonuclear, ha sido ampliamente utilizada como un marcador inflamatorio de condiciones tanto agudas como crónicas. La secreción de citoquinas ha sido asociada con la activación de factor nuclear kappa B (NF- κ B), que actúa como un coordinador central de respuestas inmunes innatas y adaptativas (18).

Existe poco consenso sobre si MTA y Ca(OH)₂ inducen inflamación, cicatrización o deposición de tejido duro. Los tipos y niveles de citoquinas alrededor de los biomateriales podrían inicialmente llevar a una reacción inflamatoria aguda y crónica, y luego iniciar una respuesta de reparación mientras se resuelve la inflamación (18). Reyes Carmona *et al.*, detectaron estos genes en los tejidos circundantes a tubos de dentina con MTA, Ca(OH)₂ o vacíos, implantados en espaldas de ratones (18), los cuales fueron clasificados por Brodbeck *et al.* como pro-inflamatorios (IL-1 β , VEGF y TNF- α), anti-inflamatorios (IL-10), pro-sanado (IL-1 β y VEGF) y anti-sanado (TNF- α y IL-10) (20).

IL-1 β tiene un efecto pro-inflamatorio y pro-sanado, activando las células inflamatorias (linfocitos y monocitos) y de sanado (fibroblastos). IL-10 actúa en el lado opuesto, regula negativamente la actividad de esas mismas células y suprime la producción adicional de citoquinas, llevando a un efecto anti-inflamatorio y anti-sanado. TNF- α es, por su parte, un gen pro-inflamatorio y anti-sanado, lo cual desencadena la cascada inflamatoria (18).

El MTA y el Ca(OH)₂ inducen una regulación de citoquinas pro-inflamatorias dependiente del tiempo. Durante la fase aguda de la respuesta inflamatoria se observa una sobreexpresión de IL-10, lo cual soporta la teoría de que estos biomateriales promueven un efecto antiinflamatorio. Se observan, en esta fase aguda, neutrófilos, los cuales tienen una esperanza de vida corta (horas o días) y desaparecen del tejido lesionado más rápidamente que los macrófagos, los cuales tienen esperanza de vida desde días hasta semanas o meses. Eventualmente los macrófagos se convierten en las células predominantes, resultando en una respuesta inflamatoria crónica (18).

Los neutrófilos son las células predominantes durante las primeras 24 horas. Entre los días 1 y 3, mayormente se presentan macrófagos y linfocitos. Es ampliamente aceptado que los macrófagos juegan un rol crítico en mediar la respuesta del huésped a los biomateriales. En los días 7 y 15, una leve infiltración celular inflamatoria crónica se observa en una cápsula fibrosa más delgada. En los días 30 y 60, el número de células inflamatorias disminuye, y la cápsula fibrosa es aún más delgada. Esto concluye que los macrófagos pueden ser las células

responsables de inducir la respuesta inflamatoria del huésped a través de la liberación de IL-10 y VEGF (18).

Estos datos muestran la transición esperada de fase aguda pro-inflamatoria, a un ambiente crónico anti-inflamatorio y pro-sanado (18).

MTA induce la activación de NF- κ B en el estado primario de inflamación; también se ha encontrado que induce la activación de muchos tipos de células en respuesta a un amplio rango de estímulo, que típicamente incluye secreción de citoquinas proinflamatorias. Es bien conocido que la activación de NF- κ B está implicada en la inducción de genes de expresión de COX-2 y iNOS. COX-2 ha sido conocido como la tasa de limitación de la enzima en la conversión de ácido araquidónico a prostaglandina en el estado inflamatorio agudo y crónico. iNOS sintetiza óxido nítrico, lo cual induce en la dilatación de vasos sanguíneos y aumenta la actividad catalítica de COX-2 (18).

La evidencia sugiere que la PGE2 aumenta la actividad fosfatasa alcalina y la activación de sialoproteína de hueso; ambos genes están involucrados en la mineralización. Así, el MTA y el Ca(OH)₂ estimulan la expresión de COX-2, lo cual produce PGE2 en una manera autocrina, vía de activación de NF- κ B. Por lo tanto, la inducción de PGE2 por el MTA y el Ca(OH)₂ juega un rol importante en la deposición de tejido duro (18).

El MTA y Ca(OH)₂ han mostrado ser capaces de crear un ambiente favorable de sanado y reparación. Ambos biomateriales tienen un similar mecanismo de acción. Sin embargo, el MTA desencadena una respuesta pro-

inflamatoria y pro-reparatoria mucho antes que la observada en el Ca(OH)_2 . Esto se explica por la presencia de extensas áreas de necrosis por coagulación en los tejidos en contacto con el Ca(OH)_2 , llevando a una disminución de la viabilidad celular y en una microvascularización local, que refleja una respuesta inflamatoria inmediata. El MTA provoca una reacción inflamatoria disminuida y necrosis pulpar, cuando es comparada con Ca(OH)_2 (18).

El MTA se ha utilizado ampliamente como un biomaterial prometedor para proporcionar una barrera apical durante las técnicas de apexificación, debido a sus capacidades superiores de sellado, biocompatibilidad y capacidad de endurecerse en presencia de humedad; además, mediante la formación de apatita carbonatada tiene la capacidad de formar tejido duro (21).

Desde el punto de vista clínico, durante la formación de una barrera apical, la capacidad de biomineralización del MTA solo se logra al estar en contacto directo con los tejidos periodontales en la interface del tejido periodontal de la dentina-MTA. Estudios han demostrado que el uso de un apósito intraconducto de solución salina tamponada con fosfato (PBS) promueve la precipitación de apatita carbonatada y, en consecuencia, la formación de una capa en interface con mineralización intratubular, principalmente en el tercio cervical del tapón apical (21).

Por lo tanto, se puede mejorar la retención de tapones apicales de MTA a la dentina mediante el uso de PBS, como un apósito intracanal o como un enjuague final en los conductos radiculares (8).

En cuanto al Biodentine, se sabe que es un material formulado usando la tecnología del cemento MTA, por los laboratorios de la Universidad del Mediterráneo de Marsella, en Francia, mejorando algunas de sus propiedades físicas y de manipulación. Es un material con base en el silicato de calcio, el cual fue diseñado para usarse como reemplazo bioactivo de la dentina, el que se caracteriza por ser inorgánico y a la vez no metálico; este permite diferentes aplicaciones, entre las que se incluyen endodoncia (relleno de dientes, cirugías retrógradas endodónticas, reabsorciones radiculares, perforaciones radiculares, apexificación), recubrimientos pulpaes y reemplazo de dentina en restauraciones.

El Biodentine está compuesto por una parte en polvo y otra líquida: la primera está compuesta de silicato tricálcico, silicato dicálcico, carbonato de calcio, óxido de hierro y óxido de zirconio, y la parte líquida de cloruro de calcio, polímero hidrosoluble y agua (22).

El carbonato de calcio actúa como sitio de nucleación para C-S-H, con lo cual se disminuye el tiempo del período de inducción, logrando un menor tiempo de fraguado, mientras que el óxido de hierro es el responsable de la radiopacidad (22). El cloruro de calcio actúa como acelerador, asegurando un tiempo de fraguado menor, ya que contiene menos agua; el tiempo inicial (fraguado) del mismo es de 9 a 12 minutos, mientras que el final es de aproximadamente 45 minutos. Por otra parte, el polímero hidrosoluble funciona como agente reductor de agua (22).

El Biodentine, comparado con el MTA, presenta mejoras en algunas de las propiedades tanto físicas como biológicas, entre las que se encuentran: una menor porosidad, menor tiempo de fraguado, mayor resistencia a la compresión, síntesis temprana de dentina reparativa y mayor densidad (22). Este material también cuenta con acción antibacteriana, proporcionada por los componentes de calcio con los que cuenta, los cuales se convierten en soluciones acuosas de hidróxido de calcio, que se disocia en iones calcio e hidroxilo, con lo que se aumenta el pH, ayudando a crear un ambiente desfavorable para el crecimiento bacteriano; a su vez, al tener un aumento del pH y iones calcio, aumenta su biocompatibilidad (22). Estudios como el de Bhavana y colaboradores (23) muestran mayores zonas de inhibición para microorganismos, como *Streptococcus mutans*, *Candida*, *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*.

La dentina incorpora los elementos liberados de los materiales bioactivos (Ca y Si), y este fenómeno causa una modificación estructural de la dentina, con lo cual adquiere mayor resistencia. Se ha demostrado mayor incorporación de materiales a la dentina con el Biodentine que con el MTA (24).

Al realizar pruebas biológicas, el Biodentine ha demostrado no ser citotóxico, mutágeno, sensibilizante o irritante, por lo cual se puede colocar directamente en el tejido donde la capa de odontoblastos ha sido destruida parcialmente, sin presentar efectos adversos en la cicatrización pulpar (4). Estudios *in vivo* revelaron que el Biodentine puede estimular la dentina reparadora y completar la formación de un puente dentinario sin signos de inflamación luego del recubrimiento pulpar, ya que, al aplicarse sobre la pulpa, se aumenta la

proliferación, migración y adhesión de las células madre de la pulpa, y de esta manera se logra conservar su vitalidad. (22, 25). Por su bioactividad, el Biodentine se puede considerar como un material adecuado para regeneración del complejo dentinopulpar, en las protecciones pulpares directas (25).

El Biodentine ha demostrado ser biocompatible, pues no induce daño a las células pulpares (25), y además es capaz de estimular la formación de dentina reparadora (26). La formación de tejido duro ha sido relatada como consecuencia posterior a tratamientos pulpares con este cemento (27). Este material usado como recubrimiento pulpar cuenta con propiedades de dureza, baja solubilidad y produce un fuerte selle, superando las principales desventajas del hidróxido de calcio, como: falta de unión a la dentina y resina, solubilidad del cemento y la microfiltración.

La bioactividad del Biodentine se puede comprobar por la capacidad que tiene de generar apatita carbonatada al contactar con fluido tisular (28). Se ha reportado en estudios *in vitro* que el Biodentine ha tenido la capacidad de inducir la formación de depósitos de calcio y fósforo al contacto con fluido tisular (29); también en *ex vivo*, cuando se colocó en recubrimientos pulpares directos y tuvo la capacidad de generar focos de mineralización e inducir la diferenciación celular odontoblástica (27). A su vez, cuando se evaluó su interface con la dentina, se pudo observar la formación de minerales dentro de los túbulos dentinarios (30). En estudios *in vitro* y *ex vivo* se demostró que el Biodentine, al ser inmerso en fluido tisular, tiene la capacidad de generar la deposición de apatita carbonatada (31).

El Biodentine mantiene su buen comportamiento en presencia de diferentes irrigantes como hipoclorito de sodio o clorhexidina, mientras que en el caso del MTA hay una disminución en su fuerza de adhesión a la dentina, sobre todo en presencia de clorhexidina (32).

El MTA Flow® (Ultradent, EE.UU.) es un nuevo cemento de reparación similar al MTA, que consiste en un polvo extremadamente fino, radiopaco e inorgánico de silicato tricálcico y dicálcico, que fragua con un gel de base acuosa para una mejor colocación. Está indicado para usar en procedimientos dentales que contactan la pulpa dental como la pulpotomía, y los tejidos perirradiculares como la retro-obturación, apexificación, reparación de perforación y reabsorción radicular (5).

El vehículo a base de gel hace que el cemento sea más resistente al lavado y, además, brinda a los profesionales una variedad de consistencia que puede adaptarse a cada procedimiento (5).

Las diferentes consistencias se obtienen mezclando el polvo y el gel en proporciones indicadas por el fabricante, dependiendo del tratamiento que se vaya a realizar. Para los tratamientos de cobertura pulpar, perforación de cámara pulpar y pulpotomía, se debe utilizar una consistencia Thick (gruesa), mezclando dos cucharas grandes de medida de polvo y dos gotas de gel. Para reabsorciones, apexificaciones o tapones apicales se utilizará una consistencia Thin (ligera), mezclando una cuchara grande y una cuchara pequeña, con dos gotas de gel. Para retro-obturaciones se aconseja una consistencia de Putty (masilla),

mezclando una cuchara grande y una cuchara pequeña, con una gota de gel, y se agregará más gel si no se ha obtenido la consistencia deseada. Para la mezcla se debe utilizar una espátula metálica incorporando el gel al polvo gradualmente, hasta alcanzar una consistencia cremosa y homogénea, asegurándose que todas las partículas de polvo estén hidratadas. Luego de mezclado y colocado en la jeringa para dispensar el material, puede ser utilizado hasta 15 minutos después de la mezcla (2).

El pequeño tamaño de la partícula del MTA Flow® permite un dispensado parejo y sencillo, y la formulación exclusiva del gel logra que el producto sea más resistente al desgaste que otros MTA mezclados con agua. La proporción de mezcla de MTA Flow® se puede adaptar según el procedimiento, permitiendo alcanzar cualquier consistencia deseada, sea delgada, espesa o de masilla. Su rápido tiempo de fraguado también permite enjuagar o secar con aire, sin lavar el MTA dentro de los cinco minutos de aplicado (5).

En un estudio reciente de Martini et al., se demostró que al compararse el MTA Flow® con el MTA Angelus, la actividad alcalinizante fue similar para ambos cementos, sin diferencia estadística entre ellos para todos los períodos. El MTA Flow® mostró un cambio de volumen similar al MTA Angelus sin diferencia estadística, mientras que, para radiopacidad, el MTA Flow® presentó un valor significativamente más bajo (5).

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Evaluar en un modelo *ex vivo* el proceso de biomineralización y prueba de adhesión *Push-out* del MTA FLOW®.

1.5.2 Objetivos específicos

- Evaluar la capacidad de biomineralización del MTA FLOW® .
- Evaluar el efecto de las distintas consistencias del MTA FLOW® en la fuerza de adhesión del material a la dentina.
- Analizar, mediante el uso de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) y Microscopia de Fluorescencia, el proceso de biomineralización y adaptación marginal en la interface dentina-MTA FLOW®.

