



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE
ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO
POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO

PROGRAMA DE DOCTORADO EN NANOCIENCIAS Y
NANOTECNOLOGÍA

*“Síntesis de un cemento mineral trióxido agregado
(MTA) con agregados de nanopartículas de
hidroxiapatita y carbonato de calcio.”*

T E S I S

Qur presenta

Moreno Vargas Yoshamín Abnoba

Para obtener el grado de

DOCTORA EN CIENCIAS EN NANOCIENCIAS Y
NANOTECNOLOGÍA

Directores de Tesis

Dr. Juan Pedro Luna Arias

Dr. Lauro Bucio Galindo

Índice general

ÍNDICE DE FIGURAS	5
ÍNDICE DE TABLAS	7
ABREVIATURAS	9
GLOSARIO	10
RESUMEN	13
ABSTRACT	14
AGRADECIMIENTOS	15

1. ANTECEDENTES

1.1 IMPORTANCIA DE LA NANOCIENCIA Y LA NANOTECNOLOGÍA	18
1.2 TEJIDOS DENTALES	20
1.2.1 Esmalte	20
1.2.2 Complejo dentino-pulpar	20
1.3 ESTRUCTURAS PERIODONTALES	22
1.3.1 Encía	22
1.3.2 Ligamento periodontal	23
1.3.3 Cemento	23
1.3.4 Hueso alveolar	24
1.4 MATERIALES DE OBTURACIÓN PERIRRADICULAR	26
1.4.1 Amalgama dental	26
1.4.2 Óxido de zinc y eugenol (ZOE)	27
1.4.3 Súper EBA	28
1.4.4 MTA (MINERAL TRIÓXIDO AGREGADO)	28
1.4.4.1 ProRoot	31
1.4.4.2 MTA-Angelus	32
1.4.4.3 Biodentine	33
1.5 ADITIVOS	34
1.5.1 HIDROXIAPATITA (HAp)	34
1.5.1.1 Aplicaciones de la nHAp	34
1.5.1.2 Métodos de síntesis de nHAp	35
1.5.2 CARBONATO DE CALCIO (CaCO ₃)	36
1.5.3 CLORURO DE CALCIO (CaCl ₂)	37

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	39
JUSTIFICACIÓN	40
OBJETIVO GENERAL	41
OBJETIVOS PARTICULARES	41
HIPÓTESIS	42
2 MATERIAL Y MÉTODO	43
2.1 MATERIAL	44
2.1.1 REACTIVOS	44
2.1.2 EQUIPOS	45
2.1.3 MATERIAL GENERAL	45
2.2 MÉTODOS	47
2.2.1 SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA (HAP)	47
2.2.2 SÍNTESIS DEL CEMENTO DE MINERAL TRIÓXIDO AGREGADO (MTA)	49
2.2.3. SÍNTESIS DEL CATALIZADOR DEL CEMENTO	51
2.2.4 PRUEBAS DE CARACTERIZACIÓN	54
2.2.4.1 Difracción de rayos X (DRX)	54
2.2.4.2 Microscopía electrónica de barrido/Espectroscopía por dispersión de energía de rayos X (SEM-EDS)	55
2.2.4.3 Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HRTEM)	55
2.2.4.4 Espectroscopía RAMAN	55
2.2.4.5 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)	56
2.2.4.5 Espectroscopía de fotoelectrones inducidos por rayos X (XPS)	56
2.2.5 Pruebas físico-mecánicas	56
2.2.5.1 Tiempo de fraguado	57
2.2.5.2 Resistencia a la compresión	58
2.2.5.3 Cambio dimensional	60
2.2.5.5 Prueba de radiopacidad	61
2.2.5.6 Prueba de pH	62
2.2.5.7 Solubilidad	63
2.2.5.8 Prueba de reabsorbilidad (deposición de HAp en la superficie del cemento)	65
3 RESULTADOS	66
3.1 CARACTERIZACIÓN DE HAP	67
3.1.1 XRD	67
3.1.2 FT-IR	69
3.1.3 HRTEM	71
3.1.3 RAMAN	77
3.1.4 XPS	78

3.2 CARACTERIZACIÓN DEL CLINKER	80
3.2.1 XRD	80
3.2.2 FT-IR	84
3.2.3 RAMAN	85
3.2.4 SEM	87
3.3 ELECCIÓN DEL LOTE Y CATALIZADOR	88
3.4 CEMENTO HIDRATADO Y NO HIDRATADO	90
3.4.1 XRD	90
3.4.2 RAMAN	93
3.4.3 SEM	100
3.4.4 EDS	103
3.4.5 EVALUACIÓN DE LA RADIOPACIDAD	107
3.4.6 EVALUACIÓN DE PH	110
3.4.7 EVALUACIÓN DE LA SOLUBILIDAD	111
3.4.8 EVALUACIÓN DE TIEMPO DE FRAGUADO	113
3.4.9 EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN	115
3.4.10 EVALUACIÓN DEL CAMBIO DIMENSIONAL	117
3.4.11 EVALUACIÓN DE LA REABSORBIBILIDAD	119
4. DISCUSIÓN	121
5. CONCLUSIONES	132
6. PERSPECTIVAS	134
7. REFERENCIAS	136
8. APÉNDICE	149
8.1 PUBLICACIONES	150

Índice de Figuras

<i>FIGURA 1. ESTRUCTURA DEL DIENTE Y DE LOS TEJIDOS DE SOPORTE</i>	18
<i>FIGURA 2. SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA NANOMÉTRICA</i>	48
<i>FIGURA 3. SÍNTESIS DE CLINKER</i>	51
<i>FIGURA 4. CEMENTOS COMERCIALES Y EXPERIMENTAL</i>	57
<i>FIGURA 5. PRUEBA DE TIEMPO DE FRAGUADO</i>	58
<i>FIGURA 6. RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN</i>	59
<i>FIGURA 7. CAMBIO DIMENSIONAL</i>	60
<i>FIGURA 8. RADIOPACIDAD</i>	61
<i>FIGURA 9. PRUEBA DE PH</i>	62
<i>FIGURA 10. PRUEBA DE SOLUBILIDAD</i>	64
<i>FIGURA 11. INCUBADORA CON AGITACIÓN PROGRAMADA A 37°C PARA REALIZAR LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD</i>	65
<i>FIGURA 12. DIFRACTOGRAMAS DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS DE LA SÍNTESIS DE HAP</i>	67
<i>FIGURA 13. SÍNTESIS DE LA HAP SINTÉTICA SIN LA FASE DE CARBONATO</i>	68
<i>FIGURA 14. ESPECTROS DE FT-IR DE LAS MUESTRAS DE HAP</i>	70
<i>FIGURA 15. MICROGRAFÍAS DE LA HAP SINTETIZADA EN EL LABORATORIO</i>	72
<i>FIGURA 16. MICROGRAFÍA DE LA FORMA HEXAGONAL DE UN CRISTAL DE HAP</i>	
<i>FIGURA 17. MICROGRAFÍA OBTENIDA POR HRTEM DE LA MUESTRA HAP4</i>	74
<i>FIGURA 18. MICROGRAFÍA OBTENIDA POR HRTEM DE LA MUESTRA HAP5</i>	75
<i>FIGURA 19. MICROGRAFÍA OBTENIDA POR HRTEM DE LA MUESTRA HAP7</i>	76
<i>FIGURA 20. MODOS VIBRACIONALES CORRESPONDIENTES DE LA HAP SINTÉTICA Y EXPERIMENTAL</i>	78
<i>FIGURA 21. DIFRACTOGRAMAS DE REACTIVOS PARA CLINKER</i>	80
<i>FIGURA 22. DIFRACTOGRAMA DE CLINKER1</i>	81
<i>FIGURA 23. DIFRACTOGRAMA DE LOTE1H2 SINTERIZADO A 1350°C</i>	82
<i>FIGURA 24. DIFRACTOGRAMA DE LOTE1H3 SINTERIZADO A 1350°C</i>	83

<i>FIGURA 25. ESPECTRO FT-IR DEL CLINKER</i>	84
<i>FIGURA 26. ESPECTRO RAMAN DEL LOTE1H3</i>	86
<i>FIGURA 27. MICROGRAFÍAS DE LOS LOTES DEL CLINKER</i>	87
<i>FIGURA 28. ESPECTROS DRX DE LOS DIFERENTES LOTES DE CLINKER</i>	88
<i>FIGURA 29. DIFRACTOGRAMAS DE LA MUESTRA EN POLVO DE BIOD</i>	91
<i>FIGURA 30. DIFRACTOGRAMAS DE LA MUESTRA EN POLVO DE MTA-ANG</i>	92
<i>FIGURA 31. DIFRACTOGRAMAS DE LA MUESTRA EN POLVO DE E20Z</i>	93
<i>FIGURA 32. ESPECTRO RAMAN DE BIODENTINE POLVO Y FRAGUADO</i>	95
<i>FIGURA 33. ESPECTRO RAMAN DE MTA-ANGELUS POLVO Y FRAGUADO</i>	96
<i>FIGURA 34. ESPECTRO RAMAN DE E20Z POLVO Y FRAGUADO</i>	97
<i>FIGURA 35. COMPARACIÓN DE LOS ESPECTROS RAMAN DE EZ5H Y EZ5C</i>	98
<i>FIGURA 36. COMPARACIÓN DE LOS ESPECTROS RAMAN DE EZ15H Y EZ15C</i>	99
<i>FIGURA 37. MICROGRAFÍAS SEM DE LOS TRES GRUPOS DE ESTUDIO EN POLVO Y A DISTINTOS TIEMPOS DE FRAGUADO</i>	101
<i>FIGURA 38. MICROGRAFÍAS SEM DE LOS GRUPOS EZ5H, EZ15H, EZ5C, EZ15C EN POLVO Y A DISTINTOS TIEMPOS DE FRAGUADO</i>	102
<i>FIGURA 39. ANÁLISIS EDS DE LOS GRUPOS CONTROL Y EXPERIMENTAL</i>	103
<i>FIGURA 40. MICROGRAFÍAS Y ANÁLISIS EDS DE LAS MUESTRAS DE LOS CEMENTOS COMERCIALES Y EXPERIMENTAL</i>	105
<i>FIGURA 41. MICROGRAFÍAS Y ANÁLISIS EDS DE LAS MUESTRAS DE CEMENTO EXPERIMENTAL CON AGREGADOS DE HIDROXIAPATITA Y CARBONATO DE CALCIO</i>	106
<i>FIGURA 42. RADIOPACIDAD DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO</i>	109
<i>FIGURA 43. EVALUACIÓN DE PH DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO</i>	111
<i>FIGURA 44. PORCENTAJE DE SOLUBILIDAD DE TODOS LOS GRUPOS DE ESTUDIO</i>	112
<i>FIGURA 45. TIEMPO DE FRAGUADO DE TODOS LOS GRUPOS DE ESTUDIO</i>	114
<i>FIGURA 46. RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN DE TODOS LOS GRUPOS DE ESTUDIO</i>	116
<i>FIGURA 47. CAMBIO DIMENSIONAL DE TODOS LOS GRUPOS DE ESTUDIO</i>	118
<i>FIGURA 48. REABSORBIBILIDAD DE LOS GRUPOS BIODENTINE, MTA-ANGELUS Y E20Z</i>	119
<i>FIGURA 49. REABSORBIBILIDAD DE EZ5H, EZ15H, EZ5C Y EZ15C</i>	120

Índice de Tablas

<i>TABLA 1. PROPIEDADES RECOMENDADAS PARA UN MATERIAL DE OBTURACIÓN RETRÓGRADA</i>	23
<i>TABLA 3. CANTIDADES EN GRAMOS PARA SÍNTESIS DEL MTA EXPERIMENTAL</i>	49
<i>TABLA 3. TEMPERATURA Y TIEMPO QUE SE EMPLEÓ PARA LA SÍNTESIS DEL CLINKER</i>	50
<i>TABLA 4. FORMULACIONES DE CATALIZADOR</i>	53
<i>TABLA 5. GRUPOS DE ESTUDIO</i>	54
<i>TABLA 6. BANDAS FT-IR CARACTERÍSTICAS DE LA HAP</i>	71
<i>TABLA 7. BANDAS RAMAN CARACTERÍSTICAS DE LA HAP SINTÉTICA</i>	76
<i>TABLA 8. COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LA HAP SINTETIZADA</i>	79
<i>TABLA 9. PROPORCIÓN Ca/P Y Ca/O DE LA HAP SINTETIZADA</i>	79
<i>TABLA 10. DIFERENCIAS ENTRE INTESIDADES DE LA REFLEXIÓN DE C3S CON RESPECTO A LA REFLEXIÓN DEL CAARBONATO</i>	83
<i>TABLA 11. LOCALIZACIÓN DE LAS BANDAS DE LOS ESPECTROS FT-IR DEL CLINKER EN SUS DIVERSAS SINTERIZACIONES</i>	85
<i>TABLA 12. LOCALIZACIÓN DE LAS BANDAS DE LOS ESPECTROS RAMAN DEL CLINKER EN SU ÚLTIMA SINTERIZACIÓN</i>	86
<i>TABLA 13. GRUPOS DE ESTUDIO CON CANTIDAD DE RELLENO</i>	89
<i>TABLA 14. PRORCENTAJE ELEMENTAL PROMEDIO (WT%) DE LOS CEMENTOS COMERCIALES Y EL EXPERIMENTAL A DIFERENTES TIEMPOS DE ENDURECIMIENTO</i>	104
<i>TABLA 15. PROMEDIO DE PORCENTAJE ELEMENTAL DEL CEMENTO EXPERIMENTAL CON AGREGADOS DE HIDROXIAPATITA Y CARBONATO A DIFERENTES TIEMPOS DE ENDURECIMIENTO</i>	107
<i>TABLA 16. PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LAS PRUEBAS DE RADIOPACIDAD</i>	108
<i>TABLA 17. PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PRUEBA DE PH</i>	110
<i>TABLA 18. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE PH</i>	110
<i>TABLA 19. PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PRUEBA DE SOLUBILIDAD</i>	112
<i>TABLA 20. PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PRUEBA DE TIEMPO DE</i>	

<i>FRAGUADO</i>	113
<i>TABLA 21. PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PRUEBA DE RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN</i>	115
<i>TABLA 22. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE RESISTENCIA A LA COMPRESIÓN</i>	116
<i>TABLA 23. PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA PRUEBA DE CAMBIO DIMENSIONAL</i>	117
<i>TABLA 24. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE CAMBIO DIMENSIONAL</i>	117

Abreviaturas

- ADA: American Dental Association (Asociación Dental Americana)
- CaCO_3 : Carbonato de calcio
- C-S-H: Gel de silicato de calcio hidratado
- C2S: Silicato dicálcico
- C3S: Silicato tricálcico
- C3A: Aluminato tricálcico
- EDS: Energy-dispersive X-ray spectroscopy (Espectroscopía por dispersión de energía de rayos x)
- FDA: Food and Drug Administration
- FT-IR: Infrarrojo por Transformada de Fourier
- HAp: Hidroxiapatita
- ISO: International Standard Organization
- MTA: Mirenal Trióxido Agregado
- rH: Relative humidity (Humedad Relativa)
- RO: Radiopacidad
- SBF: Simulated Body Fluid (Fluido corporal simulado)
- SEM: Scanning Electron Microscopy (Microscopía Electrónica de Barrido)
- TEM: Transmission electron microscopy (Microscopía Electrónica de Transmisión)

GLOSARIO

- Apexificación: Tratamiento para inducir la formación de un vértice incompleto en presencia de una pulpa necrótica.
- Apexogénesis: Desarrollo normal del ápice de la raíz del diente.
- Bactericida: Sustancia que causa la muerte a las bacterias
- Bacteriostático: Es aquel que aunque no produce la muerte a una bacteria, impide su reproducción; la bacteria envejece y muere sin dejar descendencia.
- Cavidad dental: Preparación realizada mecánicamente, capaz de mantener con firmeza en su sitio la sustancia restauradora, cuando sobre ella actúan las fuerzas que se desarrollan durante la masticación.
- Cementogénesis: Desarrollo de cemento sobre la dentina de la raíz del diente.
- Cerámica bioactiva: Material que puede inducir una actividad biológica específica.
- Cirugía retrógrada: Procedimiento quirúrgico relacionado con los problemas de los dientes despulpados que requieren amputación radicular y tratamiento endodóntico.
- Dentina: Porción dura del diente que rodea al paquete vasculo-nervioso, cubierta por el esmalte en la corona y por cemento en la raíz. Es más dura y densa que el hueso pero más blanda que el esmalte, y por tanto, se desgasta fácilmente cuando se deja sin protección.
- Dentinogénesis: Proceso de formación de dentina en el desarrollo de los dientes.
- Endodoncia: Campo de la odontología que estudia la biología y la patología de la pulpa de los dientes y los tejidos periapicales, así como prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades y lesiones en estos tejidos.

- Eugenol: Derivado fenólico conocido comúnmente como esencia de clavo, utilizado desde hace varios siglos en la práctica odontológica debido a sus propiedades farmacológicas como sedante y bactericida.
- Esmalte dental: Sustancia dura y brillante que recubre a la dentina coronal del diente. En su forma madura, esta compuesta de una fracción inorgánica compuesta de hidroxiapatita, carbonato de calcio, fluoruro de calcio y carbonato de magnesio; el resto es una matriz orgánica de proteínas y glicoproteínas.
- Lixiviación: Extracción de la materia soluble de una mezcla mediante la acción de un disolvente líquido.
- Odontología restauradora: Reconstrucción de dientes afectados por traumatismos, enfermedad.
- Odontopediatría: Atención bucodental del niño y adolescente.
- Ortodoncia: Especialidad encargada de corregir defectos e irregularidades de mala posición dental.
- Periodoncia: Rama de la odontología que se encarga del estudio de los tejidos normales y el tratamiento de condiciones anormales de los tejidos que se encuentran alrededor del diente.
- Pulpa o paquete vasculonervioso: Tejido conectivo laxo localizado en el interior del órgano dental y rodeado por dentina.
- Pulpotomía: Escisión parcial de la pulpa dentaria realizada generalmente en el tratamiento de la pulpitis; en ella todo el tejido pulpar patológicamente alterado se elimina a fin de preservar la parte normal remanente de la raíz.
- Prótesis fija y removible: Reconstrucción o sustitución de órganos dentarios.
- Recubrimiento pulpar: Maniobras que se utilizan durante la preparación y restauración cavitaria y que tienden a proteger constantemente la vitalidad del órgano dentinopulpar.

- Resorción interna: Proceso de destrucción progresivo lento o rápido idiopático que ocurre en la dentina de la cámara pulpar o bien de los conductos radiculares.
- Sistema de conductos radiculares: Se considera de tal manera debido a que la raíz de un diente no sólo posee uno o dos conductos, sino que el conducto puede dividirse en numerosos conductos laterales y accesorios (ramificaciones).

Resumen

Hoy en día la nanociencia y la nanotecnología se ha visto muy involucrada en el área médica, así como en la odontológica en donde se han empleado nanopartículas de bismuto o plata adicionadas a materiales poliméricos como agentes bacteriostáticos, entre otras aplicaciones. En este estudio se emplearon nanopartículas de hidroxiapatita en un cemento para tratamiento dental (mineral trióxido agregado, MTA), similar al cemento Portland que endurece a través de reacciones de hidratación. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue modificar un cemento MTA de reciente formulación, con el propósito de disminuir el tiempo de fraguado y mantener las propiedades del cemento. Para este propósito se emplearon dos cementos comerciales: Biodentine™ de origen francés (Biod), MTA-Angelus™ de origen brasileño (MTA-Ang), y el de reciente formulación E20Z el cual es un cemento experimental. Al cemento experimental se le agregó como material de relleno 5 y 15% de hidroxiapatita de tamaño nanométrico (40 nm), denominando esos grupos como EZ5H y EZ15H, respectivamente. Al igual que se agregó 5 y 15% de CaCO_3 , denominando a estos grupos como EZ5C y EZ15C, respectivamente. Las pruebas de caracterización fueron XRD, FT-IR, Raman, SEM, TEM y pruebas físico-mecánicas. Los resultados del análisis elemental fueron que Biodentine solo presenta la fase cristalográfica silicato tricálcico (Ca_3SiO_5) a diferencia de MTA-Ang y E20Z que muestran tener esta fase y la fase de silicato dicálcico (Ca_2SiO_4). Otra diferencia que muestran es que Biod tiene como agente radiopacador el ZrO_2 al igual que E20Z, no así MTA-Angelus que cuenta con Bi_2O_3 . Debido a esto se atribuye las diferencias observadas en las propiedades como: la gran radiopacidad que presenta el MTA-Ang de 6.2 mm Al contra 3.6 de Biod y 4.1 para el grupo EZ15C. También Biod mostró un pH de 13 y resistencia a la compresión de 129 MPa, convirtiéndolo en el cemento que presentó los valores más altos en estas pruebas, sin embargo, se puede observar que los grupos con agregado de HAp nanométrica mostraron resistencia a la compresión y pH mayor que los grupos con CaCO_3 y que MTA-Angelus. En la prueba de solubilidad, tiempo al fraguado y cambio dimensional no se encontraron diferencias entre ningún grupo. Y por último, sólo Biod mostró tener deposición de HAp sobre su superficie. Por lo que se concluyó que Biodentine fue el cemento que arrojó, en general, los valores más altos y MTA-Angelus los más bajos. E20Z mostró valores intermedios. Por lo que, este incremento en las propiedades sin elevar el tiempo de fraguado del cemento se puede atribuir al agregado de hidroxiapatita nanométrica.

Abstract

Now a days the nanociencia and nanotechnology has seen involved in medicine and odontology area, where had used bismuth or silver nanoparticles as bacteriostatic agents added to polymeric materials, among another applications. In this study we used nanohydroxyapatite added to a cement for dental treatment, (mineral trioxide aggregated, MTA), similar to a Portland cement that setting by hydration reactions. Thus the objective of this work was to modify a newly formulated MTA cement, with the purpose of reducing set time and to keep the cement properties. For this was used two commercial cements were used: Biodentine™ from French origin (Biod), MTA-Angelus™ from Brazilian origin (MTA-Ang) and the recent formulation cement E20Z which is a experimental cement. To the experimental cement was added as filler material 5 and 15% of nanometric hydroxyapatite (40 nm), naming those groups as EZ5H and EZ15 H, respectively. As well as 5 and 15% of calcium carbonate (CaCO_3) naming those groups as EZ5C and EZ15C, respectively. The characterization tests were DRX, FT-IR, Raman, SEM, TEM and physical-mechanical tests. The results of the elemental analysis were that Biodentine only presents the crystallographic phase tricalcium silicate (Ca_3SiO_5) unlike MTA-Ang and E20Z that show to have this phase and also dicalcium silicate (Ca_2SiO_4). Another difference they show is that Biod has ZrO as radiopacador agent just like E20Z, not so MTA-Angelus that presents Bi_2O_3 . Due to this the differences observed in the properties are attributed as: the great radiopacity that presents the MTA-Ang of 6.2 mmAl against 3.6 of Biod and 4.1 for the group EZ15C. Biod also showed a pH of 13 and a compressive strength of 129 MPa, turning it into the cement that presented the highest values in these tests, however it can be observed that the groups with addition of HAp nanometer showed resistance to compression and pH higher than the groups with CaCO_3 or MTA-Ang. In the solubility test, time to set and dimensional change no differences were found between any groups. And finally, just Biod showed to has deposition of HAp on their surface. So it was concluded that Biodentine was the cement that have the highest values and MTA-Angelus the lowest. Some important is that E20Z showed intermediate values. We observed that by adding nanometric hydroxyapatite there is an increase of the resistance to the compression without increasing the setting time.

Agradecimientos

A mis directores de tesis el Dr Lauro Bucio Galindo y el Dr Juan Pedro Luna Arias por todo el conocimiento, guía, apoyo y palabras de aliento proporcionado a cada paso de la realización de este trabajo ya que gracias a ello pudo a llegar a término.

Agradezco al Dr. Eligio Alberto Orozco Mendoza por el apoyo proporcionado en el Laboratorio de Cristalofísica y Materiales Naturales, IF-UNAM para la realización de la síntesis de la Hidroxiapatita nanométrica y del cemento experimental.

Agradezco al Dr. Federico Humberto Barceló Santana, la C.D. Teresa Baeza Kingston y el Dr. Carlos Álvarez Gayosso quienes me facilitaron el equipo y las instalaciones del Laboratorio de Biomateriales Dentales de la DePel de la Facultad de Odontología, UNAM para la realización de las pruebas físico-mecánicas.

A Diego Armando Quiterio Vargas por la preparación de muestras, Mario Monroy y Manuel Aguilar Franco por la obtención de imágenes en SEM y a Roberto Hernández Reyes por la obtención de imágenes de HRTEM, que se realizaron en el Laboratorio Central de Microscopía, IFUNAM.

A Cristina Zorrilla Cangas por la realización de los análisis Raman en el Laboratorio de Materiales Avanzados así como el apoyo y guía en la búsqueda de información e interpretación de los espectros Raman. A Antonio Espino por la realización de los análisis de Difracción de Rayos X en el Laboratorio de Rayos X del Instituto de Física, IFUNAM.

A José Ocotlán Flores Flores por proporcionar el acceso al FT-IR para realizar el análisis de la hidroxiapatita en CCADET, UNAM.

A Adriana Tejeda por la realización del análisis de Difracción de Rayos x en haz rasante en el Instituto en Investigación de Materiales, UNAM.

A Leticia Trejo Delgado, Eréndira Martínez Acevedo y Angel Osornio Basurto por el apoyo proporcionado en todo momento durante mi travesía para la realización de este trabajo, por su honestidad y su maravillosa amistad, mil gracias.

A la Sociedad Mexicana de Cristalografía (SMCr) por los apoyos proporcionados para la asistencia y participación en congresos y a Gabriela García Rosales por su amistad y amable ayuda para realizar los trámites para dichos congresos.

Al programa Conacyt por el apoyo económico proporcionado para que yo pudiera realizar este trabajo de investigación y poder terminar mis estudios de doctorado.

Al proyecto PAPIIT IN-100417 y a los proyectos ICYTDF 272-12 y CM-272-12-SECITI-033-2015 por el apoyo proporcionado.

Al Programa de Nanociencias y Nanotecnología ya que dio la oportunidad de ingresar como una alumna más de doctorado sin jamás volverme la espalda, haciéndome sentir aceptada aún cuando mi formación académica sea completamente diferente a la requerida por otros programas similares a este.

