



Facultad de Medicina y Odontología

Doctorado en Odontología

**Obturación de los conductos radiculares con cementos biocerámicos y gutapercha recubierta del mismo material: análisis morfológico de las interfases entre ambos materiales y la adaptación a las paredes del conducto**

Doctoranda

Paula Muedra Bort

Dirección

Leopoldo Forner Navarro

M<sup>a</sup> Carmen Llena Puy

Octubre de 2019



Facultad de Medicina y Odontología

Doctorado en Odontología

**Obturación de los conductos radiculares con cementos biocerámicos y gutapercha recubierta del mismo material: análisis morfológico de las interfases entre ambos materiales y la adaptación a las paredes del conducto**

Doctoranda

Paula Muedra Bort

Dirección

Leopoldo Forner Navarro

M<sup>a</sup> Carmen Llena Puy

Octubre de 2019







UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
Departament d'Estomatologia

Unitat Docent de Patologia i Terapèutica Dentàries

D. Leopoldo Forner Navarro y D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> Carmen Llena Puy, Catedrático y Profesora Titular, respectivamente, del Departamento de Estomatología de la Facultad de Medicina i Odontología de la Universitat de València,

hacen constar que,

la tesis doctoral titulada "Obturación de los conductos radiculares con cementos biocerámicos y gutapercha recubierta del mismo material: análisis morfológico de las interfases entre ambos materiales y la adaptación a las paredes del conducto", presentada por la guardada D<sup>a</sup> Paula Muedra Bort, ha sido realizada bajo nuestra dirección y que reúne las condiciones necesarias para su presentación y defensa.

Lo que firmamos a los efectos oportunos,

Prof. Dr. Forner Navarro

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Llena Puy

Valencia, 11 de septiembre de 2019.



## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas las personas que han colaborado directa o indirectamente al desarrollo de este trabajo:

En primer lugar, a mis directores de tesis, el Dr. Leopoldo Forner y la Dra. M<sup>a</sup> Carmen Llena, por inculcarme desde la carrera su pasión por la docencia y la investigación. Quiero agradecerles toda la ayuda que me han dado, su comprensión, dedicación y sus horas de trabajo.

Al Dr. Adrián Lozano, por sus consejos, su paciencia y brindarme siempre su ayuda.

A mi madre, por su apoyo incondicional y motivación en cada momento.

Y en especial a Alex, por no dejar que tire la toalla en los momentos más duros. Gracias por sacar siempre lo mejor de mi.



A mi padre.





# Índice

---



<b>INTRODUCCIÓN</b>	p. 15
<b>1. PREÁMBULO</b>	p. 17
<b>2. ANTECEDENTES</b>	p. 18
2.1 BIOMATERIALES	p. 18
2.2 BIOMATERIALES CERÁMICOS	p. 19
2.2.1 Clasificación	p. 20
2.2.1.1 Bioinertes	p.20
2.2.1.1.1 Alúmina	p.20
2.2.1.1.2 Circonica	p.21
2.2.1.1.3 Carbón pirolítico	p.21
2.2.1.2 Bioactivos	p.21
2.2.1.2.1 Biovidrio y vidrio cerámico	p.22
2.2.1.3 Biorreabsorbibles	p.22
2.2.1.3.1 Fosfato cálcico	p.22
2.2.2 Generaciones	p. 23
2.3 MATERIALES BIOCERÁMICOS EN ODONTOLOGÍA	p. 25
2.3.1 Comienzos de los materiales biocerámicos en endodoncia. El MTA	p.25
2.3.2 Composición	p. 27
2.3.2.1 Reacción de fraguado	p. 30
2.3.3 Propiedades	p. 30
2.3.3.1 Biológicas	p. 32
2.3.3.1.1 Biocompatibilidad	p. 32
2.3.3.1.2 Estimulación de la biomineralización	p. 34
2.3.3.1.3 Inducción a la diferenciación celular	p. 36
2.3.3.1.4 Actividad antibacteriana y antifúngica	p. 37
2.3.3.2 Físico-químicas	p. 40
2.3.3.2.1 Tiempo de fraguado	p. 40
2.3.3.2.2 Porosidad	p. 41
2.3.3.2.3 Resistencia mecánica	p. 42

2.3.3.2.4	pH alcalino y liberación de iones calcio	p. 45
2.3.3.2.5	Solubilidad	p. 46
2.3.3.2.6	Radioopacidad	p. 47
2.3.3.2.7	Fluidez	p. 48
2.3.3.2.8	Discoloración	p. 49
2.3.3.2.9	Sellado	p. 52
2.3.4	USOS	p. 53
2.3.4.1	Reparador	p. 53
2.3.4.1.1	Recubrimiento pulpar	p. 53
2.3.4.1.2	Perforación y resorción radicular	p. 53
2.3.4.1.3	Sellado apical	p. 54
2.3.4.2	Sellador	p. 54
3.	<b>JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO</b>	p. 55
4.	<b>OBJETIVOS</b>	p. 57
4.1	OBJETIVOS	p. 57
4.2	HIPÓTESIS DE TRABAJO	p. 58
	<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	p. 59
1.	<b>PROCEDIMIENTO GENERAL</b>	p. 61
2.	<b>BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA</b>	p. 61
3.	<b>MUESTRA</b>	p. 63
3.1	TIPO DE DIENTE	p. 63
3.2	CARACTERÍSTICAS DEL DIENTE	p. 63
3.3	TAMAÑO DE LA MUESTRA	p. 63
3.4	PROCEDIMIENTO DE MUESTREO	p. 64
3.5	INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA	p. 64
3.6	ASIGNACIÓN A GRUPOS	p. 64

<b>4. MATERIALES</b>	p. 65
4.1 MATERIALES DE OBTURACIÓN	p. 65
4.2 EQUIPAMIENTO PARA LA OBSERVACIÓN	p. 68
4.2.1 Microscopio confocal láser	p. 69
4.2.2 Estereomicroscopio	p. 71
<b>5. PROCEDIMIENTO</b>	p. 72
5.1 INSTRUMENTACIÓN Y OBTURACIÓN	p. 72
5.1.1 Asignación a grupos	p. 72
5.1.2 Instrumentación	p. 73
5.1.2 Obturación	p. 73
5.2 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA OBSERVACIÓN Y ANÁLISIS DE LAS IMÁGENES OBTENIDAS	p. 74
5.2.1 Microscopio confocal láser	p. 75
5.2.2 Estereomicroscopio	p. 78
<b>6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b>	p. 80
<b>RESULTADOS</b>	p. 81
<b>1. ESTUDIO CON MICROSCOPIA CONFOCAL LÁSER</b>	p. 83
1.1 PENETRACIÓN TUBULAR	p. 83
1.2 PORCENTAJE DE PENETRACIÓN TUBULAR	p. 85
<b>2. ESTUDIO CON ESTEREOMICROSCOPIA</b>	p. 88
2.1 ADAPTACIÓN DEL CEMENTO A LAS PAREDES DENTINARIAS	p. 88
2.2 ADAPTACIÓN DE LA GUTAPERCHA CONVENCIONAL AL CEMENTO	p. 91
2.3 ADAPTACIÓN DE LA GUTAPERCHA RECUBIERTA DE MATERIAL BIOCERÁMICO AL CEMENTO	p. 94
2.4 COMPARACIÓN DE LA ADAPTACIÓN DE LA GUTAPERCHA CONVENCIONAL Y LA GUTAPERCHA RECUBIERTA DE MATERIAL BIOCERÁMICO AL CEMENTO	p. 97



<b>DISCUSIÓN</b>	p. 99
<b>1. JUSTIFICACIÓN DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA</b>	p. 101
1.1 MUESTRA	p. 101
1.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA SU ESTUDIO	p. 102
1.2.1 Instrumentación	p. 102
1.2.2 Selección y preparación de los cementos empleados	p. 106
1.2.3 Técnica de obturación	p. 117
1.2.4 Preparación de los especímenes para la observación microscópica	p. 110
1.3 TÉCNICAS MICROSCÓPICAS EMPLEADAS	p. 110
<b>2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS</b>	p. 113
2.1 PENETRACIÓN TUBULAR	p. 113
2.1.1 Profundidad máxima de penetración tubular	p. 116
2.1.2 Porcentaje de perímetro con penetración tubular	p. 117
2.1.3 Tercio con mayor porcentaje de perímetro penetrado y profundidad máxima alcanzada	p. 118
2.2 ADAPTACIÓN DEL CEMENTO A LAS PAREDES DENTINARIAS	p. 119
2.2.1 Porcentaje de adaptación	p. 119
2.2.2 Tercio con mayor adaptación	p. 121
2.3 ADAPTACIÓN DEL CEMENTO A LA GUTAPERCHA CONVENCIONAL Y RECUBIERTA DE MATERIAL BIOCERÁMICO	p. 121
<b>CONCLUSIONES</b>	p. 123
<b>ANEXOS</b>	p. 127
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	p. 135

# Introducción

---



## 1. PREÁMBULO

La situación actual en odontología empuja a buscar materiales que no sólo no sean tóxicos con el organismo, sino que vayan más allá. Lo que se pretende es encontrar compuestos que interactúen tanto con las células, pulpaes y periapicales, como con su entorno. Con ello se pretende inducir ciertos cambios que estimulen la curación del tejido afectado y prevengan patologías futuras.

El objetivo del tratamiento de conductos no es otro que el de eliminar los microorganismos y sus productos del sistema de conductos y además prevenir una futura reinfección. Sin embargo, es difícil o casi imposible conseguir una asepsia completa. Por esto, el objetivo de la obturación radicular es el de obtener un sellado hermético que elimine cualquier vía de filtración, tanto coronal como apical.

Así pues, en el campo de la endodoncia, se persigue encontrar un cemento sellador que aporte todas estas propiedades biológicas a la vez que garantice ese sellado hermético del sistema de conductos.

Actualmente se dispone de una serie de cementos con ciertas características que ponen a nuestra disposición estas propiedades.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 BIOMATERIALES

La capacidad de controlar la respuesta biológica con precisión ha ido evolucionando marcadamente desde 1970 cuando se empezó a usar por primera vez el término “biocompatibilidad”. Desde entonces se ha estado tratando de comprender los mecanismos biológicos asociados con la inflamación y la curación para poder facilitar los procesos de integración y regeneración <sup>1</sup>.

El Instituto Nacional de Salud (NIH) define en 1982 “biomaterial” como

“cualquier sustancia (que no sea un medicamento) o combinación de sustancias, de origen sintético o natural, que pueda ser usada durante cualquier periodo de tiempo, de forma única o como parte de un sistema que trata, aumenta o reemplaza cualquier tejido, órgano o función del cuerpo”.

Estos materiales deben ser por tanto estables, no tóxicos ni carcinogénicos, químicamente inertes y suficientemente resistentes para soportar las fuerzas constantes de la vida diaria.

El uso de biomateriales se remonta a las antiguas civilizaciones como los egipcios donde se han encontrado orejas, dedos, narices y ojos artificiales utilizando para ello materiales como madera o cuero <sup>2</sup>. Con el paso del tiempo se fueron incorporando materiales manufacturados como el hierro, el oro, el zinc o el vidrio.

La respuesta del cuerpo humano a cada uno de ellos es extremadamente diversa, pudiendo ser tolerados en ciertas condiciones, en función tanto del propio tejido como de la técnica quirúrgica empleada, como rechazados en otras.

Hoy en día, los avances en la producción de materiales, así como las técnicas quirúrgicas, han permitido el uso de estos nuevos biomateriales como implantes

(ligamentos, válvulas cardíacas, implantes dentales, ...) reemplazando tejidos y órganos, restaurando su función, y mejorando así la calidad de vida de los pacientes.

Aquellos más usados son los metales (oro, aleaciones de titanio, tantalio, acero inoxidable, aleaciones Co-Cr), las cerámicas (alúmina, circonia, carbón, titanio, hidroxiapatita, biovidrio), los polímeros (poliuretano, goma siliconada) y los composites (sílice, resina epoxica); éstos pueden encontrarse bien por separado o combinados.

En los últimos 30 años se ha avanzado enormemente en comprender la interacción de estos biomateriales con los tejidos, existiendo grandes diferencias entre aquellos que interactúan o no con el huésped. Las investigaciones recientes han realizado diferentes clasificaciones (bioinertes y bioactivos, bioestables y biodegradables, ...) pero estos pueden dividirse básicamente en dos grupos, los inertes y los activos<sup>3</sup>.

Los inertes son aquellos que no provocan respuesta en el organismo o ésta es mínima. Los activos, por su parte, favorecen la unión con los tejidos adyacentes, interaccionando con ellos. Aquellos materiales degradables o reabsorbibles se incorporan en el tejido adyacente o bien se disuelven completamente pasado un cierto periodo de tiempo.

Los metales suelen ser materiales inertes; las cerámicas inertes, activas o reabsorbibles; y los polímeros, inertes o reabsorbibles.

## 2.2 BIOMATERIALES CERÁMICOS

Las principales características de las cerámicas son su dureza, rigidez y fragilidad, así como una alta resistencia a la corrosión y baja densidad. Además, son aislantes eléctricos y térmicos. Es por esto que su comportamiento, aunque bueno ante fuerzas de compresión, es pobre sobre las de tensión de manera que fallan al someterlas a pequeñas fuerzas de tensión o si se intentan curvar.

Estos biomateriales han sido menos usados que los metales o los polímeros ya que fallan ante cualquier pequeña deformación plástica, siendo muy sensibles a la presencia de fisuras u otros defectos.



## 2.2.1 CLASIFICACIÓN

Básicamente encontramos tres tipos de cerámicas: las bioinertes, las bioactivas y las biorreabsorbibles. La alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), la circonia ( $\text{ZrO}_2$ ) y el carbón pirolítico son bioinertes. El biovidrio y el vidrio cerámico son bioactivos. El fosfato cálcico es biorreabsorbible.

### 2.2.1.1 BIOINERTES

Son aquellos materiales que mantienen completamente su estructura tras la implantación y no inducen ninguna reacción inmunológica por parte del huésped o ésta es mínima.

El tejido responde ante este tipo de materiales formando una membrana fibrosa fina que rodea al implante. Esta membrana no se enlaza químicamente con el material, sino que su fijación al cuerpo se debe únicamente al enlace físico. Es por esto que cuando se necesita una resistencia mayor del implante este enlace se asegura con hilos o cemento. Si la resistencia no se prevé muy grande el mismo poro del material (50-200 nm) permite la fijación de éste debido al crecimiento de tejido en su interior.

Actualmente estos materiales llevan recubrimientos bioactivos que permiten que se forme una interfase entre el implante y el hueso <sup>4</sup>.

#### 2.2.1.1.1 ALÚMINA ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ )

Fue la primera cerámica utilizada ampliamente en el ámbito clínico. Se usa en las prótesis de cadera y los implantes dentales debido a la combinación de alta resistencia a la corrosión y buena biocompatibilidad, así como gran dureza y resistencia al desgaste.

La razón de que esta cerámica tenga tan buen comportamiento frente al

desgaste y a la fricción está asociada a la energía y uniformidad en su superficie <sup>3</sup>.

Generalmente este material se encuentra como componente en diferentes biomateriales, pero también puede ser usado como elemento único <sup>5</sup>. Una de sus características es que químicamente no intercambia iones con el organismo, por lo que no existe osteointegración del implante.

#### 2.2.1.1.2 CIRCONIA (ZrO<sub>2</sub>)

La circonia es un material que tiene como gran ventaja su gran fuerza y resistencia a la fractura. Las investigaciones sobre el uso de este material comenzaron hace 20 años y actualmente se usa en todas las prótesis completas de cadera, siendo esta su aplicación principal.

#### 2.2.1.1.3 CARBÓN PIROLÍTICO

La buena compatibilidad biológica de este material tanto con el hueso como con cualquier otro tejido y la similitud en las propiedades mecánicas indican que el carbón es un gran candidato para los implantes ortopédicos. A diferencia de los metales, los polímeros y otras cerámicas, estos materiales no sufren fatiga. Sin embargo, su fragilidad y baja maleabilidad limitan su uso en el soporte de cargas.

#### 2.2.1.2 BIOACTIVOS

Son aquellos materiales que forman una unión química directa con el hueso o incluso con el tejido blando de un organismo vivo. Además, pueden inducir cambios biológicos en su entorno.

#### 2.2.1.2.1 BIOVIDRIO Y VIDRIO CERÁMICO

Estos materiales sufren una modificación en su superficie tras su implantación promovida por el  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$  y  $\text{Na}_2\text{O}$  de los que se compone <sup>5</sup>. Es por esto por lo que se ha estado utilizando en gran medida para el relleno de defectos óseos. La porosidad de los biovidrios beneficia la reabsorción y la bioactividad. Gracias a esto y a su solubilidad, la cual se relaciona directamente con la concentración de  $\text{Na}_2\text{O}$ , da lugar a una reacción entre los cristales de apatita estables del vidrio cerámico y los del hueso, obteniendo mejores fuerzas de adhesión que los fosfatos de calcio <sup>5</sup>.

#### 2.2.1.3 BIORREABSORBIBLES

Son aquellos materiales que se degradan en el cuerpo (mediante una descomposición hidrolítica) mientras son remplazados por tejido; los productos derivados de esta degradación son absorbidos y liberados por los diferentes procesos metabólicos del organismo.

La función de estos materiales es la de servir como andamiaje para que los tejidos se vayan infiltrando por los poros y los vayan sustituyendo. Tienen el inconveniente de que su resistencia disminuye durante el proceso de reabsorción <sup>4</sup>.

##### 2.2.1.3.1 FOSFATO CÁLCICO

Dependiendo del tipo de respuesta que se desea del fosfato calcico se pueden emplear diferentes fases de éste, bien para obtener un material reabsorbible o uno bioactivo <sup>3</sup>. El fosfato cálcico bioactivo presenta osteoconductividad, proporcionando una superficie activa que permite al tejido óseo crecer sobre ella sin necesidad de que se reabsorba el implante <sup>6</sup>.

Una de sus principales características es su porosidad, sin embargo, como

el resto de las cerámicas, es su comportamiento biomecánico su fundamental desventaja. Es por esto que su uso se limita principalmente al relleno de pequeños defectos óseos y como cobertura de implantes metálicos <sup>6</sup>. Los implantes recubiertos combinan las propiedades mecánicas del material central con la biocompatibilidad y bioactividad del fosfato cálcico. De hecho, los resultados clínicos indican que aquellos implantes con recubrimientos cerámicos muestran a largo plazo una vida media más larga que los que no cuentan con este recubrimiento. Hay que mencionar que son muchos los factores que influyen en las propiedades del fosfato cálcico usado a modo de cobertura, como es el grosor de la capa (se ha establecido como grosor óptimo las 50-100 nm), la cristalización (que influye en la capacidad para disolverse y liberar iones al medio), la porosidad y, en especial, la adhesión al material central <sup>7</sup>.

La hidroxiapatita (HA) es el fosfato cálcico más representativo; ésta se disuelve ligeramente en superficie bajo condiciones fisiológicas formándose en consecuencia nueva apatita en la superficie y uniéndose de esta forma a la estructura ósea a nivel atómico. El primer requisito para que un material de fosfato de calcio sea bioactivo y se una al hueso es la formación de una capa de apatita similar a la del hueso en su superficie.

Las propiedades mecánicas de la HA son muy similares a la de los tejidos duros del organismo; su módulo de elasticidad puede variar entre 40-100 GPa (esmalte dental: 74 GPa, dentina: 21 GPa, hueso cortical: 18-22 GPa). Sin embargo, la resistencia mecánica de las masas de HA densa puede alcanzar una dureza del orden de los 100 MPa, disminuyendo drásticamente si aumentamos la porosidad en el compuesto, mientras que la del hueso humano es de 300 MPa <sup>8</sup>.

## 2.2.2 GENERACIONES DE BIOMATERIALES CERÁMICOS

Los biomateriales en general han ido evolucionando desde sus orígenes pasando de utilizar materiales inertes a otros que interactúan con el huésped. Actualmente

podemos hablar de tres generaciones de biomateriales; la primera iba dirigida a sustituir el daño producido en un tejido, la segunda se centraba en reparar ese daño y con la tercera se pretende regenerar el tejido perdido <sup>9</sup>.

La primera generación de biomateriales cerámicos comenzó en los años 60, cuando lo que se buscaba era conseguir una interacción con el huésped lo más baja posible. Los ejemplos más notables son la alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) y la circonia ( $\text{ZrO}_2$ ). Con el paso de los años el objetivo fue cambiando de modo que, a principios de los años 80, se pretendía lograr con estos materiales una respuesta activa del huésped o una degradación del material. Los biomateriales cerámicos fueron empleados como cementos óseos, coberturas en implantes metálicos o para el aumento de estructura ósea. Algunos de los ejemplos más característicos de estos son los fosfatos y sulfatos cálcicos, los biovidrios y los vidrios cerámicos.

En la última década, los estudios sobre implantes biocerámicos han ido encaminados a conseguir la regeneración de los tejidos centrándose más en el aspecto biológico <sup>6</sup>. Son los materiales de segunda generación los que se utilizan como punto de partida para los de tercera ya que con ellos se busca dar soporte a las células de modo que sean ellas las que desarrollen el trabajo de regeneración. Así pues, la tendencia actual en estos materiales va encaminada a la búsqueda de matrices que sean capaces de inducir la diferenciación celular para cada aplicación <sup>9</sup>. Se buscan para ello cerámicas de segunda generación que sean porosas (para permitir la infiltración celular) y a estas se les añade sustancias biológicamente activas. El tamaño ideal del poro en un material biocerámico es el similar al del propio hueso esponjoso <sup>3</sup>.

Como se ha visto previamente, los materiales biocerámicos no tienen buenas propiedades mecánicas; es por esto que la combinación de estos junto con otros materiales, como pueden ser los polímeros, se está aplicando. De esta manera se obtendrían composites de polímeros y cerámicas que serían a la vez flexibles y muy osteoconductores <sup>10</sup>.

## 2.3 MATERIALES BIOCERÁMICOS EN ENDODONCIA

En el campo de la endodoncia la búsqueda de materiales biocompatibles y bioactivos ha llevado al desarrollo de un grupo de estos que se ha dado en llamar “materiales biocerámicos”.

### 2.3.1 COMIENZOS DE LOS MATERIALES BIOCERÁMICOS EN ENDODONCIA: EL MTA

La introducción de los materiales biocerámicos en el campo de la odontología fue, en los años 90, con la aparición del Agregado Trióxido Mineral (MTA) <sup>11</sup>. La primera mención que se hace de este material en la literatura fue en 1993 por Lee *et al.* <sup>12</sup>; más tarde, en 1995, fue patentado por Torabinejad *et al.* <sup>13</sup> y, en 1998, aprobado por la FDA (*Food and Drug Administration*) como material terapéutico para uso en endodoncia con humanos.

Este material fue desarrollado en la Universidad de Loma Linda (California) en base al cemento de Portland, empleado para la construcción; su composición se basa principalmente en fosfato cálcico y óxido de calcio. Además, presenta una fase cristalina compuesta por un 87% de calcio y un 2,4% de sílice, así como una fase amorfa que contiene un 49% fosfato, 33% de calcio, 6% de sílice y trazas de cloruro y carbón <sup>13</sup>. Una vez fraguado, se producen en su mezcla, principalmente, silicato dicálcico, silicato tricálcico, aluminato tricálcico y tetracalcio aluminoferrita <sup>14</sup>.

La diferencia entre el cemento de Portland y el MTA reside en la incorporación de óxido de bismuto, para dotar al material de una radioopacidad adecuada, y en el tamaño de las partículas, el cual es más pequeño y uniforme <sup>15,16</sup>.

El desarrollo de este nuevo material iba encaminado a sellar las comunicaciones entre



el interior de la raíz y el exterior, por ello, su introducción en clínica fue dirigida a tratar perforaciones radiculares, patológicas o iatrogénicas <sup>17</sup>, resorciones radiculares y como material de obturación apical <sup>18</sup>.

Su composición a base de silicatos y alúminas le otorga unas propiedades biológicas que han hecho de él el material reparador por excelencia. Sin embargo, su difícil manipulación, su largo tiempo de fraguado y las discoloraciones que provoca han suscitado que las líneas de investigación sigan buscando un nuevo material que, aparte de producir una respuesta biológica en el organismo, presente mejor comportamiento.

De la necesidad de encontrar un material bioactivo que mejorara al MTA en sus aspectos negativos surgieron los cementos de silicato. Estos tienen una composición a base de silicato tricálcico y, al contrario que el MTA, están libres de alúmina y trazas de combustibles usados durante su producción. El silicato tricálcico ha sido utilizado ampliamente como sustituto óseo y ha demostrado ser un buen sustituto para el MTA debido a su bioactividad y capacidad de formar HA. En adición a éste, y según la marca comercial, se han incorporado otros compuestos para mejorar las propiedades físicas del cemento <sup>19</sup>.

Hoy en día no sólo contamos con cementos de silicato reparadores sino también con cementos selladores que nos aportan todas las ventajas de los materiales biocerámicos en la obturación de conductos. Gracias a su composición a base de nanopartículas, estos cementos tienen la fluidez necesaria para su uso dentro del sistema radicular.

A pesar de que un cemento sellador debe aunar una serie de propiedades físicas, se considera que la compatibilidad de éste con los tejidos periapicales es de suma importancia ya que, durante la obturación radicular, parte de este cemento puede salir inadvertidamente hacia el periápice, produciendo reacciones de inflamación e impidiendo o retardando la curación de los tejidos.

Es por esto que a día de hoy se busca en un cemento sellador que, no sólo selle el sistema radicular, sino que ayude o estimule a las estructuras lesionadas a producir un sellado biológico apical mediante su curación.

Los cementos selladores biocerámicos son biocompatibles y estables a nivel dimensional y químico en un entorno biológico. Además, presentan la ventaja de la formación de HA en su proceso de fraguado, lo cual establece una unión adhesiva entre el cemento y la dentina radicular.

### 2.3.2 COMPOSICIÓN

Como se ha mencionado previamente, este tipo de cementos se basan principalmente en silicatos de calcio, fosfato cálcico e hidróxido de calcio. A parte, podemos encontrar en su composición otro tipo de sustancias y agentes de relleno que les otorgan diferentes características y que varían en función de la marca comercial. Entre ellos encontramos el carbonato cálcico y el silicato de calcio, los cuales aceleran el tiempo de fraguado y aumentan la resistencia a la compresión, el sulfato cálcico, que aporta bioactividad, y el óxido de tantalio y óxido de circonia, que le confieren radioopacidad <sup>19</sup>.

En las tablas 1 y 2 se muestra, sin ánimo de ser exhaustiva, la composición de los cementos biocerámicos selladores y reparadores disponibles en el mercado actualmente.

MATERIAL	COMPOSICIÓN	EMPRESA
EndoSequence BC Sealer	Óxido de circonio, silicatos cálcicos, fosfato cálcico monobásico, hidróxido de calcio, agentes de relleno	Brasseler USA (Georgia, EE.UU.)
Well-Root ST	Óxido de circonio, sulfato cálcico hidratado, dióxido de titanio, aluminosilicato de calcio, vidrio inorgánico, lubricantes	Vericom (California, EE.UU.)
iRoot ST	Óxido de circonio, fosfato cálcico monobásico, hidróxido de calcio, silicato cálcico (dicálcico y tricálcico), agentes de relleno	Innovate BioCeramix, Inc (Burnaby, Canada)
EndoSeal	Silicato cálcico, aluminato cálcico, calcio aluminoférrico, sulfato cálcico, radioopacificante, agentes de relleno	MARUCHI (Wonju, Corea)
Bio-C Sealer	Silicato de calcio, aluminato de calcio, óxido de calcio, óxido de circonio, óxido de hierro, dióxido de silicio y agente de dispersión	Angelus (Paraná, Brasil)
BioRoot RCS	Polvo: silicato tricálcico, óxido de circonia y povidona Líquido: solución acuosa de cloruro cálcico y policaboxilato.	Septodont (St. Maur-des-Fossés, Francia)
Edge BioCeramic	Óxido de circonio, silicato tricálcico y dicálcico e hidróxido de calcio	EdgeEndo (Albuquerque, Nuevo México)

Tabla 1. Relación no exhaustiva de los cementos selladores disponibles actualmente en el mercado.

MATERIAL	COMPOSICIÓN	EMPRESA
EndoSequence Root Repair Material	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, fosfato cálcico monobásico, óxido de circonio, óxido de tantalio, agentes de relleno	Brasseler USA (Georgia, EE.UU.)
DiaRoot Bioaggregate	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, pentóxido de tantalio, fosfato cálcico monobásico, óxido de silicio amorfo	Diadent (Burnaby, Canada)
Biodentine	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, carbonato y óxido de calcio, óxido ferroso, óxido de circonio	Septodont (St. Maur-des-Fossés, Francia)
ProRoot MTA	Cemento Portland, óxido de bismuto, sulfato cálcico	Dentsply (Tulsa, OK, EE.UU.)
MTA-Angelus	Silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, ferritoaluminato tetracálcico, óxido de bismuto	Londrina (Paraná, Brasil)
Ortho MTA	Carbonato cálcico, dibismuto de sílice, óxido de aluminio, trióxido dibismuto	BioMTA (Seoul, Corea)
MM-MTA	Mezcla de óxidos minerales y óxidos de bismuto	MicroMega (Besançon, Francia)

Tabla 2. Relación no exhaustiva de los cementos reparadores disponibles actualmente en el mercado.

Hoy en día estos cementos se presentan en forma de polvo/líquido o vienen ya premezclados, listos para usar. Tanto a nivel reparador como sellador encontramos las dos presentaciones posibles, siendo el tamaño de la partícula lo que condiciona el uso para una situación u otra.

### 2.3.2.1 REACCIÓN DE FRAGUADO

Al contrario que otros tipos de cementos, los cementos biocerámicos necesitan agua para fraguar. Éstos utilizan la humedad remanente en los túbulos dentinarios para iniciar y completar su reacción de fraguado.

El silicato de calcio tiene la habilidad de interactuar con el agua permitiendo el fraguado y endurecimiento del cemento. La hidratación pues de estos silicatos produce gel de silicato de calcio hidratado e hidróxido de calcio. El hidróxido de calcio formado reacciona a su vez con los iones fosfato dando como resultado HA y agua. El agua continúa reaccionando con los silicatos de calcio restantes del cemento y cuando la saturación del medio es la adecuada, la HA precipita <sup>20</sup> (Imagen 1).

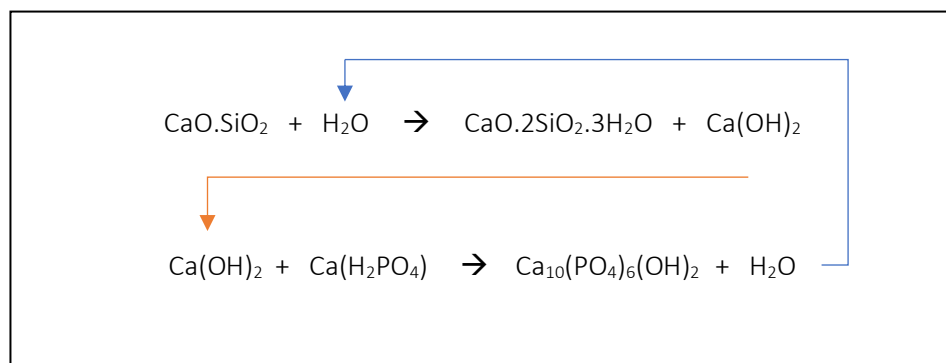


Imagen 1. Esquema resumen de la reacción de fraguado de los cementos de silicato.

### 2.3.3 PROPIEDADES

Grossman en 1958 estableció una serie de características que debía cumplir el cemento ideal para obturar el sistema de conductos <sup>21</sup>:

1. Producir buena adhesión una vez fraguado con las paredes dentinarias.
2. Producir un sellado hermético del sistema de conductos.
3. Poseer partículas finas de polvo que se mezclen fácilmente con el líquido.
4. Fragar con lentitud para permitir un tiempo de trabajo adecuado para la colocación del material de obturación.
5. No contraer una vez fraguado.
6. Ser impermeable a los fluidos tisulares.
7. Ser bactericida, bacteriostático o, al menos, no estimular el crecimiento bacteriano.
8. Ser radioopaco, de modo que pueda ser visualizado radiográficamente.
9. No provocar discoloraciones en la estructura dental.
10. No irritar los tejidos periapicales.
11. Ser soluble en un solvente común para ser removido fácilmente si fuera necesario.

Además, se puede agregar que los cementos selladores no deben ser mutagénicos ni carcinogénicos, no se deben modificar en presencia de humedad ni deben corroerse.

Actualmente ninguno de los cementos usados en endodoncia cumple con todos los requisitos que propuso Grossmann. Pese a que los cementos de resina son los que mejor tiempo de trabajo nos ofrecen y presentan mejor fluidez, su citotoxicidad sigue preocupando a muchos profesionales. Es aquí donde cobran fuerza estos cementos de silicato gracias a su biocompatibilidad y bioactividad.

Las propiedades de éstos derivan de su composición y reacción de fraguado. Al finalizar ésta, queda formada una unión química entre el cemento y las paredes de dentina. Esto se debe a que el gel de silicato de calcio hidratado interacciona con el grupo hidroxilo de la HA, uniéndose químicamente. De la misma forma, la HA resultante de la reacción de fraguado precipita en continuidad a los cristales de HA de la dentina. Además, la liberación de iones calcio e HA al periápice tiene como resultado la formación de una

matriz sobre la que se formará nuevo hueso, e induce la proliferación y diferenciación de células óseas, otorgándole una excelente histocompatibilidad y bioactividad<sup>22,23</sup>.

Debido también a su composición a base de hidróxido de calcio, el pH durante su fraguado es altamente alcalino, lo cual le confiere propiedades antibacterianas muy potentes.

Por supuesto, al contrario que otros cementos, los materiales biocerámicos son hidrofílicos, de modo que no sólo toleran la presencia de agua, sino que la necesitan para iniciar y completar su endurecimiento.

Gracias a sus nanopartículas la capacidad de fluir de estos cementos es comparable a la de los cementos basados en resinas, por lo que su manipulación e introducción en los conductos radiculares es sencilla y permite la introducción de éste en conductos laterales y túbulos dentinarios<sup>24</sup>.

A continuación, se describen con detalle las propiedades de los cementos de silicato, tanto las biológicas como las físico-químicas.

### 2.3.3.1 PROPIEDADES BIOLÓGICAS

#### 2.3.3.1.1 BIOCOMPATIBILIDAD

Los materiales usados en endodoncia y en odontología conservadora se colocan muchas veces en íntimo contacto con la pulpa dental o el periodonto; es por esto que se buscan materiales que no sean tóxicos con el organismo.

Existen diferentes formas de evaluar la biocompatibilidad de un material, bien con estudios *in vivo* o *in vitro*. Los estudios *in vitro* con cultivos de células de la pulpa dental humana (hDPC) son ampliamente utilizados ya que representan una población de células diferenciadas e indiferenciadas con un gran potencial para el tejido pulpar y dentinario.

