



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS SUPERIORES
UNIDAD LEÓN**

**TÍTULO:
EVALUACIÓN DE PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS
Y BIOLÓGICAS DE UN CEMENTO DE MTA
MODIFICADO CON NANOCRISTALES DE SULFURO
DE HIERRO**

**FORMA DE TITULACIÓN:
TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN ODONTOLOGÍA**

P R E S E N T A:

CARLOS EDUARDO OLIVA MARTÍNEZ

**TUTOR: DRA. MA. CONCEPCIÓN ARENAS
ARROCENA**

ASESOR: DRA. LILIANA ARGUETA FIGUEROA

ASESOR: DR. RENÉ GARCÍA CONTRERAS

LEÓN GUANAJUATO, 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

Dedicado a Dios por iluminarme y poner en mí camino las herramientas necesarias para lograr lo que hasta este momento y seguir cumpliendo con más metas con sus bendiciones. Los tiempos de dios son perfectos.

A los mejores padres Jorge Oliva Cisneros y Ofelia Martínez Torres que con su esfuerzo me ha sacado adelante a mí y mis hermanos, que me han apoyado día a día alentarme a lograr mis objetivos, dándome buenos consejos, enseñanzas y amor incondicional.

A mis 4 hermanos Adriana, Jorge, Christian y Adolfo los cuales cada uno me ha permitido aprender mediante sus consejos y experiencias, con los cuales he experimentado en cabeza ajena.

Sin duda alguna a mis amigos que han sido pieza importante en mi vida así como a todos mis profesores que me han brindado las herramientas necesarias para seguir creciendo profesionalmente e inspirarme a seguir estudiando y superarme.

A mis asesores la Dra. Ma. Concepción Arenas Arrocena, Dr. René García Contreras y Dra. Liliana Argueta Figueroa. Por su paciencia y compromiso que sin ellos no hubiese aprendido tanto para desarrollar este valioso trabajo.

A todos mis queridos profesores de la ENES UNAM León que los llevo en el corazón especialmente a la Mtra. Paola campos Ibarra quien me ha inspirado a amar a la odontología, así como mi alma mater la UNAM por ser tan noble y darme todo por muy poco.

Agradecimientos

Agradezco a Dios y a todas las personas que ha puesto en mi camino que me han enseñado, inspirados e iluminado, permitiéndome de esta manera ser mejor ser persona así como a mi familia y amigos.

A mi tutora y asesores por su ayuda incondicional, paciencia y enseñanzas, quienes gracias a ellos fueron posibles terminar este proyecto de investigación y cerrar un ciclo en mi carrera.

Dra. Ma. Concepción Arenas Arroccena.

Dr. René García Contreras.

Dra. Liliana Argueta Figueroa.

A los académicos que contribuyeron en la realización de diversos estudios, los cuales fueron de gran ayuda para este estudio.

Dr. José Santos Cruz de la Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro.

Dr. Rogelio Morán Elvira del Instituto de Energías Renovables por su apoyo en la caracterización SEM.

Dra. Marina Vega González del CGeo-UNAM por su apoyo en la caracterización SEM y EDS.

Dr. José Jorge Delgado García de la División de Estudios de la Universidad de Guanajuato, Campus León, por su apoyo en la caracterización de las propiedades reológicas.

Lic. Paloma Serrano por su apoyo en la realización de las pruebas piloto de los ensayos antimicrobianos.

Al proyecto Ciencia Básica CONACyT (176450) por el financiamiento parcial otorgado para el desarrollo de este proyecto.

A los proyectos PAPIIT-DGAPA (IA204516), PAPIME-DGAPA (PE201617), SENER-CONACYT (CEMIE-Sol/27, 207450) por el financiamiento parcial.

ÍNDICE GENERAL	Pág.
I RESUMEN	I
II ABSTRACT	II
III INTRODUCCIÓN	III
CAPÍTULO 1	1
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 AGREGADO DE TRIÓXIDO MINERAL (MTA)	1
1.1.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y CARACTERÍSTICAS	1
1.1.3 VENTAJAS DEL MTA	3
1.2 APLICACIONES CLÍNICAS DEL MTA	4
1.2.1 RECUBRIMIENTO PULPAR INDIRECTO.....	4
1.2.2 RECUBRIMIENTO PULPAR DIRECTO.....	4
1.2.3 PULPOTOMÍA	5
1.2.4 PULPECTOMÍA	6
1.2.5 PERFORACIONES RADICULARES	6
1.2.6 TRATAMIENTO DE PROCESOS PATOLÓGICOS RADICULARES.....	8
1.2.6.1 REABSORCIÓN EXTERNA.	8
1.2.6.2 REABSORCIÓN INTERNA.	8
1.2.7 APICIFORMACIÓN.....	9
1.2.8 REVASCULARIZACIÓN.....	10
1.2.9 CIRUGÍA APICAL.....	11
1.3 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS	11
1.3.1 RADIOPACIDAD	11
1.3.2 VISCOSIDAD.....	12
1.3.3 TIEMPO DE FRAGUADO.....	12
1.3.4 POTENCIAL DE HIDRÓGENO: PH.....	13
1.4. ACTIVIDAD BIOLÓGICA	13
1.4.1 BIOCOMPATIBILIDAD.....	13
1.5 ANTECEDENTES.....	15
CAPÍTULO 2	18
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
2.2 JUSTIFICACIÓN.....	19
2.3 OBJETIVO GENERAL.....	20
2.3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
2.4 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	20
2.5 HIPÓTESIS ALTERNATIVA.....	20
2.6 HIPÓTESIS NULA (H_0)	20
CAPÍTULO 3	21
3. METODOLOGÍA	21
3.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS DE MTA CON NCs DE FeS_2	23
3.2 CARACTERIZACIÓN DE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE LOS NCs DE FeS_2	24

3.3 DETERMINACIÓN DE RADIOPACIDAD DEL MTA CON NCs DE FeS ₂	24
3.4 DETERMINACIÓN DE VISCOSIDAD DEL MTA NCs DE FeS ₂	27
3.5 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE FRAGUADO DEL MTA CON LOS NCs DE FeS ₂	28
3.6 DETERMINACIÓN DE PH DEL MTA CON LOS NCs DE FeS ₂	28
3.7 EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD DE LOS NCs DE FeS ₂ EN CÉLULAS PULPARES HUMANAS (HPC) Y FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS (HGF).....	30
3.8 EVALUACIÓN DE CITOTOXICIDAD DEL MTA CON LOS NCs DE FeS ₂ EN CÉLULAS PULPARES (HPC) Y FIBROBLASTOS GINGIVALES (HGF).....	32
3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	33
CAPÍTULO 4.....	34
4.1 RESULTADOS.....	34
4.1.1. SEM DE NCs DE FeS ₂	34
4.1.2 TEM DE LOS NCs DE FeS ₂	34
4.2 SEM DE MTA.....	35
4.2.1 SEM DE MTA CON NCs DE FeS ₂	36
4.3. RADIOPACIDAD DEL MTA CON LOS NCs DE FeS ₂	37
4.4 VISCOSIDAD / MÓDULO DE ALMACENAMIENTO	39
4.5. TIEMPO DE FRAGUADO DEL CEMENTO MTA CON LOS NCs DE FeS ₂	40
4.6 VIABILIDAD CELULAR DE LOS NANOCRISTALES DE FeS ₂ EXPUESTO CON CÉLULAS PULPARES HUMANAS (HPC) Y FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS (HGF)	41
4.6.2 VIABILIDAD CELULAR EN FIBROBLASTOS GINGIVALES HUMANOS (HGF) CON LA INCORPORACIÓN DE MTA Y NCs DE FeS ₂	42
4.6.3 VIABILIDAD CELULAR EN CÉLULAS PULPARES HUMANAS CON CEMENTO DE MTA Y NCs DE FeS ₂	43
4.7 PH.....	45
CAPÍTULO V	48
5. DISCUSIÓN	48
CAPÍTULO VI	50
6.1 CONCLUSIONES	50
6.2 TRABAJO FUTURO:	51
6.3 LIMITACIONES DEL ESTUDIO:.....	51
6.4 PRODUCTOS ACADÉMICOS Y PARTICIPACIÓN EN FOROS ACADÉMICOS.....	51
6.5 BIBLIOGRAFÍA	52
6.6 ANEXO.....	55

I RESUMEN

Introducción: En 1995 el Dr. Mahmoud Torabinejad por primera vez estudió el Agregado de Trióxido Mineral (MTA), está formado por partículas hidrofílicas muy finas, el cual al mezclar con el agua destilada se transforma en un gel coloidal. El MTA se utiliza en diversos tratamientos dentro de la odontología; por ejemplo, dentro del área de endodoncia para el sellado de perforaciones radiculares y retro-obturación de los conductos radiculas, entre otros.

Objetivo: Evaluar las propiedades fisicoquímicas y biológicas del cemento de MTA con la incorporación de nanocristales (NCs) de disulfuro de hierro (FeS_2).

Método: Se realizaron análisis de radiopacidad, tiempo de fraguado, propiedades reológicas, pH, así como ensayos de biocompatibilidad con células pulpares (HPC) y fibroblastos gingivales humanos (HGF) del MTA/NCs de FeS_2 en concentraciones de 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 % en peso.

Resultados: Los NCs de FeS_2 incorporados en el MTA no afectaron la radiopacidad, mostrando un aceleramiento en el tiempo de fraguado del material, dicho material alcanzó un valor de pH más alto durante las primeras horas y presentó un módulo de almacenamiento menor, el cual favorece al sellado. Asimismo, no se presentó efecto citotóxico, sino que estimuló a la proliferación de HPC y HGF.

Conclusiones: Los NCs favorecieron algunas propiedades fisicoquímicas del cemento de MTA, el cual podría ayudar para obtener un mejor sellado y tener mejores resultados en los tratamientos odontológicos.

Palabras clave: Disulfuro de hierro, nanopartículas, radiopacidad, proliferación, biocompatibilidad.

II ABSTRACT

Introduction: In 1995, Dr. Mahmoud Torabinejad studied for the first time the Mineral Trioxide Aggregated (MTA), it is formed by very fine hydrophilic particles, which mixed with distilled water form a colloidal gel. MTA is used in several dental treatments; for example in the endodontic area, MTA has been used as root perforations sealer and retro-filling of root canals, among others.

Objective: To evaluate the physicochemical and biological properties of MTA cement with the incorporation of nanocrystals (NCs) of iron disulfide (FeS_2).

Method: Radiopacity, setting time, rheological properties and pH of MTA/ FeS_2 NCs at 0.0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1 wt % as well as biocompatibility assays on Human Pulp Cells (HPC) and Human Gingival Fibroblasts (HGF) were performed.

Results: FeS_2 NCs added in MTA did not affect the radiopacity, so the set time was decreased and of the pH value was increased in the initial stage. So, the MTA/ FeS_2 NCs presented low storage modulus, which could improve the sealing of MTA and dental root canal. Also FeS_2 NCs did not affect the biocompatibility of MTA, but stimulated the cellular proliferation of HPC and the HGF.

Conclusions: FeS_2 NCs improved some physical and chemical properties of MTA cement, which could help to obtain better sealing and good results in endodontic treatments.

Keywords: Iron disulfide, nanoparticles, radiopacity, proliferation, biocompatibility.

III INTRODUCCIÓN

En 1995, el Dr. Mahmoud Torabinejad por primera vez publicó un estudio sobre el MTA.⁽¹⁾ En el área de la Endodoncia, el MTA se ha utilizado para una gran variedad de tratamientos como el sellado de perforaciones radiculares y a nivel de la furca. También ha sido utilizado para una adecuada retro-obturación de los canales radiculares cuando es necesario un abordaje quirúrgico apical, entre otras aplicaciones.⁽²⁾

De acuerdo a estudios previos, es un material dental muy prometedor por sus características como son la baja solubilidad, adecuada radiopacidad, buena adaptación marginal, pH alcalino al cual se le atribuye un efecto antimicrobiano, biocompatibilidad celular y capacidad para estimular la regeneración de tejidos periodontales.⁽³⁻⁵⁾

Se han llevado a cabo diversos estudios del cemento de MTA evaluando sus propiedades físicas, mecánicas, químicas y biológicas, así como su desempeño clínico.⁽⁶⁾ Por otro lado, se han realizado diversas comparaciones entre el MTA y el cemento Portland con y sin óxido de bismuto, encontrando que las partículas del MTA son mucho más finas en un intervalo de 4500 a 4600 $\mu\text{m}^2/\text{g}$ y además al estar en contacto con la líneas celulares en estudio, el MTA genera una mayor viabilidad celular.⁽⁷⁾⁽⁸⁾

En este estudio se evaluaron las propiedades físicas, químicas y biológicas del Agregado de Trióxido Mineral (MTA) incorporando nanocristales (NCs) de disulfuro de hierro (FeS_2) a concentraciones de 0.0 a 1 % en peso, con el fin de mejorar las propiedades antes mencionada.

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Agregado de Trióxido Mineral (MTA)

1.1.1 Composición química y características

El Agregado de Trióxido Mineral o más conocido como MTA es un cemento compuesto por un polvo derivado del cemento Portland refinado de color gris o blanco de partículas hidrofílicas muy finas, que al mezclarse con agua o en presencia de humedad forma un gel coloidal que solidifica transformándose en una estructura dura con una resistencia a la compresión de aproximadamente 70 MPa. ^(3,9,10)

Por otra parte, se ha demostrado que el MTA induce a la formación de puentes dentinarios adyacentes a la pulpa dental, lo cual se atribuye a su alta alcalinidad y biocompatibilidad, entre otras propiedades de este material. ⁽¹¹⁾

El cemento de MTA está compuesto en un 80 % de cemento Portland y del 16.5 % al 20 % de óxido de bismuto al cual se le atribuye la radiopacidad del MTA. La composición química del cemento se muestra en la Tabla 1.1. ^(1, 5, 12,13)

Otros estudios reportan porcentajes más detallados de los componentes químicos del MTA (Angelus, Lodrina, Paraná Brasil) a través de difracción de rayos X (DRX) como se presenta en la Tabla 1.2 y emisión de rayos X inducido por partículas (PIXE) presentada en la Tabla 1.3 ^(1, 13)

Tabla 1.1 Composición química del MTA (Angelus, Lodrina, Paraná Brasil)⁽¹⁾

Fórmula química	Nombre químico
Bi_2O_3	Óxido de bismuto
Ca_2SiO_4	Silicato dicálcico
Ca_3SiO_5	Silicato tricálcico
$CaSO_4 \cdot 2H_2O$	Sulfato de calcio dihidratado

$Ca_3Al_2O_6$	Aluminato tricálcico
---------------	----------------------

1.1.2 Propiedades de los componentes químicos del MTA⁽¹¹⁾

- **Silicato tricálcico:** Este compuesto le proporciona calor y velocidad de hidratación para un adecuado endurecimiento.
- **Silicato dicálcico:** Le proporciona una dureza ideal, así como una adecuada hidratación al material.
- **Aluminato tricálcico:** Permite tener un fraguado adecuado.
- **Sulfato de calcio dihidratado:** Este compuesto le brinda una adecuada resistencia al material.
- **Óxido de bismuto:** Este compuesto le confiere una adecuada radiopacidad al material.⁽¹⁴⁾

Tabla 1.2 Componentes del MTA Angeuls® mediante difracción de rayos X.⁽¹³⁾

Compuesto químico	Porcentaje (%)	Compuesto químico	Porcentaje (%)
<i>SiO₂</i>	21.07	<i>BiO₂</i>	16.50
<i>Al₂O₃</i>	3.47	<i>K₂O</i>	0.021
<i>Fe₂O₃</i>	0.36	<i>P₂O₅</i>	0.11
<i>MgO</i>	0.67	<i>TiO₂</i>	0.18
<i>CaO</i>	52.49	PXC (pérdida por calcinación)	8.56
<i>Cr₂O₃</i>	0.96		

Tabla 1.3 Emisión de rayos X inducido por partículas (PIXE) de MTA angelus®.⁽¹⁾

Elementos químicos presentes en el MTA (%)													
Si	P	Al	S	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Sr	Bi	O	Total %
8.17	0.48	2.73	0.01	0.37	26.20	0.35	0.05	0.15	0.02	0.28	5.72	55.47	100

- **Presentaciones del MTA**

El MTA pionero fue la presentación gris (g-MTA) el cual tiene excelentes características, sin embargo, de acuerdo a estudios se le atribuyó que causaba decoloración de la corona clínica durante los tratamientos de pulpotomía, la cual es causada por sus altos niveles de óxidos metálicos, tales como, Al_2O_3 , MgO y FeO . Posteriormente, se creó un MTA blanco (w-MTA), el cual presenta menor concentración de óxidos metálicos y partículas más finas.⁽¹⁰⁾

Dentro de las discrepancias entre el g-MTA y el w-MTA podemos encontrar que el valor del pH después de 60 minutos de la mezcla, el w-MTA es significativamente mayor que el pH de g-MTA; el tamaño de las partículas del g-MTA son aproximadamente 8 veces mayor que las del w-MTA la radiopacidad es mayor en el w-MTA que el g-MTA; así mismo, el w-MTA contiene menos metales tales como cobre, manganeso y estroncio. La composición del g-MTA es 75 % cemento Portland, 5 % de calcio, y 20 % de óxido de bismuto.^(10, 15,16)

1.1.3 Ventajas del MTA^(11,14)

- Es biocompatible
- No es tóxico
- No es mutagénico
- Es radiopaco
- Permite la fácil remoción de excesos
- Fácil de mezclar y manipular
- Su colocación no requiere de aditamentos especiales y costosos
- Estimula la regeneración de tejidos periodontales

Desventajas^(11,14)

- Periodo largo de fraguado o endurecimiento
- Alto costo

- De acuerdo a los estudios de Eidelman (2001) y Naik y col. (2005) ha causado desplazamiento del material causando obliteración de los conductos radiculares.
- De acuerdo a los estudios de Naik (2005) el g-MTA puede causar decoloraciones de la corona dental.

1.2 Aplicaciones clínicas del MTA

1.2.1 Recubrimiento pulpar indirecto

En ocasiones, hay caries que se encuentran demasiado profundas; encontrándose en proximidad a los cuernos o techo de la cámara pulpar; durante la completa remoción de la lesión cariosa, está indicada la colocación de MTA como base de la preparación cavitaria, con la finalidad de estimular a la formación de dentina de reparación preservando la vitalidad pulpar y para prevenir la sensibilidad postoperatoria del diente tratado.

