

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



TESIS DOCTORAL

Desarrollo y caracterización de dos materiales biocerámicos basados en β -CaSiO₃ (Wollastonita) para el tratamiento pulpar del diente temporal y permanente joven

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTORA

PRESENTADA POR

Vanesa Badillo Perona

Directores

**Paloma Planells del Pozo
Guillermo Pradíes Ramiro**

Madrid, 2016



Universidad Complutense de Madrid
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



Departamento Estomatología I (Prótesis Bucofacial)

**Departamento de Estomatología IV (Profilaxis, Odontopediatría
y Ortodoncia)**

**Desarrollo y caracterización de dos materiales
biocerámicos basados en β -CaSiO₃ (Wollastonita)
para el tratamiento pulpar del diente temporal y
permanente joven**

TESIS DOCTORAL

Autora: Vanesa Badillo Perona

Directores: Dra. Paloma Planells del Pozo

Dr. Guillermo Pradíes Ramiro

A mis padres Alfonso y Ángela, a mi hermana Ángela y a Jorge.

A Rosa, todo un ejemplo de fortaleza.

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a todas las personas que directa o indirectamente han participado en el desarrollo de este trabajo de investigación:

A mis directores, Paloma y Guillermo, por su paciencia y disposición, por introducirme en este proyecto, asesorarme en las distintas etapas y ayudarme a su finalización.

A los integrantes del equipo de investigación en el Instituto de Cerámica y Vidrio: a Raúl García Carrodegua, por su inmensa paciencia, por su dedicación y plena disponibilidad, por dirigir y encauzar toda la fase experimental y desarrollo de los materiales; a Antonio de Aza, por ponerme en contacto con las personas adecuadas y facilitarme todos los medios a su alcance; a M.Ángel Rodríguez Barbero por encontrarte este proyecto empezado y aun así involucrarte al 100% y a todas las personas que me han ayudado en la realización de las distintas pruebas e instruido en el manejo de los distintos equipos.

A la empresa Azurebio por poner los medios necesarios para realizar el estudio de citotoxicidad.

A Bego por no permitirme abandonar y por tus siempre buenos consejos.

A Ana, por ayudarme a finalizar cada iniciativa que emprendo, apoyarme en mis peores épocas y soportarme en el día a día.

A mi queridísima Ángela, por permitir que te arrastre al mundo de la odontología y por acompañarme en nuestro proyecto de clínica dental.

A toda mi familia, pilar fundamental en mi vida, simplemente por estar siempre ahí, a los que no está y a la que dedico especialmente esta tesis.

A Jorge, por apoyarme en todo momento, por estar siempre a mi lado, apoyándome y centrándome, por enseñarme a ser cada día mejor persona.

El presente trabajo experimental de investigación ha sido financiado con cargo a los proyectos del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) de España: MAT2010-17753 y MAT2013-48426-C2-1-R

ÍNDICE GENERAL

1. Abstract y resumen.

1.1 Abstract

1.2 Resumen

2. Introducción.

2.1 Consideraciones del diente temporal.

- 2.1.1 Descripción general.
- 2.1.2 Diferencias esenciales entre la dentición temporal y la permanente.
- 2.1.3 Patología pulpar del diente temporal.
- 2.1.4 Terapéutica pulpar actual en el diente temporal.
 - Recubrimiento pulpar indirecto.
 - Recubrimiento pulpar directo.
 - Pulpotomía
 - Pulpectomía

2.2 Consideraciones del diente permanente joven.

- 2.2.1 Descripción general.
- 2.2.2 Patología pulpar del diente permanente joven.
- 2.2.3 Terapéutica pulpar actual en el diente permanente joven:
 - Recubrimiento pulpar indirecto.
 - Recubrimiento pulpar directo.
 - Pulpotomía vital, apicogénesis o apexogénesis.
 - Pulpotomía parcial.
 - Apicoformación, cierre apical o apexificación
 - Endodoncia regenerativa

2.3 Estado actual de los materiales para la protección y el tratamiento pulpar.

- 2.3.1 Materiales empleados preferentemente en dentición temporal.
 - Óxido de cinc-eugenol.
 - Formocresol.
 - Sulfato férrico.
 - Glutaraldehído.
 - Pasta de yodoformo/yodoformo+ hidróxido de calcio

2.3.2 Materiales empleados en dentición temporal y permanente.

- Hidróxido de calcio.
- Agregado trióxido mineral. Original y modificaciones.
- Nuevos materiales basados en silicato tricálcico: Biodentine® y DiaRoot® Bioaggregate.
- CEM cement.

2.4 Características material ideal para terapia pulpar.

2.5 Definición biomaterial, material cerámico y material bioactivo.

2.6 Biocerámicas en odontología.

2.6.1 Materiales biocerámicos empleados en el tratamiento endodóntico.

2.6.1.1 Agregado Trióxido Mineral (MTA®).

2.6.1.2 DiaRoot Bioaggregate®.

2.6.1.3 Bioglass®.

2.6.2 Materiales biocerámicos empleados como en regeneración ósea.

2.6.2.1 Compuestos de sulfato cálcico.

2.6.2.2 Compuestos de fosfato cálcico.

2.6.2.3 Compuestos de carbonato cálcico.

2.6.2.4 Vidrios cerámicos y vidrios bioactivos.

2.6.3 Materiales biocerámicos empleados a nivel dentinario.

2.6.3.1 Biocerámicas en el tratamiento de la hipersensibilidad.

- Biosilicate®.

- Novamin®.

2.6.3.2 Biocerámicas empleadas como sustituto dentinario.

- Biodentine®.

2.7 Estado actual del empleo de Wollastonita.

2.8 Desarrollo de nuevos materiales biocerámicos uso endodóntico.

2.8.1 Normativa.

2.8.2 Empleo de aditivos para regular las propiedades físicas.

2.8.2.1 Empleo de aditivos para regular la radiopacidad.

2.8.2.2 Empleo de aditivos para regular el tiempo de fraguado.

2.8.2.3 Empleo de aditivos para regular la manejabilidad y consistencia.

3. Hipótesis de trabajo. Objetivos.

4. Material y método.

4.1. Requisitos predeterminados de los materiales a desarrollo.

4.2 Cemento experimental 1.

4.2.1 Preparación fase sólida del cemento 1.

4.2.1.1 Wollastonita sintética natural.

4.2.1.2 Síntesis de aluminato de calcio.

4.2.1.3 Selección del agente radiopacificante.

- Óxido de Bismuto.

- Titanato de Bario.

- Óxido de zirconio.

4.2.2 Preparación fase líquida del cemento 1.

4.2.2.1 Empleo de plastificantes para mejorar la manejabilidad.

- Carboximetilcelulosa.

- Polietilenglicol.

- Polivinilpirrolidona.

4.2.2.2 Regulación del tiempo de fraguado.

4.2.3 Composición de base y presentación del cemento experimental 1.

4.3 Cemento experimental 2.

4.3.1 Preparación fase sólida del cemento 2.

4.3.1.1 Wollastonita sintética natural.

4.3.1.2 Selección del agente radiopacificante.

- Óxido de Bismuto.

- Titanato de Bario.

- Óxido de zirconio

4.3.2 Preparación fase líquida del cemento 2.

4.3.2.1 Regulación del pH.

4.3.3 Composición de base y presentación del cemento experimental 2.

4.4 Ensayos:

- 4.4.1 Estudio de la radiopacidad.
- 4.4.2 Estudio de la composición de fases. Difracción de rayos-X.
- 4.4.3 Estudio del pH y liberación de iones calcio en solución.
- 4.4.4 Estudio de la bioactividad.
- 4.4.5 Estudio de la citotoxicidad.
- 4.4.6 Estudio del tiempo de fraguado. Ensayos de penetración.
- 4.4.7 Ensayo de porosimetría.

5. Resultados.

- 5.1 Resultados estudio de la radiopacidad.
- 5.2 Resultado estudio de la composición de fases. Difracción de rayos-X.
- 5.3 Resultado estudio del pH y liberación de iones calcio en solución.
- 5.4 Resultado estudio de la bioactividad.
- 5.5 Resultado estudio de la citotoxicidad.
- 5.6 Resultado estudio del tiempo de fraguado. Ensayos de penetración.
- 5.7 Resultado ensayo de porosimetría

6. Discusión.

7. Conclusiones.

8. Bibliografía.

1. Abstract y resumen.

1.1 Abstract.

A lot of studies dealing with applications of wollastonite as bone substitute can be found in the scientific literature published in the last years. Availability, low cost, biocompatibility, bioactivity and osteoconductivity of wollastonite are the main reasons for this increasing interest.

Wollastonite-based cements consist in a powder and a liquid which render a workable paste when mixed that may set or not into a hard mass after a few minutes.

This work is aimed to develop and improve new cements including wollastonite in its composition as source of calcium and silicon ions, with potential application in Endodontics as pulp capping and root canal filler.

First, the new setting cements were formulated.

A setting cement was formulated which consisted of a mixture of calcium aluminates (mayenite, Ca₁₂Al₁₄O₃₃ and tricalcium aluminate, Ca₃Al₂O₆) as hydraulic components. Calcium aluminates, similarly to calcium silicates in Mineral Trioxide Aggregate (MTA), but very much faster, form hydrates and set into a hard mass when mixed with water. The mixture of calcium aluminates was obtained in the lab by solution combustion synthesis.

The fast setting of the calcium aluminates was slowed by the addition of citric acid which forms stable soluble complexes with calcium ions and retards the precipitation of the hydrates. The choice of citric acid is supported by its low cost, availability and FDA (Federal Drug Administration) approval as excipient.

In order to improve workability and plasticity of the cement paste several plasticizers were tested (polyvinylpyrrolidone, polyethylene glycol and carboxymethyl cellulose). These plasticizers act as retardants (an undesired effect in this case) because they increase the viscosity of the liquid (desired effect). All of these plasticizers are available and approved as excipients by FDA.

Then, the composition of a non-setting cement was established. It consisted of wollastonite powder and sodium silicate aqueous solution as liquid. The sodium silicate solution provides the

paste with bactericidal properties because of the high pH (> 12) and should also increase the bioactivity and osteogenicity. Besides is easily available and approved by FDA as excipient.

In order to adjust the radiopacity of both experimental cements to the level required for endodontic applications the addition of several solid radiopacifiers to the solid component and their concentrations were assessed. The best result was obtained with 30 % of zirconium oxide which provided the radiopacity required by the ISO standard.

Thus the compositions of the experimental cements were set as follows:

- ✓ **Cement 1**, hereinafter named **CAC 30Z**:
 - **Powder**: 28 % Wollastonite; 42% Calcium Aluminates (\approx 70 % Mayenite; \approx 30 % Tricalcium Aluminate); 30 % Zirconium Oxide.
 - **Liquid**: 25 % Polyvinylpyrrolidone); 0.5% Citric Acid; 74.5 % Water.
- ✓ **Cement 2**, hereinafter named **WEndo 30Z**:
 - **Powder**: 70% Wollastonite; 30 % 30 % Zirconium Oxide.
 - **Liquid**: 37.5 % Sodium Silicate; 62.5 % Water

In the second part of the work, both formulations were characterized by X-ray diffraction to identify the crystalline phases existing before and after mixing with their respective liquids.

The evolution of pH and calcium release from cement probes immersed in simulated body fluid (SBF) of the pastes were monitored in real time as a way to determine their potential bactericidal and bioactive character. More else, the ability of both cements to form surface apatite layer *in vitro* was also confirmed by Scanning Electron Microscopy (SEM).

In vitro cell cultures made on probes of the experimental cements confirmed their cytotoxicity as expected from the high pH values produced by these materials when immersed in aqueous solutions.

The initial and final setting times of CAC 30Z, as determined by the method of the Vicat needle, were 55 and 69 min, respectively. They were significantly lower than those of MTA, but higher than the limit of 30 min required by the ISO standard. However, we expect that setting time can be reduced by further adjustment of the amount of retardant and plasticizer and the rheology of the paste.

Finally, it was established by measures of Hg intrusion that both experimental materials are considerably less porous than the control material, which could contribute to sealing ability and to lower the probability of leakage.

Future studies in a dynamic model, simulating real dental tissues where fluids are in constant renovation, should be accomplished to study the consequences of the high pH and calcium release observed in the static experiments performed in this work. In our opinion, the desired bactericidal and cytotoxic effect caused by the new materials in the first stages of implantation should be considerably attenuated, if not totally eliminated, by the natural circulation of biological fluids in the implantation site, permitting the self-repairing of dental tissue.

1.2 Resumen.

El empleo de la wollastonita ha sido ampliamente documentado en la literatura como sustituto óseo, siendo un material accesible, económico, biocompatible, bioactivo y osteoinductivo.

Los cementos en base a wollastonita se presentan mezclando una fase sólida (polvo) con una fase líquida para formar una pasta manejable, la cual se transforma en una masa dura en pocos minutos (mediante fraguado o desecación).

El objetivo de nuestro trabajo está enfocado a mejorar y desarrollar nuevos cementos donde se emplea la wollastonita como fuente de iones calcio y sílice, para una aplicación endodóntica.

Primero, el nuevo cemento fraguable fue formulado.

El cemento fraguable consiste en una mezcla de aluminatos cálcicos (mayenita, Ca₁₂Al₁₄O₃₃ y aluminato tricálcico, Ca₃Al₂O₆) como componente hidráulico. El aluminato de calcio, al igual que los silicatos de calcio que componen el agregado trióxido mineral (MTA), experimenta una reacción de hidratación al mezclarlo con agua que conduce al fraguado y endurecimiento, pero a diferencia de los silicatos de calcio lo hace mucho más rápidamente. Esta mezcla de aluminatos cálcicos fue obtenida en laboratorio mediante combustión.

El rápido endurecimiento del aluminato de calcio fue regulado mediante la adición de ácido cítrico, el cual actúa como inhibidor retardando la reacción de fraguado mediante el secuestro de iones calcio. Su elección está justificada por ser un compuesto económico y disponible comercialmente, estando aprobado su uso por la Agencia de Alimentos y medicamentos (FDA por Federal Drug Administration) como excipiente.

Para mejorar su manejo y plasticidad se estudian distintos agentes plastificantes (polivinilpirrolidona, polietilenglicol y carboximetilcelulosa). Estos agentes también actúan como retardantes (en nuestro caso un efecto desventajoso) al disminuir la velocidad de reacción de fraguado mediante el incremento de la viscosidad del medio (efecto deseado). Todos ellos son disponibles comercialmente, estando aprobado su uso como excipientes por la FDA.

Tras esto, se procedió a establecer la composición de un segundo cemento no fraguable, consistente en un polvo de wollastonita y silicato de calcio en solución acuosa como líquido. El silicato de sodio proporciona a nuestro cemento unas propiedades bactericidas debido a su alto pH (>12) pudiendo incrementar su bioactividad y osteogenicidad. Siendo disponible y aprobado por la FDA como excipiente.

Para ajustar la radiopacidad de ambos cementos experimentales hasta el nivel requerido para aplicaciones endodónticas se procedió a añadir distintos radiopacificadores a la fase sólida de nuestros cementos a distintas concentraciones. Seleccionándose las formulaciones portadoras de un 30% de óxido de zirconio, la cual cumple la normativa ISO vigente.

Así pues la composición final de los cementos se formuló de la siguiente manera:

- ✓ **Cemento experimental 1** al que denominaremos **CAC 30Z**.
 - **Polvo:** 28% Wollastonita (β -CaSiO₃) + 42% Aluminato de calcio (mayenita Ca₁₂Al₁₄O₃₃ > 70%, aluminato tricálcico Ca₃Al₂O₆ resto) +30% Óxido de zirconio (ZrO₂)
 - **Líquido:** 25% Poli(vinilpirrolidona) (PM 400000) + 0,5% Ácido cítrico (C₆H₈O₇) + 74,5% Agua purificada (H₂O).
- ✓ **Cemento experimental 2** al que denominaremos **WEndo 30Z**.
 - **Polvo:** 70% Wollastonita (β -CaSiO₃) +30% Óxido de zirconio (ZrO₂)
 - **Líquido:** 37,5% Silicato de sodio (Na₃Si₄O_{9,5}) y 62,5% Agua purificada (H₂O)

En la segunda parte del estudio, ambas formulaciones fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X para identificar las fases cristalinas presentes tras mezclarse con sus respectivos líquidos.

La evolución del pH y liberación de iones calcio de los cementos fue determinado mediante su inmersión en suero fisiológico artificial (SBF por stimulated body fluid) y monitorizado a tiempo real, con el objetivo de determinar su poder bactericida y potencial bioactivo. Estando confirmada esta bioactividad mediante la formación in vitro de una capa de apatita en su superficie determinada mediante microscopía electrónica (SEM por Scanning Electron Microscopy).

Cultivos celulares in vitro confirman su citotoxicidad, consecuencia de los altos valores de pH producidos por ambos materiales cuando son inmersos en una solución acuosa.

El tiempo de fraguado inicial y final del cemento CAC 30Z, determinado mediante aguja de Vicat, fue de 55 y 69 minutos respectivamente. Estos resultados son significativamente inferiores que los obtenidos para el MTA, pero superiores que el límite de 30 minutos recomendado por la normativa ISO vigente. Sin embargo, consideramos que este tiempo se puede regular en estudios posteriores mediante la modificación de las propiedades reológicas de los distintos compuestos y la regulación de los retardantes y plastificantes empleados.

Finalmente, se estableció mediante porosimetría por inyección de mercurio que ambos materiales experimentales son considerablemente menos porosos que el material control, lo cual contribuye a su capacidad de sellado y disminuye su posibilidad de filtración.

Estudios futuros en un modelo dinámico, donde se simule los tejidos dentales donde encontramos fluidos en constante renovación, podrá evidenciarse la consecuencia de este elevado pH y liberación de iones calcio observado en estudios estáticos realizados en este trabajo. En nuestra opinión, el deseado efecto bactericida y citotóxico causado por estos nuevos materiales en las primeras etapas de su implantación será atenuado, o totalmente eliminado por la circulación natural de los fluidos biológicos en el sitio de implantación, permitiendo la auto reparación del tejido dental.

2. Introducción

La dentición temporal presenta algunas características específicas y diferentes de la dentición permanente y es de extrema importancia para que el ser humano pueda tener un crecimiento craneofacial y corporal adecuado, un correcto desarrollo de las funciones de masticación, deglución, y desarrollo del lenguaje, tener una estética adecuada para la edad, que ayudará al correcto desarrollo de la autoestima y realizar adecuadamente el proceso de socialización propio de la etapa infantil.

Además, los dientes temporales intervienen como guía para la erupción y el desarrollo de la oclusión de los dientes permanentes (Rodd, 2000). Dada la importancia de la salud de los dientes temporales y la necesidad de que estos presenten una pulpa sana, los científicos siguen realizando investigaciones que permitan conocer sus características así como sus mecanismos de reacción frente a situaciones de agresión (Waterhouse, 2008).

La presencia de la dentición permanente joven en las arcadas dentarias del niño y adolescente es fundamental para que el proceso de erupción y desarrollo de los maxilares se produzca de forma fisiológica.

Los tratamientos de conductos pulpares tanto en dentición temporal como permanente inmadura son por tanto, fundamentales para que los citados objetivos se cumplan.

Tal como escribe Waterhouse (Waterhouse, 2008), la pulpa de los dientes temporales posee un buen potencial para la reparación y curación tisular. Esta autora sugiere que, a la luz de estos hallazgos contemporáneos, los clínicos deberíamos re-evaluar nuestra aproximación a la terapia pulpar en la dentición temporal y que las investigaciones se deberían direccionar hacia la búsqueda de evidencia científica para terapias pulpares con materiales que favorezcan la regeneración pulpar.

2.1 Consideraciones del diente temporal.

2.1.1 Descripción general.

La especie humana, como todos los mamíferos, es bifiodonta, es decir, posee dos series completas de dientes que erupcionan en dos procesos separados en el tiempo. La primera

dentición, denominada temporal, decidua, caduca o de leche, está formada por un total de 20 dientes, que van emergiendo en la cavidad bucal entre los seis meses y los dos años y medio de edad. La fórmula dentaria para la dentición temporal es de 2 incisivos, 1 canino y 2 molares por cuadrante.

2.1.2 Diferencias esenciales entre la dentición temporal y la permanente.

Los dientes primarios se distinguen de los permanentes por los llamados caracteres de la dentición, que son un conjunto de rasgos diferenciadores que resultan de la comparación de ambas denticiones entre los que cabe destacar:

- Los dientes primarios son más pequeños que sus análogos permanentes tanto en la longitud de sus coronas como en la de sus raíces.
- El esmalte de los dientes temporales es de color blanco azulado en comparación con el blanco amarillento de los dientes permanentes.

a. Rasgos coronales:

Las superficies oclusales de los dientes temporales son más estrechas en sentido vestibulolingual que las coronas de los dientes permanentes.

El índice corona-longitud del diente es menor para los dientes temporales que para los permanentes, es decir, que la corona es, en relación con la raíz, más corta en los dientes temporales.

En los dientes primarios el diámetro mesio-distal máximo de la corona es proporcionalmente mayor, en relación con la altura de la corona, que en su sucesor permanente por lo que su aspecto es de una corona engrosada.

La presencia de superficies linguales y labiales abultadas en los dientes temporales anteriores y de las crestas vestibulocervicales que aparecen en las caras vestibulares de los molares, con sus consiguientes constricciones a nivel de la línea cervical, es otro rasgo característico y diferenciador de la dentición temporal con respecto a la permanente.

Los dientes temporales presentan áreas de contacto más amplias y planas que la de los dientes permanentes.

b. Rasgos radiculares:

Las raíces de los dientes temporales carecen de tronco radicular, lo que implica que salen directamente de las coronas y además tienden a arquearse, formando un

espacio interior ocupado por los gérmenes de los premolares permanentes durante su proceso de formación.

c. Rasgos pulpares:

El tamaño de la cámara pulpar en la corona es relativamente mayor en un diente temporal que en uno permanente. Los cuernos pulpares de los dientes temporales se localizan más cerca de la superficie externa del diente, siendo el cuerno mesiovestibular el más prominente.

Los conductos radiculares en los molares temporales son irregulares en cuanto a su forma como a su número.

d. Rasgos histológicos:

Los dientes temporales tienen menor grosor de esmalte y menor espesor dentinario que los dientes permanentes.

Los prismas de esmalte del tercio gingival de la corona se extienden en dirección oclusal a partir de la unión amelodentinaria, a diferencia de la de los dientes permanentes, que se encuentran en dirección cervical.

Los dientes temporales presentan una menor resistencia a infecciones, por su menor espesor de esmalte y dentina.

Los dientes temporales tienen una menor sensibilidad dentinaria.

El esmalte de los dientes temporales se encuentra calcificado en menor grado que el esmalte de los dientes permanentes.

2.1.3 Patología pulpar del diente temporal

Como consecuencia de algunas de las características morfológicas y anatómicas señaladas anteriormente, los dientes temporales presentan una mayor actividad y progresión de la caries debido al menor grosor de esmalte y la dentina, con el inconveniente añadido de una pulpa más accesible por su cercanía a la superficie externa del diente (Gorritxo-Gil, 2011).

Hace no demasiados años, se teorizaba acerca de que en respuesta a la lesión por caries, los dientes temporales presentaban una reacción inflamatoria más pronunciada y generalizada que los dientes permanentes en igual situación. Este conocimiento fue refutado por investigaciones inmunohistoquímicas que demostraron igualdad entre las dos denticiones en cuanto al nivel de vasodilatación y angiogénesis en respuesta a una agresión por caries, con una respuesta predominante en la región de los cuernos pulpares. A pesar de que los dientes temporales presenten más células inmunes en ambas situaciones de diente intacto o con caries, parece que

éstas se localizan de forma similar que en los dientes permanentes (Waterhouse, 2008).

El proceso inflamatorio en la pulpa no difiere significativamente del de otros tejidos. Sin embargo existen una serie de peculiaridades que lo caracterizan especialmente: el ambiente físico de la pulpa condicionado por la dentina y el esmalte, es un espacio cerrado, limitado e inextensible, con escasa resistencia al edema. Además la vascularización es terminal y por otra parte la pulpa presenta la capacidad de formar dentina reparativa.

La reacción de la pulpa frente a una lesión severa; caries, trauma o lesión iatrogénica, se inicia con la formación de dentina reparativa secretada por células mesénquimales diferenciadas en nuevos odontoblastos; la calidad y el grosor de esta dentina dependerá de la rapidez en la progresión de la lesión. Cuanto más rápida, más irregular y escasa es esta dentina, y por lo contrario más intensos son los agentes irritantes. A continuación se origina una dilatación vascular y se observa la presencia de células inflamatorias que originan una pulpitis crónica parcial. Si el estímulo continúa, se agudiza esta y progresa en sentido apical a una pulpitis crónica total con posibilidad de necrosis.

Una vez realizada la historia clínica y la exploración clínica y radiológica, y con ayuda de nuestro juicio clínico, estableceremos el diagnóstico, que finalmente determinará el tratamiento más adecuado. Básicamente, en lo que se refiere a la dentición temporal, debemos concretar si la pulpa se encuentra en un estado reversible o por el contrario irreversible con necrosis. Así hablaremos de:

- Pulpitis reversible, que histológicamente correspondería a una pulpitis crónica de la pulpa coronal (parcial) y se caracterizaría por ausencia de dolor espontáneo o persistente, no sensibilidad a la percusión ni palpación, ausencia de movilidad patológica, afectación pulpar durante la eliminación de la dentina careada, con aspecto de la pulpa de color rojo y hemorragia controlable a la presión y ausencia de signos radiográficos patológicos.
- Pulpitis irreversible, con dolor espontáneo y persistente, hipersensibilidad a la percusión o palpación, aspecto pulpar fragmentado, con color rojo vinaceo y hemorragia abundante. El cuadro histológico se correspondería con una pulpitis crónica total, con afectación de la pulpa coronal y radicular.
- Necrosis pulpar, con signos claros de degeneración pulpar como la presencia de abscesos, fístulas, movilidad y lesiones radiográficas evidentes (Cortés-Lillo, 2011).

2.1.4. Terapéutica pulpar del diente temporal.

Según el nivel de la pulpa donde actuemos y estado de esta, diagnosticado previamente mediante anamnesis y las pruebas oportunas, distinguimos:

A. Recubrimiento pulpar indirecto (RPI):

Se lleva a cabo en dientes con caries profundas, próximas a la pulpa, sin que existan signos o síntomas de afectación pulpar. Con el fin de evitar una exposición pulpar, se elimina la dentina infectada, manteniéndose una capa de dentina desmineralizada pero no infectada la cual se cubre por un material biocompatible, con el objetivo de estimular a la dentina remanente a la cicatrización y reparación, así como bloquear el paso de bacterias e inactivar las pocas que puedan quedar.

Entre los materiales empleados actualmente encontramos: adhesivo dentinario, vidrio ionómero modificado con resina, hidróxido de calcio, óxido de cinc-eugenol o cemento de vidrio ionómero (Cortés-Lillo, 2011) (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014)

B. Recubrimiento pulpar directo (RPD):

Consiste en la aplicación de un medicamento, recubrimiento o material dental en casos de exposición del tejido pulpar con el objetivo preservar la vitalidad de la pulpa, evitando posteriores procedimientos endodónticos invasivos (Tuna, 2008) (Aguado 2009). El éxito de dicho procedimiento va a estar condicionado por distintos factores como son; la edad del paciente, el estadio de formación radicular, tamaño de la exposición y la presencia de contaminación microbiana, como factores más importantes. Entre los materiales empleados encontramos: cementos de óxido de zinc-eugenol, cementos de hidróxido de calcio, cementos de vidrio ionómero y más recientemente el MTA (Koulaouzidou, 2008) (Fuks, 2008) (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014).

C. Pulpotomía:

Indicada en dientes temporales con inflamación pulpar debida a caries y dientes permanentes jóvenes. Consiste en la amputación de la porción coronal de la pulpa dental afectada o infectada y la aplicación de un material que proteja a la pulpa radicular, diagnosticada como sana tras la

exploración clínica y radiológica (Aguado 2009) con el objetivo de mantener el diente funcionalmente en la cavidad oral hasta su exfoliación mediante la preservación de la pulpa radicular (Moretti, 2008) (De Souza-Costa, 2008) (Eghbal, 2009) (Ng, 2008) (Jabbarifar, 2004) (Sakai, 2009) (Cardoso-Silva, 2011) (Maroto, 2004) (Simancas-Pallares, 2010).

Para que este tratamiento sea considerado como exitoso debe (1) mantener la vitalidad de la mayor parte de la pulpa radicular con (2) ausencia de síntomas o signos clínicos patológicos como dolor, tumefacción o sensibilidad y (3) la inexistencia de signos radiológicos (reabsorción interna, trastornos del tejido peri radicular y/o lesiones del diente de reemplazo) (Maroto, 2004).

Los requisitos que un material empleado para pulpotomía debe cumplir son; ser bactericida, no dañar la pulpa y tejidos circundantes, promover cicatrización de la pulpa radicular y no interferir en el proceso fisiológico de reabsorción (Sonmez, 2008), manteniendo la pulpa radicular vital y sana (Maroto, 2004).

El procedimiento de pulpotomía puede clasificarse en función de los objetivos del tratamiento en: desvitalización (momificación, cauterización), preservación (mínima desvitalización) o regeneración (reparación) (Ng, 2008). La desvitalización hace referencia a la destrucción del tejido vital y está tipificada por el formocresol. La preservación indica que hay un intento por mantener el máximo tejido vital aunque sin la inducción de la dentina reparativa, como es el caso del sulfato férrico y en su momento fue el glutaraldehído. Por último la regeneración tiene como objetivo más importante mantener el tejido vital y estimular la formación de dentina reparativa (Cortés-Lillo, 2011)

Si la inflamación se ha propagado hacia el interior de los tejidos de los conductos radiculares, la pulpotomía no está indicada y debe valorarse un tratamiento de pulpectomía o de extracción del diente afectado (Maroto-Edo, 2004) (Camp, 2002).

El tratamiento de pulpotomía en dientes temporales está contraindicado en cualquiera de estas circunstancias (Maroto-Edo, 2004) (Camp, 2002) (Fuks, 1997):

- Presencia de inflamación de los tejidos blandos adyacentes (de origen pulpar).
- Presencia de absceso o fístula.
- Presencia de movilidad patológica.
- Signos de degeneración de la pulpa radicular.
- Imágenes radiológicas de lesión en furca o en periápice.
- Reabsorción radicular patológica, interna o externa.
- Imagen de ensanchamiento patológico del ligamento periodontal.

- Presencia de menos de la mitad de la longitud radicular.
- Calcificaciones pulpares o ausencia de sangrado de la pulpa o excesivo sangrado tras la amputación pulpar sin posibilidad de que la hemorragia sea controlada mediante presión.
- Pulpa con drenaje seroso purulento.
- Historia de dolor espontáneo o nocturno.
- Sensibilidad a la percusión o palpación.
- Destrucción coronaria que no permita un correcto sellado de la restauración.

D. Pulpectomía

Es el procedimiento indicado cuando el tejido pulpar está irreversiblemente infectado o necrótico debido a caries o trauma. El objetivo del procedimiento de pulpectomía en dientes primarios debe ser la reducción de la población bacteriana de la pulpa contaminada, es decir, limpiar el conducto pero no su ensanchado y remodelado, para lo cual se utilizan soluciones de irrigación como puede ser: agua estéril, suero fisiológico o hipoclorito sódico al 2.5-5.2%. El material a utilizar en la obturación del conducto debe ser reabsorbible al mismo tiempo que la raíz, antiséptico y no irritante para los tejidos adyacentes ni el germen del diente permanente, además debe adherirse a las paredes del canal radicular y si fuese necesario, de fácil eliminación.

El óxido de zinc eugenol ha sido hasta ahora el más utilizado, sin embargo, incluso el puro que no lleva partículas de resina tiene dificultad para su reabsorción y origina las reacciones típicas frente a un cuerpo extraño, además el eugenol tiene un efecto irritativo sobre los tejidos y pierde sus propiedades antibacterianas una vez ha fraguado. En la actualidad se recomienda la utilización de pasta iodofórmica con hidróxido de calcio (Vitapex®), con las que se han obtenido unos resultados clínicos y radiológicos muy favorables, estos materiales se aplican con facilidad, se reabsorben adecuadamente y son radiopacos. Sin embargo, hay estudios que sugieren que la pasta iodofórmica en contacto con los tejidos celulares es citotóxico al igual que el óxido de zinc-eugenol (Cortés-Lillo O, 2011), Otros materiales empleados son pasta iodofórmica (KRI) (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014), e hidróxido de calcio radiopaco (Calcur®, Sealapex®) (Barcelos, 2011).

2.2 Consideraciones del diente permanente joven.

2.2.1 Descripción general.

Los dientes permanentes jóvenes se distinguen por su erupción reciente y un cierre radicular apical incompleto. La maduración se completa habitualmente alrededor de los 3 años siguientes de la aparición del diente en boca (Álvarez-Álvarez, 2011).

El diente permanente joven va a presentar una serie de características especiales las cuales va a condicionar su terapéutica; encontramos unas raíces inmaduras, en las cuales la presencia de la pulpa es indispensable para continuar el proceso de apexogénesis, ya que una retención a largo tiempo del diente permanente requiere una adecuada proporción corono-radicular, derivado de ese cierre radicular incompleto encontramos unas paredes dentinarias finas inadecuadas para una función normal. Por tanto, la preservación pulpar va a ser el principal objetivo de nuestro tratamiento en el diente permanente joven. Sin embargo, un diente que carezca de pulpa vital puede mantenerse clínicamente funcional. Las indicaciones, objetivos y tipo de tratamiento dependerán si la pulpa está vital o no vital, el origen de la exposición (iatrogénica, traumática o infecciosa por caries) y tamaño de esta (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014).

2.2.2 Patología pulpar del diente permanente joven.

Uno de los aspectos que hacen difícil establecer un adecuado tratamiento pulpar es la determinación del estado de la pulpa. La pulpa posee un potencial reparador inherente, que es aún mayor en el caso de los dientes en desarrollo. Así además de la dentinogénesis fisiológica, primaria durante el desarrollo del diente y secundaria a lo largo de la vida del diente, el órgano dentinopulpar puede producir como respuesta a una lesión una dentinogénesis no fisiológica. De manera que ante una lesión leve se originaría una dentina reactiva o también denominada terciaria, formada por los odontoblastos primarios y con característica tubular (al igual que la dentina primaria o secundaria). Sin embargo ante una lesión severa los odontoblastos originales se destruyen y en las condiciones adecuadas podrían diferenciarse unas nuevas células que son las denominadas "odontoblast like-cells" que segregarán una dentina reparativa aunque con características atubulares.

El tipo de lesión que afecte a la pulpa no solo estará relacionado por la caries o un trauma, influyendo otros factores como la preparación de una cavidad, el tipo de restauración o la

técnica y el método de la restauración. Así ante una exposición por caries, la dentina y la pulpa suelen estar infectadas, en mayor o menor grado dependiendo de la lesión, mientras que en una exposición traumática, la pulpa puede mantenerse vital y no infectada si el tratamiento es inmediato.

En cuanto a la patología pulpar, al igual que en el diente temporal, el diagnóstico del estado de la pulpa del diente permanente condicionará el tipo de tratamiento a seguir:

- Pulpitis reversible (pulpa tratable): Recubrimiento pulpar indirecto, recubrimiento pulpar directo, pulpotomía parcial, pulpotomía total o apicogénesis.
- Pulpitis irreversible-necrosis (pulpa no tratable): Apicoformación (Álvarez-Álvarez, 2011).

2.2.3 Terapéutica pulpar del diente permanente joven.

Los dientes permanentes jóvenes presentan una mayor capacidad de la pulpa para reaccionar adecuadamente a diversas agresiones por lo que son buenos candidatos para aquellos tratamientos que persiguen la reparación pulpar.

A. Recubrimiento pulpar indirecto (RPI):

El RPI en diente permanente joven tiene como objetivo evitar la exposición pulpar directa, preservando la vitalidad de la pulpa y por tanto, el cierre apical fisiológico. Es un procedimiento terapéutico útil en dientes con lesiones de caries profundas y patología pulpar reversible. El objetivo es fomentar la cicatrización de la pulpa, eliminando la mayor cantidad de bacterias y el sellado de la lesión, lo cual estimula la esclerosis de la dentina y la formación de dentina reparadora.

Se diferencia del procedimiento realizado en dentición temporal de la necesidad de reintervención en el diente permanente joven. Transcurrido un período mínimo de 6-8 semanas, se anestesia y aísla el diente con dique de goma, procediéndose a retirar la restauración temporal y el revestimiento empleado. Tras lo cual se procede a la eliminación cuidadosa de la caries restante, que ya presenta ciertos signos de esclerosis, mostrando una capa de dentina sana sin exposición pulpar. Finalizándose la preparación cavitaria y restauración del diente de modo convencional (Álvarez-Álvarez, 2011) (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014).