Los estudios más actuales verifican la biocompatibilidad de estos cementos hacia las hDCP y una citotoxicidad baja tras 24h de fraguado <sup>25-28</sup>.

Debido al íntimo contacto que tienen estos materiales con el tejido periodontal, otra población celular muy empleada para valorar su citotoxicidad es la de células madres derivadas del ligamento periodontal humano (hPDLSC) <sup>29-32</sup>. Estas células tienen potencial para diferenciarse tanto en cementoblastos como en células formadoras de colágeno. Por la misma razón, también se han empleado células osteoblásticas, fibroblásticas o gingivales <sup>33</sup>.

La compatibilidad biológica de estos cementos con las poblaciones celulares perirradiculares ha resultado tolerable durante las primeras 24 horas <sup>29,34-37</sup>, alcanzando su máxima expresión a las 48 horas y manteniéndose en el tiempo tras 7 días de cultivo <sup>33</sup>.

Estos hallazgos coinciden con otros autores que afirman que los cementos frescos son más citotóxicos y que esta citotoxicidad va disminuyendo según van fraguando <sup>38-41</sup>. Baraba *et al.* atribuyen este suceso a la liberación de iones calcio durante el proceso de fraguado, el cual puede durar de 16 a 24 horas; la liberación de estas partículas conlleva un aumento de pH que produce daño a nivel de la membrana celular y del ADN, así como una desnaturalización proteica. Estos procesos le otorgan un poder bactericida al cemento, pero también dañan las células del huésped <sup>36</sup>. Sin embargo, otros autores no encontraron diferencias significativas entre el cemento fresco y el fraguado, presentando en ambos casos un porcentaje de viabilidad celular alto <sup>26,42,43</sup>.

Los nuevos estudios centrados en la citotoxicidad de los materiales de obturación presentan un modelo que, pese a ser *in vitro*, simula mucho más la situación clínica que los que hasta ahora se han llevado a cabo con contacto directo. Estos proponen un modelo de estudio tridimensional que asemeja el contacto que tendría el material con los tejidos perirradiculares. Los resultados obtenidos recalcan una menor citotoxicidad de los cementos biocerámicos que en estudios previos, debido, según los autores, a que el fluido tisular reduce la concentración tóxica del material <sup>44,45</sup>.



Otro factor a tener en cuenta a la hora de hablar de citotoxicidad es la capacidad de estos cementos de inducir la producción de citoquinas; éstas, liberadas por los osteoblastos, crean un ambiente inflamatorio y estimulan la reabsorción ósea. Ciasca *et al.* obtuvieron altos niveles de producción en las primeras 24 horas, los cuales fueron disminuyendo durante las siguientes 48 horas<sup>46</sup>. Sin embargo, recientemente se ha visto que disminuyen la producción de interleucina 6 y aumentan la producción de factor de crecimiento  $\beta 1$ , por lo que con ello se disminuye el proceso inflamatorio y se estimula la regeneración tisular<sup>32</sup>.

En comparación con otros cementos, los materiales biocerámicos han demostrado una menor citotoxicidad que los cementos de resina, tanto frescos como fraguados<sup>26,38,42,43</sup>, y una biocompatibilidad similar a la del MTA<sup>27,41,43,47,48</sup>.

Collado-Gonzalez *et al.* y Benezra *et al.* sugieren que, pese a que la gran mayoría de los autores confirman una buena biocompatibilidad de estos cementos biocerámicos, no todos ellos inducen el mismo grado de tolerancia celular, por lo que plantean que esta disparidad puede residir en los diferentes agentes de relleno que se emplean en unos y otros<sup>30,49</sup>.

De la misma forma, hay autores que coinciden en que los niveles de citotoxicidad son dependientes no sólo del tiempo de exposición al material testado sino también de la concentración de éste<sup>33</sup> aunque en otros estudios no se encontraron diferencias estadísticamente significativas<sup>22,50,51</sup>.

#### 2.3.3.1.2 ESTIMULACIÓN DE LA BIOMINERALIZACIÓN

Los materiales endodónticos actuales no buscan sólo tener un sellado bueno y estable que prevenga la reinfeción, sino ir más allá y promover la biomineralización, sobre todo en aquellos destinados a recubrimientos pulpaes,

reparación de perforaciones y obturación a retro <sup>11</sup>.

La incorporación de calcio, así como de sílice a estos materiales parece ser la base de la bioactividad de estos cementos. Se sabe que el sílice induce la remineralización de la dentina mineralizada *in vitro* y aumenta la tasa de formación de hueso *in vivo* <sup>52</sup>. El calcio por su parte produce un pH alcalino que contribuye a la formación de tejido duro mediante la activación de la fosfatasa alcalina <sup>39</sup>; además, enlaza iones activos y desencadena la nucleación de precursores de la apatita en la superficie del material <sup>53</sup>.

Por su parte, se ha comprobado que los cementos biocerámicos estimulan la expresión de genes relacionados con la mineralización, como son la osteocalcina, la sialoproteína o la osteopontina, en células osteoblásticas <sup>54,55</sup>.

Una de las técnicas más empleadas para valorar la biomineralización es la tinción con rojo de Alizarina. Se ha verificado el depósito de nódulos mineralizados tras 14 <sup>56</sup> y 21 días <sup>57</sup> de cultivo.

Costa *et al.* estudiaron la regeneración de defectos óseos obteniendo un relleno completo del defecto a los 14 días. Esta respuesta sin embargo es dosis dependiente, ya que en concentraciones mayores la mineralización no superaba el 40% del defecto <sup>58</sup>. Zaki *et al.*, por su parte, analizaron la formación de hueso pasados 2 y 3 meses en lesiones periapicales provocadas, sin embargo, pasado este tiempo sólo obtuvieron una regeneración casi completa en el 40% de los casos <sup>59</sup>. Por el contrario, Chen *et al.* sí que obtuvieron curación completa en el 92% de los casos pasados 7 meses <sup>60</sup>.

### 2.3.3.1.3 INDUCCIÓN A LA DIFERENCIACIÓN CELULAR

El principal objetivo de usar estos materiales en situaciones de reparación o en procesos de curación es inducir una respuesta celular por parte del organismo.

Una de las poblaciones celulares más empleadas en estas líneas de investigación suele ser células madres, bien derivadas de la médula ósea o de la papila dental, ya que presentan el potencial necesario para diferenciarse en células remodeladoras de hueso o tejido dental<sup>27,61-65</sup>. También son empleadas las células humanas osteoblásticas o fibroblastos gingivales<sup>22,25,41,57,66</sup>.

Estas poblaciones pasan por tres estadios diferentes desde su etapa indiferenciada hasta convertirse en células diferenciadas. La primera etapa tiene lugar durante los 4 primeros días donde se observa un aumento en la proliferación celular. En la segunda, que va del día 5 al 14, se observa un aumento en la expresión de la enzima fosfatasa alcalina (ALP). Por último, del día 14 al 28, aparece un aumento en la expresión genética de diversas proteínas óseas, como son la osteonectina y la osteocalcina, así como la mineralización de calcio-fosfato<sup>63</sup>.

Wongwatanasanti *et al.* verificaron un aumento de proliferación celular, resultando ésta buena a partir del tercer día, aumentando hasta el día 14 y diferenciándose en células odontoblásticas tras 21 días de cultivo<sup>63</sup>. Machado *et al.* por su parte encontraron un aumento hasta el día 4 y tras esto un descenso hasta el día 7. Los autores atribuyen esta detención en el crecimiento a que las células están ya comenzando a diferenciarse y por tanto su crecimiento se detiene<sup>67</sup>.

Muchos autores utilizan la expresión de la enzima ALP como marcador de la diferenciación celular. Esta enzima es un marcador de la conversión de las células mesenquimales en osteoblastos. Se han encontrado altos niveles de expresión de la ALP para los cementos testados tras 3<sup>28</sup>, 7<sup>25,57,64</sup>, 14<sup>27</sup> y 21 días de cultivo<sup>58,61,68</sup>.

Por otro lado, también se ha verificado la capacidad de estos cementos para la activación y polarización de macrófagos M1/M2. Esta población está involucrada en la respuesta inflamatoria, eliminación de patógenos y curación de la lesión <sup>69</sup>.

Chen *et al.* estudiaron la influencia de la porosidad de este tipo de cementos en relación con la diferenciación celular, concluyendo que la superficie irregular de estos favorece el anclaje y permite una mayor interacción de las prolongaciones celulares con el material <sup>62</sup>.

Sin embargo, y cómo ha sucedido en otras propiedades, el grado de inducción a la diferenciación celular es diferente según la marca comercial del cemento, por lo que se deduce que no sólo afecta la composición predominante del cemento, sino que tienen mucha influencia los materiales de relleno propios de cada marca <sup>61,68</sup>.

Otro punto a tener en cuenta es la variación de la respuesta celular en función de la dosis y del tiempo aplicados. Costa *et al.* y Lee *et al.* verificaron que a mayor concentración del cemento peores son los niveles de proliferación y diferenciación. Es de suponer que, en un medio *in vivo*, la concentración del material se vaya diluyendo por el efecto de aclarado que tiene el fluido tisular, por lo que con el paso del tiempo esta concentración disminuye y la respuesta celular mejora <sup>28,58,70</sup>.

#### 2.3.3.1.4 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA

El tratamiento endodóntico trata de reducir al máximo el número de microorganismos del sistema de conductos de modo que se alcancen niveles compatibles con la curación de los tejidos periapicales.

Al no eliminar por completo las bacterias presentes en el sistema radicular (debido a la imposibilidad de alcanzar la totalidad de los túbulos dentinarios,

conductos accesorios o istmos) surge la necesidad de encontrar un material con propiedades antibacterianas que continúe con esa función tras haber terminado el tratamiento y nos ayude a disminuir o prevenir el crecimiento de microorganismos.

Es cierto que los microorganismos que podemos encontrar en un diente con fracaso endodóntico varían de aquellos que suelen estar presentes en infecciones de dientes sin tratar. El *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) es una de las bacterias más estudiadas ya que se encuentra en más de un tercio de los retratamientos endodónticos, aunque también se pueden encontrar otras especies bacterianas y fúngicas.

Se han planteado diferentes formas de estudiar la eficacia antibacteriana y antifúngica. Las técnicas clásicas, como el test de difusión de agar o el test de contacto directo, han sido ampliamente utilizadas para verificar el efecto bactericida.

El efecto antibacteriano de estos nuevos cementos se ha equiparado al de su predecesor, el MTA <sup>71-73</sup>; además, se ha visto que, en comparación con otro tipo de cementos (basados en resina y eugenol), son los que obtienen mayores niveles antibacterianos contra el *E. Faecalis* <sup>74,75</sup> así como otro tipo de bacterias involucradas en infecciones endodónticas primarias y secundarias <sup>71</sup> y mayores niveles bactericidas durante los 3 primeros días, manteniéndose hasta el séptimo <sup>57,72,75,76</sup>.

Por otro lado, Kapralos *et al.* analizaron su efecto antibacteriano ante un patrón de *biofilm* monoespecie, concluyendo que el efecto bactericida ante este tipo de ecosistema es efectivo; no obstante, se necesitan estudios que evalúen el efecto de éstos ante *biofilms* multiespecie <sup>77</sup>.

Estas técnicas de laboratorio presentan limitaciones a la hora de extrapolar los resultados obtenidos a la clínica ya que no tienen en cuenta factores como la reacción de fraguado, la microanatomía dentinaria o la interacción química con la dentina y con el *biofilm* <sup>78</sup>.

Los nuevos modelos de estudio atribuyen una parte de la supervivencia de las bacterias a su invasión en los túbulos dentinarios y formación de *biofilms*. La técnica de dentina infectada propone un modelo mucho más fiel a la realidad clínica en el que se estudia el efecto bactericida de los productos una vez se han infectado los túbulos dentinarios.

Wang *et al.* siguieron este método de estudio contra el *E. faecalis* y verificaron que estos cementos no solo presentan un poder bactericida en las primeras horas, sino que éste se mantiene en el tiempo <sup>79</sup>. Estos resultados coinciden con los de otros autores que verificaron la eficacia bactericida de estos cementos frente al *E. faecalis* tras 7 <sup>75</sup>, 14 <sup>80</sup> y 30 días de contacto <sup>81</sup>.

Los autores atribuyen este efecto prolongado no únicamente a la difusión continua de hidróxido de calcio sino a la interacción del cemento con la propia dentina. Durante la reacción de fraguado, al producir silicato e hidróxido de calcio, el pH del medio se ve aumentado; de esta manera el silicato disuelto en presencia de un pH tan básico inhibe directamente la proliferación celular <sup>78</sup>.

Zhang *et al.* siguieron esta línea de investigación estudiando el efecto entre la interacción de cemento y dentina en el poder antibacteriano de éstos. Los resultados evidenciaron que la dentina actúa como tampón frente al calcio liberado por el cemento, bajando su pH hasta 8; sin embargo, los niveles bactericidas fueron mayores cuando el cemento interactuaba con la dentina, por lo que el efecto antibacteriano de esos cementos no se debe sólo al pH que logran alcanzar, sino también a otros factores como apuntaron Wang *et al.* <sup>79,82</sup>.

Shin *et al.* por su parte evidenciaron diferentes niveles de poder bactericida entre cementos de silicato. Los autores atribuyen este efecto a los distintos tipos y niveles de componentes óxidos que presentan los cementos. Estos compuestos dañan la membrana celular de bacterias Gram positivas y negativas, aumentando de forma notable el poder bactericida del cemento <sup>83</sup>.

Además, la combinación del poder antibacteriano de estos cementos junto con la desinfección previa con irrigantes, como el hipoclorito de sodio (NaOCl), potencia el efecto antibacteriano de ambos frente al *E. faecalis* no sólo en intensidad sino también en el tiempo <sup>84</sup>.

El efecto antifúngico de estos cementos ha sido testado frente a la *Candida Albicans* (*C. Albicans*). Se ha observado una inhibición del crecimiento pasadas las 24 horas desde su completo fraguado. Este resultado puede ser debido a que la *C. Albicans*, a pesar de que se desarrolla mejor en un medio ácido, es más resistente a ambientes alcalinos que otros microorganismos<sup>85,86</sup>; sin embargo, Zordan-Bronzel *et al.* sí que observaron una eliminación completa de la *C. Albicans*<sup>57</sup>.

Estos resultados en el efecto antifúngico pueden ser debidos a que éste no va ligado únicamente a la liberación de iones calcio provocada por la reacción de fraguado sino a otros componentes del cemento como el óxido de tantalio, usado como radioopacificante<sup>85</sup>.

### 2.3.3.2 PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

#### 2.3.3.2.1 TIEMPO DE FRAGUADO

El tiempo de fraguado en un material es el tiempo que tarda en pasar del estado fluido inicial al estado de dureza. Éste se mide evaluando la ausencia de indentación de una aguja Gillmore en el cemento.

Los tiempos de fraguado que se han obtenido para estos materiales son de 270 a 581 minutos<sup>53,87-90</sup>, superiores a los especificados por los fabricantes (<240 minutos).

Hay que tener en cuenta que, en el caso de los materiales biocerámicos, la presencia o ausencia de humedad influye en este tiempo ya que para que se complete la reacción de fraguado cierto grado de humedad es necesario. Xuereb *et al.* verificaron que la humedad presente en los túbulos dentinarios es suficiente para permitir el completo fraguado del cemento y que, en un ambiente completamente seco (0% de humedad), no se alcanzaba un fraguado total ni parcial<sup>91</sup>.

Sin embargo, Üstün *et al.* advierten que un exceso de humedad puede afectar de igual manera negativamente a la reacción de fraguado y, en

consecuencia, disminuir la fuerza de adhesión a las paredes dentinarias<sup>92</sup>. Además, Charland *et al.* estudiaron su comportamiento en presencia de sangre y no observaron un fraguado completo del cemento en las 48h que duró el ensayo<sup>93</sup>.

El calor es otro de los factores que modifica el tiempo de fraguado. Se ha estudiado cómo afecta el aumento de temperatura (asociado a técnicas de obturación con calor) y se ha visto que los tiempos de fraguado se reducen de forma significativa. Los autores asumen que el aumento de la temperatura debe acelerar la reacción de hidratación y formación de HA<sup>94</sup> ya que no existe modificación en la composición del cemento al calentarlo<sup>95</sup>.

#### 2.3.3.2.2 POROSIDAD

La resistencia mecánica de un material biocerámico viene condicionada en mayor medida por su porosidad, y ésta a su vez está condicionada por la humedad presente durante su fraguado. Un exceso de humedad en el conducto puede resultar en una disminución de la fuerza de adhesión a las paredes de éste<sup>92,96</sup>.

Otro factor que influye en la porosidad es la técnica de obturación, ya que unas más que otras favorecen el atrapamiento de burbujas de aire o dejan rincones sin obturar<sup>97,98</sup>. Las técnicas termoplásticas, como la onda continua y la obturación con vástago, presentan significativamente menos burbujas que las técnicas en frío, como la condensación lateral o la técnica de cono único, sobre todo en los tercios medio y coronal<sup>99</sup>.

Pese a que la porosidad sea vista como una propiedad indeseable para un material, ésta favorece el anclaje celular durante los procesos de diferenciación, aumentando la proliferación<sup>62</sup>.

Además, Sibona *et al.* visualizaron, gracias a la liberación de iones de calcio y fosfato, la formación de una capa superficial de fosfato cálcico capaz de rellenar las irregularidades superficiales<sup>53</sup>.



### 2.3.3.2.3 RESISTENCIA MECÁNICA

La resistencia de un material se establece mediante diferentes factores; su fuerza a la compresión, a la flexión, a la dislocación y mediante su dureza.

La microdureza y resistencia a la fuerza de compresión de los cementos biocerámicos es menor que la de cementos de otra naturaleza, sin embargo, ésta aumenta con el paso del tiempo. Los autores atribuyen este efecto a una continua hidratación y cristalización de la superficie del material <sup>100</sup>.

La adhesión entre un cemento y las paredes dentinarias favorece la resistencia a la dislocación de manera que mantiene la integridad de la obturación. Esta cualidad es importante sobre todo en los materiales reparadores, ya que deben resistir la funcionalidad del diente o la aplicación de otros materiales encima, pero también en los selladores que han de resistir la flexión del diente o la preparación radicular para postes <sup>101</sup>. En ambos casos el test de *push-out* suele ser el más común para evaluarlo. A día de hoy se considera que los cementos biocerámicos presentan una resistencia a la dislocación igual o mayor que los cementos basados en resinas <sup>101-107</sup> aunque hay autores que han obtenido mejores resultados con estos últimos <sup>108-111</sup>.

En cuanto a los cementos reparadores, los nuevos materiales biocerámicos han desbancado al MTA demostrando una fuerza de adhesión superior <sup>106,112,113</sup> y un aumento en la resistencia a la fractura radicular <sup>114,115</sup>.

Otro factor a tener en cuenta en la resistencia mecánica de los cementos en el diente es la penetración de éstos en los túbulos dentinarios ya que se aumenta de esta forma la retención mecánica del material. Es por esto que muchos autores consideran necesario el uso de quelantes antes de la obturación radicular para eliminar el barrillo dentinario y favorecer la entrada del cemento en éstos <sup>108,116,117</sup>. Por el contrario, otros autores han estudiado su efecto concluyendo que la presencia de barrillo dentinario no influye en la fuerza de adhesión de éstos <sup>118,119</sup>

o que incluso se ve aumentada. Los autores atribuyen este efecto al hecho de que el barrillo pueda tener un papel activo en la interacción entre el cemento y la dentina radicular <sup>120</sup>.

Por otro lado, no está clara la forma en la que afectan los restos de hidróxido de calcio que pueden quedar remanentes en el conducto a la fuerza de adhesión de los cementos de silicato, ya que Wanees Amin *et al.* establecieron que favorecía la adhesión a las paredes dentinarias <sup>121</sup> mientras que Ghabraei *et al.*, posteriormente, vieron que esta fuerza se veía gravemente comprometida <sup>122</sup>.

La estructura de estos cementos también se ve alterada según el grado de humedad con el que fraguan. A pesar de que la humedad intrarradicular necesaria para un correcto fraguado no está estandarizada, la presencia de cierta humedad aumenta la fuerza de adhesión a las paredes dentinarias <sup>103,123</sup>. Sin embargo, deben evitarse ambientes extremos muy húmedos, ya que aumenta la porosidad y disminuye la microdureza del material <sup>124</sup>, o muy secos, ya que aparecen grietas y existen menos estructuras cristalinas en su interior, presentando una menor adaptación a las paredes dentinarias <sup>125</sup>.

A pesar de esto, Shokouhinejad *et al.*, pese a registrar una fuerza de adhesión más baja en conductos deshidratados a los 7 días, comprobaron que ésta aumentó tras 2 meses, de forma que no hubo diferencias significativas con los conductos que permanecieron húmedos en el momento de la obturación. Los autores justifican este hecho debido al uso de solución tampón fosfato para el almacenaje de las muestras, la cual facilitó la incorporación, con el tiempo, de iones fosfato que reaccionaron con los iones calcio e hidroxilo <sup>126</sup>. Posteriormente, Khurana *et al.*, no observaron diferencias significativas entre conductos secos y deshidratados. Los autores atribuyen estos resultados a una mayor penetración del cemento sellador en los túbulos dentinarios cuando la dentina está deshidratada ya que el agua residual no actúa como barrera ante la entrada de este <sup>127</sup>.

La técnica de obturación empleada también es un factor a tener en cuenta a la hora de evaluar la resistencia mecánica de estos materiales. El uso de técnicas

de obturación con calor modifica las propiedades de estos cementos, aumentando su densidad y acelerando la reacción de fraguado, lo cual provoca una disminución en la fuerza de adhesión. Es por eso que su uso se debe restringir a técnicas en frío<sup>98,110</sup>.

Por otro lado, empleando técnicas como la técnica de cono único o la condensación lateral (técnicas de obturación en frío), se consiguen valores de resistencia a la dislocación similares a los obtenidos con cementos de resina<sup>98,107,128</sup>.

Otro factor que afecta a las propiedades físicas de estos cementos es el pH del medio donde fraguan ya que se ha visto que los medios ácidos disminuyen la fuerza de adhesión de éstos. Los autores atribuyen estos cambios a una alteración en la reacción de hidratación y formación de HA, resultando en un aumento de la porosidad y disminución de estructuras cristalinas<sup>129,130</sup>. A pesar de esto, los cementos biocerámicos resisten mejor el ataque ácido que el MTA<sup>131</sup>.

Por otra parte, se ha estudiado la influencia de estos cementos en la resistencia a la fractura radicular. Por un lado, se ha visto que los cementos basados en silicatos provocan a largo plazo una degradación de la matriz de colágeno dentinaria, pudiendo debilitar su estructura<sup>132</sup>. Sin embargo, se ha visto *a posteriori* que no existen diferencias significativas entre cementos de diferente naturaleza<sup>133-136</sup>. De hecho, varios autores coinciden en que los cementos biocerámicos sí que refuerzan la dentina radicular más que otros. Los autores atribuyen esta mejora en la resistencia a la fractura a la unión química entre el cemento y la dentina radicular, así como a la mayor penetración tubular de estos cementos gracias a sus nanopartículas<sup>137,138</sup>.

También se ha estudiado el efecto monobloque que tiene los conos de gutapercha con recubrimiento cerámico junto con el cemento biocerámico; se ha visto que su uso conjunto sí que aumenta la resistencia a la fractura de la dentina radicular<sup>139</sup>.

#### 2.3.3.2.4 pH ALCALINO Y LIBERACIÓN DE IONES CALCIO

El pH que produce un material en el medio es una propiedad importante ya que muchas de sus otras propiedades, tanto biológicas como físico-químicas, van a derivar de ello.

Para la medición del pH se rellenan unos tubos con el material deseado y se introducen en agua desionizada, procediéndose a la medición del pH a las 3, 24, 72, 168 y 240 horas.

El pH alcanzado en los cementos de silicato durante los días siguientes a la colocación del material es de 9 hasta 12<sup>88,140,141</sup>, siendo este entorno alcalino favorable para la eliminación del *E. Faecalis* ya que no sobrevive en estos ambientes<sup>142</sup>.

Se ha visto que la liberación de iones calcio, responsable de esos cambios de pH, disminuye según el proceso de fraguado se completa ya que está asociada directamente con las reacciones de fraguado<sup>39,143</sup>. De la misma forma, el pH inicial es muy alcalino y va disminuyendo según finaliza la reacción de fraguado<sup>144</sup>.

Sin embargo, a pesar de haber concluido el fraguado del cemento, se ha observado depósitos de calcio, sílice y fosfato en la superficie de éste y de la dentina radicular a la semana y tras 2<sup>145</sup>, 3<sup>143</sup> y 6 meses<sup>87</sup>.

Por otro lado, Candeiro *et al.* obtuvieron los máximos niveles de liberación de iones y de pH alcalino localizados entre las 160 y 240 horas, cuando la reacción de fraguado ya ha concluido<sup>142</sup>. De hecho, se ha visto que la diferencia entre el pH cuando el cemento está fresco a cuando está fraguado no es significativa<sup>146</sup>.

En sintonía con estos resultados otros autores detectaron intercambio de iones de fosfato cálcico con el medio y un aumento del pH hasta pasados 28 días después del completo fraguado del cemento; los autores atribuyen este suceso a la hidrofilia de estos materiales la cual hace que, incluso fraguados, continúen hidratándose y, por tanto, liberando iones<sup>39,53,147,148</sup>.

Se ha estudiado también la variación de pH en la superficie radicular por la difusión de iones calcio a través de la dentina, llegando a mantenerse un pH básico hasta pasadas las 4 semanas<sup>149</sup>.

#### 2.3.3.2.5 SOLUBILIDAD

La solubilidad es una cualidad no deseada tanto en cementos reparadores como selladores ya que la estabilidad del material asegura la ausencia de filtraciones desde el exterior al interior y viceversa.

El estudio de la solubilidad de estos cementos de silicato presenta un problema, subrayado por muchos autores, ya que hay una ausencia de estandarización internacional y de metodología específica para testar materiales hidrofílicos (normativa ISO) <sup>53,141</sup>.

Los autores que han estudiado esta propiedad obtuvieron una solubilidad superior a la requerida por los estándares ISO (>3%), hecho que atribuyen a la hidrofilia de estos materiales. El proceso de hidratación continúa una vez finalizado el fraguado, provocando la liberación al medio de iones de fosfato cálcico hasta los 28 días. Pasados los 7 días esta liberación disminuye considerablemente <sup>53,140,141,148</sup>. Sin embargo, Prullage *et al.* apuntan que la solubilidad aparente de estos cementos en agua destilada no es reflejo de la estabilidad e integridad estructural *in vivo* ya que se ha visto que, en presencia de proteínas séricas, esta es mucho menor <sup>89</sup>.

A pesar de todo, no se han observado cambios dimensionales significativos <sup>88,141</sup>, de lo que se deduce que la estabilidad de estos cementos no depende exclusivamente de su solubilidad, ya que ésta disminuye desde el día 14 <sup>89</sup>. Parte de la pérdida del material se ve compensada con una ligera expansión <sup>100</sup> producida por la absorción de agua <sup>39,90,150</sup> y por el depósito de apatita en la superficie del cemento <sup>53,106</sup>.

Hay que tener en cuenta, sin embargo, que la base de todas las propiedades bioactivas y antimicrobianas de estos materiales se asientan en la liberación de iones hidroxilo y calcio al medio y, por tanto, en la inherente solubilidad del cemento <sup>89</sup>.

Por otro lado, una vez fraguado, se ha estudiado el efecto de los solventes

que disponemos hoy en día para el retratamiento de los conductos obturados con cementos biocerámicos. Oltra *et al.* examinaron de qué manera afectaba el cloroformo a este tipo de cementos y concluyeron que, a pesar de que el uso de este solvente aumenta la efectividad de su retirada y favorece alcanzar la permeabilidad apical, es necesario investigar el desarrollo de otro solvente que tenga más efecto en este tipo de cementos <sup>151</sup>. Debido a esto, la mayoría de autores estudian la capacidad de retratamiento únicamente con el uso de limas, concluyendo que, a pesar de que la longitud de trabajo es alcanzada, existen los mismos restos de material en las paredes dentinarias o incluso más que con otros cementos <sup>152</sup>.

#### 2.3.3.2.6 RADIOOPACIDAD

La radioopacidad es una propiedad indispensable ya que permite la visualización radiográfica del material para verificar la calidad de la obturación. La medición de la radioopacidad se realiza de acuerdo a la normativa ISO 6876/2001; como material control en los test emplea el aluminio, siendo el estándar internacional para considerar un material como radioopaco que tenga una radioopacidad mínima en 1 mm equivalente a una lámina de aluminio de 3 mm de espesor.

Al contrario que su predecesor, el MTA, estos cementos no contienen óxido de bismuto como radioopacificante, sino que llevan incorporado óxido de circonio o de tantalio. Estas partículas aportan al cemento una radioopacidad adecuada, variando entre 3'83 y 10'8 mm según la marca comercial <sup>39,53,57,89-91,147</sup>.

Los métodos usados tradicionalmente para su medición son los establecidos por la normativa ANSI/ADA; sin embargo, se han propuesto nuevos métodos que no sólo simplifican el proceso, sino que además lo aproximan más a condiciones clínicas. Malka *et al.* proponen analizar la radioopacidad de los materiales en un entorno simulado, introduciendo el cemento sellador en el conducto y analizándolo

a través de la dentina, hueso y tejidos blandos. De esta forma, y comparándolo con el método tradicional, muchos materiales que no alcanzarían el mínimo para ser considerados radioopacos sí que cumplirían con la normativa, por lo que no habría que añadir más radioopacificante evitando así alterar más su composición <sup>153</sup>.

#### 2.3.3.2.7 FLUIDEZ

La fluidez es la habilidad de un material para penetrar en túbulos dentinarios, conductos accesorios e irregularidades del sistema de conductos. Para su medición se siguen las especificaciones establecidas por la norma ISO 6876/2001 que establece que la fluidez mínima en un cemento sellador debe ser de 20 mm. Ésta ha sido ampliamente estudiada en comparación con la de los cementos de resina y está directamente relacionada con el tamaño de la partícula.

Los cementos selladores deben presentar una fluidez adecuada para rellenar el espacio entre el material de obturación y las paredes dentinarias. Los estudios hasta hoy realizados establecen que la fluidez del cemento biocerámico es similar o incluso mejor que la del cemento de resina <sup>39,141</sup>.

Kim *et al.* sin embargo, a pesar de que no encontraron diferencias en cuanto al área de penetración entre ambos cementos, sí que las hallaron en la profundidad que alcanzaban dentro de los túbulos dentinarios, siendo el cemento de resina el que mejores resultados presentaba <sup>154</sup>.

Es por esto que el cemento debe tener la fluidez adecuada para alcanzar todos los recovecos del sistema de conductos. Candeiro *et al.* estudiaron la capacidad de éstos para obturar conductos laterales y no obtuvieron diferencia entre estos y los cementos de resina, sin embargo, hubo mayor penetración en los conductos más anchos <sup>155</sup>.

Otros autores, como Khalil *et al.* y Lee *et al.*, registraron una fluidez ligeramente inferior a la necesaria para un cemento sellador (ISO 6876/2001) <sup>39,147</sup>.

A pesar de que Viapiana *et al.* no observaron cambios químicos en los cementos de silicatos al someterlos a altas temperaturas (por ejemplo, durante técnicas de obturación calientes) <sup>156</sup>, recientemente se ha visto que la fluidez de estos cementos disminuye de forma significativa. Los autores atribuyen este efecto al hecho de que el calor acelere la reacción de fraguado y, por tanto, aumente el espesor de la película, fluyendo menos <sup>94,95</sup>.

#### 2.3.3.2.8 DISCOLORACIÓN

El objetivo del tratamiento endodóntico es el de conseguir la desinfección del sistema de conductos y curación de la lesión periapical, sin embargo, no hay que olvidar que en muchas ocasiones premia el componente estético, sobre todo cuando se tratan dientes en el sector anterior.

Es bien sabido que el MTA produce grandes discoloraciones <sup>18,157</sup>. Con la aparición del MTA blanco se intentó solventar este problema, debido en mayor medida a la cantidad de hierro, magnesio y alúmina en su composición. Sin embargo, la disminución de estos componentes no consiguió eliminar por completo las discoloraciones que este material provocaba <sup>158</sup>.

Con la aparición de los cementos biocerámicos, tanto en su aplicación reparadora como selladora, la preocupación de que provoquen discoloración dental ha llevado a la comparación de éstos con sus predecesores.

La eliminación del óxido de bismuto como radioopacificante en estos cementos y su sustitución por óxido de circonio ha llevado a una mayor estabilidad del color <sup>158-163</sup>.

Vallés *et al.* concluyeron que los cementos con ausencia de óxido de bismuto presentaron mayor estabilidad del color al someterlos a diferentes ambientes de luz y oxígeno que aquellos que sí lo incorporaban en su composición <sup>164</sup>. Estos hallazgos coincidieron más tarde con los de Kang *et al.* y Marconyak Jr. *et al.* en los que se concluyó que aquellos cementos que contenían óxido de circonio no mostraron discoloración <sup>159,160</sup>.



Por el contrario, M. Forghani *et al.* no observaron diferencias significativas entre cementos con óxido de bismuto o sin él, produciendo ambos discoloraciones similares <sup>165</sup>. Estos resultados siguen la línea de los obtenidos por Beatty y Svec que percibieron mayor discoloración en cementos sin óxido de bismuto en su composición que aquellos que sí lo contenían. Los autores catalogan estos resultados de inesperados, en vista de la literatura publicada hasta el momento, y los atribuyen al diseño del estudio <sup>166</sup>.

En vista de lo revisado anteriormente, se puede afirmar que estas discoloraciones no sólo dependen de la composición del material, sino también de otros factores ambientales como la exposición a luz ultravioleta (UV), a fluido orgánico, a sangre, a oxígeno y a su interacción con irrigantes como el NaOCl o incluso con la propia dentina <sup>159,162,167,168</sup>.

Eghbal *et al.* compararon muestras tratadas con MTA blanco y cemento enriquecido con calcio (CEM) sometiéndolas in vitro a diferentes escenarios de exposición de luz UV, oxígeno y solución de tampón fosfato concluyendo que la estabilidad de color de estos CEM era mayor que la del MTA blanco <sup>167</sup>.

Yoldas *et al.* hallaron diferencias en cuando a discoloración entre dos cementos sin óxido de bismuto en su composición. Los autores lo achacan a los distintos tiempos de fraguado de ambos cementos; el cemento con mayor tiempo de fraguado, ligado a la porosidad intrínseca de estos materiales, pudo permitir la incorporación de sangre a su composición, derivándose posteriormente en un cambio de color más acentuado del material <sup>168</sup>.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, se necesitan más estudios para verificar la estabilidad de color de estos nuevos cementos selladores, así como de la afectación que pueden sufrir debido a agentes externos a ellos.