Por lo tanto, se podría definir el recubrimiento pulpar indirecto como una estrategia para tratar lesiones de caries agudas y cercanas a la cámara pulpar, indicado principalmente en pacientes jóvenes, sin presencia de sintomatología y con pulpa vital.⁽¹⁷⁾

El MTA ha demostrado ser excelente para el recubrimiento pulpar indirecto por su adecuado sellado y biocompatibilidad, ya que no irrita la pulpa dental y estimula a la formación de puentes dentinarios ya que diversos estudios señalan la formación de hidroxiapatita entre la interfase del diente y del material.⁽¹²⁾

1.2.2 Recubrimiento pulpar directo

Durante la preparación cavitaria o remoción de una lesión cariosa profunda puede ocurrir una exposición pulpar accidental. Un recubrimiento pulpar directo consiste en llevar a cabo el sellado de la comunicación con un material biocompatible, que estimule a la formación de dentina de reparación y volver aislar la pulpa del medio bucal para conservar su vitalidad pulpar.⁽¹⁷⁾

Este tratamiento está indicado cuando existe una exposición de la pulpa cameral teniendo previamente aislado el diente del medio oral con dique de hule. Este tratamiento se realiza sellando con MTA la exposición pulpar.⁽⁶⁾

Se han hecho estudios comparando el cemento de MTA con el hidróxido de calcio para recubrimiento pulpar directo, como resultado se obtuvo un mejor sellado con el MTA en contraste con el sellado obtenido con el hidróxido de calcio, puesto que, en los pacientes a los que se les aplicó este último, se reportó mayor frecuencia de infecciones y de necrosis pulpar.⁽¹⁸⁾

El cemento de MTA proporciona un sustrato biológico activo que favorece la proliferación de las células pulpares, las cuales son necesarias para regular los mecanismos dentinogénicos. El mecanismo inicial del MTA sobre el tejido pulpar es la formación de una capa cristalina en la cual hay presencia de fibras de colágena. La dentinogénesis reparativa se puede apreciar a partir de un periodo de 3 semanas posteriores al recubrimiento de la pulpa con MTA bajo una adecuada asepsia.⁽¹²⁾

1.2.3 Pulpotomía

Es el tratamiento que implica la eliminación de la pulpa cameral con la preservación de la pulpa radicular. Está indicada cuando hay presencia de inflamación irreversible de la pulpa coronal, en particular, en dientes temporales cuando falta demasiado tiempo para su rizólisis; y también está indicada cuando hay una exposición pulpar por caries en dientes permanentes con desarrollo radicular incompleto en ausencia de signos y síntomas de una patología pulpar. Está contraindicada en dientes temporales que presentan necrosis pulpar, absceso o cuando el diente está en proceso de exfoliación o presenta rizólisis mayor a 2/3 de la longitud radicular.^(6,8)

Para el tratamiento de pulpotomía se busca un material alternativo al formocresol (material prohibido por la ADA en Estados Unidos) puesto que éste presenta efectos citotóxicos, carcinogénicos y mutagénicos.⁽¹⁹⁾ Se han realizado estudios con diferentes materiales para el tratamiento de pulpotomía, entre ellos el MTA en donde se ha obtenido un éxito, evaluado radiográficamente, mayor a un 85.71

%.Así, el MTA ha demostrado altas tasas de éxito en el tratamiento de pulpotomía.⁽¹⁹⁾

1.2.4 Pulpectomía

El tratamiento de Pulpectomía con MTA está indicado en dientes temporales solo en algunos casos como la preservación de dientes temporales cuando hay agenesia de diente permanente sucedáneo o para preservar espacios fisiológicos en dientes temporales, cuando hay alguna sintomatología de inflamación pulpar o evidencia radiográfica de lesión periapical, El tratamiento consiste en remover por completo tanto la pulpa cameral como la radicular y sellar los conductos radiculares con pastas yodoformadas u otros materiales como el MTA.^(20,21)

Algunas de las contraindicaciones del tratamiento de pulpectomía es cuando no es posible colocar una restauración coronal en el diente o cuando hay presencia de reabsorción interna, perforación de la furca por caries o por alguna otra causa, y cuando la reabsorción radicular fisiológica es mayor a 2/3.⁽²⁰⁾

Hay casos documentados donde reportan el tratamiento de pulpectomía en dientes temporales para mantener en boca el mayor tiempo posible, cuando hay agenesia del diente permanente sucedáneo. En estos casos, el MTA se ha considerado como una excelente opción para la obturación de conductos debido a sus propiedades de reparación de tejidos periodontales.⁽²¹⁾

1.2.5 Perforaciones radiculares

Durante la etapa de eliminación de lesiones cariosas o durante la terapia de conductos pueden ocurrir incidentes, el más común es la perforación del diente a nivel cameral o radicular, por la falta de habilidad del operador; aunque también puede deberse a la extensión de la lesión cariosa en sí. Antes de la aparición del MTA, los dientes que presentaban una perforación en radicular, particularmente en la furca, estaban destinados a la exodoncia, ya que no existía una opción terapéutica exitosa.

El pronóstico del diente está íntimamente relacionado con el sitio de la perforación, tamaño y tiempo de la evolución, las perforaciones en el tercio medio y apical tienen mejor pronóstico que las del tercio coronal o piso de la cámara pulpar (furca); y entre más grande sea (mayor a 2 mm) y tenga mayor tiempo de evolución, el pronóstico será más reservado.

Algunos de los instrumentos con los que se pudiera perforar, ya sea a nivel coronal son las fresas de alta velocidad; en cambio a nivel radicular es debido a las limas endodóncicas y fresas de baja velocidad como las Gates-Glidden, esto es por un exceso de presión en sentido vertical, el cual logra perforar la dentina, llegar a los tejidos periodontales y al hueso alveolar.^(9,22,23)

Las perforaciones radiculares son diagnosticadas mediante un estudio radiográfico en sentido ortoradial, pero cuando no se detecta con claridad y se tiene la sospecha de una perforación por sintomatología, es conveniente realizar una toma radiográfica en diferentes ángulos para su localización.⁽²³⁾ De acuerdo a un estudio donde se analizaron 80 casos de perforaciones, éstas se encontraban atravesadas por puntas de gutapercha, conos de plata, endopostes y pernos metálicos, entre otros instrumentos endodóncicos;⁽¹⁴⁾ así que por lo general no es difícil identificar el sitio de localización de la perforación.

El tratamiento ideal para solucionar las perforaciones radiculares y preservar el diente en boca consistiría en sellar dicha perforación con un material que induzca la formación de tejido mineralizado y que además posea una excelente biocompatibilidad. El MTA aparte de sus propiedades físicas, tiene un buen sellado, una adecuada adaptación a las paredes de los conductos, es radiopaco lo que permite visualizar un adecuado sellado mediante una radiografía y presenta un tiempo de fraguado inicial de 10 minutos y final de 15 minutos (w-MTA Angelus®).⁽⁹⁾

1.2.6 Tratamiento de procesos patológicos radiculares

1.2.6.1 Reabsorción externa.

La reabsorción radicular se le atribuye a un proceso ya sea de origen patológico o fisiológico provocando la pérdida de tejidos dentales, específicamente la dentina y el cemento radicular.⁽²⁴⁾

La reabsorción externa se puede atribuir a factores mecánicos, como la magnitud de los movimientos dentales y largos periodos de tiempo de los tratamientos de ortodoncia; o a factores biológicos asociados con la herencia genética, edad dental, morfología radicular, enfermedades sistémicas, apiñamiento ectópico y dientes impactados. Hay también factores de riesgos como los traumatismos dentales.^(24,25)

La reabsorción externa se puede clasificar en reabsorción por reemplazo, reabsorción radicular inflamatoria y reabsorción radicular superficial pudiéndose subclasificar en cervical y apical de acuerdo a su localización. El diagnóstico es radiográfico puesto que no hay sintomatología.

Se han planteado muchas de las alternativas de tratamiento para la reabsorción radicular externa cervical, pero el más aceptado es el abordaje quirúrgico sellando el defecto con MTA y posteriormente realizar la terapia de conductos antes de que se presenten indicios de necrosis y llevar a cabo evaluaciones periódicas del diente.⁽²⁵⁾

1.2.6.2 Reabsorción interna.

La reabsorción radicular interna es menos común que la externa y se caracteriza por la pérdida de la dentina de las paredes internas de la cámara pulpar y es asintomática. Su etiología es idiopática, aunque podría estar asociada con traumatismos, secundaria a tratamiento de ortodoncia o a estímulos crónicos irritativos. Por lo general, la pulpa se encuentra vital y el diagnóstico se realiza mediante un examen radiográfico. Sin embargo, en ciertos casos en los que a reabsorción interna a cursado con un considerable periodo de evolución se puede

apreciar un diente con tono rosado, puesto que la pérdida de tejido incluye porción coronal y se aprecia una coloración rosada por el tejido de granulación que se transparenta a través de la corona. ^(4,26)

El pronóstico está relacionado con el grado de tejido perdido. Si hay comunicación directamente con los tejidos periodontales, el pronóstico es reservado; a diferencia de cuando la reabsorción es incipiente, entonces hay mayor posibilidad de éxito.⁽⁴⁾ Las células que están implicadas en la reabsorción interna son los odontoclastos o dentinoclastos y se activan mediante factores quimiotácticos provenientes de los macrófagos, activadores de osteoclastos, las prostaglandinas y los agentes bacterianos. El MTA también se ha usado con éxito para rellenar los defectos causados por este tipo de reabsorción, así como inducir la reparación de la dentina en el sitio afectado.⁽¹⁷⁾

1.2.7 Apicoformación

Los traumatismos en los pacientes jóvenes y niños, principalmente en el sector anterosuperior de la cavidad oral, en muchas ocasiones causan necrosis pulpar. Si la edad de los pacientes es corta, es posible que no haya un adecuado desarrollo apical, debido a que la ausencia de vitalidad pulpar detiene el cierre apical imposibilitando la terapia de conductos en estos dientes. La apicoformación es la terapia de primera elección para inducir al cierre apical en dientes con ápices inmaduros y necrosis pulpar o pulpitis irreversible. Esto con el objetivo de que una vez logrado el cierre apical mediante la formación de una barrera apical se pueda realizar la terapia de conductos.

Se han hecho diversos estudios comparando la eficacia del hidróxido de calcio y del MTA ante la apicoformación, en los cuales el MTA presenta diversas ventajas, entre ellas que estimula al cierre apical en un tiempo más corto, se requieren de pocas citas para su colocación y existe menos posibilidad de contaminación a diferencia del hidróxido de calcio, el cual se tiene que cambiar cada 2 o 3 semanas y el tratamiento es más largo. ^(27,28)

1.2.8 Revascularización

La revascularización pulpar es un procedimiento utilizado dentro del área de endodoncia para la regeneración de tejidos, con el objetivo de un cierre apical, engrosamiento de las paredes del conducto radicular, así como la reparación del periápice producido por una patología pulpar en dientes inmaduros.⁽²⁹⁾

La revascularización comenzó mediante los estudios de Nygaard Ostby a partir del año de 1961⁽³⁰⁾ y fue hasta el año de 2001 donde Iwaya SI, Ikawa M, Kubota M, lo definieron como la manera de formar fibras nerviosas y tejido calcificado mediante la estimulación de un coagulo originado de tejidos periapicales.⁽³¹⁾

Actualmente Tropeet *al.* En el 2004 describió la revascularización mediante una técnica de desinfección del conducto mediante la irrigación de hipoclorito de sodio al 5.25 % y una medicación intraconducto con la mezcla de 3 antibióticos (ciprofloxacino, metronidazol y minociclina) llamada pasta de Hoshino durante un periodo de 26 días. Una vez desinfectado el conducto es irritado mecánicamente sobrepasándolo con una lima de endodoncia, para provocar un sangrado y formar un coagulo dentro del canal radicular hasta el nivel de la unión cemento esmalte, para posteriormente sellarlo con MTA y restaurándolo definitivamente mediante un tratamiento protésico.

El objetivo de la revascularización es formar un adecuado desarrollo de la raíz dental y un reforzamiento de las paredes radiculares con una aposición de tejido biomineralizado para proporcionar una mayor resistencia y minimizar la fractura radicular.^(29, 30)

La tasa de éxito de acuerdo a diferentes autores se presenta en la Tabla 1.4.⁽²⁵⁾

Tabla 1.4. Tasa de éxito de la revascularización de acuerdo a diferentes autores.⁽²⁹⁾

<i>Éxito de la revascularización</i>		
Autor (es)	Año	% éxito
<i>Zbang et al.</i>	2009	70
<i>VivekAggarwal et al.</i>	2008	78

1.2.9 Cirugía apical

La cirugía apical es un tratamiento que se realiza cuando hay una persistencia de una lesión periapical patógena, cuando la terapia de conductos e incluso los retratamientos han fracasado, puesto que su etiología principal es la presencia de microorganismos patógenos persistentes. La cirugía apical permite remover los microorganismos patógenos presentes en los conductos radiculares de la zona de la lesión periapical, para así permitir la cicatrización de la lesión apical.⁽²⁾

Hay diversos materiales utilizados para la retro-obturación como ionómero de vidrio, amalgama, gutapercha, cavit, cemento súper EBA; pero sin duda alguna, el que ha presentado mejores resultados es el MTA al presentar una menor microfiltración, además de estimular la regeneración de los tejidos periapicales por ser un material bioactivo y biocompatible.^(2,13,32)

1.3 Propiedades fisicoquímicas

1.3.1 Radiopacidad

La radiopacidad es la capacidad que tienen los materiales de absorber los rayos X, la cual se puede evaluar sobre una placa radiográfica. La radiopacidad es una propiedad de los materiales odontológicos de suma importancia especialmente en el área de endodoncia porque permite diagnosticar y tratar las afecciones a través de las placas radiográficas para tener la certeza de un mejor pronóstico en los tratamientos dentales.⁽¹¹⁾

El cemento de MTA tiene una radiopacidad equivalente a 7.17 mm de aluminio y es más radiopaco que la gutapercha, dentina y los tejidos periodontales, lo que permite apreciarse radiográficamente con un excelente contraste de las estructuras anatómicas circundantes.⁽⁹⁾ Otros autores señalan que la radiopacidad del MTA es equivalente al grosor de 6.23 mm de aluminio, este valor es aceptable de acuerdo a la organización internacional de normalización (ISO) 6876 sección 7.7, que evalúa la radiopacidad de un material sellador de conductos radiculares y el valor mínimo aceptable es el equivalente de 3 mm de la radiopacidad del

aluminio.⁽⁷⁾ La radiopacidad es conferida al MTA por el óxido de bismuto, ^(14,31) que está presente dentro de sus componentes, entre un 16 a un 20 %. ^(1, 5,12)

1.3.2 Viscosidad

La viscosidad de un material podría definirse como la propiedad de los fluidos que caracteriza su resistencia a fluir, es decir, a oponer una resistencia al movimiento uniforme de su masa.⁽⁴¹⁾ De igual manera podríamos decir que, en los materiales de obturación de los conductos radiculares, el flujo es la capacidad de los cementos selladores para penetrar en los canales radiculares, así como canales accesorios e irregularidades, esta propiedad es de suma importancia puesto que mientras mayor sea el flujo mayor será la capacidad de sellado, penetrando en las irregularidades; pero si este flujo es excesivo podría penetrar hasta la zona periapical, extruirse a los tejidos peri-radicales y dañarlos. Existe limitada información acerca de la viscosidad y ensayos de flujo del MTA como material de obturación. ^(33,34)

En un estudio se compararon la fluidez de 2 cementos selladores a base de MTA, AH plus® y MTA Fillapex®, los cuales mostraron resultados aceptables de acuerdo a la norma ISO 6876: 2001 mostrando un adecuado sellado endodóncico.⁽³⁴⁾ Por otra parte en un estudio comparativo del cemento sellador a base de MTA AH plus® presentó mejores propiedades de flujo en comparación con cementos selladores hechos a base de hidróxido de calcio (Sealer 26, Dentsply/Maillefer, Petrópolis, Brasil).⁽³³⁾

1.3.3 Tiempo de fraguado

De acuerdo al fabricante, el MTA Angelus® se espátula por un periodo de 30 s, fraguando en un intervalo de 15 minutos para formar un material sólido,⁽⁹⁾ el periodo inicial de fraguado es de 10 minutos y un periodo final de 15 minutos, este periodo más corto es atribuido a que carece de menor porcentaje de CaSO₄ en el compuesto. En cambio el cemento ProRoot MTA® se espátula durante un minuto

para hidratar adecuadamente el polvo y endurece después de un periodo de 4 h.⁽¹¹⁾

1.3.4 Potencial de Hidrógeno: pH

De acuerdo a Torabinejad *et al.*, el MTA tiene un pH alcalino; al inicio del fraguado es de 10.2 y en un transcurso de 3 h se eleva a 12.5 y permanece constante. Este pH alcalino le confiere las propiedades antimicrobianas y es posible que debido al pH tan elevado se estimule la formación de tejidos dentales duros.^(8, 9, 14)

El pH alcalino del MTA se podría atribuir al silicato tricalcico (3CaSiO_2) y al silicato dicalcico (2CaOSiO_2) que son dos de sus principales componentes. Estos al reaccionar con el H_2O destilada forma una sal hidratada cristalizada e hidróxido de calcio.^(10,15)

1.4. Actividad biológica

1.4.1 Biocompatibilidad

La biocompatibilidad es la propiedad que tienen los materiales para interactuar con el huésped apropiadamente en una determinada aplicación. Los materiales biocompatibles no deben ser citotóxicos, para evitar una reacción inflamatoria de los tejidos circundantes.^(24,32)

El MTA ha sido utilizado ampliamente para la reparación de tejidos blandos y duros periapicales.⁽²⁾ La reparación con MTA es única, ya que al regenerar tejidos periradiculares hay presencia de cementogénesis debido a su excelente biocompatibilidad.^(12,32)

Así también se ha demostrado que el MTA es ideal para los recubrimientos pulpares directos e indirectos por su excelente biocompatibilidad ya que no presenta toxicidad e irritabilidad en contacto con los tejidos,⁽¹⁰⁾ así como una adecuada inducción y proliferación celular, regenerando de esta manera al cemento y permitiendo la formación de puentes dentinarias cuando está en contacto directa con la pulpa cameral.⁽¹²⁾

Al probar los efectos del MTA en células pulpares de ratón para evaluar la viabilidad celular y la mineralización, se encontró que el cemento estimula la

mineralización, ya que no exhibe citotoxicidad, además de que estimula a la producción de proteínas BMP-2 (proteína ósea morfológica), lo cual sugiere que la proteína BMP-2 podrían tener un papel importante en la mineralización, estimulada gracias al MTA. Así también, se ha demostrado que el MTA es mucho menos agresivo para la pulpa dental en comparación con el hidróxido de calcio.⁽¹⁵⁾

De acuerdo a los estudios de Hakki, et al., quienes analizaron la respuesta de fibroblastos del ligamento periodontal en perforaciones directas en presencia de diversos materiales selladores (Súper Bond C y B, amalgama, IRM y MTA), el MTA presentó una mayor viabilidad celular en comparación con los otros selladores.⁽³⁵⁾

Otros estudios han comparado el MTA con otros materiales de retro-obturación como la amalgama, ionómero de vidrio, óxido de zinc y eugenol, gutapercha, policarboxilato y resina compuesta, pero sin duda una de las desventajas de estos últimos materiales son los diversos grados de citotoxicidad que presentan, microfiltración y sensibilidad a la humedad; es por esto que el MTA es considerado como el mejor material para la retro-obturación, ya que es reconocido por ser bioactivo por su capacidad de inducir la formación de tejidos periapicales.^(12,13)

Además, se han realizado revisiones sistemáticas donde señalan que el MTA es un excelente material por su buena biocompatibilidad y su alta capacidad de regenerar tejidos periodontales adyacente cuando hay una comunicación directa con el periodonto durante el tratamiento de conductos.⁽⁶⁾

Por otro lado, de acuerdo a un estudio realizado por Keiseret *al.*, para valorar la citotoxicidad del MTA comparado con la amalgama y el Super-EBA ante células humanas del ligamento periodontal, se concluyó que el MTA presenta menor citotoxicidad que la amalgama y el Súper-EBA, lo que da pie el uso del MTA en ambiente periodontal.⁽¹⁵⁾