B. Recubrimiento pulpar directo (RPD):

El objetivo de este tratamiento es mantener la vitalidad pulpar formando una barrera calcificada en el lugar de la exposición. Estaría indicado si se producen una serie de circunstancias:

- Exposición mecánica accidental menor de 1mm causada por una preparación cavitaria excesiva que ocurre en dientes perfectamente aislados con aislamiento absoluto.
- Exposiciones pulpares puntiformes debidas a caries y rodeadas de dentina sana en un diente clínica y radiográficamente asintomático con hemorragia controlable en el punto de la exposición.
- Lesiones traumáticas de poco tiempo de evolución en la que la fractura de corona se une una exposición pulpar menor de 1mm de diámetro. Si el tiempo transcurrido es amplio, o la superficie pulpar expuesta supera ese tamaño, es mejor emplear otras técnicas.

El material de elección para tratamientos de RPI y RPD es el hidróxido de calcio, que estimula el tejido pulpar para que repare la zona lesionada formando un puente de dentina, además por su elevado pH presenta un efecto antimicrobiano (Álvarez-Álvarez, 2011). Existe controversia en el empleo del MTA para este fin, siendo aceptado en las guías americanas (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014), sin embargo la Asociación Internacional de Traumatología Dental (IADT por International Association for Dental Traumatology) lo desaconseja en diente permanente debido al cambio de color que produce (IADT, 2012)

C. Pulpotomía parcial:

Consiste una amputación parcial, o de poca profundidad, de la pulpa cameral. Estando indicado en caries profundas con pulpa expuesta o en exposiciones traumáticas, donde se denomina Pulpotomía de Cvek. Al igual que el anterior, los materiales de elección son el hidróxido de calcio y encontramos controversia con el empleo del MTA (Álvarez-Álvarez, 2011) (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014) (IADT, 2012)

D. Pulpotomía vital, apicogénesis o apexogénesis:

Indicado si la exposición pulpar de un diente permanente joven es de tamaño considerable o mucho tiempo de evolución, de forma que la pulpa coronal (aunque no la radicular) se encuentra infectada, inflamada o con pocas posibilidades de conservar la vitalidad. El tratamiento consiste en eliminar la porción coronal de ésta y preservar la vitalidad de la pulpa radicular para permitir el desarrollo de la raíz y la apicogénesis o cierre apical.

Tras la amputación de la pulpa coronal y consecución de la hemostasia se coloca hidróxido de calcio en contacto directo con el tejido pulpar que queda en los conductos, para que estimule la calcificación y un puente de dentina sobre la amputación. Tras finalizar el cierre apical, se aconseja realizar el tratamiento endodóntico convencional con gutapercha (Álvarez-Álvarez, 2011).

El MTA parece ser también un material apropiado para este tipo de tratamiento, siendo su principal inconveniente es que una vez fraguado es imposible de eliminar, por lo que no estaría indicado en aquellos casos donde el estado pulpar no esté claro y, se pueda necesitar otro tratamiento posterior (Álvarez-Álvarez, 2011), estando desaconsejado por la IADT por los mencionados problemas de discoloración (IADT, 2012).

E. Apicoformación, cierre apical o apexificación:

Si el diente permanente joven presenta una degeneración pulpar extensa o una necrosis total, con signos clínicos y radiográficos de reacción periapical, se realizará el tratamiento de apicoformación, cuyo objetivo es conseguir un cierre apical para posteriormente realizar el sellado radicular.

El procedimiento se lleva a cabo mediante la remoción del tejido coronal y radicular no vital y la colocación de un material biocompatible como el hidróxido de calcio para estimular el cierre radicular o la creación de una barrera apical mediante la aplicación del MTA.

Debido a que el hidróxido de calcio se desvanece con el tiempo, se aconseja reemplazarlo, según distintos autores, cada 3 o 6 meses hasta que se produzca el cierre apical, tras el cual se procede a realizar el tratamiento endodóntico convencional (Álvarez-Álvarez, 2011) (Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth, 2014). Dicho requerimiento precisa de múltiples visitas, un largo tiempo de tratamiento hasta que el cierre radicular es completado (Thomson, 2010), junto con un mayor riesgo de fractura radicular, debido a una mayor fragilidad

de la dentina radicular resultante (Nosrat, 2011) (Chueh, 2009) y obliteración total del conducto (Chueh, 2009).

Una alternativa a la apexificación con hidróxido de calcio la constituye la creación de una barrera apical mediante MTA, técnica que reporta un alto porcentaje de éxito, reduce el número de sesiones clínicas vs. al hidróxido de calcio. Presentando la desventaja de no permitir el desarrollo radicular completo, obteniéndose por tanto, una estructura radicular frágil (Nosrat, 2011).

F. Endodoncia regenerativa:

La endodoncia regenerativa se inicia en 1971 por Nygaard-Östby & Hjortdal, (Reynols, 2009) definiéndose como aquellas técnicas “basadas en procesos biológicos destinados a reemplazar el complejo dentino-pulpar enfermo, alterado o traumatizado”. Englobando la ingeniería tisular y la revascularización (Bansal, 2011) (Murray, 2007). Aunque según autores como García-Godoy y cols. incluiría también procesos más comunes en nuestra práctica diaria como son la pulpotomía parcial y la apexogénesis (García-Godoy, 2012).

La revascularización se basa en la “formación de un nuevo tejido vital a través del tejido presente en el propio diente, permitiendo el continuo desarrollo radicular”. El método de revascularización presupone que el canal pulpar ha sido desinfectado y la formación de un coágulo sanguíneo contribuye a la formación de una matriz que permite la migración de células que inician la nueva formación tisular (Bansal, 2011). La pasta tri-antibiótica o “3-MIX” (ciprofloxacino, metronidazol y minociclina) (Thomson, 2010) (Nosrat, 2011) fue propuesta por Hoshino y cols. como desinfectante del sistema de conductos en esta técnica (Hoshino, 1996).

Entre las ventajas descritas para esta técnica encontramos que el tejido formado forma una parte integral del diente, evitando problemas de retención de la restauración y posibilidad de filtración bacteriana, obteniéndose un desarrollo completo de las paredes radiculares (Bansal, 2011).

Entre los inconvenientes descritos encontramos una discoloración del diente tratado posiblemente debido a la minociclina (Thomson, 2010) (Reynols, 2009) (Nosrat, 2011). Para evitar dicha alteración del color se ha propuesto la utilización de tetraciclinas como medicamento intracanal, la sustitución de esta por amoxicilina (Thomson, 2010) o por cefaclor

(Nosrat, 2011) o el empleo de grabado ácido y adhesivo (Reynols, 2009), y la existencia de cepas de bacterias resistentes (Nosrat, 2011).

2.3 Estado actual de los materiales para la protección y el tratamiento pulpar.

En el siguiente apartado se procederá al desarrollo de los distintos materiales empleados actualmente en terapia pulpar. Por lo general, a día de hoy, para cada tratamiento descrito existen distintas alternativas (tabla 2.1):

		RPI	RPD	Pulpotomía	Pulpectomía	Apexogénesis	Apexificación
Dentición temporal*	Óxido de Cinc-Eugenol	x	x		x		
	Formocresol			x			
	Sulfato Férrico			x			
	Glutaraldehido			x			
	Yodoformo				x		
	Yodoformo+ HC				x		
Ambas denticiones	Hidróxido de calcio	x	x	x	x	x	x
	MTA y derivados		x	x		x	x
	Materiales basados en silicato tricálcico		x	x			

Tabla 2.1: Materiales terapia pulpar y sus indicaciones (* utilizados preferentemente en dentición temporal)

2.3.1 Materiales utilizados preferiblemente en dentición temporal.

A. Óxido de Cinc-Eugenol

El óxido de cinc-eugenol (ZOE) es un cemento orgánico-metálico en base a eugenol. Siendo su composición típica (tabla 2.2):

Componente		Peso (%)
Polvo	Óxido de cinc	69
	Colofonia blanca	29,3
	Estearato de cinc	1
	Acetato de cinc	0,7
Líquido	Eugenol	85
	Aceite de oliva	15

Tabla 2.2: composición del cemento de óxido de zinc eugenol (Tomada de Vallejo-Bolaños, 2011)

El eugenol posee propiedades antibacterianas y antiinflamatorias. Es capaz de difundir a través de los túbulos dentinarios y producir un efecto sedante pulpar. Además es un buen aislante térmico. Estas tres propiedades lo hacen un material indicado en recubrimientos indirecto, tanto en dentición temporal como permanente (Vallejo-Bolaños, 2011).

Su empleo como material de relleno endodóntico en pulpectomía en dentición temporal fue descrito por Sweet AC en 1930. Entre las desventajas descritas encontramos: una lenta reabsorción, irritación de los tejidos periapicales y cambios en el patrón de erupción del diente permanente. Causando también necrosis de hueso y cemento cuando se produce su extrusión a través del ápice del diente (Bahtololoomi, 2015).

Bahtololoomi y cols. (Bahtololoomi, 2015) en su estudio retrospectivo evalúan el éxito clínico y radiológico en 76 pulpectomías en dientes temporales necróticos realizadas con óxido de cinc eugenol, con un tiempo de seguimiento comprendido entre 6 y 59 meses (tiempo medio de seguimiento 24 meses) obteniendo un éxito clínico de un 97,4% y radiológico de un 93,4%.

Barcelos y cols. (Barcelos, 2011) en su revisión sistemática de los años 1950 a 2010, de pulpectomías realizadas con ZOE y un tiempo mínimo de seguimiento de 12 meses, documentan un porcentaje de éxito comprendido entre el 85-100%.

Trairatvorakul y cols. (Trairatvorakul, 2008) no obtienen diferencias significativas en cuanto al éxito obtenido en pulpectomías en diente temporal a los 12 meses (n= 44) cuando comparan el ZOE (85% éxito) y el preparado comercial de hidróxido de calcio y yodoformo Vitapex® (89%), variando significativamente a los 6 meses (48 y 78% respectivamente)

B. Formocresol

A día de hoy, se trata del tratamiento más difundido para su empleo en pulpotomía en dentición temporal. La fórmula más utilizada fue introducida por Buckley a principios del siglo XX y consiste en 19% de formaldehído, 35% de cresol, 15% de glicerina y agua. Los componentes activos es el formaldehído que es un fijador y el cresol, que permite la difusión (Álvarez-Álvarez, 2011), empleándose en la proporción 1:5 (Lin, 2014).

Esta mezcla previene la autólisis del tejido mediante la fijación a las proteínas. El cresol es localmente destructivo con los tejidos vitales, pero el riesgo de distribución sistémica en un tratamiento pulpar es prácticamente inexistente, sin embargo el formaldehído si es distribuido sistémicamente después de un tratamiento pulpar, siendo clasificado por la organización mundial de la salud cómo carcinogénico para humanos (Smaïl-Faugeron, 2014). Actualmente su uso se encuentra cuestionado debido a sus efectos adversos tales como su potencial carcinogenicidad, mutagenicidad y citotoxicidad (Lin, 2014).

Estudios in vivo en humanos actuales reportan un porcentaje de éxito clínico y radiológico a los 12 meses del 81% según el estudio de Olatosi y cols. (Olatosi, 2015), similares resultados clínicos (92,1%) y radiológicos (86,8%) a los 12 meses publican Al-Mutairi y cols. (Al-Mutairi, 2013).

C. Sulfato férrico

El sulfato férrico es un agente hemostático que forma un coágulo mediante una unión metal-proteínas en la superficie del muñón pulpar, sellando los capilares sanguíneos y actuando como barrera frente a los componentes irritantes de los materiales colocados sobre él. No se han publicado datos de toxicidad conocida ni distribución sistémica (Faugeron, 2014).

Estudios recientes in vivo en humanos muestran unos resultados clínicos y radiológicos comprendidos entre el 95,2% a los 30 meses publicado por Yildiz y cols. (Yildiz, 2014), y el 88% a los 24 meses de Erdem y cols. (Erdem, 2011).

D. Glutaraldehído

Fue propuesto su uso como material de fijación pulpar por Gravenmade en 1975, en dilución al 2% durante 5 minutos. Presenta una mayor capacidad de fijación que el formocresol. Sin embargo posee una toxicidad y mutagenicidad similar al formocresol así como distribución sistémica (Srinivasan, 2006).

El único estudio clínico in vivo en humanos publicado actual documenta un éxito clínico a los 12 meses 100% y radiológico del 83,3% (Havale, 2013)

Con similares efectos tóxicos que el formocresol, y sin evidencia de mejora en los resultados clínicos el glutaraldehído no se llegó a constituir como una alternativa convincente al formocresol. Además de presentar problemas en la estabilidad de la fórmula.

E. Pasta de yodoformo /yodoformo+ Hidróxido de calcio

El yodoformo es un compuesto alifático del yodo. Está constituido por un átomo de carbono, uno de hidrógeno y tres de yodo (I₃CH). Su aspecto es de un sólido amarillo verdoso, y su olor característico. Es poco soluble en agua, nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. Entre sus propiedades destacar su poder antiséptico y ser reabsorbido cuando se pone en contacto con los tejidos periapicales.

La pasta constituida por una mezcla de yodoformo, paraclorofenol, canfor y mentol (pasta iodofórmica o pasta Kri 1) hasta poco tiempo se ha venido utilizando en las pulpectomías de dientes temporales como material de obturación de los conductos. En la actualidad, y para el mismo fin, se utiliza una mezcla de yodoformo, hidróxido de calcio y aceite de silicona (Vitapex®). Este material, por sus propiedades, está considerado como el de elección para el tratamiento de los dientes temporales. Siendo bactericida, se reabsorbe en los casos de sobreobtención, se reabsorbe al mismo tiempo que la raíz del diente tratado, no lesiona el germen del diente permanente y es radiopaco (Vallejo-Bolaños, 2011). Presentando un porcentaje de éxito a los 12 meses de 89% (Trairatvorakul, 2008).

Pramila y cols. (Pramila, 2015) evalúan el éxito clínico y radiológico a los 6, 12 y 30 meses pulpectomías en dientes temporales (n= 129) con necrosis o pulpitis irreversibles tratados con: a. RC fill® (óxido cinc eugenol y yodoformo), b. Vitapex® (Hidróxido de calcio y yodoformo) y c. Pulpdent® (óxido cinc eugenol). Obteniendo unos valores de éxito del 94, 90 y 97% respectivamente.

2.3.2 Materiales utilizados tanto en dentición temporal como permanente.

A. Hidróxido de calcio (HC)

Introducido en 1920 por Herman como agente para tratamiento pulpar (Fallahinejad- Ghajari, 2010). Se trata de un compuesto obtenido a través de carbonatos cálcicos. El carbonato cálcico,

por calcinación se transforma en óxido de calcio que combinándolo con agua se obtiene hidróxido de calcio. Las formas de presentación del HC son en forma no fraguable o puro y en forma fraguable o combinado.

La composición de la forma no fraguable es HC puro que se presenta en polvo para mezclar con agua destilada o se presenta ya mezclado en agua destilada o en metilcelulosa para mejorar su manejabilidad. El HC fraguable en sistema pasta-pasta incorpora dos pastas que mezcladas sufren una reacción química y el material se solidifica.

Las formas fotopolimerizables son HC puro mezclado con resina Bis-GMA y HEMA, al que se incorporan moléculas fotosensibles que lo hacen polimerizar en presencia de luz.

Entre las propiedades más destacadas del hidróxido de calcio destaca: pH alcalino que lo hace bactericida y estimula la producción de tejido calcificado, es biodisponible, antibacteriano. La actividad bacteriana produce un ambiente ácido que provocará la disolución parcial del material, alcalinización de la zona y actuando por tanto como bactericida. La forma fotopolimerizable no tiene efecto antibacteriano ni calcificador significativa (Vallejo-Bolaños, 2011)

Aminabadi y cols. realizaron tratamientos de RPD en diente temporal con HC puro y formocresol al 20% (n=30/grupo), en el cual miden el éxito clínico y radiológico a los 24 meses. Obteniendo un porcentaje de éxito clínico del 90% para el formocresol y 61,7% para el HC y radiológico del 85 y 53,3% respectivamente (Aminabadi, 2010).

Cuando se emplea como medicamento para pulpotomía su principal desventaja es el riesgo de reabsorción interna (Srinivasan, 2006). Sönmez y cols. en 2008, estudian la prevalencia de reabsorción interna en una serie de 84 de molares temporales a los cuales se les realiza la pulpotomía con hidróxido de calcio, en un tiempo de seguimiento de 12 meses, obteniendo que la mayor causa de fracaso en los dientes estudiados es debido a reabsorción interna (88,2% de los fracasos), constituyendo un total del 17,86% (Sönmez, 2008).

El hidróxido de calcio clásicamente ha sido “gold standard” en tratamientos de apexogénesis y apexificación. La aparición de nuevas tecnologías y nuevos materiales con resultados prometedores ha abierto nuevos horizontes en preservación y regeneración pulpar (Corbella, 2014), lo cual queda evidenciado por el creciente número de publicaciones en este campo.

El-Meligy y cols. comparan HC puro con MTA (no documentado tipo) en apexogénesis en dientes permanentes inmaduros con exposición pulpar debido a traumatismo (n=15 por tratamiento, estudio a boca partida) obteniendo a los 12 meses un porcentaje de éxito del 87 y 100% respectivamente (El-Meligy, 2006).

Otro uso descrito, es su empleo en tratamientos de apicoformación/apexificación en diente permanente joven. Bonte y cols. comparan MTA (ProRoot®) con HC puro en tratamientos de apexificación en dientes permanentes inmaduros con pulpa no vital (n=15/grupo, tratamiento en ambas técnicas en 1 sesión), valorando radiológicamente la presencia de barrera apical. Obteniendo a los 6 meses la presencia de una barrera mineralizada en el 43,3% de los casos tratados con HC y 64,7% de los casos obtenidos con MTA y a los 12 meses del 50 y 82,4% respectivamente. Destacar que en el grupo del HC a los 12 meses en 4 de los dientes tratados (26,7%) observan fractura coronal o radicular (Bonte, 2015).

B. Agregado trióxido mineral (MTA). Original y modificaciones

El agregado trióxido mineral (MTA por Mineral Trioxide Aggregate) fue descrito por primera vez en la literatura por Lee y colaboradores en 1993 (Lee, 1993) y patentado en 1995 por Torabinejad y White (Torabinejad, 1995), siendo aprobado en 1998 por la FDA (Food and Drug Administration) como un material terapéutico en endodoncia para humanos (Cardoso-Silva, 2011) (Simancas-Pallares, 2011). El MTA es una mezcla de cemento Portland refinado, según su patente está compuesto por “50-75% en peso de óxido de calcio y 15-25% de dióxido de silicio”, produciendo en su mezcla silicato dicálcico (Ca₂SiO₄), silicato tricálcico (Ca₃SiO₅, C₃S), aluminato tricálcico (Ca₃Al₂O₆, C₃A), tetracalcio aluminoferrita (Camilleri, 2008), bismuto, yeso y trazas de otros óxidos minerales como SiO₂, CaO, MgO, K₂SO₄ y Na₂SO₄ (Rao, 2009) (Liu, 2011) (Ng, 2008) (Okiji, 2009) (Roberts, 2008)) diferenciándose del cemento Portland por la adición de óxido de bismuto, el cual le confiere radiopacidad, y por un tamaño de partículas más pequeño y uniforme (Rao, 2009)

Originalmente se comercializa el MTA gris (Grey ProRoot® MTA, Dentsply Tulsa Dental; Tulsa, Oklahoma, USA), el cual modifica en 2002 el propio fabricante (tooth-colored MTA o WMTA) con el objetivo de evitar los potenciales cambios de coloración producidos la formulación original (Camilleri, 2008).

Estudios in vitro e in vivo documentan que se trata un material biocompatible, con un pH alcalino de 10,2 por tanto, bactericida, con alta capacidad de sellado, (Cardoso-Silva, 2011) (Tuna, 2008) (Parirokh, 2010a) (Torabinejad, 2010) (Ng, 2008) (Eghal, 2009), radiopacidad superior a los 3mm de aluminio requeridos por la normativa ISO 6876-2001 (ISO 6976-2001) que oscila según estudios de los 7,17mmAl documentados por Torabinejad y cols. (Torabinejad, 1995) a los 5,34mmAl reportados por Danesh y cols. (Danesh, 2006) o los 9,3mmAl obtenidos por Chiang y cols. (Chiang, 2010), con un tiempo de fraguado de 2,45 h (Torabinejad, 1995)

Estudios in vivo donde se realizan pulpotomías en dentición temporal documentan un porcentaje de éxito clínico a los 84 meses del 99% y radiológico del 97,14% (Cardoso-Silva, 2011), o del 100% éxito clínico y 90% publicados por Doyle a los 36 meses (Doyle, 2010).

Estudios in vivo de RPD sobre premolares, los cuales se estudian histológicamente revelan la formación de un puente dentinario, así como la ausencia de cambios inflamatorios (Swarup, 2014)

MODIFICACIÓN 1: Grey and White MTA Angelus®

Desarrollado por Angelus Industria de Productos Odontológicos Ltda. (Londrina, PR, Brazil) en 2001, busca la reducción del tiempo de fraguado del original ProRoot® MTA mediante la supresión del sulfato cálcico. Se comercializa en forma de polvo-líquido, estando compuesto por un 80% cemento Portland y 20% óxido bismuto, el cual se mezcla con menor cantidad de agua destilada (0,28ml/g versus 0,35ml/g que recomienda el fabricante del MTA) (Accorinte, 2008, Parirokh, 2010a).

Estudios in vitro e in vivo demuestran que se trata de un material biocompatible (Parirokh, 2010a), con un pH de 7,66 a las 3 horas y 8,10 a los 28 días (Massi, 2011), tiempo fraguado inicial que oscila entre 10-15 minutos (Liu, 2011) (Guyen 2014) (Massi, 2011), y final de 48,33 minutos (Massi, 2011), radiopacidad superior 3mm Al (3-3,3 (Tanomaru-Filho, 2008)- 6, 45 (Vivan, 2009).

Estudios in vivo donde se realizan pulpotomías en dentición temporal documentan un porcentaje de éxito clínico del 100% a los 17-24 meses y radiológico comprendido entre el 86,71% recogido por Zaror y cols. (Zaror, 2011) y el 100% de Sakay y cols. y Moretti y cols. (Sakai, 2009) (Moretti, 2008).

MODIFICACIÓN 2: MTA Fotocurables

Surgen con la necesidad de solventar el largo tiempo de fraguado del MTA. Encontramos en la literatura tres presentaciones de MTA fotocurables:

TheraCal®:

Desarrollado por Bisco (Schaumburg, USA) en 2012. Se trata de cemento Portland tipo III <60%, al cual se le añade una resina fotopolimerizable (polietilenglicol dimetacrilato < 50%) y un agente radiopacificante (zirconato de bario < 10%) (www.bisco.com)

Entre las propiedades descritas encontramos que posee un pH inicial de 10-11 (3h-3días) y final 8-8,5 (7-28días) y una radiopacidad de 1,07mm Al (Gandolfi, 2012), la cual es insuficiente según la normativa ISO 6876-2001. Destacar que no se han encontrado estudios in vivo publicados en las bases de datos revisadas.

MTA fotocurable 1:

Patentado por la universidad de Bologna (Italy), por Gandolfi MG and Prati C.. Se trata de un polvo compuesto de silicato di y tricálcico, aluminato tricálcico, sulfato de bario, cloruro cálcico y el cual se mezcla con un líquido compuesto por: 2-hidroxietil-metacrilato, trietilenglicolmetacrilato, canforoquinona, etil-4(dimetilamino)benzoato (no documentadas cantidades exactas)

Entre las propiedades descritas encontramos un tiempo fraguado inicial= final de 2 minutos, pH inicial 10,6- final 9,8 (28 días), siendo bioactivo (Gandolfi, 2011).

No se han encontrado estudios publicados in vivo en las bases de datos revisadas.

MTA fotocurable 2:

Desarrollado por Bisco (Schaumburg, USA). Compuesto por: 8% Aerosil, 42,5% resina hidrofílica biocompatible (20% BisGMA, 77,25% resina biocompatible-FDA, 2,4% modificador, 0,32% iniciador, 0,032% estabilizador del iniciador), 44,5 % componentes MTA y un 5% sulfato de bario (Vivan, 2009) (Vivan 2010) (Gomez-Filho, 2008)

Entre las propiedades descritas encontramos un pH inicial (3h) 7, 84 y final (168h) 8, 22; baja solubilidad (Vivan 2010) con una radiopacidad de 1,21mm Al (Vivan 2009)

Al igual que el anterior, no se han encontrado estudios publicados in vivo en las bases de datos revisadas.

Destacar la escasa información de las descritas presentaciones fotocurables, las cuales, a nuestro entender, podrían representar una forma interesante de manejo para los materiales empleados para terapia pulpar.

Los valores de radiopacidad proporcionados no cumplen la normativa ISO vigente, debido a que se emplean materiales de menor peso molecular que el óxido de bismuto empleado en el MTA y en concentraciones inferiores al 10%.

MODIFICACIÓN 3: MTA Bio

Desarrollado por Angelus Industria de Productos Odontológicos Ltda. (Londrina, PR, Brazil), la modificación consiste en que todos los componentes son sintetizados en laboratorio bajo ambiente controlado con el objetivo de reducir al máximo la presencia de arsénico, al eliminarse también el sulfato cálcico presente en el MTA se va a conseguir reducir también el tiempo de fraguado. Siendo por tanto su composición: 80% componentes de cemento Portland (síntesis en laboratorio) y un 20% óxido de bismuto (Vivan, 2010).

Cuando comparamos el MTA Bio frente al MTA Angelus, se observa que el primero posee una mayor cantidad de óxido de calcio, lo cual condiciona una mayor liberación de iones calcio al medio, acelerando según sus creadores, la reparación celular. También se observa la ausencia de óxido de magnesio frente al MTA Angelus original. Estudios in vitro documentan una baja citotoxicidad en cultivos de osteoblastos humanos cuando se ponen en extractos del cemento, resultados similares al MTA Angelus (Leesa, 2010).

Estudios in vitro documentan un pH alcalino de 10,46; tiempo de fraguado 33,10 minutos (Borges, 2010), así como una radiopacidad de 3,93mmAl (Vivan, 2009) que cumpliría la normativa ISO establecida.

No se han encontrado estudios in vivo publicados en las bases de datos revisadas.

MODIFICACIÓN 4: MTA Plus®

Desarrollado por Precevest Denpro Limited, Jammun, India para Avalon Biomed Inc, Bradenton, FL, USA.

Una de las desventajas del MTA es la tendencia del material fresco (recién mezclado) de desintegrarse en contacto con la sangre u otros fluidos, lo que esta modificación busca mejorar esta propiedad mediante la incorporación de un gel polimérico. Se presenta como un polvo compuesto por silicato dicálcico, silicato tricálcico, óxido de bismuto (igual que MTA blanco (Ashraf, 2014), dos opciones de líquido: agua y gel polimérico (no documentado tipo) al que denominan “anti-washout gel”, mezclado en la variable proporción de 1:1 a 1:4. De modo

que dependiendo de la aplicación buscada proponen el empleo de uno u otro y variando la proporción polvo-líquido se obtienen unos distintos tiempos de fraguado y propiedades físico-reológicas (Gandolfi, 2014) (Formosa, 2014).

Otra modificación que incorpora es un tamaño de partícula más fino lo que va a permitir una mejora en su manejo y aplicación (Gandolfi, 2014) (Camilleri, 2013), siendo bioactivo (Gandolfi, 2014), con un tiempo de fraguado inicial de 12 minutos, radiopacidad 5 mm Al (www.avalonbiomed.com), tiempo fraguado 65 minutos, pH 11,9 (día 1)-12,6 (día 28) (Formosa, 2014). El mezclado con el gel, frente al agua, permite una disminución del tiempo de fraguado, un aumento de la fuerza compresiva, disminución de la proporción polvo-líquido y porosidad, sin afectar a la radiopacidad, solubilidad y dureza (Formosa, 2014).

Estudios in vivo en animales han evidenciado idéntica respuesta inflamatoria, celular (puente dentinario y viabilidad celular) y respuesta nociceptiva cuando comparan en el MTA Plus®, el original MTA ProRoot® y un cemento de aluminato cálcico (Quick-set®) (Kramer, 2014).

MODIFICACIÓN 5: Micro-Mega MTA (MM-MTA®)

Desarrollado por la casa Micro-Mega (Besançon, France), cambia el modo de presentación clásico polvo-liquido del MTA a unas cápsulas predosificadas, las cuales se activan con una pistola (imagen) tras lo cual se procede a su mezclado durante 30 segundos con un amalgamador. Consiguiendo una mezcla en las proporciones adecuadas y más homogéneas. También contiene carbonato cálcico como aditivo para buscar una reducción del tiempo de fraguado (Khalil, 2014), según sus fabricantes a 20 minutos (Micro-Mega web).

MODIFICACIÓN 6: Harvard MTA caps®:

De la casa Harvard Dental International GmbH (Hoppegarten, Germany) presenta igual composición que el MTA clásico, cambiando su presentación en cápsulas predosificadas al igual que el Micro-Mega MTA (Prati, 2015) (<http://www.harvard-dental-international.eu>).

MODIFICACIÓN 7: Nano-MTA:

US Patent application No 13/211.880. Añade pequeñas cantidades de estroncio con el objetivo de mejorar la bioactividad y disminuye el tamaño de las partículas, lo cual aumenta el área superficial, lo cual produce una hidratación más rápida y disminuye la porosidad (Saghiri, 2012).

Estudios in vitro de Saghiri y cols. han demostrado que esta modificación del tamaño de partículas (40-10nm) mejora las propiedades físicas sin afectar a la radiopacidad (Saghiri, 2015), con un mayor pH y liberación de iones comparado con el WMTA ProRoot® y MTA Plus® (Saghiri, 2015a).

MODIFICACIÓN 8: MedCem MTA

Se introduce en el mercado en 2012 por Medcem GmbH, Weinfelden, Switzerland. Está compuesto por cemento Portland blanco (CEM I 52.5N/Holcim 103), y óxido de zirconio como agente radiopacificante (www.medcem.ch).

En las bases de datos revisadas, no se han encontrado estudios que describan sus propiedades ni estudios clínicos relevantes. Destacar que en el www.clinicaltrials.gov se encuentran inscritos dos estudios in vivo que actualmente se encuentran en la fase de toma de muestras: “Comparison of MedCem MTA and Formocresol used in pulpotomies in primary teeth” por la Hadassah Medical Organization y “MedCem PC and MTA in pulpotomies in primary teeth” por la Universidad Internacional de Cataluña. Estos últimos han publicado un estudio piloto donde comparan un total de 14 pulpotomías realizadas con MedCem y 16 realizadas con MTA (no registrado tipo) obteniendo un porcentaje de éxito en ambos materiales a los 6 meses del 100% (Armas-Serret, 2015)

Este grupo de investigación justifica su elección frente al MTA por tratarse de un material “mucho más barato”.

Debido al creciente número de publicaciones de nuevos materiales derivados del MTA es muy complicado recopilar la totalidad de estos, se han recogido los más citados, buscándose principalmente aquellas publicaciones donde se estudiasen sus propiedades físico-químicas así como los estudios in vivo publicados. En la siguiente tabla se resumen los materiales derivados del MTA desarrollados en el texto, su uso descrito por el fabricante, composición, cual es la propiedad que buscan mejorar con respecto al MTA original y si se encuentran o no en fase experimental (tabla 2.3)

Material	Uso (fabricante)	Fabricante	Composición	Presentación	Propiedad afectada *	Experimental Si/No **
ProRoot MTA	PC, Ag, REA, RP, Af	Dentsply Tulsa, Johnson City, TN, USA	Polvo: 75% cemento Portland, 20% óxido bismuto, 5% sulfato calcico Líquido: agua			No
MTA Angelus	PC, Ag, REA, RP, Af	Angelus dental solutions, Londrina, PR, Brazil	Polvo: 80 % cemento Portland, 20% óxido bismuto Líquido: agua		Tiempo de fraguado	No
TheraCal	PC, Ag	Bisco Inc, Schaumburg	<60%, cemento portland tipo III, < 50% polietilenglicol dimetacrilato, < 10% zirconato de bario		Tiempo de fraguado Manejo	Si
MTA Bio	PC, Ag, REA, RP, Af	Angelus dental solutions, Londrina, PR, Brazil	Polvo: 80 % cemento Portland, 20% óxido bismuto (síntesis laboratorio) Líquido: agua	Polvo-líquido	Elimina presencia arsénico (toxicidad) Tiempo fraguado	Si
MTA Plus	PC, Ag, REA, RP, Af, RCS	Prevest Detpro Limited, Jammu, India	Polvo: igual W-ProRoot MTA Líquido 1: agua Líquido 2: gel polimérico		Manejo	Si
MM-MTA	PC, Ag, REA, RP, Af	Micromega, Besancon, Francia	Polvo: silicato di y tricalcico, carbonato cálcico Líquido: agua		Manejo Tiempo de fraguado	Si
Harvard MTA caps	PC, Ag, REA, RP	Harvard Dental International GmbH, Hoppegarten, Germany	Igual que ProRoot MTA		Manejo	Si
Nano-MTA	PC, Ag, REA, RP, Af	--	= ProRoot MTA. Incorpora estroncio y disminuye el tamaño de particulas	Polvo-líquido	Bioactividad Tiempo fraguado Porosidad	Si
MedCem MTA	PC, Ag, REA, RP, Af	Medcem GmbH, Weinfeld, Switzerland	Cemento Portland blanco y óxido de zirconio		Radiopacidad Coste	Si

Abreviaturas: PC recubrimiento pulpar y pulpotomía; Ag, Apexogénesis; REA, apiceptomía; RCS, cemento-sellador; RP, perforación radicular y reabsorción; Af, apexificación y pulpectomía

* Según el fabricante que propiedad pretenden mejorar con este cambio. No se consideran propiedades afectadas secundariamente con la modificación.

** Consideramos que se encuentran en fase experimental aquellos que no tienen suficiente evidencia clínica publicada.

Tabla 2.3: Resumen materiales derivados del MTA.

C. Nuevos materiales basados en silicato tricálcico:

El silicato tricálcico es el principal componente del MTA (Camilleri, 2013). Recientemente se han introducido materiales basados en silicato tricálcico, donde se evita la presencia de elementos traza que son incorporados en el MTA de los materiales originales y de los combustibles secundarios usados durante su producción, obteniéndose un cemento libre de contaminantes. (Grech, 2013)

Entre estos cementos basados en silicato tricálcico encontramos:

Biodentine:

Desarrollado por Septodont (Saint Maur des Fossés, France) en 2009, descrito por sus creadores como *“sustituto bioactivo de la dentina”*, se presenta como unas cápsulas compuestas por un polvo de silicato tricálcico, carbonato de calcio y óxido de zirconio, y un líquido formado por cloruro de calcio dihidratado, policarboxilato modificado y agua (Cedillo, 2013) (Nowicka, 2013). Otros usos descritos en la literatura es: base cavitaria, recubrimientos pulpares indirectos, pulpotomía y obturaciones temporales (Cedillo, 2013).

Entre las propiedades descritas en la literatura encontramos un tiempo de fraguado inicial de 6 minutos y final de 10 a 12 horas, manejo es menos complejo que el MTA, requiriendo aparatología específica para su mezclado (Cedillo, 2013), radiopacidad comprendida entre 4,1-3,3 mm aluminio, fuerza compresiva de 67,18 MPa, dureza Vickers 48,4 (Grech, 2013).

Estudios in vivo en humanos donde se realiza un total de 28 RPD a 3º molares sanos, se encuentra a las 6 semanas la formación de un puente dentinario completo y ausencia de respuesta inflamatoria, siendo estos resultados similares a los encontrados en el MTA (Nowicka, 2013).

De igual modo Tran y cols. (Tran 2012) realizan RPD en ratas obteniendo que a los 7 días ProRoot® MTA y Biodentine® inducen la proliferación celular, encontrando en ambos materiales la formación de un foco de mineralización y resultados fuertemente positivos para osteopontina, existiendo a los 14 días un puente dentinario completo.

Cabe destacar de los datos presentados de este material provienen del fabricante, existiendo pocos estudios independientes. Únicamente se han encontrado dos estudios in vivo, no documentándose en ninguno de ellos resultados clínicos ni radiológicos.

DiaRoot® Bioaggregate:

Desarrollado por Innovative Bioceramics Inc (Vancouver, Canada) en 2007. Se comercializa como un polvo compuesto por 41% silicato tricálcico, 24% silicato dicálcico, 25% óxido de tantalio, 6% fosfato monofásico de calcio y 4% sílice amorfa, el cual se mezcla con agua desionizada en la proporción 1gr-0,38ml agua (Bioaggregate. Material Safety Sheet, 2012) (Bioaggregate. Instruction for use [www. bioaggregate.com](http://www.bioaggregate.com)).

Entre las propiedades descritas encontramos que se trata de un material bioactivo (Shokouhinejad, 2012), radiopaco (5,7mm de aluminio), insoluble, con un tiempo fraguado 1260 minutos, fuerza compresiva 16,34 MPa, dureza 10,7 (Grech, 2013).

En las bases de datos revisadas, no se han encontrado publicados estudios in vivo.