CAPÍTULO II MÉTODOS

2.1 Materiales y métodos

En el presente estudio *EX VIVO* se utilizaron 76 dientes humanos, unirradiculares, extraídos por motivos ajenos a esta investigación y donados de forma anónima. Las metodologías desarrolladas forman parte del proyecto B7216, inscrito ante la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica.

Con el fin de obtener 2 discos de dentina radicular con 2 mm de espesor por diente, se realizaron cortes transversales en el tercio medio del canal radicular con disco de diamante SBT (Baytechnology sur, San Clemente, CA, Estados Unidos) en el equipo de corte de alta precisión (Buehler Ltda., Estados Unidos). En cada sección, el canal se amplió con un instrumento giratorio Gates Glidden # 6, con el fin de obtener una cavidad estandarizada con 1.5 mm de diámetro. Luego de la realización de las cavidades, las secciones radiculares fueron inmersas en solución de EDTA 17% por 3 minutos, seguidas de hipoclorito de sodio 1%, también durante 3 minutos. Posteriormente, fueron lavadas en agua destilada un minuto y secas.

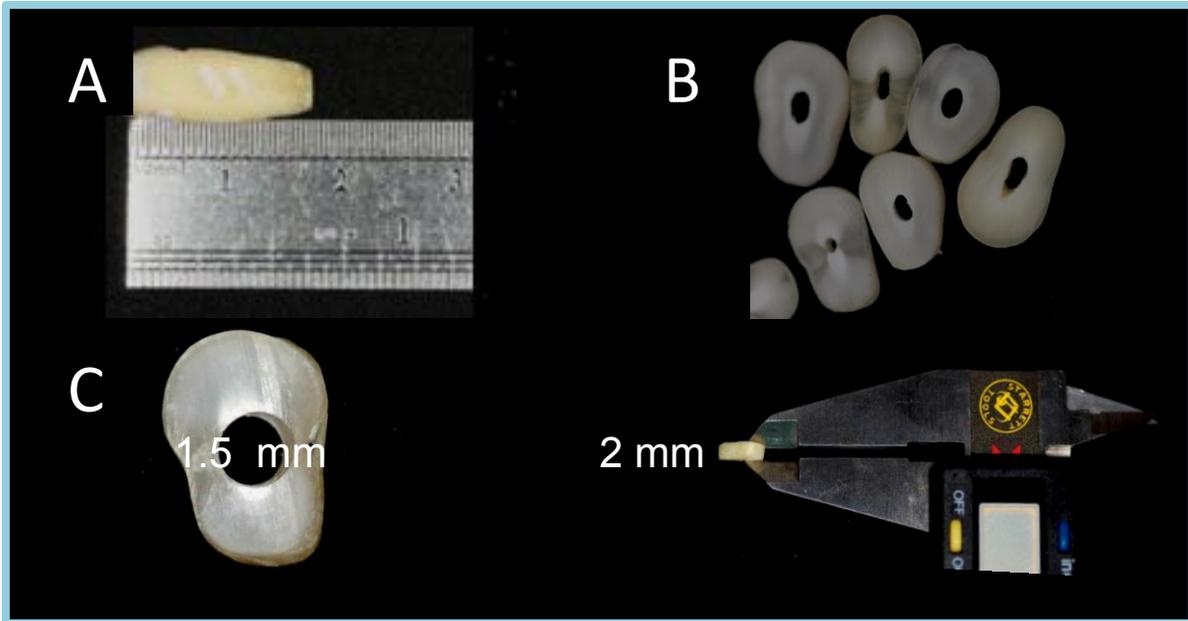


Figura 1. **A.** Medición de la pieza dental. **B.** Discos de dentina obtenidos a partir de un corte transversal en la máquina de corte de alta precisión. **C.** Discos de dentina estandarizados en 2mm de grosor con cavidades de 1.5 mm de diámetro.

Los discos de dentina fueron divididos aleatoriamente en 5 grupos ($n = 30$) y obturados con diferentes cementos, como se describe a continuación:

Grupo 1: MTA Angelus (Angelus Dental, Brasil).

Grupo 2: Biodentine (Septodont, Francia)

Grupo 3: MTA Flow® Consistencia Putty (Masilla) (Ultradent, EE.UU.)

Grupo 4: MTA Flow® Consistencia Thick (Gruesa) (Ultradent, EE.UU.)

Grupo 5: MTA Flow® Consistencia Thin (Ligera) (Ultradent, EE.UU.)

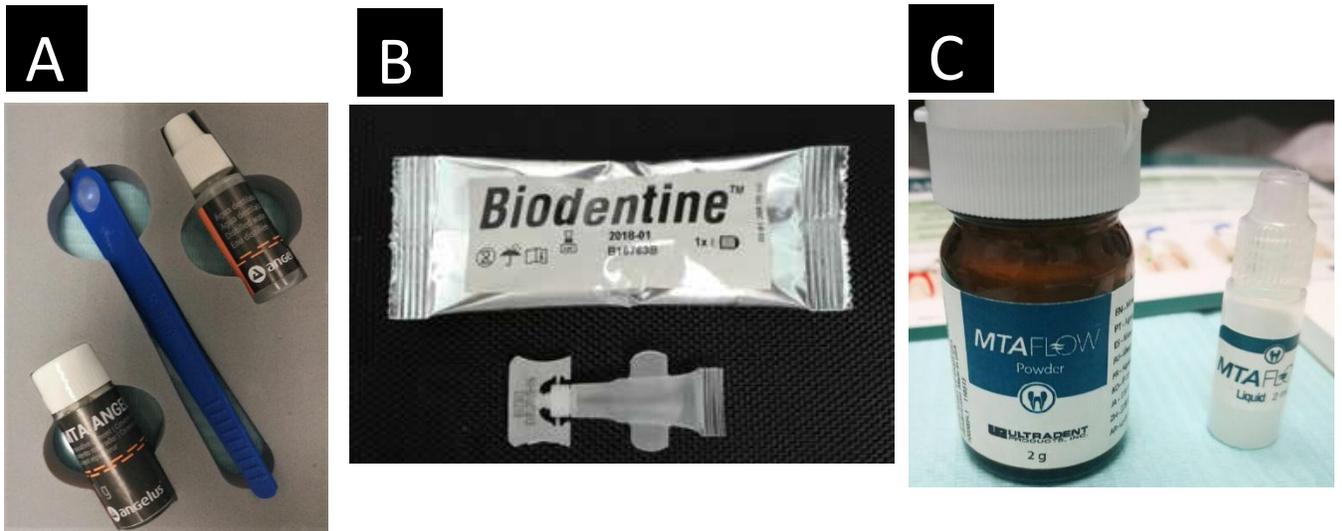


Figura 2. Fotos representativas de los cementos utilizados. **A.** MTA Angelus. **B.** Biodentine **C.** MTA Flow®.

Los cementos fueron preparados conforme las instrucciones del fabricante.

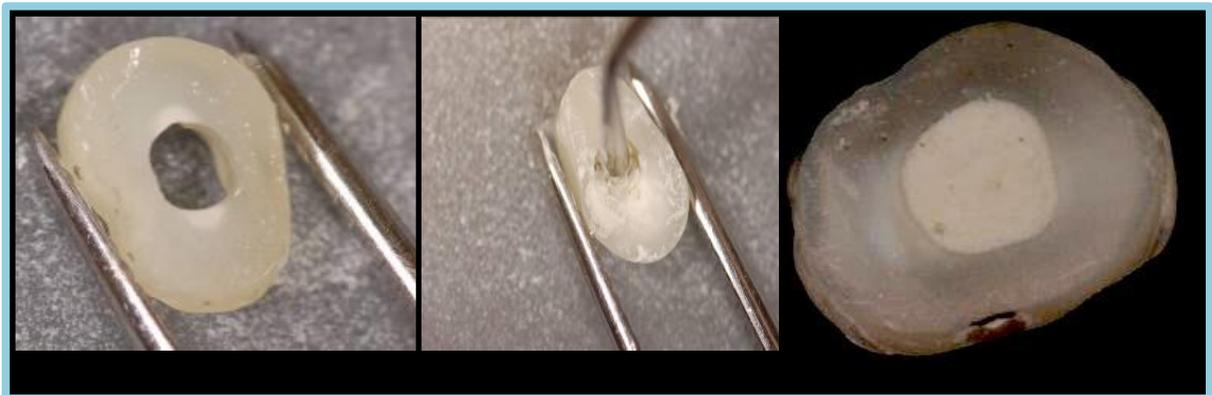


Figura 3. Fotos representativas durante la obturación de las muestras con los diversos cementos (Biodentine).

Posteriormente, las muestras de todos los grupos fueron subdivididas en 3, de acuerdo con la evaluación a seguir:

- **Subgrupo 1 (n=5):** Análisis del proceso de biomineralización.

- **Subgrupo 2 (n=20):** Evaluación de la fuerza de adhesión-Resistencia al desplazamiento (*Push-out*).
- **Subgrupo 3 (n=5):** Evaluación de la interface cemento/dentina.

2.1.1 Análisis del proceso de biomineralización

Inmediatamente después de obturadas, las muestras se colocaron, individualmente, en recipientes de plástico, previamente identificados, con 30 mL de PBS (pH = 7,2) y se mantuvieron a 37 ° C durante 15 días.

La solución tampón fue sustituida a los 1, 3, 5, 10 y 15 días; inmediatamente se colectó y realizó la determinación del pH a través de un pH-metro digital (pH Pen, PH-50 EXTECH, EE.UU.). Las lecturas se realizaron 2 minutos después de la inmersión del electrodo en las soluciones. Entre cada lectura, el electrodo se lavó con agua desionizada y se secó con papel absorbente. Luego, la solución fue procesada para la determinación de la liberación de ion calcio en el Laboratorio de Servicios Analíticos -LASA- de la Universidad de Costa Rica. La medición de la muestra se realizó con el Espectrofotómetro de Absorción Atómica Varian (SpectrA A220 Fast Sequential, EE.UU.). Con la finalidad de registrar el pH y la liberación de ion calcio de la dentina, cinco muestras (un disco de dentina por muestra), sin cemento, también fueron inmersas en 30 mL de PBS por el mismo periodo de tiempo como control. Los valores obtenidos se registraron, agruparon y analizaron de forma descriptiva.

Simultáneamente, en el momento de cambio de la solución, cuando fue constatada la formación de precipitados, la superficie de las muestras se raspó suavemente con una espátula. Los precipitados colectados se secaron en incubadora a 37°C y se pesaron en balanza analítica digital (Mettler PE, 160, Estados Unidos). Los pesos de los precipitados, obtenidos en gramos, fueron registrados y evaluados estadísticamente mediante las pruebas de *T-test* en el programa estadístico GraphPad Prism. El valor crítico de significancia estadística fue del 5%.

Posteriormente, 2 muestras de precipitados se secaron a 37°C durante 48 horas y entonces colocadas en un metal cilíndrico (*stubs*). El conjunto fue cubierto con una capa de oro-paladio 300 Å. Los especímenes se examinaron por microscopio electrónico de Barrido-MEB (HITACHI, S-570, Japón), operando con 15 Kv.

La composición química de los precipitados se determinó mediante análisis de dispersión de micro-energía por rayos X (EDAX) en microscopio electrónico de barrido (MEB) (HITACHI, S-570). Con el fin de analizar el aspecto ultraestructural, los precipitados se fotografiaron con aumentos variables (500- 2500X). Los datos fueron registrados y analizados de forma descriptiva.

2.1.2 Evaluación de la fuerza de adhesión-Resistencia al desplazamiento (*Push-out*)

Para esta parte de la metodología se utilizaron 20 muestras de cada grupo, divididas aleatoriamente en dos subgrupos (n = 10). En el subgrupo A (negativo

control), se colocó una bolita de algodón húmeda sobre el cemento, y las muestras se almacenaron durante 72 horas a 37 ° C. Las muestras del subgrupo B se suspendieron, individualmente, en viales de plástico estériles que contenían 30mL de PBS (pH = 7,2) durante 15 días a 37 ° C.

Después de los períodos experimentales, se realizó la prueba de resistencia al desplazamiento-fuerza de adhesión (*push-out*). Los discos fueron posicionados en el dispositivo de la prueba de resistencia al desplazamiento en la máquina universal de ensayos, aplicando una fuerza compresiva constante a 0.5 mm/min.



Figura 4. Prueba de Resistencia al desplazamiento-Push-out en la máquina Universal de Ensayos.

La fuerza máxima fue aplicada al cemento antes de que se registrara el desplazamiento en kgf. El valor de fuerza de adhesión en MPa se calculó a partir de la fuerza kgf convertida a Newton (N), dividida por el área en mm².

Los datos fueron analizados por medio de la prueba de ANOVA y comparaciones múltiples de Tukey, con un 5% de nivel de significancia. Se realizó una prueba T Student evaluando el mismo tipo de cemento, con o sin inmersión en PBS.

2.1.3 Evaluación de la interface cemento/dentina

La evaluación de la interface se realizó en 3 muestras de cada grupo, un análisis observacional de la adaptación marginal del cemento a dentina con microscopia de fluorescencia y 2 muestras de evaluación de la interface cemento/dentina en MEB.

Las muestras evaluadas en MEB fueron recubiertas con una capa de oro-paladio 300 Å y examinadas a 500X-1000X de magnificación. Se realizó un análisis descriptivo conforme realizado en Reyes Carmona *et al.* (18).

Por otro lado, las muestras que se evaluaron en microscopia de fluorescencia fueron obturadas con los cementos anteriormente descritos, mezclados con 0.1% Rhodamina B. Las muestras fueron evaluadas de forma descriptiva a 10X a 546-674 nm, onda excitación 543 nm en Microscopio NIKON TX SATELLITE (Nikon, EE.UU.).