A mi madre y a mi hermana por haberme dado educación ya que sin el apoyo de ellas me habría sido imposible hasta este momento de vida. Gracias por que siempre recibí palabras de aliento, apoyo incondicional, jalones de oreja y sobre todo mucho amor.

A mis amigos Alejandra y Gustavo por haber estado a cada paso, cada día y en cada momento de mi vida aún cuando las situaciones fueran difíciles y algo volubles, los quiero mil.

Capítulo I

Antecedentes

1.1 Importancia de la Nanociencia y la Nanotecnología

Al paso del tiempo se han realizado avances tecnológicos y esto ha ido cambiando la vida del ser humano en todo aspecto tanto en la generación de mayor conocimiento, así como en mayores comodidades, entre otras.

Dichos avances han convergido en dos disciplinas relativamente recientes, las cuales se ven marcadas en la escala de longitud. Científicos como ingenieros han observado el potencial de aplicaciones en muchos campos de estudio como la electrónica, física, biología molecular, farmacéutica, medicina, etc. Estas disciplinas reciben el nombre de Nanociencias y Nanotecnología (proviene del término *nano*, del prefijo griego que significa “enano”) haciendo referencia a aquellos fenómenos y objetos cuyas dimensiones corresponden a una millonésima parte de un milímetro (1×10^{-9} m).

La Nanociencia se dedica al estudio de los fenómenos y la manipulación de materiales a escala nanométrica y la Nanotecnología es el diseño, caracterización y aplicación de estructuras, dispositivos mediante el control de la forma, el tamaño y las propiedades de la materia en escala nanométrico (1).

Los cambios en la geometría y el tamaño del sistema con el que se está trabajando aportan propiedades diferentes a las presentes en los materiales macrométricos o micrométricos. Debido a que las leyes que rigen a la escala nanométrica son distintas, ejemplo de ello son los nanotubos de carbono que pueden ser aislantes o conductores según sea su diámetro. Razón por la cual hoy en día ambas disciplinas son empleadas en distintos campos de investigación (2) haciendo resaltar su multidisciplinariedad. Por lo que puede percibirse tanto en la ciencia de los materiales electrónicos como en la medicina.

En los seres vivos vertebrados una de las necesidades básicas es satisfacer los requerimientos de calcio por parte del organismo ya sea por

razones de reproducción o remodelación ósea, por lo que es importante que las partículas sean nanométricas debido a que el calcio presente en la nHAp se encuentra en superficie y no en el volumen. A esto se puede deber el éxito de los cementos a base de MTA ya que durante el proceso de hidratación se tienen partículas amorfas y/o nanométricas.

Dicho desarrollo científico ha hecho que otros campos de investigación en el área de la salud hayan volteado a ver las posibles aplicaciones de la nanotecnología, y una es la odontología. Ya que se cree que promete el mantenimiento de la salud oral integral gracias al empleo de nanomateriales, nanobótica dental e ingeniería de tejidos, entre otros(3). Por lo que, algunos autores le han llegado a dar el nombre de nanodontología. De allí la importancia que tuvieron las nanociencias y nanotecnología para la realización de este estudio.

A continuación se hablará brevemente de odontología, del diente, las partes que lo conforman y los tejidos que lo rodean para dar mayor claridad en terminología.

La odontología es la rama de la medicina encargada de la salud bucodental, la cual estudia las distintas partes del diente y tejidos de soporte, así como las afecciones que los dañan y la forma más efectiva de devolver la función. Por consiguiente, en primer lugar se describirán de forma breve, las partes que conforman al diente y de los tejidos de soporte (Figura 1).

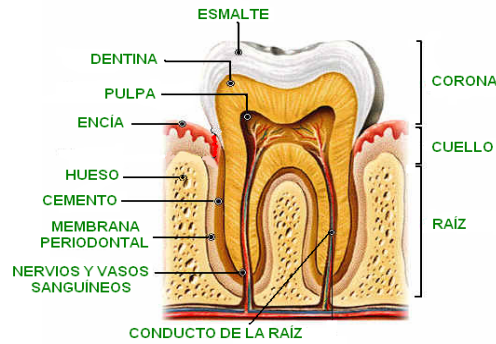


Figura 1. Estructura del diente y de los tejidos de soporte.

1.2 TEJIDOS DENTALES

1.2.1 Esmalte

Material cerámico acelular considerado como un tejido. Su elemento básico es el prisma adamantino, constituido por cristales de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Estos cristales se observan de mayores dimensiones (aproximadamente de 210 nm) que los hallados en otras zonas calcificadas del cuerpo. Los podemos encontrar en forma de prismas llamados “prismas adamantinos”. La dirección que toman dichos prismas es irregular (desde la dentina hasta la superficie) y van formando “S”, mismas que se entrelazan entre sí para proveer mayor resistencia a la estructura final, por lo que el esmalte está considerado como el tejido más duro dentro de los tejidos calcificados del cuerpo humano (4). También está constituido por sustancia orgánica la cual está compuesta por proteínas y lípidos, representando el 1.8% del peso total del esmalte.

1.2.2 Complejo dentino-pulpar

De manera general la dentina está conformada por 70% de sustancia inorgánica, 12% de agua y 18% de sustancia orgánica, misma que varía dependiendo de la edad y área de tejido dentinario (4), debido a que durante la

vida se presentan cuatro tipos de dentina: predentina, dentina primaria, dentina secundaria y dentina terciaria, ya que la dentina a diferencia del esmalte continúa su formación después de la erupción dentaria.

La predentina es un tipo de dentina desmineralizada cuyo espesor depende del momento de la dentinogénesis. La dentina primaria es muy abundante debido a que es la encargada de formar el cuerpo del diente. Su composición es 70-75% de material inorgánico, 20% material orgánico (principalmente colágeno tipo I con mínimas cantidades de polisacáridos, lípidos y proteínas) y 5-10% de agua (4). Los cristales de HAp de la dentina son diferentes a los del esmalte ya que el grupo carbonato se incorpora a su estructura, y el tamaño de los cristales es menor. La dentina secundaria aparece poco antes de la erupción dentaria continuando a lo largo de la vida, cuya velocidad de síntesis depende de cada individuo. La dentina terciaria es la que se genera debido a algún tipo de agresión generada a la pulpa como traumatismos, por efecto irritante bacteriano o de otra índole, así como eliminación de tejido por infección bacteriana (5).

La parte inorgánica está constituida, principalmente por cristales de hidroxiapatita cuyo tamaño puede variar dependiendo de la zona de la corona en la que se encuentren (4). También contiene carbonatos y sulfatos de calcio, además de flúor, hierro, cobre y zinc. Y esta formada de túbulos dentinarios, cuya forma y dirección varía de la zona dentaria, encargados de alojar en su interior prolongaciones odontoblásticas (4,6,7).

La pulpa es un tejido conectivo laxo especializado, el cual se encuentra rodeado de tejidos duros (esmalte, dentina y cemento). Se compone de células, fibras, matriz fundamental amorfa, nervios, vasos sanguíneos y linfáticos, por lo que su principal función es la de formar y proveer de sensibilidad a la dentina, así como proporcionar irrigación a la misma (4). También se encarga de la

defensa inmune contra estímulos nocivos, así como de la reparación y regeneración de tejidos (9,10).

1.3 ESTRUCTURAS PERIODONTALES

A continuación se mencionan, brevemente, las estructuras del periodonto. El cual está formado por: encía, ligamento periodontal, cemento radicular y hueso alveolar.

1.3.1 Encía

La mucosa bucal, la cual es la que recubre procesos alveolares, cuellos de órganos dentarios y paladar (6), está constituida por mucosa masticatoria, mucosa especializada y mucosa de revestimiento. La encía es parte de la mucosa masticatoria que recubre la apófisis alveolar que rodea al diente en la zona cervical (cuello) (10) y está compuesta por una capa epitelial y de tejido conectivo denominado lámina propia (6).

En dirección coronal la encía se observa de color rosado coral, el cual puede variar dependiendo del grado de vascularización, queratinización y/o presencia de melanina, y termina en el margen gingival libre. En sentido apical, la encía se continúa con la mucosa alveolar laxa (color rojo oscuro), de la cual está separada por la línea masticatoria llamada unión/línea mucogingival (10). La encía puede ser clasificada en encía libre o marginal (EL) y en encía adherida o insertada (EA).

La encía libre es de color rosa coralino, con superficie opaca y consistencia blanda o firme (6). Conforman el tejido gingival en vestibular y lingual/palatina, así como la encía interdental (10). La forma de la encía interdental se da por la relación de contacto entre los dientes, el ancho de las superficies dentales proximales y el delineado de la unión cemento-adamantina. Lo normal es una

forma piramidal en anteriores y en la región de molares tiende a ser aplanada en sentido vestibulolingual (10).

La encía adherida está delimitada en sentido coronal por el surco gingival. En sentido apical se extiende hasta la unión mucogingival, desde donde se continúa con la mucosa alveolar (11). Es de textura firme y puede presentar depresiones en su superficie dándole una apariencia de cáscara de naranja (6), y se encuentra fuertemente adherida al hueso alveolar y al cemento por fibras de tejido conectivo.

1.3.2 Ligamento periodontal

Este tejido está altamente vascularizado, rodea las raíces de los dientes y conecta al cemento radicular con la pared del alvéolo. En sentido coronal se continúa con la lámina propia de la encía y está delimitado respecto de ella por los haces de fibras colágenas que conectan la cresta ósea alveolar con la raíz (11). La función del ligamento periodontal es la de amortiguar las fuerzas de masticación, así como la de algunos contactos dentarios. También permite cierta movilidad de los dientes. Dicha movilidad está determinada por el espesor, altura y calidad del ligamento periodontal (10).

1.3.3 Cemento

Es un tejido mineralizado especializado que recubre las superficies radiculares. Carece de irrigación y de linfa, así como tampoco se encuentra inervado (5). Su contenido mineral es de 65%, 23% es material orgánico (fibras de colágena) y el resto es agua (5,10). El cemento es el encargado del soporte del diente a partir de las fibras del ligamento periodontal y el hueso alveolar. Inicia al finalizar el esmalte en la corona anatómica, a nivel del cuello del diente y recubre la totalidad de la raíz del órgano dentario (5,10).

Existen tres tipos de cemento:

1) El *cemento acelular* que se encuentra en la zona de la porción coronal y media de la raíz, y contiene fibras de haces de Sharpey. Se conecta al diente con el hueso alveolar fasciculado.

2) El *cemento celular mixto estratificado*, el cual se sitúa en el tercio apical y en las furcaciones. Contiene fibras extrínsecas, intrínsecas y cementocitos.

3) El *cemento celular con fibras intrínsecas* se encuentra en lagunas de resorción y contiene fibras intrínsecas, así como cementocitos (6,10).

1.3.4 Hueso alveolar

Está constituido por aproximadamente el 65% de minerales (80% hidroxiapatita, 15% carbonato de calcio y 5% sales minerales), 20% de agua y 20 a 35% de componente orgánico. Esta matriz orgánica contiene fibras de colágena tipo I en su mayoría (11). Constituye el tejido óseo de los maxilares y mandíbula que forma y sostiene a los alvéolos de los dientes. Junto con el ligamento periodontal tiene como función la de sostén del diente y la de actuar como un sistema de amortiguamiento, distribuyendo las fuerzas de la masticación (10). Su estructura está compuesta por hueso compacto (porción cortical) localizado superficialmente y hueso esponjoso (porción medular) (11).

Existen factores que pueden dañar la salud buco-dental, la más común es la caries provocada por *Streptococcus mutans* (12). Para corregir cualquier daño provocado por enfermedad, traumatismo o daño congénito, se encuentran distintas especialidades, que incluyen: odontología restauradora (13), endodoncia (14), periodoncia (10), prostodoncia y prótesis fija y removible (15), odontopediatría, ortodoncia (16), entre otras.

Para la realización de cada tratamiento existen infinidad de materiales de obturación que se emplean para tratar de restablecer la funcionalidad del aparato estomatognático y la estética. Entre estos materiales se incluyen

amalgamas, aleaciones para incrustación, resinas, porcelanas, entre otros. Así como también se encuentran los cementos, como ionómero de vidrio, óxido de zinc y eugenol, etc. Existen otros tipos de materiales, los cuales se utilizan como hemostáticos (gel foam), obturadores de conductos (puntas de gutapercha), cementos selladores de conductos (ZOE, a base de silicatos de calcio, etc.) los cuales son colocados en alguna zona de la raíz dental como sellador.

Los materiales cuya aplicación es el sellado radicular deben de contar con ciertas propiedades (Tabla 1). Además, se deben de adherir a la pared dentinal, prevenir filtraciones entre la interfase diente-material y así evitar la entrada de microorganismos y sus subproductos y, por último, deben ser biocompatibles con los tejidos adyacentes (17,18).

Tabla 1. Propiedades recomendadas para un material de sellado ideal (19).

Propiedades de los materiales de sellado radicular según Grossman

- Deben ser bien tolerados por los tejidos periféricos
- Deben adherirse a la estructura dental
- Dimensionalmente ser estables
- Resistentes a la disolución
- Favorecer la cementogénesis
- Bactericida o bacteriostático
- No deben ser corrosivos
- Electroquímicamente inactivos
- No teñir los dientes ni las estructuras perirradiculares
- Fácilmente accesibles y manejables
- Permitir un tiempo de funcionamiento adecuado y un ajuste rápido
- Ser radiopacos

Sin embargo, se ha visto que no todos los materiales que se han desarrollado para este fin logran cubrir todas las características anteriormente mencionadas, por lo que el desarrollo de nuevos materiales y la investigación de estos continúa.

Se han utilizado diversos materiales pensando en la misma aplicación, como son gutapercha*, oro cohesivo*, ionomero de vidrio, “ketac silver”, óxido de zinc y eugenol (ZOE), cavit*, resinas compuestas, cemento de carboxilato de zinc*, cementos óseos, poliHEMA, IRM, Súper EBA y cementos base Portland (MTA). Los que se encuentran señalados con “*” ya no se recomienda su uso desde el año 2001 (20) debido a que presentaron algunas complicaciones en su manejo, por lo que se tratarán brevemente los materiales que se consideraron como los más aceptables para dicha aplicación (amalgama, IRM, Súper EBA y MTA) a continuación.

1.4 MATERIALES DE OBTURACIÓN PERIRRADICULAR

1.4.1 Amalgama dental

La amalgama es una mezcla de limadura o polvo fino de plata, estaño y cobre con mercurio. La primera vez que se utilizó fue en 1800 en Estados Unidos, empleando la limadura de monedas con mercurio, obteniéndose una pasta metálica (21). Posteriormente se realizaron diversas investigaciones sobre la proporción adecuada de metales para realizar la aleación, así como de sus propiedades fisicoquímicas, tiempo de mezclado, resistencia a la compresión, entre otras (21). Su Norma correspondiente es la No. 1 de la American Dental Association (ADA).

Durante mucho tiempo la amalgama fue empleada como un material para obturaciones retrógradas debido a que es de fácil manipulación, es bien tolerada por los tejidos blandos, es radiopaca y proporciona cierre apical

hermético. Sin embargo, tarda en solidificar, tiene inestabilidad dimensional y se corroe, provocando filtraciones (19,22).

En un estudio realizado por Torabinejad (23), se evaluó la capacidad de sellado entre amalgama, Súper EBA y un mineral trióxido agregado al ser usado como material de obturación radicular. Observaron que la amalgama y el Súper EBA presentaban mayor filtración que el mineral trióxido agregado. También reportaron la posible contaminación por liberación de mercurio, que no es estéril, es sensible a la humedad, la preparación de la cavidad debe de tener ciertas características, tiñe tejidos blandos y duros, puede haber dispersión de partículas, entre otras (22). Por ello, poco a poco se fue sustituyendo por el IRM (del inglés, "Intermediate Restorative Material") o Súper EBA (súper ácido etoxibenzoico), los cuales se explicarán más adelante. (19)

1.4.2 Óxido de zinc y eugenol (ZOE)

El ZOE es un cemento cuyos componentes principales son el óxido de zinc y el eugenol (especia extraída del clavo) junto con algunos otros componentes, no menos importantes (21). Durante la reacción química del fraguado, el eugenol actúa como un agente quelante que atrapa iones metálicos generando una reacción autocatalítica que resulta en la producción de un eugenolato de zinc más agua (21,24). Su uso principal es como material de base o cementación temporal o permanente, existiendo para ello cuatro tipos según la clasificación de la Norma ADA #30.

En un inicio, al ser aplicados como material de obturación retrógrada, se observó que estos cementos no tenían suficiente fuerza ante fuerzas compresivas y tenían un largo tiempo de fraguado, así como también alta solubilidad ya que al estar en contacto con los fluidos corporales se hidrolizaba y aparecía hidróxido de zinc y eugenol (21). Por lo que otro inconveniente era que el eugenol al quedar libre podía impedir la síntesis de ciclooxygenasa e inhibir la

prostaglandina sintética, convirtiendo al ZOE en un material tóxico a largo plazo (25,26). También podía inhibir la actividad nerviosa sensorial y la respiración mitocondrial, así como destruir diversos microorganismos orales habituales o bien comportarse como un alérgeno (19). Por estas razones, se diseñó un ZOE libre de eugenol y en su lugar se empleó el ácido etoxibenzoico (EBA), denominado Súper EBA.

1.4.3 Súper EBA

Es un cemento de óxido de zinc y eugenol modificado con EBA y dióxido de silicio o aluminio, lo que permitió reducir el tiempo de fraguado y aumentar la resistencia a la compresión. Oynick y Oynick publicaron que este material era radiopaco y no se reabsorbía (27). En comparación con la amalgama, algunos autores afirman que el súper EBA posee una buena capacidad de adaptación marginal (aún mejor que la de la amalgama) y debido a esto, se adhiere a todas las superficies, por lo que resulta difícil de colocar y compactar (19,28,29). Sin embargo, Torabinejad reporta que la capacidad de sellado del Súper EBA es la misma que la de la amalgama pero su sellado no es mejor que el del MTA (23). Otras desventajas que presentaba el Súper EBA eran sensibilidad a la humedad, irritación de tejidos y solubilidad (22). Así mismo, es difícil de manipular, su tiempo de fraguado es muy corto y debido a la humedad se vuelve muy fluido (19).

1.4.4 MTA (Mineral trióxido agregado)

Debido a todas las desventajas que se observaban con los materiales empleados para cirugías apicales, en 1995, en la Universidad de Loma Linda, California, Torabinejad diseñó un cemento tipo Portland a base de silicatos, dicálcico y tricálcico, denominado MTA (19). Éste ha demostrado tener mejores propiedades como material de retroobtusión (30). Su composición fue la

siguiente: CaO 65%, SiO₂ 21%, Fe₂O₃ 5%, Al₂O₃ 4%, SO₃ 2.5%, MgO 2% y álcalis (Na₂O, K₂O) 0.5%. Actualmente, se considera que la composición general en peso del MTA es 75% cemento Portland (cuyo material base es CaO, SiO₂, Al₂O₃ y Fe₂O₃), 20% Bi₂O₃ y 5% de sulfato de calcio (22). Mismo que ha sido reconocido como un material bioactivo y biocompatible (31) osteoconductor (32) e inductor en tejido duro (33).

El MTA está formado por partículas finas hidrofílicas compuestas por silicatos tricálcicos y dicálcicos, que al estar en contacto con agua forma un gel de hidratos de silicato cálcico (34). Los usos más conocidos del MTA son el recubrimiento pulpar, pulpotomía, apexificación, resorción interna y externa, así como sellado de perforaciones radiculares. Esto lo ha convertido en el material de elección para el tratamiento no quirúrgico de las perforaciones radiculares en banda o en furcación (35-40).

La proporción polvo/líquido (P/L) que emplea el MTA es de tres partes de polvo y una parte de solución acuosa estéril (3:1). Requiere una mezcla de 30 segundos, aproximadamente, para obtener una pasta semejante a la masilla. Pero al existir exceso de humedad, el cemento se observa con consistencia de arena mojada y se hunde, pero cuando está demasiado seca presenta una consistencia grumosa, en ambos casos difícil de manipular, haciendo a este un material muy sensible a los cambios en la proporción P/L.

El tiempo de trabajo aproximado es de 2 a 4 horas, considerándose un material de elección para las microcirugías apicales, eliminando la “presión del tiempo” del procedimiento (41). A pesar de que se asume que su largo tiempo de trabajo es beneficioso, la mayoría de los especialistas lo refieren como una desventaja más, debido a que entre mayor sea el tiempo de endurecimiento se incrementa la posibilidad de que el material se desaloje del sitio de colocación (41).

Como una forma de comprobar las propiedades del MTA, existe el reporte de un estudio para evaluar su capacidad de sellado comparándolo con la amalgama y el súper EBA, utilizando Rodamina B fluorescente y microscopía confocal. Para la realización de este estudio se emplearon 30 dientes extraídos a los que se les realizaron tratamiento de conductos y se obturaron con gutapercha. Se cortaron 3 mm de la zona apical, se obturaron con amalgama, súper EBA y MTA, y fueron colocados en la solución de Rodamina B por 24 horas. Los dientes que presentaron menor filtración fueron aquéllos obturados con MTA (29).

Antonio-Antonio y col. compararon ProRoot MTA blanco, MTA Angelus blanco y Súper EBA, observando que la capacidad de sellado tanto en Pro Root como en Angelus, era buena a los 30 días y Súper EBA hasta los 60 días. Por lo que concluyeron que desde el punto de vista clínico, los tres materiales son factibles de ser empleados en obturación retrógrada (42).

En otro estudio similar se compararon la capacidad de sellado de tres cementos: cemento Portland ordinario, MTA-Angelus blanco y Biodentine. La comparación se realizó en molares extraídos, los cuales fueron cuidadosamente ensamblados en celdas herméticas para evaluar la filtración del fluido. Se midió el movimiento de una burbuja de aire que viajaba desde una pipeta hasta el diente, dando como resultado que la habilidad de sellado de los tres cementos fue similar (43).

Otro factor que se ha estudiado es el efecto del pH, ya que juega un papel como agente bactericida. Camilleri (2007) realizó un estudio sobre la influencia del pH en la capacidad de sellado, concluyendo que la adaptación marginal es independiente del pH (44).

Esta capacidad de sellado se ha estudiado debido a que el tiempo de endurecimiento reportado del cemento es muy largo y por ende existe la posibilidad de que sufra desplazamiento de la zona en la que fue colocado. Por lo que se le ha agregado cloruro de calcio (CaCl_2), NaClO , etc., como para la reducción del tiempo de fraguado. En 2006 se realizó un estudio en el que añadieron CaCl_2 al 3% y 5%, NaClO y gluconato de clorhexidina en gel, gelatina K-Y (“K-Y Jelly”) y lidocaína al 2% para disminuir el tiempo de fraguado. Se realizaron las pruebas de dureza y resistencia a la compresión, y observaron que al agregarle gel de NaClO se mejoraba la manipulación y disminuía el tiempo de fraguado (45).

En 2007 otros autores adicionaron al cemento varias concentraciones de metilcelulosa (1-3%) y CaCl_2 (1-2%), respectivamente, obteniendo como resultado que al agregarle el primero se lograba una consistencia cremosa muy manipulable y que a mayor cantidad de metilcelulosa el tiempo de fraguado se incrementaba. En cambio, al agregar CaCl_2 se logró una disminución importante en el tiempo de fraguado (46).

El MTA se encuentra disponible comercialmente como MTA-Angelus™ (Angelus Soluciones Odontológicas, Londrina Brasil), ProRoot MTA gris y blanco (Dentsply, Endodontics, Tulsa, OK, USA) o recientemente Biodentine™ (Septodont).

1.4.4.1 ProRoot™

Está compuesto por SiO_2 , CaO , MgO , K_2SO_4 y NaSO_4 y ha sido utilizado desde el año de 1978 y actualmente solo se encuentra en países de sudamérica; se patentó en 1995 al ser combinado con óxido de bismuto (22,47).

Se emplea como material de obturación apical, reparación de perforación de conducto, reabsorciones internas, entre otras. De acuerdo a lo reportado por el fabricante una aplicación nueva que se le ha dado es casos de pulpotomía pediátrica debido a un sellado biocompatible, evitando la infección de los conductos radiculares (48).

1.3.4.2 MTA-Angelus™

MTA-Angelus™ está compuesto por 80% de cemento Portland y 20% de óxido de bismuto sin sulfato de calcio (19) empleando como catalizador agua destilada. Se emplea para tratamiento de perforaciones de conducto radicular, sellado de reabsorciones internas, obturaciones en cirugías periradiculares, recubrimientos pulpaes, apexificación y apicogénesis, sellado intracoronario previo al tratamiento de blanqueamiento dental y sellado apical. Una de las principales ventajas que presenta es la liberación de iones calcio para inducir la remineralización ósea.

Las propiedades que se reportan por el fabricante sobre este cemento son (49). Tiempo de fraguado inicial es de 10 y 15 minutos tiempo final.

- pH de valor 10 dentro de las primeras 3 horas y posteriormente se estabiliza en 12.
- Radiopacidad mayor al esmalte y dentina, semejante a la radiopacidad de la gutapercha.
- Resistencia a la compresión dentro de las primeras 24 h es de 40 MPa y a los 21 días de 65 MPa.

Lo podemos encontrar en presentaciones de 7 dosis (1g más 3 mL de agua destilada) en color gris y blanco. También lo hay en presentación de 2 dosis (0.28 g más 3 mL de agua destilada) (50).

1.3.4.3 Biodentine™

Dentro de sus componentes solamente cuenta con silicato tricácico, carbonato de calcio y óxido de zirconio (como agente radiopacador) en el polvo y cloruro de calcio, agua y un polímero hidrosoluble (super plastificante) como catalizador (51). Reportan que este super plastificante ayuda a mantener el balance entre la poca cantidad que utiliza biodentine y la consistencia de la mezcla. Ya que el exceso e agua genera porosidad y con ello baja resistencia, pero al disminuir el agua existe la posibilidad de reducir la posibilidad de un amezcla homogenea (52).

Es considerado como un sustituto de dentina debido a la gran resistencia a la compresión que posee, gracias a que el silicato de calcio sintetizado cuenta con alta pureza debido a que eliminaron los aluminatos y otras impurezas al emplear la Active biosilicate technology. Por lo que reporta tener alta biocompatibilidad y bajo riesgo de reacción de la pulpa o tejido, estimulación de las células de la pulpa con formación de puentes dentinarios, generación de cicatrización pulpar en caviades profundas, así como anclaje micromecánico natural en los túbulos dentinarios, entre otras (53).