D. CEM cement (Calcium enriched mixture cement)

Introducido en odontología en 2006, se describe como un material biocerámico para aplicaciones endodónticas (Asgary, 2006). Compuesto por CaO (51,75%), SO₃ (9,53%), P₂O₅ (8,49%), SiO₂ (6,32%) y en menor proporción Al₂O₃> Na₂O>MgO>Cl. Según sus autores, composición busca mejorar la consistencia, manejabilidad, adaptabilidad y tiempo de fraguado (Utneja, 2015).

Entre las propiedades descritas encontramos un pH 10,71, tiempo de fraguado 50 minutos (vs. White ProRoot® MTA en iguales condiciones 70 minutos. No documentado como hacen el estudio, valores inferiores en MTA de los recogidos en la literatura), en cuanto a su manejabilidad Asgary y cols. reportan una mayor fluidez y menor espesor de película que el White ProRoot® MTA (Asgary, 2008), siendo antibacteriano, biocompatible, con baja citotoxicidad, con capacidad de sellado similar al MTA.

En cuanto a usos descritos en la literatura encontramos RPD, pulpotomía, sellado en cirugía periapical y sellado perforaciones (Utneja, 2015).

Tabarsi y cols. en su estudio sobre perros Beagle, observan a las 8 semanas la presencia de puentes dentinarios, vitalidad pulpar y ausencia de inflamación, siendo la respuesta similar entre CEM y el White ProRoot® MTA, siendo en ambos más favorable en comparativa con el hidróxido de calcio (diferencia estadísticamente significativa) (Tabarsi y cols. 2010).

Fallahinejad y cols. realizaron su estudio en diente temporal humano comparando el CEM frente al White ProRoot® MTA (tamaño muestral (n) = 19 por grupo/ tiempo de seguimiento 6 meses).

Obteniendo en el tiempo documentado un porcentaje de éxito clínico para el CEM del 94,8% y del 100% para el MTA, no siendo estadísticamente significativo (Fallahinejad, 2010), siendo a los 20 meses de un 89% para el CEM y 95% para el MTA (no significativo) (Fallahinejad, 2013).

Ligeramente inferiores son los porcentajes de éxito recogido por Malekafzali y cols. (E. in vivo, diente temporal, n= 40), siendo a los 6 meses del 100% para ambos materiales, reduciéndose al 80% en el MTA y 85% en el CEM a los 24 meses (no significativo) (Malekafzali, 2011).

2.4 Características material ideal para terapia pulpar.

Grossman en 1959 (Grossman, 1959), su vez fórmula requisitos del material ideal para obturar los conductos radiculares:

- Debe poder introducirse con facilidad al conducto radicular.
- Debe sellar el conducto en dirección lateral así como apical.
- No debe encogerse después de insertado.
- Debe ser impermeable.
- Debe ser bacteriostático, o al menos no favorecer a la reproducción de bacterias.
- Debe ser radiopaco.
- No debe manchar la estructura dentaria.
- No debe irritar los tejidos periapicales.
- Debe ser estéril, o poder ser esterilizado con rapidez y facilidad antes de la inserción en el conducto.
- Debe poder retirarse con facilidad del conducto radicular si fuera necesario.

A lo que añadimos que debe ser bactericida, no dañar la pulpa y tejidos circundantes (no citotóxico), promover cicatrización de la pulpa radicular, no interferir en el proceso fisiológico de reabsorción cuando se trate de dentición temporal (Sonmez, 2008), manteniendo la pulpa radicular vital y sana (Maroto, 2004).

Acorde con la normativa ISO 6876-2001, los materiales de sellado intraconducto deben de tener una radiopacidad igual o superior a 3mmAl lo cual es más radiopaco que dentina y hueso, permitiéndole ser distinguido de estructuras anatómicas adyacentes. Dicha normativa también nos recomienda un tiempo de fraguado que no exceda los 30 minutos.

Según Viapiana y cols. (Viapiana, 2014), idealmente, los materiales de relleno y sellado endodóntico deben ser bioactivos ya que se encuentran en contacto con los tejidos periapicales a través del ápice radicular.

Como concluyen en la revisión Cochrane de 2014 de Smaïl-Faugeron y cols, actualmente no existe material ni técnica que demuestre una evidencia científica clara para su elección el tratamiento pulpar.

Evidenciar que la mayoría de estudios no presentan una metodología comparable, por lo tanto es muy difícil extrapolar resultados.

Destacar la escasez de estudios de cómo afecta la adición de los diversos aditivos: plastificantes, radiopacificadores, aceleradores... a las propiedades finales del material.

Actualmente se siguen investigando materiales para sustituir los medicamentos que suponen un riesgo y que presentan desventajas clínicas, por otros sin riesgo y con unas propiedades mejoradas.

Un ejemplo de estas alternativas, y cuyo desarrollo no forma parte de la presente revisión, son los materiales biológicos, como el colágeno (Kakarla, 2013), o las proteínas osteogénicas (Darwish, 2014). Y otras técnicas no medicamentosas, de creciente auge, como son el empleo del láser (Niranjani, 2015) (Gupta, 2015) y la electrocoagulación (Sasaki, 2002).

2.5 Definición biomaterial, material cerámico y material bioactivo.

Se define *biomaterial* como “cualquier material empleado para reemplazar una parte o función del cuerpo de forma segura, económica y fisiológicamente aceptable” (Park, 2007). Cualquier biomaterial, para poder ser implantado, debe de cumplir unos requisitos generales, como son ser: 1/ biocompatible, 2/ no tóxico, 3/ no carcinogénico, 4/ químicamente estable o biodegradable en productos no tóxicos, al menos durante el tiempo que esté programado su implantación en el organismo, 5/ tener aceptables propiedades mecánicas, características superficiales, tiempo fatiga y peso adecuados, 6/ diseño, tamaño y forma del implante adecuados. A todo ello debe añadirse que su precio debe ser reducido, su fabricación reproducible y su procesamiento fácil para su producción en gran escala.

Estos biomateriales se pueden clasificar atendiendo a su comportamiento cuando se implantan o bien a su naturaleza química. Según esta última se pueden establecer tres grandes grupos: metales, cerámicos y polímeros (Lizarbe, 2007).

En el concepto más amplio, se consideran *materiales cerámicos* aquellos productos constituidos por compuestos inorgánicos no metálicos. Las cerámicas utilizadas en la reparación y reconstrucción de partes del cuerpo dañadas o enfermas se denominan *biocerámicas*, definiéndose por la norma UNE-EN ISO 10993-14: 2009 (UNE-EN ISO 10993-14: 2009) como “Materiales cerámicos: De manera general, materiales cristalizados que son físicamente no metálicos y químicamente inorgánicos.”

Un material bioactivo es aquel que genera una respuesta fisiológica específica en la interfase del material, la cual resulta en la formación de hueso entre los tejidos y el material (Hench, 1991).

2.6 Materiales cerámicos bioactivos en Odontología.

El empleo de cerámicas en odontología no es algo nuevo, en 1789 el dentista francés De Chemant patenta el primer material porcelánico de uso dental. En 1808 Fonzi, un dentista italiano, inventa la porcelana “terrometálica” donde el diente de porcelana va colocado sobre un pin o marco de platino. En 1903 el Dr. Charles Land patenta las primeras coronas cerámicas y Vita Zahnfabrik introduce la primera porcelana comercial en 1963. Las cerámicas han sido ampliamente utilizadas en odontología debido a su biocompatibilidad, dureza, estética y fácil fabricación en puentes de porcelana, rellenos de sílice en composites y cementos de vidrio ionómero, usados con éxito durante décadas como elementos inertes y biocompatibles (Raghavann, 2012).

El desarrollo de vidrios y vitrocerámicos bioactivos, que buscan reaccionar con el sistema fisiológico y formar una unión química entre el tejido y la superficie del implante (iniciado en 1967 por las investigaciones de Hench que generaron el desarrollo de Bioglass® (Hench, 2006)), abrió nuevos horizontes en el campo de la regeneración ósea, interés que ha calado en otros dos grandes campos de la odontología; la endodoncia y los conceptos sobre remineralización dentinaria.

2.6.1. Materiales biocerámicos empleados en el tratamiento endodóntico.

El principio básico del tratamiento endodóntico es preservar, restaurar y mantener el diente funcional y estéticamente en el arco dentario (Gotra, 2012). El empleo de materiales biocerámicos en el tratamiento endodóntico ha suscitado gran interés en las últimas décadas surgiendo gran cantidad de materiales para este fin, entre ellos destacamos:

2.6.1.1 Agregado Trióxido Mineral® (MTA).

Ya introducido en el apartado 2.3

2.6.1.2. DiaRoot Bioaggregate®

Ya introducido en el apartado 2.3

2.6.1.3. Bioglass®:

Desarrollado inicialmente como material de regeneración ósea, a nivel endodóntico presenta propiedades antimicrobianas y de liberación de medicamentos. Otros usos descritos en la literatura destacamos: regeneración ósea y periodontal y el tratamiento de la hipersensibilidad dentinaria (en presentación como dentífrico) (Krishnan, 2013). Demostrando su capacidad de formar dentina reparativa sin evidencia de necrosis. Ciertos estudios han evidenciado además potencial para inducir el cierre radicular (apexificación) (Oguntebi, 1993).

2.6.2 Materiales biocerámicos empleados en regeneración ósea.

Un sustituto óseo ideal debe de poseer una composición y estructura similar al hueso natural. El empleo de biocerámicas de origen sintético como sustituto óseo surge de la necesidad de evitar las complicaciones derivadas del empleo de hueso autógeno (sangrado y morbilidad de la zona donante, cantidad limitada...) y de aloinjertos y xenoinjertos (transmisión de enfermedades).

Los materiales biocerámicos nos permiten obtener una cantidad adecuada, facilidad de almacenamiento y de uso, presentando una buena biocompatibilidad, evitando el riesgo de transmisión de enfermedades (Mao, 2013).

Actualmente encontramos un amplio número de materiales biocerámicos, según su naturaleza química vamos a encontrar distintos subgrupos:

2.6.2.1 Compuestos de sulfato cálcico:

El sulfato cálcico (CaSO₄), escayola o yeso de París, fue el primer material cerámico evaluado como reemplazo de tejido óseo por Dreesman en 1894 (Jayaswal, 2010). En cuanto a su comportamiento, se ha documentado una degradación relativamente rápida (4-8 semanas), siendo más rápida que la neoformación ósea, generándose por tanto zonas de vacío susceptibles de rellenarse por tejido fibroso (Mao, 2013).

2.6.2.2 Compuestos de fosfato de calcio:

El empleo de los cementos de fosfato cálcico como sustituto óseo se remonta a 1920, cuando Albee (Albee, 1920) describe como un cemento de fosfato tricálcico usado en un defecto óseo promueve la osteogénesis. Su uso a en regeneración ósea en los maxilares fue descrito por primera vez en 1975 por Nery y colaboradores (Nery, 1975).

En los últimos años ha cobrado gran interés debido a su composición química similar al hueso y su excelente biocompatibilidad, siendo no tóxico y osteoconductor. Su uso se extiende a: recubrimiento pulpar, reparación defectos periodontales, aumento hueso alveolar, elevaciones sinusales, preservación alveolar, reparación defectos óseos causados por tumores y más recientemente como *scaffolds* en ingeniería tisular (Al-Sabani, 2013).

Este grupo engloba materiales que tienen la mayor utilidad y aplicación como recursos terapéuticos, destacamos:

a. Origen sintético:

a.1 Hidroxiapatita: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂. Debido a su similitud con el componente mineral de hueso y dientes es el compuesto de fosfato de calcio más documentado, pudiéndose emplear en bloques, como recubrimiento o cemento. Los autores lo clasifican de acuerdo a su porosidad, fase y método de procesado. Entre los productos comerciales disponibles actualmente de hidroxiapatita destacamos (tabla 2.4). Entre las propiedades descritas los autores señalan: no-

reabsorbible, bioactivo, osteoconductor, baja resistencia mecánica (Al-Sanabani, 2013) (Samavedi, 2013).

Hidroxiapatitas densas		Hidroxiapatitas porosas	
Precipitación	Compactación	Coralina*	Algas*
Periograf®	Ossograf®	Interpore 200®	Algipore®
Alveograf®	Ortho-Matrix®		
Calcite®			
Durapatita®			

Tabla 2.4: Productos comerciales hidroxiapatita. Tomado de Rossi, C. en Atlas de odontología restauradora y periodoncia (Guillermo H, 2004). * hidroxiapatitas de origen natural.

a.2 β -fosfato tricálcico: Ca₃(PO₄)₂ (TCP) Se diferencia de la hidroxiapatita al considerarse reabsorbible, siendo sustituido progresivamente por hueso. A día de hoy, no es difícil de sintetizar, presentando baja resistencia mecánica y el grado de reabsorción es rápido e incontrolado (Al-Sanabai, 2013), siendo osteoconductor y osteoinductor (Samavedi, 2013). Algunos de los productos disponibles actualmente en el mercado son: SynthoGraft™ (SynthoGraft, Estados Unidos), Augment® Bone Graft (Biomimetic Therapeutics Inc., Estados Unidos), Bioresorb® (Sybron Implant Solutions, Estados Unidos), chronOS™ (DePuy Synthes, Estados Unidos), cyclOS® / Ceros® (Mathys Medical, Suiza), Cerasorb® (Curasan AG, Alemania), Vitoss® (Stryker, Estados Unidos), IngeniOs β -TCP® (Zimmer Dental, Estados Unidos), easy-graft™CLASSIC (Sunstar Guidor®, Estados Unidos), KeraOs® (Keramit, España) y AdBone®TCP (Medbone®, Portugal).

a.3 Fosfato de calcio bifásico (BCP): mezcla de hidroxiapatita y β -fosfato tricálcico. Busca combinar la baja solubilidad y osteoconducción de la hidroxiapatita con la osteoinducción y mayor solubilidad del TCP (Samavedi, 2013). Algunos de los productos comerciales disponibles son: MBCP™ (Biomatlante Biologics Solutions, Francia), Easy-graft™CRYSTAL (Sunstar Guidor®, Estados Unidos), Graftys® BCP (Graftys®, Francia), BoneCeramic™ (Straumann®, Estados Unidos) y AdBone®BCP (Medbone®, Portugal).

b. Obtenido de recursos naturales:

b.1 Hidroxiapatita derivada de las algas: Se emplea como material de regeneración ósea desde 1988, obteniéndose de la calcificación de algas marinas con moderada cristalinidad. Frios® Algipore®, comercializado por Denstply® (www.dentsplyimplants.es) (Tadic, 2004).

b.2 Hidroxiapatita coralina: derivado de exoesqueletos de corales madropóricos (denominados Porites), precursor de hidroxiapatita macroporosa obtenida por transformación pseudomórfica del coral por tratamiento hidrotermal con fosfato de amonio (Roy, 1974). Iniciándose su estudio como material de regeneración ósea en animales al inicio de los años 70 y en humanos desde 1979. Se describe como un material que posee una estructura similar al hueso trabecular y, por tanto, similares propiedades mecánicas iniciales, siendo biocompatible, osteoconductor y biodegradable (Demers,2002).

b.3 Fosfatos de calcio sinterizado de hueso bovino y equino: generados a alta temperatura cuyo componente inorgánico es sinterizado a partir de hueso. Entre ellos encontramos los productos derivados de hueso bovino: Endobon® (Biomet 3i™, Francia), Cerabone® (Botiss Biomaterials GmbH, Alemania), Symbios® / PepGen P-15® (Dentsply Implants, Estados Unidos) (46) y Bio-Oss® Geistlich Pharma AG, Suiza) (48); y de hueso equino: OCS-H / Equimatrix® (Nibec Co. Ltd., Corea del Sur). (Araiza-Tellez,2004)

2.6.2.3 Compuestos de carbonato de calcio:

Los carbonatos de calcio (CaCO₃) han sido estudiados esporádicamente. Su preparación relativamente sencilla, además de ser un mineral que se encuentra abundantemente en la naturaleza, puede ser una razón para proponer estudios futuros. Se ha documentado una excelente biocompatibilidad y una reabsorción más rápida que los compuestos de fosfato de calcio (He, 2015).

Actualmente encontramos en el mercado derivado de coral el denominado Biocoral® (Leader Italia, Milán, Italia) compuesto principalmente por carbonato cálcico en forma de aragonita (97-98%), estroncio, flúor, magnesio, sodio y potasio, el cual presenta una porosidad > 45% con un tamaño de poro medio de 250µm (rango 150-400) en diámetro, similar al hueso esponjoso.

Recientemente documentado en el tratamiento de defectos óseos en la periodontitis del adulto (Guilani, 2014).

Ciertos autores señalan que la obtención de carbonatos de calcio de origen natural presenta una serie de desventajas como son: problemas en la obtención, riesgo de reacción inflamatoria y variación biológica. Siendo más interesante su obtención sintética en laboratorio (He, 2015).

2.6.2.4 Vidrios cerámicos y vidrios bioactivos:

El origen de la creación de vidrios y vitrocerámicos bioactivos está en la necesidad de eliminar el movimiento interfacial que se produce en la implantación de cerámicas bioinertes. Así, en 1967, Hench propone al U.S.A. Army Medical Research and Development Command una investigación encaminada a modificar la composición química de los vidrios para que puedan reaccionar en el sistema fisiológico y formar una unión química entre el tejido vivo y la superficie del implante, surgiendo en 1971 el denominado Bioglass® (Hench, 2006).

Algunos de los vidrios cerámicos y vidrios bioactivos que actualmente se pueden encontrar en el mercado son:

a. Bioglass®: El original Bioglass® (45S5) está compuesto por 46.1 mol% SiO₂, 26.9 mol% CaO, 24.4 mol% Na₂O and 2.5 mol% P₂O₅, buscando imitar la composición del hueso natural (Krisman, 2013). Actualmente presenta el mayor índice de bioactividad ($I_B = 12.5$) (definimos índice de bioactividad cómo el tiempo donde más del 50% de la superficie se ha unido al hueso), un valor alto implica un tiempo corto, lo cual garantiza una unión firme y estable (Barrios de Arenas, 2001) y continua siendo el “patrón oro” en los materiales bioactivos (Crovace, 2015).

Con posterioridad se han desarrollado y aprobado por la FDA distintas variedades de la composición original (Gotra, 2012):

- 58S: 60 mol% SiO₂, 36 mol% CaO y 4 mol% P₂O₅.
- 70S30C: 70 mol% SiO₂, 30 mol% CaO.
- S53P4: 53 mol% SiO₂, 23 mol% Na₂O, 20 mol% CaO y 4 mol% P₂O₅.

b. Ceravital®: Desarrollado por Brömer y Pleif en 1973 (De Aza, 2007), mediante tratamiento térmico del Bioglass® (también denominado Bioglass® 5S4.3), resultando una vitro-cerámica con mayores propiedades mecánicas y una menor bioactividad (Hin, 2004).

c. **Cerabone®**: desarrollado por Kokubo en 1986. Constituido por dos fases cristalinas: oxifluorapaito (Ca₁₀(PO₄)₆(OF₂) y wollastonita (β -CaSiO₃). En opinión de algunos autores es uno de los vidrios cerámicos de mayor éxito clínico (De Aza, 2007).

2.6.3 Materiales biocerámicos empleados en a nivel dentinario.

Dentro del campo de la remineralización dentinaria vamos a distinguir dos vertientes según su aplicación clínica:

2.6.3.1 Biocerámicas en el tratamiento de la hipersensibilidad:

La hipersensibilidad dentinaria se define como una respuesta dolorosa a estímulos cuando estos son aplicados en túbulos dentinarios abiertos en dientes vitales (Tirapelli,2010). Constituyendo una condición muy común que afecta aproximadamente a 1/3 de la población adulta (Crovace,2015).

Actualmente no existe un producto o protocolo ideal de tratamiento. Entre las biocerámicas descritas para este fin encontramos:

a. **Biosilicate®**:

Surge a mediados de los 90, como material de regeneración ósea donde busca combinar la alta bioactividad observada en el Bioglass® con las adecuadas propiedades mecánicas de las cerámicas vítreas, como el Cerabone®. Presenta un índice de bioactividad, según la literatura, superior a 8 (Crovace,2015). Es un material vítreo-cerámico 100% cristalizado, cuya composición es P₂O₅-Na₂O-CaO-SiO₂ (Tirapelli, 2011). Estudios in vitro (Tirapelli, 2010) e in vivo (Tirapelli, 2011) han demostrado como la aplicación de Biosilicate® en forma de microparticulado ocluye los túbulos dentinarios mediante la deposición de una capa hidroxí-carbonato-apatita.

b. **Novamin®**:

Disponible desde 2004. Se trata de un particulado muy fino de Bioglass 45S5 (NovaMin Technology, FL; desde 2010 pertenece a GlaxoSmithKline, UK) (Jones, 2013), se trata de un sodio-calcio-fosfosilicato amorfo. Estudios in vitro han evidenciado que se produce una oclusión de los túbulos dentinarios por la deposición de una capa de hidroxíapatita (Burwell, 2010).

Actualmente se puede encontrar en el mercado en distintas presentaciones: Nupro® Sensodyne® pasta de profilaxis y en dentrífico en Sensodyne® Nupro y Sensodyne® Repair and Protect (Gendreau, 2011).

2.6.3.2. Biocerámicas empleadas como sustituto dentinario:

a. Biodentine®:

Ya desarrollado en el punto 2.3

2.7 Estado actual del empleo de Wollastonita.

La wollastonita se trata de un silicato de calcio, cuya fórmula molecular es CaSiO₃. Está compuesta en un 48.3% de óxido de calcio (CaO) y en un 51.7% de dióxido de silicio (SiO₂). Constituye un mineral no metálico con múltiples aplicaciones industriales.

En el campo de la biomedicina, se emplean cómo biocerámica. La wollastonita se considera un material bioactivo, lo que implica que tiene capacidad de unirse espontáneamente al hueso sin la formación de tejido fibroso, mediante la formación de una capa de hidroxiapatita.

Su síntesis se realiza mediante la siguiente fórmula: Carbonato de calcio (CaCO₃) + sílice (SiO₂), que se transforman en Wollastonita (CaSiO₃) + CO₂. Donde el sílice es una de las materias primas más importantes en la obtención de un vidrio, siendo necesario un 99,5% de pureza para la obtención de un vidrio de buena calidad y pureza. El carbonato de calcio se añade como fuente de calcio.

Se trata de un material polimorfo, poseyendo distintas estructuras físicas bajo la misma composición química (CaSiO₃):

- β - wollastonita (formada a baja temperatura)
- Pseudowollastonita o alfa-wollastonita (alta temperatura)
- Wollastonita- 1T (estructura cristalográfica tricíclica)
- Wollastonita- 2M o parawollastonita (estructura monocíclica, baja temperatura) (de la Casa-Lillo, 2011).

Para nuestro estudio hemos seleccionado la forma β - wollastonita (formada a baja temperatura), debido a que es accesible y económica.

Entre los estudios publicados sobre el empleo y propiedades de la wollastonita destacamos:

De la Casa Lillo y cols. (de la Casa-Lillo, 2011) observan in vitro tras una semana de inmersión en suero fisiológico artificial (SBF) la formación de una capa homogénea de apatita en contacto con el material (wollastonita 2M, pseudowollastonita + wollastonita 2M y pseudowollastonita), de lo que concluyen que las distintas presentaciones de wollastonita son bioactivas.

Vargas-Gutiérrez y cols. (Vargas-Gutierrez, 2005) estudian la asociación de la wollastonita (alfa-wollastonita-2M) con poli (ácido acrílico) en solución de ácido tartárico para su empleo como cemento odontológico, obteniendo un cemento biocompatible y bioactivo, no presentando el inconveniente de liberar iones de aluminio al medio fisiológico, alcanzando resistencias a la compresión similares a los cementos de polialcanoatos o ionómeros convencionales.

Rodríguez-Lorenzo y cols. (Rodríguez-Lorenzo, 2009) asocian una cerámica bioactiva (wollastonita) con un copolímero (etilmetacrilato) en un componente bioreabsorbible (vinilpirrolidona) para su empleo como andamiaje óseo en ingeniería tisular ósea. Obteniendo un material no citotóxico, con unas propiedades mecánicas adecuadas para su empleo como sustituto óseo.

Magallanes-Perdomo y cols. (Magallanes-Perdomo, 2010) asocian un 44,8% en peso de apatita, 28% Wollastonita-2M con un 27,2% de fase amorfa, observando la respuesta biológica en células madre óseas humanas. El material obtenido es biocompatible y no citotóxico. Estos autores también observan cómo la rugosidad de la superficie es un importante parámetro en la respuesta celular, influyendo en la adhesión y proliferación.

Suwanprateeb y cols. (Suwanprateeb, 2009) estudian las propiedades mecánicas y biocompatibilidad de la combinación de apatita-wollastonita-hidroxiapatita producidas mediante métodos de impresión 3D, sinterizadas a distinta temperatura y a distintos tiempos de sinterizado. Este grupo de investigación encuentran unas mejores propiedades mecánicas en

las muestras producidas a 1.300°C (Modulo flexural: 34.10 ± 0.09 ; Resistencia a la flexión 76.82 ± 4.35 MPa), observando un aumento propiedades mecánicas a las 3 horas de sinterizado frente a 1 hora, no obteniéndose una mejora en las propiedades mecánicas en tiempos superiores (5 y 10 horas).

El material obtenido resulta bioactivo y no tóxico. Concluyendo que constituye un material adecuado para su empleo como sustituto óseo.

2.8 Desarrollo de nuevos materiales biocerámicos uso endodóntico.

2.8.1 Normativa aplicable.

Radiopacidad:

- ISO 6876: 2001. Dental root canal sealing materials.
- UNE-EN ISO 9917-2: 2010. Cementos dentales de base acuosa. Parte 2: Cementos modificados con resina

Citotoxicidad:

- ISO 10993-5: 2009: Biological evaluation of medical devices. Part 5: Test for in vitro cytotoxicity.
- ISO 10993-12: 2007: Biological evaluation of medical devices. Part 12: Sample preparation and reference materials.

Tiempo de fraguado:

- UNE-EN ISO 9917-1: 2007. Cementos dentales de base acuosa. Parte 1: Cementos ácido-base de polvo/líquido.
- ASTM C 191-04a: Standard method of test for time of setting of hydraulic cement by Vicat Needle.
- ASTM C 266-04: Standard method of test for time of setting of hydraulic cement paste by Gillmore Needles.

Porosimetría:

- ASTM D4404-84: Standard Test Method for Determination of Pore Volume and Pore Volume Distribution of Soil and Rock by Mercury Intrusion Porosimetry.

2.8.2 Empleo de aditivos para regular las propiedades físicas.

El empleo de distintos aditivos permite regular las distintas propiedades físicas de los materiales de uso endodóntico para adaptarse a los requisitos anteriormente expuestos, así como mejorar la manejabilidad y aplicación de la forma final del material.

2.8.2.1 Empleo de aditivos para regular la radiopacidad:

Un material de relleno endodóntico debe poseer una radiopacidad que le permita ser distinguido de estructuras anatómicas adyacentes, evaluar la formación de burbujas así como los límites de la aplicación, permitiendo un control de la disolución secundaria del material. Mientras que algunos materiales presentan unos valores de radiopacidad inherentes adecuados, otros precisan la adición de agentes radiopacificantes para conseguirlo (Kim, 2008), el cual debe ser añadido en la menor cantidad posible, debe ser inerte, libre de contaminantes y no tóxico (Camilleri, 2010b)

Según la literatura el cemento Portland (principal componente del MTA) posee una radiopacidad que oscila entre 1.01 (Hungaro-Duarte, 2009)-1.69 (Bortoluzzi, 2009), lo cual es insuficiente.

El óxido de bismuto empleado en la composición del MTA proporciona una radiopacidad de 7,17mm Al en el original ProRoot® MTA (Torabinejad, 1995), habiendo demostrado un comportamiento no inerte, interfiriendo en el mecanismo de hidratación del material, disminuyendo la liberación de iones calcio (Camilleri, 2010a) incrementando su porosidad, lo cual afecta a la solubilidad y degradación del cemento (Bortoluzzi, 2009), alterando por tanto su capacidad reparativa y sus propiedades físico-químicas. (Grazziotin-Soares, 2014) (Formosa, 2012)

Coomaraswamy y cols. (Coomaraswamy, 2007) documentan que cuando añaden óxido de bismuto al cemento Portland incrementos del 0 al 10% en peso supone un descenso de la resistencia mecánica del cemento de 82 a 40 MPa, alcanzando los 29 MPa cuando se sustituye un 40% en peso. Produciendo también un incremento de la porosidad del material fraguado del 15 al 31%.

Kim y cols. (Kim 2008), obtienen que la adición de 20% de óxido de bismuto al cemento Portland proporciona unos valores de radiopacidad comparables al MTA, evidenciando que la adición de óxido de bismuto a distintas concentraciones proporciona una disminución en la viabilidad celular en las primeras 24 horas.

Marciano y cols. (Marciano, 2014), no encuentran efecto en el pH cuando añaden óxido de bismuto a distintas concentraciones en cemento Portland blanco.

Este mismo grupo de autores (Marciano, 2014a), evidencian in vitro que el cambio de coloración producido en el MTA es causado por una reacción producida por el contacto por el óxido de bismuto con el colágeno presente en la dentina, resultando una coloración grisácea.

Para evitar los problemas mencionados de óxido de bismuto se han propuesto agentes radiopacificantes alternativos como son el óxido de zirconio, el cual ha demostrado un comportamiento bioinerte (Camilleri, 2010a), ampliamente usado en prótesis dental e implantología, siendo tolerado por los tejidos circundantes, sin evidencia de toxicidad, alta resistencia mecánica, resistencia a la corrosión y su color similar al diente (Bortoluzzi, 2009).

Cutajar y cols. en su estudio demuestran como el cemento Portland con 30% de óxido de zirconio mezclado en una proporción agua/cemento de 0.3 posee unas óptimas propiedades físicas, similares al ProRoot® MTA (Cutajar, 2011), actuando como un relleno inerte sin aparecer en los productos hidratados del cemento Portland (Camilleri, 2010a).

Guerrero-Tanomaru y cols. (Guerrero-Tanomaru, 2014) añaden 30% de óxido de zirconio (micro y nanoparticulado) al cemento Portland en la proporción 1g/0,33mL obteniendo unos valores de radiopacidad adecuados conforme a la normativa ISO (3,505±0,26 mm Al para la forma micro y 4,19 mm Al para la forma nano), obteniendo unos valores de pH y actividad antimicrobiana frente a las bacterias estudiadas similares al MTA Angelus®.

Este mismo grupo de autores (Guerrero-Tanomaru, 2014a) encuentran que la adición de 30% de óxido de zirconio al cemento Portland en la proporción 1g/0,33mL no afecta a la fuerza compresiva del cemento Portland.

Silva y cols. (Silva, 2014) encuentran una mejor respuesta biológica con el óxido de zirconio frente al óxido de bismuto. Destacan que la adición de ambos agentes radiopacificantes condiciona un incremento en el tiempo de fraguado.

Otro agente radiopacificante empleado en odontología en composites y determinados cementos endodónticos es el sulfato de bario (Bortoluzzi, 2009), el cual ha demostrado ser inerte, y al igual que el óxido de zirconio, no aparece en los productos hidratados (Camilleri, 2010a).

Camilleri (Camilleri, 2010), encuentra que la adición de un 25% de sulfato de bario al cemento Portland proporciona unos valores de radiopacidad ligeramente superior a los 3 mm Al recomendados, no afectando al pH y produciendo un incremento en el tiempo de fraguado.

El titanato de bario empleado en nuestro estudio posee similar comportamiento y propiedades que el sulfato de bario habiéndose seleccionado este por disponibilidad en el centro donde se han desarrollado los materiales.

Se han propuesto otros agentes radiopacificantes alternativos como el polvo de oro (Camilleri, 2010a) (Cutajar, 2011), aleaciones de plata/estaño (Camilleri, 2010) (Camilleri, 2010a) (Camilleri 2010b), yodoformo (Bortoluzzi, 2009) y óxido de zinc-eugenol (Oliveira, 2010) (Hungaro-Duarte, 2009), habiéndose documentado diversas desventajas.

2.8.2.2 Empleo de aditivos para regular el tiempo de fraguado.

Como comentábamos anteriormente la normativa ISO 6876-2001, nos recomienda que un cemento de uso endodóntico no debe exceder de los 30 minutos de tiempo de fraguado.

Muy por encima de ese límite, el original ProRoot MTA tiene un tiempo de fraguado final de 165 minutos (Torabinejad, 1995). Diversos estudios han buscado en reducir este tiempo de fraguado mediante la adicción de un acelerador (Oliveira, 2010), la eliminación del yeso (Guven, 2014), o la adicción de un cemento de aluminato cálcico (Liu, 2011) (Oliveira, 2010) (Oliveira, 2014).

Los cementos de aluminato de calcio han demostrado ser bioactivos (Oliveira, 2013), biocompatible (Aguilar, 2012) (Aminozarbian, 2012), promueven la diferenciación temprana de células osteoblásticas (osteoinductor) (Castro-Rauzi, 2011), poseyendo una alta alcalinidad y liberación de iones calcio (Pires-de Souza, 2013) con unas buenas propiedades mecánicas y un menor tiempo de fraguado (Oliveira, 2014).

Oliveira y cols. (Oliveira, 2010) añaden a un cemento de aluminato de calcio (Secar-71, Kerneos), un dispersante polimérico (poliglicol), cloruro cálcico (CaCl₂) como plastificante y óxido de zinc como radiopacificante. Obteniendo un cemento que fragua en 60 minutos, con una mejora en la fluidez y manejabilidad, aumento en la resistencia mecánica (versus GMTA Angelus®) y una menor porosidad.

Este mismo autor (Oliveira, 2014) reporta un tiempo de fraguado inferior a los 20 minutos del cemento de aluminato de calcio (Secar-71, Kerneos), medido mediante aparato de Vicat.

Hsieh y cols (Hsieh, 2009) obtienen un tiempo de fraguado de 12,3 ±2,5 minutos cuando añaden CLG (calcium lactate gluconate) al MTA ProRoot®.

Lee y cols. (Lee, 2011) estudian el efecto de distintos aceleradores (1: 10% CaCl₂, 2: 0,1% ácido cítrico y 3: una solución de CLG en lugar del agua destilada) en las propiedades físicas del MTA ProRoot®, obteniendo una disminución del tiempo de fraguado de 74,0±0,6; 72,7±1,4 y 13,9±3 minutos respectivamente medido mediante aguja de Vicat (108±1,6 minutos para el MTA); un pH ligeramente inferior en las distintas mezclas pero que se mantiene estable a un pH elevado (10-12) y una clara disminución en la fuerza compresiva de las distintas preparaciones, siendo la mayor disminución cuando mezclamos con CLG (19,86±3,74MPa a 1 día para el MTA y 5,39±0,36 MPa para el grupo con CLG). Concluyendo que la adición aditivos mejora el tiempo de fraguado pero tiene un efecto negativo en otras propiedades como es la fuerza compresiva.

De igual modo, Kang y cols. (Kang, 2013) observa que la adición de un 10% CaCl₂ al WMTA ProRoot® afecta a biocompatibilidad produciendo una disminución en la viabilidad celular in vitro medido sobre osteoblastos humanos. Hecho que ellos justifican por una mayor liberación de iones calcio.

Ber y cols. (Ber, 2007) en su estudio concluyen que cuando mezclan 1% de metilcelulosa (plastificante) y 2% CaCl₂ (acelerador) al MTA ProRoot®, obtienen un cemento que se maneja similar al IRM, con una fuerza compresiva similar y una reducción del tiempo de fraguado (57±3 minutos).

Bortoluzzi y cols. (Bortoluzzi, 2009) evidencia como la reducción del yeso del MTA Angelus® va a producir una reducción en el tiempo de fraguado significativa (inicial 12±0,34 min y final 48±0,87 min) medido mediante agujas de Gillmore. Siendo esta reducción aún mayor cuando añaden un 10% de CaCl₂ (6±0,50 y 31±2,00 min respectivamente).

2.8.2.3 Empleo de aditivos para regular la manejabilidad.

Diversos autores documentan que una de las desventajas del MTA es su dificultad de manejo debido a su consistencia arenosa (da Silva, 2001) (Rao, 2009) (Parirokh, 2010b)

Composiciones clásicas de hidróxido de calcio pasta-pasta añaden metilcelulosa para este fin (Vallejo-Bolaños, 2011). De igual modo, Ber y cols. (Ber, 2007) añaden 1% metilcelulosa al MTA ProRoot® documentando un manejo similar al IRM.

Natu y cols. (Natu, 2015) justifican el empleo de propilenglicol, como un agente viscoso, libre de olor y color, aprobado con la FDA y con propiedades antibacterianas, el cual añaden al WMTA ProRoot® en distintas proporciones, obteniendo un aumento en el tiempo de fraguado y que no mejora las propiedades físico químicas de este, únicamente su fluidez.

De igual modo, Duarte y cols. (Duarte, 2012) añaden propilenglicol al MTA Angelus®, encontrando un aumento en el tiempo de fraguado, una mejora en la fluidez y un aumento de pH y liberación de iones calcio, indicando que la concentración idónea sería del 20%.