1.5 Antecedentes

Se ha tratado de mejorar los materiales odontológicos como el cemento de MTA para aumentar la calidad de los tratamientos adicionado ciertos compuestos con el propósito de mejorar sus características físicas, químicas y biológicas. Con el surgimiento de los nanomateriales, la incorporación de nanopartículas en el MTA, es una opción viable, debido a sus propiedades únicas que les confiere su diminuto tamaño. La mayoría de los materiales muestran sellado que puede ser mejorado, como es el caso del MTA. El MTA utilizado en la terapia de conductos, presenta un área microscópica libre en la interfase entre el material y la pared del conducto radicular, en donde los microorganismos pueden penetrar y proliferar, causando de esta manera el fracaso del tratamiento.⁽³⁶⁾ Otras situaciones clínicas, en las cuales un excelente sellado es crítico, es el caso de las perforaciones radiculares y la obturación retrograda. Las características ideales para mejorar el sellado apical son una excelente biocompatibilidad, estabilidad dimensional, resistencia a la humedad y baja disolución, buena adherencia al tejido duro apical y no ser reabsorbible.^(8,9)

Se han hecho estudios antimicrobianos *in vitro* del w-MTA Angelus® con la adición de nanopartículas de plata (Ag NPs), que son de los nanomateriales más utilizados actualmente.⁽³⁷⁾ Los ensayos de difusión en disco fueron realizados a bajas concentraciones de Ag NPs (1 % en peso) ante *E. faecalis*, *C. albicans*, y *P. aeruginosa*, mostrando que el MTA/Ag NPs presenta mejor efecto antimicrobiano sin disminuir la biocompatibilidad que caracteriza al MTA.⁽³⁶⁾ Por otro lado, un estudio realizado en ratones albinos señaló que la inducción inflamatoria fue muy similar en el MTA con y sin la incorporación de Ag NPs, no encontrando una diferencia significativa en los resultados.⁽³⁷⁾

Se han realizado también estudios del MTA con la adición de zeolita de plata y clorhexidina, con el objetivo de mejorar sus propiedades antimicrobianas ante *E. faecalis*, puesto que esta cepa bacteriana se le atribuye estar presente entre el 35 y 100 % de los fracasos endodóncicos. Con la adición de zeolita de plata y clorhexidina al 2 % en proporción al peso, se ha obteniendo un mejor efecto antimicrobiano para el MTA con zeolita de plata seguido por el MTA con

clorhexidina, obteniendo sin duda un mejor resultado antimicrobiano que con el MTA por sí solo.⁽³⁸⁾

También se ha reportado la mejora de las propiedades del MTA con la incorporación de NPs cúbicas de carbonato de calcio (NPCC) para mejorar las propiedades fisicoquímicas de este material, puesto que un periodo prolongado de endurecimiento durante el sellado retrogrado de los conductos induce a que el material se disuelva con mayor facilidad, por la presencia de sangre y saliva, así como su difícil manipulación, pudiendo además existir una interfase entre las paredes del conducto y el MTA. Los NPCC se caracterizaron a través del análisis elemental por espectroscopia de dispersión de energía (EDS) y micrografías en microscopio electrónico de transmisión (TEM). Los NPCC mostraron una morfología cúbica de tamaño entre 15 y 60 nm, con una naturaleza química de (Ca, C y O) y presencia de impurezas de Si, Ti y Al. Se realizaron ensayos del MTA con la incorporación de NPCC a concentraciones de 5 y 10 % evaluando el tiempo de trabajo, cambios dimensionales, resistencia a la compresión, solubilidad y pH del material. Se apreció que con la adición de NPCC se aceleró el endurecimiento del material, disminuyó el cambio dimensional, y el compuesto mostró un pH más elevado, sin embargo se redujo la resistencia a la compresión y aumentó la solubilidad del material.⁽³⁹⁾

Por otra parte, se ha tratado de cambiar el medio de disolución para mejorar las propiedades fisicoquímicas del MTA sustituyendo al agua destilada como vehículo por propilenglicol (PEG) el cual tiene diferentes usos dentro de la industria farmacéutica y cosmética. Una de las justificaciones por el cual se pretende cambiar el disolvente es porque el agua como medio de disolución, produce que el material presente una consistencia arenosa y seca, dificultando su manipulación, especialmente durante los abordajes quirúrgicos como en la obturación retrograda de los conductos. Dentro de la metodología se sustituyó el 100 % el agua destilada por PEG, con lo cual se observó que no permitió el ajuste del MTA dentro del tejido apical, por lo cual se decidió mezclar el cemento en proporción de 80% de agua destilada con 20 % de PEG obteniendo una disminución de la solubilidad del MTA y del espesor de la película, y además aumentó el pH. Sin

embargo, también se incrementó la porosidad y el tiempo de fraguado final, mostrando un ligero aumento de la fluidez del material, pero dicha fluidez no fue significativamente mayor comparada al mezclar el MTA con agua destilada.⁽⁴⁰⁾

El largo periodo de fraguado del cemento MTA sigue siendo uno de sus inconvenientes, así como cierta citotoxicidad ante células madre de la pulpa dental. Para mejorar estos aspectos, se ha reportado la adición de diferentes compuestos químicos con propiedades de aceleración química en el polvo de MTA, tales como hidrógeno fosfato de sodio (Na_2HPO_4), cloruro de calcio (CaCl_2) y K-Y Jelly. En los resultados, se apreció una disminución en el tiempo de fraguado muy significativo al mezclar el MTA con Na_2HPO_4 , CaCl_2 al 5 y 10 %, respectivamente; y K-Y Jelly, en comparación con el polvo de MTA mezclado solo con agua destilada. Además, los compuestos Na_2HPO_4 , CaCl_2 al 5 y 10 %, respectivamente, son biocompatibles con las células madres de la pulpa dental.⁽⁴¹⁾

También se han realizado experimentos con el g-MTA el cual se sabe que tiene mayor cantidad de componentes de óxidos metálicos y sus partículas son más grandes a diferencia del w-MTA, ambos tienen un largo periodo de fraguado, por lo cual se ha tratado de sustituir el agua destilada como medio de solvente por diferentes medios como CaCl_2 al 5 %, líquido K-Y y gel de NaClO al 3 %, donde se mostró una mejor consistencia en su manipulación, una menor microfiltración y un tiempo más acelerado de fraguado, así como una adecuada biocompatibilidad, de acuerdo a los resultados obtenidos de los ensayos del material ante osteoblastos MC3T3 y fibroblastos L929 de ratón no presentaron cambios significativos en comparación con g-MTA mezclado con agua destilada, es decir que no afectó su viabilidad celular.⁽⁴²⁾

CAPÍTULO 2.

2.1 Planteamiento del problema

En la actualidad una de las problemáticas dentro de la área de endodoncia es el fracaso de los tratamientos de conductos presentándose la perforaciones radiculares como la segunda causa, teniendo un pronóstico menos favorables las presentes en furca⁽⁹⁾ posteriormente es necesario un abordaje quirúrgico en la mayoría de los casos, es por eso que hay que mejorar los materiales utilizados en el área de endodoncia que permiten corregir estos accidentes presentes durante un tratamiento de conductos; así como en procedimientos quirúrgicos como la retro-obturación teniendo una excelente biocompatibilidad con los tejidos periodontales.

Uno de los materiales utilizados con mayor índice de éxito es el MTA por su excelente biocompatibilidad, radiopacidad, regeneración de tejidos periodontales, pH alcalino al cual se le atribuye efectos bacteriostáticos, sin embargo, tiene algunos inconvenientes como un largo periodo de trabajo, así como espacios microscópicos entre las partículas del material por su morfología irregular,⁽³⁶⁾ lo cual dificulta su manipulación y el sellado; y finalmente, se ve comprometido el pronóstico del tratamiento endodóncico. ^(11,14)

Debido a esto, se pretende investigar las propiedades físicas, químicas y biológicas del MTA por sí sólo y adicionándole NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones que van del 0.2 al 1 % en relación al peso con el propósito de mejorar las propiedades antes mencionadas de dicho cemento.

2.2 Justificación

El MTA se utiliza en diversos tratamientos odontológicos, en el área de endodoncia, por ejemplo, en el sellado de perforaciones radiculares, uno de los principales accidentes ocurridos en la terapia de conductos que oscila entre un 3 a 10 % ⁽²³⁾, así como en el sellado de las obturaciones retrogradas de los conductos cuando se requiere de un abordaje quirúrgico, en ambas situaciones el MTA se encuentra en contacto con fluidos, lo que dificulta su colocación.

Por otro lado, se sabe que el cemento de MTA no permite un sellado hermético entre la dentina y el material pudiendo existir una interfase microscópica donde los microorganismos patógenos pueden recolonizar los conductos radiculares y aquellos microorganismos que habitan en la cavidad oral pueden penetrar con facilidad, llevando al fracaso del tratamiento, por lo cual sería conveniente añadir algún material que ocupe esos espacios nanométricos para propiciar una mejor organización de las estructuras del MTA y de esta manera mejorar los índices de éxito de los tratamientos endodónticos llamados quirúrgicos y no quirúrgicos.

Además, se han utilizado diversos materiales para sellar las perforaciones radiculares, así como las obturaciones retrogradas como el ionómero de vidrio, IRM, amalgama y recientemente materiales biocerámicos como el Biodentine,⁽⁸⁾ pero los mejores resultados se han obtenido con MTA, el cual es biocompatible y estimula la regeneración de tejidos periodontales y tejidos duros de la estructura dentaria, así como un modesto efecto antimicrobiano atribuido a su pH alcalino.

Sin embargo, es posible mejorar las propiedades del cemento de MTA con el surgimiento de las nanoestructuras, las cuales actualmente se están incorporando a los materiales dentales para mejorar sus propiedades.

2.3 Objetivo general

Evaluar las propiedades fisicoquímicas y biológicas del cemento de MTA en función de la concentración de nanocristales de sulfuro de hierro (NCs de FeS_2) al 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1% en peso.

2.3.1 Objetivos específicos

1. Evaluar la biocompatibilidad de los NCs de FeS_2 a diferentes concentraciones ante HPC y HGF.
2. Evaluar la biocompatibilidad de MTA con la incorporación de NCs de FeS_2 a diferentes concentraciones ante HPC y HGF.
3. Comparar los cambios de radiopacidad del MTA con y sin NCs de FeS_2 a diferentes concentraciones.
4. Evaluar el módulo de almacenamiento que tiene una estrecha relación con la viscosidad del MTA con la incorporación de NCs de FeS_2 .
5. Medir el tiempo de trabajo del MTA a diferentes concentraciones,
6. Medir el cambio de pH del MTA con y sin NCs de FeS_2 , en un periodo de 24 h.

2.4 Pregunta de investigación

¿Cuáles son las propiedades fisicoquímicas y biológicas del cemento de MTA en función de la concentración de nanocristales de sulfuro de hierro (NCs de FeS_2) a diferentes concentraciones?

2.5 Hipótesis alternativa

Las propiedades fisicoquímicas y biológicas del cemento de MTA mejoran significativamente en función de la concentración de nanocristales de sulfuro de hierro (NCs de FeS_2).

2.6 Hipótesis nula (H_0)

Las propiedades fisicoquímicas y biológicas del cemento de MTA no mejoran significativamente en función de la concentración de nanocristales de sulfuro de hierro (NCs de FeS_2).

CAPÍTULO 3.

3. METODOLOGÍA

- **Tipo de estudio:** Experimental.
- **Diseño de estudio:** experimental puro, descriptivo, prospectivo y comparativo.
- **Universo de estudio:** Nanocristales cúbicos de sulfuro de hierro (NCs de FeS_2) incorporados en w-MTA Angelus®.
- **Criterios de selección**
 - Criterios de inclusión: NCs cúbicos de FeS_2 de tamaño 200 a 400 nm, w-MTA Angelus® de partículas finas de tamaño menor a 10 micrómetros, para que pueda ser hidratada adecuadamente.⁽¹¹⁾
 - adecuado crecimiento del cultivo celular de HFG Y HPC $1-5 \times 10^5$ células/ml para ensayos de viabilidad celular
 - muestra de 1 mm de espesor de MTA con/sin NCs de FeS_2 dentro de la porta muestra de aluminio de 1 mm de grosor.
 - Porciones estandarizadas por igual proporción del cemento de MTA con y sin NCs de FeS_2 para evaluar la viabilidad celular, tiempo de fraguado, radiopacidad, módulo de almacenamiento y pH.
 - Criterios de exclusión: Nanocristales que presenten morfología en forma de nanoflores, nanoplatos o nanodiscos.
 - Criterios de eliminación: Muestras que se rompan durante la manipulación o que se contaminen durante las pruebas.
 - Cultivos celulares contaminados.
 - Muestras que o estuvieran estandarizadas en función a la proporción MTA Y NCs de FeS_2 de acuerdo a las concentraciones.

- **Tamaño de muestra:**

Tabla 3. Tamaño de muestra de cada grupo y variables dependientes.

• Variables	• Grupos / Tamaño De muestra
Viabilidad celular (%)	<ul style="list-style-type: none"> • FeS₂ (n=6) • MTA con FeS₂ (n=6)
Módulo de almacenamiento (MPa)	<ul style="list-style-type: none"> • MTA con FeS₂ (n=2)
Radiopacidad (mm)	<ul style="list-style-type: none"> • MTA con FeS₂ (n=3)
Tiempo de trabajo (min)	<ul style="list-style-type: none"> • MTA con FeS₂ (n=2)
pH (u.a)	<ul style="list-style-type: none"> • MTA con FeS₂ (n=1)

- **Selección de variables**

Tabla 3.1 Variables de estudio.

Variables dependientes	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medición
Concentración porcentual en peso de nanocristales	Cantidad de masa de dicha especie que hay en la muestra respecto a la cantidad de masa total de la muestra, en términos porcentuales.	Cantidad de nanocristales utilizados en el cemento MTA del 0.2 al 1 % en peso.	Cualitativa Ordinal 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1.0 %	% en peso
Radiopacidad	Es la capacidad que poseen determinados materiales del grado de penetración de los rayos X, es decir de desviarlos al contacto con ellos. ⁽¹¹⁾	Grado de penetración de los rayos x, sobre el MTA con la incorporación de los NCs de de FeS ₂ utilizando como patrón de referencia los mm	Cuantitativa continua	Unidades arbitrarias

		de aluminio.		
Viscosidad	Propiedad de los fluidos que caracteriza su resistencia a fluir, oponer una resistencia al movimiento uniforme de su masa. ⁽⁴³⁾	Rozamiento entre moléculas determinada por un análisis reológico.	Cuantitativa, continua	Pa-s
Tiempo de fraguado	Período de tiempo medido entre el comienzo del mezclado del material hasta que no sea posible manipular el material sellador, sin promover efectos adversos en sus propiedades. ⁽³⁴⁾	Interacción entre MTA con NCs de FeS ₂ determinando el periodo de endurecimiento del material, cuando la aguja de Gilmore no pueda penetrar el material.	Cuantitativa continua	Minutos y segundos
pH	Índice que expresa el grado de acidez o alcalinidad de una disolución. ⁽⁴³⁾	Escala de medición ácido-base del compuesto durante la Interacción entre cemento de MTA con NCs de FeS ₂ en un medio acuoso.	Cuantitativa	Unidades arbitrarias
Viabilidad celular	Proporción de células vivas luego de un procedimiento. Prueba que determina el rompimiento de la integridad de la membrana. ⁽⁷⁾	Porcentaje de células vivas en un ensayo de MTT después de 24 h.	Cuantitativa, continua de intervalo	% de la viabilidad celular

3.1 Preparación de las muestras de MTA con NCs de FeS₂

La síntesis de los NCs de FeS₂ se llevó a cabo de acuerdo a un procedimiento descrito previamente.⁽⁴⁴⁾ El producto de los nanocristales dispersados en etanol fueron secados a una temperatura de 60 a 80 °C. La cantidad obtenida por síntesis de nanocristales en polvo fue de 544.2 mg.

La manera en la que se realizaron las muestras del MTA® (Angelus Odontologika, Londrina, Paraná, Brasil) con los NCs de FeS₂ fue a través de una mezcla física de los componentes a diferentes concentraciones (de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 %

en peso). El MTA y los NCs de FeS_2 fueron pesados de manera independiente en una balanza analítica y posteriormente fueron incorporados mezclándolos sobre una loseta de vidrio y espátula metálica hasta obtener una consistencia uniforme.

3.2 Caracterización de Microscopia Electrónica de Barrido de los NCs de FeS_2

La Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) utiliza un haz de electrones acelerado por una diferencia de potencial. Cuando el haz incide sobre la muestra, se producen interacciones entre los electrones y los átomos de la muestra. La energía que pierden los electrones al chocar contra la muestra puede hacer que otros electrones salgan despedidos (electrones secundarios), estos electrones son detectados y con ellos se construyen las imágenes. Esta técnica nos permite ver la morfología de la muestra.

Los nanocristales en polvo fueron dispersados en etanol y fueron puestos en un soporte metálico de aluminio y se recubrieron con carbón para observarlas en el microscopio Hitachi FE-SEM S5500a diferentes ampliaciones en el Instituto de Energías Renovables de la UNAM. Se analizaron los nanocristales a diferentes magnificaciones (10, 18 y 45 x) a 5kv como se aprecia en la Figura 4.1.

3.3 Determinación de radiopacidad del MTA con NCs de FeS_2

Se realizaron muestras por triplicado de MTA incorporando diferentes concentraciones de los NCs de FeS_2 al 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 % en peso. Los portamuestra empleados para la determinación de la radiopacidad fueron de aluminio con 1mm de profundidad y 6 mm de diámetro en la circunferencia interna. Se pesó en la balanza analítica 50mg de MTA y la proporción equivalente para cada muestra con NCs de FeS_2 como se muestra en la Tabla 3.2. Posteriormente, se mezcló cada porción con agua destilada de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Se adosó el cemento perfectamente en el portamuestra. Cada portamuestra tiene 3 circunferencias internas (Figura 3.1) las cuales son rellenas con el mismo procedimiento ya mencionado. Una vez que el cemento

ha fraguado por completo (3 h después) se tomó una radiografía con sensor radiográfico con el radiovisiografo Digital Imaging Plate System (Instrumentarium Express™, USA) calibrado a 70 kV, 7 mA, 18 pulsos por segundo y estandarizando a una distancia de 30cm del rayo al espécimen. Para todas las muestras que se aprecian en la figura 3.2.

Tabla 3.2. Proporción % en peso de las muestras de cemento de MTA y los NCs incorporados.

Muestras	MTA, peso(mg)	Peso (mg) de NCs de FeS₂
<i>MTA</i>	50	0
<i>MTA al 0.2%</i>	50	0.1
<i>MTA al 0.4%</i>	50	0.2
<i>MTA al 0.6%</i>	50	0.3
<i>MTA al 0.8%</i>	50	0.4
<i>MTA al 1%</i>	50	0.5

Se comparó la densidad óptica en el software Image J(Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA) (para Windows) midiendo los valores promedio en los tonos de gris de acuerdo a la imagen obtenida de las circunferencias de la imagen de MTA con las diferentes concentraciones de los NCs de FeS₂, para obtener el equivalente al grosor en mm de aluminio comparado con un testigo calibrado de aluminio, el cual posee el tamaño del sensor y va por incrementos escalonados que van desde 1 a 9 mm de grosor como se muestra la radiografía en la Figura 3.3.

Con la calibración podemos establecer el equivalente de los valores en los tonos de gris obtenida con la imagen digital del testigo calibrado de aluminio y de esta manera establecer sus valores correspondientes de acuerdo a la densidad óptica y hacer comparaciones para determinar el efecto en la radiopacidad que le confieren al MTA los NCs de FeS₂.