CAPÍTULO III DESARROLLO

3.1 Resultados

3.1.1 Análisis del proceso de biomineralización

Fue posible observar la formación de precipitados blancos a partir de los primeros 20 minutos post-inmersión de las muestras en PBS en todos los grupos, siendo que la turbidez de la solución aumentó conforme al tiempo. De forma general, fue posible observar que las muestras obturadas con Biodentine–G2 promovieron una mayor precipitación. Sin embargo, no hubo diferencia estadística significativa al compararse con la cantidad de precipitados formados por G1, G3, G4 ($p= 0.0536$). No obstante, sí hubo diferencia estadística significativa entre el G2 vs. G5 ($P < 0.05$).

Variable: Cantidad de precipitados formados por los cementos (gr).

Tabla 1. Resultados de media, valores mínimo y máximo, desvío-padrón de la prueba estadística

Grupos	n	Media	Mínimo	Máximo	Desvío-padrón
1	5	0,62	0,5900	0,6400	0,04658
2	5	0,83	0,8000	0,8400	0,02449
3	5	0,65	0,5900	0,6600	0,05467
4	5	0,58	0,5700	0,5900	0,01632
5	5	0,41	0,3900	0,4200	0,02431

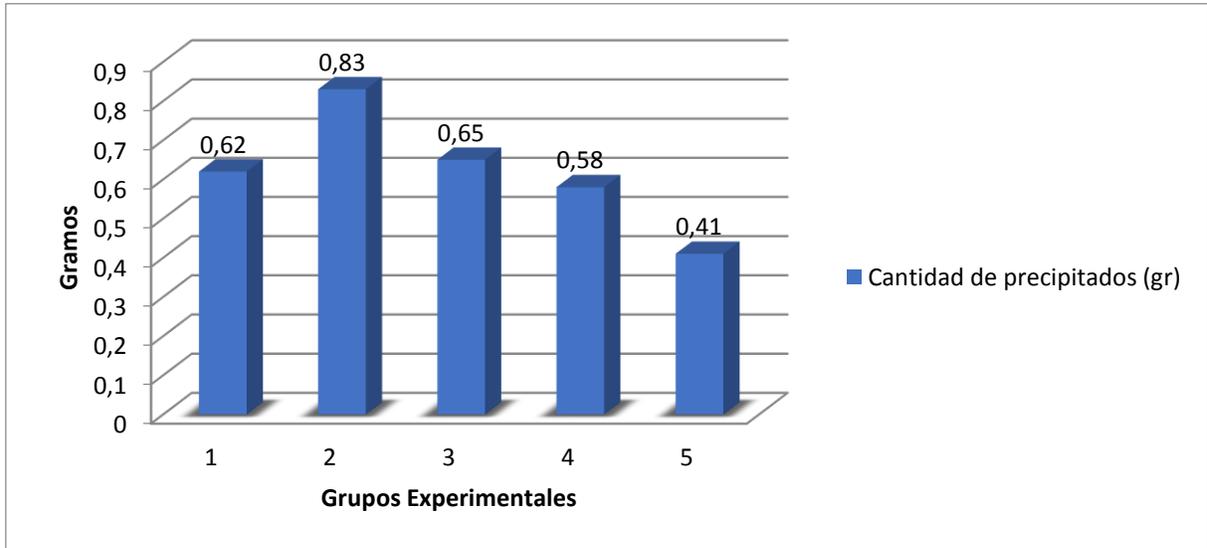


Figura 5. Valores medios de la cantidad (gr) de precipitados formados por los cementos.

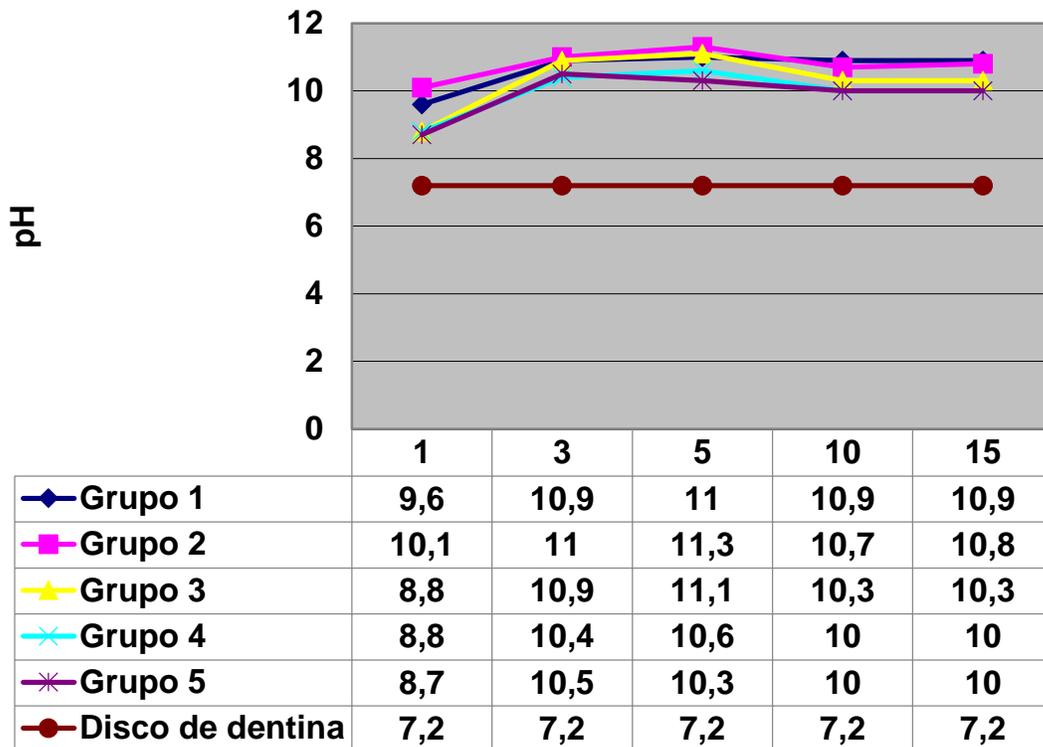


Figura 6. Valores medios de pH de las soluciones en contacto con los cementos en los diferentes periodos experimentales.

La figura 6 presenta la media de los valores de pH de las soluciones en contacto con las muestras de los diferentes grupos experimentales. Independientemente del grupo, el pico de pH fue registrado en el quinto día (de 11,3 a 10,3). En el decimoquinto día hubo una leve caída en todas las muestras (de 10,9 a 10). Las muestras del Grupo 2-Biodentine presentaron el pH más alto en todos los intervalos, y fue el grupo que alcanzó de forma más rápida la alcalinización. Sin embargo, el MTA Flow®, independientemente de su consistencia, mostró un comportamiento muy similar en todo el período de observación. El pH de la solución en contacto con el disco de dentina permaneció en 7,2 durante todo el período experimental.

El análisis de la liberación de ion calcio determinó que fue el Grupo 2-Biodentine el que liberó mayor cantidad de ion calcio. El grupo 1-MTA Angelus presentó la mayor cantidad de ion calcio en el día 1. No obstante, para los restantes grupos el pico de liberación de iónica se dio en la medición del día 3. A partir del día 5 la liberación de ion calcio fue disminuyendo. El disco de dentina liberó un total de 1,5 mg/L en el periodo experimental.

Tabla 2. Valores totales de la liberación de ion calcio

GRUPOS EXPERIMENTALES	Total (mg/L)
GRUPO 1	21.02
GRUPO 2	36.11
GRUPO 3	23.22
GRUPO 4	23.85
GRUPO 5	15.98
DISCO DE DENTINA	1.5

La evaluación ultraestructural en MEB reveló la presencia de precipitados con diferentes morfologías (Véanse las figuras 7 y 8). En general, todos los cementos promovieron la formación de precipitados; no hubo ninguna diferencia ultraestructural, o bien en la composición química entre los mismos. Los resultados obtenidos en promedio de tres evaluaciones puntuales en cada muestra indicaron la presencia de calcio y fósforo, en una concentración molar Ca/P de 1,43 a 1,82 (Véanse las figuras 9 y 10). Dependiendo de la zona analizada, se encontraron diferentes morfologías. Fue posible observar, en mayor cantidad, precipitados con prolongaciones aciculares, típicas de fosfato de calcio amorfo (Véase la figura 8). También se observaron precipitados más compactos y esféricos (Véase la figura 7). Las imágenes de los precipitados denotan la presencia de zonas con mayor calcificación (flechas).

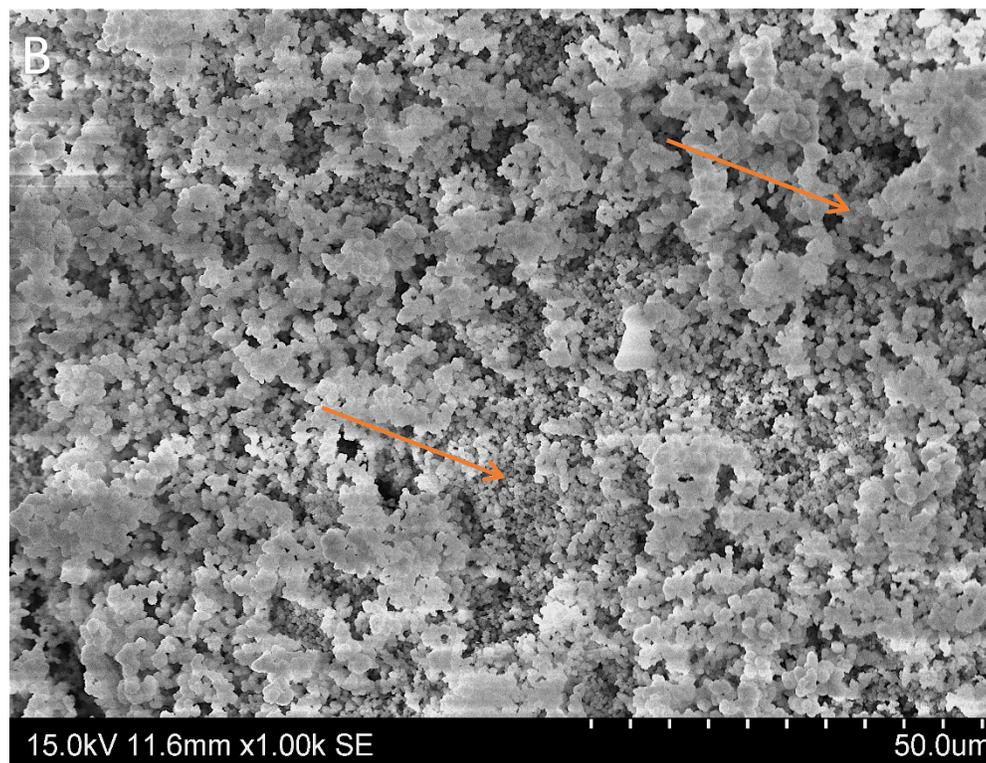
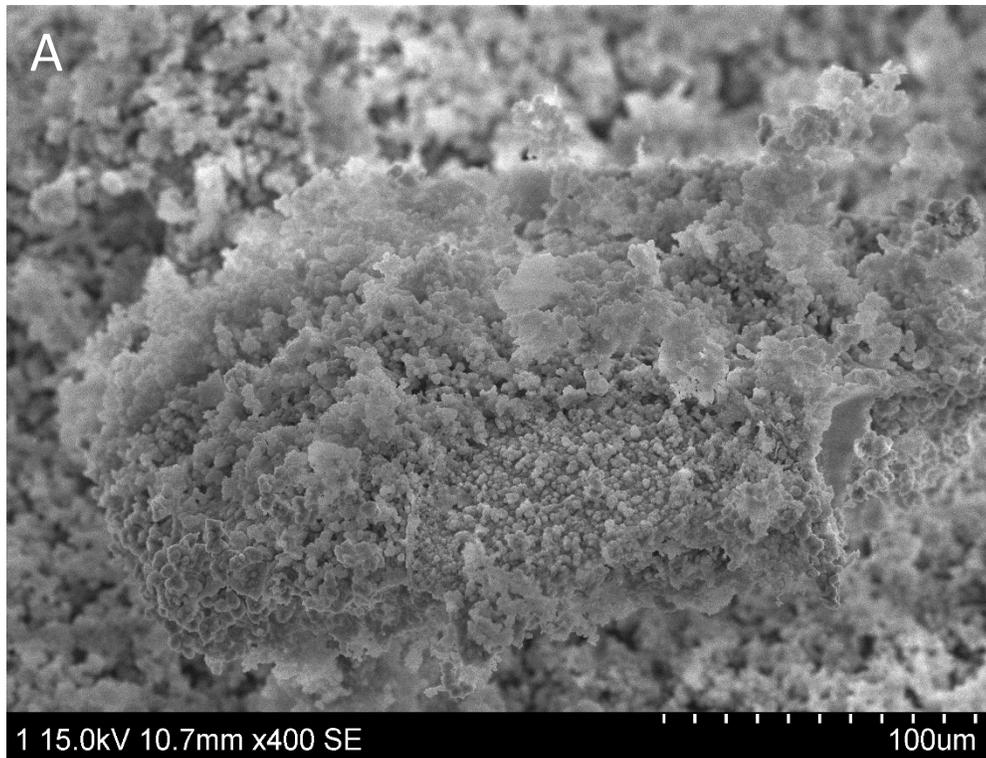


Figura 7. A y B. Áreas con precipitados más compactos y con áreas con franca mineralización (flechas).