La polivinilpirrolidona (PVP) se trata de un material biocompatible, inerte, no tóxica y con unas excelentes propiedades hidrofílicas. Estando su uso documentado en ingeniería ósea (Jiang, 2013) (Guerrero del Ángel, 2014), así como para la liberación de medicamentos en la cavidad oral (Jones, 2003).

Sena y cols. (Sena, 2014) estudian el empleo de distintas formas de wollastonita (natural, pseudowollastonita sintética y la unión de pseudowollastonita con 5% acetil tributil citrato) las cuales se asocian a poly (n-butyl-2-cyanoacrilato) como agente de fijación de fragmentos óseos en traumatología.

Siendo ampliamente extendida como material de regeneración ósea en materiales como el conocido Cerabone® (oxyfluorapatito y β -wollastonita) (De Aza, 2007) o Bioeutectic® (De Aza, 1997).

3. Hipótesis de trabajo y objetivos.

Este trabajo se ha fundamentado en la propuesta de elaboración de dos nuevos cementos con base de wollastonita para su empleo en dentición temporal y permanente joven. El principal objetivo era lograr formular unos cementos alternativos a los ya utilizados de manera habitual en la clínica, que presentaran unas características de manejabilidad, bioactividad, citotoxicidad, radiopacidad, etc. al menos iguales o incluso superiores a los ya existentes e incluso que en su posible comercialización presentaran costes inferiores a los ya conocidos.

3.1 Hipótesis de trabajo.

Hipótesis Ho 1:

El cemento 1 de wollastonita formulado al efecto, no presentará diferencias estadísticamente significativas en su comportamiento de radiopacidad, tiempo de fraguado, manejabilidad, bioactividad, citotoxicidad y porosidad con respecto al cemento ProRoot.

Hipótesis Ho 2:

El cemento 2 de wollastonita formulado al efecto, no presentará diferencias estadísticamente significativas en su comportamiento de radiopacidad, manejabilidad, bioactividad, citotoxicidad y porosidad con respecto al cemento control Vitapex.

3.2 Objetivos

Objetivo General

Creación y evaluación de cementos intrapulpares con base de wollastonita para su empleo en dentición temporal y permanente joven.

Objetivos Específicos

1. Realizar una formulación base polvo- líquido de dos tipos de cemento para su empleo diferenciado en dentición temporal (cameral e intraconducto) y dentición permanente joven.
2. Ensayar la adición de distintos agentes plastificantes así como proporciones polvo- líquido que garanticen una correcta manipulación clínica de los cementos formulados (tiempo de fraguado, facilidad de dispensado, etc.)
3. Efectuar los ensayos de bioactividad, citotoxicidad, estudio de pH y liberación de iones calcio en solución, porosimetría y radiopacidad.
4. Caracterizar la composición final de los dos materiales desarrollados mediante difracción de rayos X.

4. Material y método.

4.1. Requisitos predeterminados de los materiales a desarrollo.

Previo al desarrollo de los materiales y tras la revisión bibliográfica de los potenciales problemas de los materiales empleados actualmente, se acuerdan unas propiedades ideales a conseguir como son (Tabla 4.1):

	Cemento 1	Cemento 2
Empleo	Pulpotomía Apicoformación	Pulpectomía
Consistencia	No pegajosa a los instrumentos No terrosa Similar IRM o composite	No pegajosa a los instrumentos No terrosa Similar Bostapex®
Fraguado ideal	10-15 minutos// formas fotocurables No necesaria humedad	No necesaria humedad
Características esperables	Fácil manejo intraconducto (consistencia y presentación No tinción del diente Radiopaco Capacidad de sellado No reabsorbible	Fácil manejo intraconducto (consistencia y presentación No tinción del diente Radiopaco Capacidad de sellado Velocidad de reabsorción similar al diente temporal.
Presentación	a. Polvo-líquido. b. Preparado jeringas tipo Relyx®	a. Polvo-líquido. b. Preparado jeringas tipo Bostapex® (necesitamos jeringas largas y finas que permitan la aplicación al final del conducto)
Material control	WMTA ProRoot®	Bostapex® (HC con yodoformo)

Tabla 4.1: Propiedades ideales de los materiales experimentales

4.2 Cemento experimental 1.

4.2.1 Preparación fase sólida del cemento 1.

4.2.1.1 Wollastonita sintética natural.

Se selecciona wollastonita natural obtenida a baja temperatura M1250 de la casa NYCO minerals (NYAD® M1250, NYCO Minerals, Willsboro, New York, USA). La cual es un mineral blanquecino, de forma acicular, según la ficha técnica proporcionada por el fabricante presenta un tamaño de partícula medio de 3,5 μ m, con un diámetro medio de 2,66, un área de 2,9 m²/g y pH de 9,9.

Según el fabricante presenta una composición de: CaO 46,25%; SiO₂ 52%; Fe₂O₃ 0,25%; Al₂O₃ 0,40%; MnO 0,025; MgO 0,50%; TiO₂ 0,023% y K₂O 0,15%.

4.2.1.2 Síntesis de aluminato de calcio.

La síntesis por combustión nos permite obtener un aluminato más reactivo y más homogéneo. Como reactivos se emplean (tabla 4.2):

REACTIVOS	DISTRIBUIDOR	PROPORCION MOLAR	PM	MASA	Nº MOLES
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O (Calcium nitrate 4-hydrate)	Panreac 131231.1211	14	236,15	20,44GR	0,086544
Al(NO ₃) ₃ 9H ₂ O (Aluminium nitrate 9-hydrate)	Panreac 131099.1211	14	313,3	31,62GR	0,100968
CO(NH ₂) ₂ (Urea)	Panreac 191754	55	60,06	23,82	0,007212

Tabla 4.2: Reactivos empleados para la síntesis del aluminato de calcio.

Según el método descrito por Fumo y cols. (Fumo, 1996) tras pesarlos, homogeneizamos los componentes con agua bajo calor (200° aproximadamente) hasta que empiece a espumidificar, tras lo cual lo llevamos al horno para que se produzca la combustión y obtener así el aluminato de calcio (mayenita Ca₁₂Al₁₄O₃₃ > 70%, aluminato tricálcico Ca₃Al₂O₆ resto). El cual se muele hasta obtener un polvo homogéneo, de 0,34m²/g de superficie específica (Figura 4.1 a 4.3).

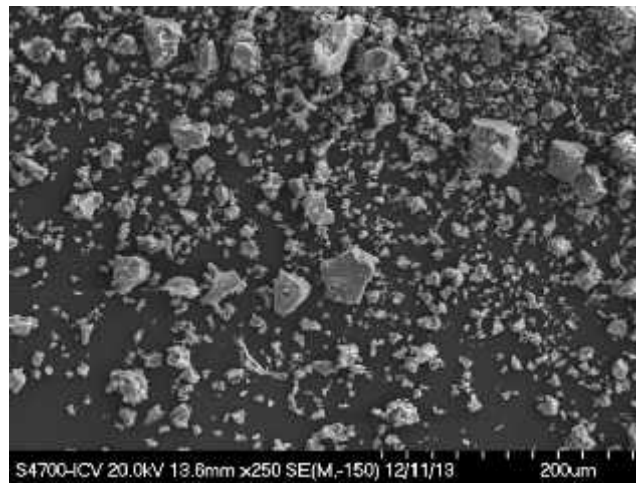


Figura 4.1: Imagen MEB a x250 aumentos del polvo de aluminato cálcico sintetizado por combustión.

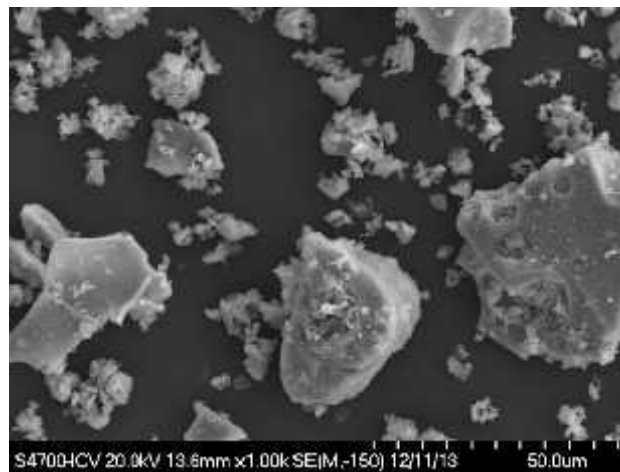


Figura 4.2: Imagen MEB a x1.00K aumentos del polvo de aluminato cálcico sintetizado por combustión.

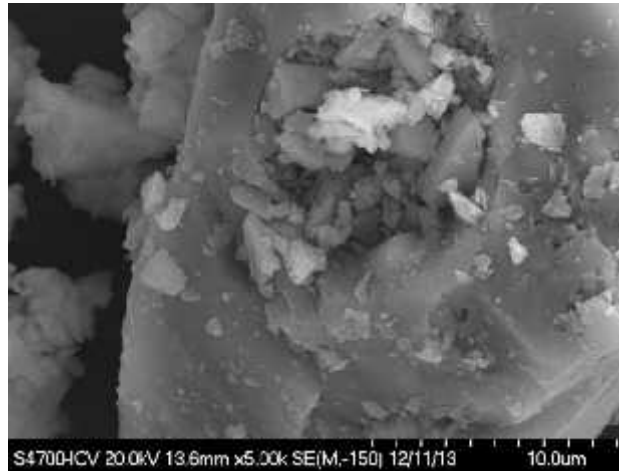


Figura 4.3: Imagen MEB a x5.00K aumentos del polvo de aluminato cálcico sintetizado por combustión.

4.2.1.3 Selección del agente radiopacificante.

Se estudian óxido de bismuto (II) (10305, Riedel de-Haën, Germany), titanato de bario (338842, Aldrich, USA) y óxido de zirconio (TZ-34S-E, Tosoh Corp., Tokyo, Japan), los cuales se añaden a los cementos experimentales en las concentraciones de 0, 10, 20 y 30%, estudiándose sus valores de radiopacidad como se expondrá en el apartado correspondiente según la normativa ISO 9917-2:2010.

4.2.2 Preparación fase líquida del cemento 1.

4.2.2.1 Empleo de plastificantes para mejorar la manejabilidad.

Se estudian adiciones de carboximetilcelulosa (CMC, 419273 Sigma Aldrich, PM \approx 90000), polietilenglicol (PEG, 81210 Sigma-Aldrich, PM \approx 1500) y polivinilpirrolidona (PVP, PVP40 Sigma-Aldrich) al líquido de mezcla en concentraciones de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 y 50%. Las variantes de líquido con plastificantes se añaden a la parte sólida ya predeterminada y se procede a su espatulado sobre loseta de vidrio valorando parámetros cualitativos como son: si permite la incorporación de toda la parte sólida (proporción 1gr: 0,33mL), consistencia no terrosa, pegajosidad con el instrumento y capacidad de compactación, seleccionándose finalmente la presentación compuesta por un 25% de PVP.

4.1.3.2 Regulación del tiempo de fraguado.

Para la regulación final de la reacción de fraguado se procede a incorporar ácido cítrico (454052, Sigma-Aldrich) como retardante al líquido de mezcla. Tomando como base los estudios de Lee y cols. (Lee, 2011) se añaden incrementos de 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 y 0,5% encontrando que este último nos proporciona un tiempo de manejo y fraguado que consideramos aceptable y que posteriormente cuantificaremos mediante estudios de penetración.

4.2.3 Composición de base y presentación del cemento experimental 1.

Tras esta primera fase de desarrollo se procede a sintetizar nuestro **cemento experimental 1**, al que denominaremos **CAC 30Z** según la siguiente composición:

Polvo: 28% Wollastonita (β -CaSiO₃) + 42% Aluminato de calcio (mayenita Ca₁₂Al₁₄O₃₃ > 70%, aluminato tricálcico Ca₃Al₂O₆ resto) +30% Óxido de zirconio (ZrO₂) y líquido: 25% Poli(vinilpirrolidona) (PM 400000) + 0,5% Ácido cítrico (C₆H₈O₇) + 74,5% Agua purificada (H₂O).

El cual se mezcla en la proporción 1gr/0,33mL (correspondiendo a 1 cucharilla predosificadora/ 1 gota gotero)



Figura 4.4: Presentación material experimental 1.

4.3 Cemento experimental 2.

4.3.1 Preparación fase sólida del cemento 2.

4.3.1.1 Wollastonita sintética natural y 4.3.1.2 Selección del agente radiopacificante.

Se realiza de igual forma que la descrita en el cemento experimental 1.

4.3.2 Preparación fase líquida del cemento 2.

4.3.2.1 Regulación del pH.

La wollastonita seleccionada posee un pH de 9,9 según su fabricante, con el objetivo de conseguir un pH más alcalino que nos proporcione un fuerte poder bactericida se incorpora silicato de sodio (338443, Sigma-Aldrich, Milwaukee, WI, USA), el cual es un vidrio soluble, inorgánico y el cual se disuelve en agua directamente produciendo una solución alcalina.

4.3.3 Composición de base y presentación del cemento experimental 2.

Dada esta primera fase de desarrollo se procede a sintetizar nuestro **cemento experimental 2**, al que denominaremos **WEndo 30Z** según la siguiente composición:

Polvo: 70% Wollastonita (β -CaSiO₃) +30% Óxido de zirconio (ZrO₂) y líquido: 37,5% Silicato de sodio (Na₃Si₄O_{9,5}) y 62,5% Agua purificada (H₂O)

El cual se mezcla en la proporción 1gr/0,33mL (correspondiendo a 1 cucharilla predosificadora/ 1 gota gotero).



Figura 4.5: Presentación cemento experimental 2.

4.4 Ensayos.

4.4.1 Estudio de la radiopacidad.

A. Introducción

La radiopacidad es una propiedad física importante para establecer un diagnóstico preciso en las diferentes disciplinas en odontología. Los materiales de uso endodóntico, según la normativa ISO 6876-2001 (ISO 6876-2001), deben tener una radiopacidad igual o superior a 3mm en relación con una escala patrón de aluminio (mm de Al), lo cual es más radiopaco que la dentina y hueso, permitiendo ser distinguido de estructuras anatómicas adyacentes. Para conseguir este requisito, un agente radiopacificante debe ser añadido en la mínima cantidad posible, debiendo ser inerte, libre de contaminantes y no tóxico (Camilleri, 2010).

B. Descripción de la técnica y el equipo

La radiopacidad fue medida de acuerdo a la normativa ISO 9917-2: 2010 (ISO 9917-2: 2010). Se prepararon previamente los discos (n=3) de cada composición a estudio de 10 ± 1 mm de diámetro y $1,0 \pm 0,1$ mm altura, dejándose fraguar durante 24 horas en una incubadora a 37°C y 100% de humedad relativa, tras lo cual se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24h. Para evitar la formación de burbujas y poros que puedan interferir en las mediciones de radiopacidad se procedió a triturar estos primeros discos y generar otros nuevos de igual dimensiones mediante presión. El espesor de muestra fue medido con un calibre digital ($\pm 0,01$ mm) en tres puntos diferentes y pulidos con lija manual hasta conseguir un grosor uniforme predeterminado de $1,0 \pm 0,1$ mm.

Dichos discos se colocaron al lado de una escala patrón de aluminio (pureza > 95%) con incrementos de 1,0 mm graduado desde 1,00 mm a 10,00 mm de altura, sobre una placa de fosforo para radiografía digital (Imagin plate system express, Kavo) tras lo cual el conjunto placa-muestras-patrón se posicionó a una distancia de 400mm del cátodo del tubo de rayos X (Gendex Deus-O-Mat, Kavo Dental GmbH, Biberach, Germany), y se procedió a su irradiación durante 0,36 segundos a 7,5 mA and 65 kV. Tras la exposición las placas fueron procesadas automáticamente por el escáner Scanora® 5.0.1 software (SOREDEX, Tuusula, Finland), obteniéndose una imagen digital (figura 4.6)

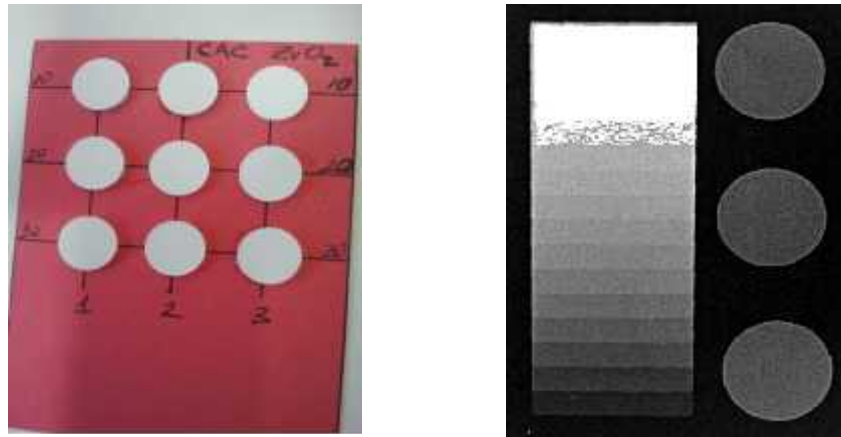


Figura 4.6: ejemplo presentación pastillas cemento CAC con distintas concentraciones de agente radiopacificante una vez prensadas y aspecto tras su digitalización junto a la escala patrón de aluminio.

Las imágenes digitales obtenidas fueron analizadas utilizando el programa ImageJ® v. 1,49 software (National Institute of Health, USA). En cada disco a estudio y en cada escalón del patrón de aluminio se realizaron mediciones en 5 áreas no superpuestas de aproximadamente 1500 pixels para la determinación del nivel de grises promedio, tras lo cual se procedió a realizar para cada imagen digital obtenida una curva de calibración de “niveles de grises” vs. espesor aluminio, la cual se ajustó a una ecuación de segundo grado. Los valores R^2 para cada curva de calibración son siempre superior a 0.999. La radiopacidad equivalente ($R_{eq,Al}$) para cada espécimen posicionado en la misma imagen digital en mm de Al, fue calculado mediante la siguiente ecuación:

$$R_{eq,Al} = \frac{R_{app}}{t}$$

Donde:

R_{app} es la radiopacidad aparente del espécimen, en mm Al, estimada por el nivel de gris y la correspondiente curva de calibración y t es el espesor en mm de cada espécimen.

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el software estadístico SPSS (IBM SPSS Statistics 20.0). Empleando el test de T-student, donde se establece como limite el valor de 3mm de Al establecidos por la normativa para determinar si los resultados obtenidos son estadísticamente significativos.

C. Materiales empleados en el estudio

En el descrito estudio se pretende valorar el efecto en la radiopacidad del cemento experimental CAC y WEndo de distintos agentes radiopacificantes:

- Óxido de bismuto (10305, Riedel de-Haën, Germany)
- Titanato de Bario (338842, Aldrich, USA)
- Óxido de zirconio (TZ-3YS-E, Tosoh Corp., Tokyo, Japan)

Los cuales fueron añadidos al cemento a estudio en las concentraciones de 0% (no agente radiopacificante), 10, 20 y 30%.

Como control se empleó el White ProRoot® MTA (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN, USA), número de lote 13102907.

En la siguientes tablas (tabla 4.3 y 4.4) se resume la composición de los distintos cementos experimentales en función de la concentración de agente radiopacificante añadida.

Cemento	Polvo	Liquido
CAC	60,0% Aluminato Calcico 40,0% Wollastonita	25,0% Polivinilpirrolidona 0,5% Ácido cítrico 74,5% Agua destilada
CAC 10%	54% Aluminato Calcico 36% Wollastonita 10% Agente radiopacificante	
CAC 20%	48% Aluminato Calcico 32% Wollastonita 20% Agente radiopacificante	
CAC 30%	42% Aluminato Calcico 28% Wollastonita 30% Agente radiopacificante	

Tabla 4.3: Composición de los distintos cementos experimentales 1 para el estudio de radiopacidad.

Cemento	Polvo	Líquido
WEndo	100% Wollastonita	37,5% Silicato de sodio 62,5% Agua destilada
WEndo 10%	90 % Wollastonita 10% Agente radiopacificante	
WEndo 20%	80 % Wollastonita 20% Agente radiopacificante	
WEndo 30%	70 % Wollastonita 30% Agente radiopacificante	

Tabla 4.4: Composición de los distintos cementos experimentales 2 para el estudio de la radiopacidad.

4.4.2 Estudio de la composición de fases. Difracción de rayos-X.

A. Introducción

La técnica de Difracción de Rayos X, (XRD por X-ray diffraction) proporciona información sobre la estructura química y cristalina de un material. Los rayos X son radiación electromagnética de longitud de onda de aproximadamente 1Å (10⁻¹⁰ m), que es del orden de la distancia interatómica (entre los rayos gamma y los ultravioleta). Cada sólido cristalino posee un patrón característico de difracción que puede emplearse para su identificación, resultando de gran utilidad en la elucidación de la composición, pureza y estructura cristalina de los materiales (Abraham, 2004).

La técnica de difracción de rayos X ha constituido y constituye la herramienta más poderosa de que se dispone para el estudio de la composición mineralógica de una muestra cristalina. Cuando un haz de luz monocromático, incide con una familia de planos de átomos separados por una distancia (espaciado), que es del orden de la longitud de onda de la radiación incidente, dependiendo también del ángulo con el que incida, puede dar lugar a un fenómeno de interferencia constructiva denominado difracción.

Estas interferencias constructivas responden a la ley de Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

Donde: λ es la longitud de onda de la radiación, d es el espaciado entre planos atómicos y θ es el ángulo del haz incidente.

La posición e intensidad de las radiaciones recogidas son características de cada sustancia. Si bien, la intensidad de los picos puede variar en una misma muestra dependiendo de su preparación, las posibles orientaciones y de las condiciones instrumentales (Skoog, 2001) (Mascarós, 2002).

B. Descripción técnica. Equipo.

Se realizó el estudio de XRD de los componentes aislados (“en polvo”) y del cemento CAC 30Z tras su fraguado. Para el estudio de los compuestos en polvo, se colocó cada espécimen en un porta siendo compactado hasta conseguir una superficie plana y homogénea. Para el análisis de la forma fraguada de CAC 30Z se mezcló el compuesto en la proporción predeterminada de 1 cucharilla predosificadora: 1 gota mediante espátulado manual y se mantuvo en incubador a 36.5° y 100% de humedad 3 días.

La identificación de fases de los componentes estudiados se llevó a cabo a temperatura ambiente mediante un difractómetro de Bruker modelo D8 (Bruker AXS GMBH, Karlsruhe, Germany), con CuK α radiación a 40KV en un rango de 2θ de 10° a 70° con un intervalo de 0.02°.

Cada fase cristalina de un compuesto presenta un patrón de difracción característico, consistente en unos picos de intensidad específica (picos de Bragg’s) (Guyen, 2014). Para la identificación de las fases presentes se comparó el patrón generado con los datos publicados en la base de datos del International Centre for Diffraction Data (ICDD) (Newtown Square, PA, USA) (ICDD.net).

C. Materiales empleados en el estudio.

C.1 Componentes aislados.

En la siguiente tabla (tabla 4.5), se describe la procedencia y área superficial de los componentes aislados estudiados tanto para el cemento CAC 30Z como para el WEndo 30Z.

Material	Nomenclatura	Procedencia	Área superficial (m ² /g)
Silicato calcico-Wollastonite	β -CaSiO ₃	Natural Comercializado por NYCO Minerals, Calgary, AB, Canada	2.9 *
Aluminato calcico	C12A7	Sintetizado en laboratorio mediante combustión. Reactivos Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O y Al(NO ₃) ₃ 9H ₂ O	0.34
Óxido de Zirconio	TZ-3YS-E	Parcialmente estabilizado con Ytrium oxide al 3%. Comercializado por Tosoh Corp., Tokyo, Japan	7±2*

Tabla 4.5: Descripción compuestos empleados para el estudio de difracción de rayos X de los componentes en polvo * datos obtenidos del fabricante.

C.2 Materiales fraguados.

En la siguiente tabla (Tabla 4.6) se presenta la composición de los materiales fraguados empleados para el estudio.

Material	Polvo			Líquido	
	Principal constituyente	Radiopacificador	Aditivos	Principal constituyente	Aditivos
Test 1- CAC 30Z	28 % Wollastonita 42% Aluminato de calcio	30 % óxido de zirconio	/	74,5% Agua	25% PVP 0,5% Ácido cítrico
Test 2- WEndo 30Z	70 % Wollastonita	30 % óxido de zirconio	/	62,5% Agua	37,5% Silicato de sodio

Tabla 4.6: Composición materiales empleados para el estudio de difracción de rayos X.

4.4.3 Estudio del pH y liberación de iones calcio en solución.

A. Introducción

El pH es una medida de la concentración de protones en una solución y por tanto una indicación de su acidez o alcalinidad. Es el logaritmo decimal de la concentración de iones de hidronio [H₃O]⁺ presentes en una solución, cambiado de signo. Estando relacionados un pH alcalino con un poder bactericida (Pacios, 2004).

B. Descripción de la técnica. Equipo

Con la proporción predeterminada previamente en estudios cualitativos de manejabilidad de 1gr/0,33mL (1 gota-1 cucharilla predosificadora), se prepara 1 disco del material a estudio de 15mm ±1 de diámetro y 1mm±1 de espesor, el cual se introduce en suero fisiológico artificial preparado según la técnica descrita por Kokubo y cols. (Kokubo, 2006), suspendiéndose sin contacto con las paredes y quedando completamente cubierta con el suero.

El pH y liberación de iones de calcio son recogidos mediante el empleo de un medidor pH/mV/ISE (Hanna HI 3221; Hanna Instruments, Woonsocket, RI, USA) (figura 5.11), el cual, mediante medidas potenciométricas, nos permite conocer en tiempo real los valores de pH desde su introducción en el líquido hasta las 40 horas donde, tras varias horas de estabilidad de los valores registrados se da por finalizada la recogida de datos. Previo a la introducción de la muestra y toma de registros se procede a su calibrado mediante una solución tampón según las instrucciones del fabricante.

4.4.4 Estudio de la bioactividad.

A. Introducción.

Se define bioactividad como el efecto beneficioso producido por algunos materiales cuando se implantan en tejidos vivos. A través de una reacción bioquímica y biofísica, los fluidos del tejido interactúan con estos materiales formando en la superficie del material una capa de apatita carbonatada, la cual es la principal fase mineral de los tejidos duros como el hueso, dentina y cemento (Viapiana, 2014).

B. Descripción de la técnica. Equipo

Se prepararon 10 discos de 15mm x 2mm de cada cemento a estudio esterilizándose en autoclave a 121° durante 30 minutos.

La evaluación de la interacción del biomaterial con el medio fisiológico se realizó sumergiendo las muestras en una disolución de fluido biológico simulado (SBF por sus siglas en inglés), la cual se preparó según la técnica descrita por Kokubo y colaboradores (Kokubo, 2006). Las muestras embebidas en la disolución se conservaron en una incubadora a 36,5 °C durante todo el ensayo. Siendo analizadas a los 1, 2, 3, 7, y 15 días con el objetivo de verificar el paulatino aumento de la capa apatita con el tiempo de exposición del biomaterial en SBF. La microscopía electrónica de barrido (MEB) se empleó como criterio fundamental de la evaluación de la bioactividad de los biomateriales a estudio.

El análisis por MEB se realizó empleando un equipo Hitachi Tabletop Microscope TM-1000.

4.4.5 Estudio de la citotoxicidad.

A. Introducción

La citotoxicidad celular se define como una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a que se produzca un daño que pueda ser detectado. Para valorar esta respuesta, diferentes autores han desarrollado distintas pruebas in vitro para predecir los efectos tóxicos de las drogas y los compuestos químicos, utilizando como modelos experimentales cultivos primarios y órganos aislados como líneas celulares establecidas (Arencibia-Arrebola, 2003).

B. Descripción de la técnica. Equipo

Para la realización del ensayo de citotoxicidad se siguió la norma ISO 10993-5:2009 (ISO 10993-5:2009), la cual permite estudiar material de distintas formas, tamaños o estados físicos sin requerir su modificación para su estudio.

B.1 Estudio de la citotoxicidad en el cemento experimental CAC 30Z. Método directo.

Preparación cemento experimental CAC 30Z

Se prepararon un total de 10 discos del material a estudio CAC 30Z de 15mmx 2mm de diámetro, los cuales se esterilizan en autoclave a 121° durante 30 minutos, para asegurarnos la ausencia de contaminantes debidos a su procesado y manipulación.

Cultivos y sub-cultivos celulares

Se emplearon dos líneas celulares:

- Osteoblastos fetales humanos (HOb) (Línea celular 406-05f, ECACC, Health Protection Agency Culture Collection), suministrados por la Unidad de Investigación Clínica y Biopatología Experimental del Hospital Provincial de Ávila, después de 6 subcultivos.
- Preosteoblastos de calota craneal de ratón (MpOb), (Línea celular MC3T3-E1 Subclone 4, ATCC®, Ref. CRL-2593TM).

Para los sub-cultivos se decantó el medio y se enjuagó la capa de células dos veces con 10 ml de suero salino tamponado (PBS, Sigma Aldrich) y se añadieron 3 ml de solución de tripsina-EDTA (2,5 g/l-0,2 g/l, Sigma-Aldrich) a los frascos con la capa de células. Se verificó el desprendimiento y dispersión de las células mediante observación en el microscopio invertido (\approx 5 min). Las células se re suspendieron en 7 ml de medio fresco y se transfirieron alícuotas de 2,5 ml a 3 frascos de cultivo (75 cm², Sarstedt AG & Co.). Se añadió medio fresco (15 ml) a los frascos y se incubó a 37 °C en atmósfera con 5% de CO₂. El subcultivo se repitió cada 2 días. Se hicieron 3 subcultivos antes de sembrar las células sobre los materiales y controles.

Para los cultivos de HOb's se usó medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, Sigma-Aldrich) y para los cultivos de MpOb's se empleó Medio Esencial Mínimo (α -MEM, No. 41061-029, Gibco®, Life Technologies Ltd.). Se suplementó ambos medios con 100 UI/ml de penicilina (Sigma-Aldrich), 100 μ g/ml de estreptomina (Sigma-Aldrich) y 10 % of Suero Fetal Bovino (FBS, Sigma-Aldrich).

En el momento de la siembra se eliminó el medio de los frascos de cultivo, se lavaron las células con 10 ml de PBS dos veces, y se colectaron con 3 ml de solución Tripsina-EDTA y 7 ml de medio. La suspensión de células se centrifuga a 250 g por 5 segundos y se re suspendió el pellet en medio fresco y se ajustó la concentración a $1,2 \cdot 10^{-6}$ células/ml.

Ensayo de proliferación celular

El ensayo de Alamar Blue está diseñado para medir cuantitativamente la proliferación de varias líneas celulares humanas y animales (Nakayama, 1997).

Se colocaron los discos de los materiales experimentales en el fondo de los pozos de una placa de 24 y se incubó con 1 ml de medio de cultivo por 1 h a 37° C en atmósfera con 5 % CO₂. Después del período de incubación se eliminó el medio sobrenadante y se añadieron 50 μ l de la suspensión celular (60.000 células) sobre cada disco de material ensayado y del material control negativo (Thermanox®: polímero empleado según la normativa ISO 10993-5:2009), por cuadruplicado.

Al cabo de 20 min se añadieron 2 ml de medio a cada pozo y se incubó por 24 h. Se realizó un ensayo en blanco del mismo modo pero sin usar ningún material y sin sembrar la suspensión de células.

Se aspiró el medio sobrenadante, se reemplazó con 0,5 ml de una disolución 1:10 de reactivo Alamar Blue (BUF012B, AbD Serotec) en MEM completo sin Rojo Fenol (Sigma-Aldrich) y se incubó 2 h a 37 °C.

Se transfirieron 4 alícuotas de 10 μ l a una placa de 96 pozos, resultando en un total de 12 réplicas por muestra y se midió la densidad óptica (OD) en un espectrofotómetro iMark™ (BioRad) a 570 nm y usando la OD a 620 como referencia.

Los pozos de la placa de 24 con los materiales, control y blanco se lavaron con PBS, y se añadieron 2 ml de medio fresco y se cultivó por otras 24 horas en las mismas condiciones. Se repitió el proceso a partir de la aspiración del medio sobrenadante.

B.2 Estudio de la citotoxicidad en el cemento experimental WEndo 30Z. Método indirecto.

Preparación cemento experimental WEndo 30Z

Se prepararon un total de 10 discos del material a estudio de 15mmx 2mm de diámetro, los cuales se esterilizan en autoclave a 121° durante 30 minutos.

Preparación de los extractos

El extracto se obtuvo a partir de los discos del material WEndo 30Z a una concentración de área superficial/volumen de 3cm²/ ml según la norma ISO 10993-12: 2007 (ISO 10993-12: 2007).

Al igual que el estudio por método directo realizado con el CAC 30Z, para los cultivos de HOb's se usó medio Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM, Sigma-Aldrich) y para los cultivos de MpOb's se empleó Medio Esencial Mínimo (α -MEM, No. 41061-029, Gibco®, Life Technologies Ltd.), ambos suplementados con penicilina/estreptomicina (10UI/10mg/ml; Sigma). La extracción se llevó a cabo incubando cada disco por separado en tubos de 50ml, con 1,4 ml de medio de extracción (previamente se determina la cantidad de medio necesaria para el área total disponible de muestra), a 38°C y en un agitador orbital durante 24 horas. Como controles negativos de citotoxicidad se prepararon dos tubos conteniendo únicamente los medios de extracción. Tras 24 horas los discos están rotos y parte en suspensión, los extractos correspondientes al mismo medio (5 discos de cada) se juntaron, se centrifugaron a 250g y se filtraron con un filtro de 0,22 micras. A continuación los extractos se diluyeron al 80, 50 y 20% en medio suplementado con suero fetal bovino (FBS; Sigma), quedando el suero a una concentración final del 10%. Los extractos obtenidos se almacenaron a 4° hasta su empleo.

Cultivos y sub-cultivos celulares

Se emplearon dos líneas celulares:

- Osteoblastos fetales humanos (HOb) (Línea celular 406-05f, ECACC, Health Protection Agency Culture Collection), suministrados por la Unidad de Investigación Clínica y Biopatología Experimental del Hospital Provincial de Ávila, después de 6 subcultivos.
- Preosteoblastos de calota craneal de ratón (MpOb), (Línea celular MC3T3-E1 Subclone 4, ATCC®, Ref. CRL-2593TM).

Las células HOb se cultivaron en medio DMEM-F12 y las células MC3T3 en medio α -MEM ambos suplementados con penicilina/estreptomicina y 10% de suero bovino fetal. Las células se cultivaron a 37°C en una atmosfera de 95% de humedad y 5% de CO₂ sobre frascos de 75cm² (Sarstedt). Las células se cultivaron 3 veces y la viabilidad celular se evaluó con 0.4% de Azul del Tripán.

Ensayo de citotoxicidad o proliferación celular

El ensayo se realizó en placas de 96 pocillos, a una concentración de 10.000 células por pocillo en 100 μ l de medio. La placa se incubó de 18-24h a 37°C, con 5% de CO₂ y 95% de humedad. A continuación la placa se examinó mediante un microscopio invertido (Zuzi) para verificar que la monocapa está subconfluyente y que la morfología celular es la esperada. Se retiró el medio y se añadieron 100 μ l de cada dilución del extracto y del control, se realizaron 6 réplicas de cada

concentración (n=6). Después de 1 y 2 días de cultivo se retiró el medio y se incubaron las células con 100µl de una solución de Alamar Blue (AB; Serotec) al 10% en medio completo sin el indicador de pH rojo fenol (Sigma), durante 2h a 37°C. Transcurrido este tiempo, el medio se pasó una placa de 96 pocillos para medir la absorbancia a 570nm, con una longitud de onda de referencia de 620nm.

4.4.6 Estudio del tiempo de fraguado. Ensayos de penetración.

Sólo se realizó en el cemento experimental fraguable CAC 30Z.

A. Introducción

Según Cement and Concrete Terminology ACI 116R-00 se define fraguado como: La condición alcanzada por una pasta cementicia, mortero u hormigón que ha perdido plasticidad hasta un nivel arbitrario, generalmente medido en términos de la resistencia a la penetración; fraguado inicial se refiere a la primera rigidización; fraguado final se refiere a una rigidez significativa; también, deformación remanente luego de retirada la tensión (Cement and Concrete Terminology ACI 116R-00).

Según la UNE-En ISO 9917-1:2007 (UNE EN ISO 9917-1:2007) se define tiempo de fraguado neto como el tiempo transcurrido ente el final de la operación de mezclado y el tiempo hasta que la aguja no puede realizar una indentación circular completa en el cemento.

Los cementos de silicato de calcio tipo MTA, cemento Portland y nuestro experimental CAC son “cementos hidráulicos”. Produciéndose, cuando el cemento y agua entran en contacto, una reacción química exotérmica que determina el paulatino endurecimiento de la mezcla (Darvel, 2011).

B. Descripción técnica. Equipo.

El tiempo de fraguado inicial y final es determinado mediante la normativa ASTM C 191-04a, modificando el tamaño de la probeta según la normativa ISO 9917-1: 2007, medido mediante aguja de Vicat.