Las propiedades que se reportan por el fabricante sobre este cemento son (52):

- Tiempo de fraguado de 9 a 12 minutos.
- Radiopacidad de 3.5 mmAl.
- Elevada resistencia compresiva inicial de 131 MPa y final de 314 MPa.
- pH elevado de 12.
- Resistencia a la flexión de 22 MPa.
- Dureza entre 60 a 90 HVN

En este estudio se decidió comparar el cemento experimental con agregados de hidróxiapatita nanométrica y carbonato de calcio con los últimos

dos cementos MTA mencionados arriba. A continuación se hablará más detalladamente de los agregados de hidróxiapatita nanométrica y carbonato de calcio.

1.5 ADITIVOS

1.5.1 HIDROXIAPATITA (HAp)

La hidroxapatita con fórmula $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, es el componente mineral principal del hueso, esmalte y dentina (54). Y pertenece a la familia de las apatitas cristalográficas, la cual posee una estructura hexagonal (grupo espacial $P6_3/m$) con parámetros de celda de $a = 9.432$ and $c = 6.881 \text{ \AA}$, $V = 530.14 \text{ \AA}^3$, $Z = 2$ (55). El carácter iónico de la HA le proporciona la capacidad de sustitución parcial o completa de iones de la red por otros de tamaño similar (PO_4^{3-} por HPO_4^{2-} ; Ca^{2+} por K^+ o Mg^{2+} ; OH^- por F^- , Cl^- , Br^-).

Se le considera un biomaterial con propiedades de bioactividad, biocompatibilidad, osteoconductividad (56,57) y unión directa al hueso. Así mismo, no es tóxico, no genera respuesta inflamatoria o formación fibrosa (58).

1.5.1.1 Aplicaciones de la nHAp

Existen numerosas aplicaciones de la nHAp como, contra la proliferación de células de cáncer, catalisis, cromatografía, cosméticos, farmacéutica, implantes, recubrimiento postético, regeneración ósea y reparación dental, entre otras (59-66). Esta aplicación en el área médica es debido a que los cristales minerales óseos cuentan con una mayor superficie o disponibilidad de iones Ca^{2+} , a diferencia de la HAp micrométrica, ya que ésta cubre una menor área superficial (67). Por ello es que la nHAp actualmente se emplea en el área

médica, presentando una interacción favorable y crecimiento de osteoblastos, y mostrando formación de hueso (68).

Gracias a los buenos resultados clínicos que ha mostrado el uso de nHAp, se propuso sintetizar hidroxiapatita de tamaño de partícula nanométrico como un aditivo al MTA para la realización de este estudio y así determinar los posibles efectos en las propiedades de un cemento dental.

1.5.1.2 Métodos de síntesis de nHAp

Una ventaja de sintetizar nHAp es poder controlar las características morfológicas y cristalinas, la pureza, que la composición se homogénea y el tamaño de partícula, lo cual influye para lograr una buena respuesta en el medio fisiológico del cuerpo humano y ampliar el área de aplicación (69-76).

Para la síntesis de la nHAp existen arios métodos, los cuales se mencionan a continuación:

1. Sol-gel. Este método se logra por medio de temperaturas alrededor de 800 °C y se obtienen nanocristales entre 70 y 90 nm (77).
2. Microemulsión. Este método emplea la combinación de surfactantes para obtener partículas nanocristalinas entre 40 a 120 nm, al emplear un intervalo de temperature de 650 °C a 1200 °C (78).
3. Precipitación química. Es un método conocido por ser un procedimiento muy económico debido a que se emplean temperaturas muy bajas reportadas entre 5 °C a 80 °C gracias a un modificador orgánico, para la obtención de nHAp pura de 10 nm de tamaño de cristal (79).
4. Hidrólisis. Esta técnica permite la síntesis de nanopartículas de grano fino a temperaturas entre 600 °C a 800 °C (80).

5. Hidrotermal. Emplea bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) como surfactante y temperaturas entre 60 °C a 150 °C para obtener nanopartículas de tamaños que van de 10 a 100 nm (81).

1.5.2 CARBONATO DE CALCIO (CaCO_3)

El carbonato de calcio (CaCO_3) es el principal componente de la piedra caliza y es utilizado para neutralizar la acidez del suelo y suministrar calcio para la nutrición de las plantas. La piedra caliza es una roca sedimentaria común que se encuentra ampliamente distribuida en depósitos geológicos. Se ha utilizado a lo largo de la historia como material de construcción, como agente de cementación y en la agricultura para mejorar los suelos ácidos, debido a que en un suelo ácido el aluminio y el molibdeno son muy solubles y tóxicos reduciendo la capacidad de las plantas de absorción de fósforo, calcio, magnesio y molibdeno. Además de su uso en la construcción, se utiliza en diversas aplicaciones como en control de la contaminación del aire, sistemas de tratamiento de agua potable y aguas residuales, la estabilización de suelos, medicamentos, antiácidos y cosméticos.

Al igual que la hidroxiapatita, el carbonato de calcio se emplea como material de relleno. Según Garrault (82), el CaCO_3 desempeña dos funciones: como agente activador en el proceso de hidratación y como relleno, mejorando las propiedades mecánicas de dicho cemento. También se ha observado que se forman cristales de CaCO_3 después del final de la reacción de fraguado, lo que contribuye a un anclaje micromecánico, debido a la precipitación del material hacia los túbulos dentinarios (tags), mismo que contribuye a las propiedades adhesivas del cemento. Hoy en día es utilizado como material de relleno en Biodentine™. El cual además de ser un cemento para sellado radicular, es considerado como un material restaurador de dentina (83).

1.5.3 CLORURO DE CALCIO (CaCl_2)

El nombre comercial del cloruro de calcio y sus sinónimos son cloruro cálcico, dicloruro de calcio y cloruro de calcio anhidro. Uno de los riesgos durante la manipulación es que debido a que es un material granular, puede provocar irritación de las vías respiratorias, con síntomas de tos y dificultad para respirar; en piel seca puede provocar una ligera irritación o bien con soluciones fuertes puede provocar irritación grave o quemadura en piel húmeda. Si es ingerido en grandes cantidades puede causar irritación grave de la mucosa (84). Sus aplicaciones son como medicamento en enfermedades o afecciones ligadas al exceso o deficiencia de calcio en el organismo. También puede ser utilizado para mantener sanos los músculos, el sistema nervioso y el corazón. Así como antiácido para aliviar la pirosis (acidez o calor estomacal), indigestión ácida y el malestar estomacal.

De acuerdo con sus aplicaciones terapéuticas se utiliza en pacientes que requieren un aumento de calcio, como mujeres embarazadas y durante la lactancia, o cuando hay pérdida acelerada de contenido mineral óseo. También es proporcionado a personas con baja ingesta de calcio en la dieta, debido a desnutrición. Por tanto, es una alternativa para las personas con osteoporosis. Es considerado un medicamento por lo que no debe ser aplicado a personas con hipersensibilidad, hipercalcemia (hipertiroidismo, sobredosis de vitamina D, tumores desmineralizantes como plasmocitomas y metástasis ósea), hipercalciuria grave e insuficiencia renal grave (85).

También el CaCl_2 es uno de los principales aditivos en construcción civil ya que se emplea como acelerador del fraguado del cemento Portland y ayuda a mejorar las propiedades fisicoquímicas del mismo (86). Los aceleradores son aditivos químicos que permiten acelerar el fraguado y tener resistencias a la compresión iniciales y finales más altas. La mayor parte de los acelerados empleados producen un aumento de la contracción que sufre el concreto al

secarse. La mayoría de las veces se dosifican entre 1.5 y 5%, en proporción a la masa del cemento en la mezcla. Las ventajas de lo anterior son (87):

- Desarrollo de resistencia a la compresión más rápido
- Mejora de las características de terminado
- Disminución de los agrietamientos
- Cumplimiento en su función estructural más temprano

Debido a las ventajas que proporciona el CaCl_2 al cemento Portland (PC), algunos autores probaron adicionarlo al MTA, debido a su gran parecido con el PC. Uno ejemplo de ello es el estudio realizado por Abdullah, quien adicionó 10% y 15% de CaCl_2 al que denominó APC y lo comparó con ionómero de vidrio convencional y MTA. Reportó una mejora en tiempo de fraguado con el APC por la adición de el CaCl_2 , así como también reportó que no interfiere en la biocompatibilidad y osteoconductividad. También observaron que no hay cambio en la morfología del cristal del cemento. Por lo tanto, no interfiere en la composición química del cemento (88).

En otro estudio evaluaron la capacidad de sellado de tres cementos MTA, ProRoot MTA, MTA-Angelus y cemento Portland blanco, bajo la influencia del CaCl_2 en obturaciones retrógradas, tomando como control a los mismos cementos, pero sin el aditivo. Concluyeron que al adicionar CaCl_2 se mejora la capacidad de sellado del cemento (89).

Por las razones anteriormente expuestas, en el presente estudio se consideró sintetizar un cemento con agregados de hidroxiapatita y carbonato de calcio en el polvo y cloruro de calcio en el líquido, para acelerar el endurecimiento del cemento.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La odontología es una rama de la medicina encargada del cuidado bucodental dándose a la tarea de diagnosticar y proporcionar el tratamiento más adecuado según sea el problema a tratar y poder devolver la función. Para ello existen una gran variedad de materiales a la disposición del especialista. Sin embargo, la mayoría son de alto costo por ser de importación, como es el caso de los cementos para uso en odontológico o quirúrgico. El MTA es un material para reparación radicular, el cual, a pesar de ser ampliamente usado, cuenta con ciertas desventajas como endurecimiento prolongado, consistencia grumosa y el alto costo.

Por lo que surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Se podrá obtener un cemento MTA que promueva la deposición de hidroxiapatita en la superficie y disminuir el tiempo de fraguado, mediante el agregado de aditivos como: nHAp o CaCO_3 ?

JUSTIFICACIÓN

El agregado de trióxido mineral o MTA es un material desarrollado principalmente para fungir como sellador ante las comunicaciones entre el espacio pulpar y la superficie externa de los dientes. Tal es el caso de la reparación de fisuras, fracturas o perforaciones radiculares y de la furca. La complejidad de dichos casos viene dada por la dificultad de conseguir un buen sellado y de poder asegurar la estabilidad del material restaurador cuando el diente es sometido a fuerzas funcionales lo cual va de la mano con el tiempo que trade en solificar el cemento. Conforme a estas dificultades, se ve en la necesidad de desarrollar un MTA que ofrezca un un menos tiempo de fraguado evitando alterar las propiedades ya conocidas del mismo. Por lo tanto, reconociendo este problema nace la posibilidad de modificar un MTA experimental que cubra con estas necesidades y que sea de bajo costo.

OBJETIVO GENERAL

Modificar un cemento MTA con el propósito de promover actividad bioreabsorbilidad y disminuir el tiempo de fraguado.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Obtener y caracterizar la hidroxiapatita nanométrica.
2. Modificar el cemento MTA de reciente formulación con diferentes porcentajes de hidroxiapatita nanométrica.
3. Modificar el cemento MTA de reciente formulación con diferentes porcentajes de carbonato de calcio.
4. Realizar caracterización del MTA comercial como grupos de control (Biodentine™ y Angelus®).
5. Valorar y comparar tiempo de fraguado, resistencia a la compresión, radiopacidad, pH, cambio dimensional y presencia de biomineral (apatita) en la superficie del MTA de reciente formulación modificado y del MTA comercial.

HIPÓTESIS

Hi: Los aditivos, nHAp y CaCO_3 , agregados al cemento MTA modificado, darán lugar a un material que promueva la formación de hidroxiapatita y la disminución del tiempo de fraguado.

H0: Los aditivos, nHAp y CaCO_3 , agregados al cemento MTA modificado, no darán lugar a un material que promueva la formación de hidroxiapatita ni disminución del tiempo de fraguado.

Capítulo 2

Material y Método

2.1 MATERIAL

2.1.1 REACTIVOS

- Cemento Biodentine™ LOT B06346
- Cemento blanco MTA-Angelus® LOT 30327
- Dióxido de silicio (SiO₂) Sigma-Aldrich LOT # 060M0082V CAS 1408-60-7, pureza de 99%
- Óxido de aluminio (Al₂O₃) Sigma-Aldrich LOT #SZBD0300V CAS 1344-28-1, pureza de 98%
- Carbonato de calcio (CaCO₃) BAKER LOT #508332, pureza de 99.8%
- Óxido de zirconio (ZrO₂) Riedel de Haën LOT 82860
- K₂HPO₄ • 3H₂O SIGMA
- CTAB marca SIGMA
- Metilcelulosa SIGMA-ALDRICH LOT #079K0054V CAS9004-67-5, viscosidad de 4000 cP
- KOH concentración al 1 molar
- CaCl₂ concentración al 1 molar FLUKA analytical LOT #BCBL4975V CAS 10043-52-4
- Alcohol etílico absoluto R.A. REPROQUIFIN, CAS 64-17-5, CAT: R-034
- Agua desionizada HYCEL reactivos químicos LOT #271 200, CAS 7738-18-5, CAT 6543
- Medio de fluido estimulado corporal (SBF) pH 7.4 sintetizado en el laboratorio.

2.1.2 EQUIPOS

- Horno Thermolyne Type 54500 High Temperature Tube Furnace
- Horno a 120°C y 90°C (diseñado en el laboratorio de Cristalofísica y Materiales Naturales, IFUNAM)
- Variac marca Powerstart®. Variable autotransformer
- Multímetro con termopar marca Amprobe 35CP-A
- Parrilla a 50°C marca Linberg®
- Agitador mecánico marca Truper®
- Campana de extracción
- Balanza analítica marca OHAUS Analytical Plus d=0.1 g
- FT-IR Nicolet Nexus 6700 Spectrometer
- Microscopio electrónico de barrido (SEM) modelo JSM 5600 LV
- Microscopio electrónico de transmisión (TEM) modelo JEOL JEM 2010 FEG
- Difractómetro de Rx Brucker D8-Discover BRUKER
- Unidad de Rx capaz de operar a 65 ± 5 kV.
- Calibrador de radiopacidad que consistirá de un escalonado de aluminio, de 50 mm de largo y 20 mm ancho, contando con un espesor de 0.5 mm a 9.0 mm (en intervalos de 0.5 mm).
- Estufa Felisa® a 37°C.
- Potenciómetro marca Hanna Instruments H8314
- Cámara Nikon S550X

2.1.3 MATERIAL GENERAL

- Lija de grano 600.
- 3 vasos de precipitado
- Espátula para polvos

- Filtros marca Whatman® Schleicher and Schuell. High retention of finest particules, círculos de 110 mm de diámetro. Tamaño de poro 2.7 μm .
- Dispensador de gotas
- Embudo grande
- Termómetro
- Mortero y pistilo
- Soporte universal con 3 pinzas de sujeción
- Parafilm "M" marca Pechiney Plastic Packaging LOT 3110
- Mortero y pistilo de Ágata
- Tubos eppendorf marca EPPENDORF LOT A143559J
- Papel aluminio
- Guantes de látex
- Crisol de platino y placa de acero inoxidable
- Norma ISO 6876:2001
- Tamizador de 300 mesh
- Moldes de acero inoxidable de 10 mm de diámetro interno y 2 mm de espesor.
- Molde cilíndrico de plástico o acero inoxidable con medidas de 6 mm de diámetro y 14 de longitud.
- Molde circular de acero inoxidable con un diámetro interno de 10 ± 0.1 mm y de altura 1 ± 0.01 mm.
- Gradilla de aluminio (con pureza de aprox. 98% con un máximo de contenido de cobre de 0.1% y un máximo de contenido de hierro de 1%), deberá tener 50 mm de longitud x 20 mm de ancho, teniendo un espesor de 0.5 mm a 9.0 mm, con escalonamientos de 0.5 mm.
- Molde de 6 mm de diámetro interno y una altura de 12 mm, de acero inoxidable.
- Molde circular de acero inoxidable con un diámetro interno de 10 ± 0.1 mm y de altura 1 ± 0.01 mm.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Síntesis de hidroxiapatita nanométrica (nHAp)

Para la síntesis de nHAp se siguió el protocolo utilizado por Vázquez-Hernández (91), cuyo procedimiento se menciona a continuación (Figura 2).

1. Se pesaron 0.5477g de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ y 0.4373g de CTAB, y se disolvieron en 50 mL de agua desionizada.
2. Se ajustó el pH a 12.0 con KOH 1M. Para preparar KOH en 50 mL a 1M, se colocaron 2.8 g KOH en 50 mL de agua destilada.
3. A la solución ajustada a pH 12 se le incorporó la solución de 40 ml de $CaCl_2$ 1M diluida en 20 ml de agua desionizada, mediante el dispensador de líquido, previamente mencionado, a una velocidad de 1 gota cada 30 segundos, con agitación suave.
4. Al término de la agitación se introdujo la solución al horno, previamente calentado, a temperatura de $120^\circ C \pm 3^\circ C$ durante 12 h.
5. Transcurrido el tiempo, se extrajo la muestra del horno y se realizaron 3 lavados con alcohol etílico absoluto y 3 lavados con agua desionizada por filtración en un filtro Whatman® con tamaño de poro de 2.7 μm (Figura 2c).
6. Terminado el filtrado del último lavado con agua desionizada, la muestra fue llevada al horno, previamente calentado a $90^\circ C$ durante un lapso de 24 h.
7. Posteriormente, se realizó la molienda de la muestra durante de 5 minutos, mediante un mortero con pistilo de ágata. Los movimientos fueron circulares de izquierda a derecha de manera aleatoria. Al tener el polvo de nHAp se colocó en un recipiente herméticamente cerrado.

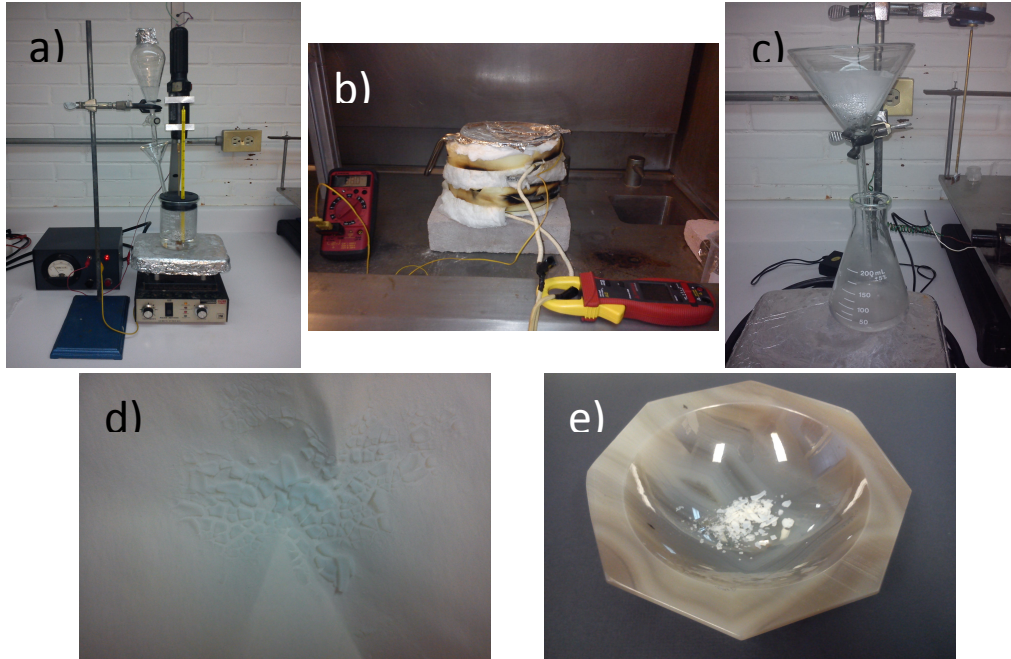


Figura 2. Síntesis de hidroxiapatita nanométrica. a) Incorporación de CTAB a la solución de $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ y $CaCl_2$, b) tratamiento térmico a $120\text{ }^\circ\text{C}$, c) lavados con agua desionizada y alcohol etílico, d) hidroxiapatita recién extraída del horno a $90\text{ }^\circ\text{C}$ y e) mortero de ágata con hidroxiapatita.

8. Este procedimiento se siguió para realizar varios lotes los cuales fueron analizados para verificar la cristalinidad, morfología y tamaño de la partícula.
9. Los lotes HAp1, HAp2 y HAp6 fueron descartadas desde un inicio debido a que sufrieron algún problema durante la síntesis.
10. Los lotes subsiguientes (HAp3, HAp4) fueron analizados con XRD.
11. A partir de los lotes HAp3, HAp4 se colocó el equipo en una zona más aislada del resto de las personas para obtener el lote HAp5. Al obtener los resultados esperados y tener la fase de hidroxiapatita se continuó con la síntesis de los lotes HAp7, HAp8. Y se fueron analizando con Raman, FT-IR, TEM y XPS.

12. Una vez teniendo reproducibilidad en la síntesis se prosiguió a sintetizar mas lotes para obtener la cantidad necesaria para emplearla como aditivo del cemento experimental.

2.2.2 Síntesis del cemento de Mineral Trióxido Agregado (MTA)

1. Para la síntesis de MTA se realizó el balance químico, obteniendo las siguientes cantidades de cada reactivo para preparar 10 g de “clinker” (Tabla 2):

Tabla 2. Cantidades en gramos para la síntesis del MTA experimental.

Reactivo	Masa (g)
SiO₂	1.78
Al₂O₃	0.12
CaCO₃	8.10

2. Los componentes que se muestran en la Tabla 3 se mezclaron en un mortero con pistilo de ágata, previo a ser llevado al horno de cocción, para lo cual se utilizó un crisol de platino, mismo que fue llevado, junto con los componentes, al horno marca Thermolyne Type 54500 a 1400°C durante varios ciclos de temperatura (Tabla 3 y Figura 3a).

Tabla 3. Temperatura y tiempo que se empleó para la síntesis del clinker.

Lote	Clinker empleado	Temperatura (°C)	Tiempo (h)
Lote1	Clinker experimental con cocción	1350	8
Lote1h2	Clinker experimental con cocción adicional	1350	24
Lote1h3	Clinker experimental con cocción adicional	1350	48
Lote2	Clinker experimental con cocción	1400	48
Lote3	Clinker experimental con cocción	1400	24
Lote4	Clinker experimental con cocción	1400	8
Lote5	Clinker experimental con cocción	1350	25
Lote6	Clinker experimental con cocción con choque térmico a 1250 °C.	1350	8.5

3. Para evitar el choque térmico al momento de extraer el clinker del horno se disminuyó paulatinamente la temperatura hasta llegar a temperatura ambiente (Figura 3b). Después de extraerlo del horno, el clinker fue molido en el mortero de ágata (Figura 3c) y tamizado a 300 mesh para homogenizar el tamaño de partícula.

3.1 El lote Lote6 se realizó de forma diferente, ya que se empleó un horno previamente programado a 1450 °C durante 8 h y, se le dio un choque térmico de 1250 °C a temperatura ambiente (Figura 3d y 3e).

4. Una vez obtenido el clinker, fue analizado por difracción de rayos x (XRD), espectroscopía Raman y microscopía electrónica de barrido (SEM).

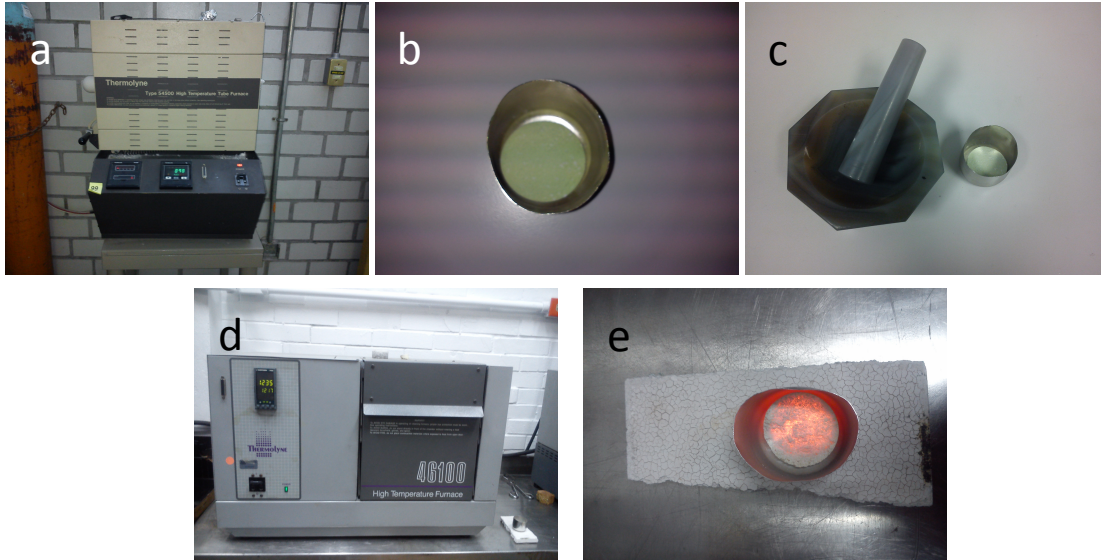


Figura 3. Síntesis de Clinker. a) Horno Thermolyne a 1400 °C, b) muestra de clinker recién extraída del horno después del tiempo de horneado y enfriado, c) mortero y pistilo de ágata para realizar la molienda del clinker, d) horno Thermolyne programable para llegar a 1450°C para realización del Lote 6, e) recipiente de platino y muestra extraída a 1400 °C.

2.2.3. Síntesis del catalizador del cemento

1. Se probó el empleo de agua desionizada, destilada y agua del suministro público para el fraguado del cemento.
2. Posteriormente, se realizaron varias formulaciones con agua desionizada o agua destilada (agua dest), cloruro de calcio (CaCl_2) a diversas cantidades y metilcelulosa (MC). Se muestra en la Tabla 5.
3. Para probar cada una de las formulaciones se pesaron 0.1 g de clinker al que se le agregaron 0.03 ml de catalizador (proporción 3:1, polvo:líquido) y a otros grupos se les agregó 0.025 ml de catalizador (proporción 4:1, polvo:líquido). Se mezclaron ambos componentes con una espátula de acero inoxidable sobre una loseta de vidrio con movimientos revolventes, durante un minuto.