### 2.3.3.2.9 SELLADO

El correcto sellado del sistema de conductos es fundamental para el éxito del tratamiento, ya que de esta manera se aíslan los posibles irritantes de los tejidos periapicales y se evita también la entrada de nutrientes que puedan promover la proliferación bacteriana.

Esta propiedad viene condicionada por dos factores, la adaptación marginal y la penetración tubular.

La adaptación marginal del cemento a las paredes del conducto puede ser medida con diferentes métodos, bien de forma indirecta, visualizando las desadaptaciones con el microscopio electrónico de barrido (MEB) o micro-CT, o con métodos directos, verificando si se produce filtración.

Se ha utilizado mucho el sistema de transporte de fluidos ya que es el único capaz de medir la filtración sin tener que destruir las muestras; además la sensibilidad puede ser modificada aumentando o disminuyendo la presión que se aplica. Con este sistema se ha concluido que el sellado apical de los cementos de silicato es equivalente al de los de resina <sup>150,169,170</sup> y superior a los basados en eugenol <sup>87</sup>.

Por otro lado, hay autores que sostienen que, si el cemento sellador es capaz de prevenir la filtración de partículas tan pequeñas como las de un tinte, también lo será para prevenir la penetración de bacterias. Por este motivo, se ha estudiado la filtración con rodamina B, comprobando que, aunque la adaptación marginal entre estos cementos y el MTA es similar, la filtración apical que proporciona es mejor <sup>171</sup>. Se ha empleado también el azul de metileno como tinte, encontrando que, a pesar de que todos los cementos estudiados presentaban cierto grado de filtración, el biocerámico era el que menos <sup>115,172-174</sup>.

Leal *et al.* estudiaron la filtración que se producía con la glucosa, ya que ésta es un conocido nutriente para las bacterias remanentes en el conducto; a pesar de esta diferencia, los resultados obtenidos fueron los mismos que con los tintes <sup>175</sup>.

En relación con lo anterior, Nair *et al.* y Lertmalapong *et al.* centraron su

estudio en la formación de colonias del *E. faecalis* en el interior del conducto, encontrando que la filtración del cemento cerámico y el MTA era equiparable <sup>176,177</sup>. Sin embargo, Hirschberg *et al.* posteriormente observaron una filtración mucho mayor en los cementos biocerámicos que en el MTA <sup>178</sup>.

La adaptación marginal refleja indirectamente la capacidad de sellado de un material. Es por esto que se emplean métodos como el MEB para la visualización de espacios entre el cemento y la dentina. Con él se ha visto que la adaptación de los cementos biocerámicos es similar a la del MTA <sup>179</sup>.

Otra técnica empleada es la micro-CT, teniendo la ventaja de que la muestra se mantiene intacta durante su estudio, evitando así sesgos en los resultados derivados de la técnica. Con ella se ha visto que la presencia de desadaptaciones es mayor que en los cementos de resina <sup>170</sup>. Este resultado también lo observaron Arikatla *et al.* con microscopía confocal láser (MCL) viendo que, a pesar de que el grosor de la película de cemento era mayor en los cementos de silicato, éstos presentaban mayores defectos de adaptación que los de resina <sup>180</sup>. Sin embargo, Wang *et al.*, empleando la misma técnica, concluyeron que la calidad de la obturación era equiparable entre ambos cementos, independientemente de la técnica de obturación empleada <sup>181</sup>.

Por otro lado, la penetración del cemento en los túbulos dentinarios facilita el aislamiento de las bacterias que han podido penetrar en la dentina radicular. Para su estudio se emplea el MCL, el cual permite la visualización de todo el recorrido que ha realizado el cemento a través de los túbulos dentinarios.

En comparación con los cementos de resina se ha observado una profundidad de penetración máxima similar <sup>182,183</sup>. En general, el porcentaje de conducto radicular con penetración es mayor por encima de los 5mm del ápice, presentando un porcentaje superior al 80% <sup>184</sup>. También se han estudiado de forma aislada, comprobando que la penetración de estos cementos es mayor cuando se combinan con conos de gutapercha de conicidad altas <sup>185</sup>.

## 2.3.4 USOS

### 2.3.4.1 REPARADOR

Al igual que su predecesor, el MTA, el uso que se propuso para estos cementos en un principio fue el de sellar comunicaciones entre el exterior y el interior radicular. Más adelante, gracias a su bioactividad, y en concreto a la estimulación de la diferenciación celular y de la biomineralización, se ha empleado también en terapia pulpar, usándolos para recubrimientos pulpares directos e indirectos<sup>186</sup>.

#### 2.3.4.1.1 Recubrimiento pulpar

La terapia pulpar se ha establecido como una de las aplicaciones clave de estos cementos biocerámicos, usados tanto en situaciones de recubrimientos directos como indirectos. Debido a su elevada biocompatibilidad estos materiales favorecen la diferenciación de células odontoblásticas que ayudan a formar un puente dentinario de modo que se evite la afectación pulpar y se mantenga la vitalidad del diente.

En los casos de recubrimientos indirectos, la liberación de iones calcio y la formación de HA por su reacción de fraguado contribuyen a la remineralización de la superficie dentinaria que queda en contacto con los tejidos pulpares.

#### 2.3.4.1.2 Perforación y resorción radicular

En los casos en los que hay comunicación entre el exterior y el interior de la raíz, bien sea de origen iatrogénico o patológico, los cementos de silicato nos permiten sellar esta vía y además favorecen la curación de la lesión que se haya podido generar gracias a la estimulación de la diferenciación de osteoblastos y a la liberación de iones calcio al medio. Además, su alta resistencia a la dislocación

permite utilizar estos materiales en este tipo de situaciones ya que son capaces de soportar las fuerzas generadas con la obturación coronaria o la masticación.

#### 2.3.4.1.3 Sellado apical

Tanto en los casos de ápices inmaduros como en los de técnicas quirúrgicas endodónticas apicales, el uso de estos cementos de silicato ha resultado satisfactorio. Su manipulación, mucho más sencilla que la del MTA por su consistencia tipo masilla (*putty*), así como su reducido tiempo de fraguado hacen de ellos un material ideal para el sellado apical en estas situaciones. Debido además a que el contacto con los tejidos periapicales es máximo en estos casos, la bioactividad de éstos facilita la desinflamación de los tejidos y favorece la curación de la lesión apical.

#### 2.3.4.2 SELLADOR

La última aplicación que se ha propuesto para este tipo de cementos es como cemento sellador. Esto ha sido posible gracias a la disminución del tamaño de partícula empleada, lo que aumenta la fluidez del cemento permitiendo la entrada de éste en todo el sistema de conductos y los túbulos dentinarios.

La ventaja obtenida de estos cementos a la hora de incorporarlos como selladores reside en poder contar con un material que aporte toda la biocompatibilidad que tienen los cementos de silicato en la obturación radicular. Su poder bactericida, antifúngico y reparador hace de ellos un material atractivo que ofrece muchas ventajas que otros cementos no proporcionan.

### 3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La obturación de los conductos radiculares constituye la última fase del tratamiento de conductos; esta es de gran relevancia ya que se le considera una de las mayores causas de fracaso en endodoncia.

La finalidad de rellenar los conductos radiculares consiste en aislarlos del resto del organismo para poder mantener las condiciones que se han creado en su preparación y limpieza; por tanto, se persigue la obturación tridimensional y hermética de los conductos para prevenir la llegada de productos tóxicos y bacterias al ápice y viceversa.

Para esto se utiliza un material de obturación, que constituye el núcleo de ésta y representa la mayor parte del material que rellena el conducto, y un cemento sellador que sella la interfase entre el material de obturación y las paredes de dentina. Por tanto, es importante entender que, independientemente de la técnica y el material empleado, es el cemento sellador el que garantiza ese estado hermético y estanco que se busca con la obturación.

La incorporación de cementos de silicato como cementos selladores ha abierto un campo de posibilidades en endodoncia, ya que con ellos no se busca sólo sellar el sistema de conductos sino, además, aportar al tratamiento todas las propiedades biológicas que estos presentan.

Con la llegada y la evolución de los cementos biocerámicos la literatura ha dejado claro que las propiedades biológicas de éstos van a aportar una excelente respuesta por parte de los tejidos, así como van a favorecer, una vez terminado el tratamiento, que siga habiendo una desinfección del sistema de conductos <sup>187</sup>. Sin embargo, no debemos olvidar que el primer requisito que se le pide a un cemento sellador es que selle herméticamente el sistema radicular y que existe una relación directa ente la calidad de la obturación y el éxito a largo plazo de nuestro tratamiento <sup>97,99</sup>.

Es por esto, que consideramos que estos nuevos cementos deben ser investigados a fondo para verificar que producen un correcto sellado del sistema de conductos, aportando una buena adaptación marginal a las paredes del conducto radicular y una óptima penetración en los túbulos dentinarios.

## 4. OBJETIVOS

A la luz de la bibliografía revisada sobre nuevos materiales biocerámicos y en vista de la necesidad de profundizar en el estudio de su capacidad de sellado radicular, se plantean los siguientes objetivos.

### 4.1 OBJETIVOS

#### 4.1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la relación entre cuatro cementos endodónticos (uno basado en resina y tres basados en materiales biocerámicos) y la dentina del conducto radicular, así como la unión entre el núcleo de gutapercha (convencional y recubierta de material biocerámico) y los cementos.

#### 4.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Medir la penetración en los túbulos dentinarios de los cuatro cementos endodónticos citados en cada uno de los tercios radiculares, utilizando microscopía confocal láser.
2. Calcular el porcentaje de perímetro radicular con penetración tubular para cada cemento endodóntico y cada tercio radicular mediante microscopía confocal láser.
3. Comparar los datos obtenidos entre los distintos cementos endodónticos y tercios radiculares.
4. Describir la interfase entre los cementos endodónticos estudiados y la pared del conducto radicular con un estereomicroscopio en cada tercio radicular.



5. Estudiar la adaptación de los cementos endodónticos analizados al núcleo de gutapercha (convencional y recubierta de material biocerámico), por tercios radiculares, mediante estereomicroscopía.
6. Comparar los datos obtenidos, después de conseguir los resultados correspondientes a la ejecución de los objetivos 4 y 5, entre los distintos materiales de obturación y los diferentes tercios radiculares.

## 4.2 HIPÓTESIS DE TRABAJO

1. Todos los cementos endodónticos utilizados muestran penetraciones intratubulares sin diferencias significativas entre ellos.
2. La penetración de cada cemento en el interior de los túbulos dentinarios es independiente de su localización en los diferentes tercios radiculares.
3. Los cementos endodónticos estudiados no presentan diferencias de adaptación en la interfase con la dentina radicular ni con los núcleos de gutapercha (convencional o recubierta de material biocerámico).
4. La adaptación de los cementos endodónticos a la dentina radicular y a los núcleos de gutapercha es independiente de los tercios radiculares que se consideren.

# Material y métodos

---



## 1. PROCEDIMIENTO GENERAL

El estudio realizado se trata de un modelo *in vitro* con dientes extraídos unirradiculares en los que se lleva a cabo la conformación y limpieza del conducto y su posterior obturación radicular. Esta se realiza con cuatro cementos diferentes; dos con base de silicato, el EndoSequence® BC Sealer™ (Brasseler USA, Georgia, EE.UU.) y el BioRoot RCS™ (Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francia); uno basado en MTA, el MTA Fillapex (Angelus, Paraná, Brasil); y uno basado en resina, el AH Plus® (Dentsply Sirona, Pensilvania, EE.UU.). Además, se combinan los cementos con dos tipos de gutapercha diferente, conos de gutapercha convencional y conos de gutapercha recubiertos de material biocerámico.

Con la ayuda del microscopio confocal láser (MCL) y el estereomicroscopio (EM), se estudia la penetración del cemento en los túbulos dentinarios, así como la adaptación de los cuatro cementos tanto a las paredes dentinarias como a los conos de gutapercha.

## 2. BÚSQUEDA BIBLIOGRÁFICA

Antes de proceder al desarrollo de la investigación, se llevó a cabo una revisión bibliográfica para hacer una puesta al día en el campo de los materiales biocerámicos, sus orígenes y sus aplicaciones actuales, tanto en el campo médico como en el campo de la odontología, concretamente en su uso como cementos selladores endodónticos.

Se realizó una búsqueda inicial en fuentes secundarias de las cuales se obtuvo la información básica necesaria para iniciar el proceso.

Las bases de datos empleadas para encontrar los documentos primarios necesarios para la investigación fueron MedLine, EMBASE, Cochrane, Scopus, *Web Of Science* y TESEO. A parte, se realizó una búsqueda adicional en los buscadores de las bases de datos propias de revistas debido a su importancia en el tema y a no estar indexadas en las bases

de datos anteriormente mencionadas; así pues, se amplió la búsqueda en las revistas *Biomaterials* y *Microscopy Research Technique*. Se realizó también una búsqueda en racimo partiendo de las referencias bibliográficas de los artículos obtenidos.

Como palabras clave para la búsqueda se utilizaron los términos MeSH: *biomaterials*, *bioceramic*, *history*, *medicine*, *dentistry*, *endodontics*, *silicates*, *ceramics*, “*chemical composition*”, *sealer*, “*single cone*”, *confocal*, “*chelating agents*”, *properties*, *cytotoxicity*, *anti-bacterial*, *porosity*, *hardness*, *pH*, *solubility* y *discoloration*. En adición a éstos se emplearon también los siguientes términos: *coat*, “*stereo microscope*”, *antifungal*, *push-out*, *radiopacity* y *penetration*. Como último recurso se utilizaron los nombres comerciales de los materiales biocerámicos disponibles actualmente.

Estas palabras se combinaron con los operadores booleanos *AND*, *OR* y *NOT* conformando estrategias de búsqueda, obteniendo como resultado un total de 286 artículos, de los cuales se incluyeron 272 siguiendo los siguientes criterios:

- Se incluyeron en la revisión todos aquellos artículos que trataban lo referente a la historia, composición, propiedades y aplicación de los materiales biocerámicos en el campo de la medicina y de la odontología.
- Se excluyeron todos aquellos trabajos que estudiaban específicamente técnicas de implantación de los biomateriales y casos clínicos aislados.
- Como idiomas de búsqueda se excluyeron todos aquellos que no fueran inglés y español. No se hicieron exclusiones en base al año de publicación.

La búsqueda se mantuvo actualizada durante el proceso del estudio experimental hasta el 17 de septiembre de 2019 que se dio por concluido.

### 3. MUESTRA

#### 3.1 TIPO DE DIENTE

Se seleccionaron dientes anteriores y premolares, maxilares y mandibulares.

#### 3.2 CARACTERÍSTICAS DEL DIENTE

Los criterios según los cuales se seleccionaron los especímenes fueron los siguientes:

- Dientes humanos exodonciados unirradiculares maxilares o mandibulares con raíces rectas o con curvaturas leves ( $<5^\circ$ )<sup>188</sup>.
- Criterios de inclusión: Dientes con una configuración del conducto de tipo I de Weine<sup>189</sup> verificada radiográficamente en sentido mesio-distal y vestíbulo-lingual
- Criterios de exclusión: Dientes con resorciones radiculares, caries (coronales o radiculares), ápices inmaduros, fractura, tratamientos de conductos previos o curvaturas mayores de  $5^\circ$ .

#### 3.3 TAMAÑO DE LA MUESTRA

La muestra seleccionada fue de 80 dientes (N=80).

### 3.4 PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

Los dientes fueron seleccionados, según los criterios ya mencionados, de manera consecutiva a partir de un banco de dientes.

Los dientes fueron cedidos por pacientes que, previamente a su extracción, fueron informados del propósito del estudio y firmaron un consentimiento informado (Anexo 1).

### 3.5 INFORME DEL COMITÉ DE ÉTICA

Debido al uso de muestras biológicas de origen humano se solicitó el correspondiente informe al Comité de Ética de la *Universitat de València*, el cual aprobó el procedimiento (Nº registro H1460624886119, Anexo 2).

### 3.6 ASIGNACIÓN A GRUPOS

La distribución de los dientes a los distintos grupos se hizo de forma aleatoria, resultando 8 grupos ( $n_i=10$ ), a los cuales se les asignó diferentes materiales de obturación para su comparación, como se describirá más adelante.

Durante el periodo de almacenamiento, previo y tras su instrumentación y obturación, los dientes se mantuvieron en un ambiente de humedad del 100%.

## 4. MATERIALES

### 4.1 MATERIALES DE OBTURACIÓN

Los materiales de obturación empleados en el estudio fueron los que se mencionan a continuación (Imágenes 2-5). En la tabla 3 se muestra la composición química de éstos.

- a. Gutapercha convencional (GC)  
Conos de gutapercha 30/.04  
(Ref. 0860004030RE, Lot. GE13121713. FKG Dentaire S.A., La Chaux-de-Fonds, Suiza).
- b. Gutapercha recubierta de material biocerámico (GR)  
TotalFill® BC Points™ 30/.04  
(Ref. 0865004030RE, Lot. 4171H. FKG Dentaire S.A., La Chaux-de-Fonds, Suiza).
- c. Cemento de resina  
AH Plus®  
(Ref. 606.20.110, Lot. 1407000884. Dentsply Sirona, Pensilvania, EE.UU.).
- d. Cemento basado en MTA  
MTA Fillapex  
(Ref. 827, Lot. 33558. Angelus, Paraná, Brasil).
- e. Cemento biocerámico (premezclado)  
EndoSequence® BC Sealer™  
(Ref. 5017560EU, Lot. 12002SP. Brasseler USA, Georgia, EE.UU.).
- f. Cemento biocerámico (polvo y líquido)  
BioRoot™ RCS  
(Ref. 9015Y, Lot. B20657. Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, Francia).



(a)



(b)



(c)



(d)



Imagen 2. Fotografía de los cementos empleados en el estudio: AH Plus® (a), MTA Fillapex (b), EndoSequence® BC Sealer™ (c) y BioRoot™ RCS (d).

(a)



(b)



Imagen 3. Fotografía de los conos de gutapercha convencional (a) y recubierta de material biocerámico (b).

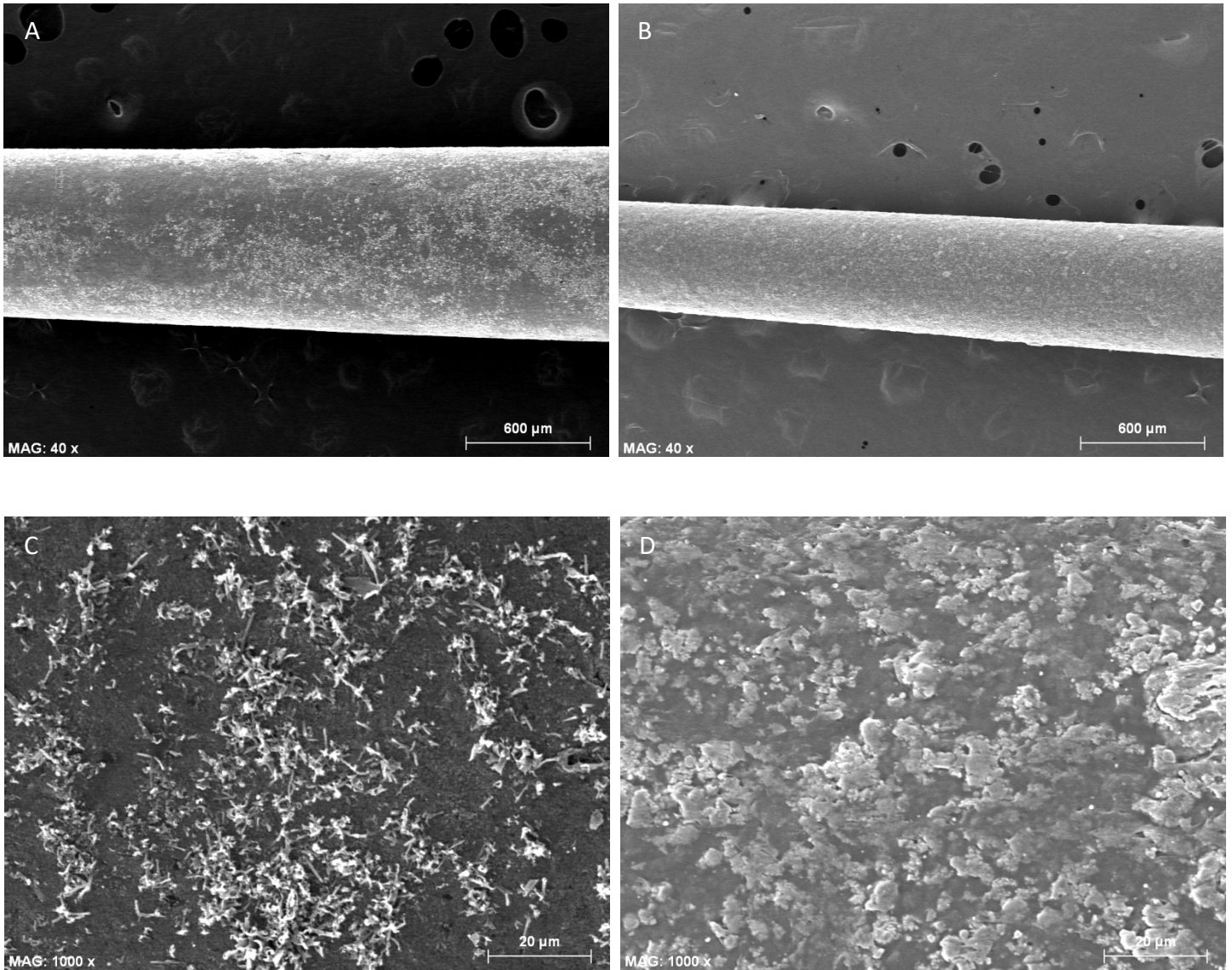


Imagen 4. Imágenes tomadas con el MEB de la superficie de los conos de gutapercha convencionales (A y C) y recubiertos por material biocerámico (B y D) en detalle. Muestras recién extraídas de su envase.

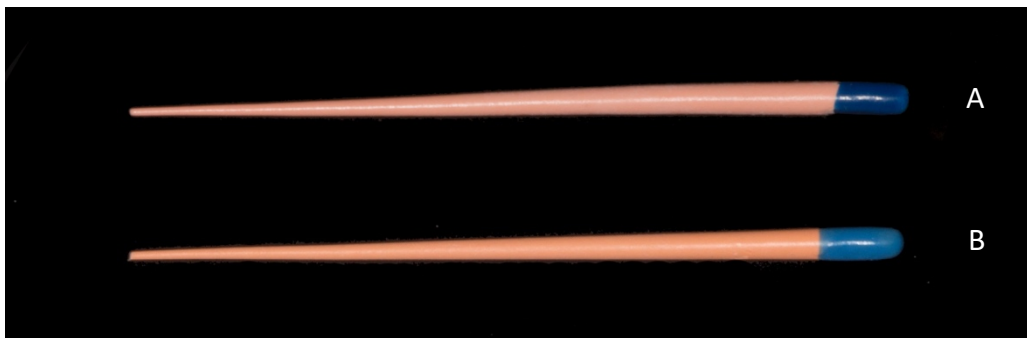


Imagen 5. Fotografía de la gutapercha convencional (A) y la recubierta de material biocerámico (B) a tamaño real.

CEMENTO	COMPOSICIÓN	EMPRESA
AH Plus	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pasta A: Resina epoxica de bisfenol-A, resina epoxica de bisfenol-F, tungstenato de calcio, óxido de circonio, sílice y óxido de hierro</li> <li>- Pasta B: Dibenzil-diamina, aminoadamantano, triciclo-decano-diamina, tungstenato de calcio, óxido de circonio, sílice y aceite de silicona</li> </ul>	Dentsply (Pensilvania, EE.UU.)
MTA Fillapex	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pasta Base: Resina salicilato, resina natural, tungstato de calcio, sílice nanoparticulada y pigmentos.</li> <li>- Pasta Catalizadora: Resina diluyente, MTA, sílice nanoparticulada y pigmentos.</li> </ul>	Angelus (Paraná, Brasil)
EndoSequence BC Sealer	Óxido de circonio, silicatos cálcicos, fosfato cálcico monobásico, hidróxido de calcio y agentes de relleno	Brasseler USA (Georgia, EE.UU.)
BioRoot RCS	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Polvo: silicato tricálcico, óxido de circonia y povidona</li> <li>- Líquido: solución acuosa de cloruro cálcico y policaboxilato.</li> </ul>	Septodont (St. Maur-des-Fossés, Francia)

Tabla 3. Composición de los cementos empleados en el estudio.

## 4.2 EQUIPAMIENTO PARA LA OBSERVACIÓN

La observación de las muestras se realizó mediante dos sistemas de microscopía diferentes. Se seleccionó el MCL para la observación del comportamiento del cemento en los túbulos dentinarios. Además, se escogió el EM para evaluar la adaptación del cemento tanto a las paredes de la dentina como al núcleo de gutapercha.

#### 4.2.1 MICROSCOPIO CONFOCAL LÁSER

Este tipo de microscopio emite la fuente de luz proveniente de un láser que ilumina el preparado a diferentes alturas, generando secciones ópticas de la muestra y permitiendo su estudio tridimensional. Cuenta con diferentes láseres que emiten varias líneas de emisión, lo cual permite seleccionar el espectro de excitación de los fluorocromos introducidos.

En nuestro caso se seleccionó como fluorocromo la rodamina B al 0,1% ( $C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ , Lot.0000317989, Panreac Químicas S.A.U., Casteller del Vallès, Barcelona), la cual se añadió al cemento durante su preparación. Las longitudes de onda de esta son: excitación 543 nm y emisión 578 nm.

Cabe destacar que el MCL sólo registra las estructuras o materiales teñidos con el fluorocromo, en este caso visualizados en color rojo, mientras que el resto de estructuras de la muestra no se distinguen en la imagen, de modo que el fondo de esta se ve negro (Imagen 6).

El equipo usado para el estudio fue MCL Leica TCS SP2 (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Alemania) (Imagen 7). La observación microscópica fue realizada en el Laboratorio de Microscopía Confocal del Servicio de Apoyo a la Investigación Experimental (Facultad de Medicina y Odontología de la *Universitat de València*).



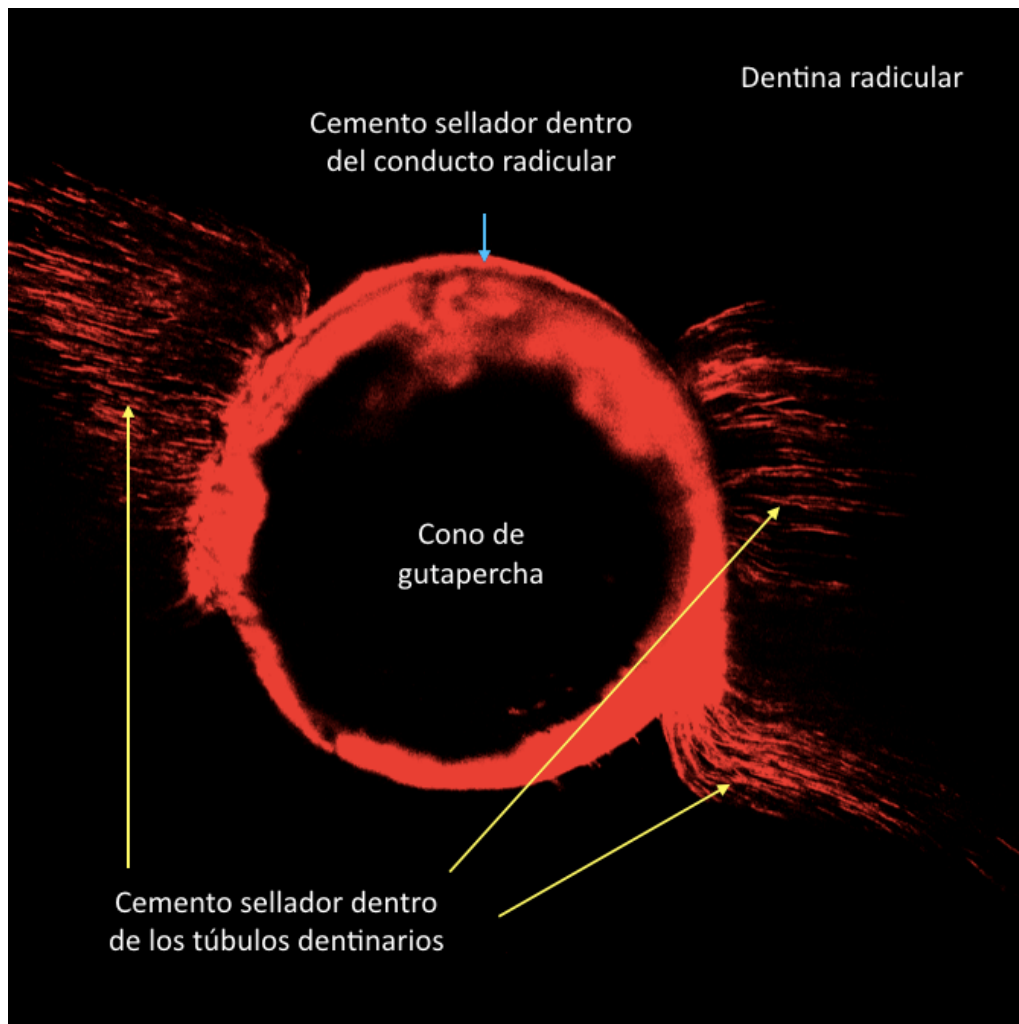


Imagen 6. Interpretación de una muestra fotografiada con el MCL. Nótese como sólo puede apreciarse el cemento (que en este caso es el que lleva incluido el fluorocromo).

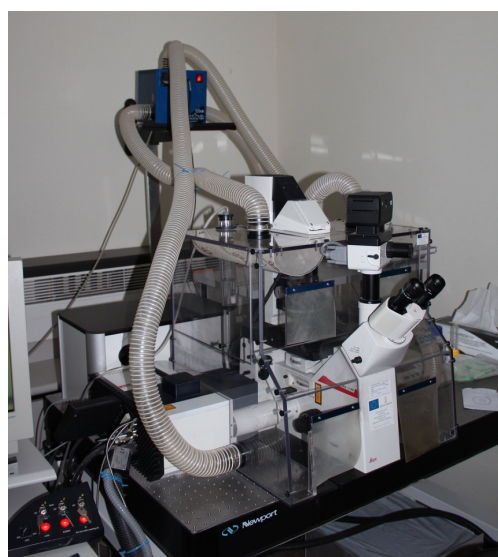


Imagen 7. Fotografía del MCL Leica TCS SP2 utilizado para realizar la observación de las muestras del estudio.

## 4.2.2 ESTEREOMICROSCOPIO

El EM es un tipo de microscopio óptico y tiene la particularidad de que permite la visualización de la muestra en condiciones ambientales, de modo que ésta no sufre ningún daño ni deterioro. Al contrario que el microscopio electrónico de barrido (MEB) tradicional, puede analizar muestras sin someterlas a grandes vacíos; éstas se observan directamente a la presión ambiental. Además, la muestra tampoco precisa ningún tratamiento previo a su visualización, por lo que conserva sus condiciones originales, evitando de este modo que pueda ser alterada y que los resultados puedan verse sesgados.

El EM utilizado fue el Leica M165 (Imagen 8). Este microscopio tiene un rango de trabajo de 7.3x - 120x. Dispone de un sistema de captura digital de imágenes IC80HD de alta resolución controlado mediante el programa LAS.

La observación microscópica se efectuó en el Laboratorio de Microscopía del Servicio de Apoyo a la Investigación Experimental (Campus de Burjassot de la *Universitat de València*).



Imagen 8. Fotografía del EM Leica 165 utilizado para analizar las muestras del estudio.

## 5. PROCEDIMIENTO

### 5. 1 INSTRUMENTACIÓN Y OBTURACIÓN

#### 5.1.1 ASIGNACIÓN A GRUPOS

Para estandarizar la muestra los dientes se decoronaron a una longitud de 15 mm desde el ápice, utilizando para ello un disco de diamante (Ref. 918PB 104 220, Lot. 503998. Komet, Lemgo, Alemania) con refrigeración acuosa.

A continuación, se procedió a dividir los dientes entre los grupos de estudio, estableciéndose de la siguiente manera:

Grupo 1: Gutapercha recubierta y MTA Fillapex

Grupo 2: Gutapercha convencional y MTA Fillapex

Grupo 3: Gutapercha recubierta y Endosequence BC Sealer

Grupo 4: Gutapercha convencional y Endosequence BC Sealer

Grupo 5: Gutapercha recubierta y AH Plus

Grupo 6: Gutapercha convencional y AH Plus

Grupo 7: Gutapercha recubierta y BioRoot RCS

Grupo 8: Gutapercha convencional y BioRoot RCS

### 5.1.2 INSTRUMENTACIÓN

Previo a la instrumentación, se llevó a cabo la permeabilización del conducto con una lima K manual del número 10 (Ref. A 012D 025 010 04, Lot. 1162988. Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suiza) y un pre-ensanchamiento del conducto para facilitar la posterior entrada de las limas rotatorias.

La instrumentación de los conductos se realizó con el sistema de limas rotatorio Mtwo (VDW, Múnich, Alemania) siguiendo la secuencia estipulada por el fabricante (10/.04, 15/.05, 20/.06, 25/.06, 30/.04, 35/.04). La irrigación que se empleó entre limas fue con 3 ml de hipoclorito de sodio al 5,25% (Ref. HIP, Lot. 011104. Dentaflux, Madrid, España) y se verificó, asimismo, la permeabilidad apical con una lima K del número 8 (Ref. A 012D 025 008 04, Lot. 1498211. Dentsply, Maillefer, Ballaigues, Suiza). Al finalizar la preparación, se irrigó con 5 ml de solución salina.

De manera previa a la obturación radicular se colocó en el interior del conducto EDTA al 17% (Ref. 1260100, Lot. 170618. DIRECTA AB, Estocolmo, Suecia), durante 1 minuto, para eliminar el barrillo dentinario, y por último se procedió a irrigar con 5 ml de solución salina.

Durante todos los pasos de la irrigación se utilizaron agujas de salida lateral de calibre 28G de 25mm (Ref. 99010, Lot. 13 A 14. VMK, Dilbeek, Bélgica).

Como último paso previo a la obturación radicular se secaron los conductos con puntas de papel Mtwo de 35/.04 (VDW, Múnich, Alemania).

### 5.1.3 OBTURACIÓN

Cada cemento se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante y se le añadió el fluorocromo rodamina B al 0,1% para conseguir la fluorescencia necesaria con el MCL. Una vez preparado, el cemento se introdujo en los conductos con la ayuda de un léntulo del calibre 25 a 1 mm del ápice con una velocidad de 150rpm.



La obturación radicular se realizó en todos los casos con la técnica de cono único, siguiendo las recomendaciones del fabricante, utilizando conos de gutapercha convencional o recubierta por material biocerámico del 30/.04 calibrados a 35.

Una vez obturado el conducto se verificó radiográficamente la calidad de la obturación mediante dos radiografías, una en sentido mesio-distal y otra vestibulo-lingual.