Los cementos son mezclados y compactados en moldes rectangulares de 10mm x 8mm y 5mm de profundidad. La aguja empleada posee unas dimensiones de 43±1mm altura, 1.13±0.05 diámetro y un peso de la parte móvil de 300±1 gr. Determinándose un tiempo de fraguado inicial

cómo el tiempo transcurrido desde el inicio de la mezcla hasta que el indentador no consigue dejar una marca completa en la superficie del cemento, constituyendo el tiempo final de fraguado cuando no se deja ninguna marca en la superficie. El test se realiza en condiciones ambientales, las mediciones se realizan cada 15 minutos hasta determinar el tiempo de fraguado inicial y posteriormente cada 5 minutos hasta que no se registran marcas (tiempo de fraguado final), se realizan 5 pruebas para el material de estudio y una para el control W-MTA (Dentsply Tulsa Dental, Johnson City, TN, USA, lote número 13102907)

4.4.7 Ensayo de porosimetría.

A. Introducción

La porosimetría por intrusión de mercurio es una técnica indirecta para la caracterización del sistema poroso de los materiales, obteniéndose fundamentalmente a partir de ella la distribución de la porosidad en función del tamaño aparente de acceso a los poros. Se basa en fenómenos de capilaridad generados por los líquidos que no mojan los sólidos con los que están en contacto. Así, un líquido como el mercurio que no penetra espontáneamente en los conductos capilares, precisa una presión "p" para su introducción, que es inversamente proporcional al radio "r" de los mismos:

$$r = 2 \sigma \cos \alpha / p$$

Donde : " σ " es la tensión superficial del mercurio y " α " el ángulo de contacto sólido-líquido.

En el caso de conductos cilíndricos ideales, de acuerdo con los valores normalmente aceptados para los materiales inorgánicos ($\sigma = 480$ dinas/cm y $\alpha = 141,3^\circ$), dicha relación es: $r = 7,5 / p$, donde el radio de los capilares "r" viene expresado en μm , y la presión "p" en kg/cm^2 (Van Brakel, 1981).

El ensayo de porosimetría consiste en inyectar mercurio a presión y registrar el volumen de mercurio introducido en la muestra. Para cada intervalo de presión considerado, el volumen de mercurio introducido nos indica el volumen de poros de la muestra que tiene en un determinado intervalo de tamaño. Por tanto, permite obtener una distribución de los diferentes tamaños de poros presentes en el material, lo que da una evaluación de la microestructura del material.

De acuerdo con las características del ensayo debe tenerse en cuenta que:

- Sólo se consideran poros abiertos, accesibles al mercurio.
- Al asumir un modelo de poros cilíndricos se determina un tamaño aparente: el de un poro ideal cilíndrico equivalente.
- Se determina el tamaño de los conductos por los que tienen acceso los poros a partir de la superficie del material y no del tamaño de los poros situados en su interior.
- Se trabaja con presiones elevadas, lo cual puede alterar la geometría del medio poroso.
- El ensayo precisa usar mercurio –material peligroso-, por lo que deben extremarse las normas de seguridad.
- Se trata de un ensayo irreversible, ya que una fracción del mercurio queda atrapada en el sistema poroso.

Entre las principales ventajas destacamos:

- Rapidez del ensayo.
- Simplicidad en el análisis de los resultados.
- Amplio intervalo de tamaños analizados.
- La mayor significación de dichos resultados cuando se trabaja en términos relativos (así, cuando se comparan materiales de la misma naturaleza, aunque la distribución de los tamaños puede estar más o menos desplazada en valores absolutos, el resultado siempre es correcto en términos relativos.

Las curvas porosimétricas obtenidas tras el ensayo, además del valor cuantitativo que poseen como curvas de distribución, pueden ser contempladas como una radiografía o huella dactilar del sistema poroso, denominándose por algunos autores como “espectro de la porosidad”. (A.S.T.M 1988)

B. Descripción técnica. Equipo

Previamente a la ejecución del ensayo de porosimetría por inyección de mercurio es necesario someter a las muestras a un proceso de secado. El equipo utilizado para las medidas de porosidad procede de la casa comercial Quantachrome Instruments, modelo PoreMaster 33-8.

La caracterización se realizó en dos intervalos tras someter las muestras a vacío: una primera medida hasta 0.34 MPa para determinar la porosidad comprendida en el intervalo de 1000 – 4

μm y una segunda medida hasta 227 MPa para porosidad comprendida en el intervalo 4 - 7·10-3 μm . Se ha utilizado un penetrómetro de 4 cm³, en el cual se han introducido las muestras previamente desgasificadas a temperatura ambiente hasta una presión de 4·10⁻³ MPa durante 5 min. Se tomaron alrededor 1.100 puntos experimentales en todo el rango de presiones.

5. Resultados.

5.1 Resultados estudio de la radiopacidad.

A. Resultados material experimental CAC

En la siguiente tabla (tabla 5.1) se presentan los resultados obtenidos para el cemento experimental CAC con los distintos agentes radiopacificantes mezclados a distintas concentraciones. También se presentan los valores estadísticos analizados con el programa SPSS software (IBM SPSS Statistics 20.0) utilizando la prueba T-student estableciendo el valor de 3 como límite para ver si los resultados son estadísticamente significativos.

Cemento	Aditivo	Porcentaje	Media (mm Al)	DS	Sig. (T-test)	95% Intervalo de confianza	
						Inferior	Superior
CAC	Sin Aditivo	0%	1.321	0.132	.000	1,247	1,394
	Zirconio	10%	2.129	0.236	.000	1,998	2,260
	Zirconio	20%	2.71	0.26	.001	2,565	2,854
	Zirconio	30%	3.088*†	0.217	.139	2,967	3,208
	Bario	10%	1.829	0.181	.000	1,728	1,929
	Bario	20%	2.359	0.134	.000	2,284	2,433
	Bario	30%	2.818*†	0.426	.121	2,582	3,054
	Bismuto	10%	2.516	0.232	.000	2,387	2,644
	Bismuto	20%	3.558†	0.206	.000	3,444	3,673
	Bismuto	30%	5.008†	0.328	.000	4,827	5,190

Tabla 5.1: valores en mm Al de los distintos especímenes tras la adición de distintos agentes radiopacificantes a distintas concentraciones. DS: desviación estándar (* Valores significativos para la prueba estadística T-Student tras establecer como límite los 3mm Al; † Valores de radiopacidad aceptados por los valores ISO)

La adición de óxido de bismuto proporciona los valores más altos de radiopacidad en todas las concentraciones estudiadas, seguido del óxido de zirconio. Acorde a la normativa ISO 6876-

2001, encontramos una radiopacidad adecuada en las presentaciones: CAC + 20% óxido de bismuto, CAC + 30% óxido de bismuto, CAC + 30% óxido de zirconio y CAC + 30% titanato de bario.

Cuando establecemos en el análisis estadístico el valor de 3 establecido por la norma, encontramos diferencias significativas en las presentaciones: CAC + 30% óxido de zirconio y CAC + 30% titanato de bario.

B. Resultados material control WMTA

Empleando el método descrito el estudio del material control WMTA ProRoot® aporta unos valores de radiopacidad de 5,754mm Al.

C. Resultados material experimental WEndo.

En la siguiente tabla (tabla 5.2) se presentan los resultados obtenidos para el cemento experimental WEndo con los distintos agentes radiopacificantes mezclados a distintas concentraciones.

Cemento	Aditivo	Porcentaje	Media (mm Al)	DS	Sig. (T-test)	95% Intervalo de confianza	
						Inferior	Superior
WEndo	Sin Aditivo	0%	1.454	0.146	.000	1,373	1,535
	Zirconio	10%	2.098	0.158	.000	2,010	2,185
	Zirconio	20%	2.823	0.209	.001	2,760	2,939
	Zirconio	30%	3.476*†	0.199	.129	3,365	3,587
	Bario	10%	1.845	0.180	.000	1,744	1,945
	Bario	20%	2.307	0.221	.000	2,184	2,430
	Bario	30%	2.917*†	0.301	.120	2,750	3,084
	Bismuto	10%	2.431	0.196	.000	2,322	2,540
	Bismuto	20%	3.273†	0.530	.000	2,980	3,567
	Bismuto	30%	4.902†	0.426	.000	4,666	5,138

Tabla 5.2: Valores en mmAl de los distintos especímenes tras la adición de los distintos agentes radiopacificantes a distintas concentraciones. DS: desviación estándar (* Valores significativos para la prueba estadística T-Student tras establecer como límite los 3mm Al; † Valores de radiopacidad aceptados por los valores ISO)

Al igual que el cemento experimental CAC, la adición de óxido de bismuto proporciona los valores más altos de radiopacidad en todas las concentraciones estudiadas, seguido del óxido de zirconio.

Acorde a la normativa ISO 6876-2001, encontramos una radiopacidad adecuada en las presentaciones: WEndo + 20% óxido de bismuto, WEndo + 30% óxido de bismuto, WEndo + 30% óxido de zirconio y WEndo + 30% titanato de bario.

Cuando establecemos en el análisis estadístico el valor de 3 establecido por la norma, encontramos diferencias significativas en las presentaciones: WEndo + 30% óxido de zirconio y WEndo + 30% titanato de bario.

Para reducir el número de pruebas, tras la determinación de los valores de los cementos experimentales que cumplían los requisitos ISO de radiopacidad. Se procedió a descartar las composiciones que presentaban óxido de bismuto, puesto que uno de nuestros objetivos iniciales era su eliminación como consecuencia de sus desventajas descritas. También se descartaron las composiciones portadoras de titanato de bario debido a que presentaban unos valores de radiopacidad ligeramente inferiores y a las desventajas descritas en la literatura de este. Por tanto, el resto de pruebas únicamente se realizaron con la formulación de **CAC con 30% de óxido de zirconio (CAC 30Z) y WEndo con 30% de óxido de zirconio (WEndo 30Z)**

A. Resultados difracción rayos X componentes aislados.

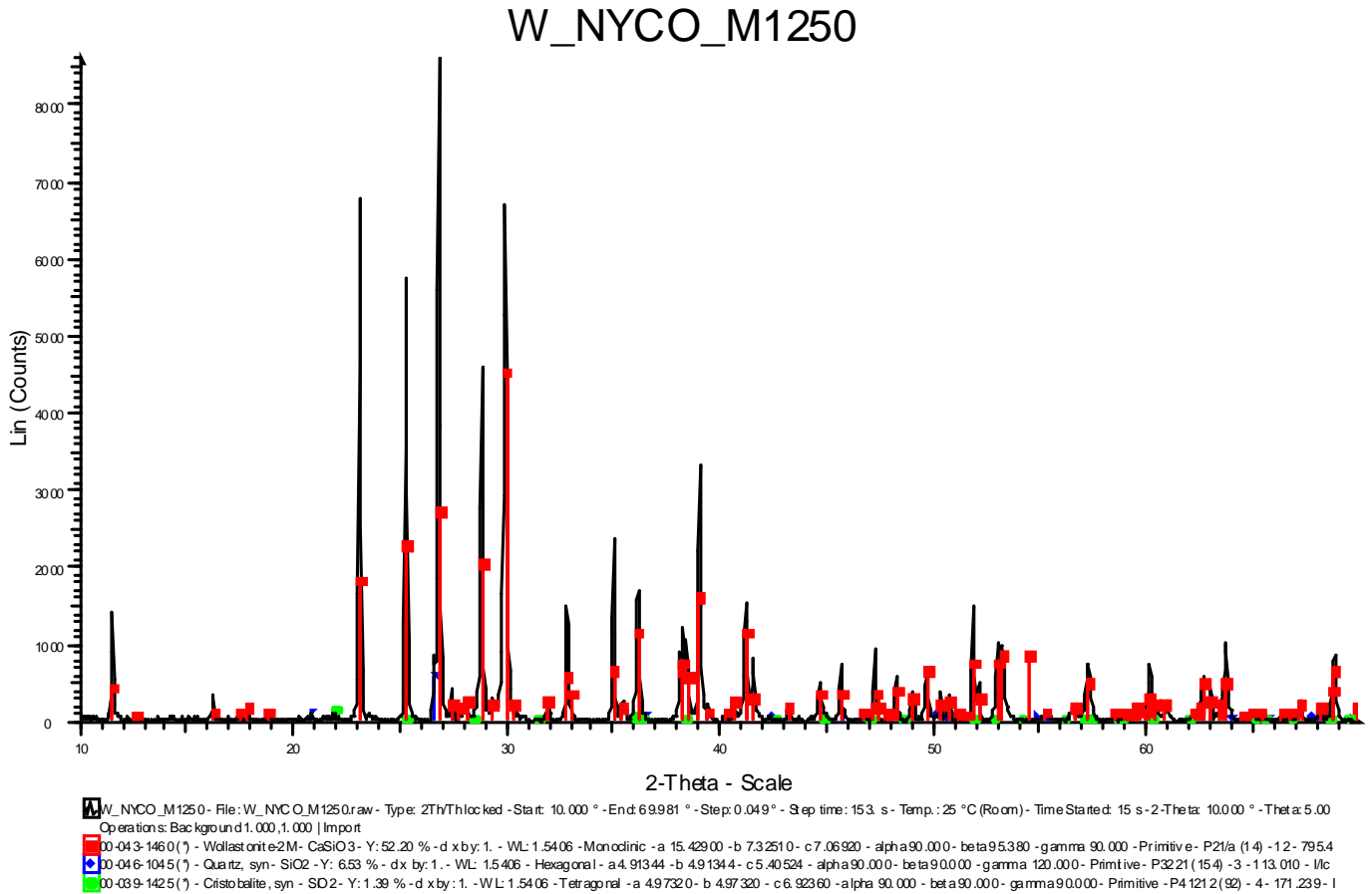


Figura 5.1: resultados difracción de rayos X Wollastonita NYCO M1250.

En la figura 5.1 se observa que la wollastonita empleada posee una fase principal de wollastonita 2M (parawollastonita: estructura monocíclica generada a baja temperatura), con trazas de cuarzo (SiO₂ trigonal) y cristobalita (SiO₂ tetragonal).

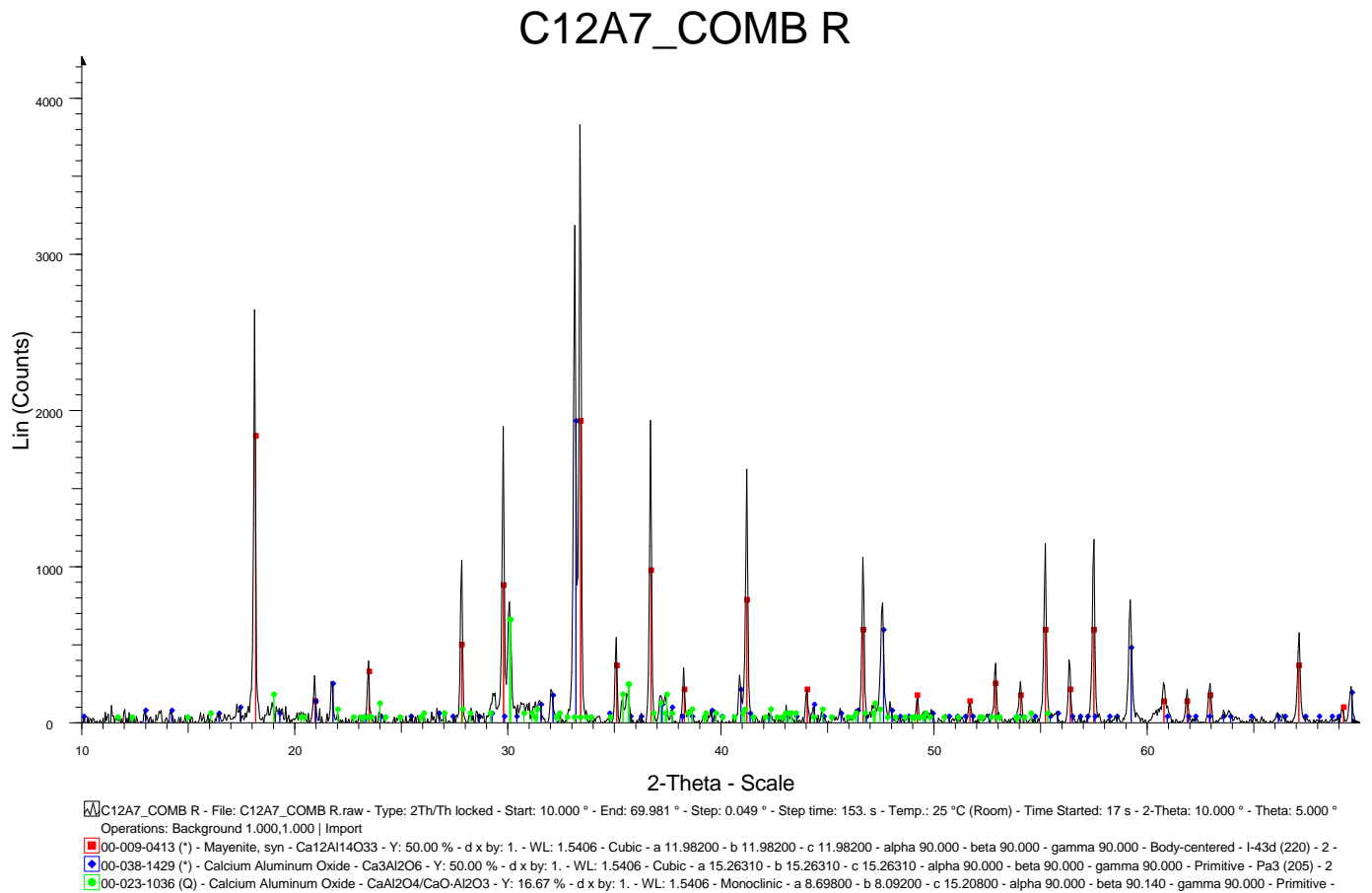


Figura 5.2: resultados difracción rayos X aluminato cálcico sintetizado en laboratorio por combustión.

En la figura 5.2, mediante XRD se identifican tres fases: C12A7 (Heptaaluminato dodecocalcico) como componente principal y C3A (aluminato tricálcico) y CA (aluminato cálcico) como fases secundarias.

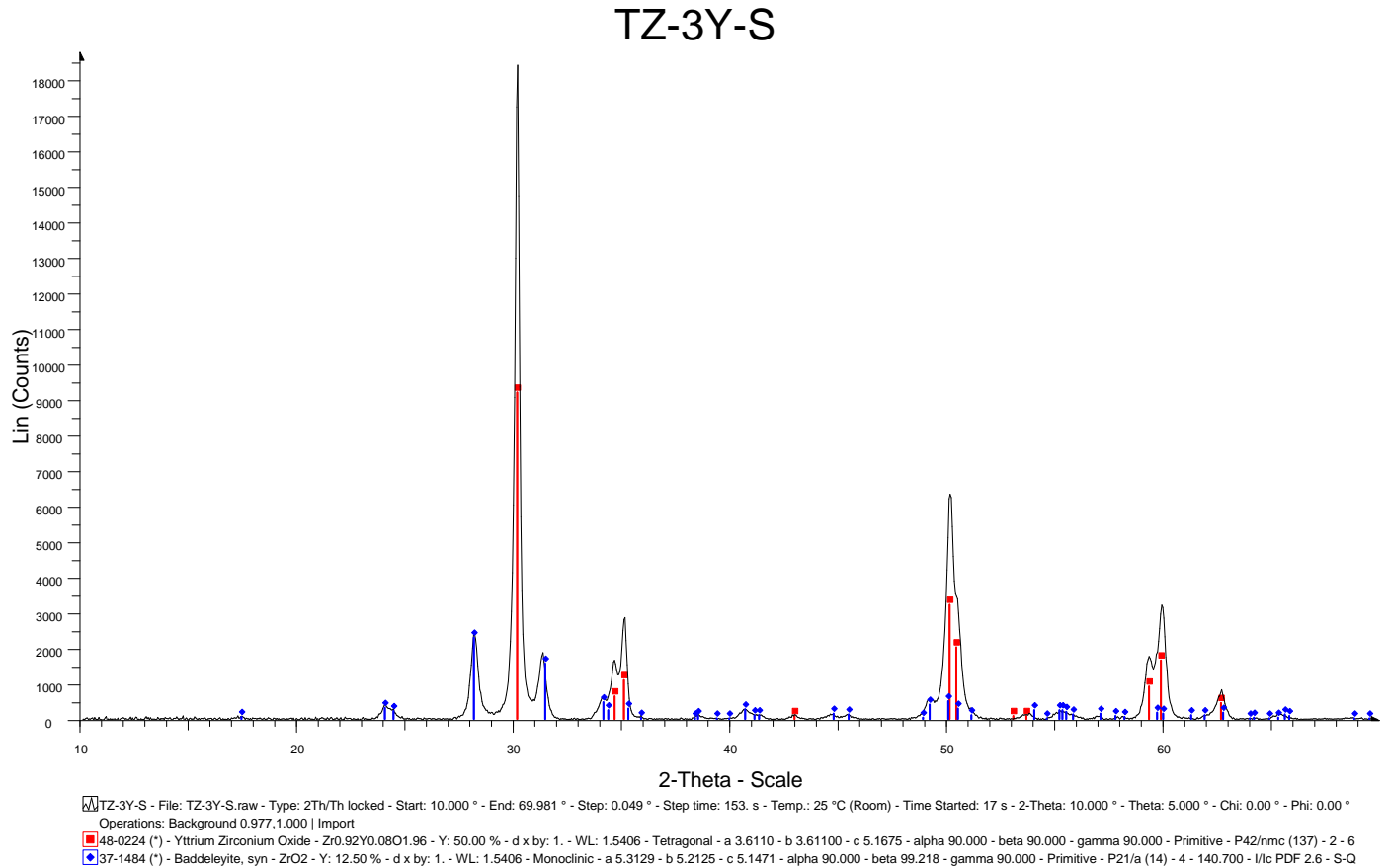


Figura 5.3: resultados difracción rayos X óxido de zirconio

Tal como se observa en la figura 5.3, el patrón de difracción muestra que la principal fase presente es la tetragonal, estando presente una pequeña cantidad de zirconia monocíclica.

B. Difracción rayos X forma fraguada.

B.1 Difracción rayos X material experimental CAC 30Z.

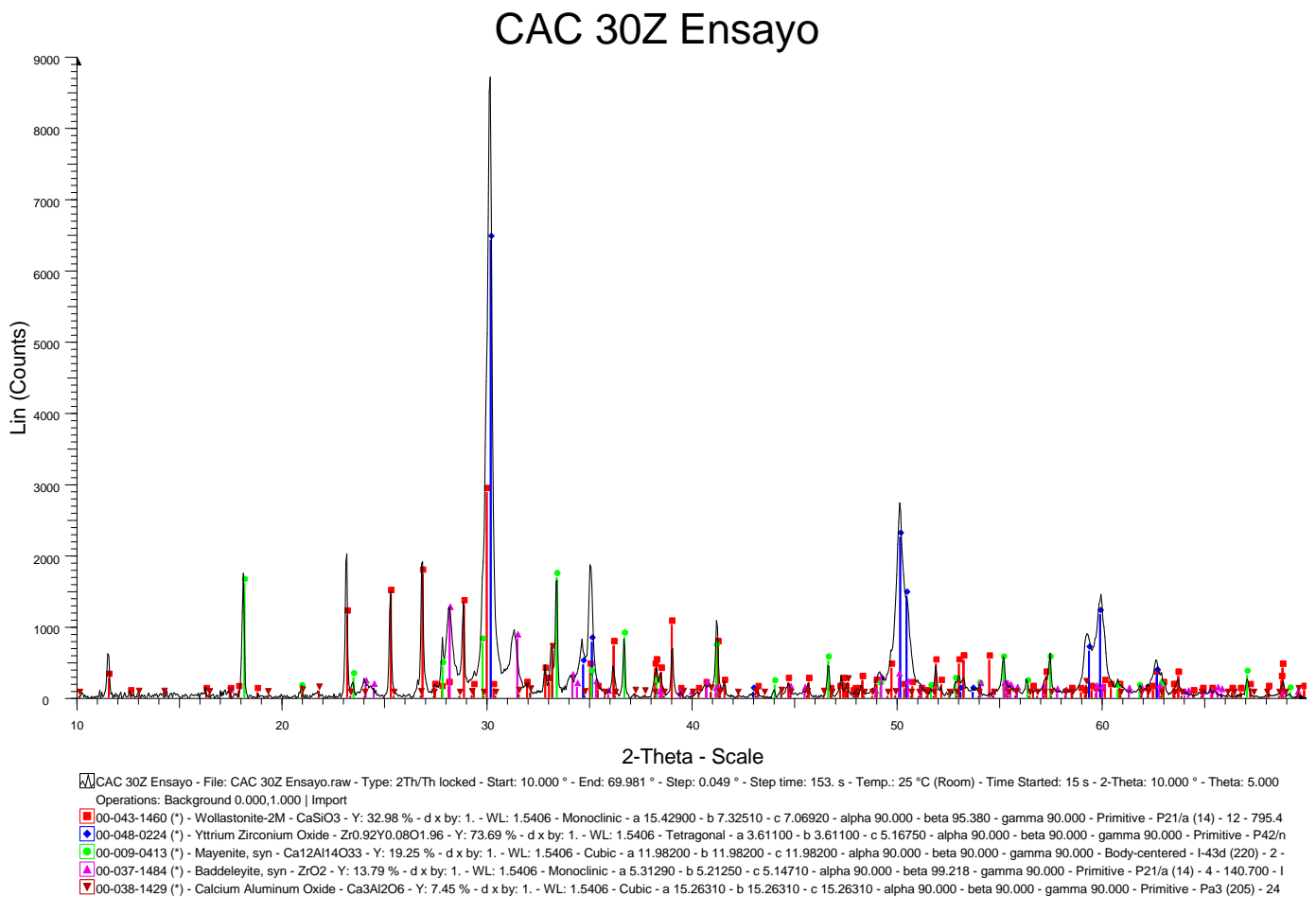


Figura 5.4: DRX forma fraguada cemento experimental CAC-30Z

Tras un fraguado de 3 días a 36,5º 100% de humedad, la presencia del pico de difracción 30º nos confirma la permanencia de óxido de zirconio inalterado tras el fraguado del material y su inercia química.

También se observan picos de wollastonita monociclica, mayenita (Aluminato de calcio; Ca₁₂Al₁₄O₃₃) y aluminato tricalcico (Ca₃Al₂O₆).

B.2 Difracción rayos X material experimental WEndo 30Z.

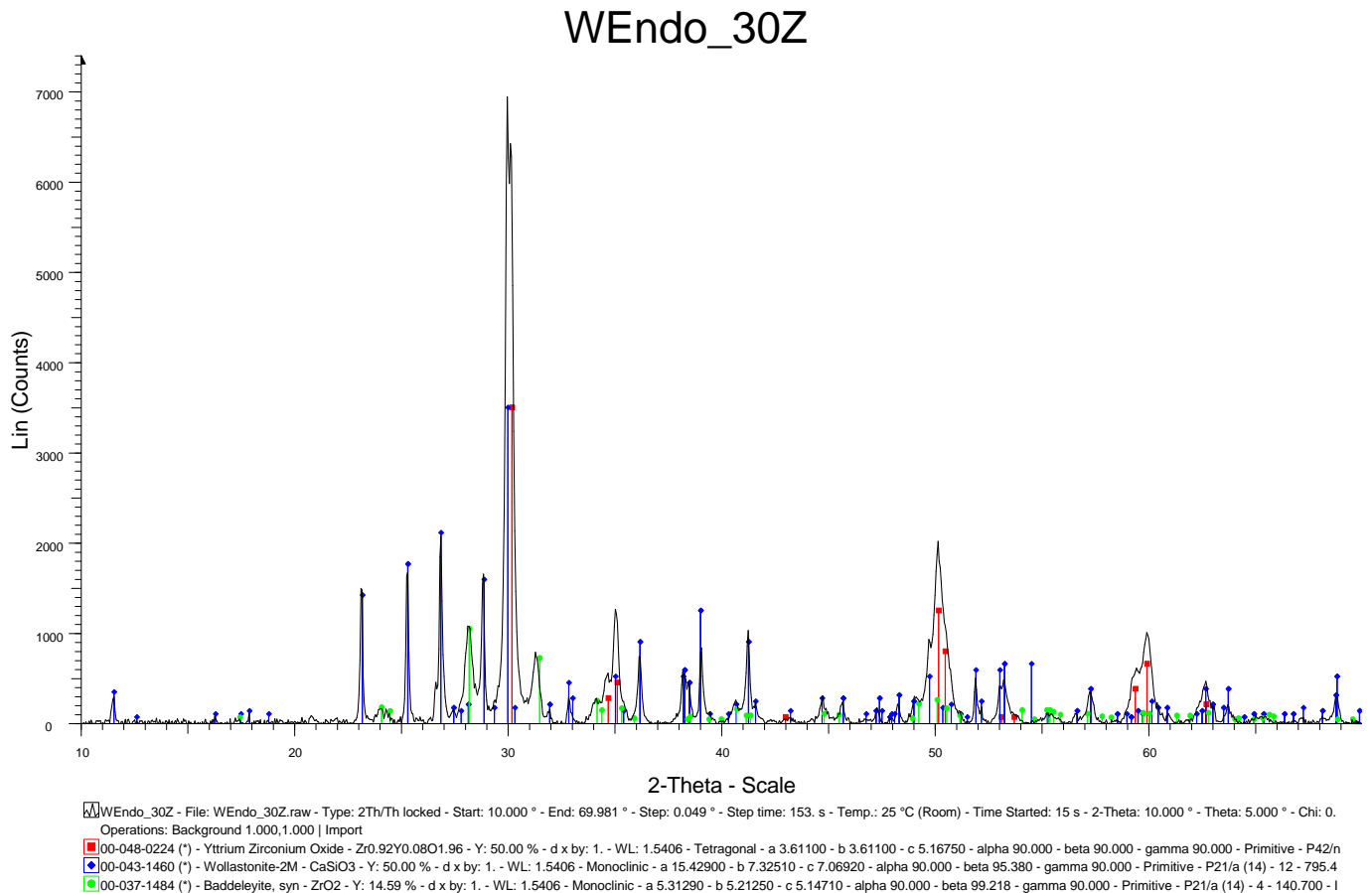


Figura 5.5: DRX forma fraguada cemento experimental WEndo-30Z

Tras un fraguado de 3 días a 36,5° y 100% humedad obtenemos un pico de difracción a 30° lo cual nos confirma la permanencia del óxido de zirconio inalterado tras el fraguado del material. Al igual que el cemento anterior, se observan picos de wollastolita monocíclica-2M.

5.3 Resultado estudio del pH y liberación de iones calcio en solución.

A. Resultados material experimental CAC 30Z:

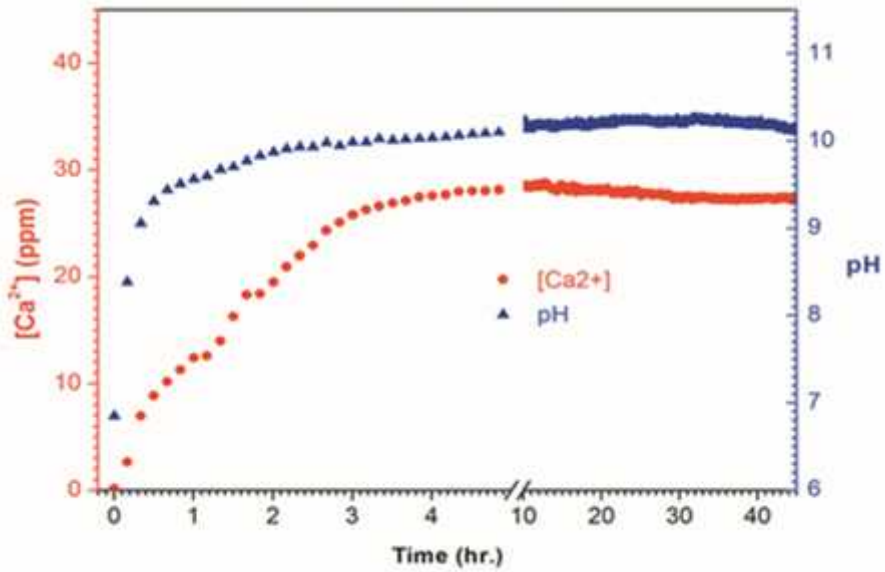


Figura 5.6: Relación pH y liberación de iones calcio material experimental CAC 30Z

Se observa un rápido incremento del pH desde la inserción de la muestra, alcanzándose un valor final de 10,2 el cual se mantiene estable en la duración del estudio. La liberación de iones calcio queda documentada durante toda la duración del estudio, alcanzando un valor máximo 28-29ppm a las 3 horas tras el mezclado del cemento, momento desde el cual se mantiene estable hasta la finalización del estudio.

B. Resultados cemento experimental WEndo 30Z.

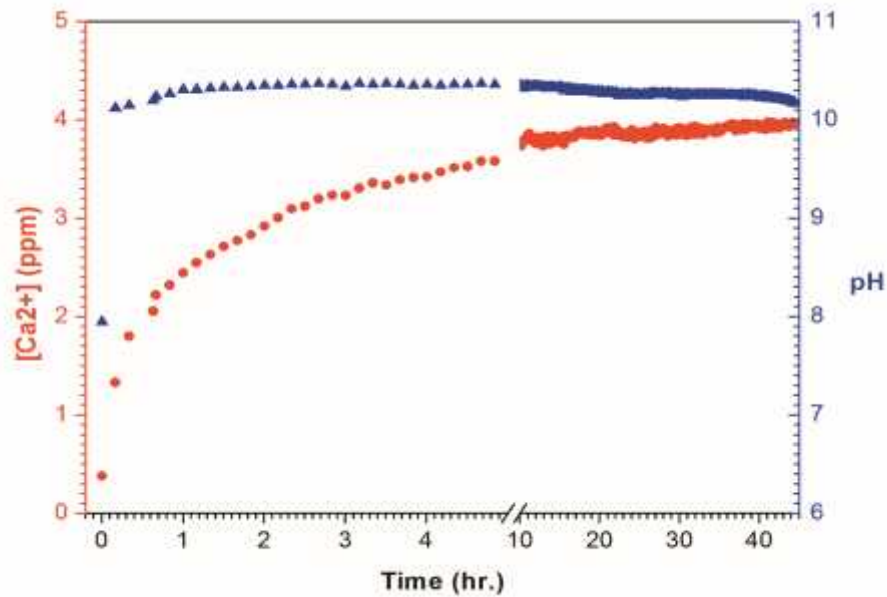


Figura 5.7 Relación pH y liberación de iones calcio en el material test 2- WEndo 30Z.

El pH obtenido para el material experimental WEndo 30Z es de 10,2 aproximadamente, valores similar al obtenido por el CAC 30Z, sin embargo el incremento inicial del pH es mucho más rápido en WEndo debido a la rápida disolución del silicato de sodio que contiene.

Recogiéndose unos valores de ion calcio unas 7 veces inferior frente al CAC 30Z, debido a la ausencia del aluminato de calcio en su composición.

5.4 Resultado estudio de la bioactividad.

A Resultados material experimental CAC 30Z.

Con la siguiente serie de figuras (5.8 a 5.12) se ilustra las imágenes obtenidas con MEB a los tiempos de estudio 1, 2, 3, 7 y 15 días, a distintos aumentos donde se observa la progresiva formación de una capa de apatita en su superficie desde el día 1.

CAC 30Z 1d

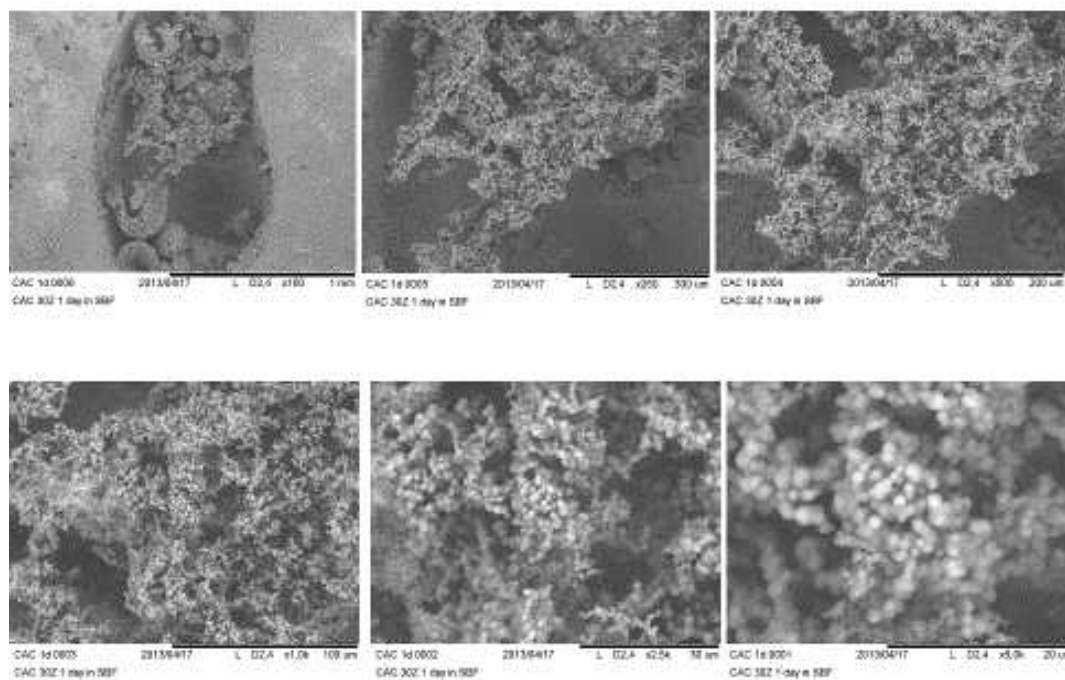


Figura 5.8: Imágenes MEB del cemento experimental CAC 30Z medido a distintos aumentos tras 1 día de inmersión en SBF.