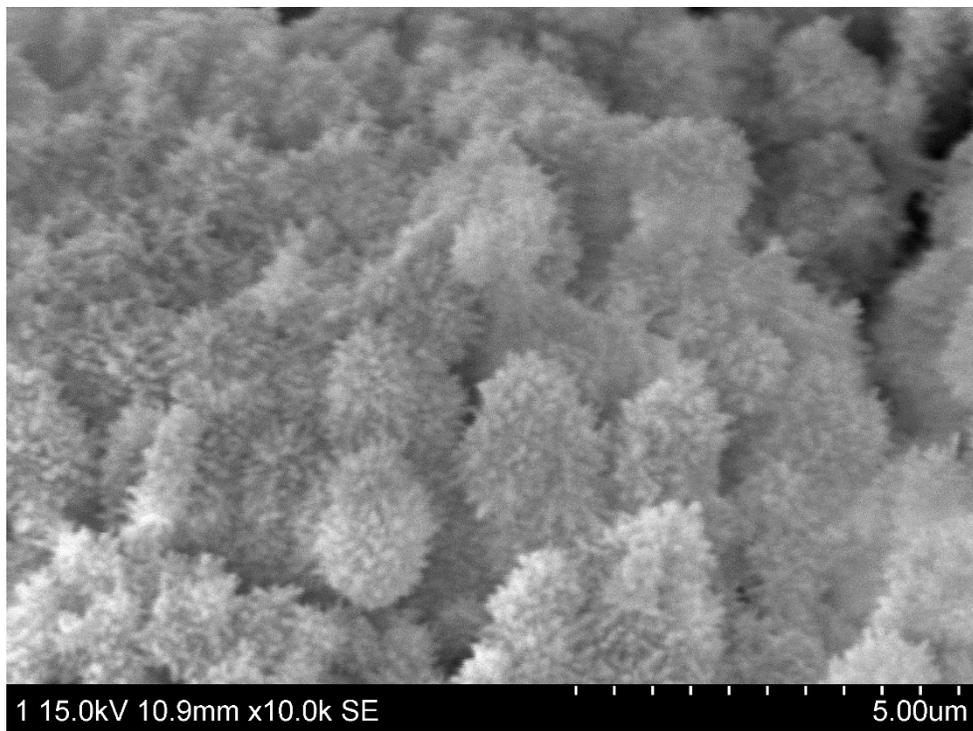


Figura 8. Precipitados esféricos con prolongaciones aciculares.

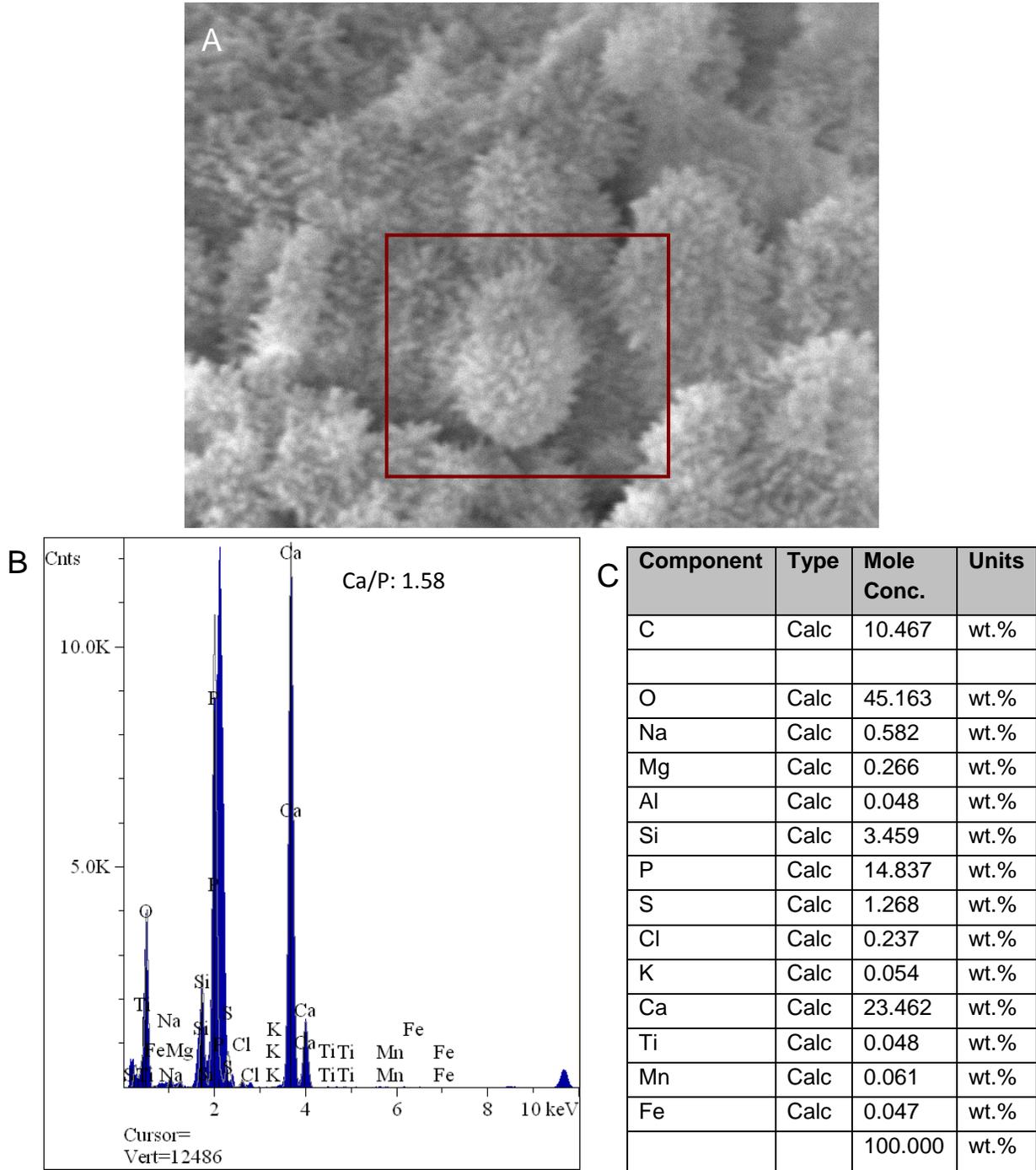
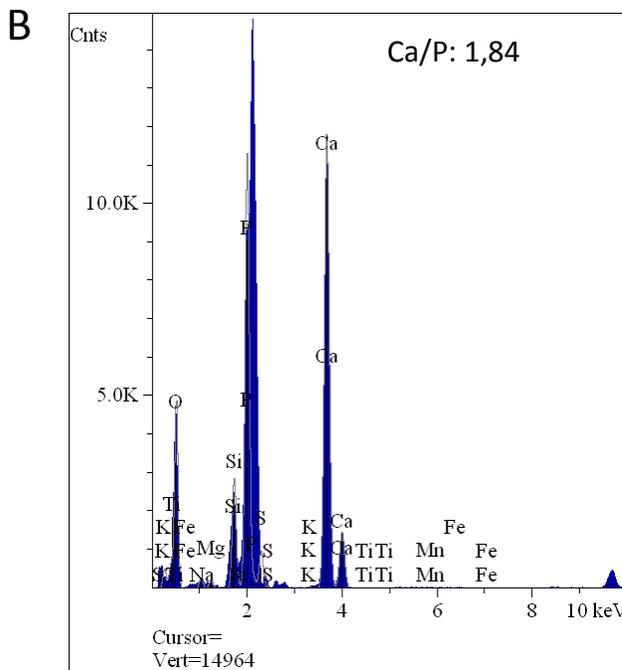
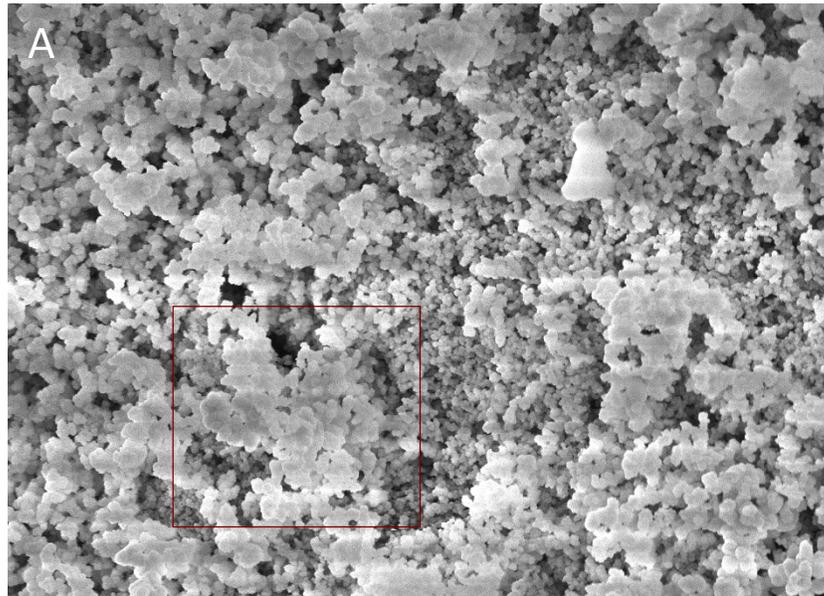


Figura 9. **A.** Fotomicrografía en MEB de los precipitados aciculares analizados por EDAX. **B.** Espectro de EDAX mostrando la presencia de calcio y fósforo en una proporción Ca/P de 1,58. **C.** Concentración molecular de los elementos proporcionado por EDAX-SEM.



C

Component	Type	Mole Conc.	Units	
C	Calc	4.766	wt.%	
O	Calc	32.800	wt.%	
Na	Calc	0.597	wt.%	
Mg	Calc	0.355	wt.%	
Al	Calc	0.066	wt.%	
Si	Calc	4.258	wt.%	
P	Calc	19.180	wt.%	
S	Calc	1.862	wt.%	
K	Calc	0.114	wt.%	
Ca	Calc	35.432	wt.%	
Ti	Calc	0.038	wt.%	
Mn	Calc	0.303	wt.%	
Fe	Calc	0.229	wt.%	
		100.000	wt.%	Total

Figura 10. **A.** Fotomicrografía en MEB de los precipitados compactos analizados por EDAX. **B.** Espectro de EDAX mostrando la presencia de calcio y fósforo en una proporción Ca/P de 1,84. **C.** Concentración molecular de los elementos proporcionado por EDAX-SEM.

3.1.2 Evaluación de la fuerza de adhesión-Resistencia al desplazamiento (*Push-out*)

Los resultados obtenidos a partir del ensayo de resistencia al desplazamiento–push-out están resumidos en la tabla 3.

Tabla 3. Valores Medios de fuerza de adhesión (MPa) y desviación estándar (SD) para todos los grupos

Grupo	G1	G2	G3	G4	G5
Periodo de tiempo					
72 h	3.84 (1.32)	4.23 (0.92)	3.94 (1.12)	3.32 (1.10)	2.58 (0.86)
Posterior a inmersión en PBS por 15 días	6.60 (0.63)	7.18 (0.42)	6.22 (0.40)	5.97 (0.25)	4.12 (0.37)

Los datos revelaron que al realizar el ensayo de resistencia al desplazamiento, 72 horas posteriores a la obturación de los discos de dentina, hubo diferencia significativa al comparar G2 vs. G5 ($p=0.0090$). En los demás grupos no hubo diferencias significativas.

Al analizar los datos posterior a la inmersión en PBS por 15 días, se observa diferencia significativa al comparar G1, G2, G3, G4 vs. G5 ($p=0.0147$).

Al evaluar el efecto de la inmersión en PBS de las muestras, se comprobó que existen diferencia estadísticamente significativa en todos los grupos (72h vs. Posterior a inmersión PBS) ($p= 0.0097$).

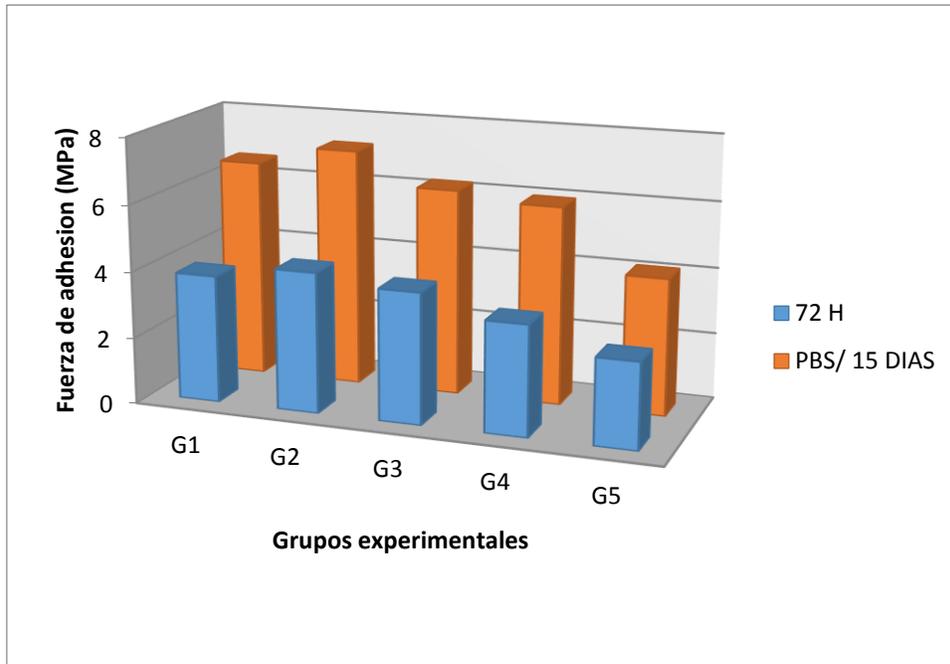


Figura 11.Gráfico demostrando los valores medios (MPa) de los grupos a 72 h y posterior al Modelo Ex Vivo.

3.1.3 Evaluación de la interface cemento/dentina

El análisis observacional en MEB demostró que la inmersión en PBS por 15 días es poco tiempo para promover el proceso de biomineralización. En todos los grupos fue posible observar la formación de la capa intermediaria de apatita carbonatada de forma parcial. De forma general se observaron zonas de biomineralización en la interface; sin embargo, no fueron continuas.