El exceso de gutapercha fue eliminado con un instrumento caliente (SuperEndo Alpha, B&L Biotech, Pensilvania, EE.UU.) y condensado 1 mm por debajo de la entrada al conducto con un condensador manual del número 90 (BL-S Kondenser, B&L Biotech, Pensilvania, EE.UU.); la entrada del conducto se selló con material de relleno provisional Fermin® (Ref. 02054, Lot. 160608. DETAX, Ettlingen, Alemania).

Las muestras fueron almacenadas en un ambiente de 100% de humedad durante al menos 72 horas para permitir el completo fraguado del cemento.

## 5.2 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS PARA LA OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA Y ANÁLISIS DE LAS IMÁGENES OBTENIDAS

Una vez completado el fraguado del cemento se procedió a cortar las muestras para obtener una sección de cada tercio del diente.

Cada muestra se cortó en tres secciones transversales de 1 mm de grosor, a 3, 5 y 8 mm del ápice, con un disco diamantado con refrigeración. Esto produjo tres subgrupos de diez muestras para cada grupo de estudio: subgrupo 1, apical; subgrupo 2, medio; subgrupo 3, coronal.

Los discos obtenidos de cada diente se fijaron a un portaobjetos con adhesivo instantáneo SuperGlue-3 (Loctite, Henkel, Alemania). Una vez adheridos, todas las muestras fueron pulidas con discos Sof-Lex™ XT (Ref. 2380, Lot. 5165357. 3M ESPE, Minnesota, EE.UU.) de grano fino y superfino sucesivamente con refrigeración acuosa.

Las muestras se mantuvieron almacenadas en un ambiente sin luz para evitar la exposición previa del fluorocromo y que éste perdiera previamente fuerza de emisión al excitarlo en el MCL. Es por esto que el estudio de las muestras se realizó en primer lugar con el MCL y posteriormente con el EM.

### 5.2.1 MICROSCOPIO CONFOCAL LÁSER

El análisis de las muestras se llevó a cabo con una magnificación de 10x. Las imágenes se registraron y analizaron posteriormente mediante el programa de análisis de imagen ImageJ v1.51 (*National Institutes of Health, Bethesda, Maryland*). En el caso de las muestras cuyas dimensiones excedían el tamaño de la imagen éstas fueron fotografiadas en secciones y unidas posteriormente con la ayuda del programa *Panorama Stitcher Mini* (Boltnev, A. y Olga, K. [2010]. *Panorama Stitcher Mini* [Versión 1.9.1 Software]. Obtenido de [www.panoramastitcher.com](http://www.panoramastitcher.com)) (Imagen 9).

Las mediciones realizadas con el programa ImageJ en cada imagen fueron dos; por un lado se midió la profundidad máxima de penetración del cemento en los túbulos dentinarios (en  $\mu\text{m}$ ), previa calibración; por otro, se midió el perímetro total del conducto y la zona de éste en la que hubo penetración tubular, calculando posteriormente el porcentaje del perímetro con penetración (Imagen 10).

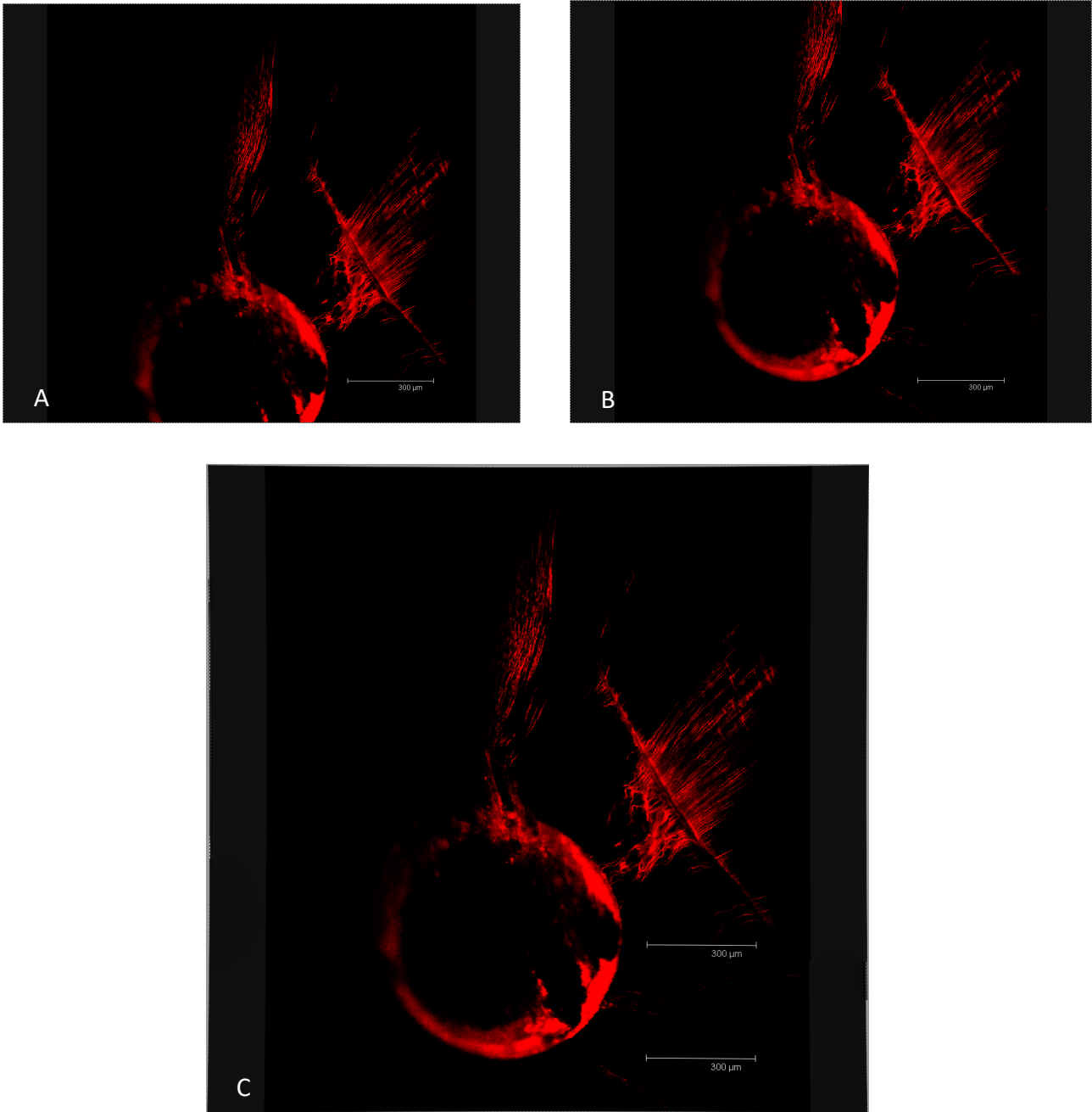


Imagen 9. A y B: Imágenes fraccionadas de la misma muestra obtenidas con el MCL. C: Ejemplo del resultado final de la fusión de dichas imágenes para la obtención de una sola.

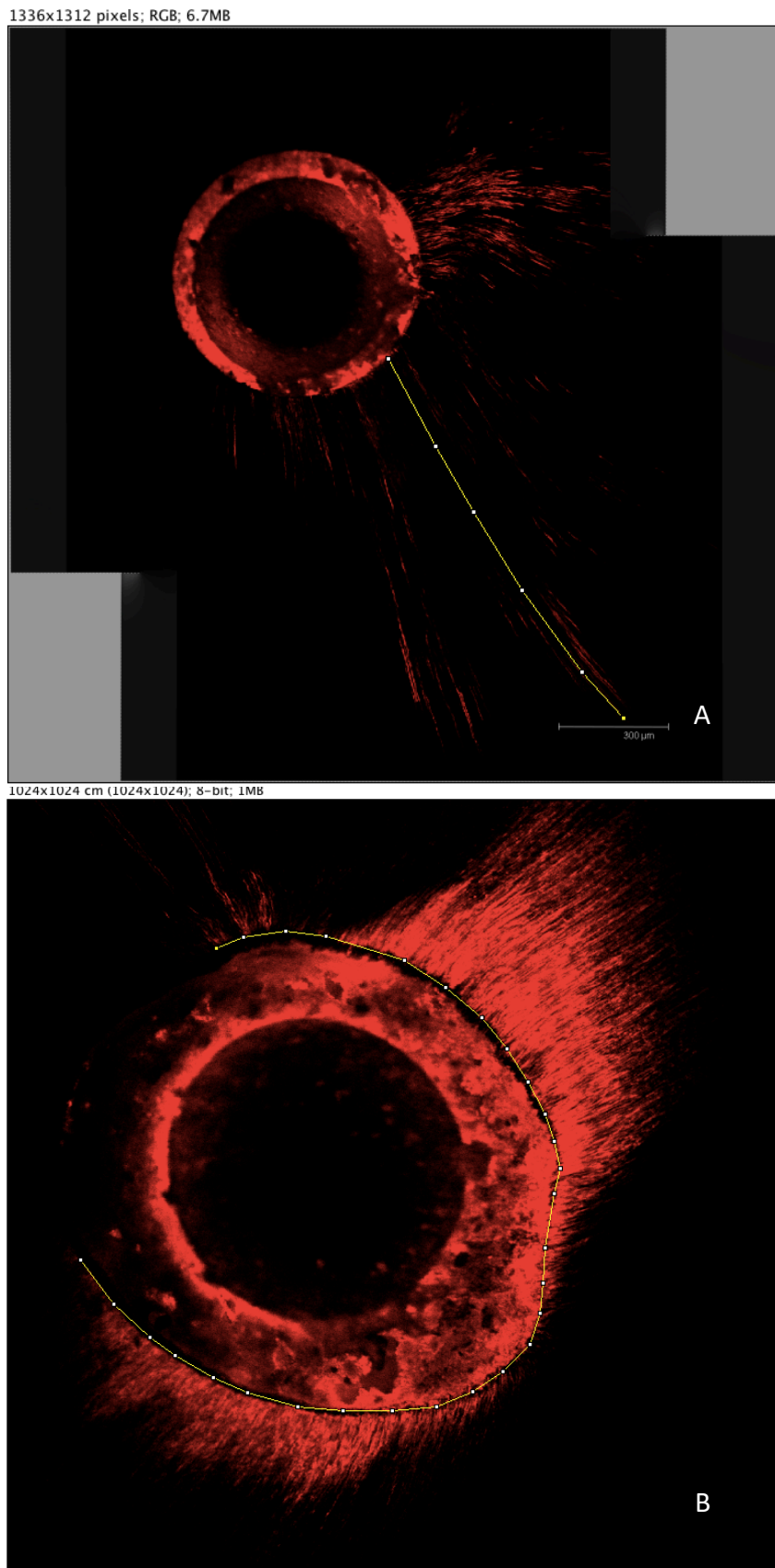


Imagen 10. Ejemplo de cómo se realizaron las mediciones en las imágenes obtenidas del MCL con el programa ImageJ. (A) Profundidad máxima de penetración tubular del cemento sellador. (B) Perímetro del conducto en el que hubo penetración.

### 5.2.2 ESTEREOMICROSCOPIO

Las muestras visualizadas con el MCL se analizaron posteriormente con el EM, conservándose de forma hermética hasta el momento de su observación. La magnificación empleada fue de 3'6x, 7'2x y 12x y las imágenes obtenidas se analizaron con el programa ImageJ v1.51.

Para calcular la adaptación del cemento a las paredes dentinarias se midió el perímetro del conducto en el que hubo adaptación, expresado como porcentaje respecto a la longitud del perímetro total del conducto. La adaptación del cemento a la gutapercha se calculó midiendo el perímetro del cono de gutapercha en el que hubo adaptación, expresado como porcentaje respecto a la longitud de perímetro total del cono de gutapercha (Imagen 11, 12 y 13).



Imagen 11: Ejemplo de imagen obtenida con EM donde se muestra la desadaptación en las interfasas entre cemento-dentina y cemento-gutapercha.



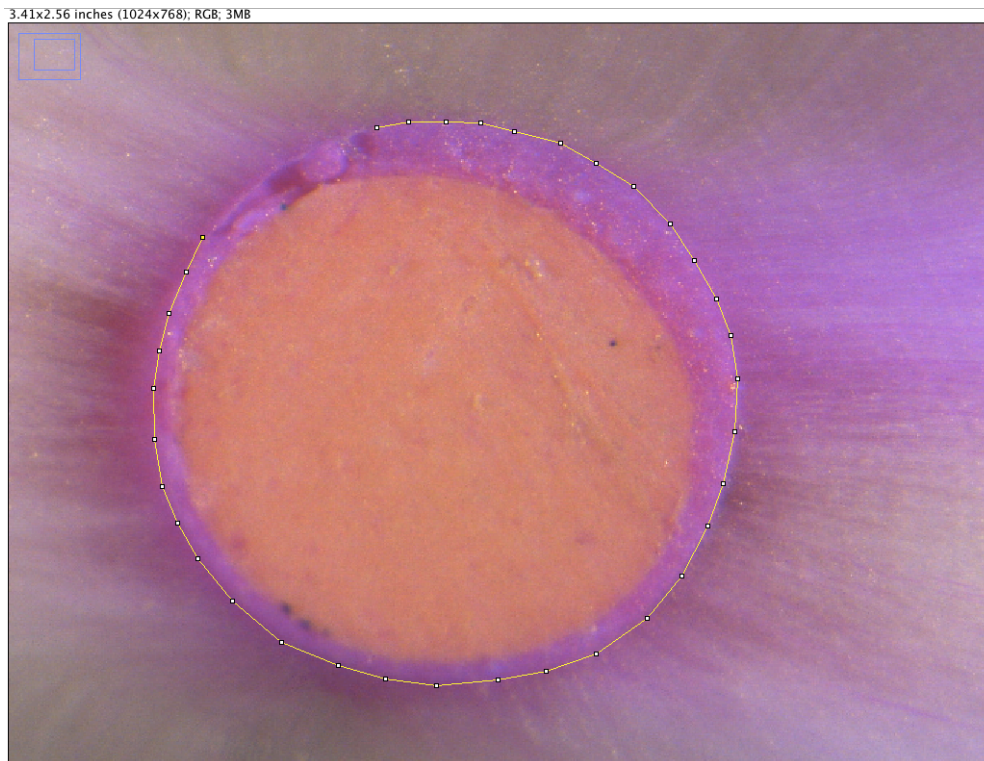


Imagen 12. Ejemplo de cómo se realizaron las mediciones en las imágenes obtenidas con el EM. Perímetro del conducto en el que hubo adaptación del cemento a las paredes dentinarias.

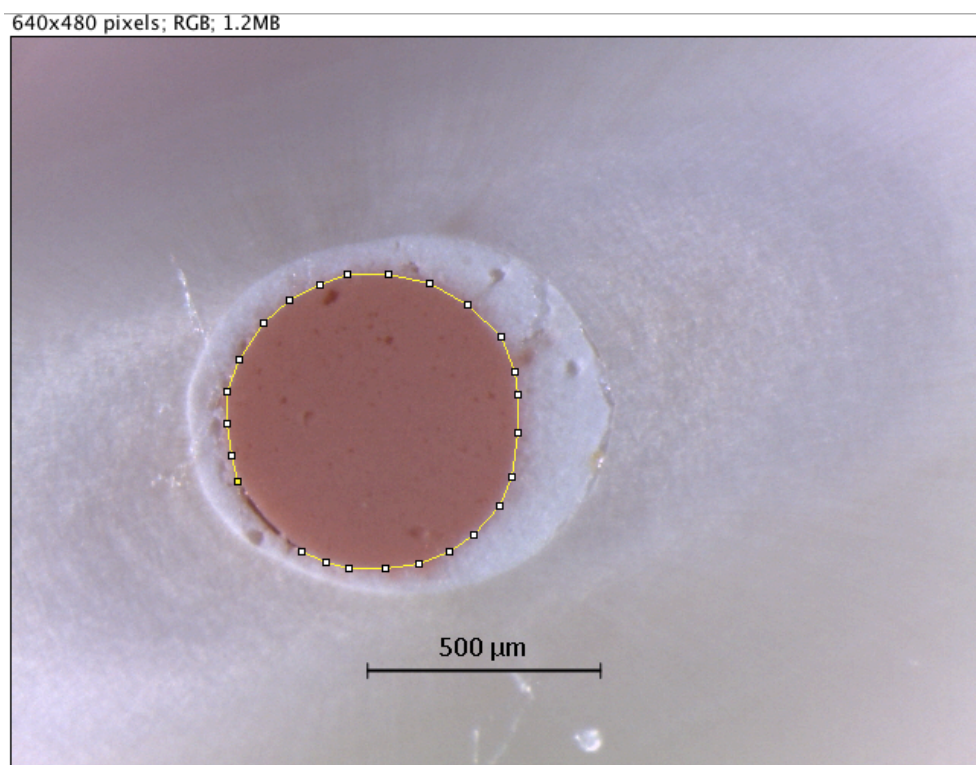


Imagen 13. Ejemplo de cómo se realizaron las mediciones en las imágenes obtenidas con el EM. Perímetro del cono de gutapercha en el que hubo adaptación del cemento.

## 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se efectuó mediante el paquete SPSS para Windows 19.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA). Se comprobó que las variables “penetración” en  $\mu\text{m}$  de los cementos y “porcentaje de penetración”, así como “porcentaje de adaptación” no presentaban una distribución normal a través del test de Kolmogorov Smirnov.

Mediante el test no paramétrico de Kruskal Wallis se comparó la penetración, el porcentaje de superficie con penetración y el porcentaje de adaptación del cemento a las paredes dentinarias así como al núcleo de gutapercha para cada cemento en cada tercio. Las comparaciones dos a dos se hicieron con el test no paramétrico de Bonferroni, para un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

# Resultados

---





# 1. ESTUDIO CON MICROSCOPIA CONFOCAL LÁSER

## 1.1 PENETRACIÓN TUBULAR

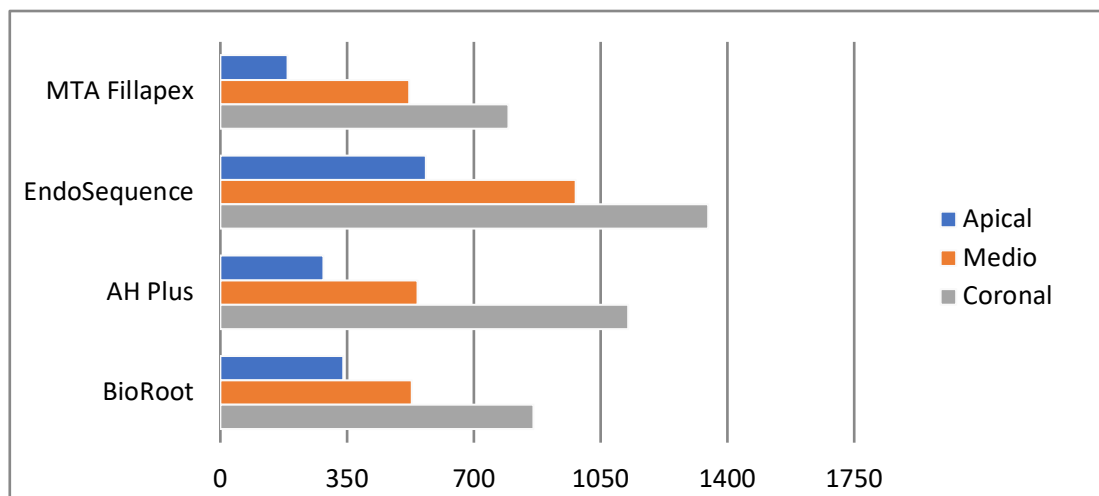
Un ejemplo de las imágenes adquiridas con el MCL puede apreciarse en la imagen 14. Los resultados obtenidos pueden observarse en la tabla 4 y la gráfica 1.

	Tercio apical Media (DS) n=20	Tercio medio Media (DS) n=20	Tercio coronal Media (DS) n=20	Total Media (DS) n=60
MTA Fillapex	185,90 (357,34) <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	520,90 (427,09) <sup>a</sup> <sub>1</sub>	796,02 (490,30) <sup>a</sup> <sub>2</sub>	500,94 (490,48) <sup>a</sup>
EndoSequence	566,78 (510,70) <sup>a,b</sup> <sub>1,2</sub>	981,86 (458,03) <sup>a,b,c</sup> <sub>1,3</sub>	1346,25 (461,43) <sup>a,b</sup> <sub>2,3</sub>	964,96 (568,54) <sup>a,b,c</sup>
AH Plus	283,97 (310,68) <sup>b</sup> <sub>1,2</sub>	543,88 (418,53) <sup>b</sup> <sub>1,3</sub>	1126,27 (533,75) <sub>2,3</sub>	651,37 (552,59) <sup>b</sup>
BioRoot	339,86 (369,78) <sub>1</sub>	527,94 (522,46) <sup>c</sup>	864,22 (649,43) <sup>b</sup> <sub>1</sub>	577,34 (561,78) <sup>c</sup>
Total	344,12 (411,52) <sub>1,2</sub>	643,64 (490,70) <sub>1,3</sub>	1033,19 (572,23) <sub>2,3</sub>	673,65 (568,97)

Tabla 4. Penetración del cemento en los túbulos dentinarios por tercios para cada cemento ( $\mu\text{m}$ ). Medias y desviación estándar (DS). El superíndice expresa los valores con diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p \leq 0,05$ ) para cada columna y el subíndice para cada fila.

Para el MTA Fillapex se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tercios, siendo la penetración en el tercio apical significativamente inferior que en los tercios medio y coronal, entre los que no hubo diferencia significativa. Respecto al EndoSequence y el AH Plus se halló diferencia significativa entre los tercios, siendo menor la penetración en el tercio apical respecto al medio y al coronal y del medio respecto al

coronal. Por último, en el BioRoot se vieron diferencias significativas entre los tercios, siendo inferior la penetración en el tercio apical respecto al coronal.



Gráfica 1: Penetración del cemento en los túbulos dentinarios por tercios para cada cemento (µm).

En el tercio apical, se halló significativamente menor penetración que en los tercios medio y coronal, así como en el tercio medio menos que en el coronal. En otras relaciones entre tercios no se evidenciaron diferencias significativas.

Para el tercio apical el cemento que mostró mejor penetración tubular fue el EndoSequence, habiendo diferencia significativa con el MTA Fillapex y el AH Plus. Respecto al tercio medio el EndoSequence presentó de forma significativa más penetración intratubular que los otros tres cementos estudiados. Por último, en el tercio coronal, se evidenció en el EndoSequence mejor penetración tubular que en el MTA Fillapex y el BioRoot de forma significativa, no habiendo diferencia con el AH Plus.

A nivel global, el EndoSequence proporcionó significativamente más penetración que los otros cementos estudiados.

## 1.2 PORCENTAJE DE PENETRACIÓN TUBULAR.

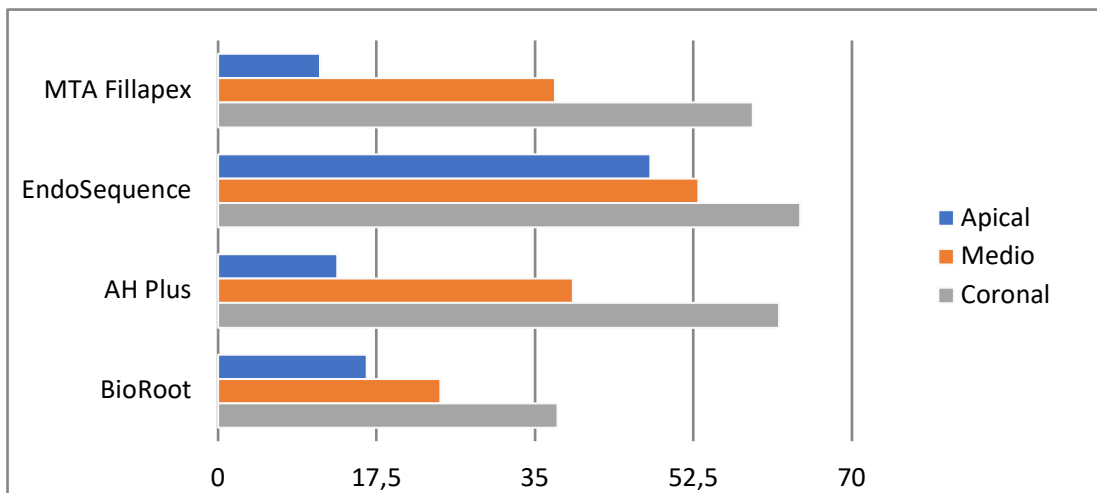
Un ejemplo de las imágenes adquiridas con el MCL puede apreciarse en la imagen 14. Los resultados obtenidos pueden observarse en la tabla 5 y la gráfica 2.

	Tercio apical Media (DS) n=20	Tercio medio Media (DS) n=20	Tercio coronal Media (DS) n=20	Total Media (DS) n=60
MTA Fillapex	11,24 (13,82) <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	37,19 (28,99) <sub>1,3</sub>	59,04 (33,45) <sub>2,3</sub>	35,82 (32,87) <sup>a</sup>
EndoSequence	41,71 (30,14) <sup>a, b, c</sup> <sub>1</sub>	53,04 (27,66) <sup>a</sup>	64,30 (23,61) <sup>a</sup> <sub>1</sub>	53,02 (28,37) <sup>a, b, c</sup>
AHPlus	13,18 (11,29) <sup>b</sup> <sub>1,2</sub>	39,15 (25,38) <sub>1,3</sub>	61,97 (19,90) <sup>b</sup> <sub>2,3</sub>	38,11 (27,91) <sup>b</sup>
BioRoot	16,44 (20,10) <sup>c</sup> <sub>1</sub>	24,55 (21,40) <sup>a</sup>	37,47 (26,83) <sup>a, b</sup> <sub>1</sub>	26,16 (24,20) <sup>c</sup>
Total	20,64 (23,36) <sub>1,2</sub>	38,48 (27,45) <sub>1,3</sub>	55,79 (28,058) <sub>2,3</sub>	38,28 (29,92)

Tabla 5. Porcentaje de perímetro penetrado de cemento por tercios para cada cemento. Medias y desviación estándar (DS). El superíndice expresa los valores con diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p \leq 0,05$ ) para cada columna y el subíndice para cada fila.

Para el MTA Fillapex y el AH Plus, se encontraron diferencias significativas entre los tercios, siendo inferior el porcentaje de penetración en el tercio apical respecto al medio y coronal y el medio respecto al coronal. En cuanto a el EndoSequence y el BioRoot, se hallaron diferencias significativas entre los tercios, siendo el tercio apical inferior al coronal.

En el tercio apical se halló un porcentaje de perímetro con penetración menor que en los tercios medio y coronal, y en el medio menor que en el coronal.



Gráfica 2: Porcentaje de perímetro penetrado de cemento por tercios para cada cemento.

Aunque el porcentaje de perímetro con penetración fue, a nivel global, significativamente superior para el EndoSequence respecto al resto de cementos estudiados, para los tercios medio y coronal sólo se encontraron diferencias significativas con el BioRoot.

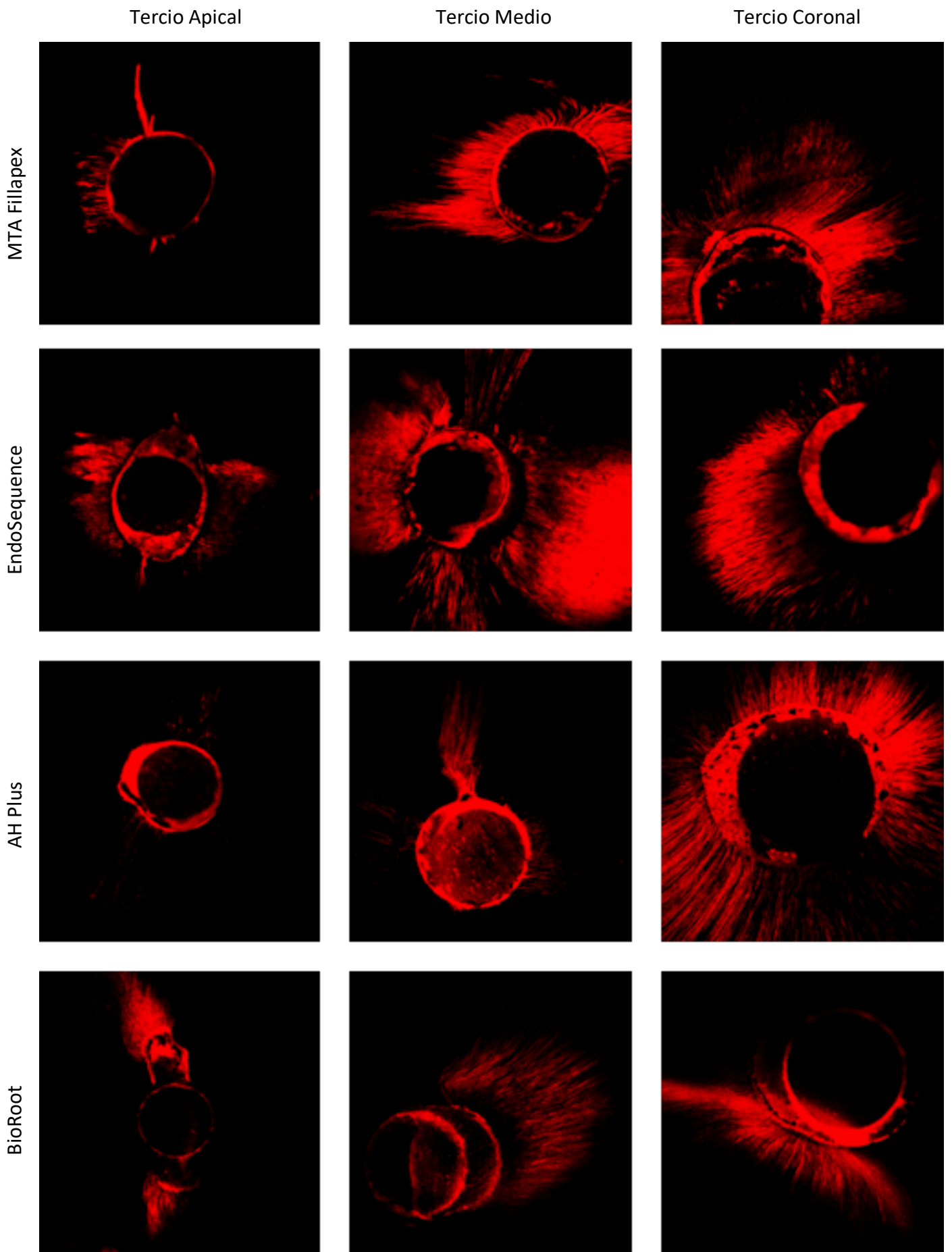


Imagen 14: Imágenes representativas de cada cemento para cada tercio adquiridas por medio de microscopía confocal láser.

## 2. ESTUDIO CON ESTEREOMICROSCOPIA

### 2.1 ADAPTACIÓN DEL CEMENTO A LAS PAREDES DENTINARIAS.

Un ejemplo de las imágenes adquiridas con el EM puede apreciarse en la imagen 15. Los resultados obtenidos pueden observarse en la tabla 6 y la gráfica 3.

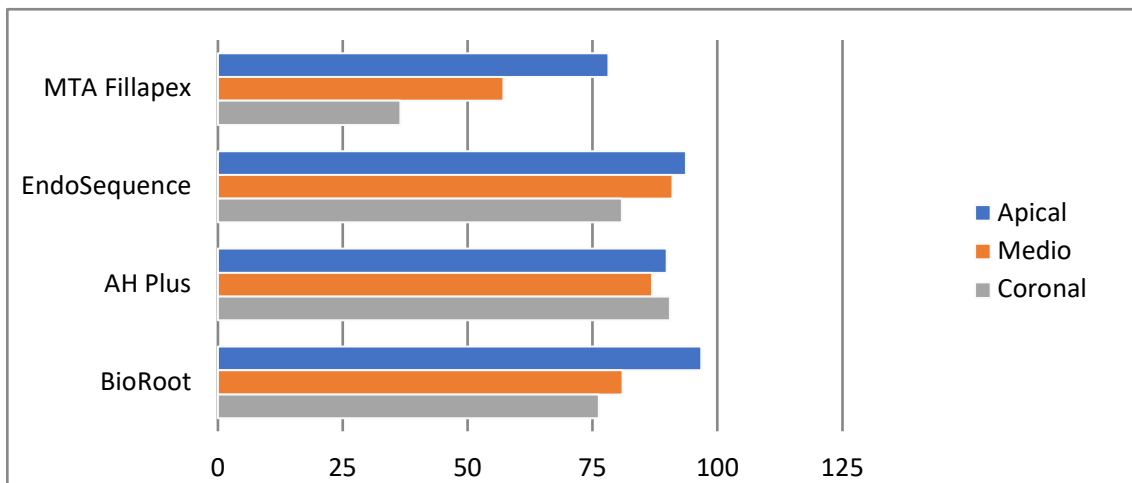
	Tercio apical Media (DS) n=20	Tercio medio Media (DS) n=20	Tercio coronal Media (DS) n=20	Total Media (DS) n=60
MTA Fillapex	78,18 (17,19) <sup>a, b, c</sup> <sub>1,2</sub>	57,10 (20,98) <sup>a, b, c</sup> <sub>1,3</sub>	36,57 (25,67) <sup>a, b, c</sup> <sub>2,3</sub>	57,28 (27,24) <sup>a, b, c</sup>
EndoSequence	93,71 (13,01) <sup>a</sup>	91,00 (12,89) <sup>a</sup>	80,91 (21,95) <sup>a</sup>	88,54 (17,15) <sup>a</sup>
AHPlus	89,82 (12,66) <sup>b</sup>	86,82 (16,66) <sup>b</sup>	90,44 (10,18) <sup>b, d</sup>	89,02 (13,30) <sup>b</sup>
BioRoot	96,73 (5,81) <sup>c</sup>	81,00 (19,41) <sup>c</sup>	76,20 (19,13) <sup>c, d</sup>	84,64 (18,12) <sup>c</sup>
Total	89,61 (14,45)	78,98 (21,85)	71,03 (28,54)	79,87 (23,54)

Tabla 6 Porcentaje de adaptación del cemento a las paredes dentinarias. Medias y desviación estándar (DS). El superíndice expresa los valores con diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p \leq 0,05$ ) para cada columna y el subíndice para cada fila.

Para el MTA Fillapex, se encontraron diferencias significativas entre los tercios, siendo significativamente inferior el porcentaje en el tercio coronal respecto al medio y al apical y del medio respecto al apical.

No se encontraron diferencias significativas en el resto de los cementos entre tercios.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre todos los tercios del MTA Fillapex y los otros tres cementos estudiados. También entre los tercios coronales del AH Plus y el BioRoot.



Gráfica 3: Porcentaje de adaptación del cemento a las paredes dentinarias.

Aunque no se encontraron diferencias significativas, el tercio que mejor adaptación presentó fue el apical, seguido del medio.

A nivel global, el MTA Fillapex presentó significativamente peor adaptación a las paredes dentinarias que el resto de cementos estudiados.