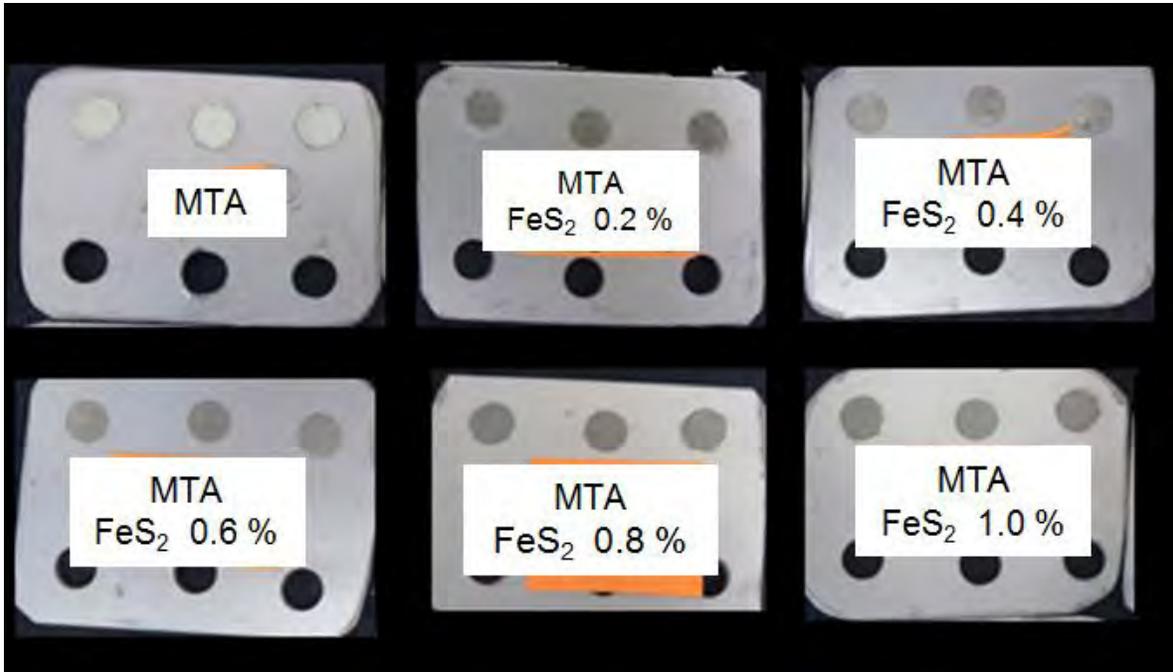


Figura 3.1. Portamuestras de aluminio de 1 mm de grosor y el MTA con NCs de FeS₂ a distintas concentraciones.

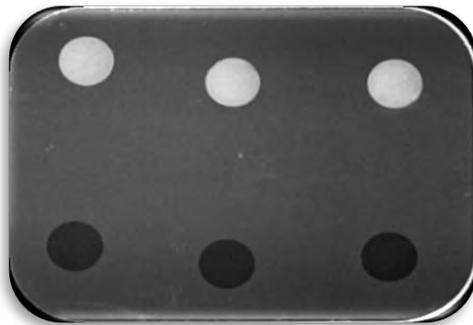


Figura 3.2. Radiografía del portamuestra con muestra de MTA y NCs de FeS₂.



Figura 3.3. Testigo calibrado de aluminio escalonado de 1 a 9 mm de espesor.

Una vez que se determinaron los valores en el grosor equivalente en milímetros de grosor de aluminio de radiopacidad, se utilizó el software OriginPro versión 8 (OriginLab, USA) insertando los valores en la siguiente ecuación $X = \frac{y-(b)}{m}$, donde (y) es igual al valor promedio de gris, (b) es igual a (-27.1411) y (m) es igual a (27.2649).

3.4 Determinación de viscosidad del MTA NCs de FeS₂

Para medir la viscosidad y el módulo de almacenamiento se utilizó una geometría plato-plato en un reómetro modelo Discovery HR-3 de TA Instruments (Lanzetta Rengifo, USA) La muestra sólida de MTA con NCs de FeS₂ se colocó sobre un plato Peltier termalizado a 37 °C, posteriormente, se mezcló con la cantidad de agua destilada de acuerdo a las indicaciones del fabricante sobre dicho plato. Una vez formada la mezcla, se hizo descender de manera automática el plato superior hasta que la fuerza aplicada sobre la muestra fue de 1.0 N, que se mantuvo constante durante la medición. Una vez colocada la muestra entre los platos, se aplicó una velocidad de deformación de 1.4 por segundo durante dos minutos; tiempo suficiente para llegar a un valor constante de torca que fue usada para calcular el esfuerzo de corte y la viscosidad. El cálculo de estas variables considera el diámetro que presentó la muestra durante las medidas determinadas con un vernier al final de estas pruebas reológicas, al momento de levantar el plato superior y liberar la muestra. El esfuerzo de corte (S) guarda una relación en función del radio de la muestra (R) y la torca medida (M) como reporta la literatura ⁽⁴⁵⁾: $(2*M)/(2*\pi*R^3)$. La viscosidad de corte es sencillamente la razón entre el esfuerzo de corte y la velocidad de deformación aplicada.

De manera similar a la viscosidad, se midió el módulo de almacenamiento. Una vez terminada la medida de viscosidad, sobre la misma muestra se impuso una deformación oscilatoria del 1 % con una frecuencia de 1 rad/s. La torca medida en fase con la deformación se consideró para calcular el módulo de almacenamiento de la misma manera en que se calculó el esfuerzo de corte, Figura 3.4.



Figura 3.4. Reómetro DISCOVERY- HR-3 y muestra del cemento de MTA y NCs de FeS₂.

3.5 Determinación del tiempo de fraguado del MTA con los NCs de FeS₂

Se pesaron en la balanza analítica 3 porciones de 50mg de cemento de MTA y los NCs de FeS₂ para obtener muestras a diferentes concentraciones (al 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 %). Se incorporó el polvo de MTA en los NCs hasta lograr un polvo de coloración grisácea. Posteriormente se tomó con la micropipeta la cantidad de agua destilada, de acuerdo a las indicaciones del fabricante, la cual se incorporó al cemento y se determinó el tiempo con un cronometro desde el inicio del espatulado hasta el momento en que el cemento no permite la identificación con la aguja de Gilmore (UTEST, USA) de 100g de peso y 2 mm de diámetro en la punta. La prueba se realizó en una caja de guantes a 37 °C, con una humedad relativa del 95 %.

3.6 Determinación de pH del MTA con los NCs de FeS₂

Se prepararon soluciones de MTA y NCs de FeS₂ en tubos de eppendorfa las concentraciones correspondientes de 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 % de NCs de FeS₂

como se muestra en la Tabla 3.3 y Figura 3.5 a). La muestra de MTA y NCs de FeS₂ fue disuelta en agua destilada (50 µL) y un 1 mL de medio de cultivo DMEM (gibco, USA) suplementado al 10 % de suero fetal bovino, 100 u/mL de penicilina y 100 mg/mL de estreptomina) como se aprecian en la Figura 3.5 b). Las tiras de papel para medir pH fueron impregnadas por completo en la solución de MTA y NCs de FeS₂ a cada una de las concentraciones (Figura 3.6). El pH (MACHEREY-NAGEL, USA) fue medido a diferentes periodos de tiempo (0, 1, 3, 6, 12 y 24 h).

Tabla 3.3. Concentraciones de soluto utilizadas para la toma de pH, cada una de las concentraciones mezcladas con 1 gota de H₂O destilada y 1 ml de medio de cultivo celular.

Muestras	Cemento de MTA. peso (mg)	NPs de FeS₂, Peso (mg)
<i>MTA</i>	25	0
<i>MTA al 0.2%</i>	25	0.05
<i>MTA al 0.4%</i>	25	0.1
<i>MTA al 0.6%</i>	25	0.15
<i>MTA al 0.8%</i>	25	0.2
<i>MTA al 1%</i>	25	0.25

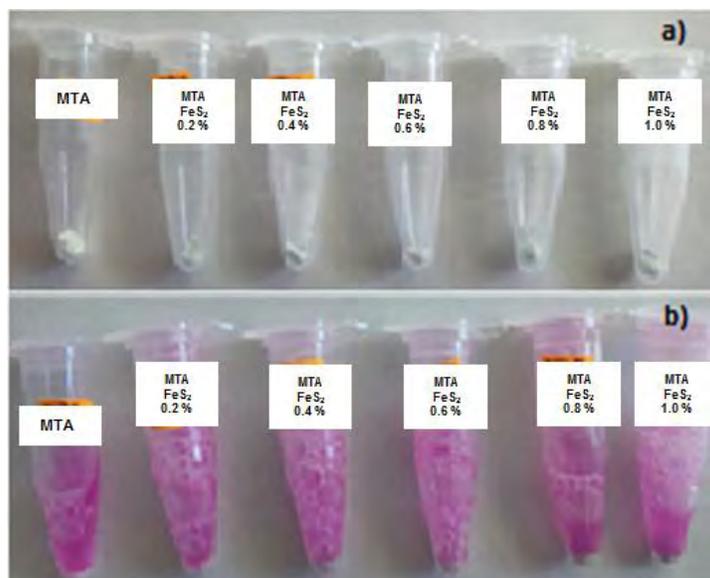


Figura 3.5. MTA a diferentes concentraciones en peso de NCs de FeS_2 en a) estado sólido y b) disuelto en medio de cultivo.

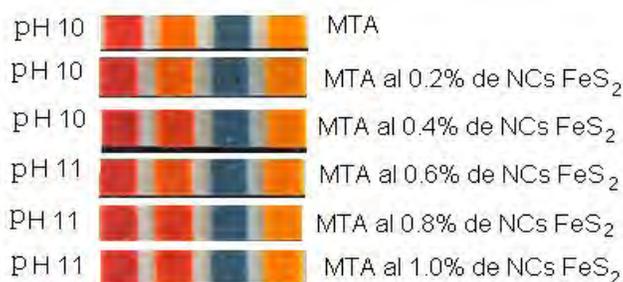


Figura 3.6. Tiras de papel para medir pH impregnadas con MTA y NCs de FeS_2 a diferentes concentraciones.

3.7 Evaluación de citotoxicidad de los NCs de FeS_2 en células pulpares humanas (HPC) y fibroblastos gingivales humanos (HGF).

Los fibroblastos gingivales humanos (HGF) y células pulpares humanas (HPC) fueron cultivados en medio de cultivo (DMEM suplementado al 10 % de suero fetal bovino (Gibco, USA), 100 u/mL de penicilina (Gibco, USA) y 100 mg/mL de estreptomycin (Gibco, USA) e incubados a 37 °C en una atmosfera de CO_2 al 5 % y humedad del 95 %; durante 48 h (el medio de cultivo fue cambiado cada 24 h) hasta obtener una adecuada población celular de HGF y HPC de $1-5 \times 10^5$ cél/mL.

Se retiró el medio de cultivo de los platos de cultivo con la bomba de vacío y se lavó 2 veces con 4 mL de solución PBS; se colocó enseguida 1 mL de tripsina (Gibco, USA) al 0.5 % y se incubó durante 5 minutos en una atmósfera de CO₂ al 5 % y humedad del 95 %; posteriormente, se apreció al microscopio el desprendimiento de los 2 tipos celulares de manera independiente en cada plato de cultivo, se agregaron 2 mL de medio de cultivo (DMEM suplementado al 10% de suero fetal bovino, 100 unidades/mL de penicilina y 100 mg/mL de estreptomicina) a los platos de cultivo y se colocaron en cada pocillo 100 µL de medio con células en platos de 96 pocillos. Para la preparación de los NCs de FeS₂, se pesaron 0.438 mg NCs de FeS₂ en una balanza analítica, los NCs de FeS₂ en polvo se disolvieron en 1 mL de metanol, posteriormente se agitaron con vortex y se ultrasonificaron por 5 minutos a temperatura ambiente. Se tomaron 100 µL/pocillo de la disolución con los NCs de FeS₂ con una micropipeta calibrada multicanal y fueron colocados en la primera línea de pocillos en sentido horizontal de una placa de 96 pocillos y a partir de esta concentración se hicieron diluciones seriadas. El grupo control positivo consistió solo de la inoculación de las células en medio de cultivo DMEM y SFB. El grupo control negativo consistió solo de medio de cultivo DMEM y SFB. La placa fue incubada a 37 °C durante 24 h bajo una atmósfera de CO₂ al 5 % y una humedad del 95 %.

Finalmente, el número de células viables fue determinado mediante el método colorimétrico de MTT (Sigma, USA). Para esto, se retiró el medio de cultivo de los pocillos de la placa de cultivo y fue reemplazado con 100 µL de MTT (0.2 mg/mL) disuelto en medio de cultivo DMEM y nuevamente las células fueron incubadas 4 h bajo las mismas condiciones. Después se retiró el MTT con el medio de cultivo usando una bomba al vacío y se colocaron 100 µL de dimetil sulfóxido (Karat, Leon, Gto). La viabilidad celular se determinó en un espectrofotómetro (Multi SKan Go, Thermo scientific, Finlandia) a una longitud de onda de 540 nm. El experimento se realizó por triplicado y los resultados se promediaron y se determinó el porcentaje de viabilidad celular a partir del control de crecimiento positivo de las células. Se determinó la concentración de citotoxicidad media CC₅₀.

3.8 Evaluación de citotoxicidad del MTA con los NCs de FeS₂ en células pulpares (HPC) y fibroblastos gingivales (HGF)

Los fibroblastos gingivales humanos (HGF) y células pulpares humanas (HPC) fueron cultivados en medio de cultivo y condiciones descritas en la sección anterior. De igual manera se llevó a cabo el procedimiento de desprendimiento de las células de las cajas de cultivo para su posterior utilización en los experimentos.

Para la preparación del MTA con los NCs de FeS₂ se pesaron en la balanza analítica 25 mg de MTA y 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 y 0.25 mg de NCs de FeS₂ en polvo para obtener el MTA a concentraciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 % de NCs de FeS₂, respectivamente. El MTA y los NCs se colocaron en tubos de eppendorf y se disolvieron con la cantidad de agua destilada indicada por el fabricante y 1mL de medio de cultivo DMEM mezclándolo en vortex. Se tomaron 100 µL de la disolución de MTA adicionado con los NCs de FeS₂ con una micropipeta calibrada multicanal y fueron colocados en el primer pocillo en sentido horizontal de una placa de 96 pozos y a partir de esta solución se hicieron diluciones (Figura 3.6). El grupo control positivo consistió solo de células en el medio de cultivo DMEM y SFB. El grupo control negativo consistió solo de medio de cultivo DMEM y SFB. La placa fue incubada a 37 °C durante 24 h bajo una atmosfera de CO₂ al 5 % y una humedad del 95 %.

Finalmente, el número de células viables también fue determinado mediante el método de MTT descrito anteriormente. El experimento se realizó por triplicado y los resultados se promediaron y se graficaron.



Figura 3.6 Platos de 96 pocillos con células HPC y HGF con MTA y NCs de FeS₂ en concentraciones en peso al 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1%.

3.9 Análisis estadístico

Los datos descriptivos se expresan como la media \pm desviación estándar (SD). Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para todos los datos. Para la evaluación de la citotoxicidad, el análisis estadístico se realizó mediante la prueba t pareada y la prueba ANOVA post-hoc Tukey. Para pruebas de radiopacidad, tiempo de fraguado y pH, el análisis estadístico se realizó mediante el test de Kruskal-Wallis y el test U de Mann-Whitney. SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) se utilizó en todos los análisis. Las diferencias se consideraron significativas si $p \leq 0.05$.

CAPÍTULO 4.

4.1 RESULTADOS

4.1.1. SEM de NCs de FeS₂

Se tomaron imágenes en microscopía electrónica de barrido (SEM) de los NCs de FeS₂ para obtener mayor información de la morfología y el tamaño de dichos nanocristales. La morfología es cúbica formando aglomerados de apariencia de flor y pirámides como se aprecia en la Figura 4.1. El tamaño de los cubos es variado obteniendo mayor número de partículas entre 200 a 400 nm y menor número de partículas entre 600 y 800 nm como se muestra en el histograma de la Figura 4.2.



Figura 4.1 a), b) y c) Micrografías electrónicas de barrido (SEM) del FeS₂ a diferentes magnificaciones.

4.1.2 TEM de los NCs de FeS₂

Dentro de los análisis del FeS₂ mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM) se obtuvo mayor información del material, principalmente para apreciar su morfología con mayor detalle, la cual claramente es cúbica como se muestra en la Figura 4.3.

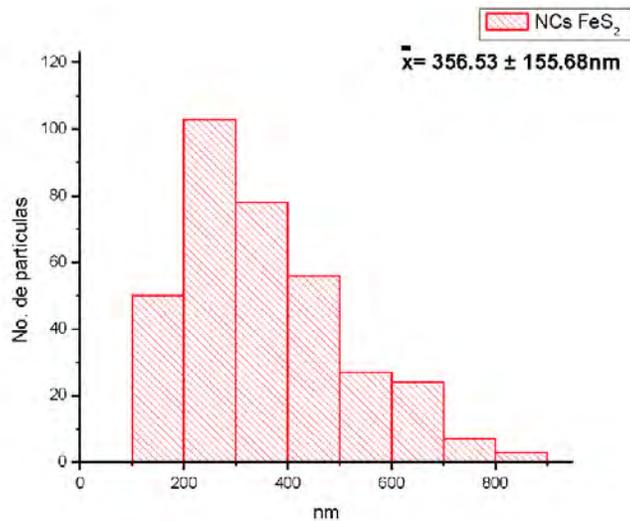


Figura 4.2 Histograma de tamaño de partícula de los NCs de FeS₂

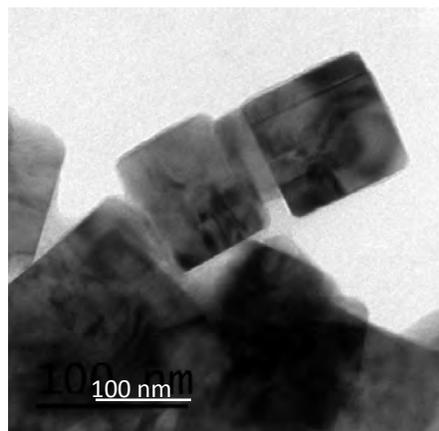


Figura 4.3 imagen de TEM de los Ncs de FeS₂ donde se aprecia su morfología cúbica.

4.2 SEM de MTA

En la Figura 4.4 se muestra la morfología de los componentes del w-MTA Angelus®, donde se aprecian aglomerados y estructuras irregulares, así como estructuras en forma de agujas de tamaño micrométrico. El espectro EDS (Figura S1 del Anexo 1) muestra la presencia de los componentes del MTA: calcio, silicio, aluminio, y bismuto, en los siguientes porcentajes atómicos: 81.1, 10.9, 5.2 y 2.8 %, respectivamente.