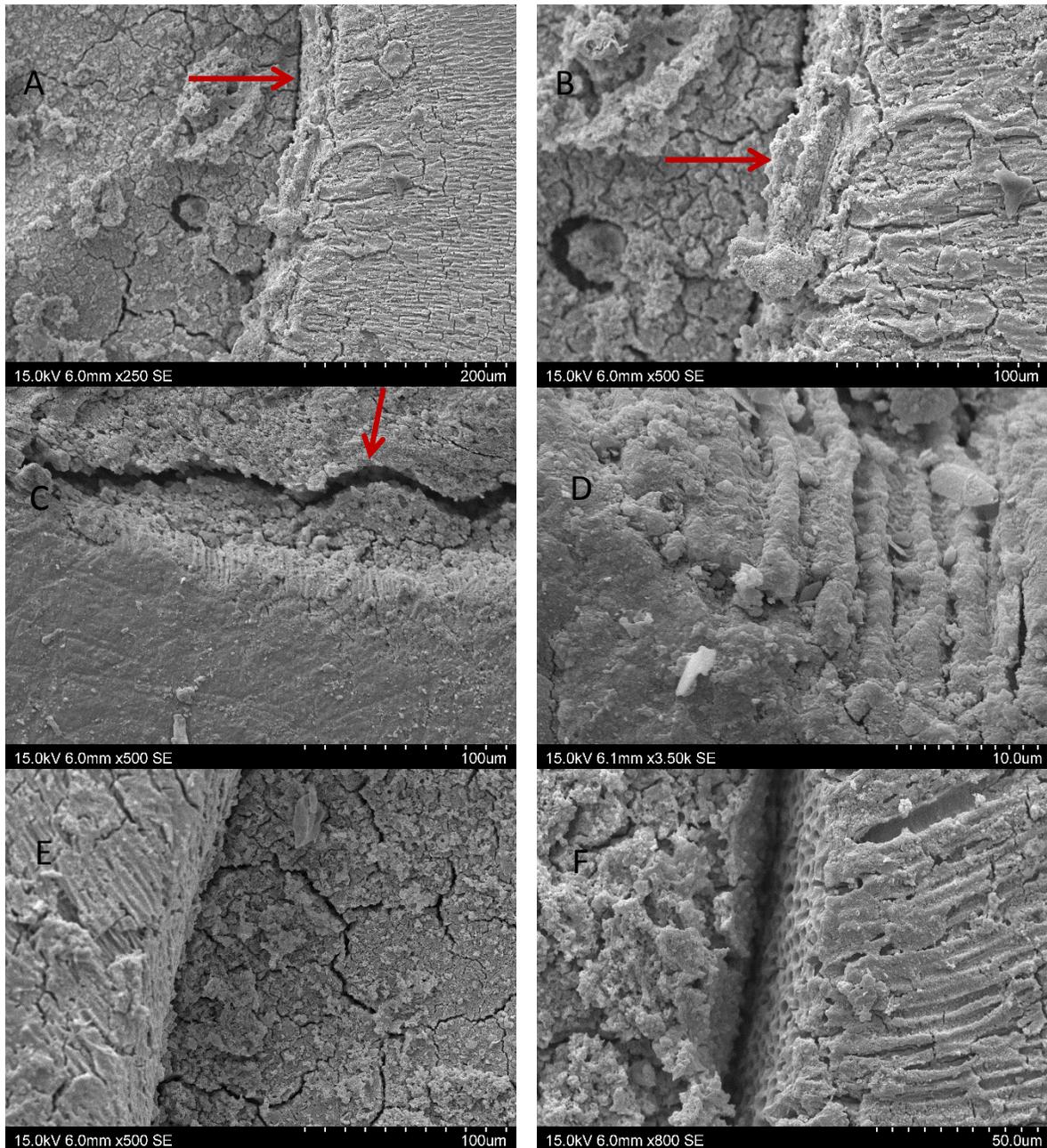


Figura 12. Microfotografías representativas del Grupo 1–MTA Angelus.

A y B: se observa la formación de la interface de apatita (flecha). **C:** puede observarse la separación por artefacto del cemento (flecha); no obstante, la interface de apatita se mantiene adherida a la dentina. **D:** aumento de la región observada en C demuestra la mineralización tubular. **E y F:** se demuestra que la formación de la interface de apatita no fue encontrada en todas las regiones de forma circunferencial.

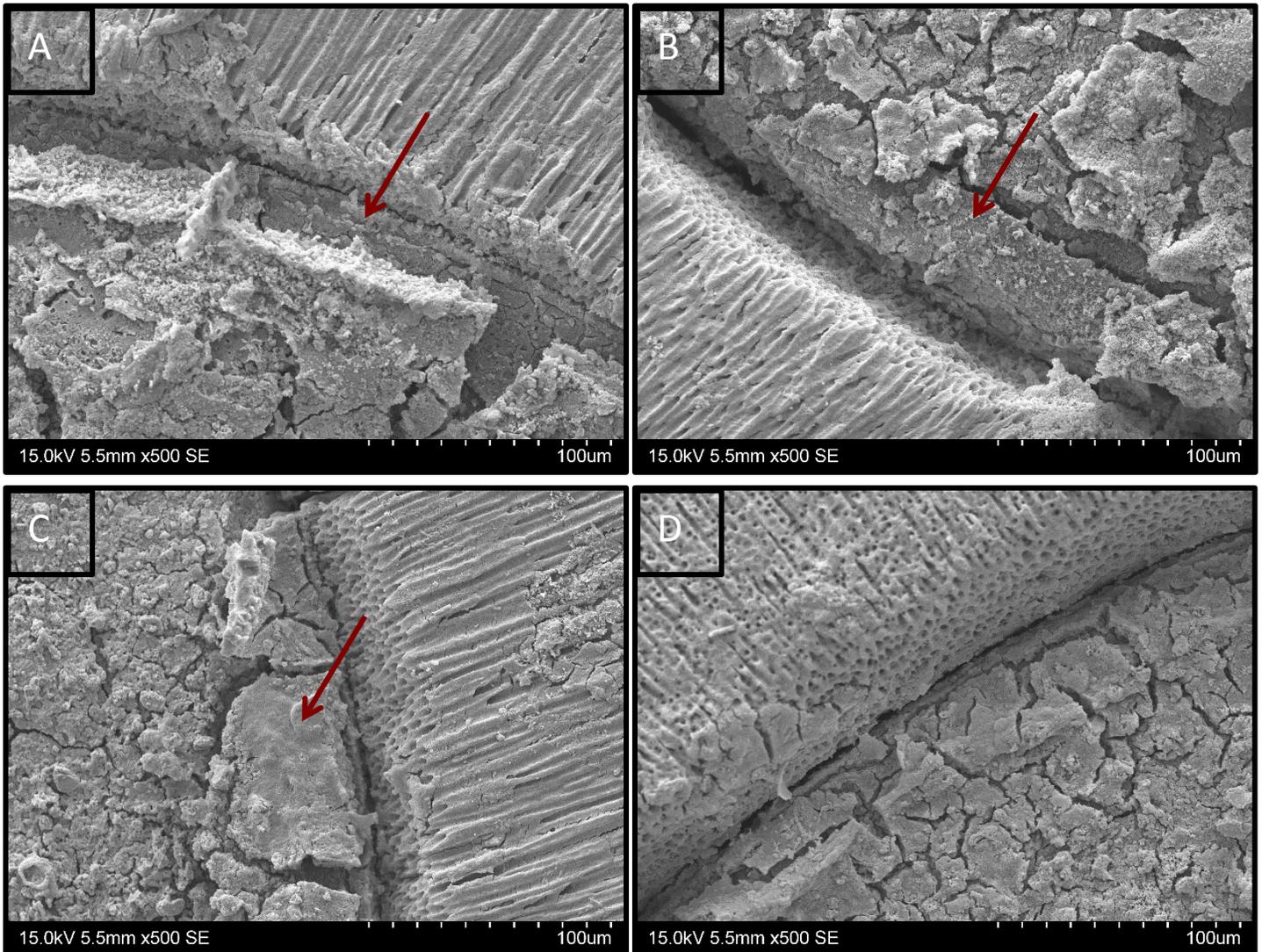


Figura 13. Microfotografías representativas del Grupo 2–Biodentine.

A, B y C: se observa la formación de la interface de apatita (flecha). **D:** la formación de la interface de apatita no fue encontrada en todas las regiones de forma circular. Sin embargo, de forma general este grupo demostró la mejor adaptación marginal a la dentina y la mayor formación del proceso de biomineralización.

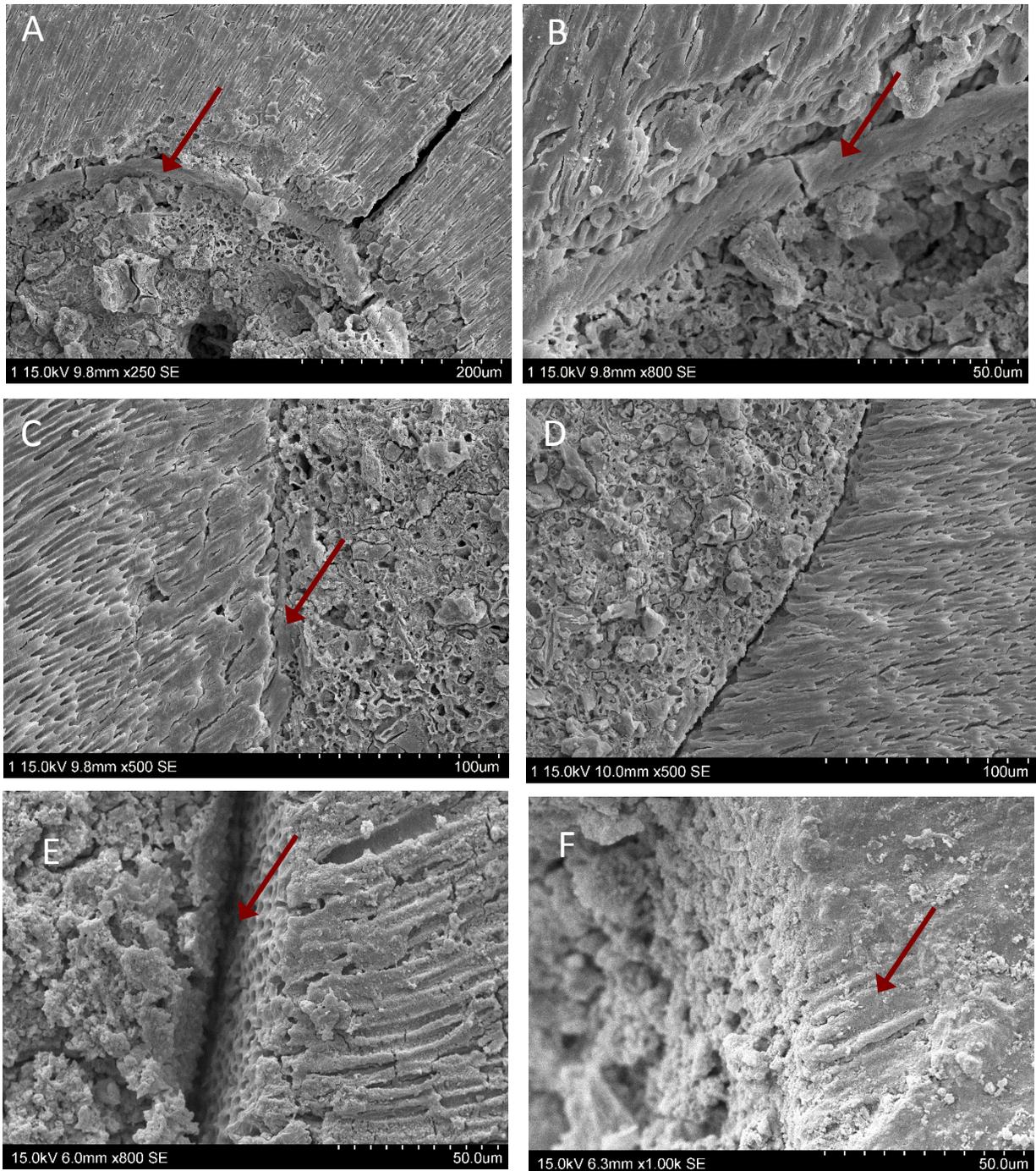


Figura 14. Microfotografías representativas de las muestras obturadas con el MTA Flow®.

A y B: muestras del grupo 3, donde se observa la formación de la interface de apatita de forma más homogénea. **C,** grupo 4: se observa la formación de la interface de apatita (flecha). **D,** grupo 4: la formación de la interface de apatita no fue encontrada en todas las regiones de forma circunferencial, pero el material

mantiene una adecuada adaptación marginal. **E y F**: microfotografías del grupo 5, donde fue posible observar núcleos de biomineralización en diferentes regiones de forma discontinua. En **F** es posible observar que cuando la consistencia de este material es Thin, se pueden evidenciar regiones de desprendimiento del material con brechas, y defectos importantes de selle periférico.

En las muestras analizadas en microscopia de fluorescencia, se observó que de forma general todos los cementos presentan una adecuada adaptación marginal. Las muestras obturadas con Biodentine presentan infiltración dentinaria. El MTA Angelus también demuestra un selle y adaptación marginal continua a lo largo de la superficie. El MTA Flow®, en su consistencia Putty (masilla) y Thick (gruesa), presenta una adecuada adaptación marginal. No obstante, se pudo evidenciar que en el caso de las muestras obturadas con la consistencia Thin (ligera), una vez endurecido el material e inmerso en PBS por 15 días, mostró la presencia de desajustes a nivel periférico, y en otra la presencia de brechas.