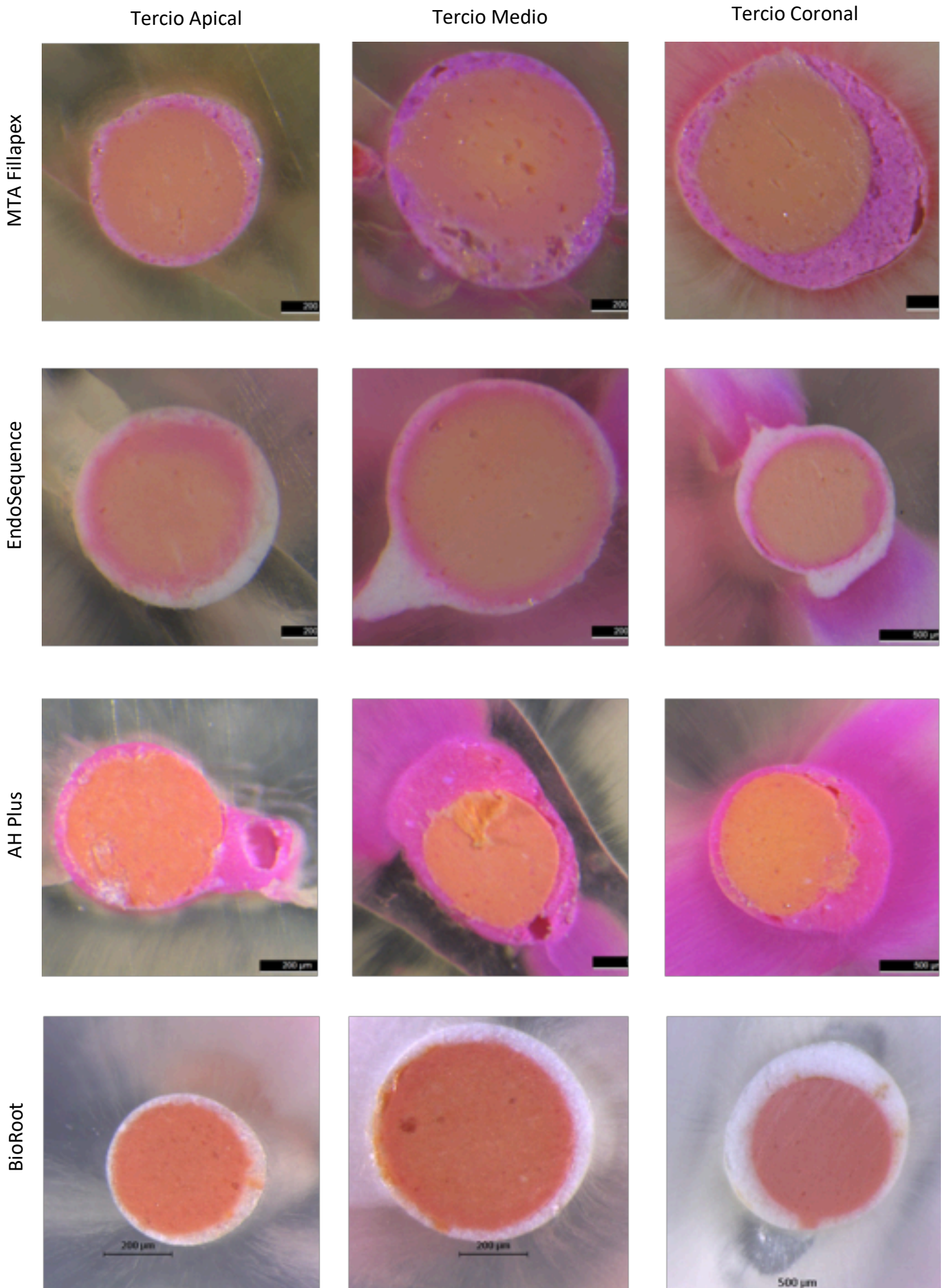


Imagen 15: Imágenes representativas de cada cemento para cada tercio radicular donde se muestra la adaptación del cemento a las paredes dentinarias. Adquiridas con EM.

## 2.2 ADAPTACIÓN DE LA GUTAPERCHA CONVENCIONAL AL CEMENTO

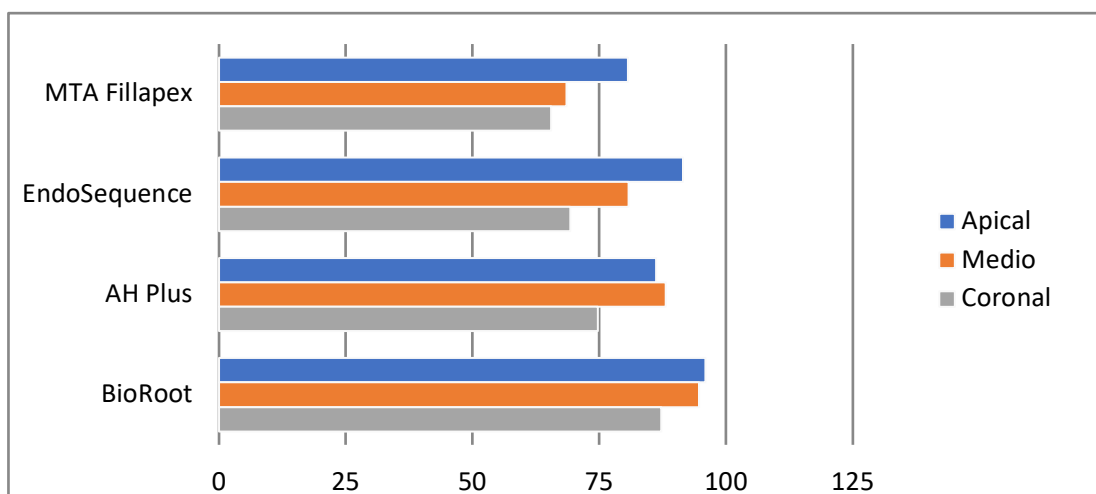
Un ejemplo de las imágenes adquiridas con el EM puede apreciarse en la imagen 16. Los resultados obtenidos pueden observarse en la tabla 7 y las gráficas 4.

	Tercio apical Media (DS) n=10	Tercio medio Media (DS) n=10	Tercio coronal Media (DS) n=10	Total Media (DS) n=30
MTA Fillapex	80,69 (19,63)	68,51 (27,06) <sup>a</sup>	65,52 (22,72) <sup>a</sup>	71,57 (23,49) <sup>a</sup>
EndoSequence	91,46 (15,27)	80,81 (24,16)	69,29 (36,38)	80,52 (27,37)
AHPlus	86,17 (17,68)	88,08 (10,20)	74,75 (12,41) <sup>b</sup>	83,00 (14,59) <sup>b</sup>
BioRoot	95,94 (8,72)	94,67 (10,82) <sup>a</sup>	87,23 (11,06) <sup>a,b</sup>	92,61 (10,63) <sup>a,b</sup>
Total	88,57 (16,31)	83,02 (21,24)	74,20 (23,61)	81,92 (21,28)

Tabla 7. Porcentaje de adaptación de la gutapercha convencional al cemento. Medias y desviación estándar (DS). El superíndice expresa los valores con diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p \leq 0,05$ ) para cada columna y el subíndice para cada fila.

No se encontraron diferencias significativas en ningún cemento entre tercios.

Sólo se encontró diferencia estadísticamente significativa entre el tercio medio del MTA Fillapex y el BioRoot y entre el tercio coronal del MTA Fillapex y AHPlus con el BioRoot, presentando en ambos casos el BioRoot mejor adaptación.



Gráfica 4: Porcentaje de adaptación del cemento al núcleo de gutapercha convencional.

Aunque no se encontraron diferencias significativas, el tercio que mejor adaptación presentó fue el apical, seguido del medio.

A nivel global, el MTA Fillapex presentó significativamente peor adaptación que el AH Plus y el BioRoot.



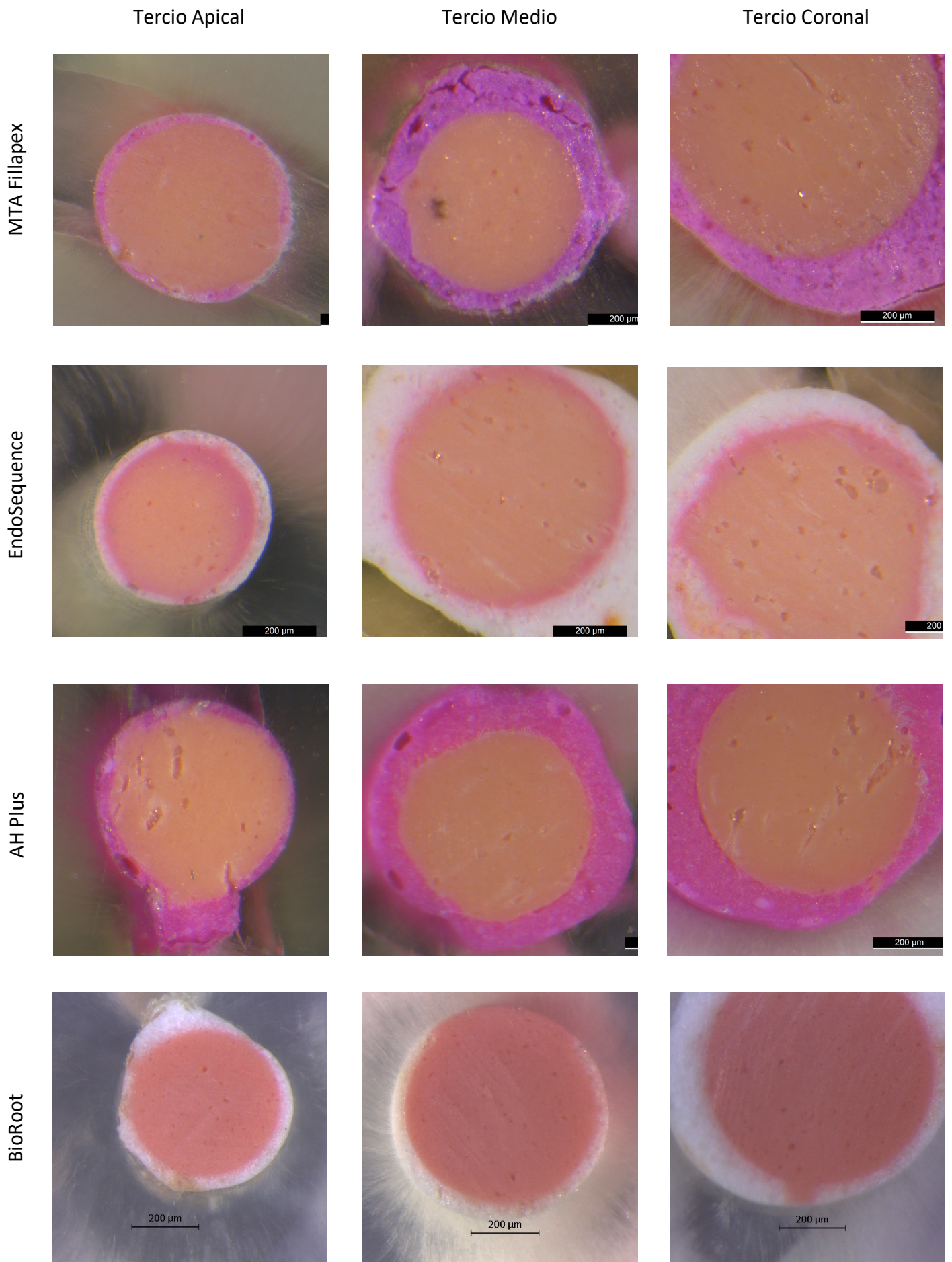


Imagen 16: Imágenes representativas de cada cemento para cada tercio radicular donde se muestra la adaptación del cemento al núcleo de gutapercha convencional. Adquiridas con EM.

## 2.3 ADAPTACIÓN DE LA GUTAPERCHA RECUBIERTA DE MATERIAL BIOCERÁMICO AL CEMENTO

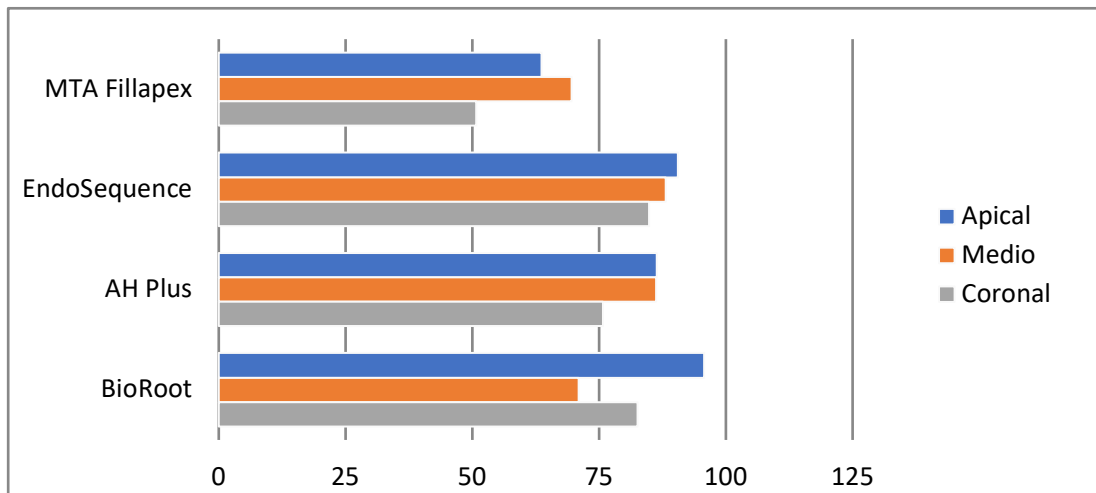
Un ejemplo de las imágenes adquiridas con el EM puede apreciarse en la imagen 17. Los resultados obtenidos pueden observarse en la tabla 5 y las gráficas 5.

	Tercio apical Media (DS) n=10	Tercio medio Media (DS) n=10	Tercio coronal Media (DS) n=10	Total Media (DS) n=30
MTA Fillapex	63,71 (28,89) <sup>a</sup>	69,53 (20,81)	50,82 (24,90) <sup>a,b,c</sup>	61,35 (25,48) <sup>a,b,c</sup>
EndoSequence	90,60 (15,25)	88,10 (11,68)	84,83 (28,39) <sup>a</sup>	87,85 (19,25) <sup>a</sup>
AHPlus	86,32 (15,94)	86,23 (16,95)	75,91 (23,01) <sup>b</sup>	82,82 (18,89) <sup>b</sup>
BioRoot	95,73 (8,32) <sup>a</sup>	70,91 (29,60)	82,60 (15,40) <sup>c</sup>	83,08 (21,75) <sup>c</sup>
Total	84,09 (21,78)	78,69 (21,78)	73,53 (26,33)	78,77 (23,60)

Tabla 5. Porcentaje de adaptación de la gutapercha recubierta al cemento. Medias y desviación estándar (DS). El superíndice expresa los valores con diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p \leq 0,05$ ) para cada columna y el subíndice para cada fila.

No se encontraron diferencias significativas en ningún cemento entre tercios.

Sólo se halló diferencia estadísticamente significativa en el tercio apical del MTA Fillapex con el BioRoot y en el tercio coronal entre el MTA Fillapex con el resto de cementos, siendo este primero inferior en ambos casos.



Gráfica 5: Porcentaje de adaptación del cemento al núcleo de gutapercha recubierta.

Aunque no se encontraron diferencias significativas, el tercio que mejor adaptación presentó fue el apical, seguido del medio.

El MTA Fillapex presentó de forma significativa, a nivel global, menor adaptación que los otros tres cementos estudiados.

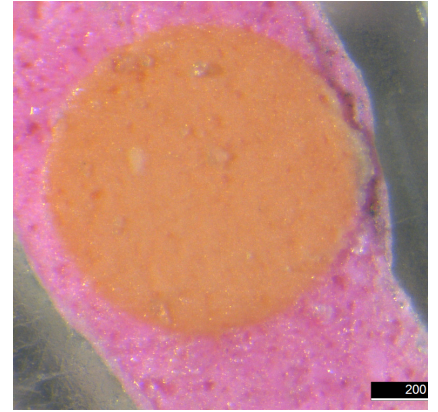
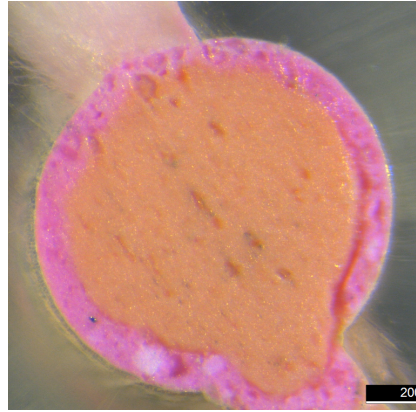
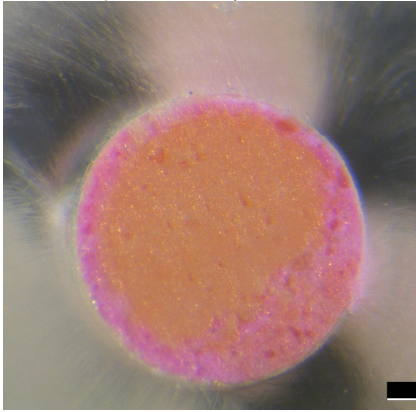


Tercio Apical

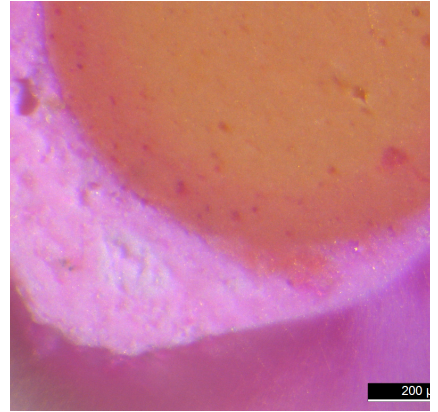
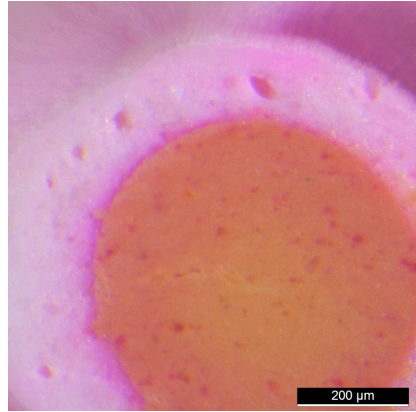
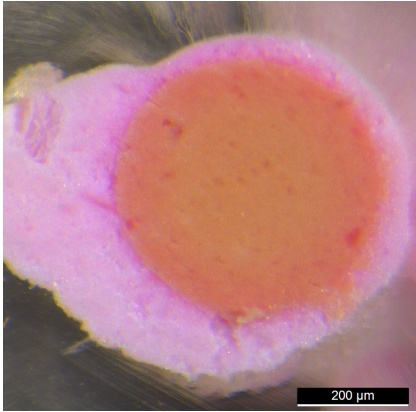
Tercio Medio

Tercio Coronal

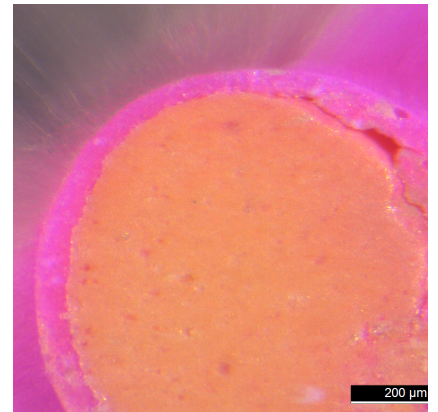
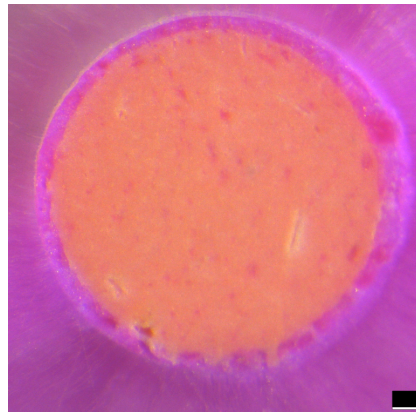
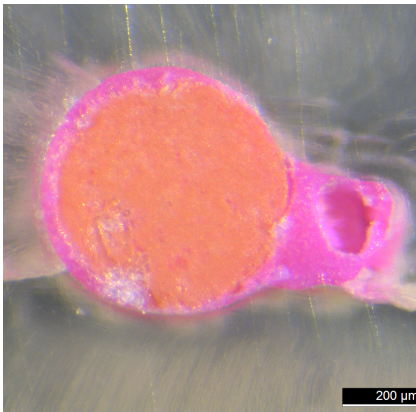
MTA Fillapex



EndoSequence



AH Plus



BioRoot

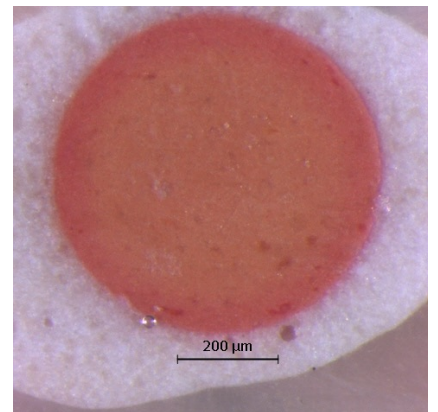
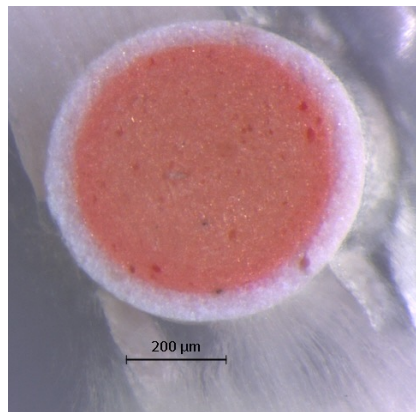
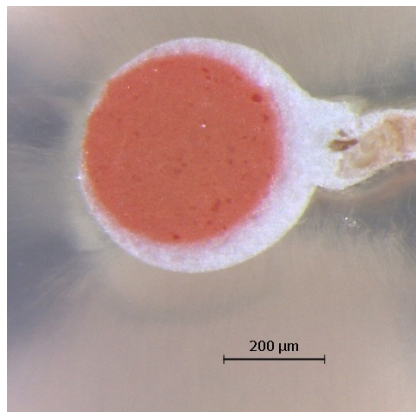


Imagen 17: Imágenes representativas de cada cemento para cada tercio radicular donde se muestra la adaptación del cemento al núcleo de gutapercha recubierto de material biocerámico. Adquiridas con EM.

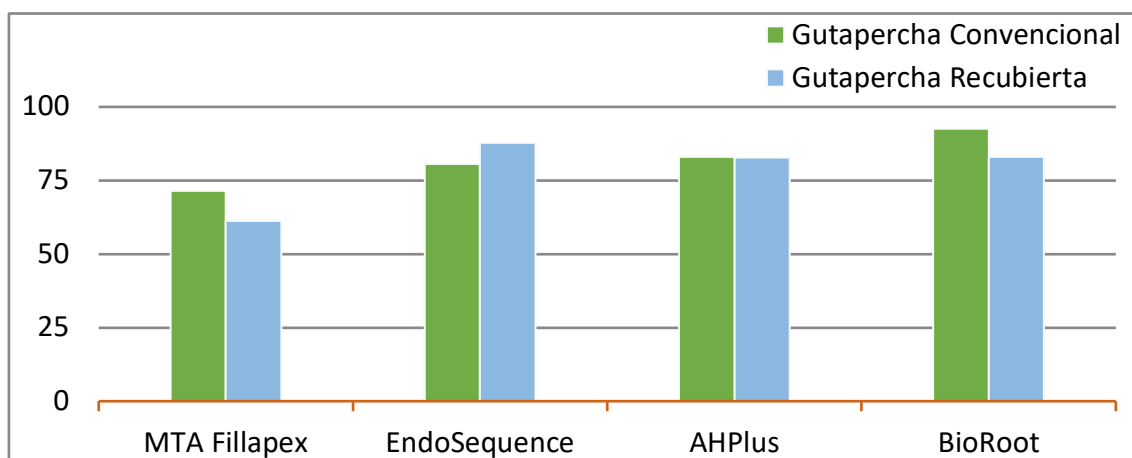
## 2.4 COMPARACIÓN DE LA ADAPTACIÓN DE LA GUTAPERCHA CONVENCIONAL Y LA GUTAPERCHA RECUBIERTA DE MATERIAL BIOCERÁMICO AL CEMENTO

Los resultados obtenidos pueden observarse en las tablas 9 y 10 y las gráficas 6 y 7.

	Gutapercha Convencional Media (DS) n=30	Gutapercha Recubierta Media (DS) n=30
MTA Fillapex	71,57 (23,49)	61,35 (25,48)
EndoSequence	80,52 (27,37)	87,85 (19,25)
AHPlus	83,00 (14,59)	82,81 (18,89)
BioRoot	92,61 (10,64)	83,08 (21,75)

Tabla 9. Comparación por cementos del porcentaje de adaptación de la gutapercha convencional y recubierta de material biocerámico al cemento. Medias y desviación estándar (DS). El superíndice expresa los valores con diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p \leq 0,05$ ) para cada columna y el subíndice para cada fila.

No existen diferencias significativas entre la adaptación de la gutapercha convencional al cemento y de la recubierta de material biocerámico al cemento.



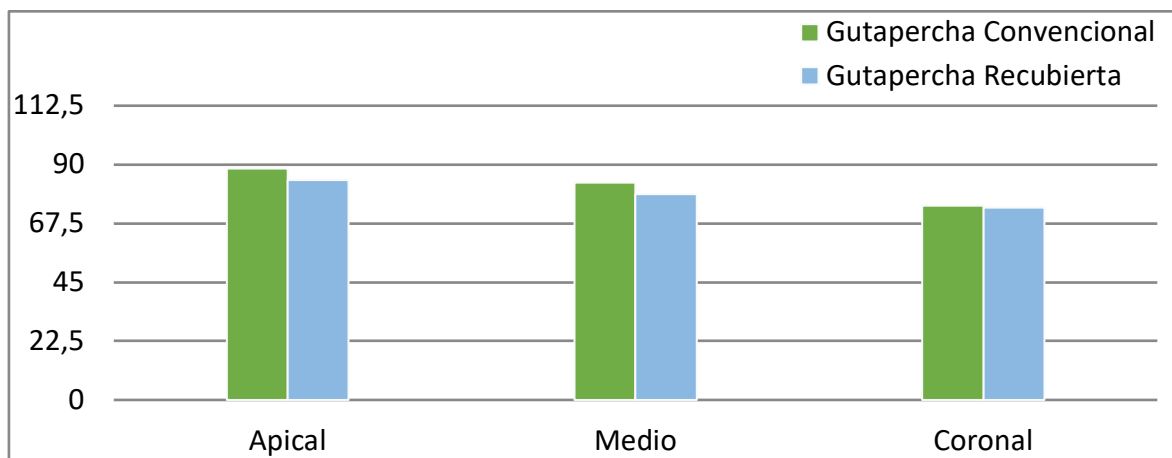
Gráfica 6: Porcentaje de adaptación del cemento a la gutapercha convencional y recubierta de material biocerámico por cementos.



	Tercio apical Media (DS) n=40	Tercio medio Media (DS) n=40	Tercio coronal Media (DS) n=40
Gutapercha convencional	88,57 (16,31)	83,02 (21,24)	74,20 (23,61)
Gutapercha recubierta	84,09 (21,78)	78,69 (21,78)	73,53 (26,33)

Tabla 10. Comparación del porcentaje de adaptación de la gutapercha convencional y recubierta de material biocerámico al cemento por tercios. Medias y desviación estándar (DS). El superíndice expresa los valores con diferencia estadísticamente significativa entre sí ( $p \leq 0,05$ ) para cada columna y el subíndice para cada fila.

No existen diferencias significativas entre la adaptación de la gutapercha convencional al cemento y de la recubierta de material biocerámico al cemento entre tercios.



Gráfica 7: Porcentaje de adaptación del cemento a la gutapercha convencional y recubierta de material biocerámico por tercios.

# Discusión

---



# 1. JUSTIFICACIÓN DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA

## 1.1 MUESTRA

Los estudios de laboratorio nos aportan una visión preclínica general que nos sirve para evaluar nuevos materiales y compararlos con los ya existentes <sup>187</sup>.

Debido a las técnicas microscópicas que se precisan para estudiar la penetración tubular y la adaptación a las paredes radiculares, se hace imposible emplear un modelo de estudio *in vivo*, por lo que se intenta, en la medida de lo posible, simular las condiciones clínicas con un modelo *in vitro*, empleando para ello dientes humanos extraídos.

En la selección de la muestra, y para asegurar la mayor homogeneidad posible, sólo se incluyeron en el estudio dientes unirradiculares, maxilares o mandibulares, que presentaran una curvatura apical menor de 5°. Para ello se siguió la técnica de Schneider ya que, a pesar de haberse descrito en 1971, sigue considerándose hoy en día como la más sencilla y práctica a la hora de evaluar la curvatura radicular (Imagen 18) <sup>190</sup>. Para catalogar el ángulo de curvatura se utilizó la clasificación propuesta por Seidberg donde se considera como curvatura baja aquella inferior a 5° <sup>188</sup>.

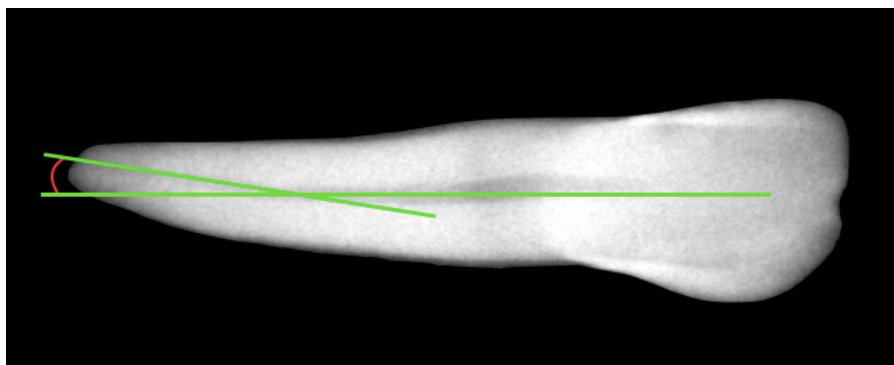


Imagen 18. Imagen radiográfica en sentido buco-lingual de uno de los dientes empleados en el estudio donde se muestra cómo se realizaron las medidas de la angulación radicular según la técnica de Schneider.

Además, los dientes seleccionados se examinaron de modo que debían estar íntegros y no haber sufrido ningún tipo de afectación coronal ni radicular ni haber recibido ningún tipo de tratamiento restaurador o endodóntico, asegurando así la menor alteración posible del conducto.

De manera previa a su inclusión en el grupo, cada diente fue sometido a una exploración radiográfica. Se realizaron dos radiografías, una mesio-distal y otra vestíbulo-lingual, y se analizó tanto el haz como la configuración anatómica del conducto. Sólo se incluyeron en el estudio aquellos dientes con una configuración tipo I de Weine<sup>189</sup> y que no presentaban alteraciones en la luz del conducto.

De todos los dientes inspeccionados se seleccionó un total de 80<sup>191,192</sup>, los cuales se dividieron entre los cuatro cementos estudiados (n=20) y a su vez entre el grupo obturado con gutapercha convencional y con gutapercha recubierta (n<sub>i</sub>=10).

Para conseguir una mayor estandarización de la muestra los dientes se seccionaron a una longitud normalizada de 15mm.

Desde su extracción hasta su examen, estandarización y posterior uso los dientes se mantuvieron almacenados en suero fisiológico para evitar la deshidratación y posible aparición de grietas o fisuras posteriores<sup>93,124</sup>.

## 1.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA SU ESTUDIO

### 1.2.1 INSTRUMENTACIÓN

La instrumentación de todos los conductos fue llevada a cabo con un sistema de instrumentación rotatorio secuencial multilima, el Mtwo.

La decisión de elegir este tipo de sistema y no uno basado en otro tipo de aleación o rotación se debe a varios factores. Se decidió descartar los sistemas de movimiento alternante ya que, en comparación con los de rotación continua, se ha registrado en la literatura que producen más *cracks* en la dentina radicular, sobre todo a nivel apical <sup>193</sup>, aunque De-Deus *et al.* posteriormente desmintieron esa relación entre la instrumentación con este tipo de sistemas y la aparición de defectos estructurales en la dentina <sup>194</sup>.

En cuanto a los sistemas rotatorios con otras aleaciones, la diferencia entre el barrillo dentinario residual tras la obturación con sistemas de instrumentación con aleación NiTi y M-Wire ha resultado no ser significativa <sup>195</sup>.

Además, el sistema Mtwo ha sido utilizado ampliamente en la literatura y continúa empleándose para evaluar los nuevos sistemas que salen al mercado <sup>196-199</sup>.

Durante la instrumentación de las muestras se empleó, como irrigante principal, el hipoclorito de sodio (NaOCl). A pesar de que se han descrito en la literatura otros irrigantes con alto poder antibacteriano, como la clorhexidina <sup>200,201</sup> o el peróxido de hidrógeno <sup>74,202</sup>, y debido a la naturaleza del estudio, el poder bactericida del irrigante queda relegado a un segundo plano. La principal propiedad de interés para la selección de este fue que pudiera disolver el tejido pulpar necrótico remanente en el conducto; siendo que el NaOCl es el único capaz de realizar dicha tarea, se procedió a descartar el resto de irrigantes <sup>203</sup>.

El NaOCl se ha empleado a concentraciones que van de 0,5 a 5,25%. El poder antibacteriano que presenta el irrigante varía en función de la concentración a la que se emplee. El uso al 5,25% es la más ampliamente seleccionada, sin embargo, puede provocar grandes problemas de irritación en los tejidos periapicales <sup>204,205</sup>. Puesto que el estudio planteado es ajeno a este tipo de tejidos se decidió emplear la solución al 5,25%.

Debido a la naturaleza del estudio, se hace obligatorio el uso de un quelante tras la instrumentación que nos elimine todo el barrillo dentinario generado y abra los túbulos dentinarios para permitir la entrada del cemento y evitar, de esta manera, que se

produzca un sesgo en los resultados como consecuencia de un taponamiento de los túbulos y no de una correcta fluidez del cemento.

El uso de estos quelantes es preferible en formato acuoso al formato gel ya que este último no elimina el barrillo de forma tan efectiva, a pesar de que su uso como lubricante durante la instrumentación sí esté recomendado <sup>206</sup>.

Pese a que la selección de quelantes en la irrigación final y su tiempo de aplicación ha sido un tema ampliamente debatido, a día de hoy no se ha definido todavía un protocolo.