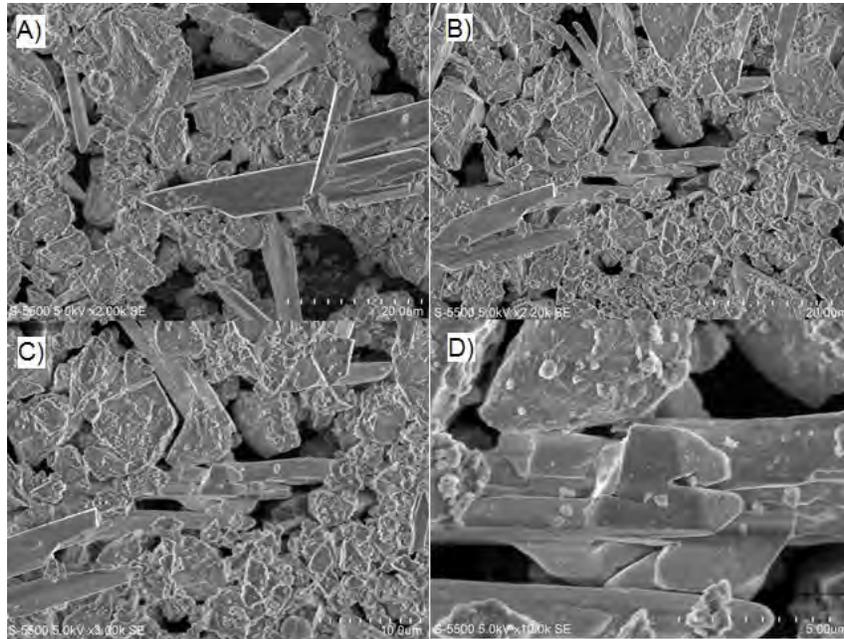


Figura 4.4 Micrográficas electrónicas de barrido del MTA Angelus® a diferentes magnificaciones A) 200x, B) 220 x, C) 300 x y D) 10 x, donde se aprecian diferentes estructuras irregulares y las agujas de óxido de bismuto.

4.2.1 SEM de MTA con NCs de FeS₂

En la imagen de SEM de MTA con la incorporación de NCs de FeS₂ Figura 4.5 se aprecia como hay una mayor organización de las partículas del material teniendo una morfología más uniforme, en donde los NCs por su tamaño nanométrico es posible que esté ocupando esos espacios vacíos que se aprecia en la imagen del MTA sin estos NCs (Figura 5a) en comparación con las imágenes b), c) y d) donde la concentración de NCs es de 0.8 y 1.0 % en peso, respectivamente.

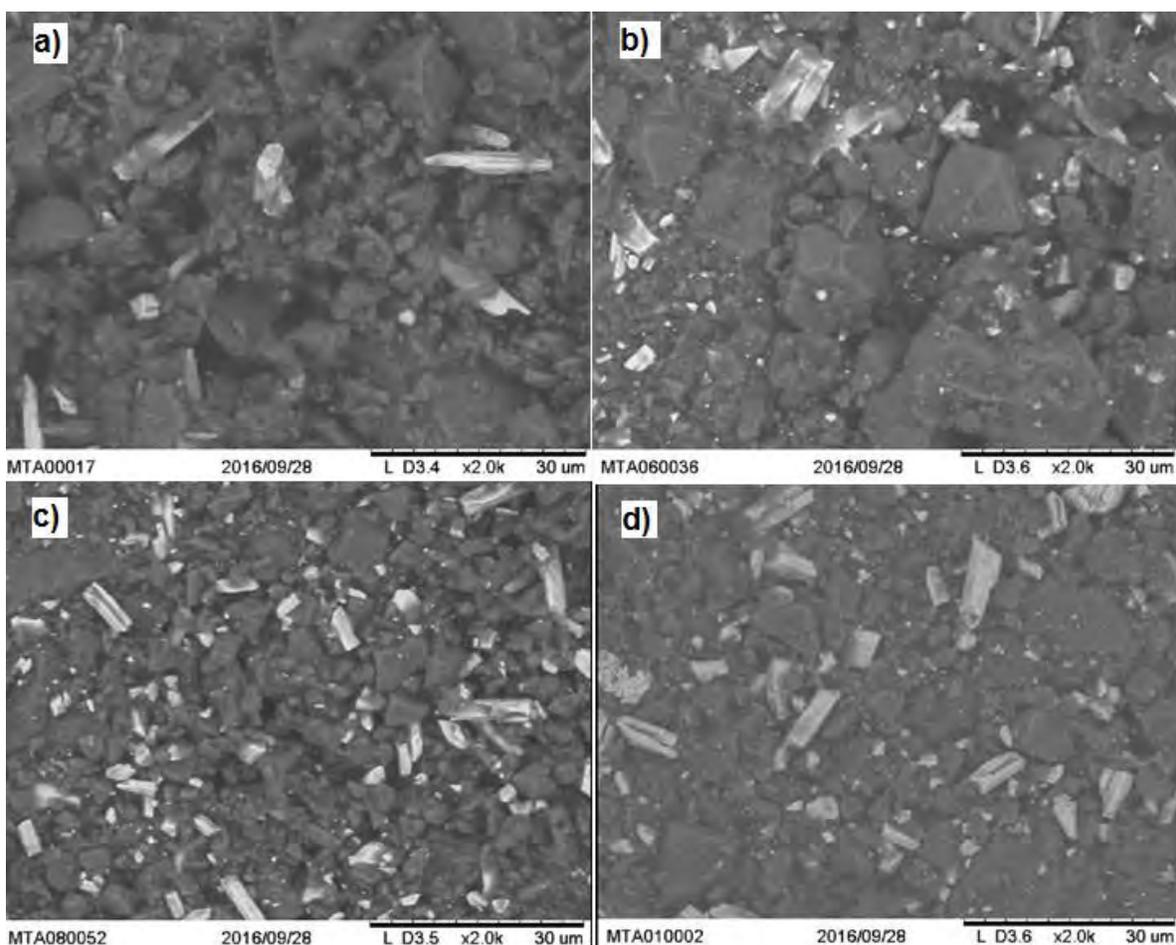


Figura 4.5. Micrografía de SEM del MTA con y sin NCs de FeS_2 . a) MTA sin NCs, b) MTA con 0.6 % de NCs c) MTA con 0.8 % de NCs y d) MTA con 1.0 % de NCs. A una magnificación de 2000 X.

En el Anexo 1, se muestran las imágenes de SEM del MTA a diferentes concentraciones de NCs de FeS_2 (Figuras S2-S6), donde se aprecia la presencia de los nanocubos. Los espectros de EDS muestran que los componentes del sulfuro de hierro (Fe y S) están presentes en el MTA.

4.3. Radiopacidad del MTA con los NCs de FeS_2

Los resultados se muestran en la Tabla 4.1, en la cual se indica el calibre equivalente en mm de aluminio de cada muestra de MTA a diferentes concentraciones de NCs de FeS_2 . La radiopacidad fue ligeramente modificada con

la incorporación de los NCs en el MTA, pero la diferencia entre los valores obtenidos no fue estadísticamente significativa ($p=0.177$), aunque existe una tendencia a que aumente la radiopacidad a medida que se incrementa la concentración de NCs. El gráfico que representa los valores promedio de tono de gris se observan la Figura 4.6.

Tabla 4.1 Radiopacidad de MTA con NCs a diferentes concentraciones con el equivalente al testigo calibrado de aluminio en mm. El estadístico utilizado fue la prueba de Kruskal-Wallis.

Cemento de MTA con % NPs de FeS₂	Media de tono de gris (u.a.)	Radiopacidad (mm de aluminio)
MTA	139.50 ± 6.83	6.1
MTA al 0.2 %	137.24 ± 12.90	6.1
MTA al 0.4 %	141.43 ± 11.10	6.1
MTA al 0.6 %	144.11 ± 10.25	6.2
MTA al 0.8 %	141.78 ± 10.77	6.1
MTA al 1.0 %	158.13 ± 7.30	6.7

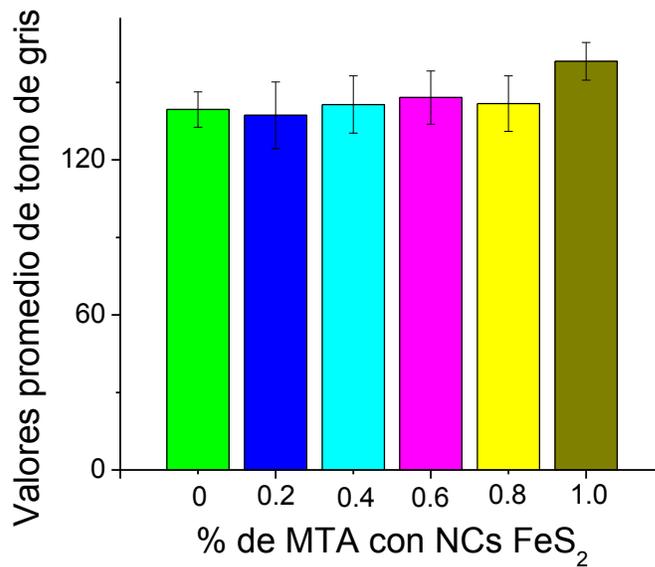


Figura 4.6 Gráfica de radiopacidad del MTA a sus diferentes concentraciones de NCs de FeS₂

4.4 Viscosidad / Módulo de almacenamiento

En los resultados de flujo de corte en régimen oscilatorio todas las muestras presentaron contracción y tienen un comportamiento fundamentalmente como los sólidos.

El MTA sin NCs requiere una fuerza de 221.29 MPa la cual es mucho mayor que la requerida para hacer fluir el MTA con la adición de NCs de FeS₂ (Ver Tabla 4.2). A mayor concentración de NCs la fuerza disminuye hasta un valor de 0.05 MPa al 1 % en peso de NCs, indicando que el cemento con los NCs de FeS₂ se vuelve mucho más fluido, y por lo tanto hay más área de contacto lo cual es benéfico para aumentar el sellado del material. Lo cual nos indica que al incorporar los NCs se organizan mejor las partículas del material pudiendo penetrar mejor dentro de los espacios pequeños y de difícil acceso en la dentina coronal, de los conductos radiculares y del ápice.

Tabla 4.2 Resultados del módulo de almacenamientos en MPa

MTA con % NCs de FeS ₂	Viscosidad compleja a 31.6 rad/s (KPa*s)

MTA	0.88
MTA al 0.2 %	10.64
MTA al 0.4 %	13.38
MTA al 0.6 %	10.45
MTA al 0.8 %	7.45
MTA al 1.0 %	5.14

4.5. Tiempo de fraguado del cemento MTA con los NCs de FeS₂

El tiempo de fraguado del MTA con los NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones (0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 %) se muestra en la Tabla 4.3, en donde se aprecia que el tiempo de fraguado del MTA sin nanocristales es mayor que el tiempo de fraguado del MTA con 1 % de NCs, por lo que puede notarse que la incorporación de los NCs al MTA disminuye el tiempo de trabajo.

Tabla 4.3 Resultados del tiempo de fraguado del MTA con y sin NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones.

Cemento de MTA con NCs de FeS₂	Tiempo de fraguado (min ± sd)
MTA al 0 %	18.16 ± 3.20
MTA al 0.2 %	16.50 ± 2.66
MTA al 0.4 %	15.33 ± 2.75
MTA al 0.6 %	15.33 ± 2.15
MTA al 0.8 %	14.50 ± 2.08
MTA al 1.0 %	13.66 ± 1.83

4.6 Viabilidad celular de los nanocristales de FeS₂ expuesto con células pulpares humanas (HPC) y fibroblastos gingivales humanos (HGF)

Se puede apreciar que es clara la citotoxicidad de los NCs de FeS₂ para las células pulpares humanas (HPC) y los fibroblastos gingivales humanos (HGF). En la concentración más pequeña (0.007 mg/mL), que se utilizó en esta prueba de citotoxicidad, la viabilidad celular desciende en las HPC hasta 61.83 % y en los HFG hasta 51.03 %. La viabilidad celular va en descenso a mayor concentración de los NCs, hasta un porcentaje de viabilidad celular en la concentración máxima (0.438 mg/mL) de 39.87 % para las HPC y 28.05 % para los HGF. Los HGF son más sensibles que las HPC ante los NCs de FeS₂ en todas las concentraciones. Se obtuvo la concentración letal CC₅₀ y su desviación estándar, las cuales se muestran en la Tabla 4.4.

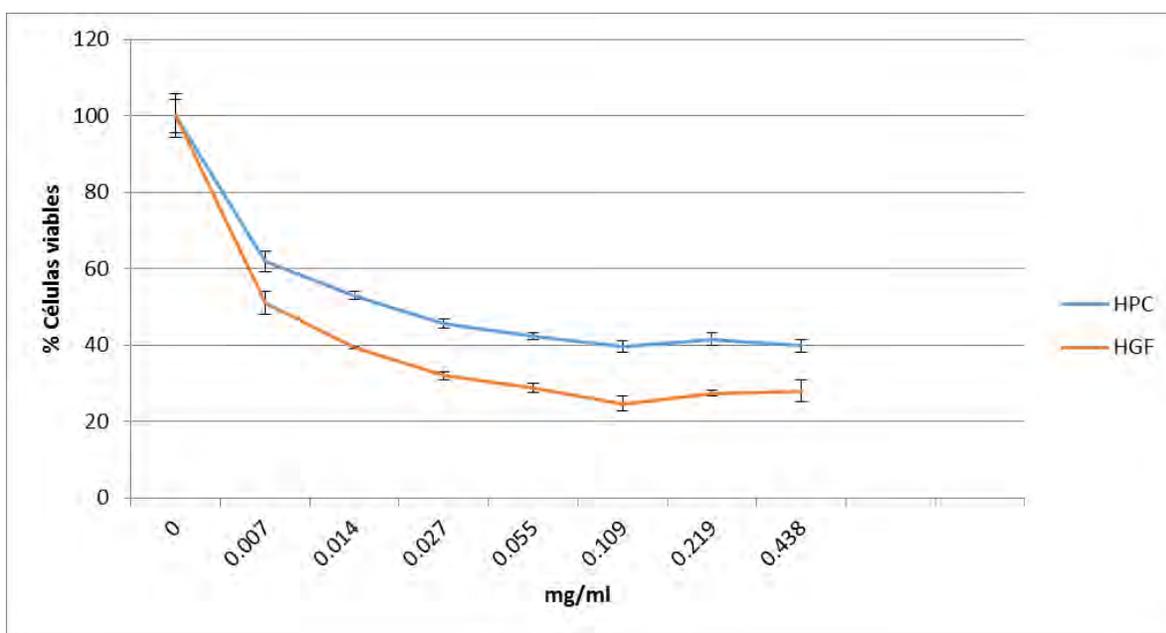


Figura 4.7 Gráfica de la viabilidad celular de HPC y HGF con NCs de FeS₂

Tabla 4.4 Concentración CC₅₀ de NCs de FeS₂ en HPC y HGF, con su desviación estándar (SD).

Células expuestas en NCs de sulfuro de	CC ₅₀ (mg/mL)	SD (mg/mL)
--	--------------------------	------------

hierro		
HPC	0.019	0.0021
HGF	0.0074	0.0020

4.6.2 Viabilidad celular en fibroblastos gingivales humanos (HGF) con la incorporación de MTA y NCs de FeS₂.

En la gráfica se puede apreciar los resultados del comportamiento del cemento de MTA con los NCs a diferentes concentraciones (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 y 1 %) en el cultivo primario de HGF, la cual indica que estimula la proliferación de las células y por ende no es citotóxico.

Se puede apreciar los diferentes picos de estimulación celular, con resultados positivos por encima del grupo de control de crecimiento positivo, en la Figura 4.7.

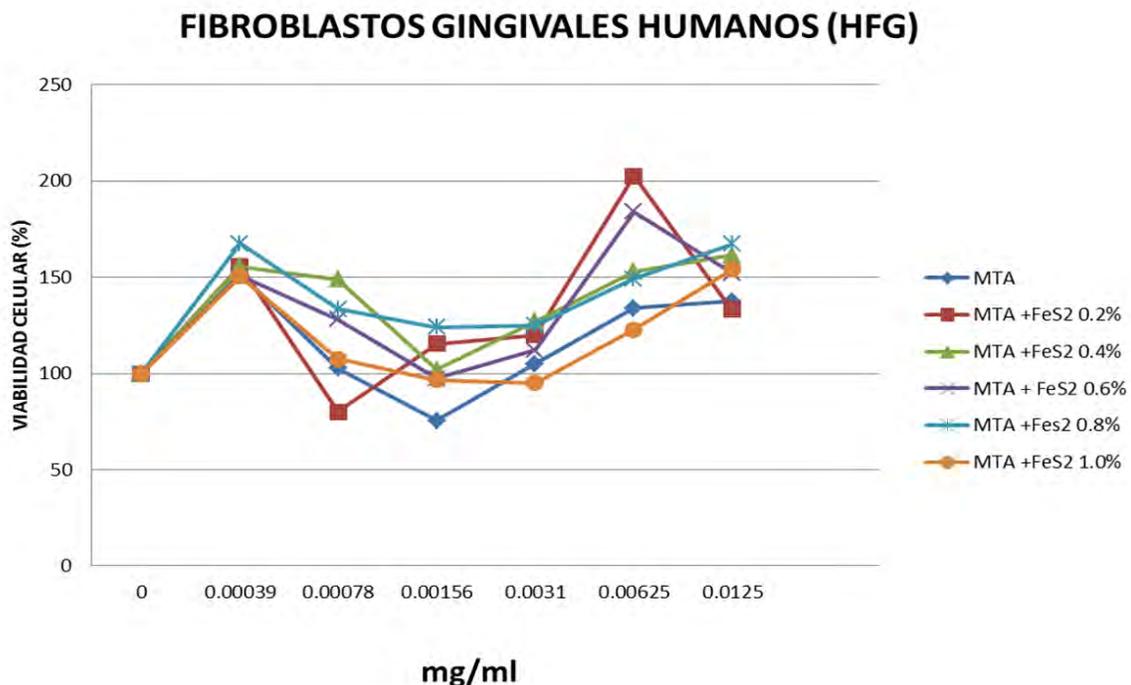


Figura 4.7 Gráfica de la viabilidad celular de los HGF en contacto con MTA y los NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones.

Se pueden apreciar las células de HFG en contacto con MTA y NCs de FeS₂ al 1 % en la imagen microscópica como se observa en la Figura 4.8.

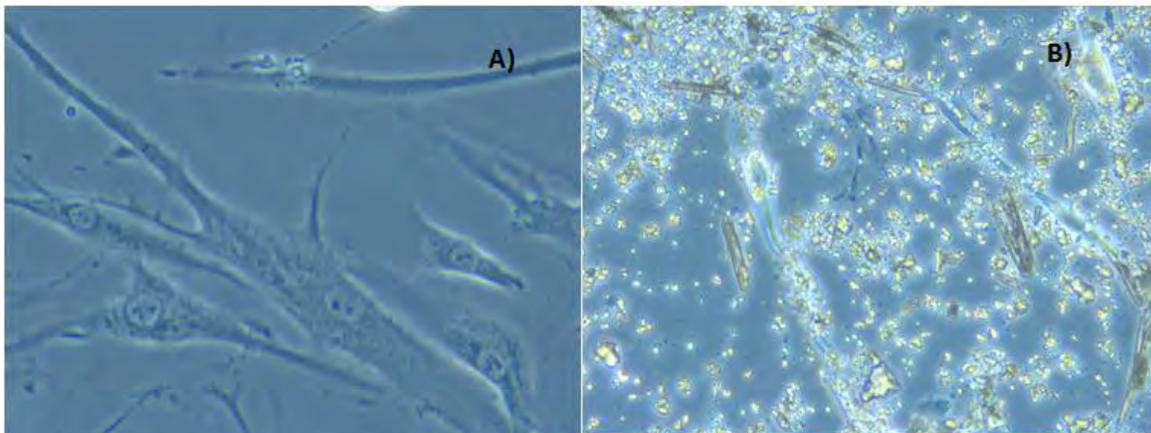


Figura 4.8. A) Imagen microscópica de HFG y B) HFG en contacto con MTA y los NCs de FeS₂ al 1 %

4.6.3 Viabilidad celular en células pulpares humanas con cemento de MTA y NCs de FeS₂

En la gráfica de la Figura 4.8, se puede apreciar el comportamiento del material en la línea celular, el cual indica que estimula a la proliferación de las celular y por ende no es citotóxico.