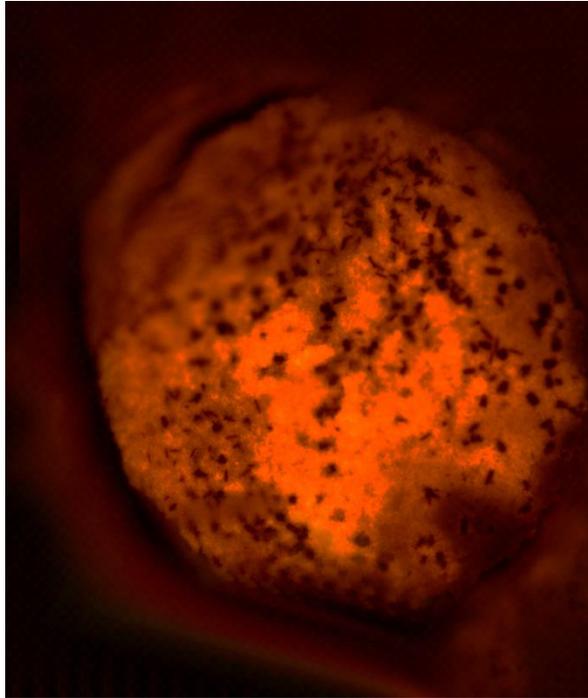


Figura 15. Microfotografía representativa de las muestras obturadas con el MTA Angelus–Grupo 1. Se observan ciertas zonas de desajuste marginal. La mayor parte de la periferia presenta adaptación.

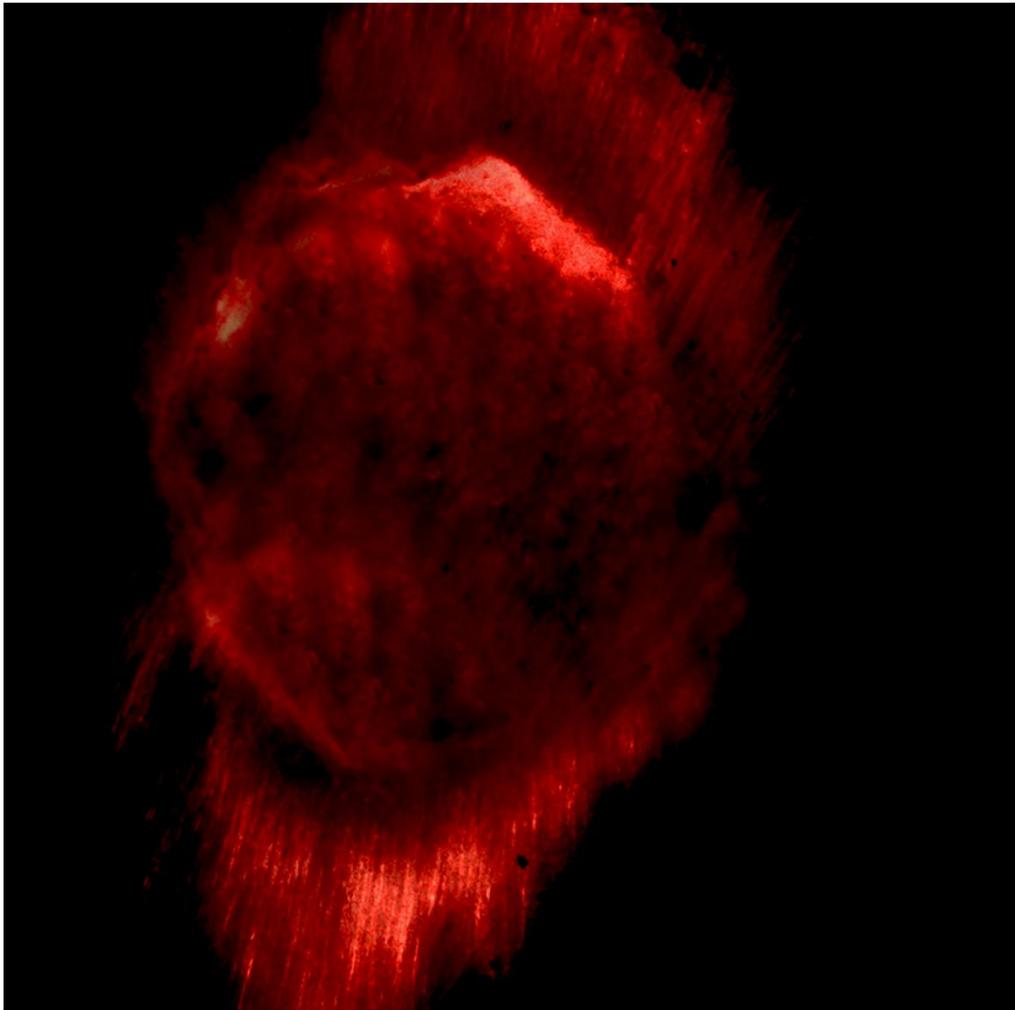


Figura 16. Microfotografía representativa de las muestras obturadas con Biodentine–Grupo 2. Se observa la infiltración dentinaria del material y la adaptación marginal a lo largo de la interface Biodentine/dentina.

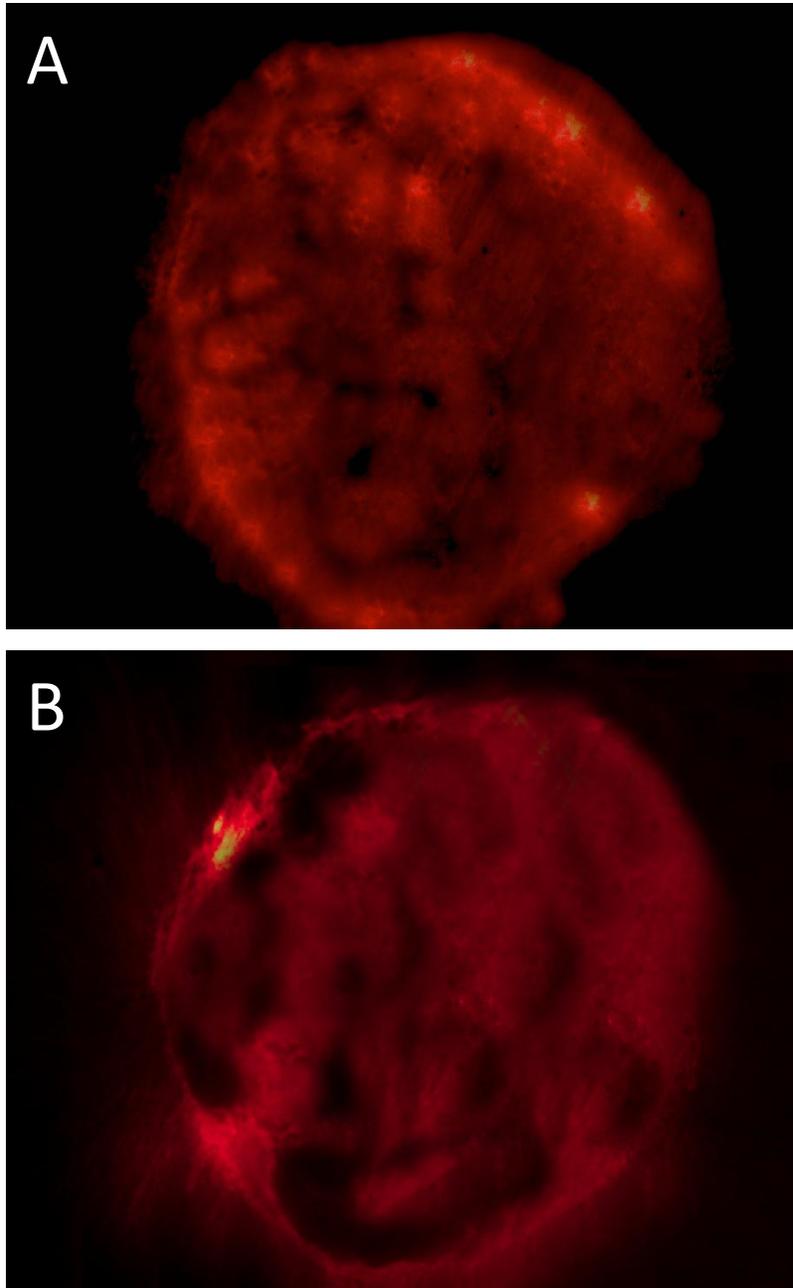


Figura 17. Microfotografías representativas de las muestras obturadas con MTA FLOW®–Grupo 3 en A y Grupo 4 en B.

Se observa la infiltración dentinaria del material y adaptación marginal a lo largo de la interface Biodentine/dentina. Se observan también áreas dentro del material con espacios (voids).

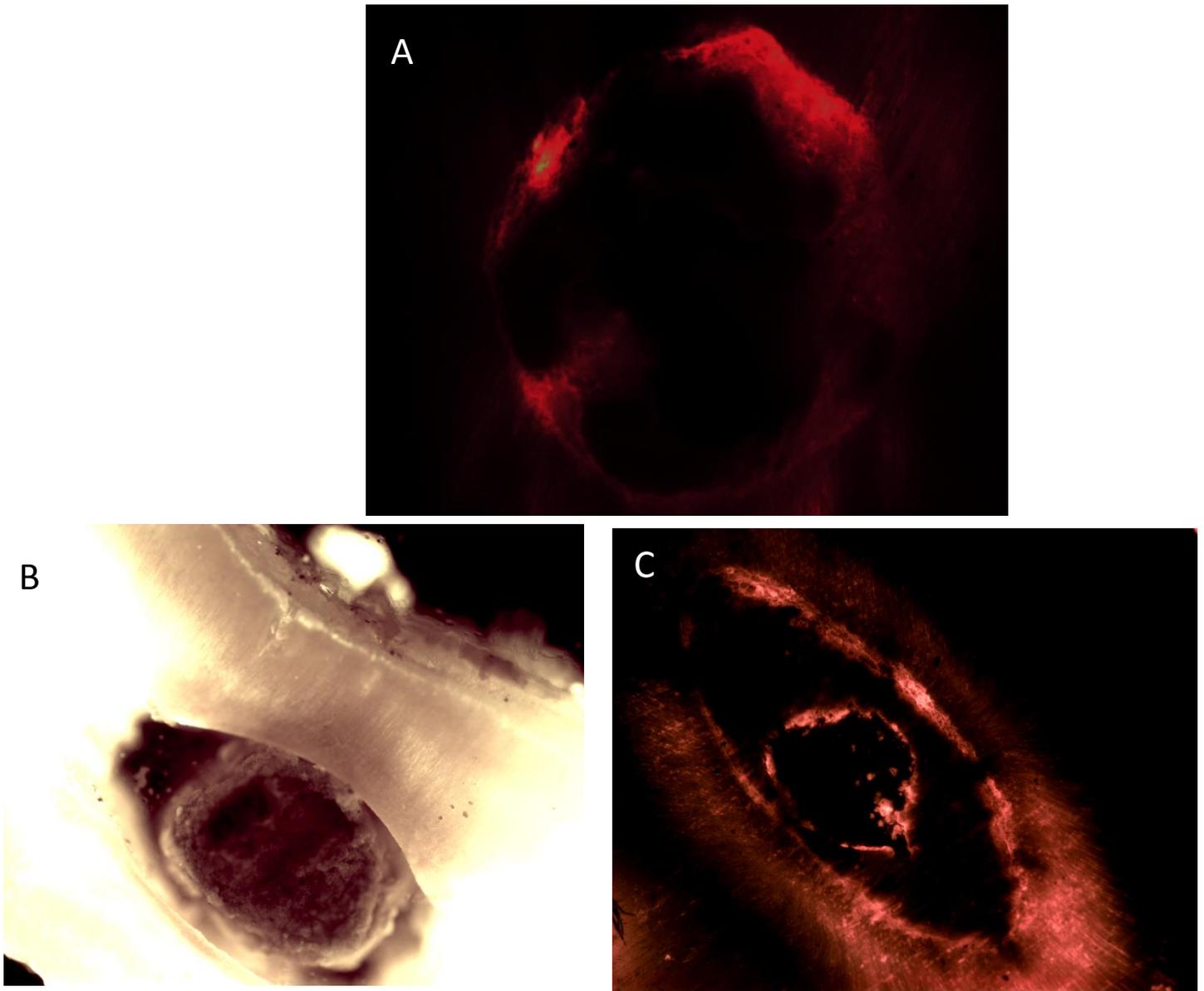


Figura 18. Microfotografías representativas de las muestras obturadas con MTA FLOW®-Grupo 5.

En **A** se puede observar una pequeña zona abierta. No obstante, la adaptación marginal no es continua. En **B** se evidencia que el material posterior a la inmersión en PBS por 15 días sufrió pérdida o desajuste alrededor de toda la superficie dentinaria. No obstante, en la microscopia de fluorescencia se puede ver la infiltración dentinaria en **C**.

3.2 Discusión de resultados

El MTA Flow® es un nuevo cemento de reparación similar al MTA, que consiste en un polvo extremadamente fino, radiopaco e inorgánico de silicato tricálcico y dicálcico, que fragua con un gel de base acuosa para una mejor colocación (32). El objetivo de este estudio fue evaluar el proceso de biomineralización y la fuerza de adhesión del MTA Flow® a la dentina.

El MTA fue desarrollado en 1993, y ha sido comprobada su capacidad de inducir la formación de tejido mineralizado en diferentes sitios del tejido dental; es por esto que sus aplicaciones en odontología han ido en aumento (33). Originalmente fue desarrollado para sellar la comunicación de la pulpa con la superficie externa del diente (34); por eso, actualmente, entre sus usos más comunes destacan la obturación de conductos radiculares, reparación de perforaciones radiculares y de furcas, tapones apicales y retroobturaciones en microcirugías apicales (5, 34).