CAC 30Z 2d

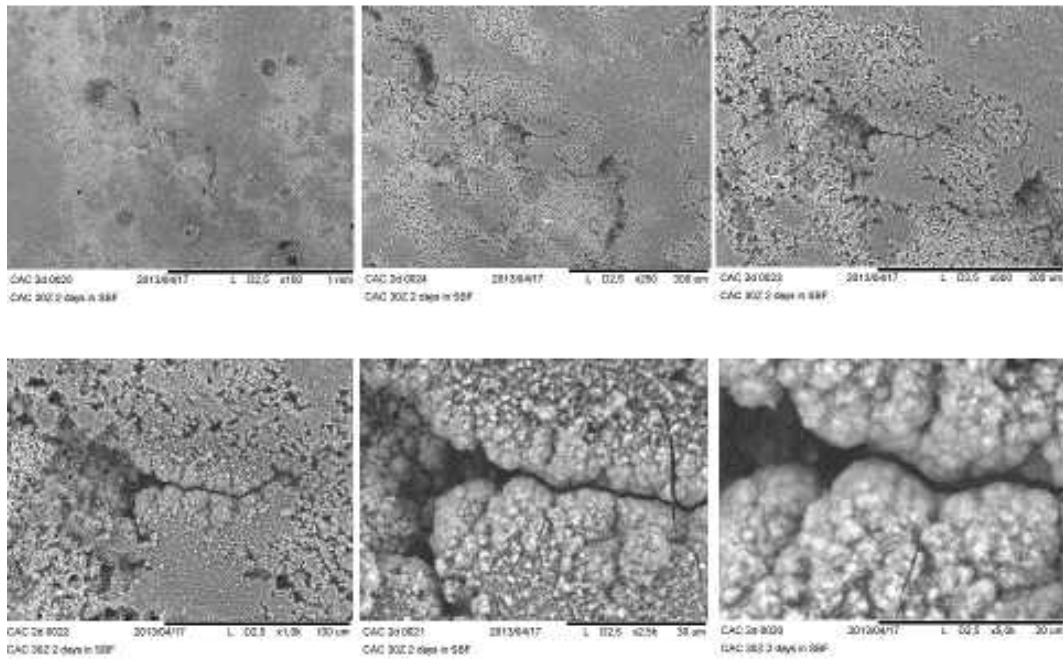


Figura 5.9: Imágenes MEB del cemento experimental CAC 30Z tras 2 días de inmersión en SBF

CAC 30Z 3d

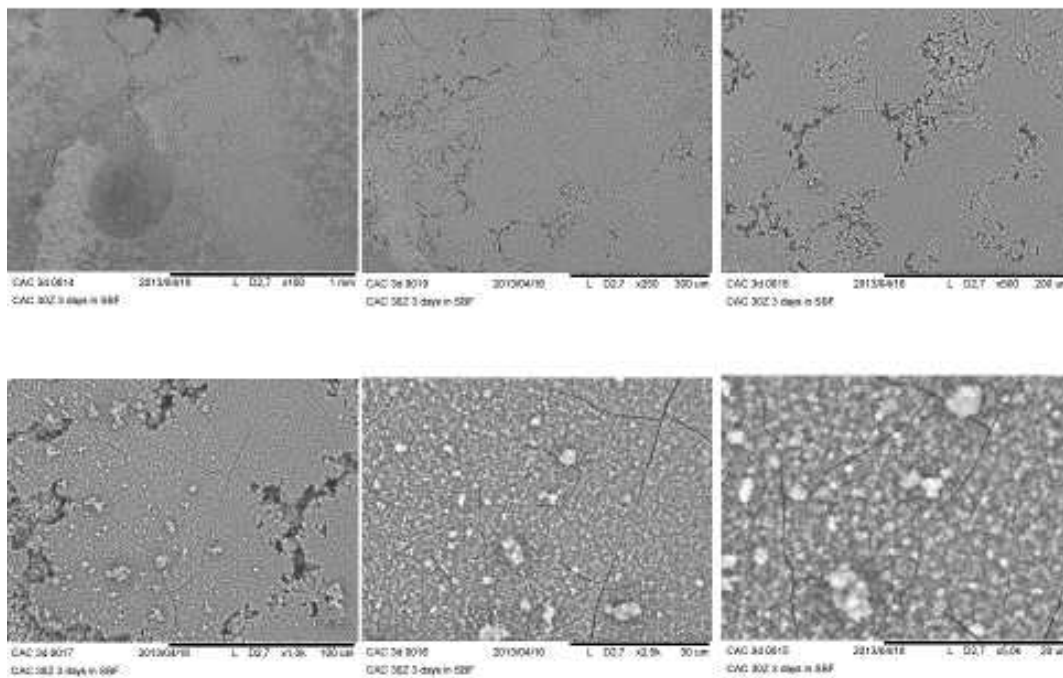


Figura 5.10: Imágenes MEB del cemento experimental CAC 30Z tras 3 días de inmersión en SBF.

CAC 30Z 7d

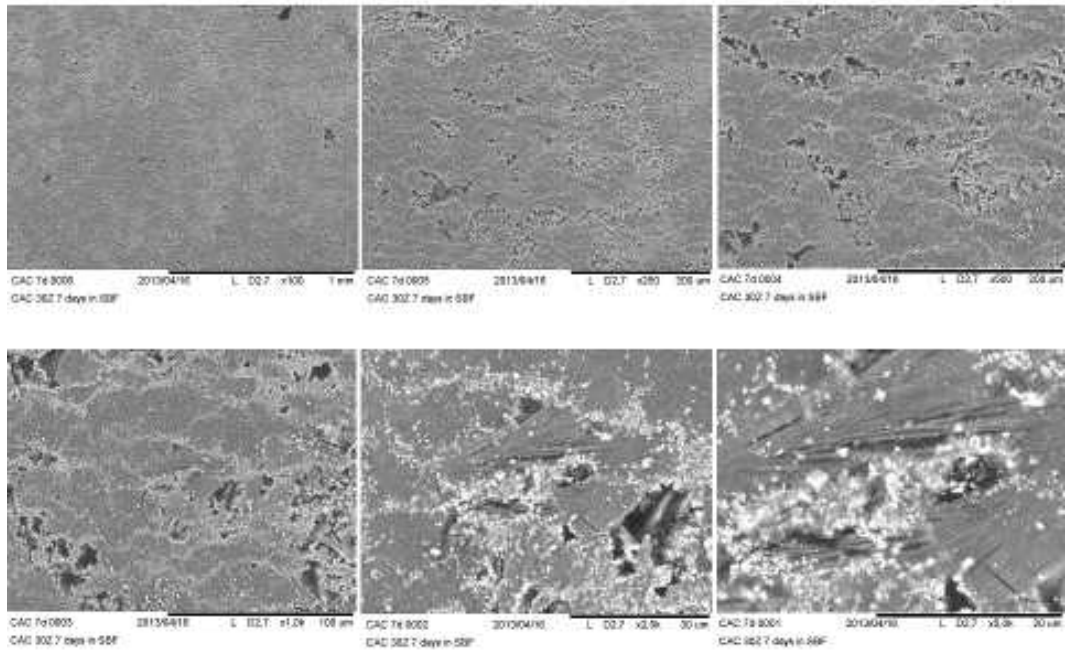


Figura 5.11: Imágenes MEB del cemento experimental CAC 30Z tras 7 días de inmersión en SBF.

CAC 30Z 15d

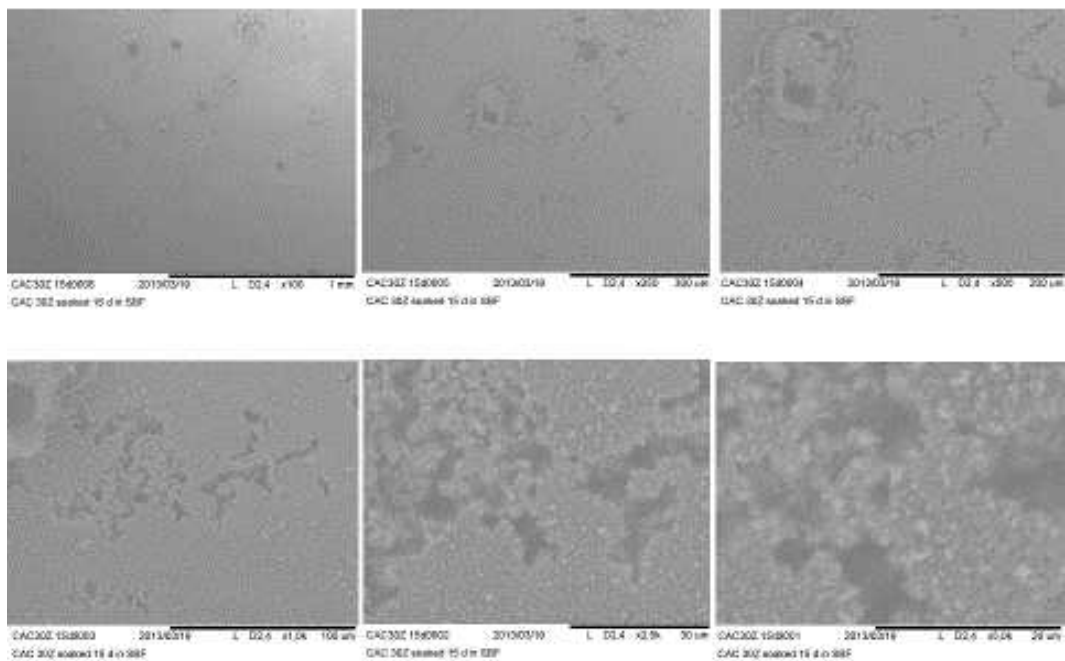


Figura 5.12: Imágenes MEB del cemento experimental CAC 30Z tras 15 días de inmersión en SBF.

B. Resultados material experimental WEndo 30Z.

Con la siguiente serie de figuras (figura 5.13 a 5.17) se ilustra las imágenes obtenidas con MEB a los tiempos de estudio 1, 2, 3, 8 y 15 días, en distintos aumentos donde se observa la progresiva formación de una capa de apatita en su superficie desde el día 1.

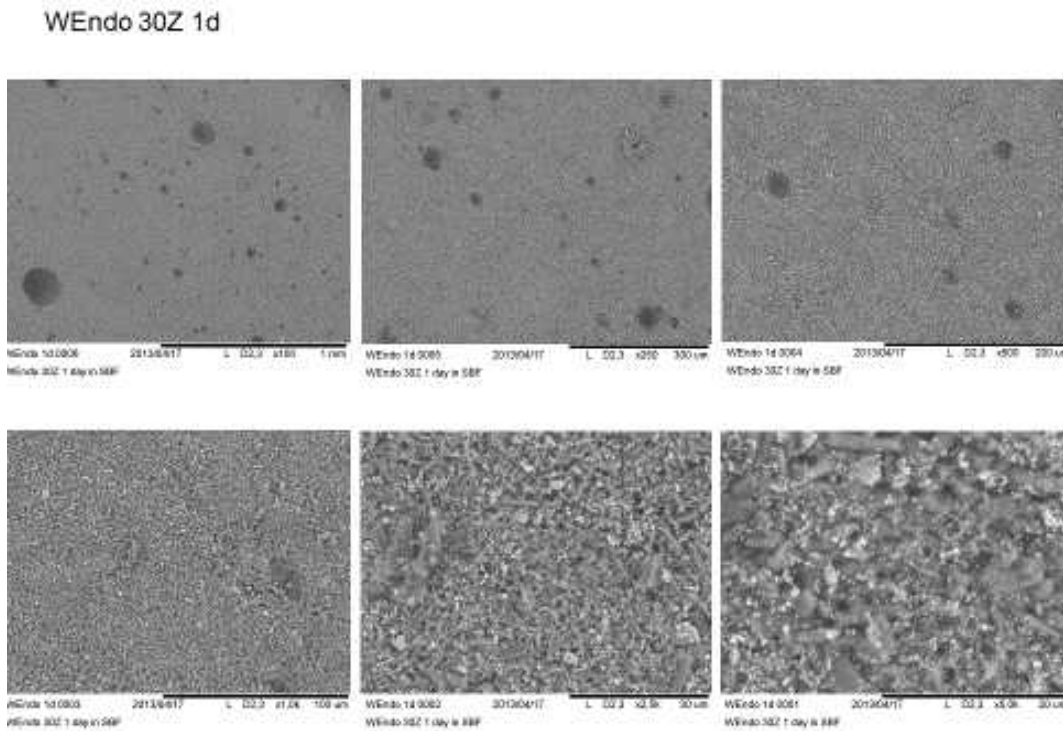


Figura 5.13

WEndo 30Z 2d

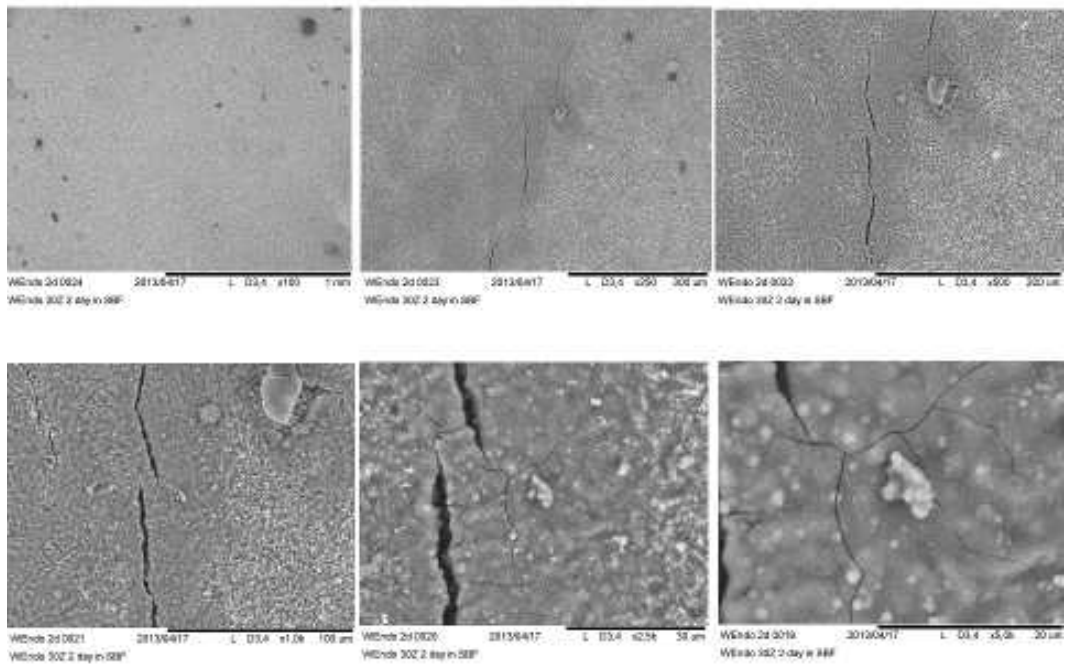


Figura 5.14

WEndo 30Z 3d

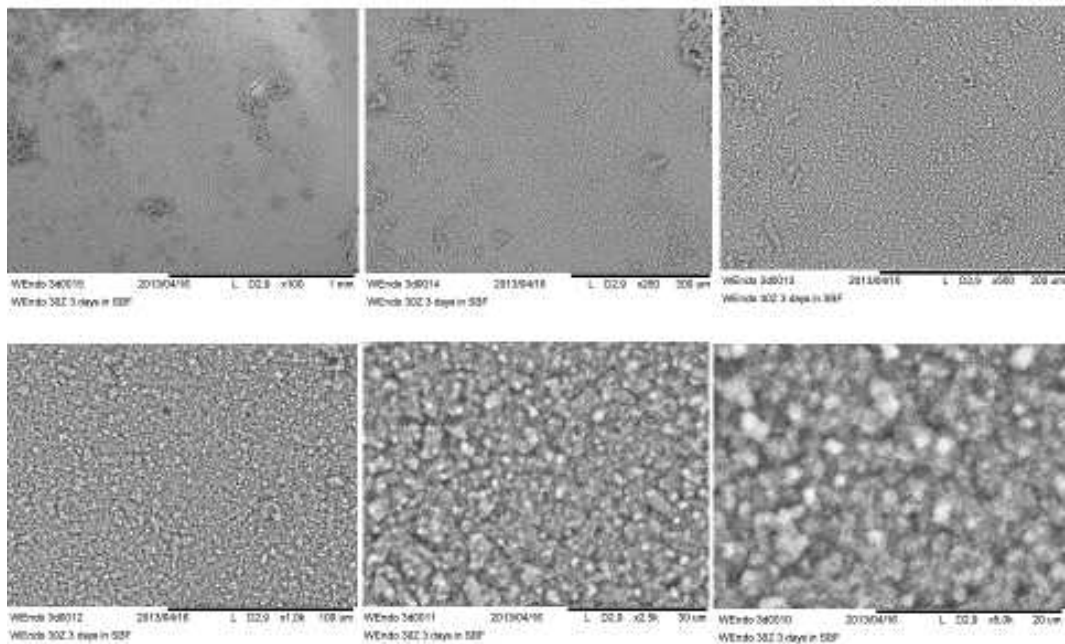


Figura 5.15

WEndo 30Z 8d

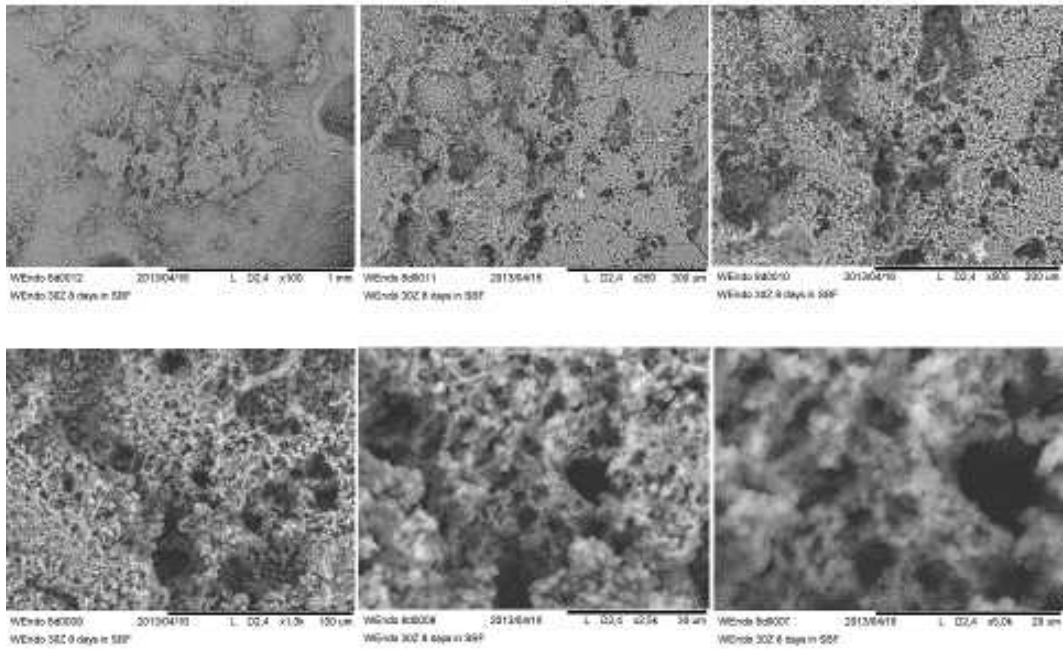


Figura 5.16

WEndo 30Z 15d

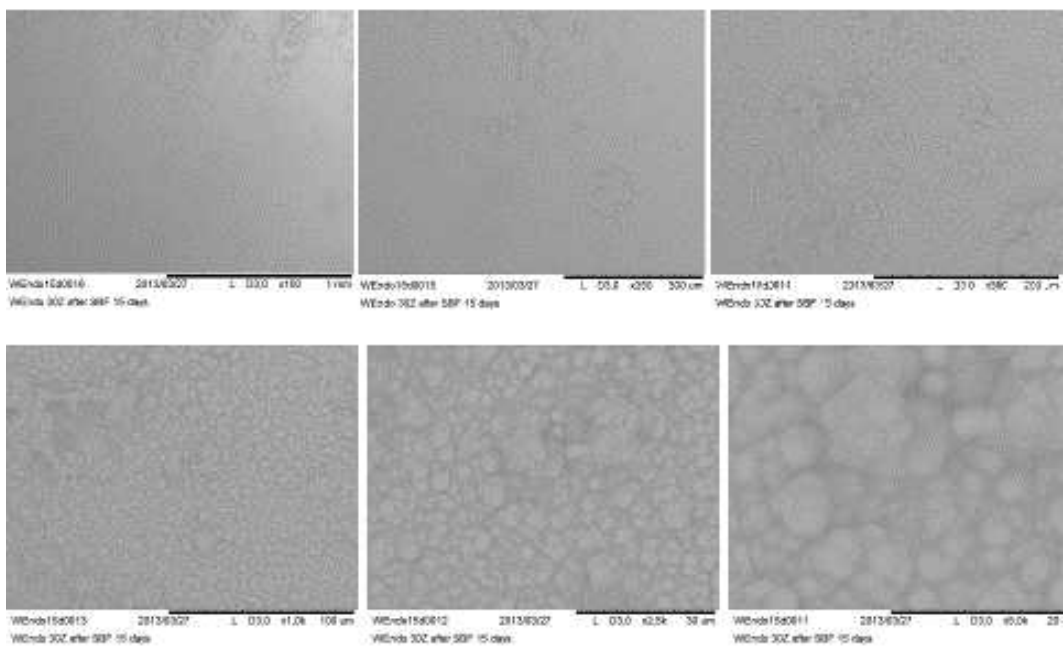


Figura 5.17

5.5 Resultado estudio de la citotoxicidad.

A. Resultado estudio de la citotoxicidad cemento experimental CAC 30Z.

En la siguiente grafica (figura 5.18) se observa la proliferación de osteoblastos Hob y MC3T3 cuantificada mediante el ensayo de Alamar Blue, sembrados sobre discos de CAC 30Z y sobre discos de Termanox® como control.

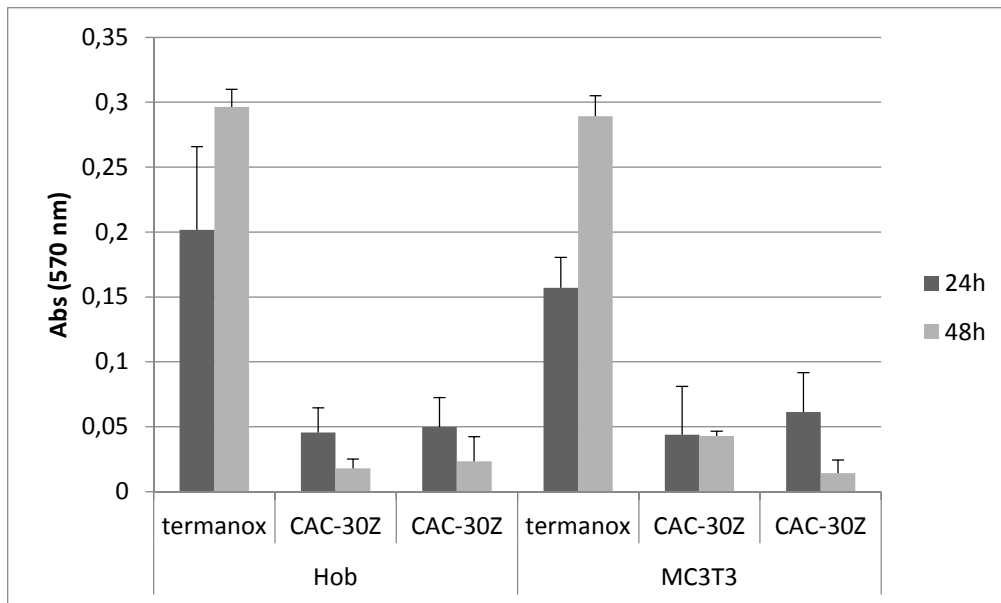


Figura 5.18: Proliferación de Osteoblastos Hob y MC3T3 medido mediante el ensayo de Alamar Blue

En el material a estudio CAC 30Z vemos una clara disminución de la proliferación celular en ambas líneas celulares, la cual continúa disminuyendo a las 48 horas de estudio.

En la siguiente tabla (tabla 5.3), se presentan los porcentajes de viabilidad, obtenidos mediante la siguiente fórmula: $[\text{DO extractox}100/\text{DO control}] = \% \text{ viabilidad}$

	Hob		MC-3T3	
% viabilidad	CAC-30Z	CAC-30Z	CAC-30Z	CAC-30Z
24h	22,562	24,629	27,92	39,066
48h	6,075	7,931	14,805	4,954

Tabla 5.3: % Viabilidad material experimental CAC 30Z

Según la norma ISO 10993-5: 2009 cuando la viabilidad celular se reduce más del 30% 24 horas después de estar en contacto con un extracto concentrado al 100%, este es potencialmente citotóxico. Según estos resultados, el material a estudio CAC 30Z analizados en las condiciones descritas anteriormente, se trata de un material potencialmente citotóxico. Hecho que consideramos que es debido a su elevado pH, factor del cual deriva su comportamiento bactericida. Sería interesante, quedando fuera del alcance del desarrollo de la presente tesis, observar la evolución de este comportamiento en un medio no estanco como el componente pulpar del diente.

B. Resultados del estudio de citotoxicidad del cemento experimental WEndo 30Z. Método indirecto.

En la siguiente figura (figura 5.19) se muestra la proliferación de osteoblastos HOb y MC3T3, cuantificada mediante el ensayo de Alamar Blue, en presencia de los extractos generados a partir de los discos de WEndo 30Z y del control al 20, 50 y 80%.

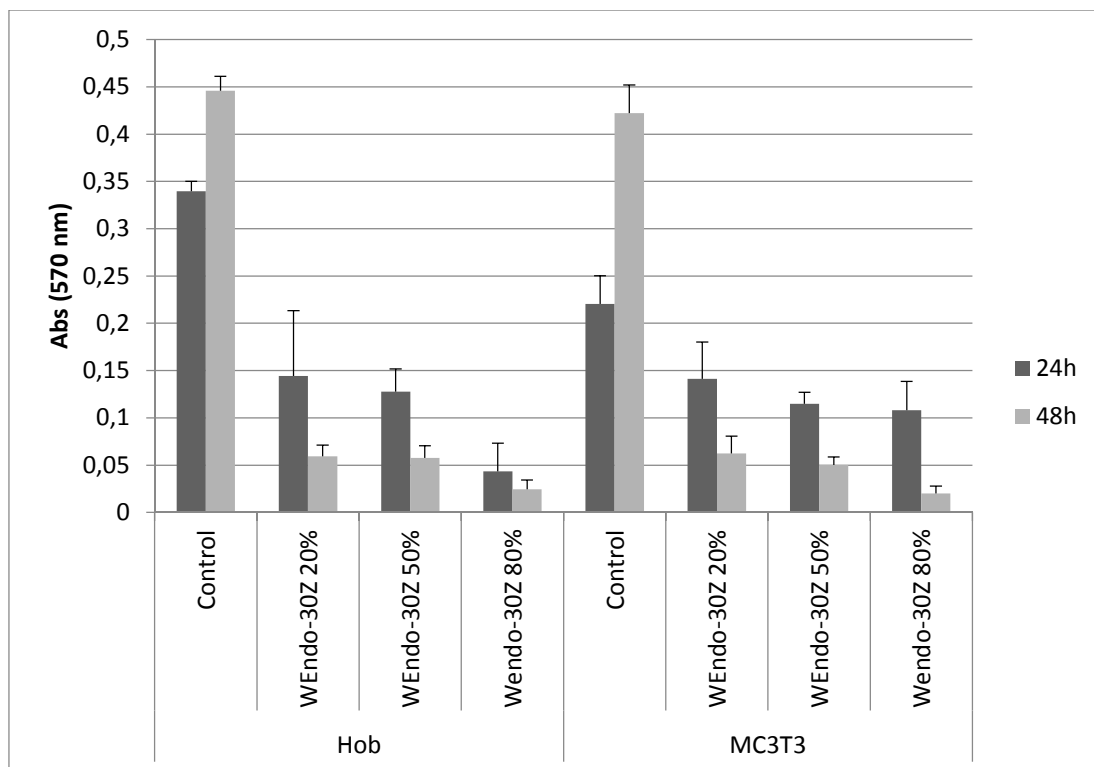


Figura 5.19: Proliferación de Osteoblastos Hob y MC3T3 medido mediante el ensayo de Alamar Blue

En el material a estudio WEndo30Z vemos una disminución de la proliferación celular en ambas líneas celulares medido mediante un método indirecto. Siendo esta disminución en la

proliferación dependiente de la concentración del material a estudio. La cual continúa disminuyendo a las 48 horas de estudio.

En la siguiente tabla (tabla 5.4), se presentan los porcentajes de viabilidad, obtenidos mediante la siguiente fórmula: $[\text{DO extracto} \times 100 / \text{DO control}] = \% \text{ viabilidad}$

%viabilidad	Hob			MC-3T3		
	WEndo-30Z 20%	WEndo-30Z 50%	Wendo-30Z 80%	WEndo-30Z 20%	WEndo-30Z 50%	Wendo-30Z 80%
24h	42,514	37,605	12,764	64,022	52,079	48,98
48h	13,343	12,95	5,494	14,818	11,927	4,739

Tabla 5.4: % Viabilidad material experimental WEndo 30Z

Según estos resultados, el material WEndo 30Z analizado en las condiciones descritas anteriormente, es potencialmente citotóxico.

5.6 Resultado estudio del tiempo de fraguado. Ensayos de penetración material experimental CAC 30Z.

En la siguiente tabla (tabla 5.5) se muestran los resultados obtenidos para los materiales estudiados.

	Resultados experimentales						
	CAC 30Z-1	CAC 30Z-2	CAC 30Z-3	CAC 30Z-4	CAC 30Z-5	Media CAC 30Z	WMTA
Fraguado inicial	45	50	70	65	45	55	145
Fraguado final	65	75	80	75	50	69	160

Tabla 5.5: Resultados de la variable tiempo de fraguado inicial y final del cemento CAC 30Z y del WMTA ProRoot®.

Mediante el test de Kolmogorov-Smirnov se determina que la muestra CAC estudiada cumple los principios de normalidad (tiempo inicial ($p= 0.200$) y tiempo final ($p= 0.188$)).

Mediante la prueba de la t de Student para una sola muestra, tomando como valor prueba los obtenidos en el MTA (145 para inicial y 160 para final) se obtiene que los resultados de nuestro material experimental "CAC" son estadísticamente significativos para ambos tiempos ($p=0.001$).

5.7 Resultado ensayo de porosimetría.

A. Curva porosimétrica material experimental CAC 30Z.

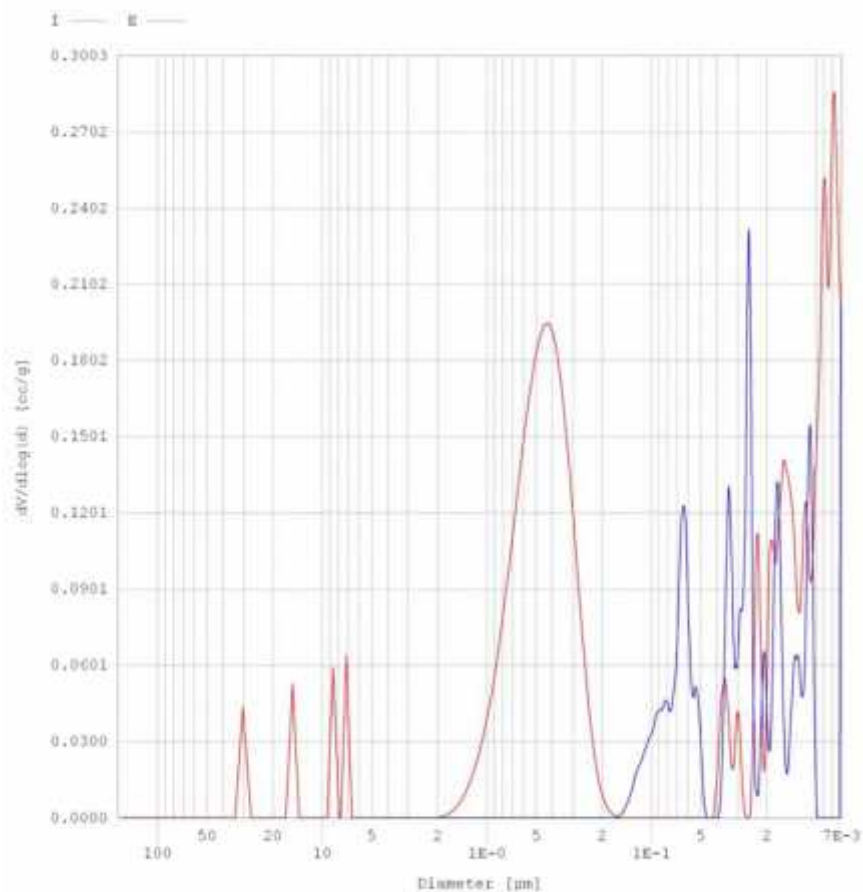


Figura 5.20: curva porosimétrica mediante estudio por inyección de mercurio del material experimental CAC 30Z.

B. Curva porosimétrica material control WMTA

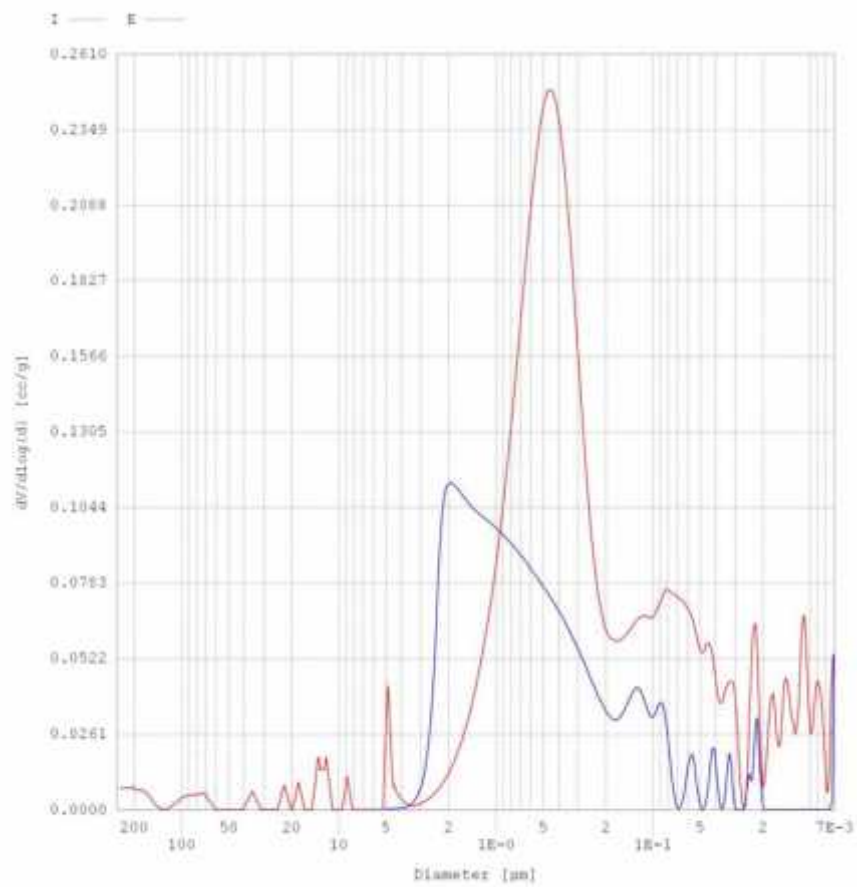


Figura 5.21: curva porosimétrica mediante estudio por inyección de mercurio del material control WMTA ProRoot®

C. Curva porosimétrica material experimental WEndo 30Z.

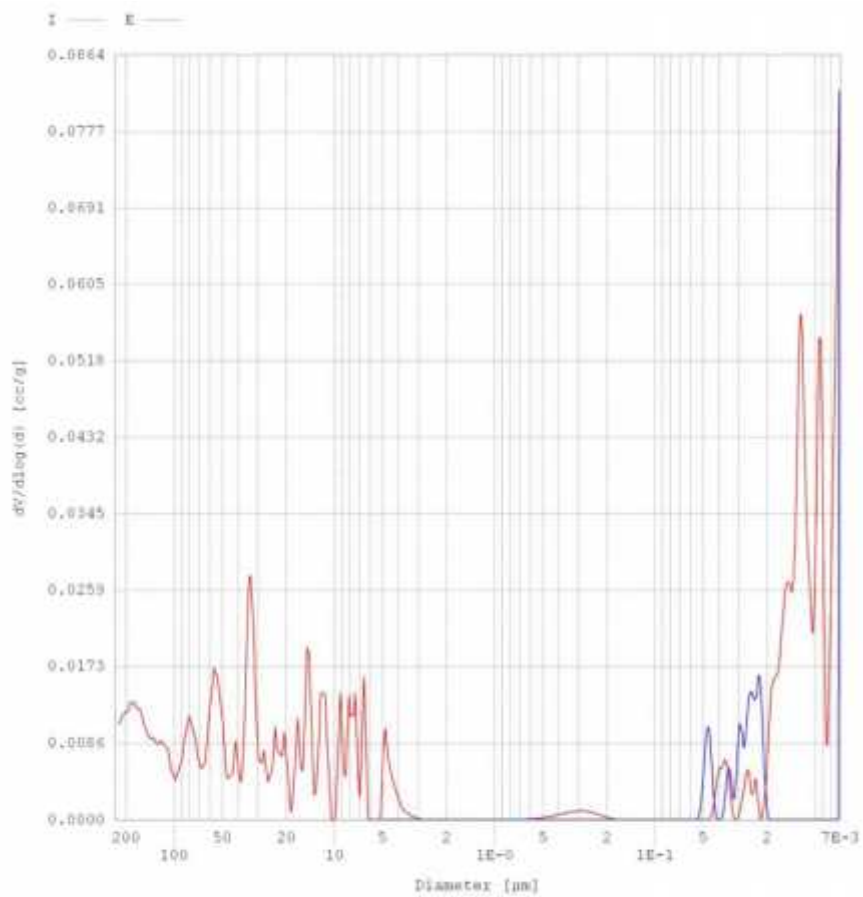


Figura 5.22: Curva porosimetría material experimental WEndo 30Z

D. Principales resultados:

Los principales resultados obtenidos en el ensayo de porosimetría se recogen en la siguiente tabla (tabla 5.6):

Parámetro medido	Unidades	Material		
		WEndo 30Z	CAC 30Z	WMTA
Peso de la muestra	gr	0.315	0.067	0.383
Tamaño medio de poro	µm	0.3	0.45	0.55
Área total de poro	m ² /g	5.5	28.4	10.3
Densidad aparente	g/ml	2.6	1.6	1.9
Porosidad	total	8.4	28.2	40.4
	interpartículas	4.4	1.7	2.6
	intrapartícula	4.0	26.5	37.8

Tabla 5.6: Tabla resumen de los principales resultados del ensayo de porosimetría por intrusión de mercurio.