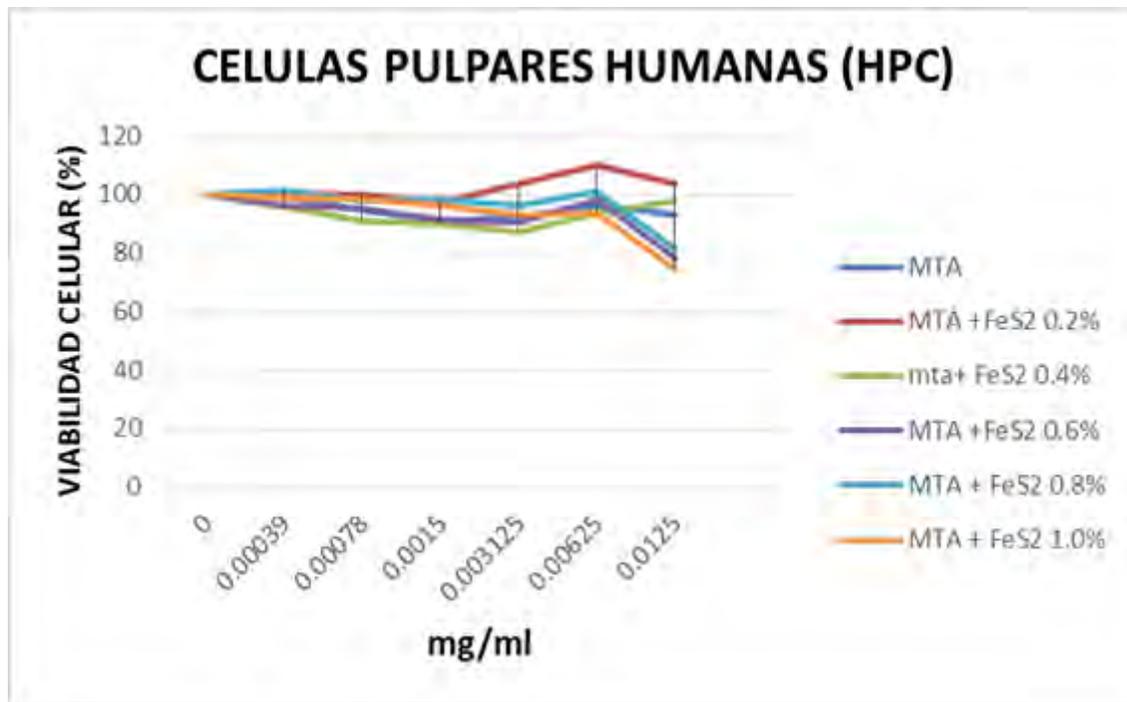


Figura 4.9 Gráfica de viabilidad celular en HPC en contacto con el MTA y NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones.

Se pueden apreciar las células de HPC en contacto con MTA y NCs de FeS₂ al 1 % en la imagen microscópica como se observa en la Figura 4.10.

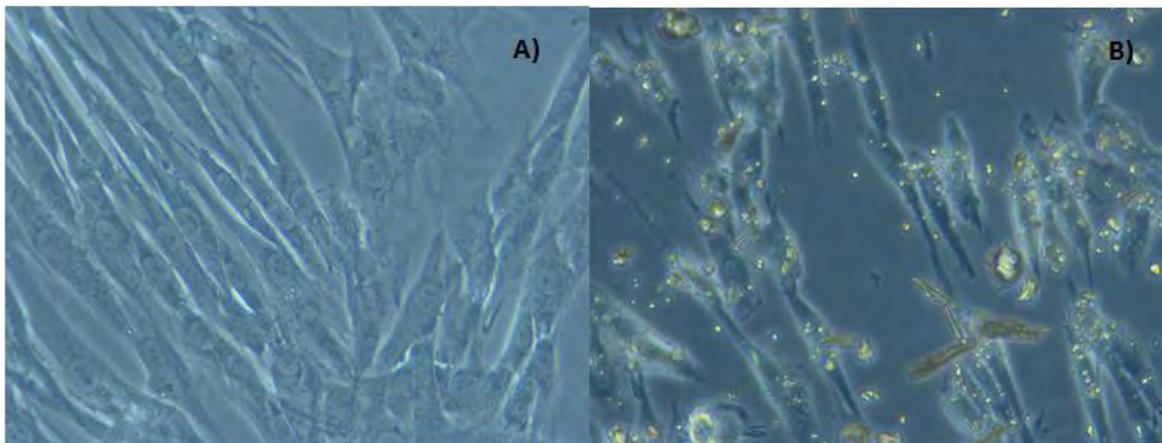


Figura 4.10.A) Imagen microscópica de HPC y B) HPC en contacto con MTA y los NCs de FeS₂ al 1 %

4.7 pH

En el momento de haber mezclado la solución se encontró que el pH se posicionó en 10 para las concentraciones más bajas de MTA con NCs (0, 0.2, 0.4 %) y 11 para las concentraciones mayores restantes de MTA con NCs (0.6, 0.8 y 1.0 %). Los resultados se encuentran concentrados en la Tabla 4.5. Los resultados indican que los NCs inducen a alcanzar un pH alcalino con mayor rapidez, como se muestra en la Figura 4.11.

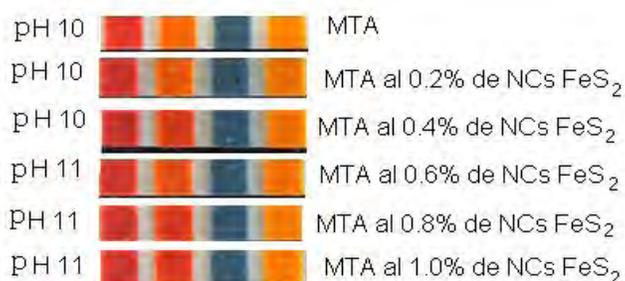


Figura 4.11 Tiras de papel de pH tomado del medio de cultivo con MTA y NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones medido en el momento de la preparación.

En la medición de pH 1 hora después de la mezcla del MTA, el pH se posicionó en 11 en todas las concentraciones, Figura 4.12.

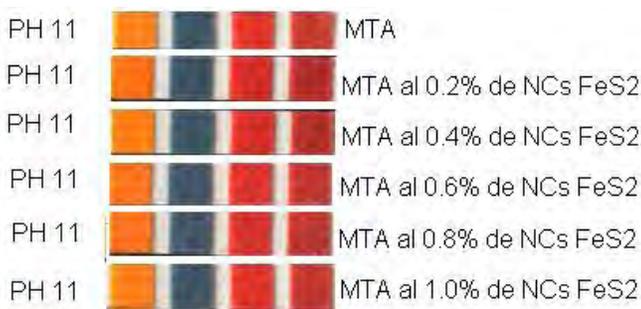


Figura 4.12 Tiras de papel de pH medido 1 hora después del medio de cultivo con MTA y NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones.

Medición de pH a la 3 horas, se aprecia que no ha cambiado el pH en comparación a 1 hora, manteniéndose en pH 11 (Figura 4.13).



Figura 4.13 Tiras de papel de pH medido 3 horas después del medio de cultivo con MTA y NCs de FeS_2 a diferentes concentraciones.

Después de haber transcurrido 6 horas el pH se sigue manteniendo en todas las concentraciones en pH de 11 Figura 4.14.

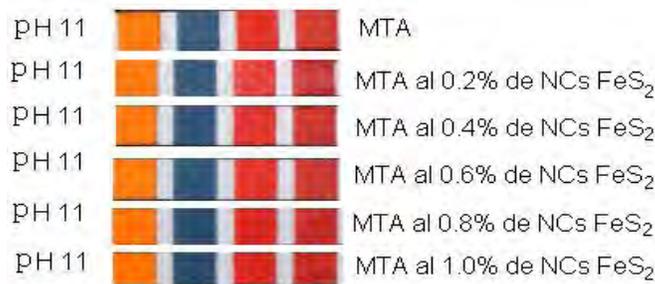


Figura 4.14 Tiras de papel de pH medido a las 6 horas con MTA y NCs de FeS_2 a diferentes concentraciones.

Después de haber transcurrido 12 horas, se sigue conservando en pH en 11 como se puede apreciar en la Figura 4.15.

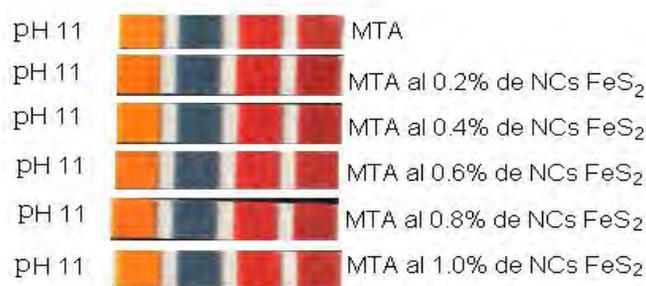


Figura 4.15 Tiras de papel de pH medido 12 horas con MTA y NCs de FeS_2 a diferentes concentraciones.

Después de haber transcurrido 24 horas de la mezcla del MTA con los NCs se aprecia un cambio para todas las concentraciones de las soluciones, alcanzando un valor de 12 como se muestra en la Figura 4.17.

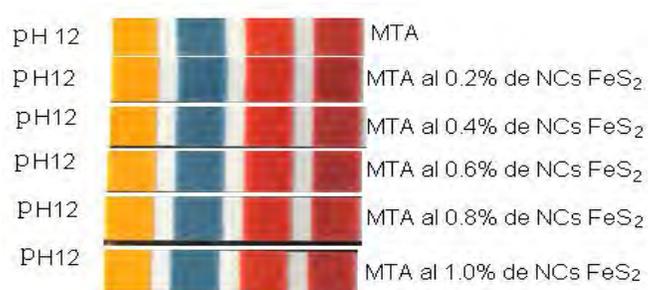


Figura 4.17 Tiras de papel de pH medido a las 24 horas con MTA y NCs de FeS₂ a diferentes concentraciones.

Tabla 4.5 Resultados del pH del MTA en relación al tiempo

Cemento de MTA con NCs DeFeS ₂ (%)	pH					
	0	1	3	6	12	24
Tiempo (h)						
MTA al 0 %	10	11	11	11	11	12
MTA al 0.2 %	10	11	11	11	11	12
MTA al 0.4 %	10	11	11	11	11	12
MTA al 0.6 %	11	11	11	11	11	12
MTA al 0.8 %	11	11	11	11	11	12
MTA al 1.0 %	11	11	11	11	11	12

CAPÍTULO V

5. DISCUSIÓN

De acuerdo a Torabinejad *et al.*, el pH del MTA esta reportado en un valor de 10.2 y presenta un incremento de hasta a 12.5 en un periodo de 3 horas. El MTA gracias a su elevado y estable pH alcalino se le atribuye tener propiedades antimicrobianas, además de estimular la de formación de tejidos duros, así como regeneración del ligamento periodontal. (7, 11, 12, 25, 32) Dentro de nuestros resultados pudimos apreciar que no es afectada esta propiedad con los NCs de FeS₂ al incorporarlos al cemento de MTA en las diferentes concentraciones, por el contrario se alcanzan valores más alcalinos en los primeros minutos, lo cual podría tener un mejor efecto antimicrobiano y posteriormente su pH se estabiliza, coincidiendo con lo mencionado en la literatura,

En el presente estudio pudimos apreciar que el MTA con la incorporación de NCs en sus diferentes concentraciones no tiene ningún efecto citotóxico puesto que se observa la proliferación de las HPC, así como de los HGF, por lo cual, la biocompatibilidad del MTA no se ve alterado con la incorporación de los NCs.

Por otro lado, la radiopacidad es una propiedad sumamente importante para los materiales odontológicos especialmente los utilizados en el área de endodoncia, la cual facilita el diagnóstico y tratamiento en esta área.⁽¹¹⁾ Se ha referido que el MTA cuenta con una radiopacidad equivalente a 7.17 mm,^(7,14) mientras que otros artículos indican que la radiopacidad del MTA es de 6.23 mm de aluminio.⁽⁶⁾ Estos valores en la radiopacidad del MTA son aceptables de acuerdo a la organización internacional de normalización (ISO) 687.⁽⁶⁾ La radiopacidad del MTA al incorporarle los NCs de FeS₂ no se apreció un cambio significativo puesto que los resultados fueron similares a los obtenidos de acuerdo a la literatura, por lo cual

podemos decir que no confieren los NCs de FeS₂ radiopacidad al material pero tampoco afecta dicha propiedad.

Diversos estudios ha reportado el tiempo de fraguado del cemento de w-MTA Angelus®, el cuál esta reportado con un fraguado inicial de 10 minutos y final de 15 minutos.⁽⁷⁾ Otros artículos refieren que la casa comercial ProRoot MTA® un periodo más largo que oscila entre las 4 horas,⁽¹¹⁾ sin duda la mayoría concuerda que su largo periodo sigue siendo una de las principales desventajas del material, puesto que tiende a disolverse con los fluidos sanguíneos y de esta manera disminuir la calidad del sellado.^(11,14) Al incorporar los NCs de FeS₂ específicamente a la concentración más alta del 1 % se apreció una disminución en el periodo de fraguado, el cual es una resultante positiva para el material, ya que ayudaría a tener un mejor efecto en el tratamiento. En el presente estudio, el tiempo de fraguado del MTA sin NCs de FeS₂ es mayor que el tiempo de fraguado del MTA con NCs al 1 %, por lo que puede afirmarse que la incorporación de los NCs en el MTA disminuye el tiempo de trabajo. Un menor tiempo de fraguado permite realizar un tratamiento odontológico más rápido y evitar la contaminación del material con fluidos presentes en la cavidad oral.⁽⁴⁶⁾

El MTA es buen material odontológico por sus diversas propiedades, al incorporarle los NCs de FeS₂ hubo una mayor fluidez del material aumentando el área de contacto y por lo tanto pudiendo mejorar el sellado del material con el tejido dentario.⁽⁴⁷⁾

De acuerdo con nuestros resultados podemos señalar que nuestra hipótesis es aceptada, puesto que se apreció una mejoría en algunas propiedades del MTA sin alterar su biocompatibilidad.

CAPÍTULO VI

6.1 CONCLUSIONES

- El MTA adicionado con los NCs de FeS_2 conserva al igual que el MTA sin NCs una excelente biocompatibilidad sobre las células en estudio.
- Los NCs de FeS_2 por sí solos presentan efectos citotóxicos sobre las células en estudio.
- El pH del material no se vio afectado, manteniendo resultados similares con la literatura en un periodo de 24 horas.
- Con la incorporación de los NCs de FeS_2 en el MTA no se observó ningún cambio significativo en la radiopacidad del material.
- Se apreció una aceleración del tiempo del fraguado del material a una concentración del 1 %, la cual fue la mayor concentración de NCs en estudio.
- Al incorporar los NCs de FeS_2 en el MTA, el material presentó una mayor fluidez, que podría aumentar el área de contacto y por lo tanto mejorar el sellado.

6.2 Trabajo Futuro:

Dentro de los trabajos futuros es necesario esclarecer el efecto antimicrobiano que presentan los NCs de FeS₂, así como de MTA con la incorporación de estos NCs, para de esta manera evaluar si es que presenta esta propiedad, pudiéndose utilizar estos NCs para este fin.

Es importante realizar pruebas del MTA con NCs de FeS₂ para evaluar si hay presencia de tinción dental, esto de puesto que al g-MTA se le atribuye la decoloración dental por un gran contenido en porcentaje de óxidos metálicos.

6.3 Limitaciones del estudio:

Las principales dificultades del estudio son el elevado costo del cemento de MTA, por lo cual se trabajó con porciones pequeñas que era complicado manipular, así como la estandarización de las porciones de MTA en concentración de los NCs de FeS₂ dentro de la balanza analítica para tener resultados más certeros, así también como también la síntesis de estos NCs, puesto que es relativamente nuevo estos NCs.

6.4 Productos Académicos y Participación en Foros Académicos

Liliana Argueta-Figueroa, José Jorge Delgado García, René García-Contreras, O. Martínez-Alvarez, J. Santos-Cruz, **Carlos Eduardo Oliva Martínez**, L. S. Acosta-Torres, J. de la Fuente-Hernández, M. C. Arenas-Arrocena, Effect of iron disulfide nanocubes on the physical properties, cytotoxicity and antimicrobial activity of white MTA.

XXIV Encuentro Nacional y XV Iberoamericano de Investigación en Odontología, Efectos antimicrobianos y citotóxicos de nanocristales de sulfuro de hierro en cultivo con HPC y HCF, **Carlos Eduardo Oliva Martínez**, Paloma Serrano, René García-Contreras, Laura Susan Acosta-Torres, José Santos-Cruz, Ma. Concepción Arenas Arrocena. San Luis Potosí del 09 al 11 de noviembre. Modalidad Oral. **Segundo Lugar**

XLIV Congreso Nacional "Temas de Controversia en Salud" del 05 al 07 de octubre del 2016, León Guanajuato. Biocompatibilidad y propiedades físicas del MTA con nanocristales de sulfuro de hierro. **Carlos Eduardo Oliva Martínez**, Liliana Argueta Figueroa, René García Contreras, José Santos Cruz, José Jorge Delgado García, Marina Vega González, Laura Acosta Torres y Ma. Concepción Arenas Arrocena. Cartel.