4. Se realizó la prueba de fraguado y se registró el tiempo con un cronómetro en el momento en el que ya no se formaba marca alguna en la superficie del cemento.
5. Conforme se observaba la consistencia del clinker y la rapidez de fraguado, se fueron descartando las formulaciones.
6. Las formulaciones que se eligieron para terminar de probar el catalizador fueron la F26 y F29, de las cuales, el catalizador que se empleó, para la realización de las pruebas físicas y mecánicas, fue la formulación F29 con proporción 1:3:1 (agua desionizada : cloruro de calcio 1M : metilcelulosa). En la Tabla 5 se muestran todas la formulaciones de catalizador realizadas a lo largo de este estudio.
7. Una vez elegida la formulación del catalizador se prosiguió con la caracterización del cemento experimental sin radiopacador y de los cementos control (Tabla 5).

Tabla 4. Formulaciones de catalizador realizadas para el fraguado del clinker. Donde MC (metilcelulosa 2%), CaCl_2 (cloruro de calcio 1M), A dest (agua destilada).

Formulación	Composición	Proporción (wt)
F1	A. desionizada/ CaCl_2 (1M)	1/1
F2	A. desionizada/ CaCl_2 (1M)	1/2
F3	A. desionizada/ CaCl_2 (1M)	1/3
F4	A. desionizada/ CaCl_2 (1M)	2/1
F5	A. desionizada/ CaCl_2 (1M)	2/3
F6	A. desionizada/ CaCl_2 (1M)	3/1
F7	A. desionizada/ CaCl_2 (1M)	3/2
F8	CaCl_2 (1M)/MC	2/1
F9	CaCl_2 (1M)/MC	2/3
F10	A. dest/ CaCl_2 (1M)	1/1
F11	A. dest/ CaCl_2 (1M)	1/2
F12	A. dest/ CaCl_2 (1M)	1/3
F13	A. dest/ CaCl_2 (1M)	2/3
F14	A. dest/ CaCl_2 (1M)	3/2
F15	Agua MQ/ CaCl_2 (1M)	1/2
F16	Agua MQ/ CaCl_2 (1M)	1/3
F17	Agua MQ/ CaCl_2 (1M)	2/3
F18	CaCl_2 (1M)/MC	1/2
F19	CaCl_2 (1M)/MC	1/3
F20	CaCl_2 (1M)/MC	3/2
F21	CaCl_2 (1M)/MC	3/1
F22	CaCl_2 (1M)/MC	2/1
F23	CaCl_2 (1M)/MC	4/1
F24	CaCl_2 (1M)/MC	5/1
F25	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	1/1/1
F26	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	1/2/1
F27	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	2/1/1
F28	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	2/2/1
F29	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	1/3/1
F30	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	3/2/1
F31	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	3/3/1
F32	A. dest/ CaCl_2 (1M)/MC	1/4/1

Tabla 5. Grupos de estudio.

Grupos	Etiqueta
Biodentine™	Biod
MTA-Angelus™	MTA-Ang
Cemento experimental sin relleno y sin radiopacador	Clinker
Cemento experimental sin relleno con radiopacador	E20Z
Cemento experimental con 5% de HAp	E20Z5H
Cemento experimental con 15% de HAp	E20Z15H
Cemento experimental con 5% de CaCO ₃	E20Z5C
Cemento experimental con 15% de CaCO ₃	E20Z15C

A continuación se describen las pruebas que fueron empleadas para la caracterización de los grupos de estudio empleados para la realización de este trabajo.

2.2.4 Pruebas de caracterización

2.2.4.1 Difracción de rayos X (XRD)

Los especímenes de Biodentine™, MTA Angelus™, hidroxiapatita, CaCO₃, clinker y cada uno de los reactivos utilizados para la realización del clinker fueron analizados en un Difractómetro de Rayos-X “Bruker AXS”, con un tubo de Rayos X de Cu-K α .

Los datos obtenidos se analizaron en un software para la identificación de picos llamado “*Match*”. Posteriormente se realizó la comparación de los picos con base de datos “*Powder Diffraction File*” (Powder Diffraction File, International Centre for Diffraction Data. Pennsylvania, U.S.A., 2007), pertenecientes al “International Center of Diffraction Data” (ICDD) para la identificación de fases cristalinas.

2.2.4.2 Microscopía electrónica de barrido/Espectroscopía por dispersión de energía de rayos X (SEM-EDS)

La caracterización se realizó en dos tiempos: cemento en polvo y cemento mezclado con catalizador a tres tiempos de fraguado. Los especímenes en polvo (HAp, Biod, MTA-Ang, clinker) se colocaron sobre barriles de aluminio con cinta de carbono. Los especímenes fraguados, se mezclaron previamente con el respectivo catalizador. Posteriormente, se fabricaron pastillas de 1 cm de diámetro y se dejaron fraguar durante 1 h a 37 °C y 95 % de humedad relativa. Transcurrido el tiempo, se extrajeron de los moldes y se le depositó una película de oro por pulverización catódica (sputtering) en la mitad de la superficie durante 5 minutos, empleando cinta carbono colocada solo en una mitad de la muestra, que posteriormente se retiró para que fuera posible obtener tanto imágenes como EDS de cada muestra.

2.2.4.3 Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HRTEM)

Las muestras de hidroxiapatita fueron analizadas en un microscopio electrónico de transmisión de alta resolución JEOL JEM 2010 (FEG, 200 kV, resolución 1.9 Å). Las muestras de HAp fueron colocadas en polvo en rejillas de cobre de 300 mesh recubiertas con una capa de carbono y almacenadas al vacío.

2.2.4.4 Espectroscopía RAMAN

Se utilizó un espectrometro μ -Raman (Raman, Thermo Scientific XRD Raman Microscope) como análisis complementario de la prueba de XRD. Los especímenes se colocaron en polvo (HAp, Biod, MTA-Ang y E20Z) y en pastilla (cemento fraguado: 24 y 72 horas, 7, 14, 21 y 28 días) sobre un portamuestras de vidrio y se analizaron con un láser de 563 nm de Argón.

2.2.4.5 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

Para la realización de las pastillas se utilizó 1% del material (clinker) y se mezcló con bromuro de potasio (KBr) en polvo, los cuales se molieron en un mortero de ágata para homogenizar ambos materiales. Posteriormente, el polvo fue colocado en una pastilladora, la cual fue sometida a una prensa hidráulica, realizando una precarga de 100 psi por 30 s y después 3000 psi por 90 segundos. Una vez fabricada la pastilla, se colocó en un porta pastillas y fue llevada a un equipo Nicolet Nexus FTIR 760 para poder realizar la lectura de 400 a 4000 cm^{-1} .

2.2.4.5 Espectroscopía de fotoelectrones inducidos por rayos X (XPS)

El escaneo de las muestras se realizó por medio de XPS de la marca Thermo Scientific K-alpha con 3 KeV, a 3 cm de distancia de la muestra, en un portamuestras de acero inoxidable. Para cada muestra se registraron 3 puntos y se promedió el resultado. Se tomaron espectros elementales de alta resolución para identificar el porcentaje correspondiente a cada elemento presente en la muestra.

2.2.5 Pruebas físico-mecánicas

La manipulación del cemento se realizó de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, de la manera siguiente:

1. Biod (Figura 4a): Se agregaron 5 gotas de catalizador (con peso aproximado de 0.03955 c/gota) en una cápsula con 0.7 g de polvo. Para realizar la mezcla se utilizó un amalgamador a 4200 rpm durante 30 segundos. Se abrió la cápsula y la mezcla se llevó al molde.

2. MTA-Ang (Figura 4b): En una loseta de vidrio se colocó una medida de polvo con una gota de catalizador. Se mezcló por 15 segundos con la espátula recomendada por la Norma ISO 6876:2001. Terminada la mezcla se llevó a los moldes de acero inoxidable.
3. E20Z (Figura 4c): Se pesó 0.1 g de polvo y se le agregaron 0.025 ml de catalizador (0.025 g). Se mezcló en una loseta de vidrio con movimientos revolventes durante 1 minuto y posteriormente, se llevó la mezcla a los moldes de acero inoxidable.

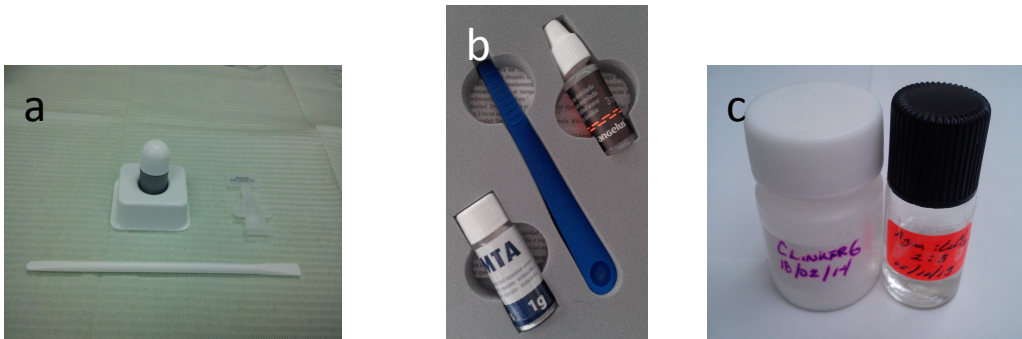


Figura 4. Cementos comerciales y experimental. a) Cemento Biod, b) Cemento MTA-Ang, c) E20Z.

2.2.5.1 Tiempo de fraguado

Para llevar a cabo la prueba se analizaron 10 muestras por cada grupo (Tabla 6), para lo que se empleó un molde de acero inoxidable de 10 mm de diámetro interno y 2 mm de espesor. La preparación de las muestras requirió previamente que los moldes y el equipo de fraguado, el cual cuenta con una aguja indentadora Gilmore (penetrador con peso de 100 ± 0.5 g y una punta plana de 2 ± 0.1 mm de diámetro), se acondicionaran en una cámara ambientadora a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ y 95% rH, 24 horas previo a su uso, tal y como establece la Norma ISO 6876:2001 (72) (Figura 5e y g).

Posteriormente, el cemento se manipuló de acuerdo con las recomendaciones del fabricante o bien, como una función de la proporción P/L (polvo:líquido) (Figura 5a, b, c y d). Una vez mezclado el cemento, fue llevado a los moldes. Cada molde con muestra fue llevado a la cámara ambientadora, se bajó cuidadosamente la aguja penetradora sobre la superficie del cemento y se registraron las penetraciones cada 5 minutos. Se limpió la aguja penetradora entre cada penetración, y se repitió cuantas veces fuera necesario hasta que ninguna marca se observara a simple vista (Figura 5h).

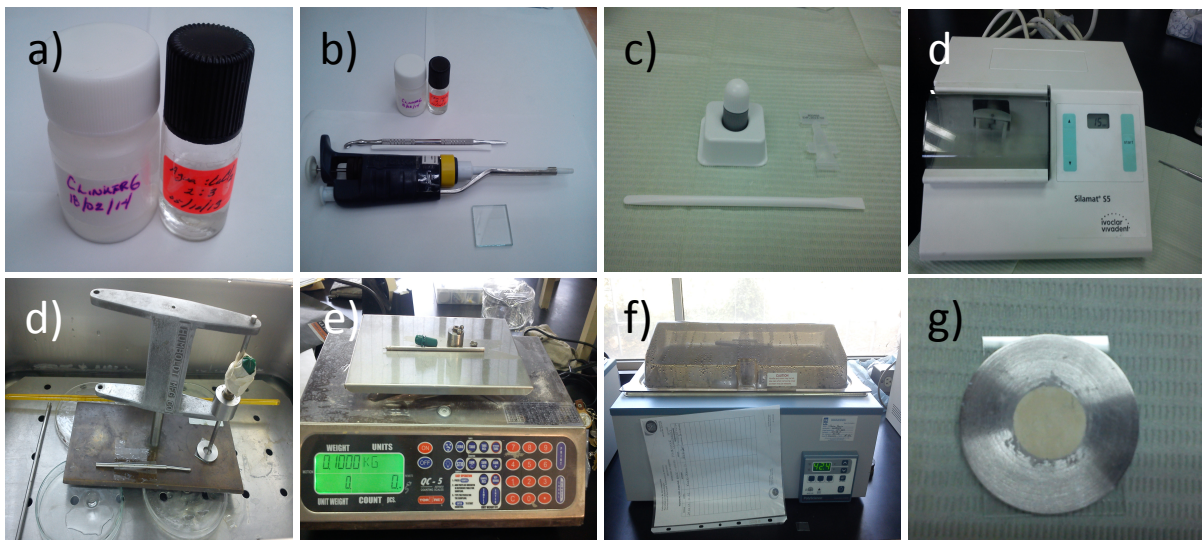


Figura 5. Prueba de tiempo de fraguado. a) Clinker y catalizador del cemento experimental, b) loseta y micropipeta para espatular y dispensar el catalizador, c) presentación de Biod, d) amalgamador para el mezclado de Biod, e) equipo de fraguado dentro de la cámara ambientadora, e) cámara ambientadora a 37°C y 95 de humedad, f) molde y muestra después de realizada la prueba, g) equipo para la prueba de fraguado con una punta plana y un peso de 100 g. c) Colocación del cemento en el hacedor de muestras.

2.2.5.2 Resistencia a la compresión

Se utilizaron moldes de acero inoxidable de 6 ± 0.05 mm de altura por 3 ± 0.01 mm de diámetro para la elaboración de las muestras cilíndricas. El cemento se manipuló de acuerdo a lo que menciona el fabricante, en el caso de los cementos comerciales o bien dependiendo de la proporción P/L ajustada para la manipulación del cemento experimental (Figura 6a, b, c, y d).

El cemento fue colocado en el molde evitando que se formaran burbujas. En los extremos del molde se colocaron losetas de vidrio de 25 x 75 x 1 mm y se utilizaron prensas Toolcraft® para evitar la expansión del cemento. Todo fue llevado a la cámara ambientadora durante 24h (Figura 6e, f, y g). Después de este tiempo se retiraron las muestras y se lijaron cuidadosamente los extremos para eliminar excedentes y dejar los extremos planos. Una vez listas las muestras fueron extraídas de los moldes y colocadas en viales con agua desionizada durante 24, 7, 14, 21 y 28 días y almacenadas a $37\pm 1^\circ\text{C}$ en la estufa Felisa® (Figura 6h). Transcurrido el tiempo para la realización de la prueba, se extrajeron las muestras y fueron llevadas a la máquina universal de pruebas mecánicas INSTRON®, para ser sometidas, hasta la ruptura, a un ensayo de compresión a velocidad de 1 mm/min (Figura 6i, j y k).

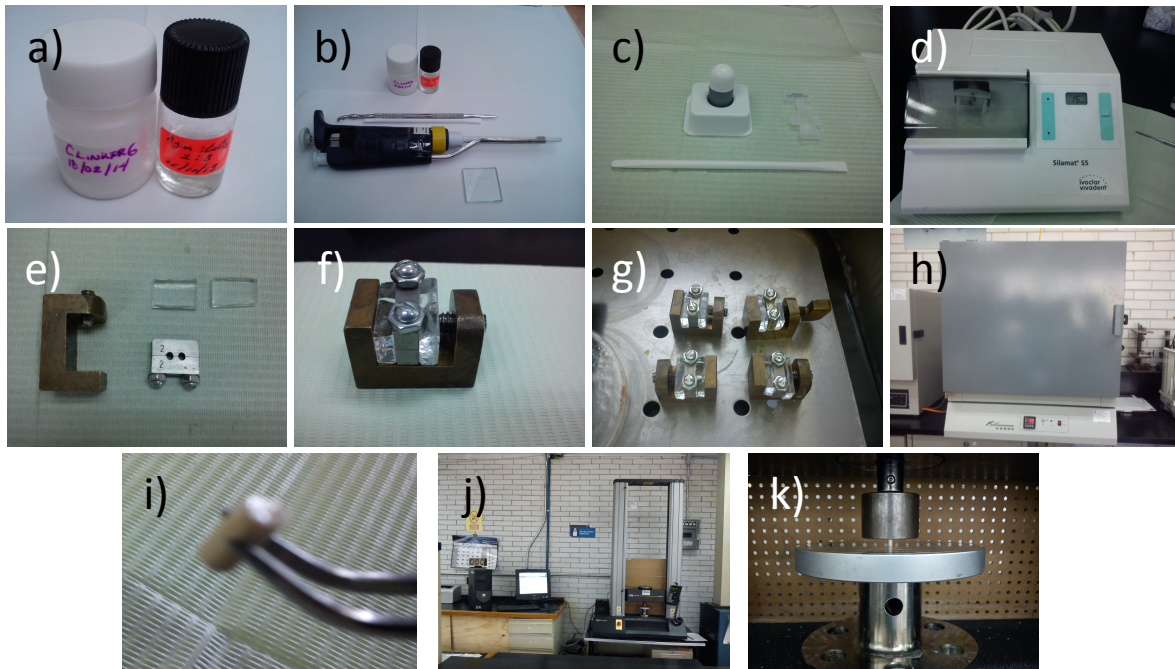


Figura 6. Resistencia a la compresión. a) Clunker y catalizador del cemento experimental, b) loseta, espátula y micropipeta para mezclar y dispensar el catalizador, c) presentación de Biod, d) amalgamador para el mezclado de Biod, e) prensa, molde y losetas para preparar las muestras, f) muestra de cemento prensada, g) muestras dentro de la cámara ambientadora a 37°C y 95 de humedad, h) almacenamiento de muestras a 37°C durante 24, 7, 14, 21 y 18 días, i) registro de altura y diámetro de la muestra, j) máquina universal de pruebas Instron y k) realización de la prueba resistencia a la compresión hasta la ruptura.

2.2.5.3 Cambio dimensional

Las muestras fueron realizadas con el mismo procedimiento y moldes que para la prueba de resistencia a la compresión. Los moldes se atemperaron a 37°C con humedad relativa del 95% durante 1 h, previo a realizar la prueba (Figura 7a, b, c, d, e, f, y g). Las muestras se llevaron a la cámara ambientadora a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 95% de humedad durante 24 h. Pasado este tiempo las muestras fueron lijadas de los extremos con una lija de grano 600 y retiradas de los moldes. Posteriormente, se realizó la primera medición a lo largo del eje longitud de las muestras, con ayuda de un tornillo micrométrico (Figura 7k), a la que se le llamó L_0 . Posterior a la primera lectura, las muestras fueron sumergidas en agua desionizada y llevadas a un horno Felisa a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ (Figura 7h e i). Los tiempos a los que se realizaron las lecturas, fueron a: 24, 7, 14, 21 y 28 días.

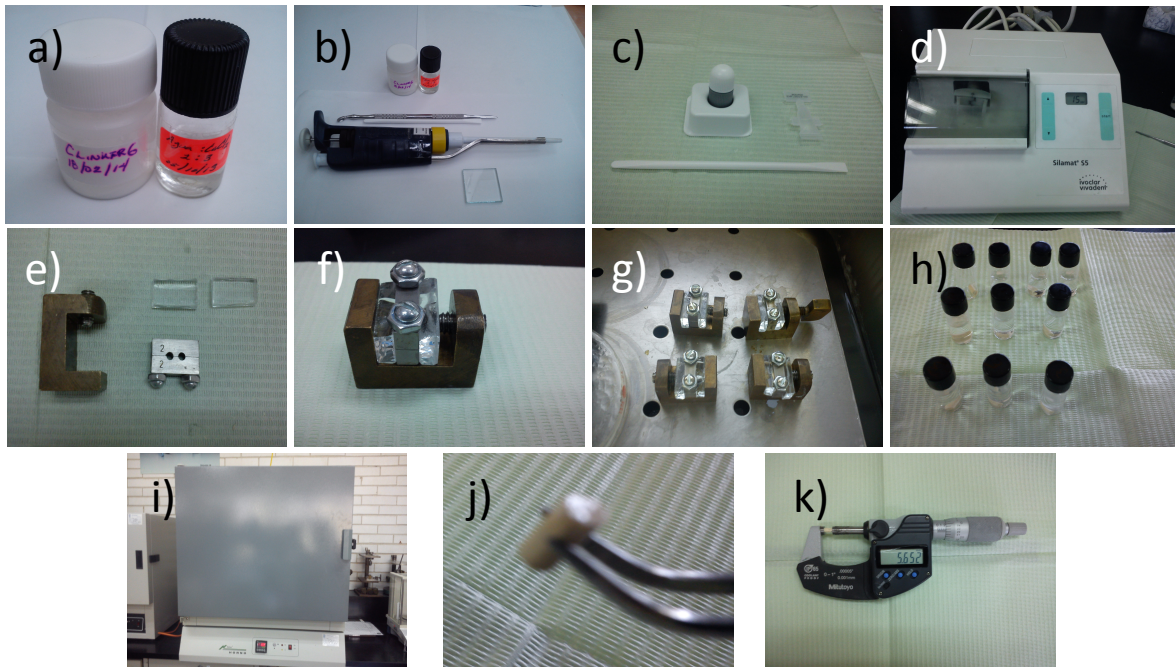


Figura 7. Cambio dimensional. a) Clinker y catalizador del cemento experimental, b) Loseta, espátula y micropipeta para mezclar y dispensar el catalizador, c) Presentación de Biod, d) Amalgamador para el mezclado de Biod, e) Prensa, molde y losetas para preparar las muestras, f) Muestra de cemento prensada, g) Muestras dentro de la cámara ambientadora a 37°C y 95% de humedad, h) Almacenamiento de muestras en agua desionizadas, i) Muestras dentro de horno Felisa a 37°C durante 24h, 7, 14, 21 y 28 días, j) Muestra cilíndrica y j) Medición de la muestra con un tornillo micrométrico marca Mitutoyo para las lecturas de cambio de longitud.

2.2.5.5 Prueba de radiopacidad

Para esta prueba se requirió un molde circular de acero inoxidable con un diámetro interno de 10 ± 0.1 mm y de altura 1 ± 0.01 mm. Las muestras de cemento se realizaron de acuerdo con las recomendaciones del fabricante y según las proporciones para el cemento experimental (Figura 8a, b y c). Las muestras fueron acomodadas en una radiografía oclusal y fueron llevadas al equipo de Rx con tubo de tungsteno el cual opera a 65 ± 5 kV con longitud de onda de 0.2138 \AA , a una distancia de 300 mm de separación del cono y la película radiográfica, desde el punto focal (Figura 8d).

También se utilizó una gradilla de aluminio (con pureza de aprox. 98%, con un máximo de contenido de cobre de 0.1% y un máximo de contenido de hierro de 1%), de 50 mm de longitud x 20 mm de ancho x 0.5 mm a 9.0 mm de espesor, con escalonamientos de 0.5 mm, con una exactitud de $10 \mu\text{m}$ (Figura 8d). El análisis para la medición radiográfica se realizó con la ayuda del programa ImageJ, con el que se midió la densidad radiográfica (Figura 8f y g).

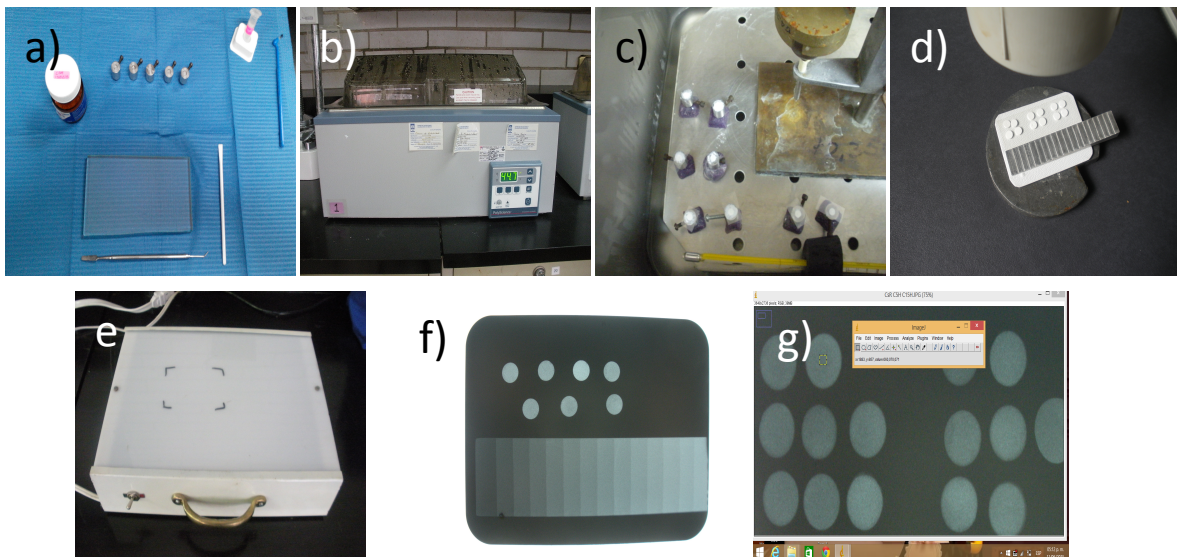


Figura 8. Radiopacidad. a) cemento y material necesario para realizar la prueba, b) cámara ambientadora, c) muestras dentro de la cámara ambientadora a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ y 95% de humedad, d) radiografía con gradilla de aluminio lista para la toma de la radiografía, e) negatoscopio para observar las radiografías dentro de un cuarto oscuro, f) radiografía oclusal de un grupo de cemento MTA y g) programa ImageJ empleado para medir la saturación de grises.

2.2.5.6 Prueba de pH

La manipulación del cemento se realizó de acuerdo a las recomendaciones del fabricante y las proporciones adecuadas para el cemento experimental. La mezcla del cemento fue compactada dentro de un molde de acero inoxidable con dimensiones de 10 mm de diámetro y 1 mm de espesor. Dichos moldes fueron colocados sobre una placa de vidrio. Posteriormente, las muestras fueron llevadas a una temperatura de 37°C y 95% de humedad durante 1 h. Transcurrido el tiempo se desmoldaron y se colocaron en recipientes herméticamente cerrados con agua desionizada con pH=6.7 y llevados a la estufa Felisa a 37±1°C. El procedimiento se muestra en la Figura 9. Las mediciones de pH se realizaron a los siguientes tiempos: 24 horas, 7, 14, 21 y 28 días.