Todas las investigaciones hasta el momento coinciden en que la eliminación del barrillo dentinario es peor en el tercio apical, independientemente del irrigante. Esto es debido al mayor calibre del conducto y de los túbulos dentinarios en los tercios medio y coronal, lo cual permite el flujo de un mayor volumen de irrigante, exponiendo dichos túbulos al quelante. De esta manera, cuanto mayor sea el volumen que empleemos, mejor será el resultado, al igual que, aumentando la concentración de la solución, eliminaremos más barrillo dentinario <sup>207</sup>.

Uno de los quelantes más empleados es el EDTA, el cual lo podemos encontrar en concentraciones desde el 1 al 17%, siendo esta última la más popular. Sin embargo, debemos tener cautela en la elección de la concentración ya que se ha visto que el uso prolongado del EDTA al 17% aumenta el riesgo de fractura radicular al desmineralizar la dentina peritubular e intertubular. Es por eso que se debe vigilar la concentración a la que se utiliza, bien empleándolo a altas concentraciones durante poco tiempo o a concentraciones más bajas durante un periodo más prolongado <sup>208,209</sup>.

Hay que tener en cuenta sin embargo que su uso no debe ser inferior al minuto ya que la eliminación del barrillo dentinario es ineficaz <sup>210</sup>.

Scelza *et al.* estudiaron el efecto del EDTA al 17% como irrigación final en diferentes tiempos (3, 10 y 15 min), concluyendo que el periodo de irrigación más corto fue el que obtuvo el mayor número de túbulos dentinarios abiertos y de mayor tamaño. Estos resultados los atribuyen al hecho de que pasados 3 minutos existe una saturación

de la solución dentro de los túbulos, lo cual provoca la precipitación de los componentes orgánicos y la consecuente obliteración de estos <sup>211</sup>.

La combinación de EDTA con NaOCl ha sido ampliamente estudiada, ya que el EDTA *per se* sólo elimina la parte inorgánica, dejando la orgánica intacta en las paredes dentinarias; es por esto que se aconseja tras su uso irrigar con otro solvente capaz de eliminar esta capa orgánica, como es el NaOCl <sup>212</sup>.

Sin embargo, hay que tener cautela con esta combinación ya que el uso del EDTA a altas concentraciones junto con el NaOCl provoca una mayor erosión de la dentina radicular. Hariharan *et al.* hallaron cambios estructurales en la dentina utilizando EDTA al 10% seguido de hipoclorito de sodio al 5,25% durante 2 minutos, resultando en una erosión de la dentina peritubular y la rotura de la intertubular <sup>213</sup>.

Estos hallazgos se corresponden con los estudios de Sen *et al.* y Çalt *et al.*, los cuales vieron que, al combinar el EDTA al 15% y 17%, respectivamente, seguido de NaOCl al 5,25% durante 1 minuto se aceleraba la erosión dentinaria, provocando una superficie radicular áspera y un ensanchamiento irregular de los túbulos dentinarios; este proceso es causado por la descalcificación de los componentes inorgánicos por el EDTA y la disolución de la matriz orgánica por el NaOCl. Además, dicha afectación dentinaria no se ve sólo limitada a las paredes, sino que aparece también en el interior de los túbulos dentinarios <sup>214,215</sup>.

Teixeira *et al.*, en cuyo estudio también combinaba el efecto del EDTA al 17% con el hipoclorito de sodio al 5,25%, concluyó, sin embargo, que la eliminación del barrillo dentinario era efectiva con 1 minuto de aplicación, sin verse comprometida la integridad de la dentina radicular <sup>207</sup>.

Así pues, se decidió en este estudio utilizar como irrigante final el EDTA al 17% con un periodo de irrigación de 1 minuto, puesto que se ha visto que elimina satisfactoriamente el barrillo dentinario creado por nuestra instrumentación sin alterar físicamente ni dañar la dentina radicular.



## 1.2.2 SELECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS CEMENTOS EMPLEADOS

Aunque ningún cemento sellador, actualmente, cumple todas las propiedades ideales descritas para tal <sup>21</sup>, se seleccionó el AH Plus como cemento para el grupo control ya que se considera el *gold standard* por su uso en múltiples estudios y por presentar unas propiedades más que satisfactorias <sup>216</sup>.

Como cementos de estudio, se seleccionaron tres cementos biocerámicos de diferente condición. Por un lado, el MTA Fillapex es un cemento de resina al que se le han incorporado partículas de MTA en su composición. Pese a que debe parte de sus propiedades a este, su comportamiento es diferente al de un cemento de silicato puro, asemejándose más a un cemento de resina que a un cemento biocerámico <sup>217</sup>.

Por otro lado, el EndoSequence BC Sealer y el BioRoot RCS son dos cementos de silicato que, presentando una composición muy similar, varían en su forma de presentación. El EndoSequence BC Sealer se comercializa en un formato premezclado, listo para usar, y el BioRoot RCS se presenta en forma de polvo/líquido. Así pues, y aunque ambos cementos necesiten agua para comenzar y finalizar su proceso de fraguado, en el caso del EndoSequence BC Sealer dependerá únicamente de la humedad remanente en los túbulos dentinarios, ya que el BioRoot RCS inicia su reacción al mezclarlo <sup>49</sup>.

Para poder hacer visibles los cementos en el MCL debe de añadirseles un fluorocromo; este se une al cemento durante su proceso de fraguado, de manera que lo que visualizamos a través del microscopio es, únicamente, el recorrido que ha seguido el cemento en los túbulos dentinarios <sup>218</sup>.

El fluorocromo más comúnmente empleado es la rodamina B. Sin embargo, y a pesar de que Patel *et al.* indicaran que no provoca filtraciones más allá de donde llega el cemento <sup>218</sup>, Jeong *et al.* sí que nos advierten de la afinidad que tiene el fluorocromo hacia la humedad, siendo esta mayor que hacia el calcio del propio cemento <sup>219</sup>. Esto puede provocar que en el proceso de fraguado se separe del cemento de silicato o que filtre hacia zonas de la dentina donde el cemento no ha penetrado; como consecuencia, se visualizarían en el microscopio zonas de penetración a las que el cemento realmente no ha llegado, traduciéndose en una sobreestimación de los resultados.

Así pues, para el estudio de estos cementos biocerámicos se ha propuesto el uso del indicador fluorescente Fluo-3; este se une a los iones calcio <sup>220</sup> y de este modo se visualiza únicamente la presencia del cemento a lo largo de los túbulos dentinarios.

Sin embargo, este indicador sólo puede emplearse cuando todos los cementos estudiados son a base de silicatos, no pudiendo usarse con cementos de distinta naturaleza. Debido al uso en nuestro estudio del AH Plus como grupo control, se descartó el uso de Fluo-3 por la imposibilidad de utilizarlo en todos los cementos, por lo que se seleccionó la rodamina B como fluorocromo. En nuestro caso, se empleó a una concentración del 1% basándonos en la literatura publicada <sup>221,222</sup>. Sin embargo, se han descrito con posterioridad concentraciones más bajas, como el 0,1% <sup>49,180-183,185,223-225</sup>.

### 1.2.3 TÉCNICA DE OBTURACIÓN

A pesar de que Weis *et al.* y Jeong *et al.* concluyeran que la penetración tubular es independiente de la técnica de obturación empleada <sup>219,226</sup>, más tarde Macedo *et al.* compararon numerosas técnicas de obturación entre sí y concluyeron que sí había diferencia significativa <sup>227</sup>. Así pues, y para evitar que la técnica de obturación pudiera influir en los resultados, se decidió emplear la misma en todos los cementos, independientemente de su naturaleza.

Como se ha visto anteriormente, los cementos de silicato no toleran bien las altas temperaturas, sobretodo en periodos de tiempo prolongado, ya que provocan cambios a nivel microestructural por la pérdida de agua que se produce. Estos cambios generan alteraciones en el tiempo de fraguado y en las propiedades mecánicas, traduciéndose esto en un aumento de la porosidad y debilitamiento del cemento <sup>228</sup>, así como en una disminución de la fuerza de adhesión <sup>110</sup>. Debido a las consecuencias producidas en el cemento se descartaron las técnicas de obturación con calor a la hora de elegir la técnica a emplear.

Por otro lado, los conos de gutapercha recubiertos de material biocerámico deben ser usados con técnicas de obturación donde la introducción del cono en el conducto radicular sea pasiva, de modo que no se dañe la cobertura. Por tanto, se deben emplear únicamente con la técnica de cono único o, adicionalmente, introduciendo conos accesorios sin compactación lateral <sup>229</sup>.

Así pues, debido al material que se pretendía estudiar, de entre las técnicas en frío, se seleccionó la técnica de cono único. Esta técnica presenta la ventaja de disminuir el riesgo de fractura radicular y de lesión de los tejidos periodontales por altas temperaturas. Sin embargo, tiene el inconveniente de que se obtiene una obturación radicular con mayor espesor de cemento. Este hecho, unido a la contracción que pueda tener el cemento, lleva como consecuencia la desadaptación de este de las paredes radiculares, pudiendo dar lugar tanto a la filtración de microorganismos como de fluido tisular del periápice. Además, con la entrada de este fluido, el cemento puede verse degradado más rápidamente por disolución <sup>181</sup>.

Como se ha mencionado anteriormente, los cementos de silicato no sólo no contraen durante su reacción de fraguado, sino que producen una ligera expansión. Así pues, y teniendo en cuenta que estos se ven alterados por las altas temperaturas, se han presentado como un material idóneo para emplear con la técnica de cono único, siendo también la recomendada por el fabricante para este tipo de materiales.

Hasta el día de hoy se han descrito diferentes métodos para la introducción de cemento en el conducto radicular. Básicamente, podemos dividirlos en tres: técnicas en espiral, técnicas ultrasónicas y técnicas de inyección.

Las técnicas ultrasónicas emplean dispositivos expresamente diseñados para acoplar a un aparato ultrasónico, como son las limas K ultrasónicas o el Meca-Shaper. Estas técnicas son las que producen una mejor adaptación y penetración del cemento en los túbulos dentinarios <sup>230-232</sup>.

Las técnicas de inyección traen consigo dispositivos de jeringa y aguja en donde viene el cemento ya mezclado y preparado, de modo que permite introducirlo directamente en el conducto.

Por su parte, las técnicas en espiral, son llevadas a cabo bien por instrumentos manuales o rotatorios. Los manuales, como las limas K, se rotan en sentido contrario a las agujas del reloj, dejando tras de sí el cemento. Las rotatorias, en cambio, se usan en el sentido de las agujas del reloj y dependiendo del instrumento elegido varía la velocidad; los instrumentos de NiTi se emplean a 150 rpm y el léntulo, así como el Pastinject, de 500 a 1500 rpm <sup>233,234</sup>.

A parte, se han descrito también otras formas de introducir el cemento, bien mediante ensanchadores, conos de gutapercha o puntas de papel <sup>235,236</sup>.

Como se ha mencionado, la técnica que produce una mayor distribución del cemento y penetración en los túbulos dentinarios es la ultrasónica. Dado que uno de los objetivos de este estudio era el de comparar la penetración tubular de los cementos, se descartó emplear una técnica que modificara este parámetro. Así pues, se seleccionó el léntulo ya que, tras la técnica ultrasónica, ha demostrado ser la que distribuye el cemento de manera más uniforme <sup>237-239</sup>.

Para evitar la influencia que podría tener el léntulo en la penetración de dicho cemento, este se empleó con un motor endodóntico y no con un contraángulo, de manera que se pudieran controlar las rpm a las que se utilizaba.

No existe consenso sobre las rpm a las que se debe emplear este instrumento ya que en la mayoría de las ocasiones se utiliza con contraángulo y no se menciona. Nikhil *et al.* compararon la penetración del cemento en los túbulos dentinarios con MCL introduciéndolo con léntulo y con limas rotatorias, ambos a 300 rpm, concluyendo que no encontraron diferencias estadísticamente significativas <sup>230</sup>. Sin embargo, y evitando al máximo la posible influencia sobre la penetración tubular, se decidió establecer en 150 rpm la velocidad de giro del léntulo, igualándolo a la de las limas NiTi <sup>233</sup>.

El léntulo empleado fue de calibre 25 para evitar el enclavamiento en las paredes radiculares y permitir que descendiera hasta 2 mm por encima de la longitud de trabajo

<sup>240</sup>.

## 1.2.4 PREPARACIÓN DE LOS ESPECÍMENES PARA LOS MICROSCOPIOS

Para poder estudiar los cementos en los diferentes tercios del diente las muestras fueron cortadas a tres alturas diferentes, 3, 5 y 8 mm desde el ápice<sup>128,241</sup>. El tercio apical se estableció a 3 mm desde el ápice para minimizar la inclusión de deltas o irregularidades apicales que pudieran afectar a la estandarización de la muestra<sup>224</sup>.

## 1.3 TÉCNICAS MICROSCÓPICAS EMPLEADAS

La mayoría de autores que estudian la penetración tubular de diversos materiales (bien de cementos selladores o de irrigantes) emplea el MCL<sup>180,218,222,225,241-243</sup>. La ventaja que presenta esta técnica es que permite visualizar la penetración del cemento a lo largo de todo el recorrido del túbulo dentinario. Esto es posible ya que no sólo estudia la capa superficial de la sección que le damos, sino que realiza diferentes cortes de la muestra, a 20-30 µm de profundidad<sup>244</sup>, y los superpone, dándonos una imagen tridimensional de esta y permitiéndonos observar todo el recorrido que ha tenido el cemento en la dentina radicular.

A pesar de que es una técnica seccional, esta no requiere la eliminación previa del barrillo dentinario generado por el disco, por lo que las muestras no son sometidas a procesos que puedan provocar artefactos y que, posteriormente, nos den lugar a error en nuestras mediciones<sup>224,244</sup>.

Técnicas como la MEB también han sido empleadas para el estudio de la penetración tubular<sup>245-248</sup>, sin embargo, se ha visto que no nos permiten estudiar bien el comportamiento del cemento ya que solo analiza la sección superficial de la muestra y, por tanto, debe coincidir que en esa sección haya habido penetración y que los túbulos dentinarios estén abiertos para poder ver directamente el cemento en su interior<sup>244</sup>.

Sin embargo, esta técnica ha sido ampliamente utilizada para el estudio de la interfase entre cemento-dentina o para evaluar las características superficiales del material en cuestión <sup>247,249</sup>. A pesar de esto, las imágenes que obtenemos no son siempre reflejo de la realidad ya que los materiales pueden verse gravemente afectados por las características intrínsecas de la propia técnica <sup>220,241,244,248,250</sup>.

Por esto, la adaptación de estos nuevos cementos debe estudiarse con otro tipo de métodos que no alteren el material. Para ello, se ha hecho uso de la micro-CT o se ha estudiado la filtración de manera indirecta, analizando esta con la filtración de tintes, glucosa, formación de colonias bacterianas o mediante sistemas de transporte de fluidos, habiendo resultado todos aptos para el estudio de estos materiales. <sup>115,169,170,174,251</sup>.

La micro-CT se ha establecido actualmente como una de las técnicas más usada debido a la posibilidad que nos ofrece de estudiar los cementos sin tener que manipular la muestra. Sin embargo, tiene el inconveniente de producir dispersión en las imágenes obtenidas, siendo esta dependiente del material que se estudia <sup>134</sup>. En función del voltaje empleado y la radioopacidad del material la dispersión que se produce es mayor o menor, por lo que, al comparar entre muestras con diferente radioopacidad, los resultados pueden sub o sobreestimarse <sup>170</sup>. De la misma forma, la sensibilidad de la prueba variará en función del tamaño del voxel que tenga la micro-CT. Kim *et al.* compararon esta técnica con el EM y comprobaron que, mientras que con la micro-CT no encontraron diferencias significativas entre los cementos, con el EM sí que las había. Este resultado podría deberse a la pérdida de material producida en la sección de las muestras, sin embargo, encontraron diferencias entre grupos obturados con el mismo cemento, por lo que concluyeron que la micro-CT parece ser menos sensible en la detección de espacios que el EM <sup>252</sup>.

En nuestro caso, se decidió emplear el EM ya que es una técnica que estudia las muestras en condiciones ambientales, por lo que permite observarlas sin que ellas sufran ningún tipo de modificación <sup>174</sup>. Esta característica elimina el riesgo de que los materiales puedan sufrir cualquier alteración durante su preparación o estudio posterior, de manera que los resultados que se obtienen son lo más fieles posibles a la realidad. Por otro lado,

sólo es posible visualizar la parte de la muestra que hemos seccionado, por lo que la información que obtenemos es más limitada que con otras técnicas como la micro-CT <sup>253</sup>.

## 2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

A continuación, se procederá a revisar los resultados obtenidos en el estudio. La comparación de estos con los publicados en la literatura se hace difícil debido a la falta de uniformidad en la metodología empleada por los autores, incluyendo diferencias en las técnicas de microscopía, técnicas de obturación y forma de presentación de los resultados obtenidos <sup>184,187,246</sup>.

### 2.1 PENETRACIÓN TUBULAR

A pesar de contar con unos criterios de inclusión y exclusión rigurosos dirigidos a seleccionar una muestra lo más homogénea posible, la distribución tubular de la dentina esclerótica es muy difícil de estandarizar, influyendo esto en la penetración tubular y en los resultados obtenidos en el estudio <sup>224</sup>.

La penetración tubular resultó ser mayor en sentido vestíbulo-lingual que mesio-distal, independientemente del cemento. Este efecto se ha sido descrito previamente por otros autores y se le conoce como “efecto mariposa”. Este aparece más frecuentemente en dientes unirradiculares y es independiente de la edad. Se debe a la esclerosis tubular de las zonas mesial y distal del conducto, produciéndose a lo largo de toda la raíz (Imagen 19 y 20) <sup>254-256</sup>.



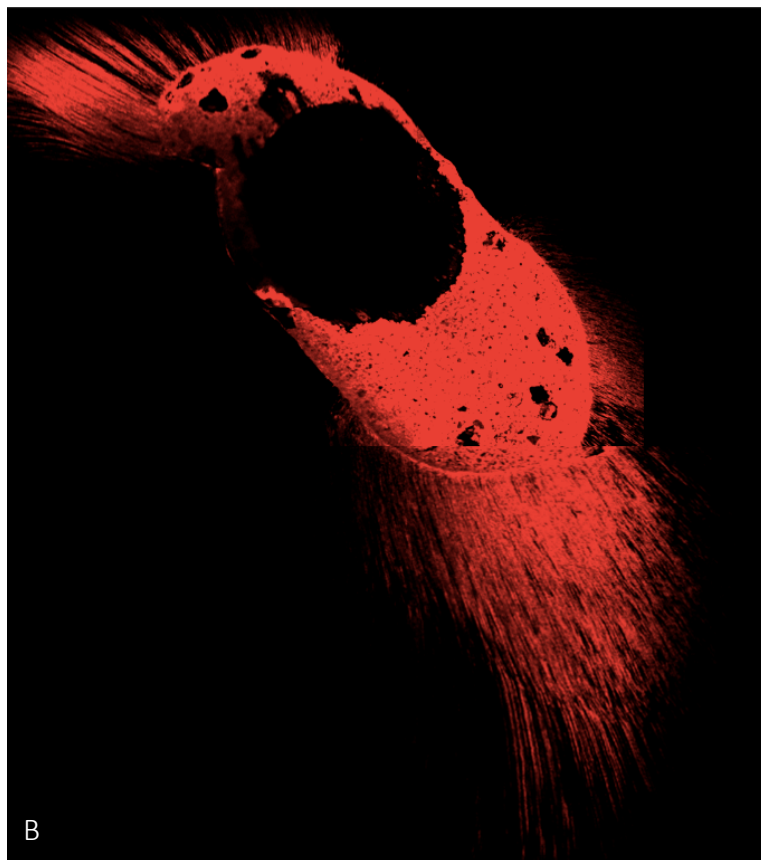


Imagen 19. Imágenes parejas de EM (A) y MCL (B) que muestran el “efecto mariposa” en la distribución del cemento sellador dentro de los túbulos dentinarios.

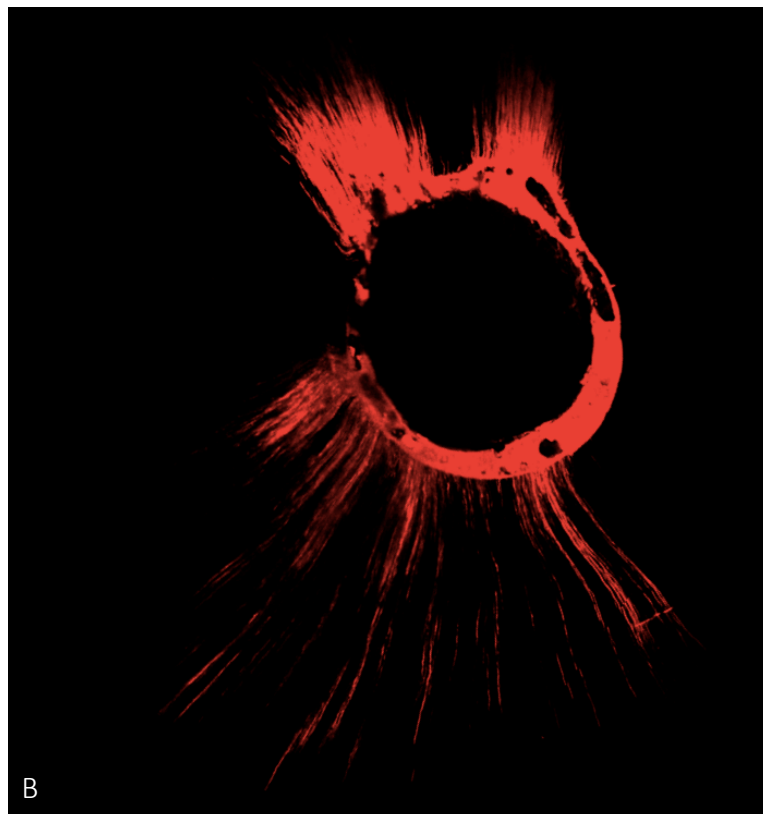
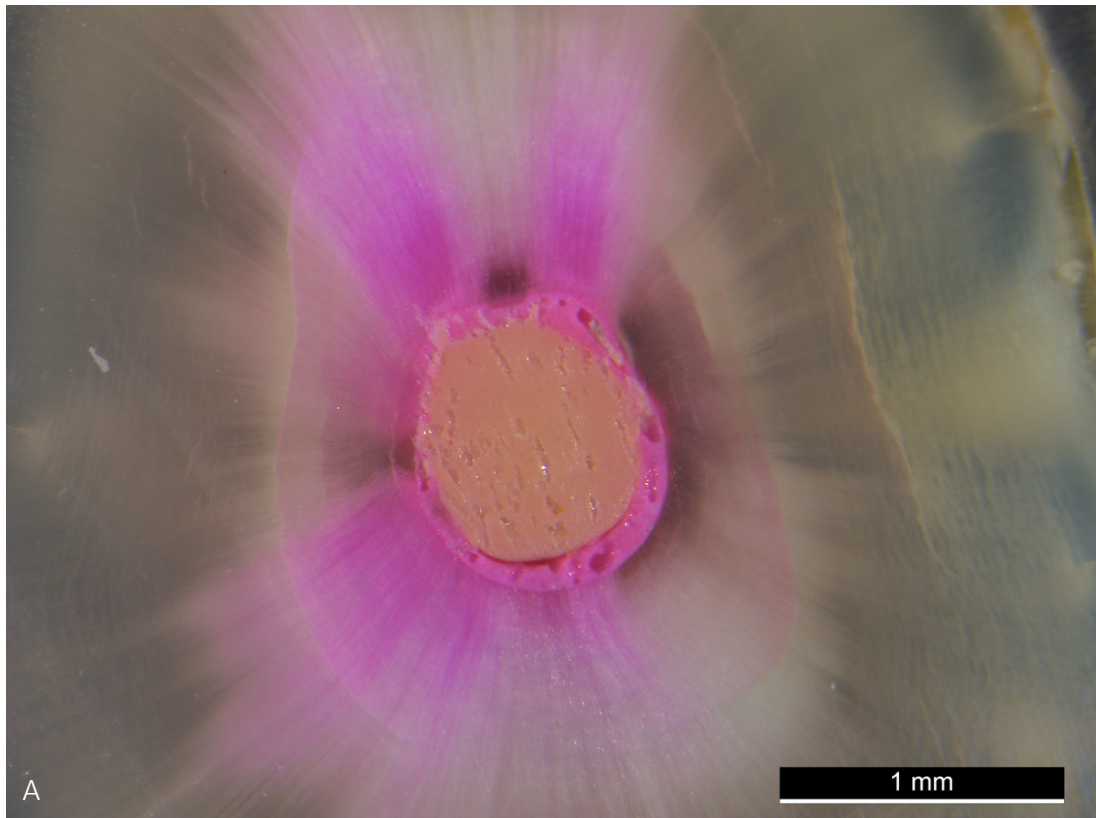


Imagen 20. Imágenes parejas de EM (A) y MCL (B) que muestran el “efecto mariposa” en la distribución del cemento sellador dentro de los túbulos dentinarios.

### 2.1.1 PROFUNDIDAD MÁXIMA DE PENETRACIÓN TUBULAR

Nuestros resultados muestran una mayor penetración tubular del cemento EndoSequence que del resto de los cementos estudiados. Esto puede ser debido en parte al tamaño de la partícula que presenta ( $<1 \mu\text{m}$ )<sup>257,258</sup> y a la gran fluidez del cemento<sup>141,259</sup>. La combinación de estas dos propiedades hace al cemento capaz de penetrar en los túbulos dentinarios, con diámetros de  $2-3,2 \mu\text{m}$ <sup>260</sup>, y lograr alcanzar grandes profundidades.

La media total de máxima penetración del EndoSequence fue de  $964,96 \mu\text{m}$ , muy superior a la obtenida por Jeong *et al.* en su estudio ( $318,66 \mu\text{m}$ ). Esta diferencia en los resultados puede deberse al empleo de diferentes fluorocromos. Mientras que en nuestro caso se tuvo que seleccionar la rodamina B, como hemos indicado, los autores emplearon Fluo-3, pudiendo verse nuestros resultados sobreestimados. Sin embargo, en todos los cementos estudiados se obtuvieron valores de máxima penetración considerablemente superiores a los obtenidos en dicho estudio, incluso en aquellos cementos de otra naturaleza<sup>219</sup>.

Por otro lado, El Hachem *et al.* y Eymirli *et al.*, que también emplearon la rodamina B como fluorocromo, obtuvieron profundidades de penetración mayores a las alcanzadas por nosotros ( $1152$  y  $2060 \mu\text{m}$  respectivamente). Puesto que el EndoSequence fue el único cemento que emplearon Eymirli *et al.* en el estudio, no podemos comparar estos valores con los de cementos de otra naturaleza. Por otro lado, en el estudio de El Hachem *et al.*, a pesar de haber obtenido medias ligeramente superiores a las nuestras, la tendencia en los niveles de profundidad máxima, en cuanto a tercios y naturaleza de los cementos, coincide con nuestros resultados, obteniendo el EndoSequence mejores valores que el AH Plus<sup>185,261</sup>.

Kim *et al.* y Türker *et al.*, sin embargo, obtuvieron una profundidad de penetración en el AH Plus ligeramente superior a la de los cementos de silicato estudiados<sup>154,262</sup>.

Los resultados obtenidos del grupo control, el AH Plus, son similares a los publicados hasta ahora<sup>256,263</sup>. Chandra *et al.* y Türker *et al.* obtuvieron valores de

penetración máxima superiores a los nuestros. Esta diferencia puede deberse a la obtención de los cortes transversales de las muestras de niveles más coronales que los que presentamos <sup>241,262</sup>.

En el caso de Signh *et al.* y Shokouhinejad *et al.*, obtuvieron profundidades de penetración máximas muy inferiores (20-24  $\mu\text{m}$ ), hecho que responde a las limitaciones de la técnica microscópica empleada, el MEB <sup>245,247</sup>.

A pesar de que la penetración tubular del BioRoot ha resultado equiparable a la del AH Plus, esta ha sido significativamente inferior a la del EndoSequence. Esta diferencia entre cementos de la misma naturaleza puede residir en la composición de ambos materiales <sup>184</sup>.

### 2.1.2 PORCENTAJE DE PERÍMETRO CON PENETRACIÓN TUBULAR

El estudio del porcentaje de perímetro con penetración tubular tiene gran importancia clínica ya que este proporciona una barrera física frente a la entrada o salida de microorganismos al sistema de conductos, independientemente de la profundidad de penetración. Así pues, el aumento de la superficie de contacto del cemento con la dentina radicular influencia el sellado de esta <sup>219,245</sup>. A pesar de ello, pocos son los estudios que se centran en valorar este parámetro.

En nuestro estudio, el cemento que mejor porcentaje de perímetro con penetración tubular presentó fue, globalmente, el EndoSequence, presentando una media total de 53,02%.

Los porcentajes de penetración tubular obtenidos coinciden con los publicados por Wang *et al.*, los cuales emplearon la misma técnica de obturación y de microscopía <sup>181</sup>.

McMichael *et al.* estudiaron varios cementos biocerámicos entre sí y obtuvieron también porcentajes de penetración tubular similares a los nuestros. En dicho estudio, el MTA Fillapex presentó mejores porcentajes de penetración y mayor profundidad de penetración con la técnica de obturación de onda continua que con la de cono único. Esta puede ser una de las causas por las que tanto el AH Plus como el MTA Fillapex obtuvieran, en nuestro estudio, peores resultados que el EndoSequence <sup>184</sup>.

### 2.1.3 TERCIO CON MAYOR PORCENTAJE DE PERÍMETRO PENETRADO Y PROFUNDIDAD MÁXIMA ALCANZADA

En general, tanto en la profundidad de penetración tubular como en el porcentaje de penetración, el tercio que presentó valores significativamente más bajos fue el tercio apical y el que los obtuvo más altos el coronal.

Estos resultados coinciden con los de otros autores <sup>170,181-184,218,224-226,241,245,264</sup> y se deben a varios factores. Por un lado, la cantidad de túbulos dentinarios que encontramos en la dentina radicular disminuye en sentido corono-apical; de la misma manera, en el tercio apical es donde más frecuentemente se pueden encontrar áreas de dentina esclerótica, teniendo los túbulos dentinarios un calibre menor y, al contrario, en el tercio coronal donde mayor calibre presentan éstos <sup>265</sup>. Además, a esto se le suma el hecho de la dificultad que tienen los irrigantes para acceder a las zonas más distales del sistema de conductos, de modo que la eliminación del barrillo dentinario generado es menor en el tercio apical, quedando muchos túbulos obliterados y afectando a la penetración del cemento en esta zona <sup>224,266</sup>.

Es por esto que, independientemente del cemento y de la técnica de obturación, la tendencia de penetración tubular es decreciente en sentido corono-apical <sup>181,183,184,227,243</sup>.

Shokouhinejad *et al.*, sin embargo, hallaron mayor porcentaje de penetración tubular en el tercio medio que en los otros dos. Esta discrepancia en los resultados puede

deberse a la metodología empleada; los autores analizan una muestra seccionada a nivel longitudinal con MEB para observar la penetración tubular y, como se ha mencionado anteriormente, esta técnica sólo permite visualizar el cemento en los túbulos dentinarios que han quedado abiertos mediante el corte <sup>247</sup>.

## 2.2 ADAPTACIÓN DEL CEMENTO A LAS PAREDES DENTINARIAS

La interfase entre los diferentes materiales de obturación y la dentina radicular es de suma importancia a nivel clínico ya que la presencia de espacios puede dar lugar a la filtración bacteriana y consecuente reinfección del sistema de conductos.

### 2.2.1 PORCENTAJE DE ADAPTACIÓN DEL CEMENTO A LAS PAREDES DENTINARIAS

Los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas entre las adaptaciones de los dos cementos de silicato estudiados, el EndoSequence y el BioRoot, y el de resina. Los cementos biocerámicos presentan mejor humectancia que los de resina; esto supone una mejor capacidad para extenderse por la dentina, por lo que tienen mayor facilidad de adaptarse, rellenar irregularidades y penetrar en los túbulos dentinarios <sup>217</sup>. Además, estos cementos no producen contracción en su proceso de fraguado, por lo que la adaptación inicial queda presente tras su endurecimiento.

Nuestros resultados difieren con los de Arikatla *et al.*, los cuales utilizaron el MCL para la evaluación de la interfase cemento-dentina, y encontraron menor número de espacios en el cemento de resina <sup>180</sup>. Del mismo modo, Viapiana *et al.*, que emplearon la micro-CT para evaluar los espacios de aire presentes en el conducto tras su obturación,

también hallaron mayor porcentaje de espacios en el cemento de silicato que en el de resina <sup>170</sup>. Kim *et al.* por su parte empleó tanto la micro-CT como el EM y mientras que con el primero no obtuvo diferencias significativas entre cementos, con el EM sí que encontró mayor número de espacios en el cemento de silicato; sin embargo, la técnica de obturación empleada por estos fue diferente entre ambos cementos, pudiendo esto dar lugar a diferencias no sólo debidas a la capacidad de adaptación del cemento <sup>252</sup>. No obstante, Wang *et al.* y Al-Haddad *et al.* compararon cementos de diferente naturaleza, de silicato y de resina, combinados con diferentes técnicas de obturación y, a pesar de esto, el cemento biocerámico resultó en ambos casos equiparable al de resina <sup>181,221</sup>.

Por otro lado, el cemento que peor adaptación presentó de forma significativa fue el MTA Fillapex, coincidiendo este resultado con el de otros autores <sup>105,249, 265, 267</sup>. Es sabido que los cementos de resina producen contracción durante su fraguado (0,4-0,7%), mientras que los de silicato generan una ligera expansión (0,1-0,2%) <sup>88,141</sup>; esto, sumado a una técnica de obturación que deja amplios grosores de cemento, pudiera ser una de las causas de estos resultados.

A pesar de que la diferencia obtenida entre el AH Plus en comparación con los cementos biocerámicos no ha sido significativa, sí que lo ha sido con el MTA Fillapex. Demiriz *et al.* también hayaron mayor tamaño de desadaptación en este cemento que en el AH Plus <sup>268</sup>. Nagas *et al.* observaron también una desadaptación casi total del cemento tanto en ambiente húmedo como seco <sup>105</sup>. El origen de que el MTA Fillapex haya resultado inferior en su adaptación puede deberse a su composición. Como se ha comentado anteriormente, este cemento resulta de una combinación de resina con partículas de MTA; en su composición lleva incorporada resina con salicilato, la cual provoca una contracción inicial durante el proceso de fraguado mucho mayor que la producida por las resinas epóxicas, pudiendo ser esta la causa de la discrepancia en los resultados con el AH Plus <sup>267</sup>.

## 2.2.2 TERCIO RADICULAR CON MAYOR ADAPTACIÓN

El tercio que presentó mejor adaptación del cemento a las paredes dentinarias fue el apical.

Este resultado coincide con los publicados por otros autores previamente <sup>253,265,269,270</sup> y puede ser debido al ajuste apical del cono de gutapercha empleado, el cual genera una fuerza hidráulica mayor a ese nivel, favoreciendo la adaptación del cemento a las paredes del conducto radicular <sup>223</sup>. Además, tanto en el tercio coronal como medio es sabido que los conductos tienden a ser más ovalados, hecho que presenta siempre un reto tanto a la hora de instrumentar como de obtener una buena obturación posterior <sup>180,270</sup>.