6.5 Bibliografía

1. Flores Ledesma A, Barceló Santana FH, Bucio Galindo L, Arenas Alatorre JÁ, Ruvalcaba Sil JL. Análisis químico elemental y de fases por medio de PIXE, DSC, TGA y DRX en MTA Angelus® y un cemento Portland blanco. *Rev Odontológica Mex.* 2016;20(3):187–92.
2. Corina A, Ruiz C, Luis R, Aranda G, Manuel L, Mejía P. Artemisa. Evaluación de la microfiltración bacteriana en obturaciones retrogradas con MTA, súper EBA, amalgama y cemento portland en dientes extraídos. *Revista odontologica Mexicana.* 2006;10(4):157–161 p.
3. Reyes V, Páucar M. Tratamiento pulpar en la apexificación del diente inmaduro mediante agregado de trióxido mineral. *Odontol Sanmarquina.* 2009;12(1):29–32.
4. Mahmoud T, Thomas R, Pitt Ford, Douglas J, Donald A, Stalin P. Histologic Assessment of Mineral Trioxide Aggregate as a Root-End Filling in Monkeys. *Journal International Endodontic.* 2009;408–411 p.
5. Gabriel E, Ricardo Q. Entajas Del Mineral Trióxido Agregado Y Del Hidróxido De Calcio Frente a Patologías Pulpares De Tipo Degenerativo. *Duazary.* 2009;141–6.
6. Srinivasan V, Waterhouse P, Whitworth J. Mineral trioxide aggregate in paediatric dentistry. Vol. 19, *International Journal of Paediatric Dentistry.* 2009. 34–47 p.
7. Hwang YC, Lee SH, Hwang IN, Kang IC, Kim MS, Kim SH, et al. Chemical composition, radiopacity, and biocompatibility of Portland cement with bismuth oxide. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology.* 2009;107(3):e96–102.
8. Suárez Balceros L J. (Descripción del pH, liberación de calcio y citotoxicidad de algunos cementos selladores en endodoncia: mta, bioaggregate, iroot y endosequence (tesis). Colombia:Universidad Nacional de Colombia Facultad de Odont. 2016
9. Pineda M, Silva M, Salcedo D, Castro A. Uso clínico del agregado de trióxido mineral (MTA) en el tratamiento de lesiones periapicales y perforaciones radiculares. *Odontol Sanmarquina.* 2007;10(1):414–20.
10. Jang JH, Kang M, Ahn S, Kim S, Kim W, Kim Y, et al. Tooth discoloration after the use of new pozzolan cement (Endocem) and mineral trioxide aggregate and the effects of internal bleaching. *J Endod.* 2013;39(12):1598–602.
11. Gómez M. Evaluación la radiopacidad un cemento para la construcción “apasco” en comparación con el MTA (tesis). MÉXICO D,F:UNAM; 2010
12. Luc F, Delgado Y, Castrill S. El hidróxido de calcio , como paradigma clínico , es superado por el agregado de trióxido mineral (MTA) Calcium hydroxide as a clinical paradigm is surpassed by mineral trioxide aggregate (MTA) For several decades , sc. *Rev Fac Odontol Univ Antioquia.* 2013;25:176–208 p.
13. Citlalli A, Rocha R, Padrón GH. Análisis fisicoquímico del MTA Angelus® y Biodentine® dispersiva , fluorescencia de rayos X , microscopio electrónico de. *Rev Odontol Mex.* 2015;19:174–80 p.
14. Rodríguez V, Bolaños L V. Propiedades y Usos en Odontopediatría del MTA (Agregado de Trióxido Mineral). *Publ Cient Fac Odontol UCR.* 2011;13(2006):65–9 P.
15. Cardoso Silva C. Estudio clínico de agregado trióxido mineral en pulpotomías de molares temporales. comparación de resultados con MTA gris y MTA blanco (tesis doctoral). Madrid. Universidad Complutense De Madrid. 2010.
16. Parirokh M, Torabinejad M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review-Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. *J Endod.* 2010;36(1):16–27 p.
17. Pereira J C, Esteves B, Barata JE. Recubrimiento pulpar directo e indirecto: mantenimiento de la vitalidad pulpar. *Acta Odontológica Venezolana.* 2011;1–12p.
18. Briso ALF, Rahal V, Mestrenner SR, Dezan Junior E. Biological response of pulps submitted to different capping materials. *Braz Oral Res.* 2006;20(3):219–25.
19. Zaror S, Vergara C, Díaz J, Aracena D. Pulpotomías con Sulfato Férrico y MTA en Dientes Primarios : Serie de Casos. *Int J Odontostomatol.* 2011;5(1):77–82 p.
20. Mónica O, Sol G, Margarita F, Mata M. Pérdida Prematura De Dientes Temporales En Pacientes De 5

-
- a 8 Años De Edad Asistidos En La Clinica De Odontopediatria De La Universidad Gran Mariscal De Ayacucho. *Rev Latinoam Ortod y Odontopediatria*. 2009;1–57 p.
21. Rioja, R, Espinoza R, & Salazar R. Agregado de trióxido mineral en la preservación de segundo molar primario en agenesia de sucedáneo. *Odontología Sanmarquina*. (2014); 74-77p.
 22. Torres A E. Endodoncia P De. Micro-Odontología. Herramienta valiosa para lograr el sellado de perforaciones por desgaste en la furca. *Revista de la Asociación Dental Mexicana*. 2012; 240-244 p.
 23. Zmener O, Luberti R. Evaluación radiográfica de 80 casos de perforación radicular. *Endodoncia*. 2009;27(Nº 2):68–74 p.
 24. Espinoza N, Espinoza I, rodriguez E, Felix J.Reabsorción radicular externa cervical idiopatica múltiple. presentación de un caso. *Rev Gaceta Médica Espirituana*. 2014;16(3).
 25. Saldarriaga J, Mazo P, Posada A, Zapata W. Cambios radiculares analizados con morfometría digital meses de tratamiento ortodóncico 1 digital morphometric analysis of root changes in upper incisors of young patients during eighteen months of orthodontic introducción la reabsorción radicular apical. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*. 2008;19:38–53.
 26. Ismael C, Pallares C. Barbosa, A Manejo Clínico De La Resorción Dental Interna Utilizando Agregado Trióxido Mineral Como Material De Obturación Intracanal. *Duazary*. 2010;239–46.
 27. Aguado J, Maroto M. Posibilidades terapéuticas del Agregado Trióxido Mineral (MTA) en odontopediatria. *Journal of the American Dental Association*. 2009; 185-193 p.
 28. Carrión Rodríguez F. Inducción al cierre usando MTA Vent y desventajas (tesis). Guayaquil:Universidad de Guayaquil.2014.
 29. Bustos Orozco I. Revascularización pulpar en dientes permanentes con ápice abierto por medio de la utilización de plasma rico en plasma rico en plaquetas en convinacion con soportes de colageno tipo I. Estudio Descriptivo Multidimensional (Tesis).Bogota colombia.Universidad Nacional de COLOMBIA. 2014.
 30. Sesma A, Lara R, Cervantes M, Revascularización nueva opción de tratamiento a la apexificación. *Revista Oral*. 2002;55–7.
 31. Bermudez Semprún M. aplicación de un antioxidante en dientes tratados con tetraciclinas y/o MTA (Teisis máster).oviedo.Universidad de Oviedo. 2014.
 32. Proa, Doris LM. Los cementos ionómeros de vidrio y el mineral trióxido agregado como materiales biocompatibles usados en la proximidad del periodonto. *Rev Estomatol Hered*. 2006;16(1):59–63.
 33. Vitti RP, Prati C, Silva EJNL, Sinhoreti MAC, Zanchi CH, De Souza E Silva MG, et al. Physical properties of MTA fillapex sealer. *J Endod*. 2013;39(7):915–8.
 34. Bernardes RA, de Amorim Campelo A, Junior DSS, Pereira LO, Duarte MAH, Moraes IG, et al. Evaluation of the flow rate of 3 endodontic sealers: Sealer 26, AH Plus, and MTA Obtura. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2010;109(1):e47–9.
 35. Luc F, Delgado Y, Castrill S. review el hidróxido de calcio , como paradigma clínico , es superado por el agregado de trióxido mineral (mta) calcium hydroxide as a clinical paradigm is surpassed by mineral trioxide aggregate (mta) For several decades , sc. *Rev Fac Odontol Univ Antioquia*. 2013;25:176–208.
 36. Samiei M, Aghazadeh M, Lotfi M, Shakoei S, Aghazadeh Z, Vahid Pakdel SM. Antimicrobial efficacy of mineral trioxide aggregate with and without silver nanoparticles. *Iran Endod J*. 2013;8(4):166–70.
 37. Zand V, Lotfi M, Aghbali A, Mesgariabbasi M, Janani M, Mokhtari H, et al. Tissue reaction and biocompatibility of implanted mineral trioxide aggregate with silver nanoparticles in a rat model. *Iran Endod J*. 2016;11(1):13–6.
 38. Ghatole K, Patil A, Giriappa RH, Singh TV, Jyotsna SV, Rairam S. Evaluation of antibacterial efficacy of MTA with and without additives like silver zeolite and chlorhexidine. *J Clin Diagnostic Res*. 2016;10(6):ZC11-ZC14.
 39. Bernardi A, Bortoluzzi EA, Felipe WT, Felipe MCS, Wan WS, Teixeira CS. Effects of the addition of
-

-
- nanoparticulate calcium carbonate on setting time, dimensional change, compressive strength, solubility and pH of MTA. *Int Endod J.* 2016;1–9.
40. Natu VP, Dubey N, Loke GCL, Tan TS, Ng WH, Yong CW, et al. Bioactivity, physical and chemical properties of MTA mixed with propylene glycol. *J Appl Oral Sci.* 2015;23(4):405–11.
 41. Kulan P, Karabiyik O, Kose GT, Kargul B. Biocompatibility of Accelerated Mineral Trioxide Aggregate on Stem Cells Derived from Human Dental Pulp. *J Endod.* 2016;42(2):276–9.
 42. Cardoso Silva C. Estudio clinico de agregado trióxido mineral en pulpotomías de molares temporales. comparacion de resultados con MTA gris y MTA blanco (tesis doctoral). Madrid. Universidad Complutense De Madrid. 2010.
 43. Barceló Santana FH. *Materiales Dentales Conocimiento Básico Aplicada*. 3a ED. Trillas, editor. México: 2010.
 44. J. Santos-Cruz, R. E. Nuñez-Anita, S. A. Mayén-Hernández, O. Martínez-Alvarez, L. S. Acosta-Torres, J. de la Fuente-Hernández, E. Campos-González, M. Vega-González, M. C. Arenas-Arocena, Colloidalsynthesis of non-cytotoxicirondisulfidenanocrystals, *enviado aJournal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*,2017.
 45. Macosko, C. W., & Larson, R. G. (1994). *Rheology: principles, measurements, and applications*.
 46. Camilleri, J., Formosa, L., & Damidot, D. (2013). The setting characteristics of MTA Plus in different environmental conditions. *International endodontic journal*, 46(9), 831-840.
 47. Camilleri, J. (2009). Evaluation of selected properties of mineral trioxide aggregate sealer cement. *Journal of Endodontics*, 35(10), 1412-1417.

ANEXO 1

Imágenes SEM y espectros de EDS del MTA con y sin NCs de FeS₂.

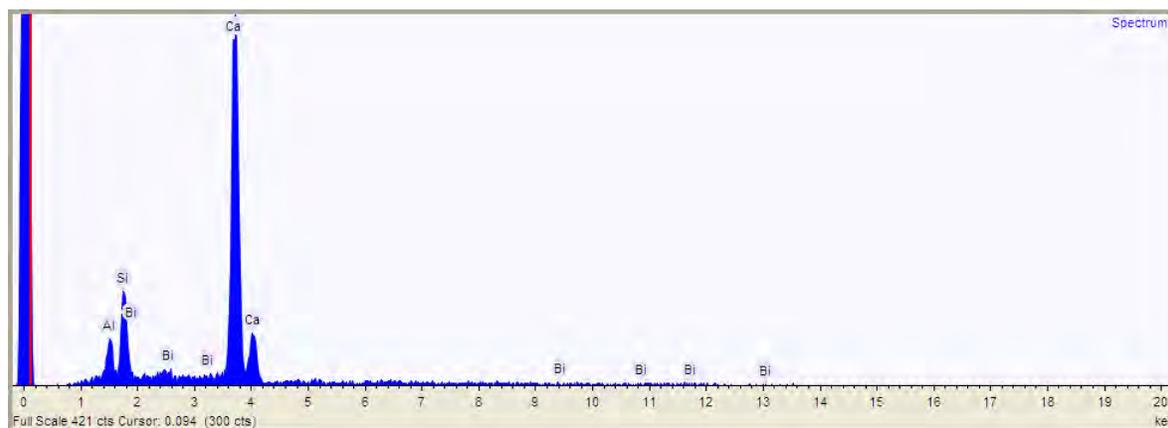
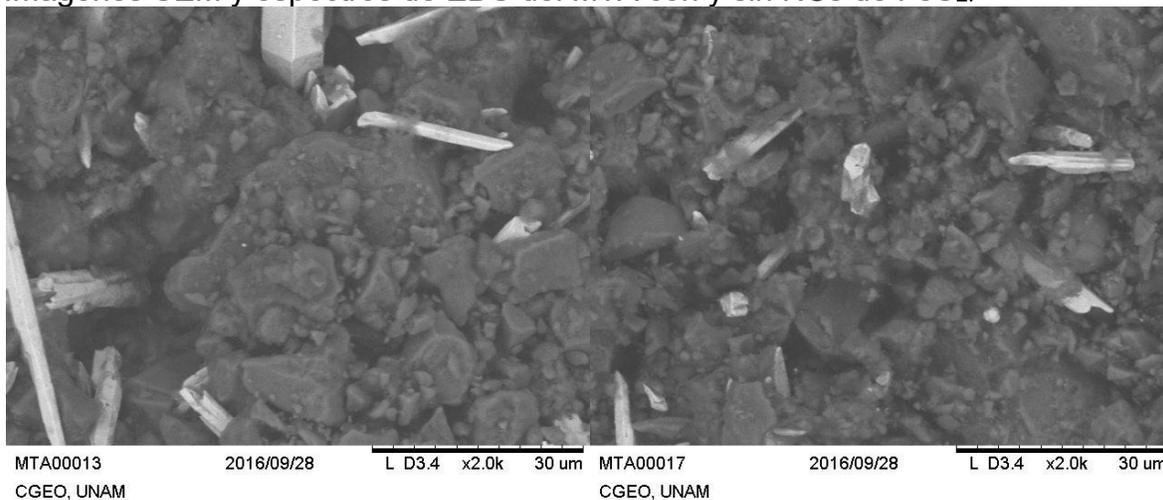


Fig. S1. SEM and EDS del MTA sin NCs.

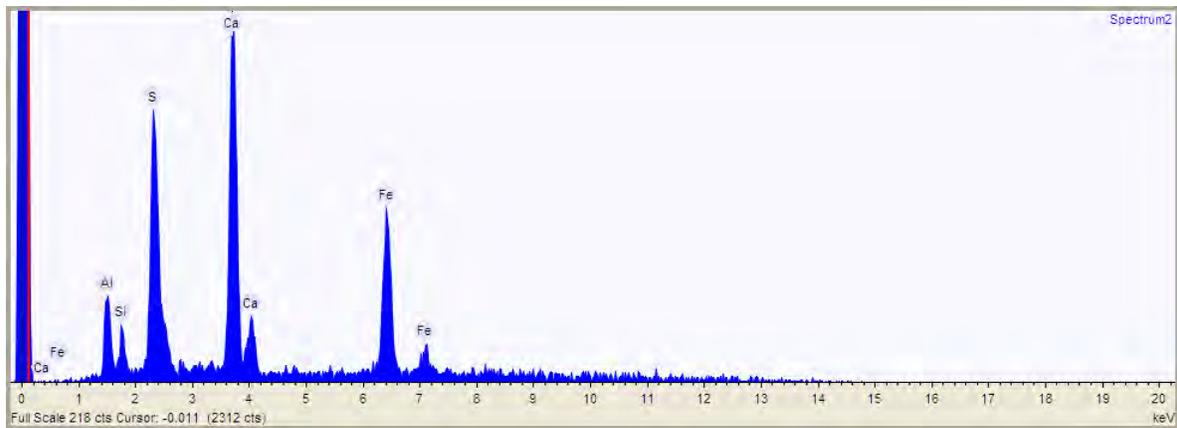
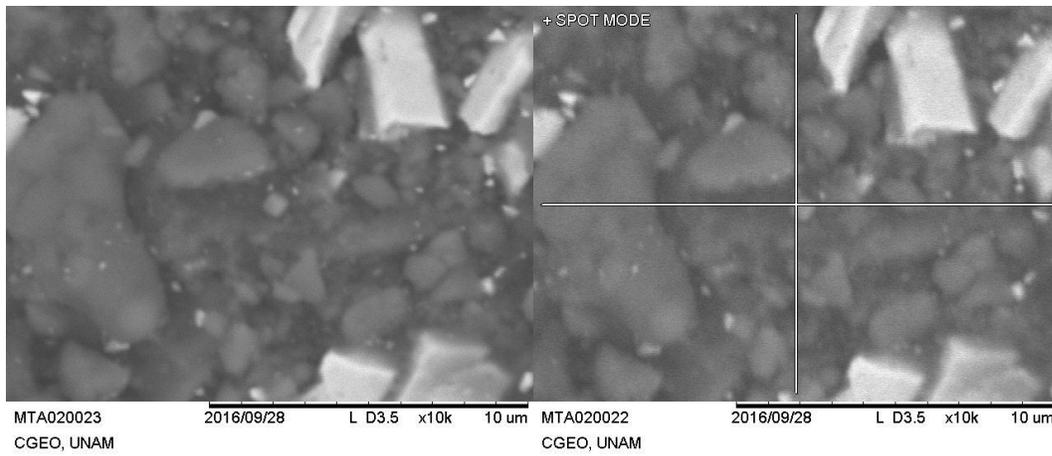
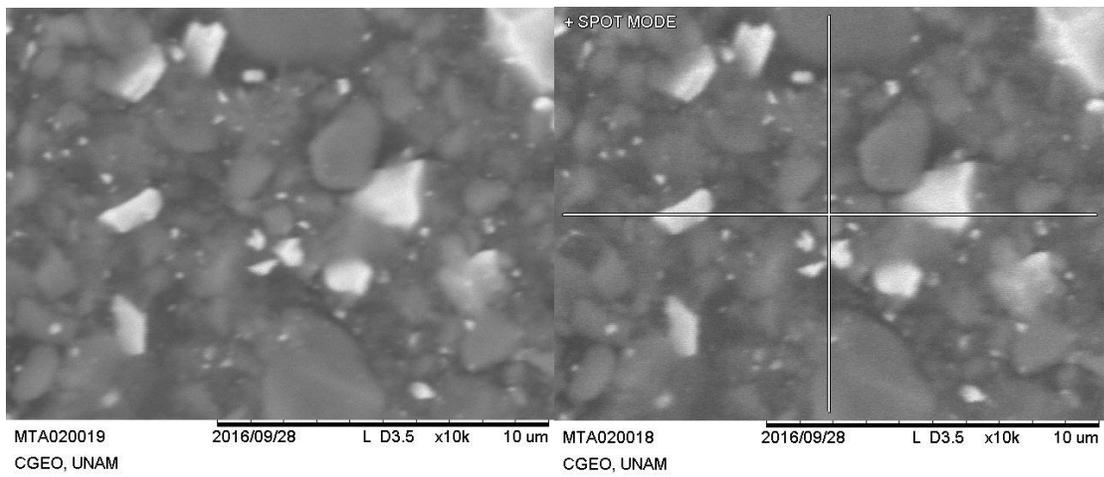


Fig. S2. SEM y EDS del MTA con FeS_2 NCs a 0.2 wt%.