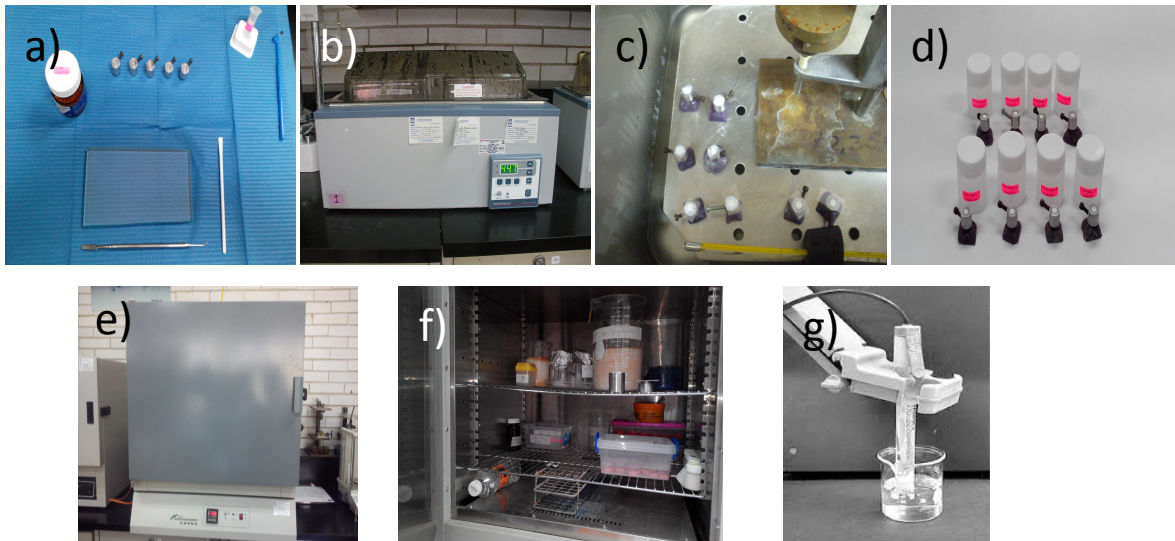


Figura 9. Prueba de pH. a) Cemento y material necesario para realizar la prueba, b) cámara ambientadora, c) muestras dentro de la cámara ambientadora a 37°C y 95 % de humedad, d) frascos con agua desionizada herméticamente cerrados, e y f) estufa Felisa para almacenar muestras durante 24 horas, 7, 14, 21 y 28 días, g) medición del pH.

2.2.5.7 Solubilidad

Las muestras se realizaron en moldes de acero inoxidable con dimensiones de 10 mm de diámetro y 1 mm de espesor y se llevaron a la cámara ambientadora a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ y 95% de humedad relativa durante 1 h. Pasado el tiempo se extrajeron y se colocaron dos muestras sin que se tocaran entre ellas o tocaran las paredes del frasco de vidrio. Se adicionaron 50 ml de agua grado tres y se cubrieron los frascos, de acuerdo como lo marca la Norma ISO 6876 (91). Los frascos fueron almacenados por un tiempo de 24 horas a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ en la estufa FelisaTM (debido al corto tiempo de fraguado de los tres cementos), y después se removieron los especímenes. Se lavaron los especímenes con 2 ó 3 ml de agua fresca captándola en los frascos. Y se examinó el agua de lavado para determinar si había pérdida de material. Se eliminó el agua de los frascos a $110 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y se secaron los frascos dentro de un desecador para ser pesarlos (exactitud de 0.001 g). Se registraron las diferencias entre el peso original y el final. Esta diferencia se calculó como un porcentaje de la masa original combinada de los dos especímenes (cercano a 0.1%).

Para considerarse que la prueba fue exitosa, no debe exceder más del 3% de fracción de masa o existir evidencia de desintegración al examinarlo de manera visual. El procedimiento se muestra en la Figura 10.

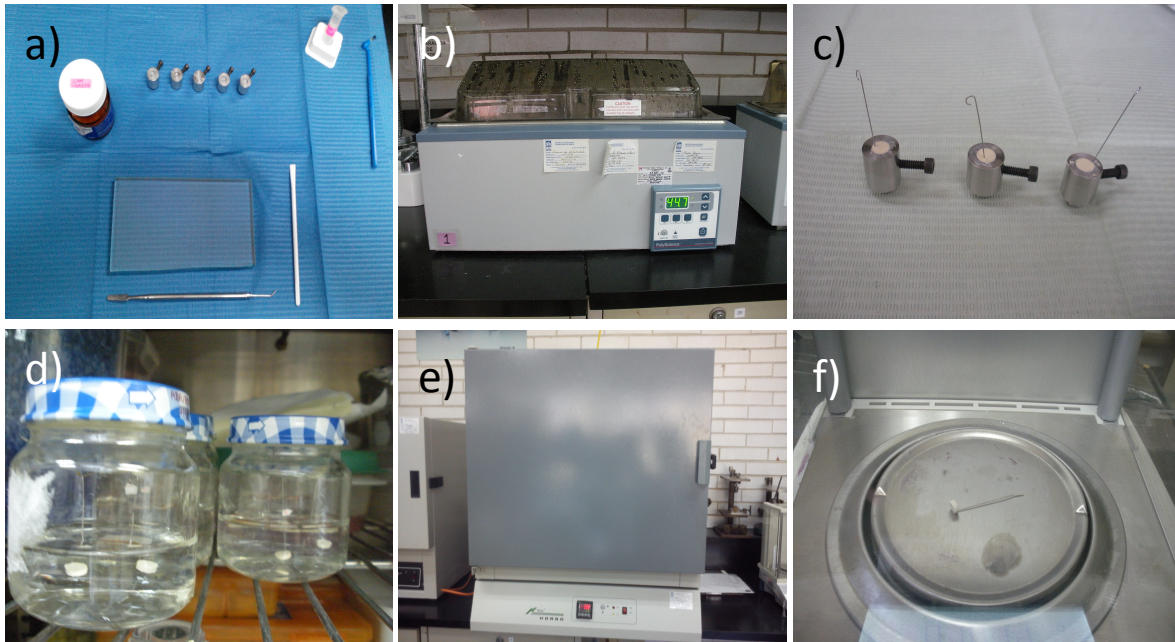


Figura 10. Prueba de solubilidad. a) Cemento y material necesario para realizar la prueba, b) Cámara ambientadora, c) Muestras para la realización de la prueba, d) Almacenamiento de las muestras suspendidas en agua desionizada dentro de frascos de vidrio a 37°C y 95 % de humedad, e) Estufa Felisa para almacenar muestras durante 24 horas, f) Pesaje de las muestras en balanza analítica.

2.2.5.8 Prueba de reabsorbilidad (deposición de HAp en la superficie del cemento)

Se preparó la solución fisiológica corporal (SBF por sus siglas en inglés) mediante el procedimiento establecido por Kokubo (92) y se almacenó a $5 \pm 1^\circ\text{C}$. Se realizaron 7 muestras, una por cada grupo, por medio de un molde de acero inoxidable con dimensiones de 10 mm de diámetro y 1 mm de espesor. Se colocaron en una cámara ambientadora a 37°C y 95% de humedad durante 1 h. Transcurrido el tiempo, los especímenes fueron sumergidos en frascos con 20 ml de SBF, cada uno, y se mantuvieron en agitación constante durante 28 días a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ en una incubadora (Figura 11). Transcurrido el tiempo, se lavaron las muestras y llevadas a análisis de difracción de rayos X con haz rasante.

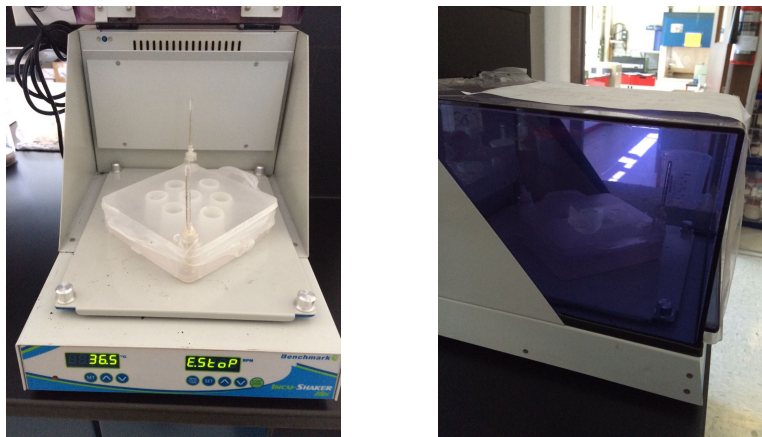


Figura 11. Incubadora con agitación programada a 37°C para la realización de las prueba de solubilidad.

Capítulo 3

Resultados

3.1 CARACTERIZACIÓN DE HAP

3.1.1 XRD

Se obtuvieron los espectros de los reactivos para realizar la síntesis de HAp, con la finalidad de determinar si contenían fases cristalinas de impurezas. Posteriormente, se analizaron los difractogramas del polvo obtenido de la síntesis de HAp de los primeros lotes. Se muestra en la Figura 12.

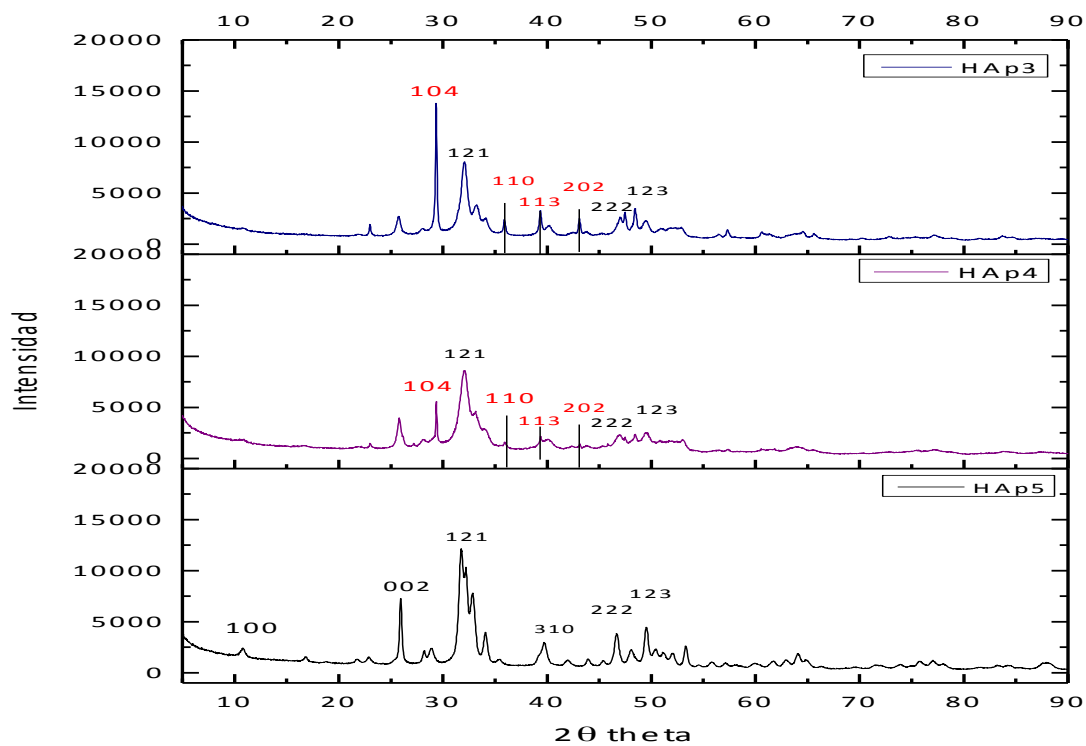


Figura 12. Difractogramas de las muestras obtenidas de la síntesis de HAp. Los índices de reflexiones en negro muestran dos fases cristalinas de HAp. Los índices de reflexiones en rojo muestra la ausencia de la segunda fase de CaCO_3 en HAp5.

Los espectros de las muestras HAp3 y HAp4 muestran una fase extra a la fase de HAp. Los picos más intensos de esta segunda fase se localizan en los ángulos 29.404 , 35.964 , 39.399 y 43.143° 2θ correspondientes a la fase de

CaCO_3 . Posterior a la modificación del procedimiento de síntesis HAp, se observó la ausencia de los picos pertenecientes a la fase de CaCO_3 quedando solamente la fase de HAp (muestra HAp5).

Para confirmar el resultado anterior, se repitió el procedimiento de la síntesis de la HAp. El difractograma de la muestra HAp7 se muestra en la Figura 13, donde se observan los mismos picos.

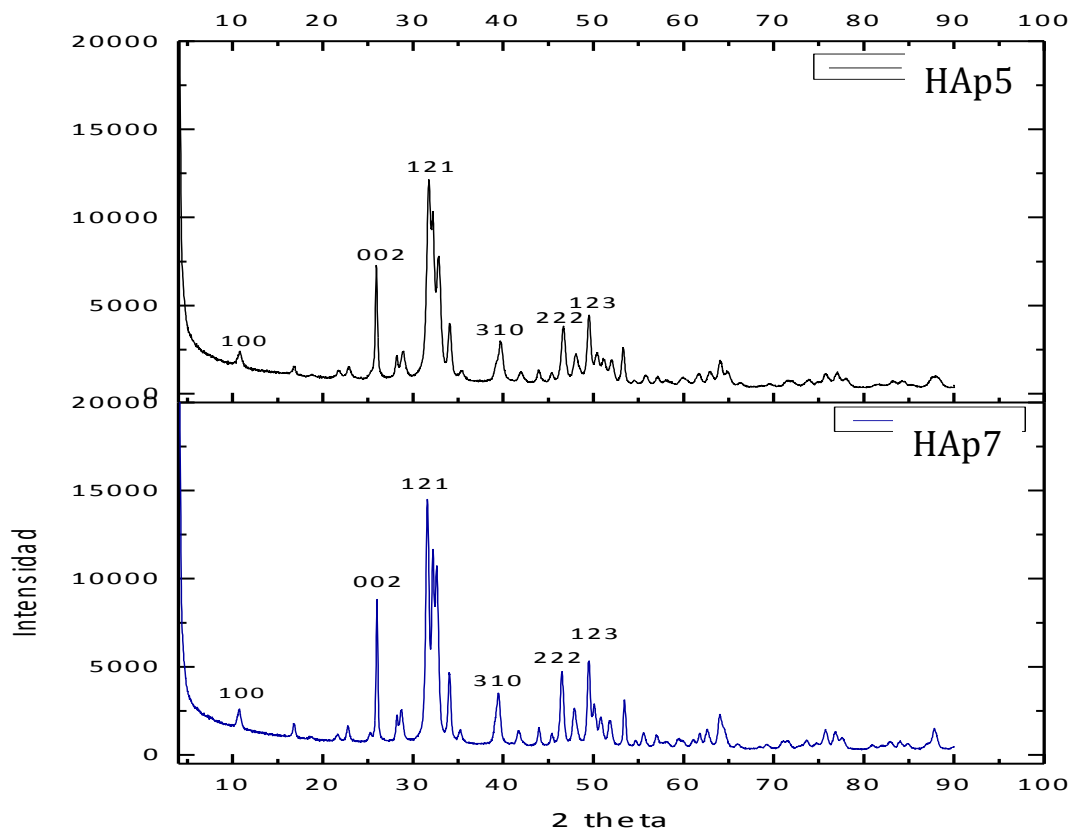


Figura 13. Síntesis de la HAp sintética sin la segunda fase de CaCO_3 .

3.1.2 FT-IR

Con el objeto de añadir evidencia sobre la ausencia de la segunda fase de carbonato se realizó otro análisis empleando FT-IR. En donde se observaron las vibraciones de cada uno de los grupos perteneciente a la HAp como son: 3400 cm^{-1} pertenecientes a la vibración de los hidroxilos perteneciente al grupo fosfato hidrogenado (93). Los modos bending del fosfato P-O-P a 1032 , 962 , 602 , 561 y 472 cm^{-1} corresponden a las vibraciones del modo stretching del fosfato asimétrico (u_3), del modo stretching del fosfato simétrico (u_1), al hidroxil simétrico, al fosfato fundamental, bending del O-P-O del grupo fosfato, respectivamente (76,93,94).

También se observó que solo en las muestras HAp4, HAp5 y HAp8 (Figura 14) presentaban modos stretching simétricos y asimétricos del carbonato entre 1556.41 , 1460.66 y 1418.11 (u_{3b} , u_{3a} of $(\text{CO}_3)^{2-}$ reemplazando a PO_4^{3-} , sustitución tipo B $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6-x(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x}$, donde $0 \leq x \leq 2$) y vibración bending proveniente del agua o del carbonato vibración (u_3) (95,96). También se observa en 877.18 cm^{-1} correspondiente al modo bending del carbonato (94,97,76), lo que refiere que solo en dichos lotes se tenía hidroxiapatita carbonatada. Al observar la muestra HAp7, dichas bandas son casi imperceptibles, Sin embargo, la HAp sintética obtenida de la casa comercial SIGMA ALDRICH® muestra la banda 1460.35 del $(\text{CO}_3)^{2-}$, lo que significa que también se encuentra ligeramente carbonatada. La localización de cada banda característica de la HAp se muestra en la Tabla 6.

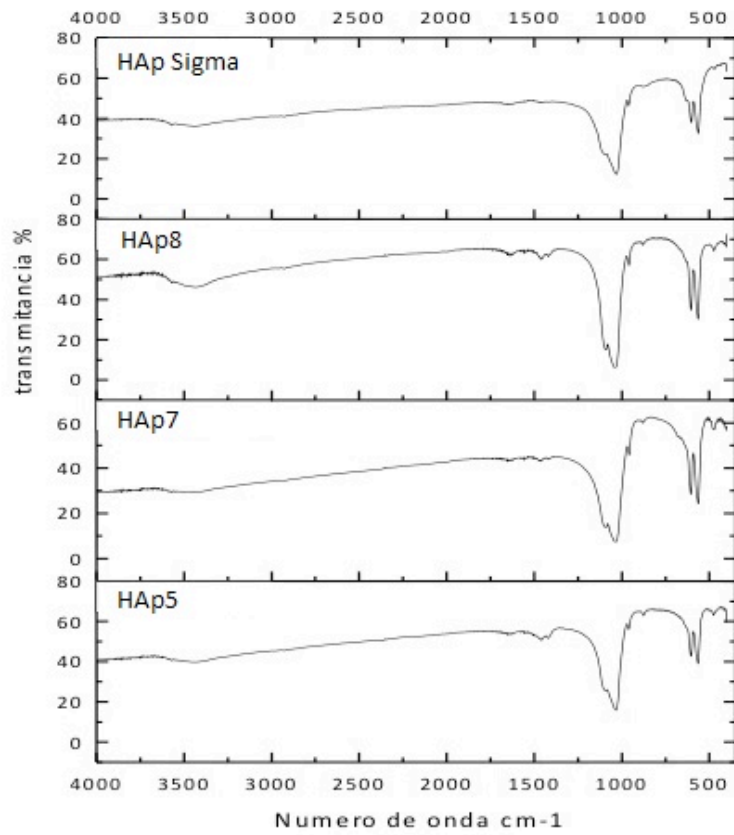


Figura 14. Espectros de FT-IR de las diferentes muestras de HAp.

Tabla 6. Bandas FT-IR características de la HAp.

1430	1421	1425.48	1418.11	1419.75	-----	Modo stretching (V_1) del grupo CO_3^{2-} en hidroxiapatita carbonatada (Cap) tipo-B
1087	-----	1095.68	1094.86	1097.42	1096.60	Modo stretching asimétrico triplemente degenerado, V_{3a} , de la unión P-O del grupo fosfato
1032 (sh)	1038.18	1031.85	1031.03	1033.23	1032	Modo stretching asimétrico triplemente degenerado, V_{3c} , de la unión P-O del grupo fosfato
962 (w)	960.16	957.38	959.01	961.63	961.64	Modo stretching asimétrico triplemente no degenerado, V_1 , de la unión P-O del grupo fosfato
875	873.86	872.27	877.18	884.28	878.52	Modo bending (V_4 o V_3) del grupo CO_3^{2-} en hidroxiapatita carbonatada (CAP) ó Características del grupo del fosfato hidrogenado
631 (m)	-----	-----	635.74	635.74	635.74	Modo vibracional, (VL), del grupo hidroxilo
602 (s,shp)	608.30	606.31	606.31	603.64	607.76	Modo stretching asimétrico triplemente degenerado, V_{4a} , de la unión O-P-O del grupo fosfato
561 (s)	565.15	563.75	562.94	560.85	564.97	Modo stretching asimétrico triplemente degenerado, V_{4c} , de la unión O-P-O del grupo fosfato
472 (w)	469.70	475.37	476.19	470.36	470.33	Modo stretching asimétrico doblemente degenerado, V_{2b} , de la unión O-P-O del grupo fosfato

3.1.3 HRTEM

Las micrografías de la HAp5 (Figura 15B) muestran un material cristalino altamente aglomerado, debido posiblemente a la técnica de molienda. Después de la síntesis de algunos lotes y de haber modificado la técnica, se obtuvieron las micrografías correspondientes de la muestra HAp8 (Figura 15A), en donde se puede observar que las partículas de HAp están un poco más dispersas y separadas, por lo que, se logra ver más claramente la forma de cristal hexagonal (Figura 16).

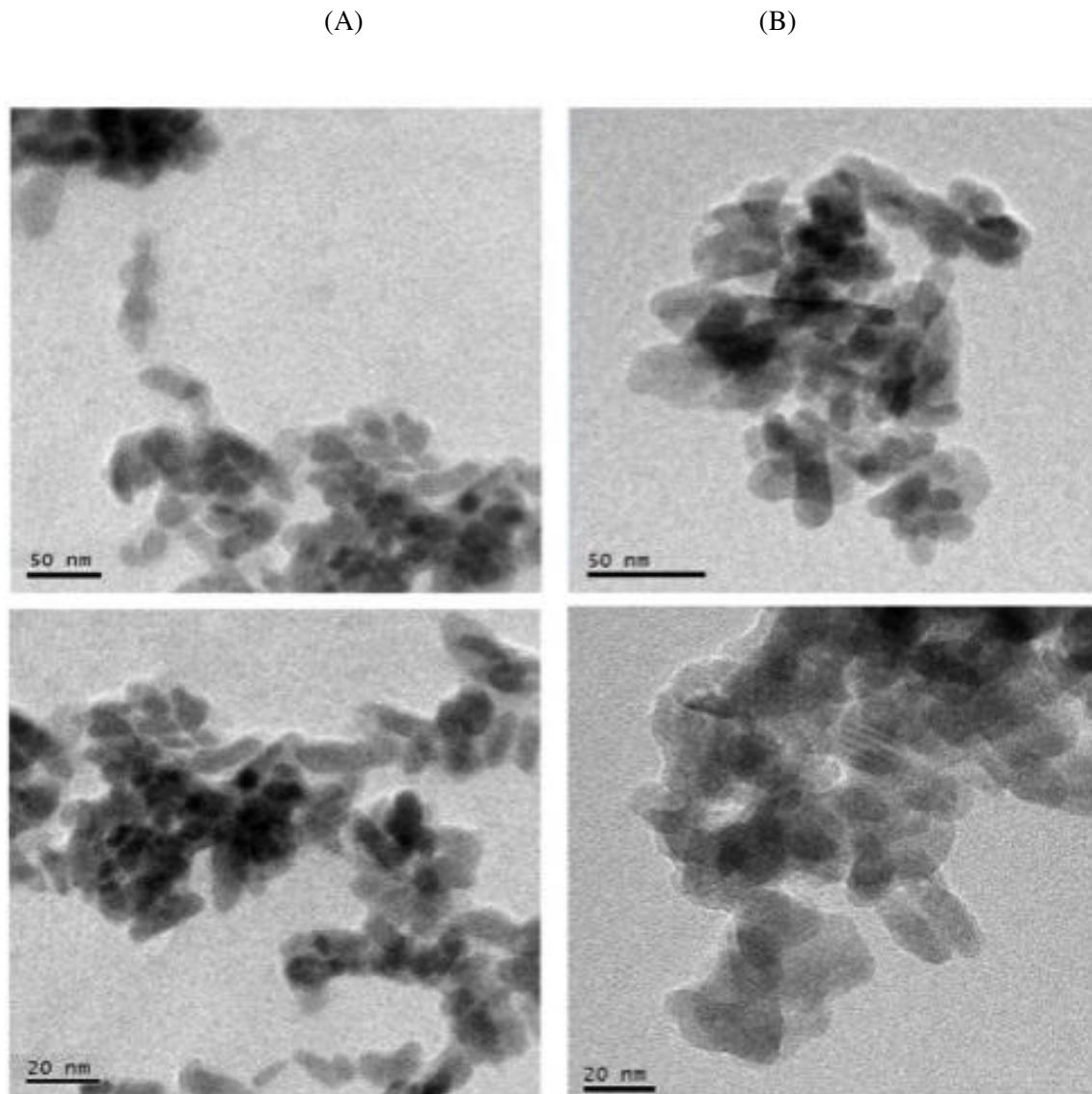


Figura 15. Micrografías de la HAp sintetizada en el laboratorio. La sección A) muestra a la síntesis HAp7 y la sección B) muestra a la síntesis HAp5. Observándose menor aglomeración. En ambos casos se muestran partículas alargadas típicas de la HAp.

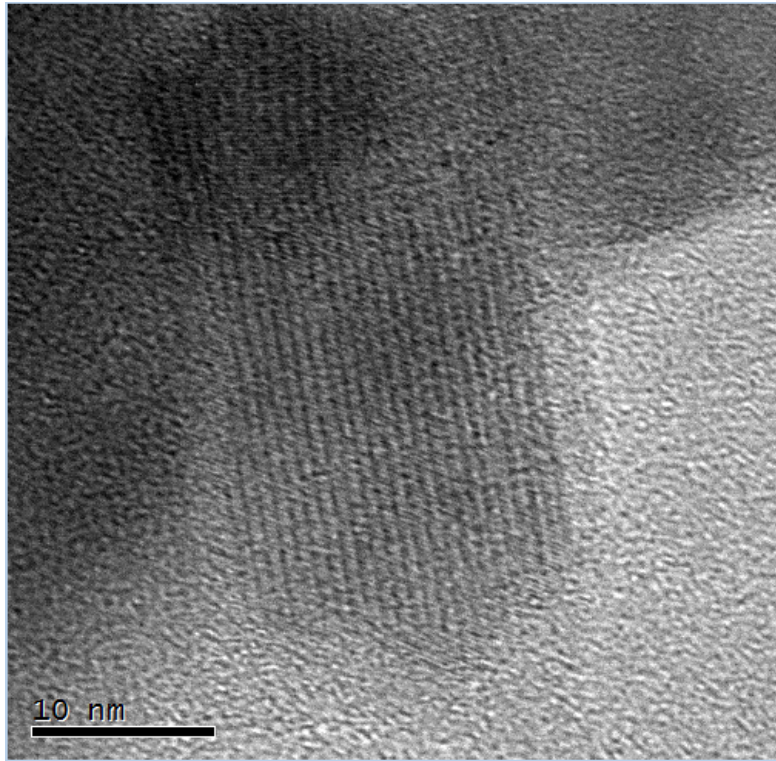


Figura 16. Micrografía de la forma hexagonal de un cristal de HAp del lote HAp7.