Se ha considerado para la estimación del tamaño medio de poro el intervalo de 2 a 0.1 ya que tamaños mayores se corresponden con la porosidad intergranular creada a compactar la muestra (En forma de granulados) en el portamuestras. Los tamaños menores se deben, fundamentalmente a una rugosidad-porosidad superficial de los gránulos, poco accesible debido a su tamaño.

Como resumen de los resultados presentados en el presente capítulo se presenta la siguiente tabla (tabla 5.6) donde se reflejan los principales resultados obtenidos de los distintos ensayos así como su implicación.

Ensayo	Resultado CAC 30Z	Implicación	Resultado WEndo 30Z	Implicación
Radiopacidad	3,088 mmAl	Cumple normativa ISO	3,476mmAl	Cumple normativa ISO
Composición de fases	Óxido de zirconio inalterado	Inerte	Óxido de zirconio inalterado	Inerte
pH	10,2	Bactericida	10,2	Bactericida
Liberación iones calcio	Desde el inicio 28ppm a las 3 horas	Bioactividad	Desde el inicio 30 ppm a las 3 horas	Bioactividad
Bioactividad	Formación capa apatita	Bioactividad	Formación capa apatita	Bioactividad
Citotóxico	Si	Citotóxico	Si	Citotóxico
Tiempo de fraguado	Inicial= 55 min Final= 69 min	Disminuye tiempo fraguado vs. WMTA	No fraguable	
Porosimetría	Porosidad total = 28,2 %	Disminuye vs. WMTA Menor solubilidad Menor filtración	Porosidad total = 8,4 %	Baja solubilidad y filtración

Tabla 5. 6: Resumen principales resultados obtenidos en ambos materiales experimentales y propiedad derivada de este resultado.

6. Discusión.

Este trabajo se ha fundamentado en la propuesta de elaboración de dos nuevos cementos con base de wollastonita para su empleo en dentición temporal y permanente joven. El principal objetivo era lograr formular unos cementos alternativos a los ya utilizados de manera habitual en la clínica, que presentaran unas características de manejabilidad, bioactividad, citotoxicidad, radiopacidad, etc. al menos iguales o incluso superiores a los ya existentes e incluso que en su posible comercialización presentaran costes inferiores a los ya conocidos. Seguidamente se discutirá apartado por apartado, los hallazgos realizados durante la confección de dichos cementos en comparación con la literatura científica disponible.

6.1 En relación con la radiopacidad:

Una radiopacidad adecuada es una propiedad física importante para establecer un diagnóstico preciso en las diferentes disciplinas de la odontología. Los materiales de uso endodóntico, conforme con la normativa ISO 6876-2001 (ISO 6876-2001), deben de tener una radiopacidad igual o superior a 3.00 milímetros en relación con una escala patrón de aluminio (mm Al), lo cual es más radiopaco que dentina y hueso con el objetivo de ser distinguido de estructuras anatómicas adyacentes. Con este fin, en aquellos materiales que no poseen una radiopacidad intrínseca suficiente, se deben de añadir un agente radiopacificante en la mínima cantidad posible, este debe ser inerte, libre de contaminantes y no tóxico (Camilleri, 2010b).

El óxido de bismuto presente en la composición del MTA proporciona unos valores de radiopacidad del rango de 6 a 8 mm Al para el MTA ProRoot (Cutajar, 2011), pero no es inerte. Estudios in vitro evidencian como interfiere en el mecanismo de hidratación del material, disminuyendo la liberación de iones calcio (Camilleri, 2010a), otros autores ha demostrado como incrementa la porosidad del cemento, factor que puede afectar a su solubilidad y degradación (Bortoluzzi, 2009), así como una alteración su capacidad reparativa y sus propiedades físico-químicas (Grazziotin-Soares, 2014) (Formosa, 2012).

En nuestro estudio, el cemento experimental CAC y WEndo sin radiopacificadores proporciona unos valores de radiopacidad similares a los documentados para los cementos de silicato cálcico (CSC), grupo al cual pertenecen el MTA y PC, siendo de 1,32 en nuestro cemento CAC y 1,45

para el experimental WEndo y ligeramente superiores para el CSC (1,62 según Camilleri y cols. (Camilleri, 2010a)).

En nuestro estudio, la adición de 20% de óxido de bismuto al cemento experimental CAC proporciona valores de radiopacidad similares a los documentados en el Angelus MTA (3,3 mm. Al (Tanomaru-Filho, 2008)) y MTA Bio (3,93 mm. Al (Vivan, 2009)).

Resultados claramente inferiores a los 7,17mm Al documentados para el ProRoot MTA y los 8mm Al del MTA Plus® (Formosa, 2013), diferencia que podría estar justificada por la presencia de sulfato cálcico hemihidratado (yeso) en la composición de estos últimos (Parirokh, 2010a) (Accorinte, 2009).

Otra posible causa que podría influir en esta diferencia, según nos muestra Guerreiro-Tanomaru y cols. en su estudio (Guerreiro-Tanomaru, 2014) podría ser la diferencia en el tamaño de partícula de los componentes.

Consideramos que también relacionado por una menor presencia de compuestos portadores de iones calcio que proporcionarían una radiopacidad intrínseca en nuestros cementos experimentales, al haberse requerido una mayor concentración de agente radiopacificante para conseguir unos valores de radiopacidad acorde a la normativa ISO (30% en nuestro experimental CAC 30Z frente al 20% de óxido de bismuto presente en el MTA)

Debido a las descritas desventajas del óxido de bismuto se seleccionaron agentes radiopacificantes alternativos;

El óxido de zirconio como agente radiopacificante en el presente estudio se seleccionó debido a su alto número atómico y a sus buenas propiedades físico-químicas. La adición de 30% de óxido de zirconio a nuestro cemento experimental CAC proporciono unos valores de radiopacidad acorde a la normativa ISO (3,008 mmAl), valores ligeramente inferiores a los obtenidos por otros autores cuando añaden 20% de óxido de zirconio al cemento Portland blanco (3,87 mm Al para Bortoluzzi y cols. (Bortoluzzi, 2009) y 3,41 mm Al para Hungaro-Duarte y cols. (Hungaro-Duarte, 2009)). Sin embargo en nuestra composición, la adición de sólo un 20% de óxido de zirconio no proporcionó una radiopacidad suficiente acorde a la normativa ISO.

Al igual que lo observado en nuestro estudio, Guerreiro-Tanomaru y cols. (Guerreiro-Tanomaru, 2014) cuando añaden un 30% de óxido de zirconio al PC obtienen unos valores de radiopacidad de $3,505 \pm 0,26$ mm Al para la forma microparticulada y $4,9 \pm 0,31$ para la forma nanoparticulada.

Concluyendo que una disminución del tamaño de las partículas puede mejorar las propiedades físicas del cemento a estudio.

Según Bortoluzzi y cols. el óxido de zirconio no presenta evidencia de toxicidad, poseyendo una alta resistencia mecánica y resistencia a corrosión y color blanco (Bortoluzzi, 2009).

Encontramos la incorporación de óxido de zirconio como agente radiopacificante en el experimental descrito MedCem MTA.

El sulfato de bario es usado en odontología como radiopacificante en resinas compuestas y cementos endodónticos (Bortoluzzi, 2009), habiendo evidenciado un comportamiento inerte (Camilleri, 2010a).

Las radiopacidades del titanato de bario (BaTiO₃) y el sulfato de bario (BaSO₄) son prácticamente iguales en el intervalo espectral de interés. Seleccionándose el titanato de bario por accesibilidad en el centro donde se desarrollaron los cementos.

Autores como Bortoluzzi y cols. (Bortoluzzi, 2009) y Hungaro-Duarte y cols. (Hungaro-Duarte, 2009) mezclan 20% de sulfato de bario con cemento Portland blanco, al igual que nosotros, obtienen unos valores de radiopacidad inadecuados (2.35mmAl y 2.80 respectivamente). Al igual que Camilleri y cols. (Camilleri, 2010), obtenemos unos valores de radiopacidad adecuados cuando añadimos 30% de titanato de bario (o sulfato de bario en su estudio)

Destacar que en los estudios de radiopacidad citados existen diferencias en el método de determinación de la radiopacidad, describiéndose 3 tipos de metodologías:

La primera, descrita por Eliasson y Haasken in 1979 (Eliasson, 1979), donde emplean radiografía convencional y un densitómetro para determinar la densidad radiográfica y su equivalente en milímetros de aluminio. Método empleado por Camilleri y cols. (Camilleri, 2010) (Camilleri, 2010b) y Aguilar y cols. (Aguilar, 2011) en sus estudios.

La segunda, propuesta por Tagger y Katz en 2003 (Tagger, 2003) incorporan un patrón escalonado de aluminio y una placa radiográfica convencional, tras la cual proceden a su digitalización y análisis mediante un software que detecte los distintos valores de grises. Este método fue empleado por Chiang y cols. en su estudio (Chiang, 2010) , Bortoluzzi y cols. (Bortoluzzi, 2009) y Hungaro-Duarte y cols. (Hungaro-Duarte, 2009), con la diferencia de que emplean la herramienta del software "equal density tool"

La tercera y más reciente es la descrita en la normativa ISO 9917-1 de 2007, en la cual se determinan los valores de grises medidos en píxeles mediante el empleo de películas radiográficas específicas para su digitalización. El empleo de este tipo de películas reduce el tiempo de procesado y el número de pasos que pueden interferir en la calidad de la imagen final (Barbieri-Petrelli, 2006), junto con una menor dosis de radiación (Tseis, 2008). El empleo de este método evita los errores que pueden surgir del escaneado de radiografías convencionales y la necesidad del empleo de un densitómetro. Este método es el empleado por Cutajar y cols. (Cutajar, 2011) y Formosa y cols. (Formosa, 2012) y el seleccionado en nuestro estudio, ya que se consideró como el método más eficaz para determinar la radiopacidad de los materiales a estudio de una forma sencilla, fiable y fácilmente reproducible.

En nuestro estudio obtenemos unos valores claramente inferiores para el MTA de los publicados por Torabinejad en sus estudios iniciales de 7,17 mm Al (Torabinejad, 1995), frente a los 5,754mm Al obtenidos en nuestro estudio, diferencias que podrían ser consecuencia del distinto método de medición empleado.

6.2 En relación con la difracción de rayos X.

La identificación de los componentes principales presentes en un material es importante para entender las propiedades físicas y mecánicas de un material (Park, 2010).

Estudios de Difracción de Rayos X realizados en MTA blanco (ProRoot) han identificado las siguientes fases: silicato dicálcico (Ca₂SiO₄) en un 23±1.6%, silicato tricalcico (Ca₃SiO₅) en un 52±1.5%, aluminato tricalcico (Ca₃Al₂O₆) 3.8±0.5%, sulfato calcico hemihidratado (CaSO₄) 1.3±0.3, y óxido de bismuto (Bi₂O₃) en un 19.8±0.4 (Belio-Reyes, 2009).

Nuestro cemento experimental CAC 30Z está compuesto por un 28% de Wollastonita (β -CaSiO₃), 42% de aluminato de calcio (>70% mayenita: Ca₁₂Al₁₄O₃₃ y resto aluminato tricalcico: Ca₃Al₂O₅), y un 30% de óxido de zirconio y nuestro cemento experimental WEndo 30Z por un 70% Wollastonita (β -CaSiO₃) +30% Óxido de zirconio (ZrO₂)

El óxido de zirconio, empleado en nuestros materiales experimentales, ha demostrado ser inerte (Camilleri, 2010a), lo cual queda evidenciado también en el estudio de difracción de rayos X llevado a cabo.

En ambos cementos (MTA y nuestro experimental CAC 30Z) observamos mediante XRD en la forma fraguada la formación de hidróxido de calcio o portlandita (Ca(OH)₂), el cual consideramos que puede determinar un comportamiento bactericida en ambos compuestos.

6.3 En relación con el pH y liberación de iones calcio.

El estudio del pH de ambos cementos medido a tiempo real, revela una rápida elevación del pH de aproximadamente 10.2 para ambos cementos, el cual se mantiene en este rango hasta la finalización del estudio. Siendo el incremento inicial mucho más rápido en WEndo 30Z debido a rápida disolución del silicato de sodio que contiene.

En los materiales estudiados, encontramos unos valores de liberación de iones calcio 7 veces mayor en CAC 30Z. De lo cual concluimos que la adición de aluminato cálcico en su composición produce una mayor concentración de iones calcio en el medio.

Según la literatura el hidróxido de calcio presenta un pH de 12.4 (Pacios, 2004), resultados similares presenta el MTA a las 3 horas de su mezclado (12.5), produciendo un pH de 10.2 inmediatamente tras su espatulado (Parirokh, 2010a).

Autores como Gandolfi y cols. (Gandolfi, 2014) justifican una mayor liberación de iones con un tamaño más fino de las partículas, aspecto que no se ha estudiado en el presente trabajo.

6.4 En relación con la bioactividad

Ambos cementos son fuente de calcio y sílice, los cuales están relacionados con la bioactividad. Así, el sílice juega un papel importante en eventos metabólicos que inducen la formación ósea (Magallanes-Perdomo, 2010), dotando a la cerámica o cerámica vítrea de propiedades osteoconductoras y osteoinductivas (Zhang, 2010).

Diversos estudios documentan la bioactividad del MTA y sus modificaciones (Gandolfi, 2015) (Gandolfi, 2011) (Gandolfi, 2014) (Camilleri, 2013) Esta bioactividad resulta de la reacción del hidróxido de calcio producido durante la hidratación del componente cemento Portland con los fosfatos presentes en los fluidos de los tejidos (Viapiana, 2014)(Niu, 2014).

En los cementos de aluminato cálcico, el fraguado se produce cuando las principales fases componentes del polvo (aluminato cálcico: CaO·Al₂O₃ o CA, y dialuminato cálcico: CaO·2Al₂O₃ o CA₂) se disuelven en el agua de mezclado liberando iones Ca²⁺ y Al(OH)₄⁻, los cuales al alcanzarse los correspondientes productos de solubilidad precipitan como aluminatos de calcio hidratados e hidróxido de aluminio (Oliveira, 2013).

Al igual que en nuestro estudio, el empleo de SBF es el método más aceptado actualmente para medir la bioactividad de un material. Sin embargo otros autores como Gandolfi y cols. (Gandolfi, 2010) o Han y cols. (Han, 2013) justifican el empleo de la solución DPBS al considerar que la inclusión en SBF puede producir falsos positivos y negativos.

Destacar que se requieren más estudios que evidencien el papel de los agentes radiopacificantes en la bioactividad de los materiales endodónticos.

6.5 En relación con la citotoxicidad

Estudios sobre citotoxicidad sobre el MTA ProRoot® documentan un 95% de viabilidad medido mediante el test de Alaman blue y ensayo MTT cuando lo ponen en contacto con células de ratón (MDPC-23) (Poggio, 2014) o una actividad metabólica del 100% medida mediante MTT cuando se pone en contacto con monocitos humanos (Khedmat, 2014), de igual modo Jaberiansari y cols. (Jaberiansari, 2014), muestran un porcentaje de viabilidad del 90% sobre células odontoblásticas humanas derivadas de células stem pulpares (DPSCs) medido mediante MTT.

Nuestros cementos experimentales, en las condiciones de estudio, muestran ser potencialmente citotóxicos. Dicha diferencia en la viabilidad queda justificada porque en ambos estudios la exposición de las células al cemento es mucho menos agresiva al no existir contacto directo.

6.6 En relación con el tiempo de fraguado

Para la realización del estudio del tiempo de fraguado, y al igual que los estudios presentes en la literatura revisada, no se ha encontrado una normativa la cual seguir que guiase los objetivos propuestos inicialmente de determinar el tiempo de fraguado inicial y final, sin que supusiese un gasto excesivo de material.

Así la ISO 9917-1: 2007 (ISO 9917-1:2007) únicamente determina el tiempo de fraguado final y no identifica el tipo de indentador empleado. La empleada ASTM 191-04a (ASTM 191-04a) mide tiempo de fraguado inicial y final mediante el empleo del aparato de Vicat. La principal desventaja de este test es el tamaño del molde, donde se necesitarían al menos 650gr de material para rellenarlo, lo cual resulta prohibitivo en materiales dentales. Al igual que nosotros, algunos estudios adaptan el tamaño del molde para utilizar menos material (Ber, 2007), pero no dejan claro cómo adaptan la medición del tiempo de fraguado inicial (con el método inicial descrito por dicha normativa se emplea una aguja de 50mm de longitud, y el tiempo de fraguado inicial es cuando la penetración es de 25mm). ASTM 266-04 (ASTM 266-04) describe como determinar el tiempo de fraguado final e inicial mediante el aparato de Gillmore (para tiempo de fraguado inicial requiere una aguja de 113 ± 0.5 g y 2.12 mm diámetro y 453.6 ± 0.5 g y 1.6 mm para el tiempo de fraguado inicial), consideramos que en este método es más fácil adaptar las dimensiones del molde al no considerarse la profundidad de penetración de la aguja, este método es el empleado en los estudios de Grazziotini-Soares y cols. (Grazziotini-Soares, 2014) y Cavenago y cols. (Cavenago, 2014)

Islam et al. (Islam, 2006) emplean ASTM 266-04 para determinar el tiempo de fraguado inicial y final del WMTA ProRoot mediante agujas de Gillmore, en su estudio no describen las dimensiones del molde. Obteniendo un tiempo de fraguado inicial de 40 ± 2.94 min y final de 140 ± 2.58 .

Los resultados obtenidos por nosotros mediante el aparato de Vicat para el fraguado del WMTA son muy similares para el tiempo de fraguado final obtenido mediante el aparato de Gillmore en el estudio de Islam et al. (Islam, 2006) y los originales estudios de Torabinejad (Torabinejad, 1995). Sin embargo, se observa gran discrepancia en el tiempo de fraguado inicial 145 en nuestro estudio frente a 40 ± 2.94 en el estudio de Islam, hecho que podría deberse a las diferencias en la metodología: peso y diámetro de la aguja y/o distinta determinación del tiempo de fraguado inicial, al tratarse de un valor "arbitrario".

Los resultados obtenidos con nuestro material experimental a base de silicato de calcio y aluminato de calcio (CAC 30Z) proporciona unos valores claramente inferiores al WMTA, siendo estos estadísticamente significativos para ambos tiempos ($p=0.001$)

En la siguiente tabla (tabla 6.1) se comparan nuestros resultados experimentales con los observados en la literatura, se presentan dos estudios de metodología comparable donde documentan tiempo de fraguado inicial y final (Islam, 2006)(Gandolfi, 2011), así como los resultados presentados por su desarrollador en sus estudios iniciales (Torabinejad, 1995).

	Datos experimentales							Datos literatura		
	CAC-1	CAC-2	CAC-3	CAC-4	CAC-5	Media	WMTA	WMTA Islam, 2006	WMTA Gandolfi, 2011	WMTA Original Torabinejad studies, 1995
Tiempo inicial	45	50	70	65	45	55	145	40± 2.94	36 ±3	NR
Tiempo final	65	75	80	75	50	69	160	140 ±2.58	168±5	165
Método	Aguja de Vicat							Aguja de Gillmore	Aguja de Gillmore	Aguja de Gillmore

Tabla 6.1: Resultados experimentales tiempo fraguado inicial y final en el cemento CAC 30Z y datos recogidos en la literatura.

Los resultados mostrados por Islam y cols. (Islam 2006) Gandolfi y cols. (Gandolfi, 2011) y Torabinejad (Torabinejad, 1995) son muy similares a nuestro tiempo de fraguado final obtenido en el WMTA, siendo muy dispares en el tiempo de fraguado inicial, consecuencia derivada del peso de la aguja seleccionada para el estudio. Este hecho nos lleva a concluir, que posiblemente, con el sistema de aguja de Gillmore hubiésemos obtenidos unos valores inferiores a los documentados para el tiempo de fraguado inicial.

Destacar que las diferencias en los estudios revisados pueden ser atribuidas al método de medición seleccionado. Consideramos que es necesaria la creación de un método estandarizado para medir el tiempo de fraguado inicial y final en cementos dentales.

6.7 En relación con la porosimetría

El estudio de la porosimetría de un material de relleno endodóntico va a tener importancia a distintos niveles:

- Propiedades mecánicas (Saghiri, 2012)
- Filtración (Camilleri, 2014)
- Degradación + neocolonización: Ingeniería tisular (Estrada, 2010) – Endodoncia regenerativa (Murray, 2007)

Tras la revisión bibliográfica sólo 2 estudios emplean la porosimetría por Inyección de Mercurio (MIP) en materiales de relleno endodóntico para determinar la porosidad aparente de la muestra a estudio (Camilleri, 2014) (Formosa, 2014). Otros autores emplean técnica de análisis de imágenes para su estudio (MEB y posterior análisis por Imagen empleado por Saghiri y cols. (Saghiri, 2012) o el denominado por ellos “analytical balance” empleado por Gandolfi y cols. (Gandolfi, 2014)). Los resultados obtenidos mediante estas técnicas dilucidan resultados muy dispares a los obtenidos mediante MIP (tabla 6.s):

Autor/año	Saghiri, 2012	Gandolfi, 2014	Formosa, 2014	Nosotros, 2015
Técnica	MEB	Analytical Balance	MIP	MIP
Porosidad WMTA ProRoot	88± 24	29,39 %	47,81 %	40,4%

Tabla 6.2: Técnica y valores de porosidad documentados en estudios de porosimetría revisados.

Nuestro estudio, va a ofrecer unos resultados muy similares en cuanto a la porosidad aparente del WMTA al estudio de Formosa y cols. (Formosa, 2014). Obteniendo unos resultados de porosidad del material experimental 1-CAC 30Z muy inferiores a su homologado WMTA (28,2 del CAC frente a 40,4 del WMTA), teniendo ambas composiciones un tamaño medio de poro similar (0,45 del CAC frente a 0,55 del WMTA), de esto concluimos en líneas generales que, presentando un tamaño de poro similar el CAC 30Z va a presentar menos cantidad de poros que el WMTA. De lo revisado en la literatura podemos presuponer que va a permitir una colonización celular similar al MTA, siendo su filtración y degradación menor. Son necesarios más estudios que confirmen este aspecto.

Un punto que consideramos interesante a estudio y que no forma parte del desarrollo de la tesis es determinar como influye la incorporación de los distintos aditivos utilizados en las propiedades físico-químicas de los cementos experimentales formulados.

Por tanto, en base a los resultados obtenidos en los distintos estudios aceptamos nuestra hipótesis inicial.

7. Conclusiones

1. Se obtuvieron dos cementos creados específicamente para responder a las necesidades de tratamiento pulpar en dentición temporal y permanente joven, en base a la utilización de las propiedades biológicas ya reconocidas de la wollastonita.
2. Se propone una ratio polvo líquido de 1gr: 0,33mL , si bien, en función de las preferencias del operador y de la aplicación clínica, dichas proporciones pueden ser ligeramente modificadas sin que ello altere las propiedades del producto.
3. Tras estudios cualitativos de manejabilidad donde se estudia la incorporación de la totalidad del cemento, terrosidad y la no pegajosidad al instrumento empleado, se emplea como agente plastificante la polivinilpirrolidona.
4. Tras el estudio de la radiopacidad de las distintas composiciones analizadas se seleccionan aquellas mezclas que poseen un 30% de óxido de zirconio, las cual nos aporta unos valores de radiopacidad adecuados conforme a la normativa ISO vigente.
5. Tras la caracterización de ambos cementos encontramos un pH alcalino de 10,2; liberación de iones calcio; un comportamiento bioactivo e inicialmente citotóxico, con un fraguado inicial de 55 minutos y final de 69 minutos para el cemento CAC 30Z, con una porosidad e 8,4% para el WEndo 30Z y 28,2% para el CAC 30Z.
6. Todos los componentes seleccionados para el desarrollo de los materiales experimentales son accesibles, económicos y comercialmente accesibles. Salvo el aluminato de calcio que requiere su síntesis en laboratorio.

8. Bibliografía

1. A.S.T.M. C 191-04a. Standard method of test for time of setting of hydraulic cement by Vicat Needle.
2. A.S.T.M. C 266-04. Standard method of test for time of setting of hydraulic cement paste by Gillmore Needles.
3. A.S.T.M. Standar test methods for determination of pore volumen distribution of soil and rock by Mercury intrusión porosimetry. 1988 Annual book of A.S.T.M Standards. Vol 04.08, norma D4404-84; 637-41.
4. Abrahan GA, Cuadrado TR. Métodos de caracterización de materiales. En: Sastre, R. de Aza S, San Román J. Biomateriales. Sociedad Española de Cerámica y Vidrio. Italia: Faenza Editrice Iberica; 2004. p- 173-196.
5. Accorinte ML, Loguercio AD, Reis A, Bauer JR, Grande RH, Murata SS, Souza V, Holland R. Evaluation of two mineral trioxide aggregare compounds as pulp-capping agents in human teeth. *Int Endod J.* 2009; 42: 122-28.
6. Aguado JM, De la Cruz-Cerdá I, Maroto M, Barbería E. Posibilidades terapéuticas del Agregado Trióxido Mineral (MTA) en odontopediatría. *JADA* 2009; 4 (4): 185-93.
7. Aguilar FG, Garcia Lda F, Rossetto HL, Pardini LC, Pires-de-Souza Fde C. Radiopacity evaluation of calcium aluminate cement containing different radiopacifying agents. *J Endod*, 2011; 37: 67-71.
8. Aguilar FG, Roberti Garcia LF, Panzeri Pires-de-Souza FC. Biocompatibility of new calcium aluminate cement (Endobinder). *J Endod* 2012; 38: 367-71.
9. Albee FH. Studies in bone growth: Triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. *Ann Surg.* 1920; 71(1): 32-9.
10. Al-Mutairi MA1, Bawazir OA. Sodium hypochlorite versus Formocresol in primary molars pulpotomies: a randomized clinical trial. *Eur J Paediatr Dent.* 2013; 14(1): 33-6.
11. Al-Sanabani JS, Madfa AA, Al-Sanabani FA. Application of calcium phosphate materials in dentistry. *Int J Biomater* [internet]. 2013 [citado 26 Sept 2015]. Disponible en:<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3710628/pdf/IJBM2013-876132.pdf>

12. Álvarez-Álvarez IM, Ruiz del Árbol-López J, Cortés-Lillo O. Tratamientos pulpares en dentición permanente joven. En: Boj JR, Catalá M, García-Ballesta C, Mendoza Z, Planells P. Odontopediatría. La evolución del niño al adulto joven. 1ª edición. Madrid: Ripano S.A; 2011: 351-360.
13. Aminabadi NA, Farahani RM, Oskouei SG. Formocresol versus calcium hydroxide direct pulp capping of human primary molars: two year follow-up. J Clin Pediatr Dent. 2010; 34(4): 317-21.
14. Aminoarbian MG, Barati M, Salehi I, Mousavi SB. Biocompatibility of mineral trioxide aggregate and three new endodontic cements: An animal study. Dent Res J, 2012; 9: 54-9
15. Araiza-Tellez MA. Materiales de sustitución y reparación ósea en odontología. En: Sastre, R., De Aza, S., San Román, J. (eds), Biomateriales. Faenza Editrice Ibérica S. L., Madrid, 2004 p. 522.
16. Arencibia-Arrebola DF, Rosario-Fernández LA, Curveco-Sánchez DL. Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. Retel, 2003. [publicación on-line; Disponible en: www.setox.com.ar/img/item-full/19003.pdf]
17. Armas-Serret M, Cuadros-Fernández C, Lorente-Rodríguez AI, Saez S, Mercadé-Bellidó M. Clinical and radiographic evaluation of MedCem Portland Cement in pulpotomies of primary molars: a pilot study. En: IAPD 25th Congress. Glassgow. 2015 (poster)
18. Asgary S, Eghbal MJ, Parirokh M, Torabzadeh H. Sealing ability of three commercial mineral trioxide aggregates and an experimental root-end filling material. Iran Endod J. 2006; 1(3): 101-5.
19. Asgary S, Shahabi S, Jafarzadeh T, Amini S, Kheirieh S. The properties of a new endodontic material. J Endod. 2008; 34(8): 990-3.
20. Ashaf AE, Gosier JL, Primus CM, Hammond BD, Susin LF, Pashley DH, Tay FR. In vitro biocompatibility and oxidative stress profiles of different hydraulic calcium silicate cements. J Endod. 2014; 40 (2); 255-60.
21. Asociación Española de Normalización y Certificación. Cementos dentales de base acuosa. Parte 2: Cementos modificados con resina. UNE-EN ISO 9917-2:2010.
22. Asociación Española de Normalización y Certificación. Cementos dentales de base acuosa. Parte 1: Cementos ácido-base de polvo/líquido. UNE-En ISO 9917-1:2007.
23. Avalonbiomed.com [internet]. Bradenton: Wordpress; 2014 [citado 26 sept 2015]. Disponible en:

- <http://avalonbiomed.com/wpcontent/uploads/2014/04/MSDSsGreyMTAPlusUSA-10-5-13-copy.pdf>
24. Bahrololoomi, Z. Zamaninejad, S. Success rate of zinc oxide eugenol in pulpectomy of necrotic primary molars: A retrospective study. *J Dent Mater Tech.* 2015; 4(2): 89-94.
 25. Bansal R, Bansal R. Regenerative endodontics: A state of the art. *Indian J Dent Res.* 2011; 22 (1): 122-31.
 26. Barbieri-Petrelli G, Flores-Guillén J, Escribano-Bermejo M, Discepoli N. Actualización en radiología dental. Radiología convencional vs. Digital. *Av Odontoestomatol*, 2006; 22(2): 131-9.
 27. Barcelos R, Santos MP, Primo LG, Luiz RR, Maia LC. ZOE paste pulpectomies outcome in primary teeth: a systematic review. *J Clin Pediatr Dent.* 2011; 35(3): 241-8.
 28. Barrios de Arenas I, Schattner C, Vásquez M. Bioactividad de vidrios modificados del sistema Na₂O·CaO·SiO₂·P₂O₅. *Rev LatinAm Met Mat.* 2001; 21 (2), 90–95.
 29. Belío-Reyes IA, Bucio L, Cruz-Chavez E. Phase composition of ProRoot mineral trioxide aggregate by X-Ray powder diffraction. *J Endod.* 2009; 35(6): 875-8.
 30. Ber BS, Hatton JF, Stewart GP. Chemical modification of ProRoot MTA to improve handling characteristics and decrease setting time. *J Endod.* 2007; 33(10): 1231-4.
 31. BioAggregate.com [internet]. Vancouver: Verio Dental Co; 2010 [citado 26 de septiembre de 2015]. Disponible en: <http://www.bioaggregate.com/product>
 32. Bisco.com [internet]. Schaumburg: Bisco INC; 2003 [citado 26 sept 2015]. Disponible en: www.bisco.com/instructions/TheraCal%20LC%20MSDS.pdf
 33. Bonte E, Beslot A, Boukpepsi T, Lasfargues JJ. MTA versus Ca(OH)₂ in apexification of non-vital immature permanent teeth: a randomized clinical trial comparison. *Clin Oral Investig.* 2015; 19(6): 1381-8.
 34. Borges A, Pedro F, Miranda C, Semenoff-Segundo A, Pécora J, Cruz-Filho A. Comparative study of physico-chemical properties of MTA-based and Portland cements. *Acta Odontol Latinoam.* 2010; 23(3): 175-81.
 35. Bortoluzzi EA, Broon NJ, Bramante CM, Felipe WT, Tanomaru Filho M, Esberard RM. The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland cement with a radiopacifier. *J Endod.* 2009; 35(4): 550-4.
 36. Bortoluzzi EA, Guerreiro-Tanomaru JM, Tanomaru-Filho M, Duarte MA. Radiographic effect of different radiopacifiers on a potential retrograde filling material. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108: 628-32.

37. British Standard Institution. Biological evaluation of medical devices- Part 5: test for in vitro cytotoxicity. EN ISO 10993-14:2009.
38. British Standard Institution. Biological evaluation of medical devices- Part 12: Sample preparation and reference materials. BS in ISO 10993-12: 2007.
39. British Standard Institution. Dental root canal sealing materials. BS in ISO 6876-2001.
40. Burwell A, Jennings D, Muscle D, Greenspan DC. NovaMin and dentin hypersensitivity-- in vitro evidence of efficacy. *J Clin Dent.* 2010; 21(3): 66-71.
41. Camilleri J, Formosa L, Damidot D. The setting characteristics of MTA-Plus in different environmental conditions. *Int Endod J* 2013; 46: 831-40.
42. Camilleri J, Gandolfi MG. Evaluation of the radiopacity of calcium silicate cements containing different radiopacifiers. *Int Endod J*, 2010; 43: 21-30.
43. Camilleri J, Grech L, Galea K, Keir D, Fenech M, Formosa L, Damidot D, Mallia B. Porosity and root dentine to material interface assessment of calcium silicate-based root-end filling materials. *Clin Oral Investig.* 2014 ;18(5):1437-46
44. Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater.* 2013; 29(5): 580-93.
45. Camilleri J. Evaluation of the physical properties of an endodontic Portland cement incorporating alternative radiopacifiers used as a root-end filling material. *Int Endod J*, 2010b; 43:231-40.
46. Camilleri J. Hydration characteristics of calcium silicate cements with alternative radiopacifiers used as root-end filling materials. *J Endod.* 2010a; 36: 502-8.
47. Camilleri J. The chemical composition of mineral trioxide aggregate. *J Conserv Dent.* 2008; 11(1): 141-3.
48. Camp JH, Barrett EJ, Pulver F. Endodoncia Pediátrica: tratamiento endodóncico en la dentición temporal y permanente joven. En: Cohen S, Burns RC. *Vías de la pulpa.* 8aed. Madrid: Mosby Elsevier; 2002. .797-847.
49. Cardoso-Silva C, Barbería E, Maroto M, García-Godoy F. Clinical study of Mineral Trioxide Aggregate in primary molars. Comparison between Grey and White MTA- A long term follow-up (84 months). *J Dent.* 2011; 39: 187-93.
50. Carrodeguas RG, De Aza AH, De Aza PN, Baudín C, Jiménez J, López-Bravo A, Pena P, De Aza S. Assessment of natural and synthetic wollastonite as source for bioceramics preparation. *J Biomed Mater Res A* 2007; 83 (2): 484- 95.