Debido a la gran utilidad del MTA en endodoncia, se ha promovido, a través de los años, el desarrollo de nuevos productos afines, siempre en busca de mejorarlo. Entre estos, el MTA Flow® brinda, a los profesionales, tres diferentes consistencias que puede adaptarse a cada procedimiento (21). Sus consistencias son: Thick (gruesa), Thin (ligera) y Putty (masilla). La manipulación de cada una de estas consistencias podría alterar sus propiedades, y por lo tanto el resultado esperado.

Análisis del proceso de biomineralización

Los resultados de este estudio nos comprobaron que los cementos MTA Angelus, Biodentine, y MTA Flow® en sus tres consistencias (Putty, Thick y Thin), promovieron la formación de un mismo tipo de precipitado. A partir de los primeros 20 minutos post-inmersión en PBS, se observó la formación de precipitados blancos, los cuales fueron aumentando con el tiempo.

La mayor cantidad de precipitados se observó en el grupo de Biodentine, aunque sin diferencia estadística significativa con MTA Angelus, MTA Flow® Putty (masilla), y MTA Flow® Thick (gruesa). El MTA Flow® Thin (ligera) produjo la menor cantidad de precipitados (*Véanse la tabla 1, y figura 5*).

El análisis de la liberación de ion calcio de los precipitados obtenidos en cada grupo (*Véase la tabla 2*), determinó que fue el Biodentine el que liberó mayor cantidad de ion calcio. El MTA Angelus presentó la mayor cantidad de ion calcio en el día 1. No obstante, para los restantes grupos el pico de liberación iónica se dio en la medición del día 3. A partir del día 5 la liberación de ion calcio fue disminuyendo. El MTA Flow® Thin (ligera) fue el que liberó la menor cantidad de ion calcio.

Los análisis mostraron en conjunto lo que previos estudios han demostrado. Inicialmente nuestros datos fueron obtenidos a partir de una metodología que se desarrolló durante quince días. En el proceso de biomineralización comprobamos, mediante MEB, la formación de una mayor cantidad de precipitados aciculares, con una relación molar de Ca/P de 1,58, típicas de fosfato de calcio amorfo, y en

los precipitados compactos, los cuales se observaron en una menor cantidad, una proporción Ca/P de 1,84.

Esto coincide con los datos de Reyes Carmona *et al.* (5), y lo relaciona con la formación de fosfato de calcio amorfo. Se ha visto que los precipitados aciculares son característicos de la transformación autocatalítica dependiente de pH, desde la fase metaestable del fosfato de calcio amorfo, a una fase de apatita (19). La ocurrencia de los precipitados aciculares es una consecuencia de la actividad superficial de las apatitas, al incorporar elementos en su estructura y sustituir ciertos elementos por otros, resultando en una alteración morfológica (35).

Los resultados del pH de las soluciones en contacto con los cementos mostraron el pico de pH de todos los grupos, en el quinto día (de 11,3 a 10,3), y en el décimo día hubo una leve caída en todas las muestras (10,9 a 10). El Biodentine presentó el pH más alto en cada intervalo, y alcanzó más rápido la alcalinización. El MTA Flow® mostró un comportamiento muy similar durante todo el período, independientemente de su consistencia (*Véase la figura 6*).

Esto concuerda con la teoría de biomineralización. En un pH fisiológico, la formación de apatita carbonatada puede ser descrita como un proceso de dos fases, siendo que en los primeros 5 días, la relación de Ca/P es menor (1,58), y está asociada a un incremento en el pH (de 11,3 a 10,3). Al haber un ambiente alcalino por el aumento de pH, se forma un fosfato de calcio amorfo. Durante la segunda fase, que se da en este estudio a partir del décimo día, se observa un aumento en la relación de Ca/P (1,84), y una leve caída del pH (de 10,9 a 10).

Cuando el pH disminuye a partir del día 10, puede ser atribuido a la incorporación de los iones hidroxilo (OH-) liberados por el cemento, a los sitios OH- de la apatita, promoviendo una fase que va a la conversión de la apatita carbonatada (19).

Al tomar en consideración previos resultados y los actuales, se puede demostrar que, a partir de los diez días, es que inicia el proceso de biomineralización, con la disminución del pH y la transformación del fosfato de calcio amorfo, en apatita carbonatada.

El proceso de biomineralización, según Reyes Carmona et al. (5), inicia a los 30 días, pero a partir de los resultados del presente estudio se pudo observar que es a partir del día 10 cuando empieza a disminuir el pH, y se comienza a formar la apatita carbonatada, proceso que da inicio a la biomineralización, así como se observa de igual manera en otras investigaciones, como la de Reyes Carmona et. al. (5), donde se describe la formación de un precipitado de forma acicular similar al del actual estudio, a partir de 10 días de inmersión de MTA en PBS.

Con base en los resultados de este estudio, se puede evidenciar el proceso de biomineralización promovido por la interacción de los cementos evaluados, con la dentina, en un modelo *ex vivo*.

Evaluación de la fuerza de adhesión-resistencia al desplazamiento (*Push-out*)

Al hacer el ensayo de prueba de resistencia al desplazamiento 72 horas posterior a la obturación de los discos de dentina, el grupo de Biodentine mostró la mayor fuerza de resistencia al desplazamiento. Sin embargo, no hubo diferencias significativas con el MTA Angelus, MTA Flow® Putty (masilla), MTA Flow® Thick (gruesa). La menor fuerza de resistencia al desplazamiento se obtuvo en el grupo de MTA Flow® Thin (ligera).

Luego de la inmersión de las muestras en PBS por 15 días, solo hubo diferencia significativa al comparar MTA Flow® Thin (ligera) con el Biodentine, siendo este último el que mostró la mayor fuerza de resistencia al desplazamiento.

Nuestros datos mostraron que las muestras, inmersas en PBS por 15 días, mostraron significativamente mayor fuerza de adhesión que la fuerza observada en las muestras 72 horas después de ser obturadas. Estos datos nos demuestran que los cinco cementos, utilizados en nuestro estudio, interactúan con el PBS para propiciar un proceso de biomineralización, lo cual inicialmente lleva a una mayor retención del cemento con la dentina, a través de un sistema de adhesión micro-mecánico (36).

Cuanta mayor cantidad de precipitados genere el cemento hay más cantidad de liberación de iones calcio, mayor será el pH, y se dará una mayor biomineralización. Según Reyes Carmona et al. (36), el proceso de biomineralización, promovido por la interacción del MTA con la dentina, mejora la

fuerza de adhesión y la resistencia al desalojo. El Biodentine fue el material que presentó una mayor cantidad de precipitados, y en la prueba de push-out fue el que mostró mayor resistencia al desalojo. El MTA Flow®Thin (ligera) dio como resultado una menor fuerza de adhesión y resistencia al desalojo, lo que se puede relacionar con el hecho de que fue el cemento que menor cantidad de precipitados formó y, por ende, el que producirá una menor mineralización.

Al observar las microfotografías se observa la presencia de un correcto selle marginal en todos los cementos; además, el Biodentine y el MTA Flow®Thin (ligera) presentaron mayor penetración a la dentina. Según los resultados de la prueba de push-out, se demostró que el MTA Flow®Thin (ligera) presentaba la menor resistencia al desalojo y la menor adhesión a la dentina con respecto a los otros cementos, los cuales no presentaron discrepancias estadísticas significativas. Al analizar las microfotografías del MTA Flow®Thin (ligera), se encontraron desajustes marginales y brechas, lo cual se puede deber a que este cemento presenta una consistencia más acuosa y fluida, lo cual hará que se lave con más facilidad y tenga menor resistencia al desplazamiento.

La variación en la fuerza al desplazamiento, puede ser en parte atribuida al tamaño de las partículas del cemento. Cuando un material tiene tamaños de las partículas similares, se obtiene una mayor resistencia al desplazamiento. Por lo tanto, el uso de cementos con partículas desiguales no es apropiado en casos donde se aplicarían fuerzas excesivas contra el cemento, como en la colocación de restauraciones finales (36).

Evaluación de la interface cemento/dentina

La dentina previamente desmineralizada es lo único que se remineraliza en contacto con materiales bioactivos. El MTA Angelus presenta unión química estable con la dentina, debido al grado de remineralización intratubular que logra en un periodo de 15 días; esta unión con la dentina es mayor que entre el mismo material, lo cual es una característica deseable en los cementos bioactivos en general. (Véase la imagen C, figura 12)

A pesar de que no se observa una remineralización completa de la dentina, en las zonas con interface de apatita se observa el MTA Angelus en contacto íntimo con la dentina (Véase las imágenes A y B, figura 12). La remineralización parcial es esperable, debido que es a partir del día 10 el pH empieza a bajar, por lo que el proceso de remineralización hasta el momento es de 5 días únicamente.

El Biodentine inició la formación de una interface de apatita desde los 20 minutos de inmersión en PBS, por lo cual presenta una interface de apatita de mayor grosor y calidad aparente. No obstante, en comparación con el MTA Angelus, no presenta el mismo nivel de remineralización intratubular, pero sí la mejor adaptación marginal a dentina.

El MTA Flow®Putty (masilla) y Thick (gruesa) presentan mineralización intratubular, además de buena adaptación a la dentina, bastante similar al MTA Angelus. El MTA Flow®Thin (ligera), al tener una consistencia más diluida,

presenta una buena infiltración intratubular, pero a la vez, por su consistencia, existe la posibilidad de que se hidrolice, por lo que se observan brechas y defectos importantes en el selle periférico.

Clínicamente es importante lograr una buena adhesión a la dentina, por medio de una adecuada infiltración y remineralización intratubular, características que a los 15 días se observan en el MTA Flow® en cualquiera de sus consistencias. Sin embargo, presentan una interface delgada en grosor en comparación con el Biodentine. Es importante analizar que existe la posibilidad de que el grosor de la interface del MTA Flow® con dentina aumente de tamaño conforme avanza el tiempo y que, además, es preferible una interface delgada, pero con una adecuada remineralización intratubular, que una interface gruesa, pero sin remineralización intratubular.

Con base en la microscopía con fluorescencia, probablemente las zonas que muestren una mayor adaptación marginal sean zonas con un mayor porcentaje de mineralización. El Biodentine tiene una consistencia más fluida que el MTA Angelus. Gracias a esta diferencia de consistencias, el Biodentine en contacto con dentina desmineralizada tiende a generar infiltración dentinaria, pero no remineraliza intratubularmente.

Martini *et al.* (32) mencionan que la capacidad de selle de un material depende de la expansión que este genere; es posible que por esta razón el Biodentine obtuvo buen resultado en la prueba de push-out. Desde el punto de

vista biológico y clínico, además de que tenga un buen selle, se requiere una eficiente remineralización.

El MTA Flow® Putty (masilla) se presenta compacto, pero con zonas de infiltración dentinal; posiblemente, por su consistencia, no logra una infiltración intratubular como el Biodentine. El MTA Flow® Thick (gruesa) logra una mayor infiltración intratubular en comparación con la consistencia Putty (masilla), basado únicamente en la densidad del material.

La menor bioactividad del MTA Flow® (ligera) puede deberse a su consistencia, al presentar mayor fase acuosa y menor cantidad de material. Es probable que el material se hidrolice; por lo tanto, aunque logra un excelente infiltrado intratubular, se desadapta de la dentina y no logra biomineralizar en igual cantidad al resto de muestras. En contraste, Martini *et al.* (32), en su estudio, indican que el MTA Flow® tiene una solubilidad baja, similar al gold standar MTA Angelus; esto se debe a que en dicho estudio únicamente evaluaron el MTA Flow® en consistencia Putty (masilla). A pesar de la capacidad de infiltración dentinaria del MTA Flow® Thin (ligera), este presenta los valores más bajos respecto al ajuste marginal y push-out; además, remineraliza en menor cantidad que todos los demás cementos evaluados. Clínicamente se puede suponer que no brinda el ajuste necesario para una restauración óptima, a pesar de brindar una excelente infiltración dentinaria.

La infiltración dentinaria no debe ser la única característica a considerar cuando se selecciona un material bioactivo; debe tomarse en cuenta la capacidad de remineralizar tanto en interface con dentina como intratubularmente.

Con base en los resultados obtenidos, se recomienda evitar las indicaciones de uso del MTA Flow® Thin (ligera); el mismo se indica para el tratamiento de tapones apicales, pero el evidente desajuste marginal que presenta es una contraindicación directa para dicho uso. La pérdida de volumen de un cemento endodóntico es indeseable, porque este defecto reduce su capacidad de selle, creando así condiciones factibles para la microfiltración bacteriana y de fluidos, comprometiendo así el pronóstico del tratamiento (32). La consistencia ideal del MTA Flow® es Thick (gruesa) y Putty (masilla).

CAPÍTULO IV CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

1. El MTA FLOW® tiene la capacidad de biomineralizar, al igual que el MTA Angelus y el Biodentinte, variando en mayor o menor grado de acuerdo con las distintas consistencias del material.
2. El MTA FLOW®, en sus consistencias Putty y Thick, no mostró diferencias significativas en cuanto a la fuerza de resistencia al desplazamiento, comparado con el MTA Angelus y el Biodentine. Sin embargo, se obtuvo una menor fuerza al desplazamiento en el grupo de MTA FLOW® Thin.
3. El MTA FLOW®, en sus consistencias Putty y Thick, muestra una buena adaptación a la dentina, similar a la observada con el MTA Angelus. Aunque el grosor de la interface fue menor comparado con el Biodentine y el MTA FLOW® en consistencia Thin, a pesar de producir una buena infiltración tubular, se presentan brechas y un selle periférico defectuoso.