Para determinar el tamaño de partícula se utilizaron 47 micrografías y se midieron 300 nanopartículas. Se empleó el Software Digital Micrograph en donde se realizó la medición de las partículas, mismas que se capturaron en el programa Excel para organizar los datos y obtener el promedio. Los resultados indicaron que el tamaño de partícula fue de 40 nm, logrando con ello el propósito de sintetizar hidroxipatita de escala nanométrica.

Así mismo, se obtuvieron algunas imágenes de HRTEM, como otro método para determinar la fase de HAp (Figuras 17, 18 y 19).

La imagen obtenida por HRTEM de la muestra HAp4 muestra la resolución atómica y las distancias interplanares $d_1=0.251$ nm y $d_2=0.242$ nm, las cuales corresponden a planos $(2\bar{2}0)$ y $(\bar{1}\bar{2}1)$ de la fase HA carbonatada ($C_{0.5}H_{3.668}Ca_{10}O_{27.408}P_{5.56}$), respectivamente (FICHA icrd 181336). El eje de zona correspondiente es $[113]$ para la Figura 17.

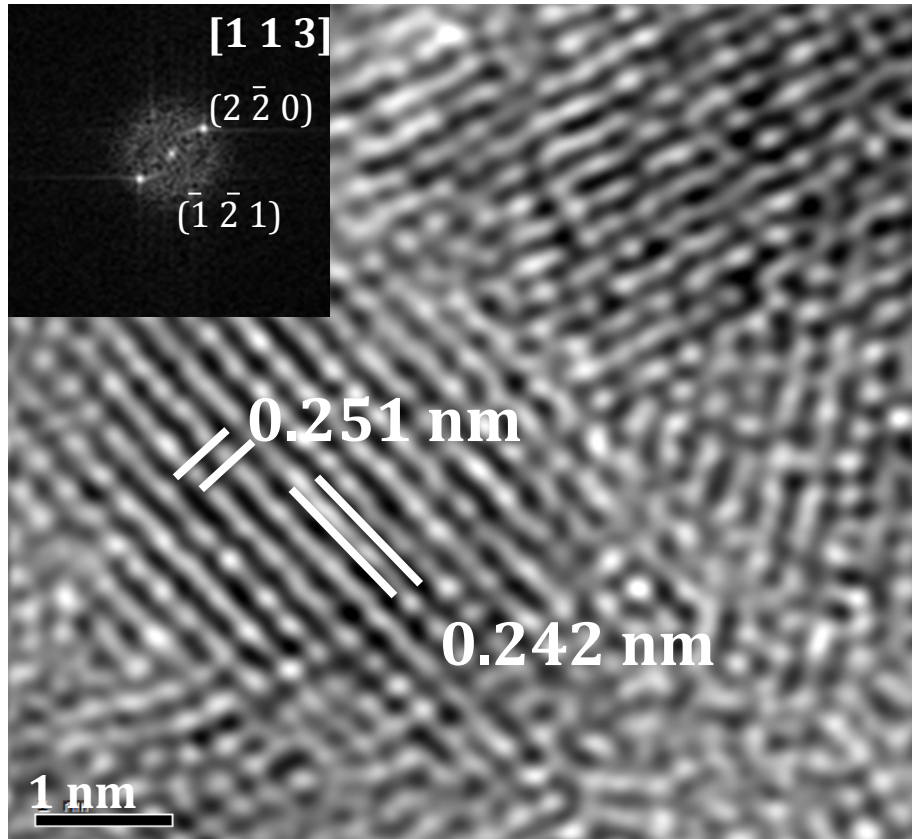


Figura 17. a) Micrografía obtenida por HRTEM de la muestra HAp4.

La imagen (Figura 18) obtenida de la HAp8 muestra las distancias interplanares $d_1=0.267$ nm y $d_2=0.689$ nm, que corresponden a planos (022) y $(\bar{1}01)$ de la fase HA pura ($\text{Ca}_5\text{HO}_{13}\text{P}_3$), respectivamente (FICHA ICSD 9002213). El eje de zona correspondiente es $[1\bar{1}1]$.

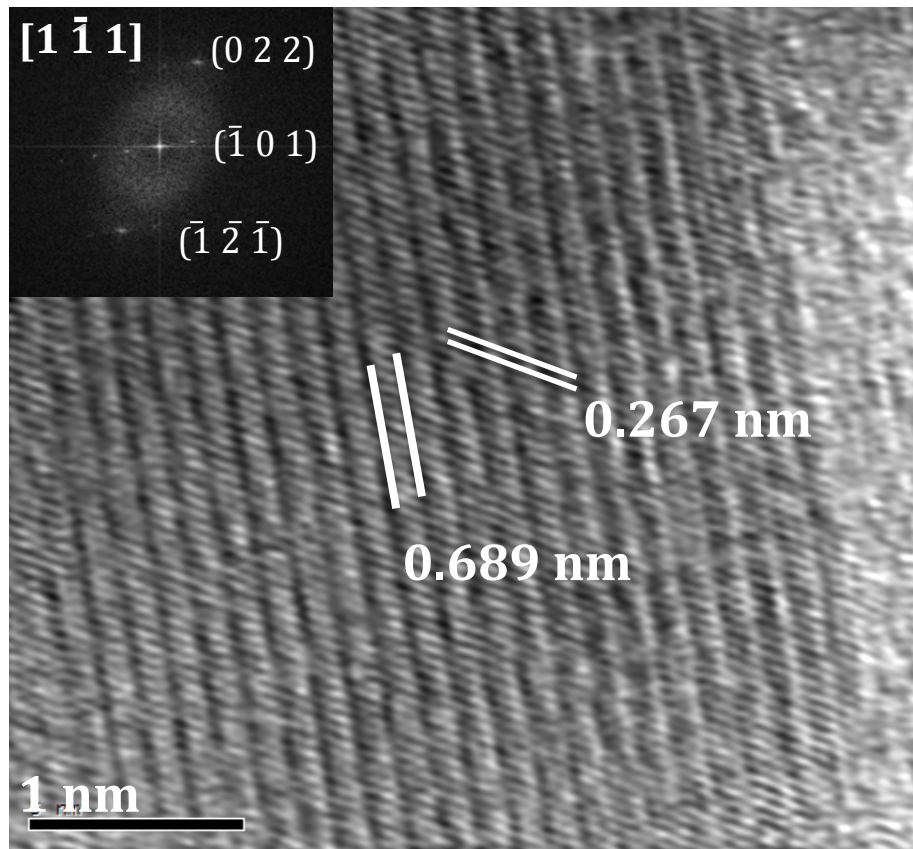


Figura 18. Micrografía obtenida por HRTEM de la muestra HAp5.

La imagen (Figura 19) obtenida de la HAp7 muestra las distancias interplanares $d_1=0.275$ nm y $d_2=0.514$ nm y $d_3=0.278$ nm, que corresponden a planos (112) , $(\bar{1}01)$ y $(\bar{2}\bar{1}\bar{1})$ de la fase HA pura ($\text{Ca}_5\text{HO}_{13}\text{P}_3$), respectivamente (FICHA ICSD 9002213). El eje de zona correspondiente es $[\bar{1}\bar{3}1]$.

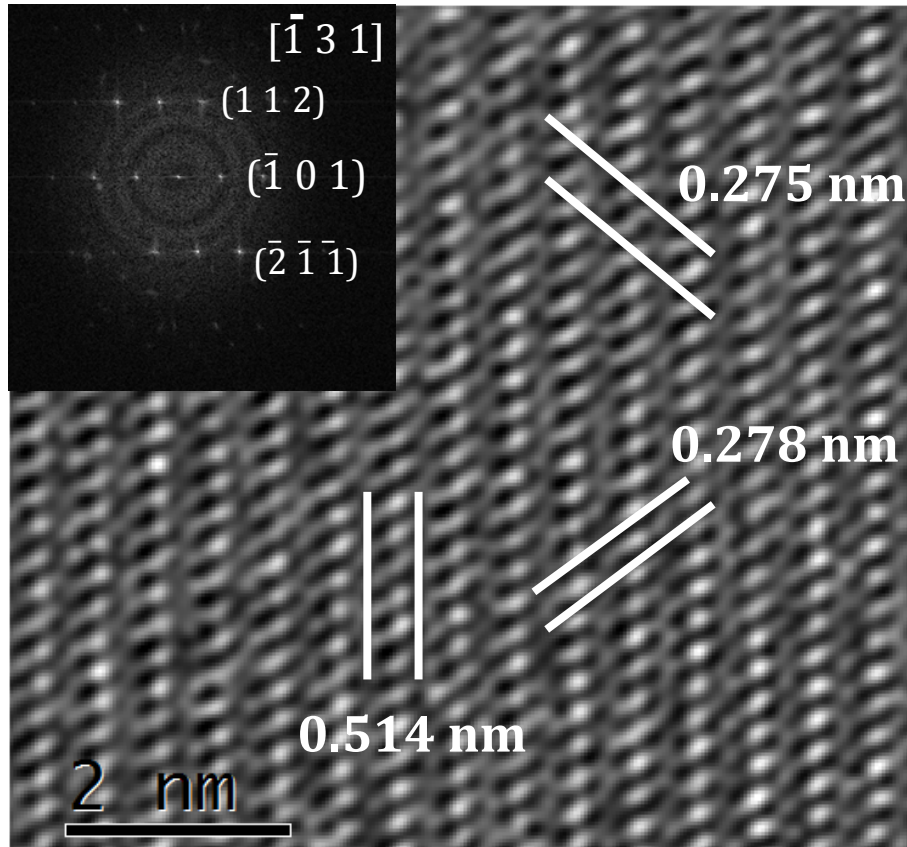


Figura 19. Micrografía obtenida por HRTEM de la muestra HAp7.

3.1.4 RAMAN

Como se muestra en la Figura 20 las bandas vibracionales en 1083-1089 y 1040-1042 cm^{-1} esta asignando al fosfato (ν_3) del grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$ (98); en 956-960 corresponde al modo stretching simétrico (ν_1) del grupo fosfato (98,99). Los modos vibracionales alrededor de 607, 590 y 430 cm^{-1} corresponden a la vibración de (ν_2 , ν_4) proveniente del grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$. De forma específica el modo vibracional del carbonato se localiza entre 440 a 400 cm^{-1} (98,99). En la Tabla 7 se observan las vibraciones pertenecientes a la HAp sintética.

Tabla 7. Bandas RAMAN característicos de la HAp sintética.

Bandas Raman shift cm^{-1} literatura	Bandas Raman shift cm^{-1} HAp	Observaciones
400-440	428.4	Phosphate vibrational modes (ν_2)
440	443.4	(ν_2) PO_4^{3-} carbonatada
589	587	(ν_4) PO_4^{3-}
580-608	607	(ν_4) PO_4^{3-}
957	958	(ν_1) PO_4^{3-}
1041	1044	(ν_3) PO_4^{3-}
1060-1080	1067	(ν_3) PO_4^{3-}

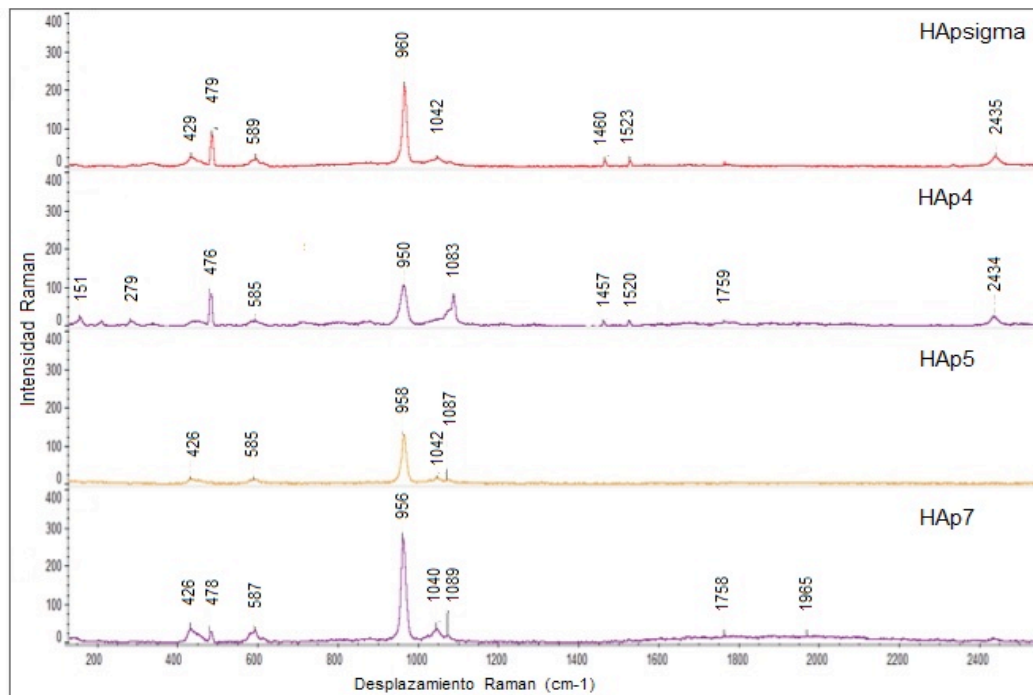


Figura 20. Modos vibracionales correspondientes de la HAp sintética y experimental.

3.1.5 XPS

Para determinar la composición elemental de las nanopartículas de HAp se realizó un análisis XPS como análisis complementario, se utilizó una muestra comercial para comparar la pureza de ambas HAp. Se realizó la cuantificación de los elementos presentes y el pico medio de los tres diferentes puntos medidos se analizó restando el fondo con un filtro de tipo Shirley (Tabla 8). Las relaciones Ca/P y Ca/O se obtuvieron basándose en la cuantificación elemental y se muestran en la Tabla 10.

Los porcentajes encontrados de carbono fueron de 20,36% en HAp4, 13,85% en HAp5 y 12,75% en HAp7. De la muestra comercial de HAp (Sigma®) se obtuvo un valor del 14,44%, que es muy cercano a la cantidad de carbono presente en HAp5 y HAp7.

La proporción C/P encontrada en las muestras fue similar a la encontrada en la HAp comercial, excepto en la HAp4 la cual muestra una relación de 1.79 (Tabla 9).

Tabla 8. Composición elemental de la Hidroxiapatita sintetizada.

Elemento (%)	HAp4	HAp5	HAp7	Sigma®
O	53.1	54.97	54.71	54.29
Ca	17.04	17.92	18.1	17.68
P	9.5	13.28	14.44	13.59
C	20.36	13.84	12.75	14.44

Tabla 9. Proporción Ca/P y Ca/O de la Hidroxiapatita sintetizada.

Proporción	HAp4	HAp5	HAp7	Sigma®
Ca/P	1.79	1.35	1.25	1.30
Ca/O	0.32	0.33	0.33	0.32

3.2 CARACTERIZACIÓN DEL CLINKER

3.2.1 XRD

Los difractogramas obtenidos de los reactivos para la realización del clinker se muestran en la Figura 21. Con lo que se confirmó la pureza de los reactivos empleados para la realización de la síntesis del clinker.

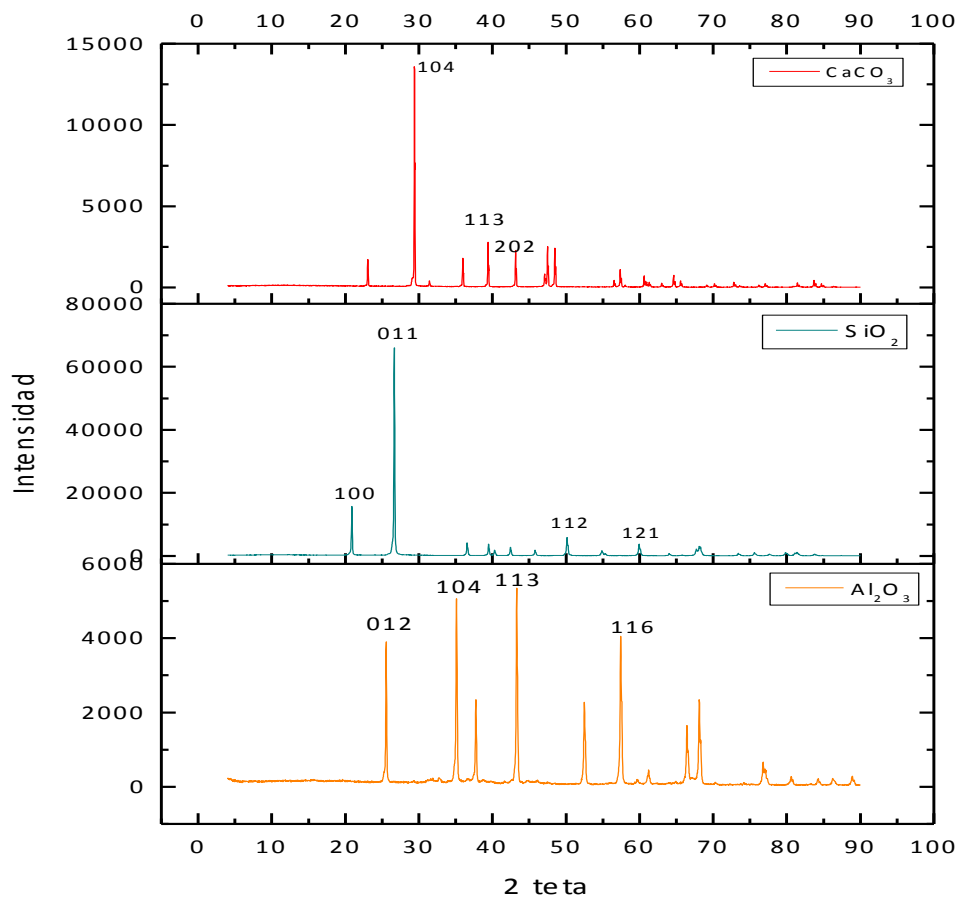


Figura 21. Difractogramas de reactivos utilizados para preparar el clinker: CaCO_3 , SiO_2 y Al_2O_3 .

Posterior a la obtención del clinker, al haberlo sometido a cocción de 1350 °C durante 24 horas, se obtuvieron los siguientes difractogramas (Figura 22,23 y

24), en donde se puede observar que hay una cuarta fase de CaO extra a las fases de aluminato tricálcico (C_3A), silicato tricálcico (C_3S) y silicato dicálcico (C_2S) (Figura 22).

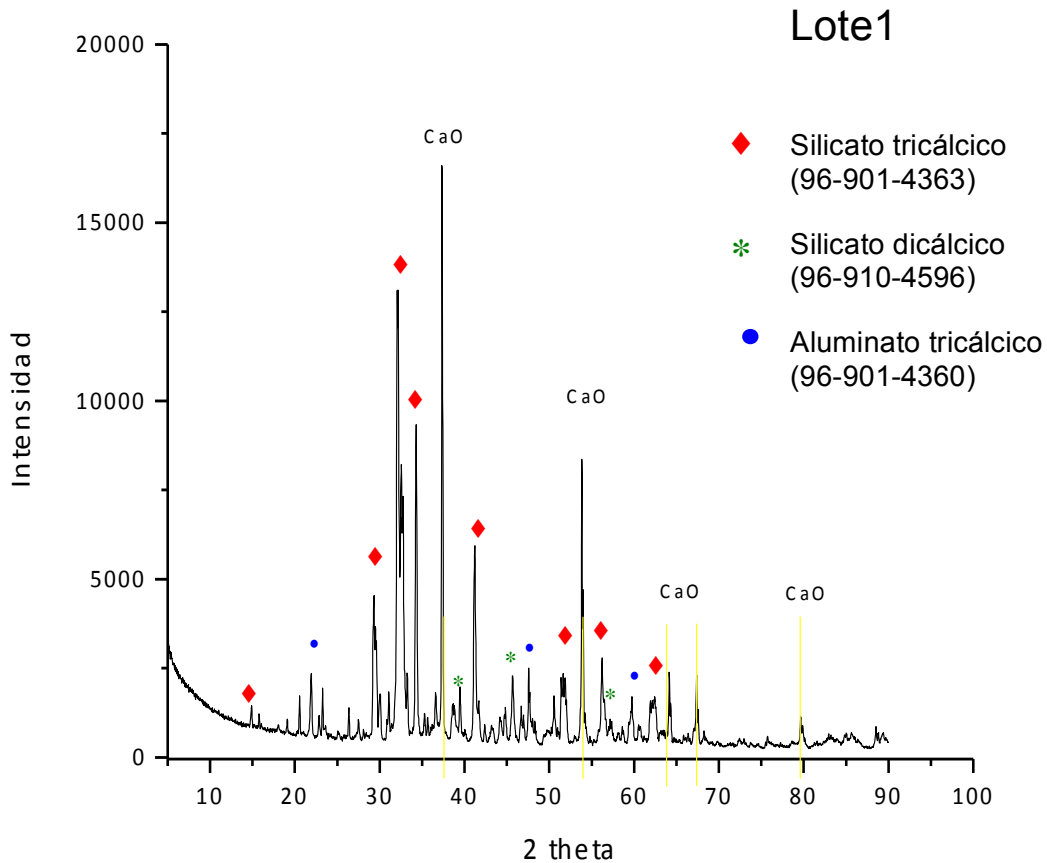


Figura 22. Difractograma de Lote1.

Por esta razón se llevó a 1350°C durante 24 h, por segunda ocasión. Los resultados mostraron que una disminución de la fase de CaO; sin embargo, no desapareció del todo (Figura 23).

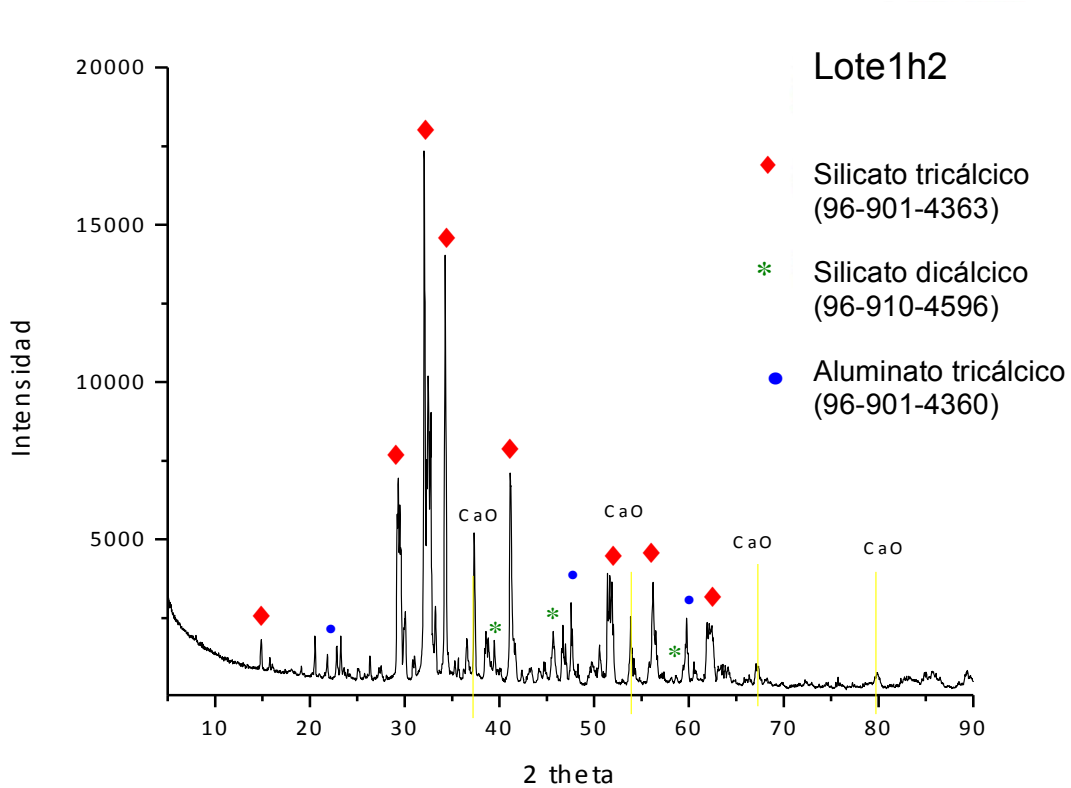


Figura 23. Diffractograma de Lote1h2 con un segundo sinterizado a 1350°C.

De acuerdo con el resultado anterior, se decidió someter el clinker a una tercer cocción a 1350°C durante 48 h, lográndose una disminución considerable de la cantidad de CaO (Figura 24).

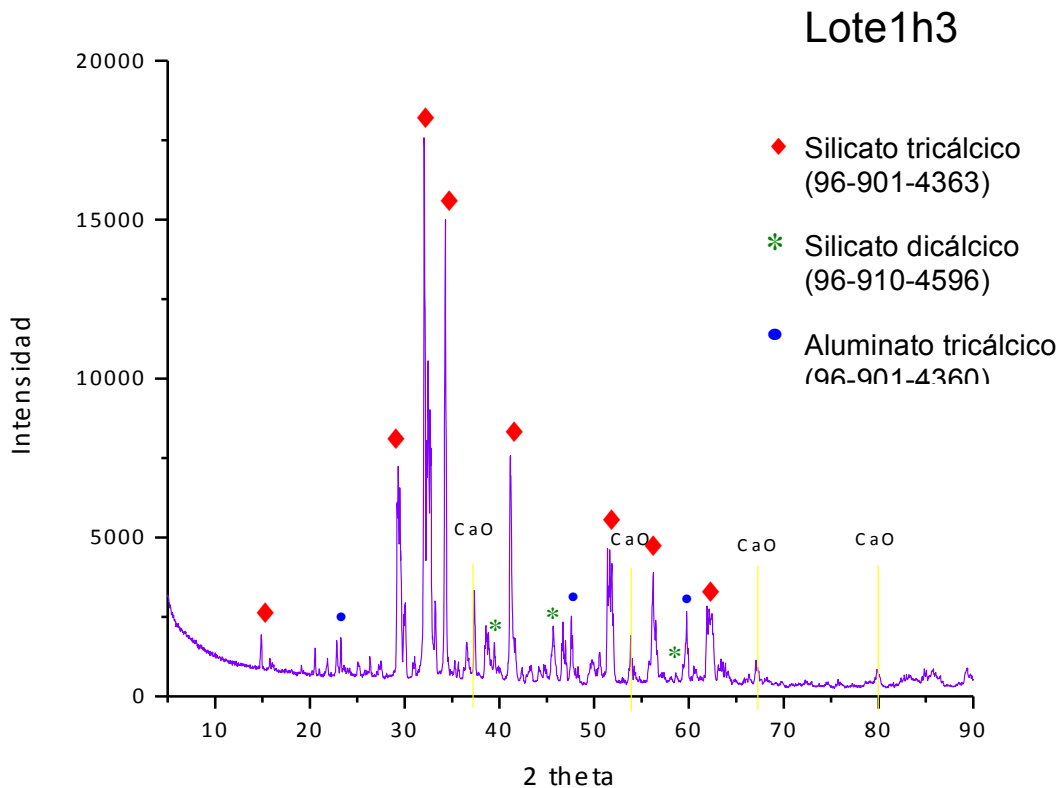


Figura 24. Difractograma de Lote1h3 sometido a un tercer sinterizado a 1350°C durante 48 h.