51. Castro-Raucci LM, Oliveira IR, Teixeira LN, Rosa AL, Oliveira PT, Jacobovitz M. Effects of a novel calcium aluminate cement on the early events of the progression of osteogenic cell cultures. *Br Dent J* 2011; 22 (2): 99-104.
52. Cavenago BC, Pereira TC, Duarte MAH, Ordinola-Zapata R, Marciano MA, Bramante CM, Bernardieli N. Influence of power-to-water ratio on radiopacity, setting time, pH, calcium ion release and micro-CT volumetric solubility of white mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*, 2014; 47: 120-6.
53. Cedillo J, Espinosa R, Curiel R, Huerta A. Nuevo sustituto bioactivo de la dentina. Silicato de calcio purificado. *RODYB*. 2013: II (2), 1–12.
54. Cement and Concrete Terminology ACI 116R-00.
55. Chiang TY, Ding S-J. Comparative physicochemical and biocompatible properties of radiopaque dicalcium silicate cement and mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2010; 36: 1683-7.
56. Chueh L, Ho YC, Kuo TC, Lai WH, Melody YH, Chiang CP. Regenerative endodontic treatment for necrotic immature permanent teeth. *JOE*. 2009; 35 (2): 160-64
57. Coomaraswamy KS, Lumley PJ, Hofmann MP. Effect of bismuth oxide radioopacifier content on the material properties of an endodontic Portland cement-based (MTA-like) system. *J Endod*. 2007; 33(3): 295-8.
58. Corbella S, Ferrara G, El Kabbaney A, Taschieri S. Apexification, apexogenesis and regenerative endodontic procedures: a review of the literature. *Minerva Stomatol*. 2014; 63(11-12): 375-89.
59. Cortés-Lillo O, Boj-Quesada JR. Tratamientos pulpares en la dentición temporal. En: Boj JR, Catalá M, García-Ballesta C, Mendoza Z, Planells P. *Odontopediatría. La evolución del niño al adulto joven*. 1ª edición. Madrid: Ripano S.A; 2011: 337-50.
60. Crovace MC, Souza MT, Chinaglia CR, Peitl O, Zanotto ED. Biosilicate®— A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 2015 (Article in press).
61. Cutajar A, Mallia B, Abela S, Camilleri J. Replacement of radiopacifier in mineral trioxide aggregate; characterization and determination of physical properties. *Dent Mater*, 2011; 27: 879-91.
62. Da Silva GF, Guerreiro-Tanomaru JM, Sasso-Cerri E, Tanomaru-Filho M, Cerri PS. Histological and histomorphometrical evaluation of furcation perforations filled with MTA, CPM and ZOE. *Int Endod J*. 2011; 44 (2):100-10.

63. Danesh G, Dammaschke T, Gesth HO, Zandbiglari T, Schcifer E. A comparative study of selectes properties of ProRoot mineral trioxide aggregate and two Portland cements. *Int Endod J* 2006; 39 (3): 213-9.
64. Darvel, BW. Wu, RTC. "MTA"-An hydraulic silicate cement: review update and setting reaction. *Dent Mat* 2011; 27: 407-22.
65. Darwish SS, Abd El Meguid SH, Wahba NA, Mohamed AA, Chrzanowski W, Abou Neel EA. Root maturation and dentin-pulp response to enamel matrix derivative in pulpotomized permanent teeth. *J Tissue Eng*. 2014;2 (on line)
66. De Aza PN, De Aza AH, Pena P, De Aza S. Bioactive glasses and glass-ceramics. *Bol Soc Esp Ceram V*. 2007; 46(2); 45-55.
67. De Aza PN, Guitián F, De Aza S. Bioeutectic: a new ceramic material for human bone replacement. *Biomaterials*. 1997; 18(19): 1285-91.
68. De la Casa-Lillo MA, Velázquez P, De Aza PN. Influence of termal treatment on the "in vitro" bioactivity of wollastonite materials. *J Material Sci: Mater Med*. 2011; 22(4): 907-15.
69. De Souza-Costa CA, Tobias-Duarte P, Chaves De Souza PP, Aparecida-Giro EM, Hebling J. Cytotoxic effects and pulpal response by a mineral trioxide aggregateformulation and calcium hydroxide. *Am J Dent*. 2008; 21 (4): 255-61.
70. Demers C, Hamdy CR, Corsi K, Chellat F, Tabrizian M, Yahia L. Natural coral exoskeleton as a bone graft substitute: a review. *Biomed Mater Eng*. 2002; 12(1): 15-35.
71. Densplyimplants.es [internet]. Barcelona: Densply DH; 2015 [citado 26 sept 2015]. Disponible en: <http://www.densplyimplants.es/es-ES/Productos-regenerativos>
72. Doyle TL, Casas MJ, Kenny DJ, Judd PL. Mineral trioxide aggregate produces superior outcomes in vital primary molar pulpotomy. *Pediatr Dent*. 2010; 32(1): 41-7.
73. Duarte MA, Alves de Aguiar K, Zeferino MA, Vivan RR, Ordinola-Zapata R, Tanomaru-Filho M, Weckwerth PH, Kuga MC. Evaluation of the propylene glycol association on some physical and chemical properties of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2012; 45(6): 565-70.
74. Dufrane D, Delloye C, McKay IJ, De Aza PN, De Aza S, Schneider YJ, Anseau M. Indirect cytotoxicity evaluation of pseudowollastonite. *J Mater Sci Mater Med* 2003; 14: 33-38.
75. Eghbal MJ, Asgary S, Baglue RA, Parirokh M, Ghodduzi J. MTA pulpotomy of human permanent molars with irreversible pulpitis. *Aust Endod J*. 2009; 35(1): 4-8.

76. Eliasson ST, Haasken B. Radiopacity of impression materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*, 1979; 47: 485-91.
77. El-Meligy OA1, Avery DR. Comparison of mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide as pulpotomy agents in young permanent teeth (apexogenesis). *Pediatr Dent*. 2006; 28(5): 399-404.
78. Erdem AP, Guven Y, Balli B, Ilhan B, Sepet E, Ulukapi I, Aktoren O. Success rates of mineral trioxide aggregate, ferric sulfate, and formocresol pulpotomies: a 24-month study. *Pediatr Dent*. 2011; 33(2): 165-70.
79. Estrada C, Paz AC, López LE. Ingeniería del tejido óseo: consideraciones básicas. *Revista EIA*. 2006; 5: 93-100.
80. Fallahinejad-Ghajari M, Asgharian-Jeddi T, Iri S, Asgary S. Direct pulp-capping with calcium enriched mixture in primary molar teeth: a randomized clinical trial. *Iran Endod J*. 2010; 5(1): 27-30.
81. Fallahinejad-Ghajari M1, Asgharian-Jeddi T, Iri S, Asgary S. Treatment outcomes of primary molars direct pulp capping after 20 months: a randomized controlled trial. *Iran Endod J*. 2013; 8(4): 149-52.
82. Formosa LM, Damidot D, Camilleri J. Mercury intrusion porosimetry and assessment of cement-dentin interface of anti-washout-type mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2014 ;40(7):958-6
83. Formosa LM, Mallia B, Camilleri J. Mineral trioxide aggregate with anti-washout gel. Properties and microstructure. *Dent Mat*. 2013; 29: 294-306.
84. Formosa LM, Mallia B, Camilleri J. The effect of curing conditions on the physical properties of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Int Endod J*. 2012; 45: 326-36.
85. Fuks A. Vital pulp therapy with new materials for primary teeth: New directions and treatment perspectives. *J Endod*. 2008; 34: S18-S24.
86. Fuks AB, Eidelman E, Cleaton-Jones P. Pulp response to ferric sulfate, diluted formocresol and IRM in pulpotomized primary baboon teeth. *J Dent Child* 1997; 64 (4); 254-9.
87. Fumo DA, Morelli MR, Segadoes AM. Combustion synthesis of calcium aluminate. *Materials Research Bolletin*. 1996; 31(10): 1243-1255.
88. Gandolfi M, Siboni F, Prati C. Chemical-physical properties of TheraCal, a novel Light-curable MTA-like material for pulp capping. *Int Endod J* 2012; 45: 571-9.
89. Gandolfi M, Taddei P, Siboni F, Modena E, Ciapetti G, Prati C. Development of the foremost Light-curable calcium-silicate MTA cement as root-end in oral surgery.

- Chemical-physical properties, bioactivity and biological behaviour. *Dent Mat* 2011; 27: e134-57.
90. Gandolfi MG, Siboni F, Botero T, Bossù M, Riccitiello F, Prati C. Calcium silicate and calcium hydroxide materials for pulp capping: biointeractivity, porosity, solubility and bioactivity of current formulations. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2015; 13(1): 43-60.
91. Gandolfi MG, Siboni F, Primus CM, Prati C. Ion release, porosity, solubility and bioactivity of MTA Plus tricalcium silicate. *J Endod*. 2014; 40(10): 1632-7.
92. García-Godoy F, Murray PE. Recommendations for using regenerative endodontic procedures in permanent immature traumatized teeth. *Dent Traumatol*. 2012; 28 (1): 33-41.
93. Gendreau L, Barlow AP, Mason SC. Overview of the clinical evidence for the use of NovaMin in providing relief from the pain of dentin hypersensitivity. *J Clin Dent*. 2011; 22(3): 90-5.
94. Giuliani A, Manescu A, Larsson E, Tromba G, Luongo G, Piattelli A, Mangano F, Iezzi G, Mangano C. In vivo regenerative properties of coralline-derived (biocoral) scaffold grafts in human maxillary defects: demonstrative and comparative study with Beta-tricalcium phosphate and biphasic calcium phosphate by synchrotron radiation x-ray microtomography. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2014; 16(5): 736-50
95. Gomes-Filho J, de Faria M, Bernabe P, et Al. Mineral Trioxide Aggregate but not Light-cure mineral trioxide aggregate stimulated mineralization. *J Endod* 2008; 34 (1): 62-5.
96. Gorritxo-Gil B, Abarrategui-López I. Consideraciones morfológicas de la dentición temporal. En: Boj JR, Catalá M, García-Ballesta C, Mendoza Z, Planells P. *Odontopediatría. La evolución del niño al adulto joven*. 1ª edición. Madrid: Ripano S.A; 2011: 31-44.
97. Grazziotin-Soares R, Nekoofar MH, Davies TE, Bafail A, Alhaddar E, Hübler R, Busato AL, Dummer PM. Effect of bismuth oxide on white mineral trioxide aggregate: chemical characterization and physical properties. *Int Endod J*. 2014; 47: 520-33.
98. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mat*. 2013; 29: e20-e28.
99. Grossman. L. (1959). *Terapéutica de los conductos radiculares*. 4ta. edición. Buenos Aires. Pp. 95-115.
100. Grotra D, Subbarao CV. Bioactive materials used in endodontics. *Recent Research in Science and Technology*. 2012; 4: 25-7.

101. Guerreiro Tanomaru JM, Storto I, Da Silva GF, Bosso R, Costa BC, Bernardi MI, Tanomaru-Filho M. Radiopacity, pH and antimicrobial activity of Portland cement associated with micro- and nanoparticles of zirconium oxide and niobium oxide. *Dent Mater J*. 2014; 33(4): 466-7.
102. Guerreiro-Tanomaru JM, Trindade-Junior A, Costa BC, da Silva GF, Drullis Cifali L, Basso Bernardi MI, Tanomaru-Filho M. Effect of zirconium oxide and zinc oxide nanoparticles on physicochemical properties and antibiofilm activity of a calcium silicate-based material. *ScientificWorldJournal*. 2014; 2014:975213. doi: 10.1155/2014/975213. Epub 2014 Nov (on line)
103. Guerrero Del Angel F, Benitez Sanchez JP, Tellez Jimenez H, Oliver Parra R. Histological Evaluation of Solution Polyvinylpyrrolidone Collagene Combined with Allograft in Reconstruction Process in Alveolar Implant Therapy. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014; 72 (9): e196-7.
104. Guideline on Pulp Therapy for Primary and Immature Permanent Teeth. En: *Reference Manual*. American Academy of Pediatric Dentistry. 2014: 36(6) 242–250.
105. Guillermo H, Rossi, Cuniberti N. Atlas de Odontología Restauradora y Periodoncia. En: *Atlas de Odontología Restauradora y Periodoncia*. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires; 2004 p. 628.
106. Gupta G, Rana V, Srivastava N, Chandna P. Laser Pulpotomy-An Effective Alternative to Conventional Techniques: A 12 Months Clinicoradiographic Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2015; 8(1): 18-21.
107. Guven Y, Tuna EB, Dincol ME, Aktoren O. X-ray diffraction análisis of MTA-Plus, MTA-Angelus and DiaRoot Bioaggregate. *Eur J Dent* 2014; 8: 211-5.
108. Han L, Okiji T. Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. *Int Endod J*. 2013; 46(9): 808-14.
109. Harvard-dental-international.eu [internet]. Hoppegarten; 2015 [citado 26 sept 2015]. Disponible en: <http://harvard-dental-international.eu>
110. Havale R, Anegundi RT, Indushekar K, Sudha P. Clinical and radiographic evaluation of pulpotomies in primary molars with formocresol, glutaraldehyde and ferric sulphate. *Oral Health Dent Manag*. 2013; 12(1): 24-31.
111. He F, Zhang J, Yang F, Zhu J, Tian X, Chen X. In vitro degradation and cell response of calcium carbonate composite ceramic in comparison with other synthetic bone substitute materials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*. 2015; 50: 257-65.
112. Hench LL. Bioceramics: From Concept to Clinics, *Journal of the American Ceramic Society*. 1991; 74 (7): 1487-1510.

113. Hench LL. The story of Bioglass. In *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2006; 17: 967–978.
114. Hin TS. *Engineering materials for biomedical applications*. Vol 1. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2004.
115. Hoshino E, Kurihara-Ando N, Sato I, Uematsu H, Sato M, Kota K, Iwaku M.. In vitro antibacterial susceptibility of bacteria taken from infected root dentine to a mixture of ciprofloxacin, metronidazole and minocycline. *Int Endod J* 1996; 29 (2): 125-30.
116. Hsieh SC, Teng NC, Lin YC, Lee PY, Ji DY, Chen CC, Ke ES, Lee SY, Yang JC. A novel accelerator for improving the handling properties of dental filling materials. *J Endod*. 2009; 35(9): 1292-5.
117. Húngaro-Duarte MA, de Oliveira El Kadre GD, Vivan RR, Guerreiro Tanomaru JM, Tanomaru Filho M, de Moraes IG. Radiopacity of Portland cement associated with different radiopacifying agents. *J Endod*, 2009; 35:737-40.
118. ICDD.net [Internet]. USA: JCPDS; 1978 [citado 6 jun 2015]. Disponible en: <http://www.icdd.com/profile/overview.htm>.
119. Islam I, Chng HK, Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and Portland Cement. *J Endod* 2006; 32(3): 193-7.
120. Jabbarifar SE, Khademi DD, Ghasemi DD. Success rates of formocresol pulpotomy versus mineral trioxide aggregate in human primary molar tooth. *J Res Med Sci* 2004; 6: 55-8.
121. Jaberiansari Z, Naderi S, Tabatabaei FS. Cytotoxic effects of various mineral trioxide aggregate formulations, calcium-enriched mixture and a new cement on human pulp stem cells. *Iran Endod J*. 2014; 9(4): 271-6.
122. Jayaswal GP, Dange SP, Khalikar AN. Bioceramic in dental implants: A review. *J Indian Prosthodont Soc*. 2010; 10(1): 8-12
123. Jiang Y, Chen L, Zhang S, Tong T, Zhang W, Liu W, Xu G, Tuan RS, Heng BC, Crawford R, Xiao Y, Ouyang HW. Incorporation of bioactive polyvinylpyrrolidone-iodine within bilayered collagen scaffolds enhances the differentiation and subchondral osteogenesis of mesenchymal stem cells. *Acta Biomater*. 2013; 9(9): 8089-98.
124. Jones DS, Lawlor MS, Woolfson AD. Rheological and mucoadhesive characterization of polymeric systems composed of poly(methylvinylether-co-maleic anhydride) and poly(vinylpyrrolidone), designed as platforms for topical drug delivery. *J Pharm Sci*. 2003; 92(5): 995-1007.

125. Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Act Biomater.* 2013; 9: 4457-86.
126. Kakarla P, Avula JS, Mellela GM, Bandi S, Anche S. Dental pulp response to collagen and pulpotec cement as pulpotomy agents in primary dentition: A histological study. *J Conserv Dent.* 2013; 16(5): 434-8.
127. Kang JY, Lee BN, Son HJ, Koh JT, Kang SS, Son HH, Chang HS, Hwang IN, Hwang YC, Oh WM. Biocompatibility of mineral trioxide aggregate mixed with hydration accelerators. *J Endod.* 2013; 39(4): 497-500.
128. Khalil I, Naaman A, Camilleri J. Investigation of a novel mechanically mixed mineral trioxide aggregate (MM-MTA™). *Int Endod J.* 2015; 48(8): 757-67.
129. Kim EC, Lee BC, Chang HS, Lee W, Hong CU, Min KS. Evaluation of the radiopacity and cytotoxicity of Portland cements containing bismuth oxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 105(1): e54-7.
130. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials.* 2006; 27(15): 2907-15.
131. Koulaouzidou E, Economides N, Beltes P, Geromichalos G, Papazisis K. In vitro evaluation of the cytotoxicity of ProRoot MTA and MTA Angelus. *J Oral Sci.* 2008; 50 (4); 397-402.
132. Kramer PR, Woodmansey KF, White R, Primus CM, Opperman LA. Capping a pulpotomy with calcium aluminosilicate cement: comparison to mineral trioxide aggregates. *J Endod.* 2014; 40(9): 1429-34.
133. Krishnan V, Lakshmi T. Bioglass: A novel biocompatible innovation. *J Adv Pharm Technol Res.* 2013, 4 (2), 78–83.
134. Lee BN, Hwang YC, Jang JH, Chang HS, Hwang IN, Yang SY, Park YJ, Son HH, Oh WM. Improvement of the properties of mineral trioxide aggregate by mixing with hydration accelerators. *J Endod.* 2011; 37(10): 1433-6.
135. Lee SJ, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod.* 1993; 19: 541-4.
136. Leesa FC, Aranha AM, Hebling J, Costa CA. Cytotoxic effects of White-MTA and MTA-Bio cements on odontoblast-like cells (MDPC-23). *Braz Dent J.* 2010; 21 (1): 24-31.
137. Lin PY, Chen HS, Wang YH, Tu YK. Primary molar pulpotomy: a systematic review and network meta-analysis. *J Dent.* 2014; 42(9): 1060-77.
138. Liu WN, Chang J, Zhu YQ, Zhang M. Effect of tricalcium aluminate on the properties of tricalcium silicate-tricalcium aluminate mixtures: setting time, mechanical strength and biocompatibility. *Int Endod J.* 2011; 44: 41-50.

139. Lizarbe Iracheta MA. Sustitutivos de tejidos: de los biomateriales a la ingeniería tisular. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 2007; 101: 227–252.
140. Magallanes-Perdomo M, De Aza AH, Mateus AY, Teixeira S, Monteiro FJ, De Aza S, Pena P. In vitro study of the proliferation and growth of human bone marrow cells on apatite-wollastonite- 2M glass ceramics. *Acta Biomaterialia* 2010; 6: 2254-63.
141. Malekafzali B, Shekarchi F, Asgary S. Treatment outcomes of pulpotomy in primary molars using two endodontic biomaterials. A 2-year randomized clinical trial. *Eur J Paediatr Dent*. 2011; 12(3): 189-93.
142. Mao K, Zhou F, Cui F, Li J, Hou X, Li P, Du M, Liang M, Wang Y. Preparation and properties of α -calcium sulphate hemihydrate and β -tricalcium phosphate bone substitute. *Biomed Mater Eng*. 2013; 23(3): 197-210
143. Marciano MA, Costa RM, Camilleri J, Mondelli RF, Guimarães BM, Duarte MA. Assessment of color stability of white mineral trioxide aggregate angelus and bismuth oxide in contact with tooth structure. *J Endod*. 2014; 40(8): 1235-40.
144. Marciano MA, Garcia RB, Cavenago BC, Minotti PG, Midená RZ, Guimarães BM, Ordinola-Zapata R, Duarte MA. Influence of bismuth oxide concentration on the pH level and biocompatibility of white Portland cement. *J Appl Oral Sci*. 2014; 22(4): 268-73.
145. Maroto Edo M, Barbería Leache E, Planells del Pozo P. Estudio clínico del agregado trióxido mineral en pulpotomías de molares temporales: estudio piloto a quince meses. *RCOE*. 2004; 9(1): 23-30.
146. Maroto-Edo M, Barberia-Leache E, Planells del Pozo P. Estudio clínico del agregado trióxido mineral en pulpotomías de molares temporales: estudio piloto a 15 meses. *RCOE* 2004; 9 (1): 23-30.
147. Mascarós SM. Difracción de rayos X. En: Faraldos M, Goberna C. Técnicas de análisis y caracterización de materiales Marisol. CSIC. Madrid; 2002: p. 395-454
148. Massi S, Tanomaru-Filho M, Silva GF, Duarte MA, Grizzo LT, Buzalaf MA, Guerreiro-Tanomaru JM. pH, calcium ion release, and setting time of an experimental mineral trioxide aggregate-based root canal sealer. *J Endod*. 2011 Jun; 37(6): 844-6.
149. MecCem.ch [internet] Weinfelden; Hunting&Partner; 2013 [citado 26 sept 2015]. Disponible en: <http://www.medcem.ch/joomla/index.php/de/produkte-und-shop/online-shop/shop/3/1/portlandzement/medcem-mta-40-1-detail>.
150. Micro-meg.a.com [internet]. Besancon; Nec&Tic [citado 26 sept 2015]. Disponible en: http://micromega.com/en/wpcontent/uploads/2012/10/MMMTA_brochure.pdf

151. Moretti AB, Sakai VT, Oliveira TM, Fornetti AP, Santos CF, Machado MA, Abdo RC. The effectiveness of mineral trioxide aggregate, calcium hydroxide and formocresol for pulpotomies in primary teeth. *Int Endod J.* 2008; 41: 547-55.
152. Murray P, Garcia-Godoy F, Hargreaves K. Regenerative endodontics: A review of current status and a call for action. *JOE.* 2007; 33 (4); 377-90.
153. Nakayama GR, Caton MC, Nova MP, Parandoosh Z. Assessment of the Alamar Blue assay for cellular growth and viability in vitro. *J Immunol Methods.* 1997; 204(2): 205-8.
154. Narasimha Raghavan R. *Ceramics in Dentistry, Sintering of Ceramics - New Emerging Techniques.* Dr.Arunachalam Lakshmanan (Ed); 2012.
155. Natu VP, Dubey N, Loke GC, Tan TS, Ng WH, Yong CW, Cao T, Rosa V. Bioactivity, physical and chemical properties of MTA mixed with propylene glycol. *J Appl Oral Sci.* 2015; 23(4): 405-11.
156. Nery EB, Lynch KL, Hirthe WM, Mueller KH. Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects. *J Periodontol.* 1975; 46(6): 328-47.
157. Ng FK, Messer B. Mineral trioxide aggregate as a pulpotomy medicament: An evidence-based assessment. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2008; 9 (2): 58-73.
158. Niranjani K, Prasad MG, Vasa AA, Divya G, Thakur MS, Saujanya K. Clinical Evaluation of Success of Primary Teeth Pulpotomy Using Mineral Trioxide Aggregate^(®), Laser and Biodentine(TM)- an In Vivo Study. *J Clin Diagn Res.* 2015; 9(4): ZC35-7.
159. Niu LN, Jiao K, Wang TD, Zhang W, Camilleri J, Bergeron BE, Feng HL, Mao J, Chen JH, Pashley DH, Tay FR. A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cements. *J Dent.* 2014; 42(5): 517-33.
160. Nosrat A, Seifi A, Asgary S. Regenerative endodontic treatment (Revascularization) for necrotic immature permanent molars: A review and report of two cases with a new material. *JOE* 2011; 37 (4): 562-67.
161. Nowicha A, Lipski M, Parafiniuk M, Sporniak-Tutak K, Lichota D, Kosierkiewicz A, Kazmareck W, Buckowska-Radlinska J. Response of human dental pulp capped with biodentine and mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2013; 39 (6): 743-7.
162. Oguntebi B, Clark A, Wilson J. Pulp capping with Bioglass and autologous demineralized dentin in miniature swine. *J Dent Res.* 1993; 72(2): 484-9.
163. Okiji T, Yoshida K. Reparative dentinogenesis induced by Mineral Trioxide Aggregate: A review from biological and physicochemical points of view. *Int J Dent.* 2009; 28: 1-12.

164. Olatosi OO, Sote EO, Orenuga OO. Effect of mineral trioxide aggregate and formocresol pulpotomy on vital primary teeth: a clinical and radiographic study. *Niger J Clin Pract.* 2015; 18(2): 292-6.
165. Oliveira IR, Andrade TL, Jacobovitz M, Pandolfelli VC. Bioactivity of calcium aluminate endodontic cement. *J Endod.* 2013; 39:774-8.
166. Oliveira IR, Andrade TL, Matsuo DC, Parreira RM, Jacobovitz M, Pandolfelli VC. Influence of radiopacifer additives on calcium aluminate cement properties. *Mat Res.* 2014; Ahead of print.
167. Oliveira IR, Pandolfelli VC, Jacobovitz M. Chemical, physical and mechanical properties of a novel calcium aluminate endodontic cement. *Int Endod J.* 2010; 43: 1069-76.
168. Pacios MG, de la Casa ML, de Bulacio MI, López ME. Influence of different vehicles on the pH of calcium hydroxide pastes. *J Oral Sci.* 2004; 46(2): 107-11.
169. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A comprehensive literature review-Part III: Clinical Applications, Drawbacks and Mechanism of Action. *J Endod* 2010b; 36 (3): 400-13.
170. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A comprehensive literature review-Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. *J Endod* 2010a; 36 (1): 16-27.
171. Park J, Lakes RS. *Biomaterials. An Introduction.* 3rd Ed. New York: Springer, New York; 2007.
172. Park JW, Hong SH, Kim JH, Lee SJ, Shin SJ. X-Ray diffraction analysis of White ProRoot MTA and Diadent BioAggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 109(1): 155-8.
173. Pires-de-Souza FC, Moraes PC, Garcia LF, Aguilar FG, Watanabe E. Evaluation of pH, calcium ion release and antimicrobial activity of a new calcium aluminate cement. *Braz Oral Res.* 2013; 27: 324-30.
174. Poggio C, Ceci M, Beltrami R, Dagna A, Colombo M, Chiesa M. Biocompatibility of a new pulp capping cement. *Ann Stomatol.* 2014; 5(2): 69-76.
175. Pramila R, Muthu MS, Deepa G, Farzan JM, Rodrigues SJ. Pulpectomies in primary mandibular molars: a comparison of outcomes using three root filling materials. *Int Endod J.* 2015 (on line)
176. Prati C, Gandolfi MG. Calcium silicate bioactive cements: Biological perspectives and clinical applications. *Dent Mater.* 2015; 31(4): 351-70.

177. Rao A, Rao A, Shenoy R. Mineral Trioxide Aggregate- A review. *J Clin Pediatr Dent.* 2009; 34(1): 1-7.
178. Reynolds K, Johnson JD, Cohenca N. Pulp revascularization of necrotic bilateral bicuspid using a modified novel technique to eliminate potential coronal discolouration: a case report. *Int Endod J.* 2009; 42 (1): 84-92.
179. Roberts HW, Toth JM, Berzins DW, Charlton DG. Mineral trioxide aggregate material use in endodontic treatment: A review of the literature. *Dent Mat.* 2008; 24: 149-64.
180. Rodd HD, Boissonade FM. Substance P exposure in human tooth pulp in relation to caries and pain experience. *Eur J Oral Sc* 2000; 108: 476-84.
181. Rodríguez-Lorenzo LM, García-Carrodeaguas R, Rodríguez MA, De Aza S, Jiménez J, López Bravo A, Fernández M, San Román J. Syntesis, characterization, bioactivity and biocompatibility of nanostructured materials base don the wollastonite- poly(ethylmethecrylate-co-vinylpyrrolidone) system. *J Biomed Mater Res* 2009; 88A: 53-64.
182. Roy DM, Linnehan SK. Hydroxiapatite formed from Coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange. *Nature*, 1974; 247:220-2.
183. Saghiri MA, Asgar K, Lofti M, García-Godoy F. Nanomodification of mineral trioxide aggregate for enhanced physicochemical properties. *Int Endod J.* 2012; 45: 979-88.
184. Saghiri MA¹, Asatourian A, Orangi J, Lotfi M, Soukup JW, Garcia-Godoy F, Sheibani N. Effect of particle size on calcium release and elevation of pH of endodontic cements. *Dent Traumatol.* 2015a; 31(3): 196-201.
185. Saghiri MA¹, Gutmann JL², Orangi J³, Asatourian A³, Sheibani N. Radiopacifier particle size impacts the physical properties of tricalcium silicate-based cements. *J Endod.* 2015; 41(2): 225-30.
186. Sakai VT, Moretti AB, Oliveira TM, Fornetti AP, Santos CF, Machado MA, Abdo RC. Pulpotomy of human primary molars with MTA and Portland cement: a randomised controlled trial. *Br Dent J.* 2009; 8(3): 207-E5.
187. Samavedi S, Whittington AR, Goldstein AS. Calcium phosphate ceramics in bone tissue engineering: a review of properties and their influence on cellbehavior. *Acta Biomater.* 2013; 9(9): 8037-45
188. Sasaki H, Ogawa T, Koreeda M, Ozaki T, Sobue S, Ooshima T. Electrocoagulation extends the indication of calcium hydroxide pulpotomy in the primary dentition. *J Clin Pediatr Dent.* 2002; 26(3): 275-7.

189. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Razmi H, Sajadi S, Davies TE, Saghiri MA, Gorjestani H, Dummer PM. Bioactivity of EndoSequence root repair material and bioaggregate. *Int Endod J.* 2012; 45(12): 1127-34.
190. Silva GF, Bosso R, Ferino RV, Tanomaru-Filho M, Bernardi MI, Guerreiro-Tanomaru JM, Cerri PS. Microparticulated and nanoparticulated zirconium oxide added to calcium silicate cement: Evaluation of physicochemical and biological properties. *J Biomed Mater Res A.* 2014; 102(12): 4336-45.
191. Simancas-Pallares MA, Díaz-Caballero AJ, Luna-Ricardo LM. Mineral trioxide aggregate in primary teeth pulpotomy. A systematic literature review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2010; 15 (6): 942-6.
192. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Espectrometría atómica de rayos X. En: *Principios de análisis instrumental*". Quinta edición: McGraw-Hill/Interamericana de España S.A; 2001. p. 291-319
193. Smaïl-Faugeron V, Courson F, Durieux P, Muller-Bolla M, Glennly AM, Fron Chabouis H. Pulp treatment for extensive decay in primary teeth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014; 6: 8
194. Sonmez D, Sari S, Çetinbas T. A comparison of four pulpotomy techniques in primary molars: a long-term follow-up. *JOE* 2008; 34 (8): 950-55.
195. Sönmez D, Durutürk L. Ca(OH)₂ pulpotomy in primary teeth. Part I: internal resorption as a complication following pulpotomy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008; 106(2): e94-8.
196. Srinivasan V, Patchett CL, Waterhouse PJ. Is there life after Buckley's Formocresol? Part I- a narrative review of alternative interventions and materials. *Int J Paed Dent.* 2006, 16: 117-27.
197. Suwanprateeb J, Sanggam R, Suvannapruk W. Mechanical and in vitro performance of apatite-wollastonite glass ceramic reinforced hydroxyapatite composite fabricated by 3D-printing. *J Mater Sci: Mater Med* 2009; 20: 1281-89.
198. Swarup SJ, Rao A, Boaz K, Srikant N, Shenoy R. Pulpal response to nano hydroxyapatite, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide when used as a direct pulp capping agent: an in vivo study. *J Clin Pediatr Dent.* 2014; 38(3): 201-6.
199. Tabarsi B, Parirokh M, Eghbal MJ, Haghdoost AA, Torabzadeh H, Asgary S. A comparative study of dental pulp response to several pulpotomy agents. *Int Endod J.* 2010; 43(7): 565-71.

200. Tadic D, Epple M. A thorough physicochemical characterisation of 14 calcium phosphate- based bone substitution materials in comparison to natural bone. *Biomaterials*. 2004; 25(6): 987-94.
201. Tagger M, Katz A. The radiopacity of endodontic sealers: development of a new method for direct measurement. *J Endod*, 2003; 29: 751-5.
202. Tanomaru-Filho M, da Silva GF, Duarte MA, Gonçalves M, Tanomaru JM. Radiopacity evaluation of root-end filling materials by digitization of images. *J Appl Oral Sci*. 2008; 16(6): 376-9.
203. Tanomaru-Filho M, da Silva GF, Duarte MA, Gonçalves M, Tanomaru JM. Radiopacity evaluation of root-end filling materials by digitization of images. *J Appl Oral Sci*, 2008; 16: 376-9.
204. Thomson A, Kahler. Regenerative endodontics- biologically-based treatment for immature permanent teeth: a case report and review of the literature. *Aust Dent J*. 2010; 55: 446-52.
205. Tirapelli C, Panzeri H, Lara EH, Soares RG, Peitl O, Zanotto ED. The effect of a novel crystallised bioactive glass-ceramic powder on dentine hypersensitivity: a long-term clinical study. *J Oral Rehabil*. 2011; 38(4): 253-62.
206. Tirapelli C, Panzeri H, Soares RG, Peitl O, Zanotto ED. A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. *Braz Oral Res*. 2010; 24(4): 381-7.
207. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod*. 1995; 21(7): 349-53.
208. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral Trioxide Aggregate: A comprehensive literature review-Part II: Leakage and Biocompatibility Investigations. *J Endod* 2010; 36 (2): 190-202.
209. Trairatvorakul C, Chunlasikawaiwan S. Success of pulpectomy with zinc oxide-eugenol vs calcium hydroxide/iodoform paste in primary molars: a clinical study. *Pediatr Dent*. 2008; 30(4): 303-8.
210. Tran XV, Gorin C, Willig C, Baroukh B, Pellat B, Decup F, Opsahl Vital S, Chaussain C, Boukpepsi T. Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair. *J Dent Res*. 2012; 91(12): 1166-71.
211. Tsesis I, Kamburoblu K, Katz A, Tamse A, Kaffe I, Kfir A. Comparison of digital with conventional radiography in detection of vertical root fractures in endodontically treated maxillary premolars: an ex vivo study. *Oral Sur Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008; 106: 124-8.

212. Tuna D, Ölmez A. Clinical long-term evaluation of MTA as a direct pulp capping material y primary teeth. *Int Endod J.* 2008; 41: 273-8.
213. Utneja S, Nawal RR, Talwar S, Verma M. Current perspectives of bio-ceramic technology in endodontics: calcium enriched mixture cement - review of its composition, properties and applications. *Restor Dent Endod.* 2015; 40(1): 1-13.
214. Vallejo-Bolaños E, Rosales-Leal JI. Materiales dentales. En: Boj JR, Catalá M, García-Ballesta C, Mendoza Z, Planells P. *Odontopediatría. La evolución del niño al adulto joven.* 1ª edición. Madrid: Ripano S.A; 2011: 195-210.
215. Van Brakel J, Modry S y Svata M. Mercury porosimetry: state of art. *Powder technology* 1981; 29 (1): 1-12.
216. Vargas-Gutierrez G, Méndez-Nonell J, López-Ojeda L, De Aza PN, De Aza S. Cementos odontológicos a base de Poli (ácido acrílico) y wollastonita. *Bol Soc Esp Ceram V* 2005; 44 (2): 89-94.
217. Viapiana R, Guerreiro-Tanomaru JM, Hungaro-Duarte MA, Tanomaru-Filho M, Camilleri J. Chemical characterization and bioactivity of epoxy resin and Portland cement-based sealers with niobium and zirconium oxide radiopacifiers. *Dent Mater.* 2014; 30(9): 1005-2.
218. Viván R, Ordinola-Zapata R, Zeferino M, et al. Evaluation of physical and Chemicals properties of two commercial and three experimental root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010; 110 (2): 250-6.
219. Viván RR, Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, Hungaro Duarte MA, de Moraes IG. Evaluation of the radiopacity of some commercial and experimental root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.*, 2009; 108: e35-8.
220. Waterhouse P. "New age" pulp therapy: personal thoughts on a hot debate. *Pediatr Dent* 2008; 30: 247-52.
221. Yildiz E, Tosun G. Evaluation of formocresol, calcium hydroxide, ferric sulfate, and MTA primary molar pulpotomies. *Eur J Dent.* 2014; 8(2): 234-40.
222. Zaror SC, Vergara GC, Díaz M, Aracena RD. Pulpotomías con sulfato férrico y MTA en dientes primarios: serie de casos. *Int J Odontostomat.* 2011; 5 (1): 77-82.
223. Zhang N, Molena JA, Fournelle JH, Murphy WL, Sahai N. Effects of pseudowollastonite (CaSiO₃) bioceramic on in vitro activity of human mesenchymal stem cells. *Biomater.* 2010; 31: 7653-65.