CAPÍTULO V PARTE FINAL

5.1 Cronograma

Sesión	Fecha	Procedimiento	Responsables
1	24 de mayo del 2017	Reunión inicial en la Clínica de Endodoncia, Universidad de Costa Rica. Conversar sobre el proyecto.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
2	31 de mayo del 2017	Segunda reunión en la Clínica de Endodoncia. Entrega de bibliografía por parte de los doctores; que se repartió entre los estudiantes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
3	1 de junio del 2017	Recolección de piezas dentales unirradiculares.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
4	6 de junio del 2017	Tercera reunión con la Dra. Reyes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
5	14 de junio del 2017	Limpieza y corte de primer grupo de dientes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
6	20 de julio del 2017	Limpieza y corte de segundo grupo de dientes. Entrega de más bibliografía.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
7	25 de julio del 2017	Se envía primer borrador de antecedentes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
8	2 de agosto del 2017	Segunda recolección de piezas dentales.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas

9	7 de agosto del 2017	Limpieza y corte de tercer grupo de dientes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
10	22 de agosto del 2017	Limpieza y corte de cuarto grupo de dientes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
11	28 de agosto del 2017	Limpieza y corte de quinto grupo de dientes, y entrega de piezas dentales a la Dra. Reyes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
12	30 de agosto del 2017	Compra de materiales que se van a utilizar en la parte experimental. Limpieza y corte de sexto grupo de piezas dentales.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
13	11 de octubre del 2017	Entrega de avance de antecedentes.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas
14	20 de octubre del 2017	Reunión para entrega de resultados y parte estadística.	Olman Chaves Guillermo Hernández Fabiana López Mauren Rojas Maria Fernanda Vargas

Referencias bibliográficas

1. Kaur A, Shah N, Logani A, Mishra A. Biotoxicity of commonly used root canal sealers: a meta-analysis. *Journal of Conservative Dentistry*. 2015; 18(2): 83–88.
2. Ultradent.com [Internet]. Endo-Eze™ MTA Flow™ Cement (Root and Pulp Treatment Material). 2017. Recuperado de: <https://www.ultradent.com/en-us/Product%20Instruction%20Documents/MTA-Flow.pdf>
3. Hench L L. Bioceramics: from concept to clinic. *Journal of the American Ceramic Society*. 1991; 74(7): 1487–1510.
4. Zhou H, Shen Y, Wang Z, Li L, Zheng Y, Hakkinen I, Haapasalo M. In vitro cytotoxicity evaluation of a novel root repair material. *Journal of Endodontics*. 2013; 39(4): 478-83.
5. Martini B, Ricci R, Piazza B, Priori M, Monteiro C, Hungaro M. Chemical-physical properties and apatite-forming ability of Mineral Trioxide Aggregate Flow. *Journal of Endodontics*. 2017; 43(10).
6. Camilleri J. Will Bioceramics be the Future Root Canal Filling Materials?. *Dental Restorative Materials*. 2017.
7. Pătroi D, Gociu M, Prejmerean C, Colcetiu L, Silaghi D L, Moldovan M, Naicu V. Assessing the biocompatibility of a dental composite product. *Romanian Journal of Morphology & Embriology*. 2013; 54(2): 321-326.
8. Reyes Carmona J F, Felipe M S, Felipe W T. The biomineralization ability and interaction of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with dentin in a phosphate-containing fluid. *Journal of Endodontics*. 2009; 35(5): 731-736.
9. Cordeiro M M, Santos A S, Reyes Carmona J F. Mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide promotes in vivo intratubular mineralization. *ODOVTOS-Int J. Dental Sc*. 2016; 18(1): 49-59.
10. Agrafioti A, Taraslia V, Chrepa V. Interaction of dental pulp stem cells with Biodentine and MTA after exposure to different environments. *Journal of Applied Oral Science*. 2016; 24(5): 481-486.

11. Rodríguez G, Álvarez M, García J, Arias S, Sarabia M. El hidróxido de calcio: su uso clínico en la endodoncia actual. *Revista Scielo* 2005; 9: 143-152.
12. Miñana-Gómez, M. El Agregado de Trióxido Mineral (MTA) en endodoncia. *RCOE*. 2002; 7(3): 283-289.
13. Camilleri J. Evaluation of selected properties of mineral trioxide aggregate sealer cement. *Journal of Endodontics*. 2009; 35: 1412–7.
14. Chaple A M, Herrera L. Generalidades del Agregado de Trióxido Mineral (MTA), y su aplicación en odontología: revisión de literatura. *Acta Odontológica Venezolana*. 2007;45(3).
15. Koch K, Brave D. A new day has dawned: the increased use of bioceramics in endodontics. *Dentaltown*. 2009; 10: 39–43.
16. Ginebra M P, Fernández E. Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement. *Journal of Dental Research*. 1997; 76(4): 905–912.
17. Cherng A M, Chow L C, Takagi S. In vitro evaluation of a calcium phosphate cement root canal filler/sealer. *Journal of Endodontics*. 2001; 27(10): 613–615.
18. Reyes Carmona J F, Santos A, Figueiredo C P, Felipe M S, Felipe W T, Cordeiro M M. *In Vivo* Host Interactions with Mineral Trioxide Aggregate and Calcium Hydroxide: Inflammatory Molecular Signaling Assessment. *Journal of Endodontics*. 2011; 37(9): 1225-1235.
19. Tay F R. Bioactivity of mineral trioxide aggregate and mechanism of action. In *Mineral Trioxide Aggregate in Dentistry: From Preparation to Application*. Vol. 9783642551574. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2014; 61-85.
20. Brodbeck W G, Voskerician G, Ziats N P, Nakayama Y, Matsuda T, Anderson J M. In vivo leukocyte cytokine mRNA responses to biomaterials are dependent on surface chemistry. *Journal Biomed Mater Res A*. 2003; 64: 320-9.

21. Reyes Carmona J F, Felipe M S, Felipe W T. A phosphate-buffered saline intracanal dressing improves the biomineralization ability of mineral trioxide aggregate apical plugs. *Journal of Endodontics*. 2010; 36(10): 1648-1652.
22. Özlem M, Meriç K, Ender K. A Review on Biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *BioMed Research International*. 2014.
23. Bhavana V, Chaitanya K P, Gandi P, Patil J, Dola B, Reddy R B. Evaluation of antibacterial and antifungal activity of new calcium-based cement (Biodentine) compared to MTA and glass ionomer cement. *Journal Conser Dent*. 2015; 18(1): 44-6.
24. Han L, Okiji T. Uptake of calcium and silicon released from calcium silicate based endodontic materials into root canal dentine. *International Endodontics Journal*. 2011; 44: 1081-7.
25. Zanini M, Sautier JM, Berdal A, Simon S. Biodentine induces immortalized murine pulp cell differentiation into odontoblast-like cells and stimulates biomineralization. *Journal of Endodontics*. 2012; 38(9): 1220-6.
26. Koubi G, Colon P, Franquin J C, Gilles R, Faure M, Lambert G. Clinical evaluation of the performance and safety of a new dentin substitute, Biodentine, in the restoration of posterior teeth a prospective study. *Clin Oral Invest*. 2013; 17: 243-9.
27. Laurent P, Camps J, About I. Biodentine(TM) induces TGF-beta1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *International Endodontics Journal*. 2012; 45(5): 439-448.
28. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*. 2006; 27(15): 2907-2915.
29. Han L, Okiji T. Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. *International Endodontics Journal*. 2013; 46(9): 808-814.
30. Camilleri J. Investigation of Biodentine as dentine replacement material." *J Dent*. 2013; 41(7): 600-610.

31. Quintana O. Evaluación de la bioactividad del cemento de silicato de calcio (Biodentine ®) y del efecto del grabado dentinario previo a su aplicación. Universidad de Chile. 2016; 21-37.
32. Guneser M B, Akbulut M B, Eldeniz A U. Effect of various endodontic irrigants on the push-out bond strength of biodentine and conventional root perforation repair materials. *Journal of Endodontics*. 2013; 39(3): 380-4.
33. Thomson P L, Grover L M, Lumley P J, Sloan A, Smith A J, Cooper P R. Dissolution of bio-active dentine matrix components by mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*. 2007; 35: 636-42.
34. Torabinejad M, Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *Journal of Endodontics*. 1999; 25: 197-205.
35. LeGeros R Z. Calcium phosphates in oral biology and medicine. En: Myers, H. M, ed. *Monographs in oral science* 15. Basel, Switzerland: Karger; 1991: 4-66.
36. Reyes Carmona J F, Felipe M S, Felipe W T. The biomineralization ability of mineral trioxide aggregate and portland cement on dentin enhances the push-out strength. *Journal of Endodontics*. 2010; 36(2): 286-291.

Anexos

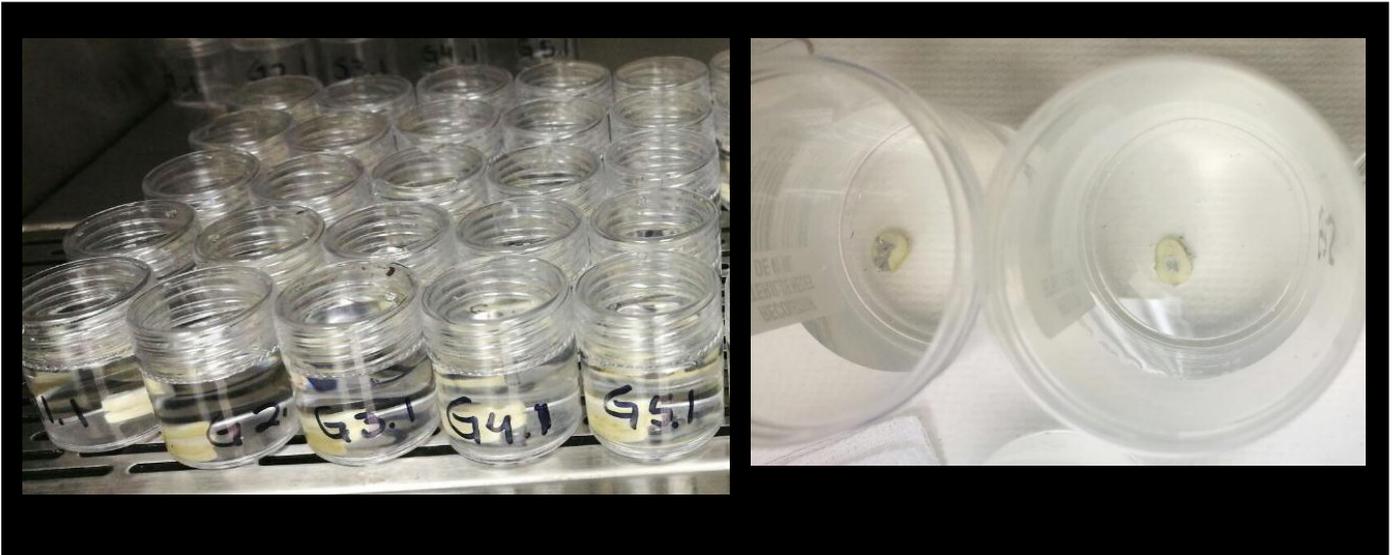


Figura 19. Discos de dentina obturados y almacenados de forma individual en PBS.



Figura 20. Incubadora a una temperatura de 37 °C, y las muestras colocadas dentro de la misma.

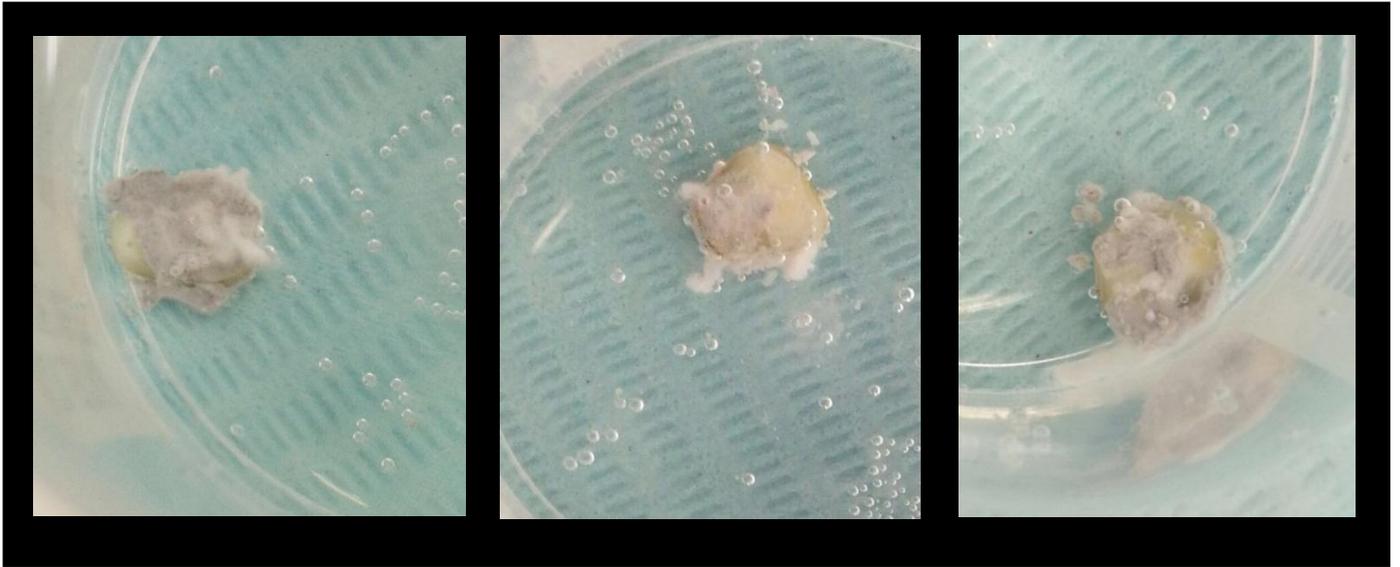


Figura 21. Formación de precipitados sobre discos de dentina obturados, e inmersos en PBS.



Figura 22. pH Pen, PH-50 EXTECH, EE.UU.