Se calculó la reducción de la cantidad de CaO comparándola con la intensidad del pico del C_3S , observándose una reducción total de 95.47% de CaO. El resultado se muestra en la Tabla 10. Por lo que se continuó la caracterización con otras técnicas analíticas, las cuales se mencionan a continuación.

Tabla 10. Diferencia entre intensidades del pico de C_3S con respecto al pico del CaO.

Lote	C_3S (cuentas)	CaO (cuentas)	Disminución (%)
Lote1	13150.73	16646.89	100
Lote1h2	17375.3	5236.78	69.54
Lote1h3	17631.28	3407.53	35.93

3.2.2 FT-IR

La muestra de Lote1h2 muestra una banda en el número de onda 3640 cm^{-1} correspondiente al agua (Figura 25). También se encontraron bandas alrededor de 925 , 870 , 522 y 452 cm^{-1} relacionadas con la vibración del grupo Si-O. Solamente se encontró en el Lote1h3, y no en el resto de lotes, la banda en 900 cm^{-1} correspondiente al número de oxígenos en el grupo Si-O (100,101). Estos datos se muestran con más detalle en la Tabla 11. Mediante esta técnica se confirmó que ya no existe CaO en el clinker después de haber realizado los tres sinterizados a 1350°C .

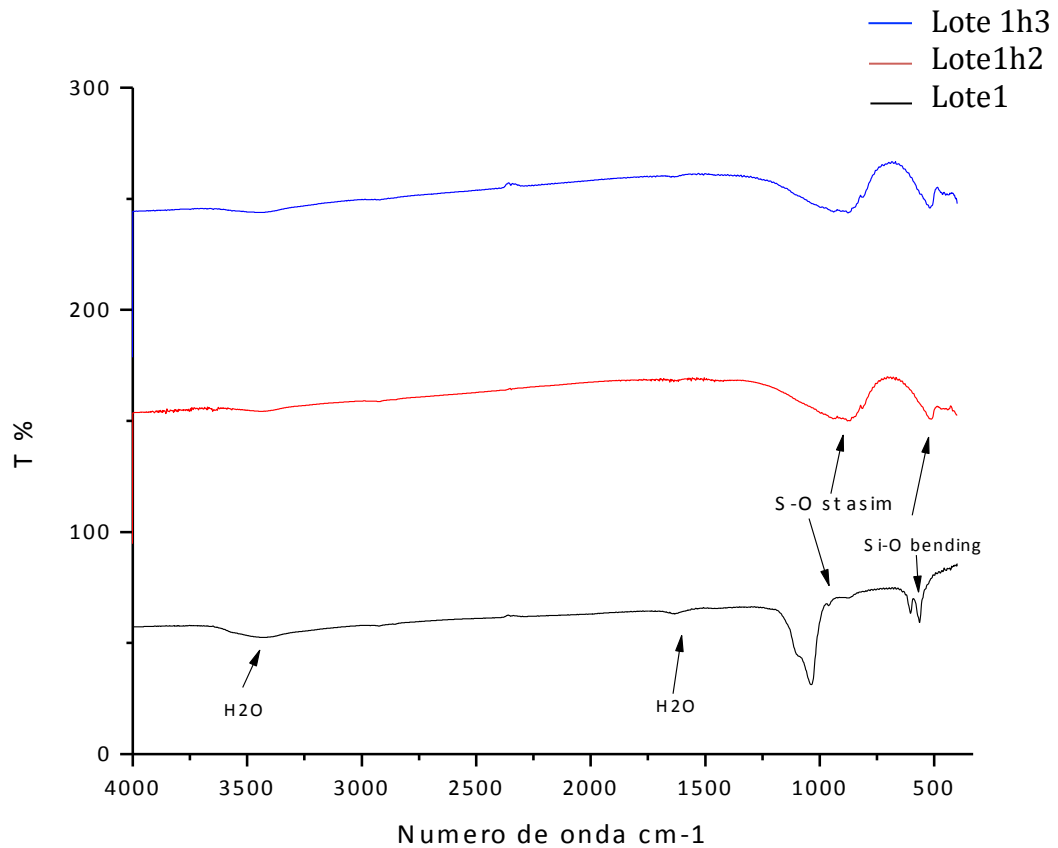


Figura 25. Espectro FT-IR del Clinker. Comparación de los tres espectros.

Tabla 11. Bandas de los espectros FT-IR del clinker en sus diversas sinterizaciones.

	Lote1 (cm ⁻¹)	Lote1h2 (cm ⁻¹)	Lote1h3 (cm ⁻¹)	Observaciones
3645		3640.72		Agua
3405	3437.10	3443.84	3437.24	Unión del hidrógeno O-H-O-H absorbido en la superficie
1622	1639.87	1628.09	1650.42	Agua
1420-1480		1434.57		Bandas de CO
925	958.34	910.37	938.7	Vibración (V ₃) stretching asimétrica del gpo Si-O del silicato
900			910	Bandas atribuidas a SiQ ⁿ (número de oxígenos puente)
870	870.83	877.56	880.51	Bandas atribuidas a iones silicato (stretching)
522	567.08	514.91	524.90	Vibración (V ₄) bending fuera d plano del gpo Si-O del silicato
452		443.4	446.23	Vibración (V ₂) bending dentro d plano del gpo Si-O del silicato

3.2.3 Raman

En el espectro (Figura 26 y Tabla 12) se encuentran los picos referentes C₃S, los cuales se encuentran en 845 y 920 cm⁻¹, en donde el primero es el pico más intenso. También se pudieron observar los satélites correspondientes al C₃S como fueron 813, 885 y 925 cm⁻¹. De la misma manera se localizaron los picos correspondientes al C₂S, que fueron en 981, 543 y 521 cm⁻¹, y los picos del C₃A que están en 1529, 765 y 484.93 cm⁻¹ (101,102). Así mismo, se observaron picos en 311 y 285 cm⁻¹ que corresponden al CaO, indicando que aún existe una pequeña cantidad de CaO.

Lote1h3

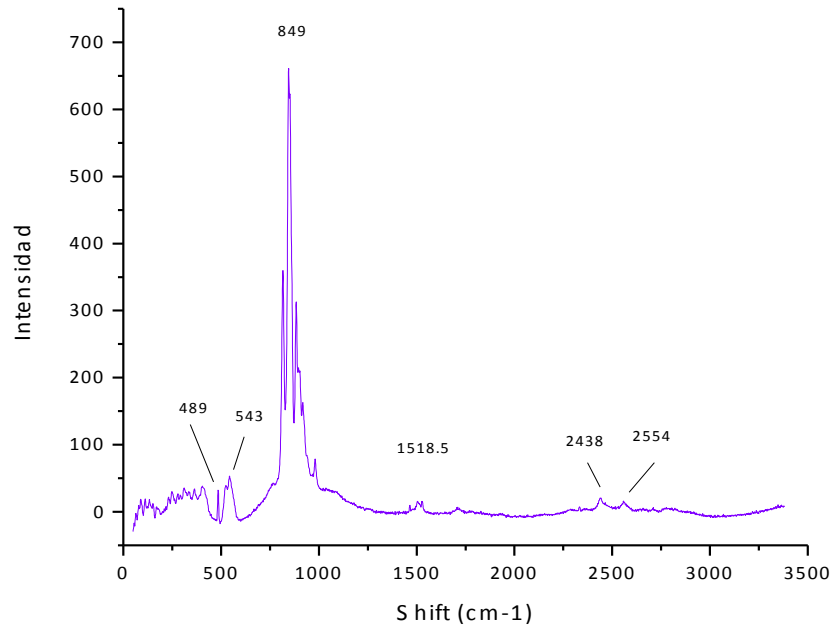


Figura 26. Espectro Raman del Lote1h3.

Tabla 12. Bandas de los espectros RAMAN del clinker en su última sinterización. Comparación realizada contra datos teóricos reportados.

Teórico (cm^{-1})	Lote1h3 (cm^{-1})	Observaciones
1525	1529.92	C_3A Aluminato tricálcico
1431	1468.79	C_3S alite (OPC – cemento Portland)
979	981.11	Beta- C_2S Silicato dicálcico
925wbr	922.50	C_3S triclínico satellite
920	917.66	C_3S triclínico
885m	883.95	C_3S triclínico satellite
845s	845.18	C_3S triclínico
813m	815.96	C_3S triclínico satellite
756-560	765.74	C_3A asignado a la vibración $\text{V}_1 \text{AlO}_4$
541s	543.09	C_2S belite (WC)
521	521.21	C_2S belite (WC)
493	484.93	C_3A ortorombico
360	363.91	Cemento blanco sin bismuto (wtC)
309	310.79	Traslación de OH de vibración de poliedros de CaO
280	284.87	Vibración de la red de CaCO_3

Al ver estos resultados se continuó con la síntesis de más lotes de clinker.

3.2.4 SEM

En la micrografía A (Figura 27) se observa al Lote1h3 como un material con superficies lisas e irregulares, compacto, con zonas lisas no porosas y en forma de coral. Así mismo, vemos con las mismas características a B (Lote2), C (Lote3), D (Lote4) y E (Lote5). Las micrografías del sector F (Lote6), se observan en forma de coral y laminar.

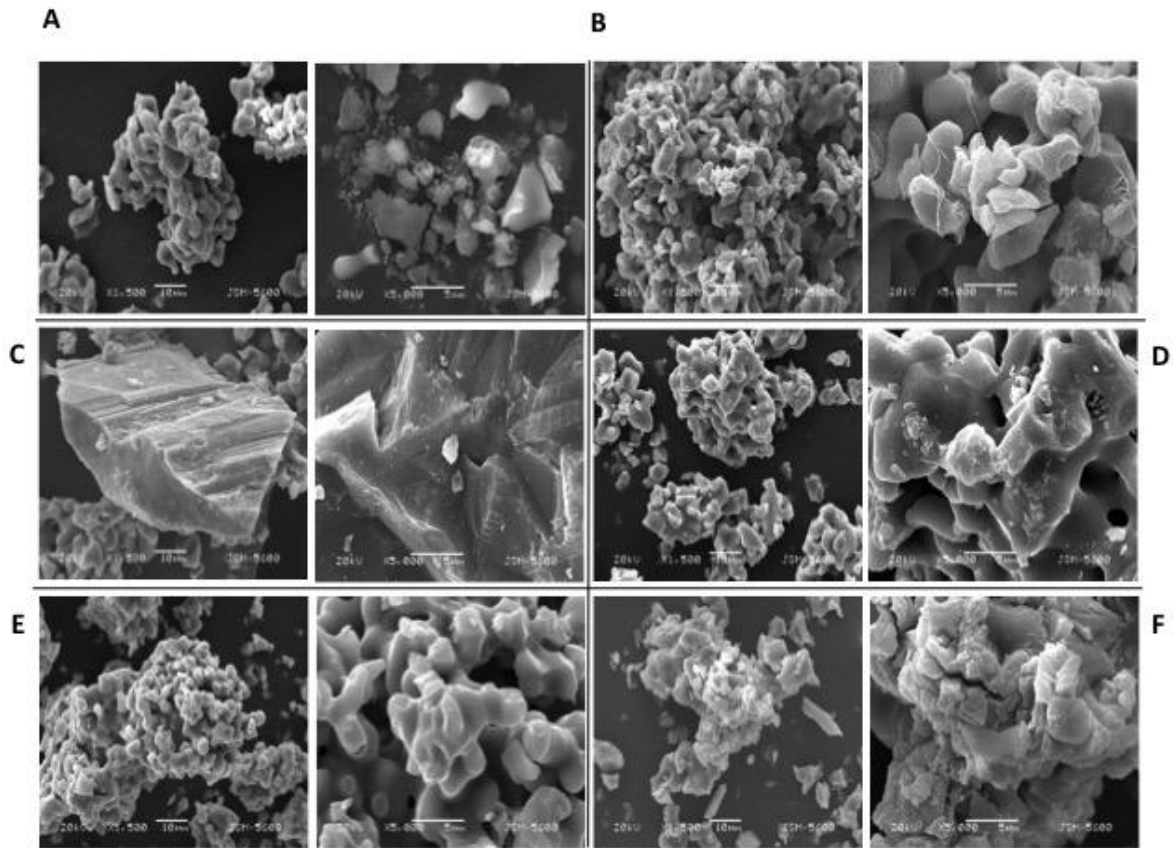


Figura 27. Micrografías de los lotes de clinker. A) lote1h3, B) lote2, C) lote3, D) lote4 y E) lote5. Se observa un material poroso, amorfo y compacto con forma de coral. F) El lote 6 se observa con forma similar pero laminado.

3.3 Elección del lote y catalizador

De acuerdo con los resultados obtenidos de tiempo de fraguado al probar cada uno de las 32 formulaciones de catalizador, se decidió elegir el Lote5 y la formulación F29 (1 agua desionizada: 3 cloruro de calcio: 1 metilcelulosa). Debido a que fueron las formulaciones que mejores resultados presentaron y no tenían presencia de la fase de CaO (Figura 28).

Posteriormente, se le agregó 20% de ZrO_2 como agente radiopacador y se procedió a reproducir el lote y evaluarlo con distintos porcentajes de material de relleno (Tabla 13).

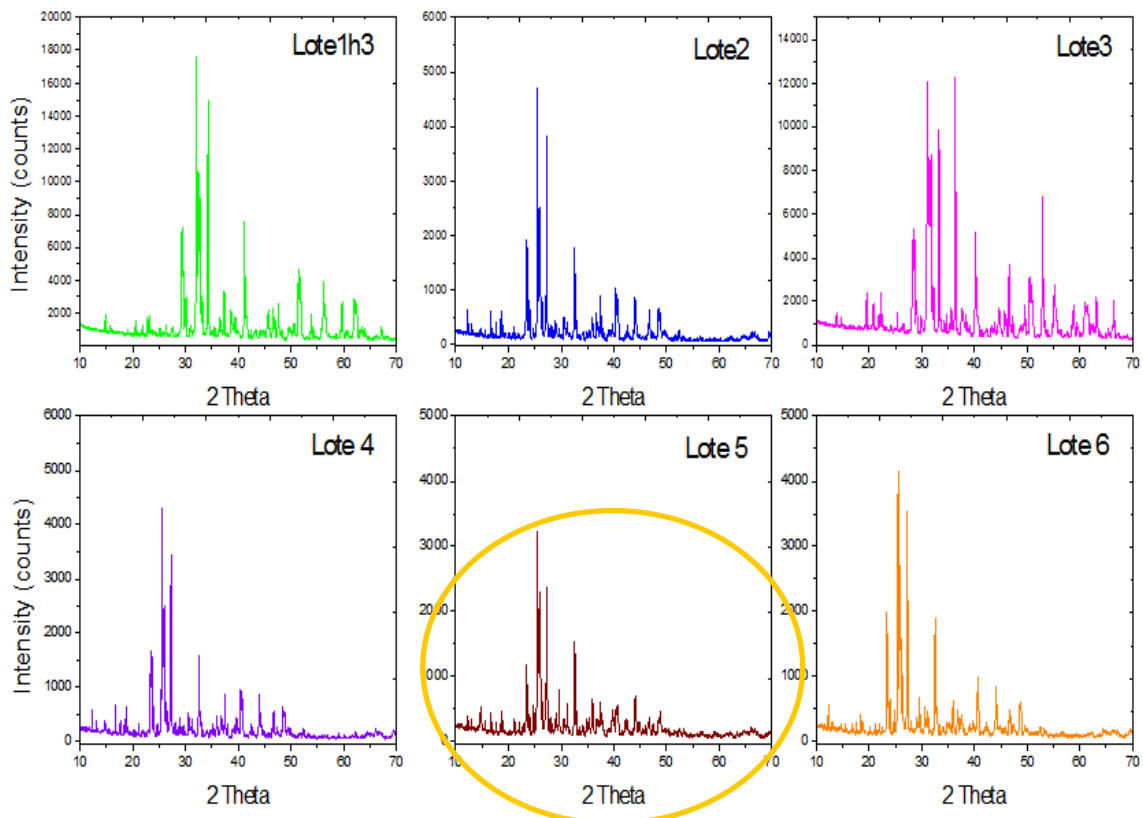


Figura 28. Espectros de los diferentes lotes de clínker. En círculo se muestra el difractograma del clínker que se eligió para la realización de las pruebas.

Tabla 13. Grupos de estudio

Grupo	Cantidad de relleno
E20Z	Lote5 + 20% ZrO ₂
EZ5H	Lote5 + 20% ZrO ₂ + 5% hidroxiapatita
EZ15H	Lote5 + 20% ZrO ₂ + 15% hidroxiapatita
EZ5C	Lote5 + 20% ZrO ₂ + 5% CaCO ₃
EZ15C	Lote5 + 20% ZrO ₂ + 15% CaCO ₃
MTA-Angelus (MTA-Ang)	
Biodentine (Biod)	

Una vez elegido el lote de clinker y del catalizador a utilizar, así como después de haber realizado las formulaciones a porcentajes del 5 y 15%, tanto de hidroxiapatita como con carbonato de calcio, se continuó con la realización de las pruebas físico-mecánicas tanto del clinker en polvo (cemento no hidratado) y la mezcla del clinker con el catalizador, propiamente llamado cemento (cemento hidratado).

3.4 CEMENTO HIDRATADO Y NO HIDRATADO

3.4.1 XRD

En primera instancia se realizó el análisis de los cementos comerciales (grupos control) los cuales consistieron en ser Biodentine™ (Biod) y MTA-Angelus™ (MTA-Ang). Al observar la Figura 29 se encontró que las fases de Biod, son Ca_3SiO_5 (C3S) y Ca_2SiO_4 (C2S). También está presente la fase de calcita y del óxido de zirconio, el cual se añadió como radiopacador. En el MTA-Ang (Figura 30) se observan las fases de C3S, $\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6$ (C3A), óxido de bismuto (Bi_2O_3) y de anhidrita (CaSO_4 , un mineral compuesto de sulfato de calcio anhidro). Por último en el cemento experimental (Figura 31) se detectaron C3S, C2S, C3A, calcita y óxido de zirconio.

Al realizar la comparación del cemento no fraguado durante los tres periodos de tiempo se pudo observar la formación de las fases de portlandita ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) y gel de silicato de calcio hidratado (C-S-H) y solamente en MTA-Ang la formación de la fase de etringita. En Biod se puede observar un aumento en la formación de portlandita y disminución de C3S desde las primeras 24 h de fraguado. La portlandita incrementa conforme transcurre el tiempo, pero disminuye a los 28 días. Estos datos se obtuvieron del banco de datos ICDD (The International Centre for Diffraction Data).

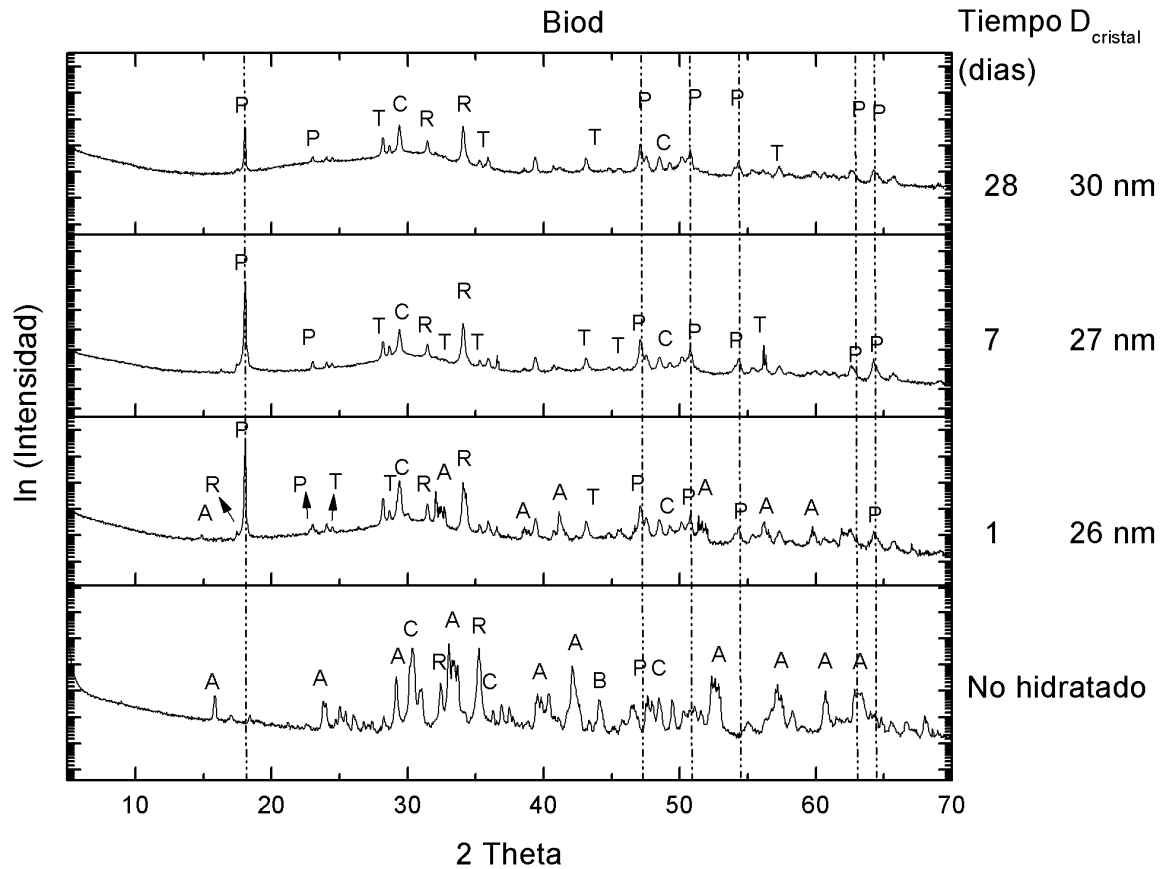


Figura 29. Difractograma de la muestra en polvo de Biod y posteriormente fraguada por 24 h, 7 días y 28 días. **A**, silicato tricálcico; **B**, silicato dicálcico; **C**, carbonato de calcio; **T**, silicato de calcio hidratado; **P**, portlandita; **R**, agente radiopacador.

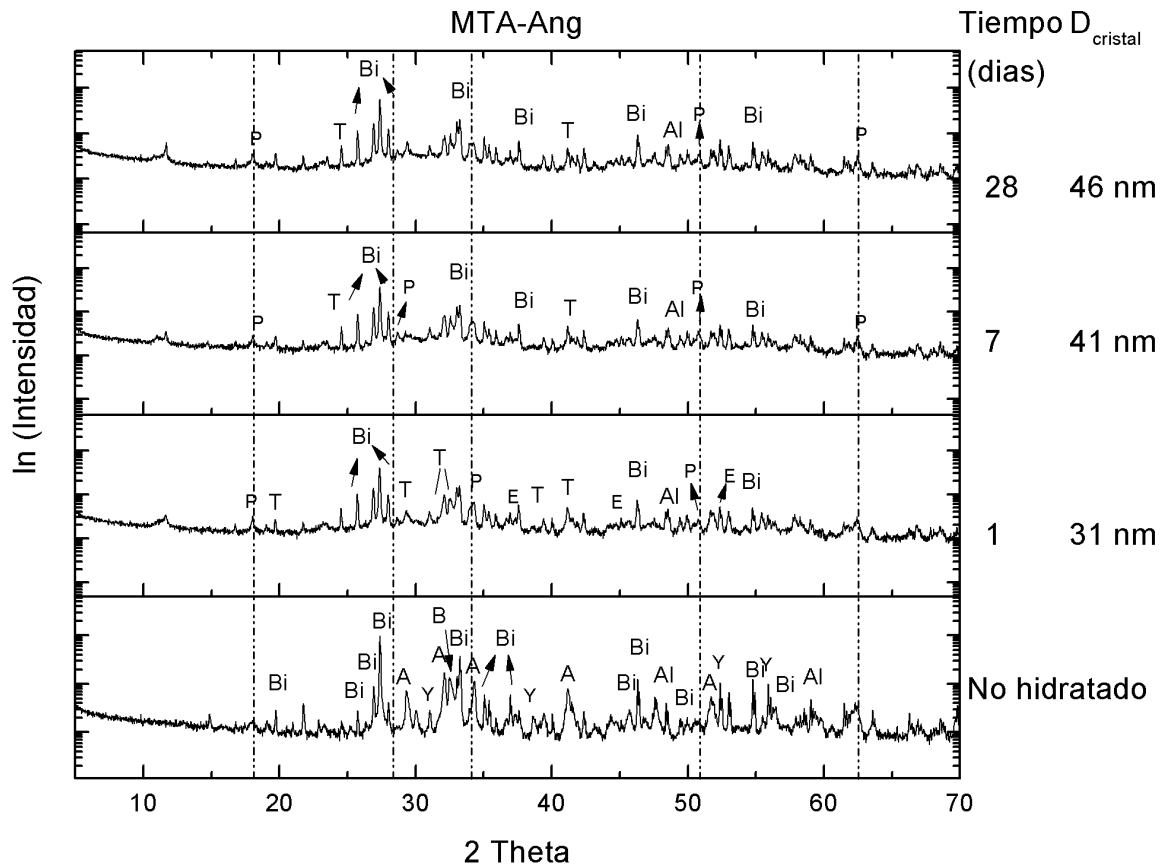


Figura 30. Difractograma de la muestra en polvo de MTA-Ang y posteriormente fraguada por 24 h, 7 días y 28 días. **A**, silicato tricálcico; **B**, silicato dicálcico; **C**, carbonato de calcio; **T**, silicato de calcio hidratado; **P**, portlandita; **Y**, anhidrita; **E**, etingita; **Bi**, óxido de bismuto.