Sin embargo, otros autores obtuvieron mejor adaptación en el tercio coronal en comparación con el apical. Esto puede deberse a que la técnica de obturación empleada por los autores fue la condensación lateral, la cual provoca una capa de cemento no homogénea, o a una técnica de estudio diferente. Los autores justifican este resultado aludiendo a la presencia de restos de barrillo dentinario en el tercio apical, el cual actuaría dificultando la adaptación del cemento en ese tercio <sup>180,221,249</sup>.

## 2.3 ADAPTACIÓN DEL CEMENTO A LA GUTAPERCHA CONVENCIONAL Y RECUBIERTA DE MATERIAL BIOCERÁMICO

El diseño de conos de gutapercha con recubrimiento cerámico pretende garantizar un sellado hermético entre el cemento y la gutapercha proporcionado por una unión química entre ambos.

Poco son los autores que han estudiado la influencia del uso de gutaperchas recubiertas con material biocerámico al propio cemento. Hasta hoy, aquellos más representados en la bibliografía han sido los del sistema Activ GP (Brasseler USA, Georgia, EE.UU.). Este, basado en un sistema de ionómero de vidrio, cuenta con conos de



gutapercha recubiertos de este mismo material que forma una unión entre éstos y el cemento. Sin embargo, esta unión se ha estudiado midiendo la fuerza de adhesión generada y no se ha encontrado diferencia entre la obturación con este tipo de sistemas y con gutapercha convencional.<sup>271</sup> A pesar de esto, se ha observado un aumento en la resistencia a la fractura cuando el sistema se usaba conjuntamente (cemento y conos recubiertos) y también cuando los conos se utilizaban en combinación con cementos de silicato, presuponiendo una unión química entre ambos <sup>272</sup>.

Nuestros resultados no muestran que exista diferencia significativa entre la adaptación al cemento de conos convencionales y recubiertos de material cerámico.

A pesar de esto, se deberían llevar a cabo estudios con estos conos de gutapercha en combinación con diversos cementos de silicato y de otras naturalezas para verificar y medir esta unión.

# Conclusiones

---



Dentro de las limitaciones de este estudio, tras analizar los resultados obtenidos y respondiendo a los objetivos que se plantean, se presentan a continuación las siguientes conclusiones:

1. La penetración intratubular de los grupos de estudio resultó, en todos los cementos, satisfactoria, siendo esta desigual entre los tercios y los materiales estudiados.
2. De manera general, se puede decir que los cementos estudiados, cuando se analiza su penetración intratubular a lo largo del perímetro seccionado del conducto radicular, se sitúa en torno al 40% del perímetro.
3. El cemento EndoSequence resultó el cemento mejor valorado, tanto en cuanto a la profundidad tubular como a la cantidad de perímetro del conducto penetrado.
4. El tercio radicular que presentó de forma clara una mayor penetración dentro de los túbulos dentinarios fue el tercio coronal.
5. La observación con EM de las interfases entre el material de obturación y las paredes del conducto radicular fue, en términos generales, apropiada, mostrando una buena adaptación, aunque distribuida de manera irregular independientemente del cemento y del tercio radicular estudiado.
6. El MTA Fillapex fue el cemento que peor adaptación presentó a las paredes dentinarias.
7. La zona radicular con mejor adaptación del cemento a las paredes del conducto radicular fue el tercio apical.
8. No se han detectado diferencias en la adaptación entre el cono de gutapercha y el cemento, tanto para las puntas convencionales como para recubiertas de material cerámico.

La investigación sobre estos nuevos materiales es relevante para llegar a conocer el comportamiento clínico de estos, para ello es pertinente continuar desarrollando más estudios que aporten información adicional en este sentido.



# Anexos

---



## ANEXO 1

Consentimiento informado entregado a los pacientes para la cesión de los dientes extraídos previo a su incorporación al estudio.



D. / D<sup>a</sup>.....

Con D.N.I. n<sup>o</sup>.....

**Habiendo solicitado tratamiento en la Clínica Odontológica (Fundació Lluís Alcanyís)**

**ACEPTO QUE:**

- El tratamiento sea realizado por los alumnos del Grado/Postgrado en Odontología de la Universitat de València, bajo la supervisión de los Profesores que intervengan en dicho tratamiento y que los registros que se tomen: radiografías, fotografías o filmaciones; puedan ser utilizados con fines docentes y de investigación, protegiendo la identidad del paciente.
- Se puedan producir molestias y efectos secundarios durante o tras el tratamiento odontológico, derivados del propio procedimiento terapéutico.
- El paciente pasará a la clínica sin acompañante. El tiempo de espera de las citas pueda variar en función de la disponibilidad del servicio.

**CONSIENTO QUE:**

En caso de donar los dientes que tengan que ser extraídos, se utilicen en proyectos de investigación, respetando mi derecho a la intimidad y la no difusión de dato identificador alguno.

**DECLARO QUE:** (Rodee lo correcto)

- SÍ / NO tengo conocimiento de haber padecido, o padecer en la actualidad enfermedad contagiosa.
- SÍ / NO tengo contraindicación alguna para la realización de pruebas radiológicas.

El abajo firmante acepta los términos expuestos y consiente que sus datos de carácter personal y de salud, sean utilizados con las finalidades indicadas en este documento.

**Derecho a la información en la recogida de datos**

(Art. 5 de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal).

Los datos personales suministrados en el presente impreso y aquéllos que se deriven de la asistencia al paciente quedarán incorporados al fichero “pacientes odontología” titularidad de la Fundació Lluís Alcanyís de la Comunitat Valenciana, que gestiona la Clínica Odontológica de la Universitat de València. La información obtenida será procesada para la gestión de pacientes de la Clínica.

Los datos de carácter personal serán tratados con las previsiones del Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal en el que se regulan las medidas de seguridad necesarias para garantizar la confidencialidad y la integridad de la información.

Los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición podrán ejercitarse mediante escrito adjuntando documento identificativo ante la Fundació Lluís Alcanyís de la Comunitat Valenciana, C/ Gascó Oliag, 1, 46010 – Valencia.

Y para que así conste a todos los efectos

Valencia,..... de..... de.....

Fdo.:

## ANEXO 2

Aprobación del informe del Comité de Ética de la *Univesitat de València* para el uso de muestras biológicas dentro del estudio.

**D. José María Montiel Company**, Profesor Contratado Doctor Interino del departamento de Estomatología, y Secretario del Comité Ético de Investigación en Humanos de la Comisión de Ética en Investigación Experimental de la Universitat de València,

**CERTIFICA:**

Que el Comité Ético de Investigación en Humanos, en la reunión celebrada el día 6 de junio de 2016, una vez estudiado el proyecto de tesis doctoral titulado:

*"Obtención de los conductos radiculares con cementos biocerámicos y gutapercha recubierta del mismo material: análisis morfológico de las interfaces entre ambos materiales y la adaptación a las paredes del conducto"*, número de procedimiento III460624886119, cuya responsable es Dña. Paula Muedra Bort, dirigida por Dña. Carmen Llena Puy, D. Leopoldo Forner Navarro y D. Adrián Lozano Alcañiz,

ha acordado informar favorablemente el mismo dado que se respetan los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki, en el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y cumple los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética.

Y para que conste, se firma el presente certificado en Valencia, a ocho de junio de dos mil dieciséis.



## ANEXO 3

Artículo de investigación publicado en la revista Endodoncia.

# Adaptación marginal de tres cementos biocerámicos

## Marginal adaptation of three bioceramic-based sealers

Paula Muedra Bort, Leopoldo Forner Navarro, Adrián Lozano Alcañiz, Carmen Llena Puy

Máster en endodoncia

Unidad docente de patología y terapéutica dentales

Departamento de estomatología

Universitat de València

Clínica odontológica. Universitat de València. C/ Gascó Oliag, 1, 46010 Valencia

### RESUMEN

**Objetivo.** Evaluar la interfase entre tres cementos biocerámicos y la pared del conducto radicular, comparándolos con un cemento de resina.

**Material y Métodos:** Se seleccionaron 80 dientes unirradiculares, los cuales se dividieron en 4 grupos de acuerdo al cemento de obturación: 1 (MTA FillApex), 2 (EndoSequence BC Sealer), 3 (Bio Root) y 4 (AHPlus). Los dientes se decoronaron dejando una longitud estándar de 15 mm; se instrumentaron con el sistema Mtwo hasta la lima 35/04. Se irrigó con hipoclorito al 5'25%, EDTA al 17% y se finalizó la irrigación con solución salina. La obturación se realizó con gutapercha 35/04 y técnica de cono único. Las muestras fueron cortadas a 3, 5 y 8 mm del ápice y se observaron con un estereomicroscopio. Obtenidas las imágenes, se midió el perímetro del conducto en el que hubo adaptación del cemento (expresado como porcentaje respecto a la longitud total del perímetro del conducto) a tres niveles: apical, medio y coronal. Los resultados se analizaron mediante el test de Kruskal Wallis, con una significación de  $p < 0,05$ .

**Resultados:** El grupo 1 presentó significativamente peor adaptación a las paredes dentinarias que el resto de cementos estudiados en todos los tercios (apical, 63,71%; medio, 69,53%; coronal, 50,82%). Aunque no se encontraron diferencias significativas, el tercio que mejor adaptación presentó fue el apical.

**Conclusiones:** MTA Fillapex, globalmente, se comportó significativamente peor que los otros cementos evaluados. No existen diferencias significativas entre la adaptación a las paredes dentinarias del BioRoot y el Endosequence y el AHPlus.

**Palabras clave:** cemento sellador biocerámico, estereomicroscopio, adaptación, cono único.

### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the interface between three bioceramic-based sealers and the root canal wall, comparing them with a resin-based sealer.

**Material and Methods:** 80 single-rooted teeth were selected and divided into 4 groups according to the sealer: 1 (MTA Fillapex), 2 (EndoSequence BC Sealer), 3 (Bio Root) y 4 (AHPlus). Crowns were sectioned at 15mm from the apex; all the roots were instrumented with Mtwo system until 35/04 file. Canals were irrigated with 5'25% sodium hypochlorite, 17% EDTA and a final rinse with saline solution. The roots were obturated with 35/04 gutta-percha and single-cone technique. The samples were sectioned at 3, 5 and 8 mm from the apex and were observed with a stereo microscope. The images taken were analyzed; the root canal perimeter where there was adaptation was measure (expressed as a percentage regarding to the root canal total perimeter) at three levels: apical, middle and coronal. The results were analyzed statistically by the Kruskal Wallis test with a  $p < 0,05$  significance level.

**Results:** Group 1 presented significantly worst adaptation to the canal walls than the other studied sealers (apical, 63,71%; middle, 69,53%; coronal, 50,82%). The third with the worst adaptation was the apical, even though there were no statistical differences.

**Conclusions:** MTA Fillapex, overall, behaved worse than the other sealers studied. There was no statistical difference between AH Plus, BioRoot and EndoSequence on the canal wall adaptation.

**Key words:** bioceramic sealer, stereo microscope, adaptation, single cone.

Correspondencia: Prof. Dr. Forner. Clínica odontológica. Universitat de València. C/ Gascó Oliag, 1, 46010 Valencia

# Bibliografía

---



1. Ratner BD. The Biocompatibility Manifesto: Biocompatibility for the Twenty-first Century. *J of Cardiovasc Trans Res.* 2011;4(5):523-7.
2. Finch J. The ancient origins of prosthetic medicine. *The Lancet.* Elsevier Ltd; 2011;377(9765):548-9.
3. Patel NR, Gohil PP. A Review on biomaterials: scope, applications & human anatomy significance. *Int J Emerging Technol Adv Eng.* 2012;2(4):91-101.
4. Orgaz F, Rincon J, Capel F. Materiales bioceramicos y biovidrios. *BOL SOC ESP CERAM VIDR.* 1985;26(1):1-8.
5. Kao ST, Scott DD. A Review of Bone Substitutes. *ORAL MAXIL SURG CLIN.* 2007;19(4):513-21.
6. Vallet-Regi M. *Bio-Ceramics with Clinical Applications.* John Wiley & Sons; 2014.
7. Dorozhkin SV. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials.* 2010;31(7):1465-85.
8. De-Aza PN, De-Aza AH, De-aza S. Crystalline Bioceramic Materials. *BOL SOC ESP CERAM V.* 2015;44(3):135-45.
9. Vallet-Regí M. Biocerámicas: evolución y aplicaciones. *An Quim.* 2011;107(1):28-35.
10. Kellomäki M, Niiranen H, Puumanen K, Ashammakhi N, Waris T, Törmälä P. Bioabsorbable scaffolds for guided bone regeneration and generation. *Biomaterials.* 2000;21(24):2495-505.
11. Wang Z. Bioceramic materials in endodontics. *Endod Topics.* 2015;32(1):3-30.
12. Lee S-J, Monsef M, Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. *J Endod.* 1993;19(11):541-4.
13. Torabinejad M, Hong C, McDonald F, Pittford T. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995;21(7):349-53.
14. Camilleri J. The chemical composition of mineral trioxide aggregate. *J Conserv Dent.* 2008;11(4):141-3.
15. Jitaru S, Hodisan I, Timis L, Lucian A, Bud M. The use of bioceramics in endodontics - literature review. *Clujul Med.* 2016;89(4):470-3.
16. Oliveira MG de, Xavier CB, Demarco FF, Pinheiro ALB, Costa AT, Pozza DH. Comparative chemical study of MTA and Portland cements. *Braz Dent J.* 2007;18(1):3-7.
17. Alhadainy HA. Root perforations: A review of literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78(3):368-74.



18. Viana N, Tanomaru-Filho M, Sérgio P. MTA versus Portland cement: review of literature. *Rev Sul-bras Odontol.* 2011;8(4):446-52
19. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mater.* 2013;29(2):e20-8.
20. Koch KA, Brave DG, Nasseh AA. Bioceramic technology: closing the endo-restorative circle, Part I. *Dent Today.* 2010;29(2):100-5.
21. Grossman LI. An improved root canal cement. *J Am Dent Assoc.* 1958;56(3):381-5.
22. Modareszadeh MR, Di Fiore PM, Tipton DA, Salamat N. Cytotoxicity and alkaline phosphatase activity evaluation of EndoSequence Root Repair Material. *J Endod.* 2012;38(8):1101-5.
23. De-Deus G, Canabarro A, Alves GG, Linhares ABR, Senne MI, Granjeiro JM. Optimal cytocompatibility of a bioceramic nanoparticulate cement in primary human mesenchymal cells. *J Endod.* 2009;35(10):1387-90.
24. Mukhtar-Fayyad D. Cytocompatibility of new bioceramic-based materials on human fibroblast cells (MRC-5). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Pral Radiol Endod.* 2011;112(6):e137-42.
25. Zanini M, Sautier JM, Berdal A, Simon S. Biodentine Induces Immortalized Murine Pulp Cell Differentiation into Odontoblast-like Cells and Stimulates Biomineralization. *J Endod.* 2012;38(9):1220-6.
26. Güven EP, Yalvaç ME, Kayahan MB, Sunay H, Sahın F, Bayirli G. Human tooth germ stem cell response to calcium-silicate based endodontic cements. *J Appl Oral Sci.* 2013;21(4):351-7.
27. Güven EP, Taşlı PN, Yalvac ME, Sofiev N, Kayahan MB, Sahin F. In vitro comparison of induction capacity and biomineralization ability of mineral trioxide aggregate and a bioceramic root canal sealer. *Int Endod J.* 2013;46(12):1173-82.
28. Mestieri LB, Gomes-Cornélio AL, Rodrigues EM, Salles LP, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM, et al. Biocompatibility and bioactivity of calcium silicate-based endodontic sealers in human dental pulp cells. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(5):467-71.
29. Samyuktha V, Ravikumar P, Nagesh B, Ranganathan K, Jayaprakash T, Sayesh V. Cytotoxicity evaluation of root repair materials in human-cultured periodontal ligament fibroblasts. *J Conserv Dent.* 2014;17(5):467-70.
30. Collado-González M, García-Bernal D, Oñate-Sánchez RE, Ortolani-Seltenerich PS, Lozano A, Forner L, et al. Biocompatibility of three new calcium silicate-

- based endodontic sealers on human periodontal ligament stem cells. *Int Endod J.* 2017;50(9):875-84.
31. Camps J, Jeanneau C, Laurent P, About I. Bioactivity of a Calcium Silicate-based Endodontic Cement (BioRoot RCS): Interactions with human periodontal ligament cells in vitro. *J Endod.* 2015;41(9):1469-73.
  32. Jeanneau C, Giraud T, Laurent P, About I. BioRoot RCS extracts modulate the early mechanisms of periodontal inflammation and regeneration. *J Endod.* 2019;45(8):1016-23.
  33. Giacomino CM, Wealleans JAW, Kuhn N, Diogenes A. Comparative biocompatibility and osteogenic potential of two bioceramic sealers. *J Endod.* 2019;45(1):51-6.
  34. Poggio C, Riva P, Chiesa M, Colombo M, Pietrocola G. Comparative cytotoxicity evaluation of eight root canal sealers. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(4):e574-8.
  35. Vouzara T, Dimosiari G, Koulaouzidou EA, Economides N. Cytotoxicity of a new calcium silicate endodontic sealer. *J Endod.* 2018;44(5):849-52.
  36. Baraba A, Pezelj-Ribaric S, Roguljić M, Miletic I. Cytotoxicity of two bioactive root canal sealers. *Acta Stomatol Croat.* 2016;50(1):8-13.
  37. De-Deus G, Canabarro A, Alves GG, Marins JR, Linhares ABR, Granjeiro JM. Cytocompatibility of the ready-to-use bioceramic putty repair cement iRoot BP Plus with primary human osteoblasts. *Int Endod J.* 2012;45(6):508-13.
  38. Zhang W, Li Z, Peng B. Ex vivo cytotoxicity of a new calcium silicate-based canal filling material. *Int Endod J.* 2010;43(9):769-74.
  39. Lee JK, Kwak SW, Ha J-H, Lee W, Kim H-C. Physicochemical properties of epoxy resin-based and bioceramic-based root canal sealers. *Bioinorg Chem Appl.* 2017;2017:2582849.
  40. Zhou H-M, Du T-F, Shen Y, Wang Z-J, Zheng Y-F, Haapasalo M. In vitro cytotoxicity of calcium silicate-containing endodontic sealers. *J Endod.* 2015;41(1):56-61.
  41. Ma J, Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Biocompatibility of two novel root repair materials. *J Endod.* 2011;37(6):793-8.
  42. Zoufan K, Jiang J, Komabayashi T, Wang Y-H, Safavi KE, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of Gutta Flow and Endo Sequence BC sealers. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(5):657-61.
  43. Alanezi AZ, Jiang J, Safavi KE, Spangberg LSW, Zhu Q. Cytotoxicity evaluation of endosequence root repair material. *2010 Mar 1;109(3):e122-5.*

44. da Silva EJNL, Zaia AA, Peters OA. Cytocompatibility of calcium silicate-based sealers in a three-dimensional cell culture model. *Clin Oral Investig*. 2017;21(5):1531-6.
45. Silva EJNL, Carvalho NK de, Ronconi CT, de Deus G, Zuolo ML, Zaia AA. Cytotoxicity profile of endodontic sealers provided by 3D cell culture experimental model. *Braz Dent J*. 2016;27(6):652-6.
46. Ciasca M, Aminoshariae A, Jin G, Montagnese T, Mickel A. A comparison of the cytotoxicity and proinflammatory cytokine production of EndoSequence root repair material and ProRoot mineral trioxide aggregate in human osteoblast cell culture using reverse-transcriptase polymerase chain reaction. *J Endod*. 2012;38(4):486-9.
47. Damas BA, Wheeler MA, Bringas JS, Hoen MM. Cytotoxicity comparison of Mineral Trioxide Aggregates and EndoSequence Bioceramic Root Repair Materials. *J Endod*. 2011;37(3):372-5.
48. Willershausen I, Wolf T, Kasaj A, Weyer V, Willershausen B, Marroquin BB. Influence of a bioceramic root end material and mineral trioxide aggregates on fibroblasts and osteoblasts. *Arch Oral Biol*. 2013;58(9):1232-7.
49. Benezra MK, Wismayer PS, Camilleri J. Interfacial characteristics and cytocompatibility of hydraulic sealer cements. *J Endod*. 2018;44(6):1007-17.
50. Jiang Y, Zheng Q, Zhou X, Gao Y, Huang D. A comparative study on root canal repair materials: a cytocompatibility assessment in L929 and MG63 cells. *ScientificWorldJournal*. 2014;2014:463826.
51. Shi S, Bao Z-F, Chen X, Zhang D-D. Cytotoxicity of a novel endodontic treatment material iRoot BP Plus to human gingival fibroblasts. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2014;23(6):681-4.
52. Jafari F, Jafari S, Etesamnia P. Genotoxicity, bioactivity and clinical properties of calcium silicate based sealers: A literature review. *Iran Endod J*. 2017;12(4):407-13.
53. Siboni F, Taddei P, Zamparini F, Prati C, Gandolfi MG. Properties of BioRoot RCS, a tricalcium silicate endodontic sealer modified with povidone and polycarboxylate. *Int Endod J*. 2017;50 Suppl 2:e120-36.
54. Zhang W, Li Z, Peng B. Effects of iRoot SP on Mineralization-related genes expression in MG63 cells. 2010;36(12):1978-82.
55. Yuan Z, Peng B, Jiang H, Bian Z, Yan P. Effect of Bioaggregate on mineral-associated gene expression in osteoblast cells. *J Endod*. 2010;36(7):1145-8.

56. Jung JY, Woo SM, Lee BN, Koh JT, Nör JE, Hwang YC. Effect of Biodentine and Bioaggregate on odontoblastic differentiation via mitogen-activated protein kinase pathway in human dental pulp cells. *Int Endod J.* 2014;48(2):177-84.
57. Zordan-Bronzel CL, Tanomaru-Filho M, Rodrigues EM, Chávez-Andrade GM, Faria G, Guerreiro-Tanomaru JM. Cytocompatibility, bioactive potential and antimicrobial activity of an experimental calcium silicate-based endodontic sealer. *Int Endod J.* 2019; 52(7):979-86.
58. Costa F, Sousa Gomes P, Fernandes MH. Osteogenic and angiogenic response to calcium silicate-based endodontic sealers. *J Endod.* 2016;42(1):113-9.
59. Zaki DY, Zaazou MH, Khallaf ME, Hamdy TM. In vivo comparative evaluation of periapical healing in response to a calcium silicate and calcium hydroxide based endodontic sealers. *Open Access Maced J Med Sci.* 2018;6(8):1475-9.
60. Chen I, Karabucak B, Wang C, Wang H-G, Koyama E, Kohli MR, et al. Healing after root-end microsurgery by using mineral trioxide aggregate and a new calcium silicate-based bioceramic material as root-end filling materials in dogs. *J Endod.* 2015;41(3):389-99.
61. Sultana N, Singh M, Nawal RR, Chaudhry S, Yadav S, Mohanty S, et al. Evaluation of biocompatibility and osteogenic potential of tricalcium silicate-based cements using human bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *J Endod.* 2018;44(3):446-51.
62. Chen I, Salhab I, Setzer FC, Kim S, Nah H-D. A new calcium silicate-based bioceramic material promotes human osteo- and odontogenic stem cell proliferation and survival via the extracellular signal-regulated kinase signaling pathway. *J Endod.* 2016;42(3):480-6.
63. Wongwatanasanti N, Jantararat J, Sritanaudomchai H, Hargreaves KM. Effect of bioceramic materials on proliferation and odontoblast differentiation of human stem cells from the apical papilla. *J Endod.* 2018;44(8):1270-5.
64. Edrees HY, Zeid STHA, Atta HM, AlQriqri MA. Induction of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells by bioceramic root repair material. *Materials (Basel).* 2019;12(14):2311.
65. Dimitrova-Nakov S, Uzunoglu E, Ardila-Osorio H, Baudry A, Richard G, Kellermann O, et al. In vitro bioactivity of Bioroot™ RCS, via A4 mouse pulpal stem cells. *Dent Mater.* 2015;31(11):1290-7.
66. da Fonseca TS, Silva GF, Tanomaru JMG, Cerri ES, Filho MT, Cerri PS. Mast cells and immunoexpression of FGF-1 and Ki-67 in rat subcutaneous tissue following the implantation of Biodentine and MTA Angelus. *Int Endod J.* 2019;52(1):54-67.

67. Machado J, Johnson JD, Paranjpe A. The effects of EndoSequence Root Repair Material on differentiation of dental pulp cells. *J Endod.* 2016;42(1):101-5.
68. Miller AA, Takimoto K, Wealleans J, Diogenes A. Effect of 3 bioceramic materials on stem cells of the apical papilla proliferation and differentiation using a dentin disk model. *J Endod.* 2018;44(4):599-603.
69. Yuan Z, Zhu X, Li Y, Yan P, Jiang H. Influence of iRoot SP and mineral trioxide aggregate on the activation and polarization of macrophages induced by lipopolysaccharide. *BMC Oral Health.* 2018;18(1):56.
70. Lee B-N, Lee K-N, Koh J-T, Min K-S, Chang H-S, Hwang I-N, et al. Effects of 3 endodontic bioactive cements on osteogenic differentiation in mesenchymal stem cells. *J Endod.* 2014;40(8):1217-22.
71. Singh G, Elshamy FM, Homeida H, Boreak N, Gupta I. An in vitro comparison of antimicrobial activity of three endodontic sealers with different composition. *J Contemp Dent Pract.* 2016;17(7):553-6.
72. Damlar I, Ozcan E, Yula E, Yalcin M, Celik S. Antimicrobial effects of several calcium silicate-based root-end filling materials. *Dent Mater J.* 2014;33(4):453-7.
73. Lovato KF, Sedgley CM. Antibacterial activity of EndoSequence Root Repair Material and ProRoot MTA against clinical isolates of *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2011;37(11):1542-6.
74. Poggio C, Trovati F, Ceci M, Colombo M, Pietrocola G. Antibacterial activity of different root canal sealers against *Enterococcus faecalis*. *J Clin Exp Dent.* 2017;9(6):e743-8.
75. Zhang H, Shen Y, Ruse ND, Haapasalo M. Antibacterial activity of endodontic sealers by modified direct contact test against *Enterococcus faecalis*. *J Endod.* 2009;35(7):1051-5.
76. Candeiro GTM, Moura-Netto C, D'Almeida-Couto RS, Azambuja-Júnior N, Marques MM, Cai S, et al. Cytotoxicity, genotoxicity and antibacterial effectiveness of a bioceramic endodontic sealer. *Int Endod J.* 2015;49(9):858-64.
77. Kapralos V, Koutroulis A, Ørstavik D, Titterud Sunde P, Valen Rukke H. Antibacterial activity of endodontic sealers against planktonic bacteria and bacteria in biofilms. *J Endod.* 2018;44(1):149-54.
78. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dental materials with antibiofilm properties. *Dent Mater.* 2014;30(2):e1-16.

79. Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Dentin extends the antibacterial effect of endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms. *J Endod*. 2014;40(4):505-8.
80. Bukhari S, Karabucak B. The antimicrobial effect of bioceramic sealer on an 8-week matured *Enterococcus faecalis* biofilm attached to root canal dentinal surface. *J Endod*. 2019; 45(8):1047-52.
81. Alsubait S, Albader S, Alajlan N, Alkhunaini N, Niazy A, Almahdy A. Comparison of the antibacterial activity of calcium silicate- and epoxy resin-based endodontic sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms: a confocal laser-scanning microscopy analysis. *Odontology*. 2019;107(4):513-20.
82. Zhang H, Pappen FG, Haapasalo M. Dentin enhances the antibacterial effect of Mineral Trioxide Aggregate and Bioaggregate. *J Endod*. 2009;35(2):221-4.
83. Shin J-H, Lee D-Y, Lee S-H. Comparison of antimicrobial activity of traditional and new developed root sealers against pathogens related root canal. *J Dent Sci*. 2018;13(1):54-9.
84. Du T, Wang Z, Shen Y, Ma J, Cao Y, Haapasalo M. Combined antibacterial effect of sodium hypochlorite and root canal sealers against *Enterococcus faecalis* biofilms in dentin canals. *J Endod*. 2015;41(8):1294-8.
85. Dohaithem A, Al-Nasser A, Al-Badah A, Al-Nazhan S, Al-Maflehi N. An in vitro evaluation of antifungal activity of Bioaggregate. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(4):e27-e30.
86. Alsalleh F, Chung N, Stephenson L. Antifungal activity of Endosequence Root Repair Material and Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod*. 2014;40(11):1815-9.
87. Prati C, Siboni F, Polimeni A, Bossu M, Gandolfi MG. Use of calcium-containing endodontic sealers as apical barrier in fluid-contaminated wide-open apices. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2014;12(3):263-70.
88. Zhou H-M, Shen Y, Zheng W, Li L, Zheng Y-F, Haapasalo M. Physical properties of 5 root canal sealers. *J Endod*. 2013;39(10):1281-6.
89. Prüllage R-K, Urban K, Schäfer E, Dammaschke T. Material properties of a tricalcium silicate-containing, a mineral trioxide aggregate-containing, and an epoxy resin-based root canal sealer. *J Endod*. 2016;42(12):1784-8.
90. Tanomaru-Filho M, Jorge EG, Tanomaru JMG, Gonçalves M. Evaluation of the radiopacity of calcium hydroxide- and glass-ionomer-based root canal sealers. *Int Endod J*. 2008;41(1):50-3.
91. Xuereb M, Vella P, Damidot D, Sammut CV, Camilleri J. In situ assessment of the setting of tricalcium silicate-based sealers using a dentin pressure model. *J Endod*. 2015;41(1):111-24.

92. Ustün Y, Topçuoğlu HS, Akpek F, Aslan T. The effect of blood contamination on dislocation resistance of different endodontic reparative materials. *J Oral Sci.* 2015;57(3):185-90.
93. Charland T, Hartwell GR, Hirschberg C, Patel R. An evaluation of setting time of mineral trioxide aggregate and EndoSequence root repair material in the presence of human blood and minimal essential media. *J Endod.* 2013;39(8):1071-2.
94. Qu W, Bai W, Liang Y-H, Gao X-J. Influence of warm vertical compaction technique on physical properties of root canal sealers. *J Endod.* 2016;42(12):1829-33.
95. Camilleri J. Sealers and warm gutta-percha obturation techniques. *J Endod.* 2015;41(1):72-8.
96. Razmi H, Bolhari B, Dashti NK, Fazlyab M. The effect of canal dryness on bond strength of bioceramic and epoxy-resin sealers after irrigation with sodium hypochlorite or chlorhexidine. *Iran Endod J.* 2016;11(2):129-33.
97. Moinzadeh AT, Zerbst W, Boutsoukis C, Shemesh H, Zaslansky P. Porosity distribution in root canals filled with gutta percha and calcium silicate cement. *Dent Mater.* 2015;31(9):1100-8.
98. DeLong C, He J, Woodmansey KF. The Effect of Obturation Technique on the Push-out Bond Strength of Calcium Silicate Sealers. *J Endod.* 2015;41(3):385-8.
99. Marciano MA, Ordinola-Zapata R, Cunha TVRN, Duarte MAH, Cavenago BC, Garcia RB, et al. Analysis of four gutta-percha techniques used to fill mesial root canals of mandibular molars. *Int Endod J.* 2011;44(4):321-9.
100. Marashdeh MQ, Friedman S, Lévesque C, Finer Y. Esterases affect the physical properties of materials used to seal the endodontic space. *Dent Mat.* 2019;35(8): 1065-72.
101. Madhuri GV, Varri S, Bolla N, Mandava P, Akkala LS, Shaik J. Comparison of bond strength of different endodontic sealers to root dentin: An in vitro push-out test. *J Conserv Dent.* 2016;19(5):461-4.
102. Sagsen B, Ustün Y, Demirbuga S, Pala K. Push-out bond strength of two new calcium silicate-based endodontic sealers to root canal dentine. *Int Endod J.* 2011;44(12):1088-91.
103. Taşdemir T, Er K, Celik D, Tahan E, Serper A, Ceyhanli KT, et al. Bond strength of calcium silicate-based sealers to dentine dried with different techniques. *Med Princ Pract.* 2014;23(4):373-6.
104. Ersahan S, Aydin C. Dislocation resistance of iRoot SP, a calcium silicate-based sealer, from radicular dentine. *J Endod.* 2010;36(12):2000-2.

105. Nagas E, Uyanik MO, Eymirli A, Cehreli ZC, Vallittu PK, Lassila LVJ, et al. Dentin Moisture Conditions Affect the Adhesion of Root Canal Sealers. *J Endod.* 2012;38(2):240-4.
106. Shokouhinejad N, Razmi H, Nekoofar MH, Sajadi S, Dummer PM, Khoshkhounejad M. Push-out bond strength of bioceramic materials in a synthetic tissue fluid. *J Dent (Tehran).* 2013;10(6):540-7.
107. Pawar AM, Pawar S, Kfir A, Pawar M, Kokate S. Push-out bond strength of root fillings made with C-Point and BC sealer versus gutta-percha and AH Plus after the instrumentation of oval canals with the Self-Adjusting File versus WaveOne. *Int Endod J.* 2016;49(4):274-81.
108. Ozkocak I, Sonat B. Evaluation of effects on the adhesion of various root canal sealers after Er:YAG laser and irrigants are used on the dentin surface. *J Endod.* 2015;41(8):1331-6.
109. Carvalho CN, Grazziotin-Soares R, Candeiro GT de M, Martinez LG, de Souza JP, Oliveira PS, et al. Micro push-out bond strength and bioactivity analysis of a bioceramic root canal sealer. *Iran Endod J.* 2017; 12(3):343-8.
110. Dabaj P, Kalender A, Unverdi Eldeniz A. Push-out bond strength and SEM evaluation in roots filled with two different techniques using new and conventional sealers. *Materials (Basel).* 2018;11(9):1620.
111. Donnermeyer D, Dornseifer P, Schäfer E, Dammaschke T. The push-out bond strength of calcium silicate-based endodontic sealers. *Head Face Med;* 2018;14:13.
112. Silva EJ, Carvalho NK, Zanon M, Senna PM, de Deus G, Zuolo ML, et al. Push-out bond strength of MTA HP, a new high-plasticity calcium silicate-based cement. *Braz Oral Res.* 2016;30(1).
113. Govindaraju L, Neelakantan P, Gutmann JL. Effect of root canal irrigating solutions on the compressive strength of tricalcium silicate cements. *Clin Oral Investig.* 2017;21(2):567-71.
114. Tuna EB, Dinçol ME, Gençay K, Aktören O. Fracture resistance of immature teeth filled with BioAggregate, mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. *Dent Traumatol.* 2011;27(3):174-8.
115. Atom J, Moolchandani K. To study and compare the apical sealing ability and fracture resistance to root canal dentine with Endosequence bioceramic, MTA and AH plus sealers -an ex- vivo study. *J Int Dent Med Res.* 2018;2(7):21-6.
116. Shokouhinejad N, Hoseini A, Gorjestani H, Shamshiri AR. The effect of different irrigation protocols for smear layer removal on bond strength of a new bioceramic sealer. *Iran Endod J.* 2013;8(1):10-3.