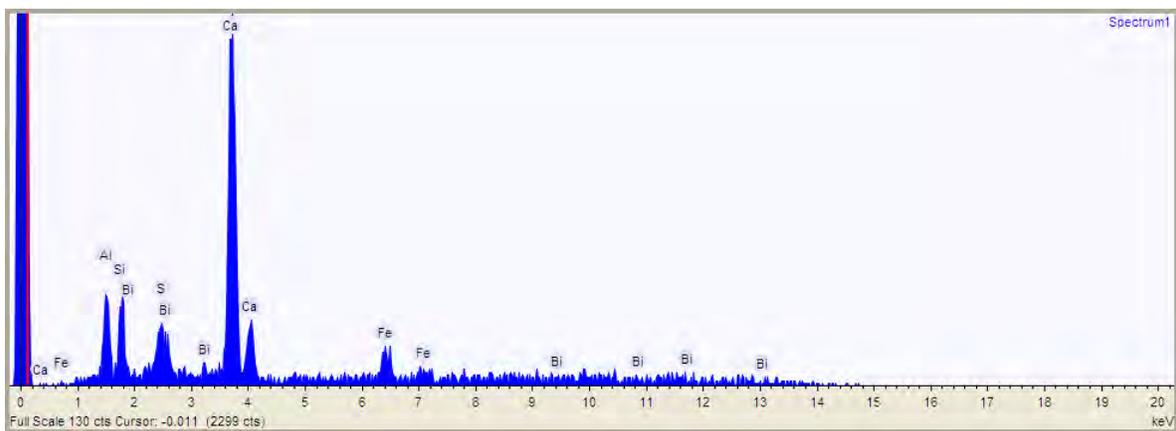
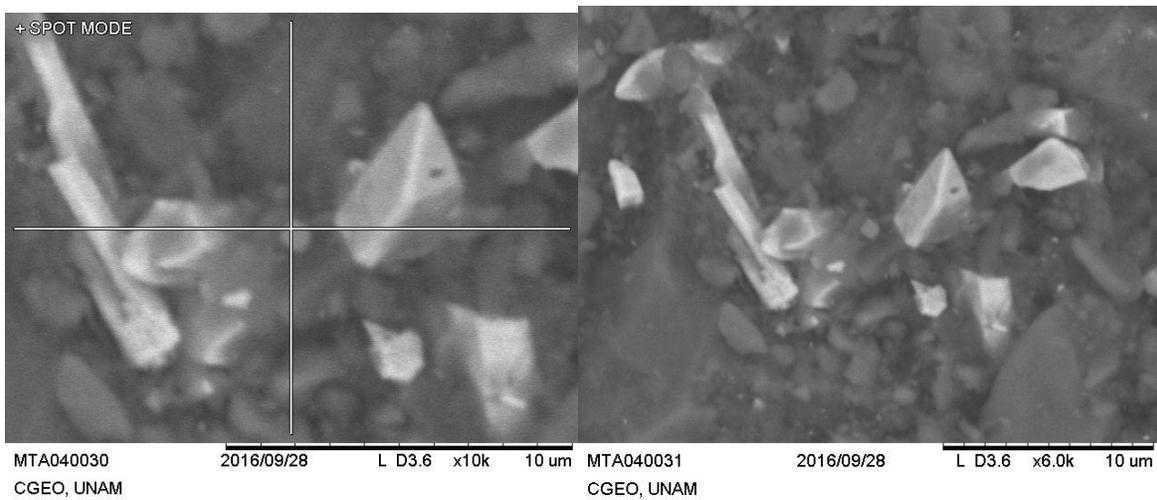
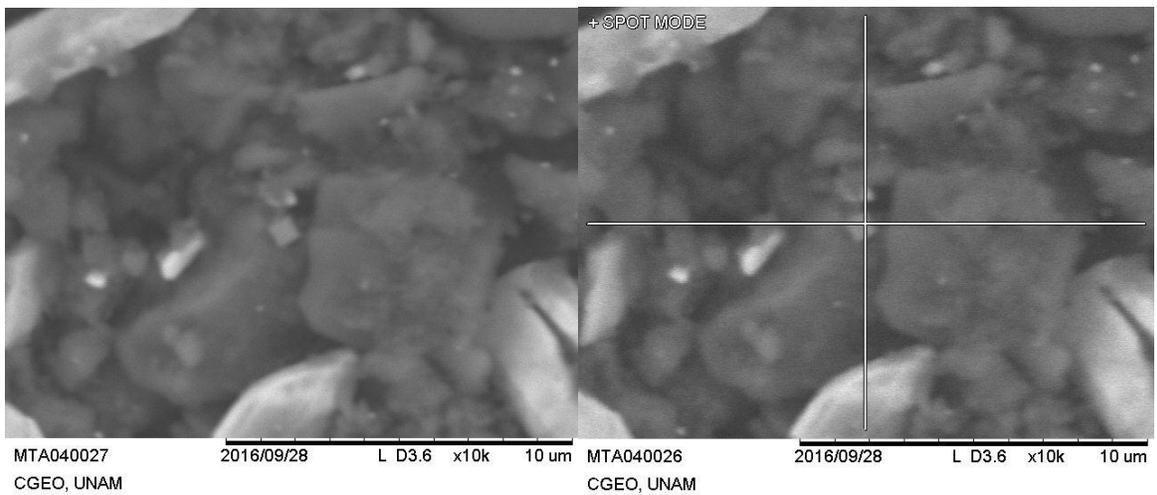


Fig. S3. SEM y EDS del MTA con FeS₂ NCs a 0.4 wt%.

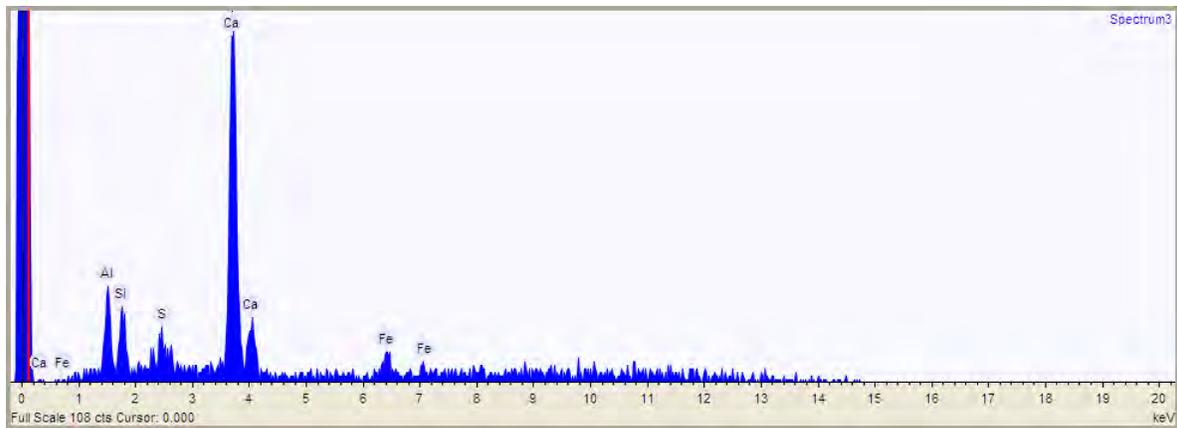
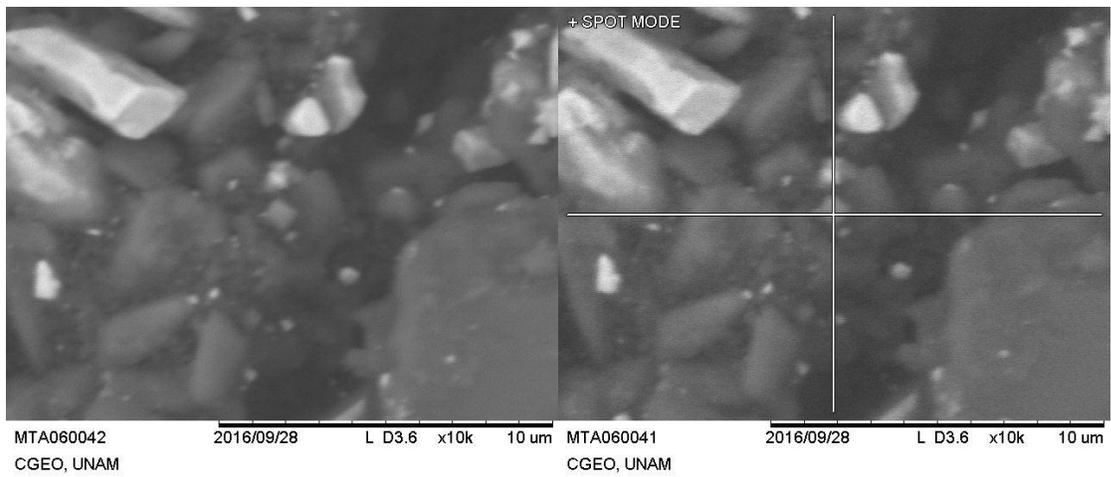
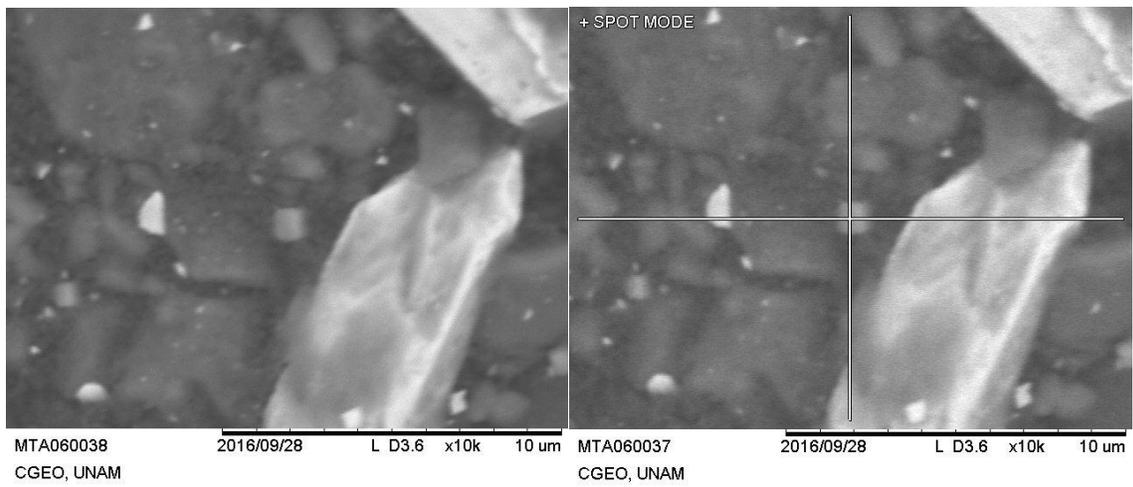


Fig. S4. SEM y EDS del MTA con FeS₂ NCs a 0.6 wt%.

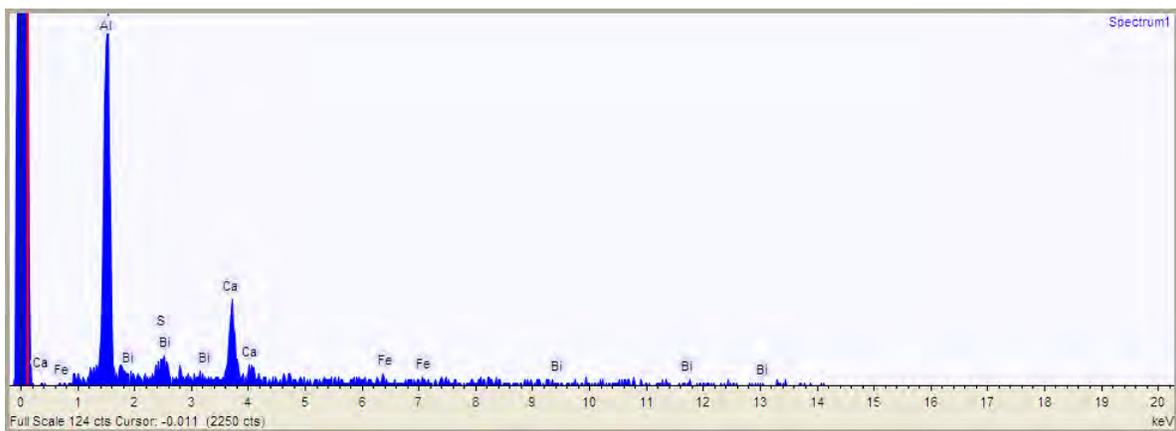
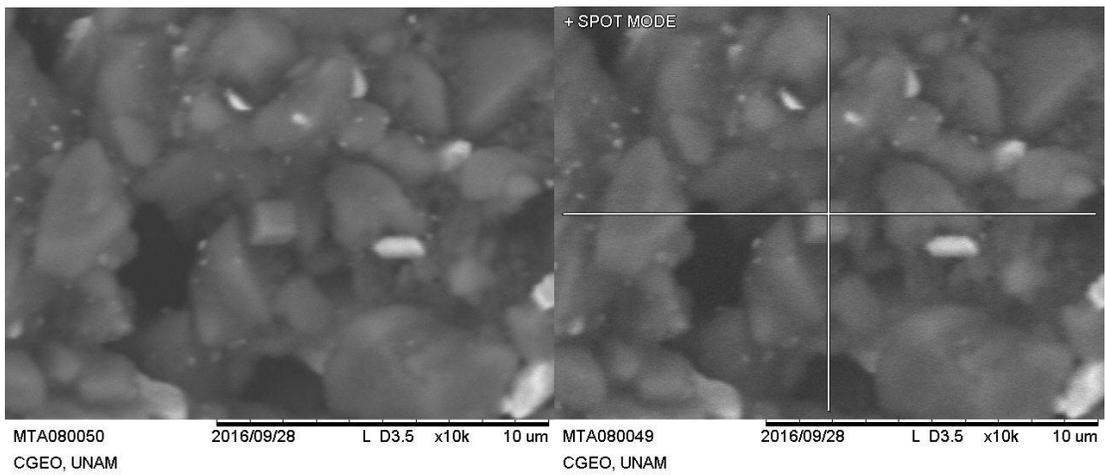
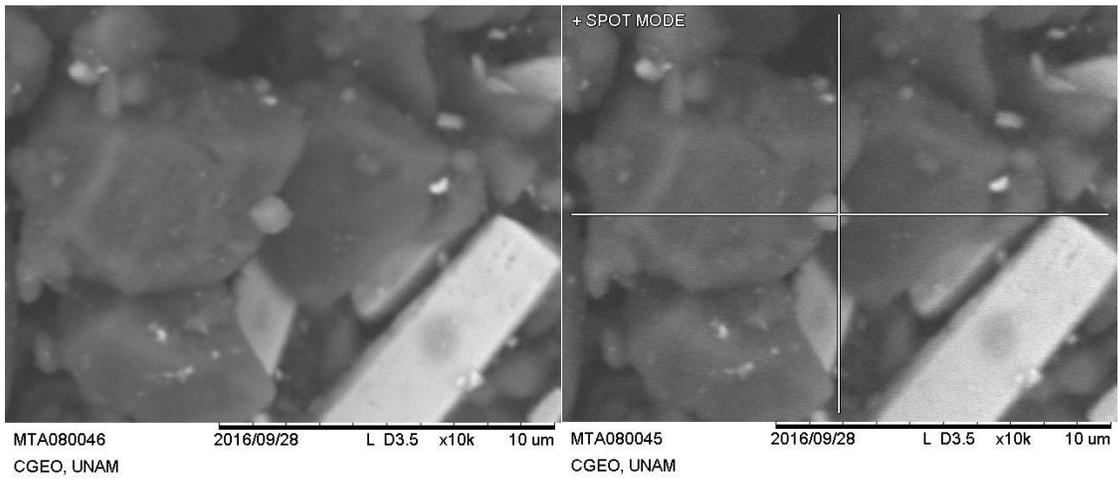


Fig. S5. SEM y EDS del MTA con FeS₂ NCs a 0.8 wt%.

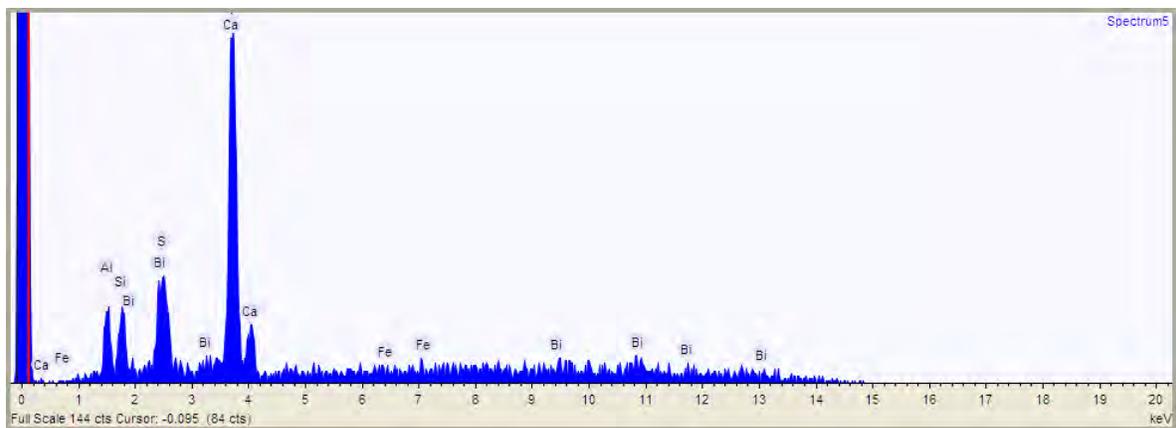
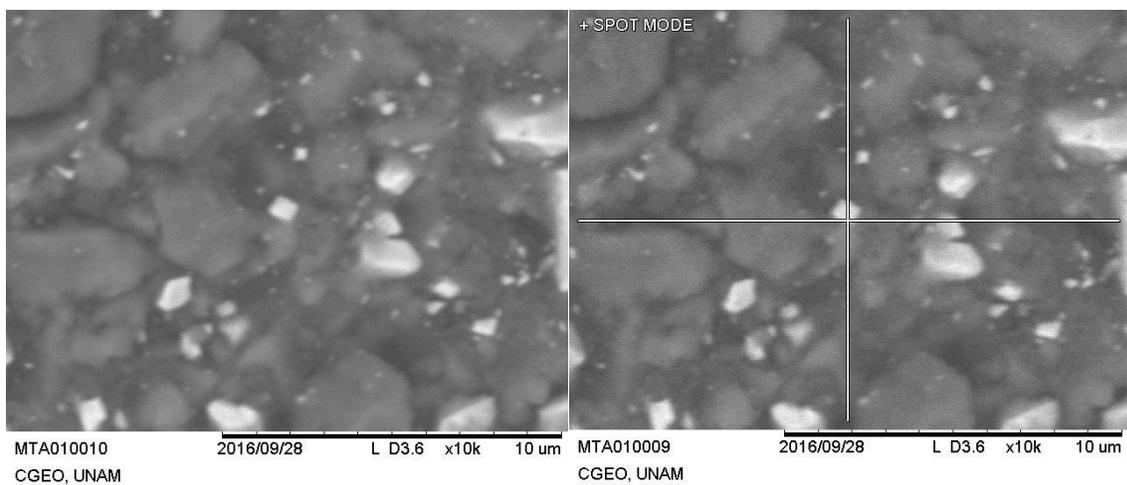
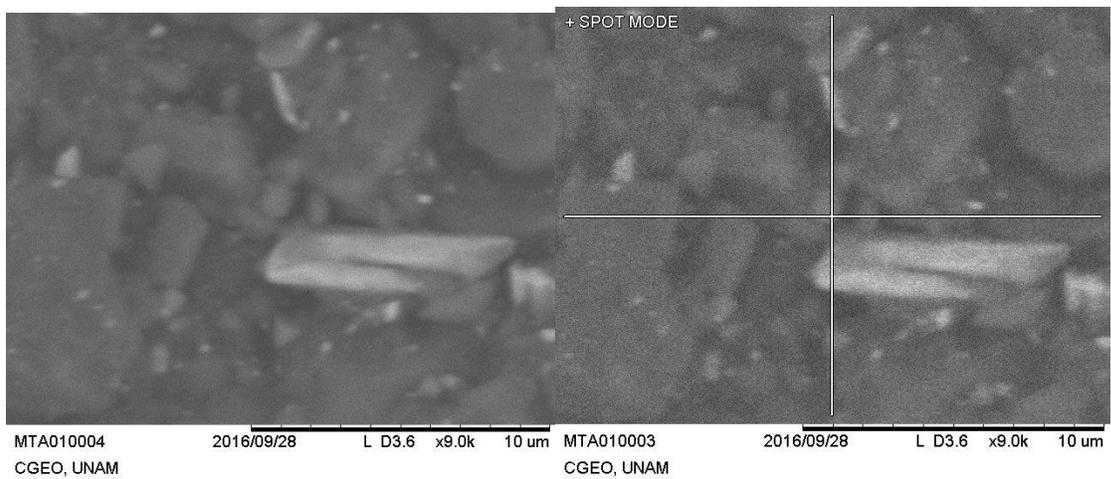


Fig. S6. SEM y EDS de MTA con FeS₂ NCs al 1.0 wt%.