117. Gündoğar M, Sezgin GP, Erkan E, Özyılmaz ÖY. The influence of the irrigant QMix on the push-out bond strength of a bioceramic endodontic sealer. *Eur Oral Res.* 2018;52(2):64-8.
118. Shokouhinejad N, Gorjestani H, Nasseh AA, Hoseini A, Mohammadi M, Shamshiri AR. Push-out bond strength of gutta-percha with a new bioceramic sealer in the presence or absence of smear layer. *Aust Endod J.* 2013;39(3):102-6.
119. Carvalho NK, Prado MC, Senna PM, Neves AA, Souza EM, Fidel SR, et al. Do smear-layer removal agents affect the push-out bond strength of calcium silicate-based endodontic sealers?. *Int Endod J.* 2016;50(6):612-9.
120. El-Ma'aita AM, Qualtrough AJE, Watts DC. The effect of smear layer on the push-out bond strength of root canal calcium silicate cements. *Dent Mater.* 2013;29(7):797-803.
121. Wanees Amin SA, Seyam RS, El-Samman MA. The effect of prior calcium hydroxide intracanal placement on the bond strength of two calcium silicate-based and an epoxy resin-based endodontic sealer. *J Endod.* 2012;38(5):696-9.
122. Ghabraei S, Bolhari B, Yaghoobnejad F, Meraji N. Effect of intra-canal calcium hydroxide remnants on the push-out bond strength of two endodontic sealers. *Iran Endod J.* 2017;12(2):168-72.
123. Nagas E, Cehreli Z, Uyanik MO, Durmaz V. Bond strength of a calcium silicate-based sealer tested in bulk or with different main core materials. *Braz Oral Res.* 2014;28(1).
124. Loushine BA, Bryan TE, Looney SW, Gillen BM, Loushine RJ, Weller RN, et al. Setting properties and cytotoxicity evaluation of a premixed bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2011;37(5):673-7.
125. Al-Haddad AY, Kutty MG, Abu Kasim NH, Che Ab Aziz ZA. The effect of moisture conditions on the constitution of two bioceramic-based root canal sealers. *J Dent Sci.* 2017;12(4):340-6.
126. Shokouhinejad N, Hoseini A, Gorjestani H, Raof M, Assadian H, Shamshiri AR. Effect of phosphate-buffered saline on push-out bond strength of a new bioceramic sealer to root canal dentin. *Dent Res J (Isfahan).* 2012;9(5):595-9.
127. Khurana N, Chourasia HR, Singh G, Mansoori K, Nigam AS, Jangra B. Effect of drying protocols on the bond strength of bioceramic, mta and resin-based sealer obturated teeth. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2019;12(1):33-6.
128. Gade VJ, Belsare LD, Patil S, Bhede R, Gade JR. Evaluation of push-out bond strength of endosequence BC sealer with lateral condensation and thermoplasticized technique: An in vitro study. *J Conserv Dent.* 2015;18(2):124-7.

129. Shokouhinejad N, Yazdi KA, Nekoofar MH, Matmir S, Khoshkhounejad M. Effect of acidic environment on dislocation resistance of endosequence root repair material and mineral trioxide aggregate. *J Dent (Tehran)*. 2014;11(2):161-6.
130. Wang Z, Ma J, Shen Y, Haapasalo M. Acidic pH weakens the microhardness and microstructure of three tricalcium silicate materials. *Int Endod J*. 2015;48(4):323-32.
131. Hashem AAR, Amin SAW. The effect of acidity on dislodgment resistance of Mineral Trioxide Aggregate and Bioaggregate in furcation perforations: an in vitro comparative study. *J Endod*. 2012;38(2):245-9.
132. Leiendecker AP, Qi Y-P, Sawyer AN, Niu L-N, Agee KA, Loushine RJ, et al. Effects of calcium silicate-based materials on collagen matrix integrity of mineralized dentin. *J Endod*. 2012;38(6):829-33.
133. Dibaji F, Afkhami F, Bidkhori B, Kharazifard MJ. Fracture resistance of roots after application of different sealers. *Iran Endod J*. 2017;12(1):50-4.
134. Celikten B, Jacobs R, de Faria Vasconcelos K, Huang Y, Shaheen E, Nicolielo LFP, et al. Comparative evaluation of cone beam CT and micro-CT on blooming artifacts in human teeth filled with bioceramic sealers. *Clin Oral Investig*. 2018;23(8):1-7.
135. Topçuoğlu HS, Tuncay Ö, Karataş E, Arslan H, Yeter K. In vitro fracture resistance of roots obturated with epoxy resin-based, Mineral Trioxide Aggregate-based, and bioceramic root canal sealers. *J Endod*. 2013;39(12):1630-3.
136. Sağsen B, Ustün Y, Pala K, Demirbuğa S. Resistance to fracture of roots filled with different sealers. *Dent Mater J*. 2012;31(4):528-32.
137. Patil P, Banga K, Pawar A, Pimple S, Ganeshan R. Influence of root canal obturation using gutta-percha with three different sealers on root reinforcement of endodontically treated teeth. An in vitro comparative study of mandibular incisors. *J Conserv Dent*. 2017;20(4):241-7.
138. Hegde V, Arora S. Fracture resistance of roots obturated with novel hydrophilic obturation systems. *J Conserv Dent*. 2015;18(3):261-4.
139. Ghoneim AG, Lutfy RA, Sabet NE, Fayyad DM. Resistance to fracture of roots obturated with novel canal-filling systems. *J Endod*. 2011;37(11):1590-2.
140. Poggio C, Dagna A, Ceci M, Meravini M-V, Colombo M, Pietrocola G. Solubility and pH of bioceramic root canal sealers: A comparative study. *J Clin Exp Dent*. 2017;9(10):e1189-94.
141. Zordan-Bronzel CL, Esteves Torres FF, Tanomaru-Filho M, Chávez-Andrade GM, Bosso-Martelo R, Guerreiro-Tanomaru JM. Evaluation of physicochemical

- properties of a new calcium silicate-based sealer, Bio-C Sealer. *J Endod.* 2019;45(10):1248-52.
142. Candeiro GTM, Correia FC, Duarte MAH, Ribeiro-Siqueira DC, Gavini G. Evaluation of radiopacity, pH, release of calcium ions, and flow of a bioceramic root canal sealer. *J Endod.* 2012;38(6):842-5.
143. Han L, Okiji T. Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. *Int Endod J.* 2013;46(9):808-14.
144. Souza LC de, Yadlapati M, Dorn SO, Silva R, Letra A. Analysis of radiopacity, pH and cytotoxicity of a new bioceramic material. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(4):383-9.
145. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Razmi H, Sajadi S, Davies TE, Saghiri MA, et al. Bioactivity of EndoSequence root repair material and bioaggregate. *Int Endod J.* 2012;45(12):1127-34.
146. Wu BC, Wei CK, Hsueh NS, Ding SJ. Comparative cell attachment, cytotoxicity and antibacterial activity of radiopaque dicalcium silicate cement and white-coloured Mineral Trioxide Aggregate. *Int Endod J.* 2014;48(3):268-76.
147. Khalil I, Naaman A, Camilleri J. Properties of tricalcium silicate sealers. *J Endod.* 2016;42(10):1529-35.
148. Borges RP, Sousa-Neto MD, Versiani MA, Rached-Júnior FA, De-Deus G, Miranda CES, et al. Changes in the surface of four calcium silicate-containing endodontic materials and an epoxy resin-based sealer after a solubility test. *Int Endod J.* 2012;45(5):419-28.
149. Hansen SW, Marshall JG, Sedgley CM. Comparison of intracanal EndoSequence Root Repair Material and Proroot MTA to induce pH changes in simulated root resorption defects over 4 weeks in matched pairs of human teeth. *J Endod.* 2011;37(4):502-6.
150. Ersahan S, Aydin C. Solubility and apical sealing characteristics of a new calcium silicate-based root canal sealer in comparison to calcium hydroxide-, methacrylate resin- and epoxy resin-based sealers. *Acta Odontol Scand.* 2013;71(3-4):857-62.
151. Oltra E, Cox TC, LaCourse MR, Johnson JD, Paranjpe A. Retreatability of two endodontic sealers, EndoSequence BC Sealer and AH Plus: a micro-computed tomographic comparison. *Restor Dent Endod.* 2017;42(1):19-26.
152. Aksel H, Küçükkaya S, Askerbeyli S, Ocağ MS, Çelik H. Micro-CT evaluation of the removal of root fillings using the ProTaper Universal Retreatment system supplemented by the XP-Endo Finisher file. *Int Endod J.* 2019;52:1070-6.

153. Malka VB, Hochscheidt GL, Larentis NL, Grecca FS, Fontanella VRC, Kopper PMP. A new in vitro method to evaluate radio-opacity of endodontic sealers. *Dentomaxillofac Radiol.* 2015;44(5):20140422.
154. Kim H, Kim E, Lee S-J, Shin S-J. Comparisons of the retreatment efficacy of calcium silicate and epoxy resin-based sealers and residual sealer in dentinal tubules. *J Endod.* 2015;41(12):2025-30.
155. Candeiro GT de M, Lavor AB, Lima IT de F, Vasconcelos BC de, Gomes NV, Iglecias EF, et al. Penetration of bioceramic and epoxy-resin endodontic cements into lateral canals. *Braz Oral Res.* 2019;33:361-7.
156. Viapiana R, Baluci CA, Tanomaru-Filho M, Camilleri J. Investigation of chemical changes in sealers during application of the warm vertical compaction technique. *Int Endod J.* 2014;48(1):16-27.
157. Jefferies S. Bioactive and biomimetic restorative materials: A comprehensive review. Part II. *J Esthet Restor Dent.* 2014;26(1):27-39.
158. Felman D, Parashos P. Coronal tooth discoloration and White Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod.* 2013;39(4):484-7.
159. Kang S-H, Shin Y-S, Lee H-S, Kim S-O, Shin Y, Jung I-Y, et al. color changes of teeth after treatment with various Mineral Trioxide Aggregate-based materials: an ex vivo study. *J Endod.* 2015;41(5):737-41.
160. Marconyak LJ, Kirkpatrick TC, Roberts HW, Roberts MD, Aparicio A, Himel VT, et al. A comparison of coronal tooth discoloration elicited by various endodontic reparative materials. *J Endod.* 2016;42(3):470-3.
161. Lee D-S, Lim M-J, Choi Y, Rosa V, Hong C-U, Min K-S. Tooth discoloration induced by a novel mineral trioxide aggregate-based root canal sealer. *Eur J Dent.* 2016;10(3):403-7.
162. Palma PJ, Marques JA, Falacho RI, Correia E, Vinagre A, Santos JM, et al. Six-month color stability assessment of two calcium silicate-based cements used in regenerative endodontic procedures. *J Funct Biomater.* 2019;10(1):14.
163. Marconyak LJ Jr., Kirkpatrick TC, Roberts HW, Roberts MD, Aparicio A, Himel VT, et al. A comparison of coronal tooth discoloration elicited by various endodontic reparative materials. *J Endod.* 2016;42(3):470-3.
164. Vallés M, Mercadé M, Duran-Sindreu F, Bourdelande JL, Roig M. Influence of light and oxygen on the color stability of five calcium silicate-based materials. *J Endod.* 2013;39(4):525-8.
165. Forghani M, Gharechahi M, Karimpour S. In vitro evaluation of tooth discoloration induced by mineral trioxide aggregate Fillapex and iRoot SP endodontic sealers. *Aust Endod J.* 2016;42(3):99-103.

166. Beatty H, Svec T. Quantifying coronal tooth discoloration caused by Biodentine and EndoSequence Root Repair Material. *J Endod.* 2015;41(12):2036-9.
167. Eghbal MJ, Torabzadeh H, Bagheban AA, Shamszadeh S, Marvasti LA, Asgary S. Color stability of Mineral Trioxide Aggregate and calcium enriched mixture cement. *J Invest Clin Dent.* 2015;7(4):341-6.
168. Yoldaş SE, Bano M, Atabek D, Bodur H. Comparison of the potential discoloration effect of Bioaggregate, Biodentine, and White Mineral Trioxide Aggregate on bovine teeth: in vitro research. *J Endod.* 2016;42(12):1815-8.
169. Zhang W, Peng B. Assessment of a new root canal sealer's apical sealing ability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* Mosby; 2009;107(6):e79-e82.
170. Viapiana R, Moinzadeh AT, Camilleri L, Wesselink PR, Filho MT, Camilleri J. Porosity and sealing ability of root fillings with gutta-percha and BioRoot RCS or AH Plus sealers. Evaluation by three ex vivo methods. *Int Endod J.* 2016;49(8):774-82.
171. Orosco FA, Bramante CM, Garcia RB, Bernardineli N, Moraes IG de. Sealing ability, marginal adaptation and their correlation using three root-end filling materials as apical plugs. *J Appl Oral Sci.* 2010;18(2):127-34.
172. Sayed El MA, Saeed MH. In vitro comparative study of sealing ability of Diadent BioAggregate and other root-end filling materials. *J Conserv Dent.* 2012;15(3):249-4.
173. Jeevani E, Jayaprakash T, Bolla N, Vemuri S, Sunil CR, Kalluru RS. Evaluation of sealing ability of MM-MTA, Endosequence, and Biodentine as furcation repair materials: UV spectrophotometric analysis. *J Conserv Dent.* 2014;17(4):340-3.
174. Ballullaya SV, Vinay V, Thumu J, Devalla S, Bollu IP, Balla S. Stereomicroscopic dye leakage measurement of six different root canal sealers. *J Clin Diagn Res.* 2017;11(6):ZC65-8.
175. Leal F, De-Deus G, Brandão C, Luna AS, Fidel SR, Souza EM. Comparison of the root-end seal provided by bioceramic repair cements and White MTA. *Int Endod J.* 2011;44(7):662-8.
176. Nair U, Ghattas S, Saber M, Walker C, Pileggi R. A comparative evaluation of the sealing ability of 2 root-end filling materials: an in vitro leakage study using *Enterococcus faecalis*. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;112(2):e74-7.
177. Lertmalapong P, Jantarat J, Srisatjaluk RL, Komoltri C. Bacterial leakage and marginal adaptation of various bioceramics as apical plug in open apex model. *J Invest Clin Dent.* 2019;10(1):e12371.

178. Hirschberg CS, Patel NS, Patel LM, Kadouri DE, Hartwell GR. Comparison of sealing ability of MTA and EndoSequence Bioceramic Root Repair Material: a bacterial leakage study. *Quintessence Int.* 2013;44(5):e157-62.
179. Shokouhinejad N, Nekoofar MH, Ashoftehyazdi K, Zahraee S, Khoshkhounejad M. Marginal adaptation of new bioceramic materials and Mineral Trioxide Aggregate: a Scanning Electron Microscopy study. *Iran Endod J.* 2014;9(2):144-8.
180. Arikatla SK, Chalasani U, Mandava J, Yelisela RK. Interfacial adaptation and penetration depth of bioceramic endodontic sealers. *J Conserv Dent.* 2018;21(4):373-7.
181. Wang Y, Liu S, Dong Y. In vitro study of dentinal tubule penetration and filling quality of bioceramic sealer. *PLoS ONE.* 2018;13(2):e0192248.
182. Kim Y, Kim B-S, Kim Y-M, Lee D, Kim S-Y. The penetration ability of calcium silicate root canal sealers into dentinal tubules compared to conventional resin-based sealer: A Confocal Laser Scanning Microscopy study. *Materials (Basel).* 2019;12(3):531.
183. Akcay M, Arslan H, Durmus N, Mese M, Capar ID. Dentinal tubule penetration of AH Plus, iRoot SP, MTA fillapex, and guttaflow bioseal root canal sealers after different final irrigation procedures: A confocal microscopic study. *Lasers Surg Med.* 2016;48(1):70-6.
184. McMichael GE, Primus CM, Opperman LA. Dentinal tubule penetration of tricalcium silicate sealers. *J Endod.* 2016;42(4):632-6.
185. Eymirli A, Sungur DD, Uyanik O, Puralı N, Nagas E, Cehreli ZC. Dentinal tubule penetration and retreatability of a calcium silicate-based sealer tested in bulk or with different main core material. *J Endod.* 2019;45(8):1036-40.
186. Dawood AE, Parashos P, Wong RHK, Reynolds EC, Manton DJ. Calcium silicate-based cements: composition, properties, and clinical applications. *J Invest Clin Dent.* 2017;8(2):e12195.
187. Silva Almeida LH, Moraes RR, Morgental RD, Pappen FG. Are premixed calcium silicate-based endodontic sealers comparable to conventional materials? A systematic review of in vitro studies. *J Endod.* 2017;43(4):527-35.
188. Seidberg BH, Altman M, Guttuso J, Suson M. Frequency of Two Mesiobuccal Root Canals in Maxillary Permanent First Molars. *J Am Dent Assoc.* 1973;87(4):852-6.
189. Weine FS, Healey HJ, Gerstein H, Evanson L. Canal configuration in the mesiobuccal root of the maxillary first molar and its endodontic significance. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1969;28(3):419-25.

190. Schneider SW. A comparison of canal preparations in straight and curved root canals. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1971;32(2):271-5.
191. Simsek N, Keles A, Ahmetoglu F, Ocak MS, Yologlu S. Comparison of different retreatment techniques and root canal sealers: A Scanning Electron Microscopic study. *Braz Oral Res.* 2014;28.
192. Sönmez IS, Sönmez D, Almaz ME. Evaluation of push-out bond strength of a new MTA-based sealer. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2013;14(3):161-6.
193. Bürklein S, Tsotsis P, Schäfer E. Incidence of dentinal defects after root canal preparation: Reciprocating versus rotary instrumentation. *J Endod.* 2013;39(4):501-4.
194. De-Deus G, da Silva EJNL, Marins J, Souza E, Neves AA, Belladonna FG, et al. Lack of causal relationship between dentinal microcracks and root canal preparation with reciprocation systems. *J Endod.* 2014;40(9):1447-50.
195. Machado R, Comparin D, Engelke Back EDE, Roberti Garcia LDF, Alberton LR. Residual smear layer after root canal instrumentation by using Niti, M-Wire and CM-Wire instruments: A scanning electron microscopy analysis. *Eur J Dent.* 2018;12(3):403-9.
196. Jaiswal NU, Mantri SP, Paul B, Dube K, Singh V, Bhatnagar N. Comparative evaluation of the effectiveness and fracture rate of three pathfinding nickel-titanium rotary instruments, Mtwo, OneG, and ProGlider, in mechanically negotiating moderately curved molar canals to the full working length. *J Conserv Dent.* 2019;22(3):260-5.
197. Alcalde MP, Duarte MAH, Bramante CM, Tanomaru-Filho M, Vasconcelos BC, Só MVR, et al. Torsional fatigue resistance of pathfinding instruments manufactured from several nickel-titanium alloys. *Int Endod J.* 2018;51(6):697-704.
198. Ramazani N, Mohammadi A, Amirabadi F, Ramazani M, Ehsani F. In vitro investigation of the cleaning efficacy, shaping ability, preparation time and file deformation of continuous rotary, reciprocating rotary and manual instrumentations in primary molars. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects.* 2016;10(1):49-56.
199. Cabreira LJ, Gominho LF, Rôças IN, Dessaune Neto N, Siqueira JF Jr, Alves FR. Quantitative analysis of apically extruded bacteria following preparation of curved canals with three systems. *Aust Endod J.* 2018;45(1):79-85.
200. Ferraz CCR, Gomes BPFA, Zaia AA, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Comparative study of the antimicrobial efficacy of chlorhexidine gel, chlorhexidine solution and sodium hypochlorite as endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2007;18(4):294-8.

201. Mohammadi Z, Jafarzadeh H, Shalavi S. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine as a root canal irrigant: A literature review. *J Oral Sci.* 2014;56(2):99-103.
202. Hasheminia S, Farhad AR, Saatchi M, Rajabzadeh M. Synergistic antibacterial activity of chlorhexidine and hydrogen peroxide against *Enterococcus faecalis*. *J Oral Sci.* 2013;55(4):275-80.
203. Naenni N, Thoma K, Zehnder M. Soft tissue dissolution capacity of currently used and potential endodontic irrigants. *J Endod.* 2004;30(11):785-7.
204. Zehnder M. Root canal irrigants. *J Endod.* 2006;32(5):389-98.
205. Gernhardt CR, Eppendorf K, Kozlowski A, Brandt M. Toxicity of concentrated sodium hypochlorite used as an endodontic irrigant. *Int Endod J.* 2004;37(4):272-80.
206. Violich DR, Chandler NP. The smear layer in endodontics - A review. *Int Endod J.* 2010;43(1):2-15.
207. Teixeira CS, Felipe MCS, Felipe WT. The effect of application time of EDTA and NaOCl on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. *Int Endod J.* 2005;38(5):285-90.
208. Uzunoglu E, Aktemur S, Uyanik MO, Durmaz V, Nagas E. Effect of ethylenediaminetetraacetic acid on root fracture with respect to concentration at different time exposures. *J Endod.* 2012;38(8):1110-3.
209. Perez F, Rouqueyrol-Pourcel N. Effect of a low-concentration EDTA solution on root canal walls: a scanning electron microscopic study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2005;99(3):383-7.
210. Saito K, Webb TD, Imamura GM, Goodell GG. Effect of shortened irrigation times with 17% ethylene diamine tetra-acetic acid on smear layer removal after rotary canal instrumentation. *J Endod.* 2008;34(8):1011-4.
211. Scelza MFZ, Pierro V, Scelza P, Pereira M. Effect of three different time periods of irrigation with EDTA-T, EDTA, and citric acid on smear layer removal. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(4):499-503.
212. Torabinejad M, Handysides R, Khademi AA, Bakland LK. Clinical implications of the smear layer in endodontics: a review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2002;94(6):658-66.
213. Hariharan VS, Nandlal B, Srilatha KT. Efficacy of various root canal irrigants on removal of smear layer in the primary root canals after hand instrumentation: a scanning electron microscopy study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2010;28(4):271-7.



214. Sen BH, Ertürk O, Pişkin B. The effect of different concentrations of EDTA on instrumented root canal walls. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(4):622-7.
215. Calt S, Serper A. Time-dependent effects of EDTA on dentin structures. *J Endod.* 2002;28(1):17-9.
216. Marciano MA, Guimarães BM, Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Cavenago BC, Garcia RB, et al. Physical properties and interfacial adaptation of three epoxy resin-based sealers. *J Endod.* 2011;37(10):1417-21.
217. Ha J-H, Kim H-C, Kim YK, Kwon T-Y. An evaluation of wetting and adhesion of three bioceramic root canal sealers to intraradicular human dentin. *Materials (Basel).* 2018;11(8):1286.
218. Patel DV, Sherriff M, Ford TRP, Watson TF, Mannocci F. The penetration of RealSeal primer and Tubliseal into root canal dentinal tubules: a confocal microscopic study. *Int Endod J.* 2007;40(1):67-71.
219. Jeong JW, DeGraft-Johnson A, Dorn SO, Di Fiore PM. Dentinal tubule penetration of a calcium silicate-based root canal sealer with different obturation methods. *J Endod.* 2017;43(4):633-7.
220. Minta A, Kao JPK, Tsien RY. Fluorescent indicators for cytosolic calcium based on rhodamine and fluorescein chromophores. *J Biol Chem.* 1989. 264(14):8171-8.
221. Al-Haddad A, Abu Kasim NH, Che Ab Aziz ZA. Interfacial adaptation and thickness of bioceramic-based root canal sealers. *Dent Mater J.* 2015;34(4):516-21.
222. Aksel H, Arslan E, Puralı N, Uyanık Ö, Nagas E. Effect of ultrasonic activation on dentinal tubule penetration of calcium silicate-based cements. *Microsc Res Tech.* 2019;18(3):134.
223. Osiri S, Banomyong D, Sattabanasuk V, Yanpiset K. Root reinforcement after obturation with calcium silicate-based sealer and modified gutta-percha cone. *J Endod.* 2018;44(12):1843-8.
224. Aydın ZU, Özyürek T, Keskin B, Baran T. Effect of chitosan nanoparticle, QMix, and EDTA on TotalFill BC sealers' dentinal tubule penetration: a confocal laser scanning microscopy study. *Odontology.* 2019;107(1):64-71.
225. El Hachem R, Khalil I, Le Brun G, Pellen F, Le Jeune B, Daou M, et al. Dentinal tubule penetration of AH Plus, BC Sealer and a novel tricalcium silicate sealer: a confocal laser scanning microscopy study. *Clin Oral Investig.* 2018;23(4):1-6.

226. Weis MV, Parashos P, Messer HH. Effect of obturation technique on sealer cement thickness and dentinal tubule penetration. *Int Endod J*. 2004;37(10):653-63.
227. Macedo LMD de, Silva-Sousa Y, Silva SRCD, Baratto SSP, Baratto-Filho F, Abi Rached-Júnior FJ. Influence of root canal filling techniques on sealer penetration and bond strength to dentin. *Braz Dent J*. 2017;28(3):380-4.
228. Atmeh AR, AlShwaimi E. The effect of heating time and temperature on epoxy resin and calcium silicate-based endodontic sealers. *J Endod*. 2017;43(12):2112-8.
229. Tay FR, Pashley DH. monoblocks in root canals: a hypothetical or a tangible goal. *J Endod*. 2007;33(4):391-8.
230. Nikhil V, Bansal P, Sawani S. Effect of technique of sealer agitation on percentage and depth of MTA Fillapex sealer penetration: A comparative in-vitro study. *J Conserv Dent*. 2015;18(2):119-23.
231. Nikhil V, Singh R. Confocal laser scanning microscopic investigation of ultrasonic, sonic, and rotary sealer placement techniques. *J Conserv Dent*. 2013;16(4):294-9.
232. Hoen MM, LaBounty GL, Keller DL. Ultrasonic endodontic sealer placement. *J Endod*. 1988;14(4):169-74.
233. Zarra T, Lambrianidis T, Kosti E. Comparative study of calcium hydroxide extrusion with different techniques of intra-canal placement. *Balk J Stom*. 2011;15:5-10.
234. Wu M-K, Ozok AR, Wesselink PR. Sealer distribution in root canals obturated by three techniques. *Int Endod J*. 2000;33(4):340-5.
235. Wiemann AH, Wilcox LR. In vitro evaluation of four methods of sealer placement. *J Endod*. 1991;17(9):444-7.
236. West LA, LaBounty GL, Keller DL. Obturation quality utilizing ultrasonic cleaning and sealer placement followed by lateral condensation with gutta-percha. *J Endod*. 1989;15(11):507-11.
237. Deveaux E, Dufour D, Boniface B. Five methods of calcium hydroxide intracanal placement: an in vitro evaluation. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000;89(3):349-55.
238. Hall MC, Clement DJ, Dove SB, Walker WA. A comparison of sealer placement techniques in curved canals. *J Endod*. 1996;22(12):638-42.
239. Nabavizadeh MR, Moazami F, Sedigh Shamsi M, Emami Z. Comparison of the percentage of voids following root canal obturation with gutta percha and

- AH26 sealer using four different sealer placement techniques. *J Islam Dent Assoc Iran*. 2013;25(3):199-203.
240. Guinesi AS, Faria G, Tanomaru-Filho M, Bonetti-Filho I. Influence of sealer placement technique on the quality of root canal filling by lateral compaction or single cone. *Braz Dent J*. 2014;25(2):117-22.
241. Chandra SS, Shankar P, Indira R. Depth of penetration of four resin sealers into radicular dentinal tubules: A Confocal Microscopic study. *J Endod*. 2012;38(10):1412-6.
242. Küçük M, Kermeoğlu F. Efficacy of different irrigation methods on dentinal tubule penetration of Chlorhexidine, QMix and Irritrol: A confocal laser scanning microscopy study. *Aust Endod J*. 2018;45(2):202-8.
243. Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Graeff MSZ, del Carpio Perochena A, Vivan RR, Camargo EJ, et al. Depth and percentage of penetration of endodontic sealers into dentinal tubules after root canal obturation using a lateral compaction technique: A confocal laser scanning microscopy study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009;108(3):450-7.
244. Tedesco M, Chain MC, Bortoluzzi EA, da Fonseca Roberti Garcia L, Alves AMH, Teixeira CS. Comparison of two observational methods, scanning electron and confocal laser scanning microscopies, in the adhesive interface analysis of endodontic sealers to root dentine. *Clin Oral Investig*. 2018;22(6):2353-61.
245. Singh CV, Rao SA, Chandrashekar V. An in vitro comparison of penetration depth of two root canal sealers: An SEM study. *J Conserv Dent*. 2012;15(3):261-4.
246. Balguerie E, van der Sluis L, Vallaey K, Gurgel-Georgelin M, Diemer F. Sealer penetration and adaptation in the dentinal tubules: A Scanning Electron Microscopic study. *J Endod*. 2011;37(11):1576-9.
247. Shokouhinejad N, Sabeti M, Gorjestani H, Saghiri MA, Lotfi M, Hoseini A. Penetration of Epiphany, Epiphany Self-Etch, and AH Plus into dentinal tubules: A Scanning Electron Microscopy study. *J Endod*. 2011;37(9):1316-9.
248. Mamootil K, Messer HH. Penetration of dentinal tubules by endodontic sealer cements in extracted teeth and in vivo. *Int Endod J*. 2007;40(11):873-81.
249. Polineni S, Bolla N, Mandava P, Vemuri S, Mallela M, Gandham VM. Marginal adaptation of newer root canal sealers to dentin: A SEM study. *J Conserv Dent*. 2016;19(4):360-3.
250. Kok D, Rosa RAD, Barreto MS, Busanello FH, Santini MF, Pereira JR, et al. Penetrability of AH plus and MTA fillapex after endodontic treatment and retreatment: a confocal laser scanning microscopy study. *Microsc Res Tech*. 2014;77(6):467-71.

251. Chen M-M, Kou P, Xie X-L, Wang X-Z, Hou D-L. Effect of root canal wall moisture and filling techniques on the sealability of iRoot sp. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue*. 2018;27(5):467-71.
252. Kim J-A, Hwang Y-C, Rosa V, Yu M-K, Lee K-W, Min K-S. Root Canal filling quality of a premixed calcium silicate endodontic sealer applied using gutta-percha cone-mediated ultrasonic activation. *J Endod*. 2018;44(1):133-8.
253. Gandolfi MG, Parrilli AP, Fini M, Prati C, Dummer PMH. 3D micro-CT analysis of the interface voids associated with Thermafil root fillings used with AH Plus or a flowable MTA sealer. *Int Endod J*. 2013;46(3):253-63.
254. Vasiliadis L, Darling AI, Levers BGH. The amount and distribution of sclerotic human root dentine. *Arch Oral Biol*. 1983;28(7):645-9.
255. Russel AA, Chandler NP, Hauman CHJ, Siddiqui AY, Tompkins GR. The butterfly effect: An investigation of sectioned roots. *J Endod*. 2013;39(2):208-10.
256. Russell A, Friedlander L, Chandler N. Sealer penetration and adaptation in root canals with the butterfly effect. *Aust Endod J*. 2018;44(3):225-34.
257. Soheilipour E, Kheirieh S, Madani M, Akbarzadeh Baghban A, Asgary S. Particle size of a new endodontic cement compared to Root MTA and calcium hydroxide. *Iran Endod J*. 2009;4(3):112-6.
258. Camilleri J. Mineral trioxide aggregate in dentistry: from preparation to application. Springer; 2014.
259. Tanomaru-Filho M, Torres FFE, Chávez-Andrade GM, de Almeida M, Navarro LG, Steier L, et al. Physicochemical properties and volumetric change of silicone/bioactive glass and calcium silicate-based endodontic sealers. *J Endod*. 2017;43(12):2097-101.
260. Ingle JI, Backland LK, Baumgartner JC. *Ingle's Endodontics 6*. BC Decker; 2008.
261. El Hachem R, Le Brun G, Le Jeune B, Pellen F, Khalil I, Abboud M. Influence of the endoactivator irrigation system on dentinal tubule penetration of a novel tricalcium silicate-based sealer. *Dent J (Basel)*. 2018;6(3):45.
262. Türker SA, Uzunoglu E, Purali N. Evaluation of dentinal tubule penetration depth and push-out bond strength of AH 26, BioRoot RCS, and MTA Plus root canal sealers in presence or absence of smear layer. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2018;12(4):294-8.
263. Piai GG, Duarte MAH, Nascimento ALD, Rosa RAD, Só MVR, Vivan RR. Penetrability of a new endodontic sealer: A confocal laser scanning microscopy evaluation. *Microsc Res Tech*. 2018;81(11):1246-9.

264. Gharib SR, Tordik PA, Imamura GM, Baginski TA, Goodell GG. A confocal laser scanning microscope investigation of the epiphany obturation system. *J Endod.* 2007;33(8):957-61.
265. Silva RV, Silveira FF, Horta MCR, Duarte MAH, Cavenago BC, Morais IG de, et al. Filling effectiveness and dentinal penetration of endodontic sealers: A Stereo and Confocal Laser Scanning Microscopy study. *Braz Dent J.* 2015;26(5):541-6.
266. Moon Y-M, Shon W-J, Baek S-H, Bae K-S, Kum K-Y, Lee W. Effect of final irrigation regimen on sealer penetration in curved root canals. *J Endod.* 2010;36(4):732-6.
267. Amoroso-Silva PA, Guimarães BM, Marciano MA, Duarte MAH, Cavenago BC, Ordinola-Zapata R, et al. Microscopic analysis of the quality of obturation and physical properties of MTA Fillapex. *Microsc Res Tech.* 2014;77(12):1031-6.
268. Demiriz L, Koçak MM, Koçak S, Sağlam BC, Türker SA. Evaluation of the dentinal wall adaptation ability of MTA Fillapex using stereo electron microscope. *J Conserv Dent.* 2016;19(3):220-4.
269. Celikten B, Uzuntas CF, Orhan AI, Tufenkci P, Misirli M, Demiralp KO, et al. Micro-CT assessment of the sealing ability of three root canal filling techniques. *J Oral Sci.* 2015;57(4):361-6.
270. Celikten B, Uzuntas CF, Orhan AI, Orhan K, Tufenkci P, Kursun S, et al. Evaluation of root canal sealer filling quality using a single-cone technique in oval shaped canals: An In vitro Micro-CT study. *Scanning.* 2016;38(2):133-40.
271. Sungur DD, Purali N, Coşgun E, Calt S. Push-out bond strength and dentinal tubule penetration of different root canal sealers used with coated core materials. *Restor Dent Endod.* 2016;41(2):114–120.
272. Ghoneim AG, Lutfy RA, Sabet NE, Fayyad DM. Resistance to fracture of roots obturated with novel canal-filling systems. *J Endod.* 2011;37(11):1590-2.