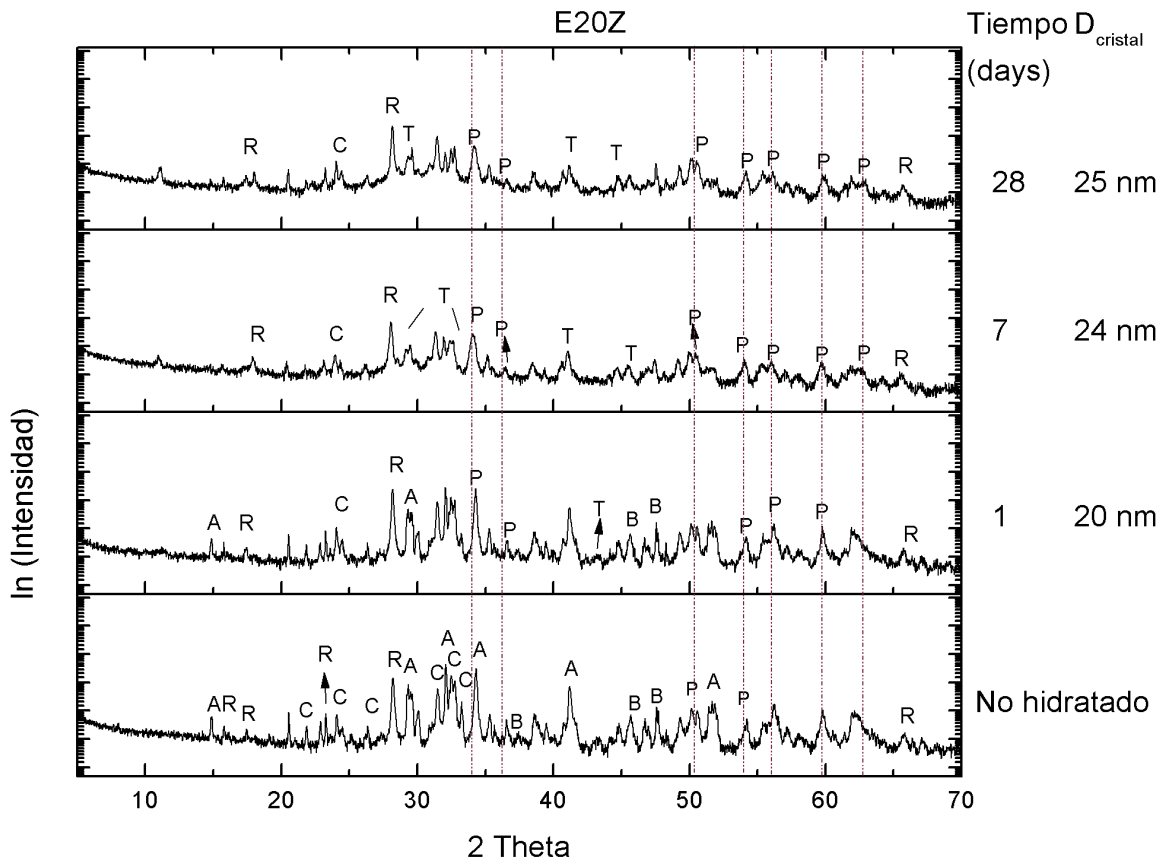


Figura 31. Difractograma de la muestra en polvo de E20Z y posteriormente fraguada por 24 h, 7 días y 28 días. **A**, silicato tricálcico; **B**, silicato dicálcico; **C**, carbonato de calcio; **T**, silicato de calcio hidratado; **P**, portlandita; **R**, agente radiopacador.

3.4.2 Raman

En la Figura 32 y 34 muestran modos vibracionales en 848 cm^{-1} y en 887 , 818 , 918 cm^{-1} pertenecientes al C3S, tanto en Biod como en E20Z. También están presentes en Biod y en E20Z los modos vibracionales correspondientes al $\beta\text{-C}_2\text{SiO}_3$ en los intervalos de 981 a 878 cm^{-1} , 510 y 354 a 132 cm^{-1} y en 222 , 266 , 380 , 526 , 556 , 878 , 902 y 983 cm^{-1} sólo en E20Z (103). En MTA-Ang no se logro ver ninguna de las vibraciones del C3S, solamente las vibraciones del $\beta\text{-C}_2\text{SiO}_3$ en 522 y 92 cm^{-1} (Figura 30) y del óxido de bismuto localizadas entre 51

y 444 cm^{-1} (100,104). La fase de C3A solo se observa en el E20Z en los modos vibracionales 501 y 753 cm^{-1} y no en Biod ni en MTA-Ang. Otra fase presente en Biod y en E20Z es la del carbonato de calcio (CaCO_3) en la región de 1090 , 720 y 289 cm^{-1} y 1083 y 303 cm^{-1} , respectivamente. Por último, se observaron las vibraciones pertenecientes al ZrO_2 en 640 , 586 , 485 , 391 , 313 , 182 y 106 cm^{-1} en Biod y en E20Z las vibraciones en 98 , 174 , 330 , 444 , 471 , 577 y 601 cm^{-1} (105,106).

Al comparar el cemento hidratado y no hidratado se observó que en Biod sólo hay un ligero desplazamiento en la banda vibracional de 719 cm^{-1} a 711 cm^{-1} perteneciente al CaCO_3 (101), como se puede observar en la Figura 18a. En Biod y E20Z se observan picos que van de 840 - 1014 cm^{-1} correspondientes a la intensidad de las vibraciones de stretching asimétricas del tetraedro SiO_4 (106). También está presente la banda vibracional de la portlandita (C-H) en el cemento no hidratado y va desapareciendo conforme va avanzando el tiempo de hidratación.

MTA-Ang, Biod y E20Z muestran las vibraciones sin mucha intensidad correspondientes a C-S-H gel (107), CH (101) y el modo stretching simétrico de C-O del CaCO_3 (101,107), las cuales se encuentran en 854 - 850 , 970 y 1085 cm^{-1} , respectivamente, siendo muy intensa esta última en Biod. Otros modos vibracionales encontrados en Biod y E20Z (Figuras 29 y 31) y que a las 24 horas y conforme pasa el tiempo, se van desplazando y aumentando de intensidad, corresponden a la fase de CaCO_3 en 711 y 706 cm^{-1} , contrariamente a lo que sucede con la banda en 1084 cm^{-1} , la cual desaparece al llegar a 28 días de hidratación sólo en E20Z.

En el caso del ZrO_2 en Biod y E20Z, se localiza en la región entre 180 y 625 cm^{-1} , sin afectar el resto de las vibraciones (106). En MTA-Ang se observa que las bandas del Bi_2O_3 van desde las bandas 63 hasta 440 cm^{-1} (Figura 33).

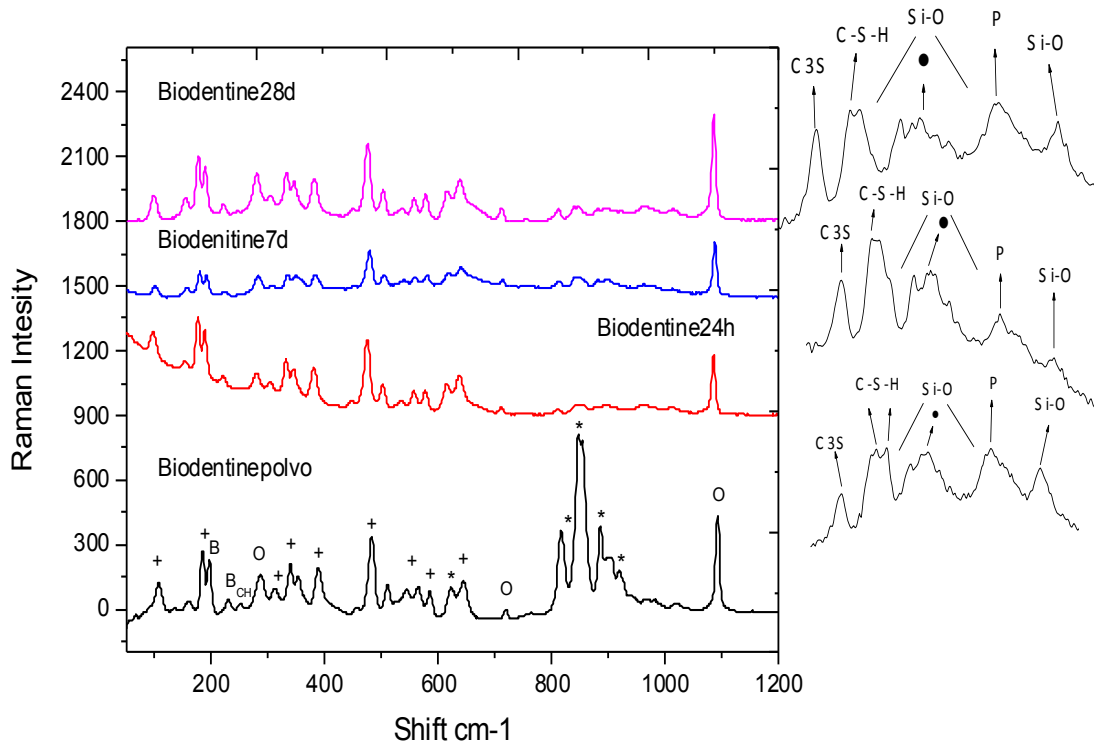


Figura 32. Espectro Raman de Biod en polvo y fraguado a 24 horas, 7 y 28 días de endurecido.

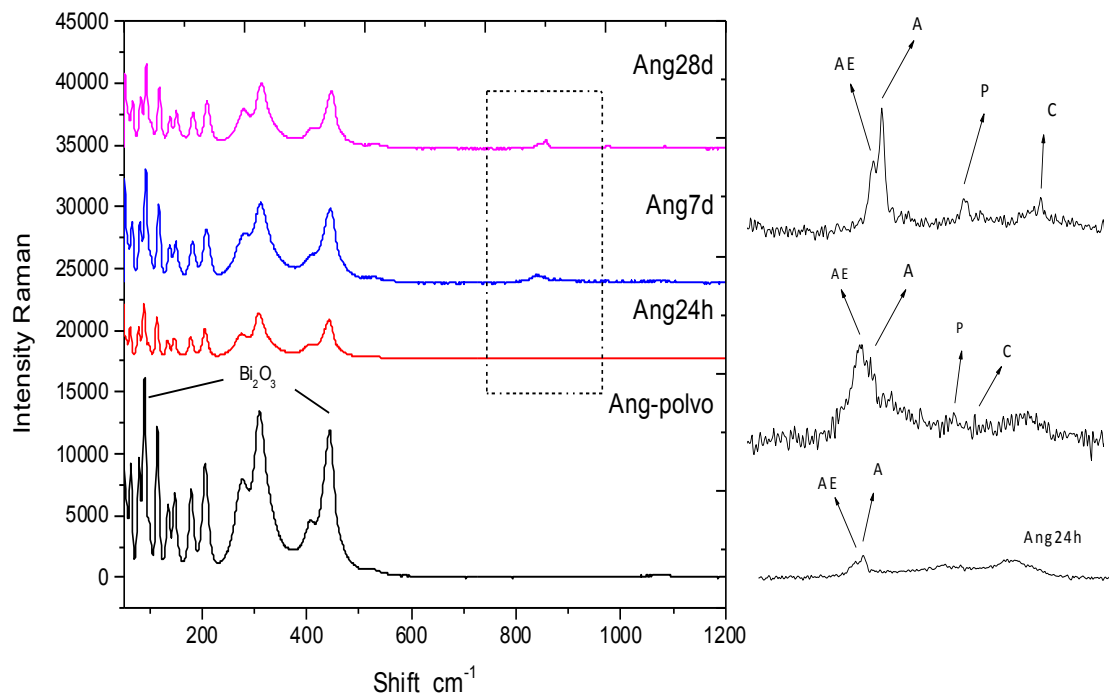


Figura 33. Espectro Raman de MTA-Ang en polvo y durante 24 horas, 7 y 28 días de endurecido.

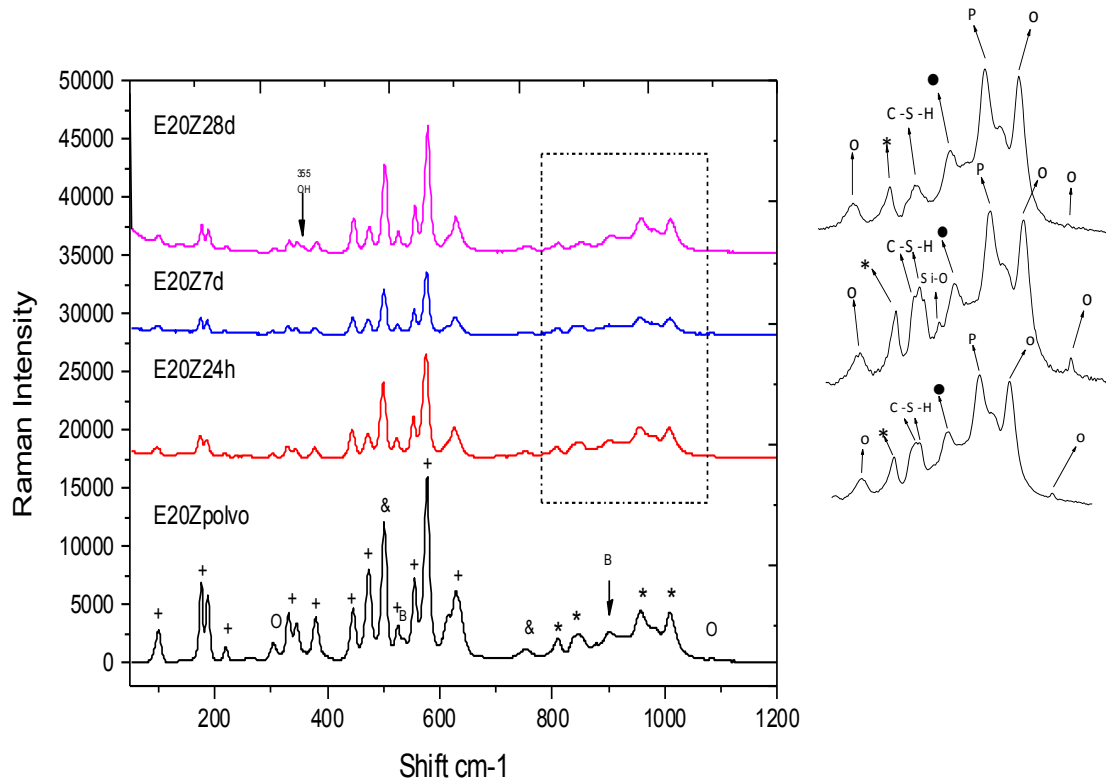


Figura 34. Espectro Raman de E20Z en polvo y durante el tiempo de fraguado a 24 horas, 7 y 28 días.

También se realizó el análisis de Raman para los grupos con aditivo durante el fraguado a 24 horas, 7 días y 28 días, los cuales fueron los siguientes: cemento experimental con 5% de hidroxiapatita (EZ5H), cemento experimental con 15% de hidroxiapatita (EZ15H), cemento experimental con 5% de calcita (EZ5C) y cemento experimental con 15% de calcita EZ15C. En los grupos con agregados de hidroxiapatita y carbonato se confirmó la presencia de dichos elementos con los modos vibracionales en 579, 965, 1008, 1042 cm^{-1} correspondientes a la hidroxiapatita (98,99), la cual se muestra en las Figuras 35 y 36.

Los grupos EZ5C y EZ15C muestran los modos vibracionales en 280, 713 y 180 cm^{-1} correspondientes a la calcita que es una fase del carbonato de calcio (108).

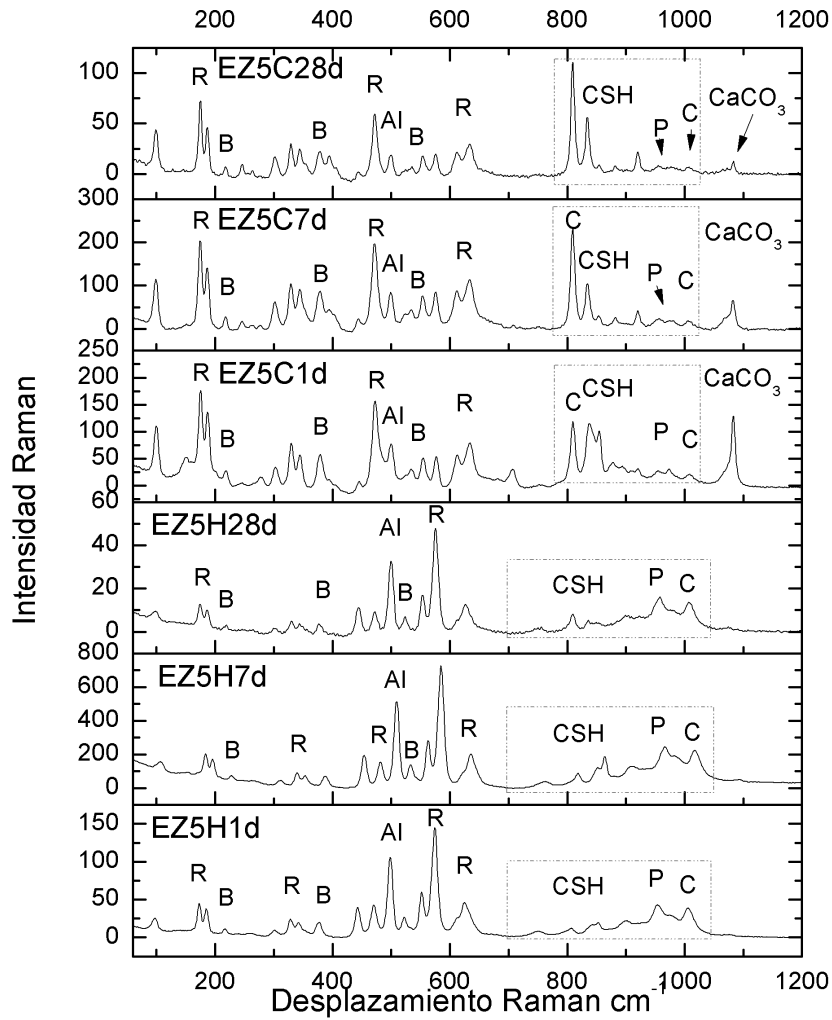


Figura 35. Comparación de los espectros Raman de EZ5H y EZ5C obtenidas en distintos tiempos de endurecimiento. **A**, silicato tricálcico; **B**, silicato dicálcico; **HA**, hidroxiapatita; **C**, carbonato de calcio; **R**, agente radiopacador.

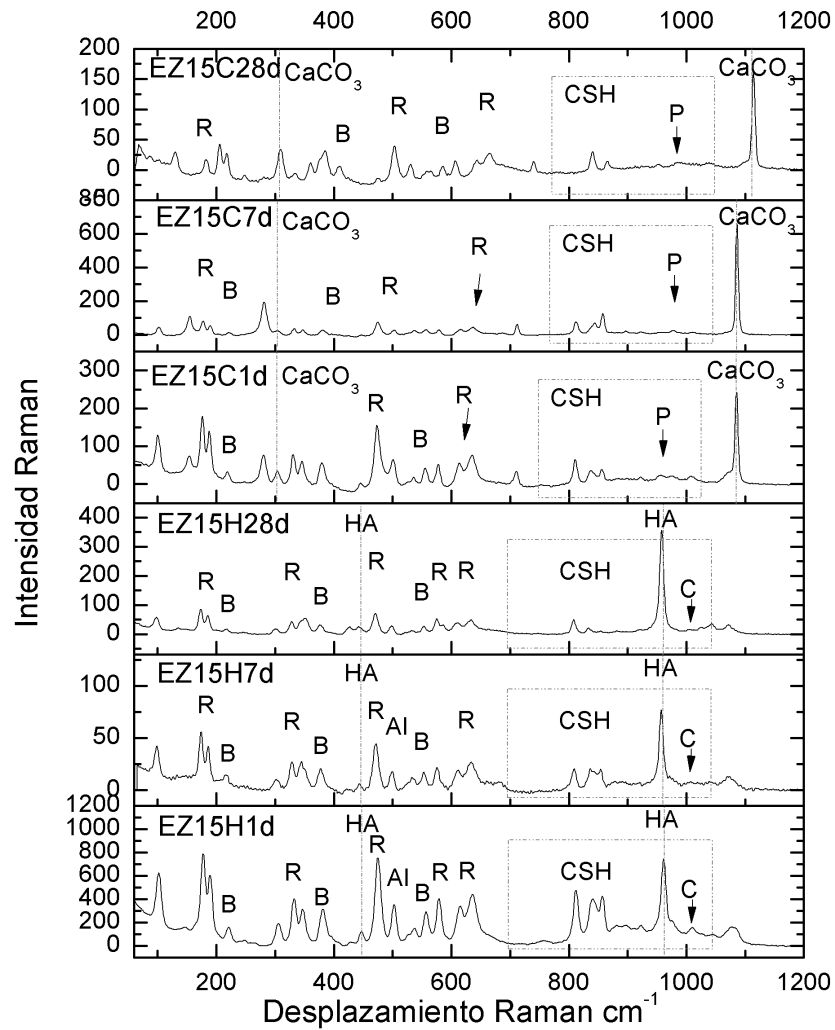


Figura 36. Comparación de los espectros Raman de EZ15H y EZ15C a distintos tiempos de endurecimiento. **A**, silicato tricálcico; **B**, silicato dicálcico; **HA**, hidroxiapatita; **C**, carbonato de calcio; **R**, agente radiopacador.

3.4.3 SEM

Se empleó SEM para poder observar la morfología tanto en polvo como a los distintos tiempo de fraguado de los cementos control y experimental. En la Figura 37 se pueden observar partículas irregulares y compactas al no estar hidratado el cemento. Así también, encontramos piso compacto y zonas esponjosas asemejando redes a las 24 horas. Encontramos partículas compactas, lisas y otras rugosas y en forma de cúmulos a los 28 días en Biod. Así mismo, se observaron partículas compactas con gránulos esféricos unidos unos con otros a las 24 horas, formaciones más compactas con agregados fibrilares a los 28 días en MTA-Ang. Y en E20Z a las 24 horas se ven superficies compactas y planas; a los 7 días, además de las zonas planas, se observan pequeños agregados sobre estas superficies. Por último, se observan agregados fibrilares que cubren toda la superficie, así como la formación clara de placas superpuestas entre sí a los 28 días.

En la Figura 38 se muestran de igual manera superficies compactas; sin embargo, al llegar a los 28 días de endurecimiento, se pueden observar zonas filamentosas y formación de cristales, los cuales se observaron en mayor número en EZ15C, por lo que posiblemente pudiera ser formación de calcita.

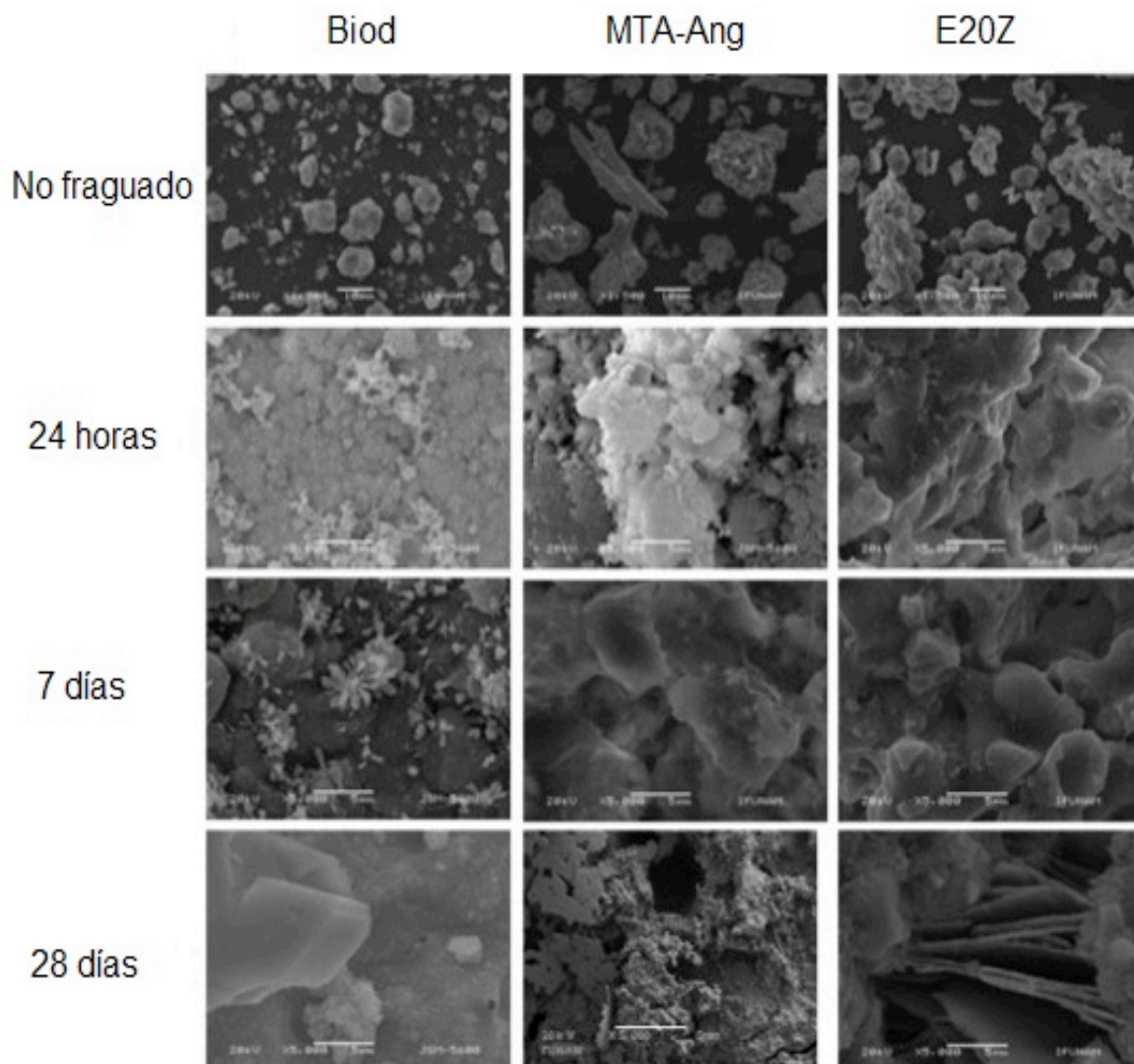


Figura 37. Micrografías SEM de los tres grupos experimentales en polvo y a distintos tiempo de fraguado.

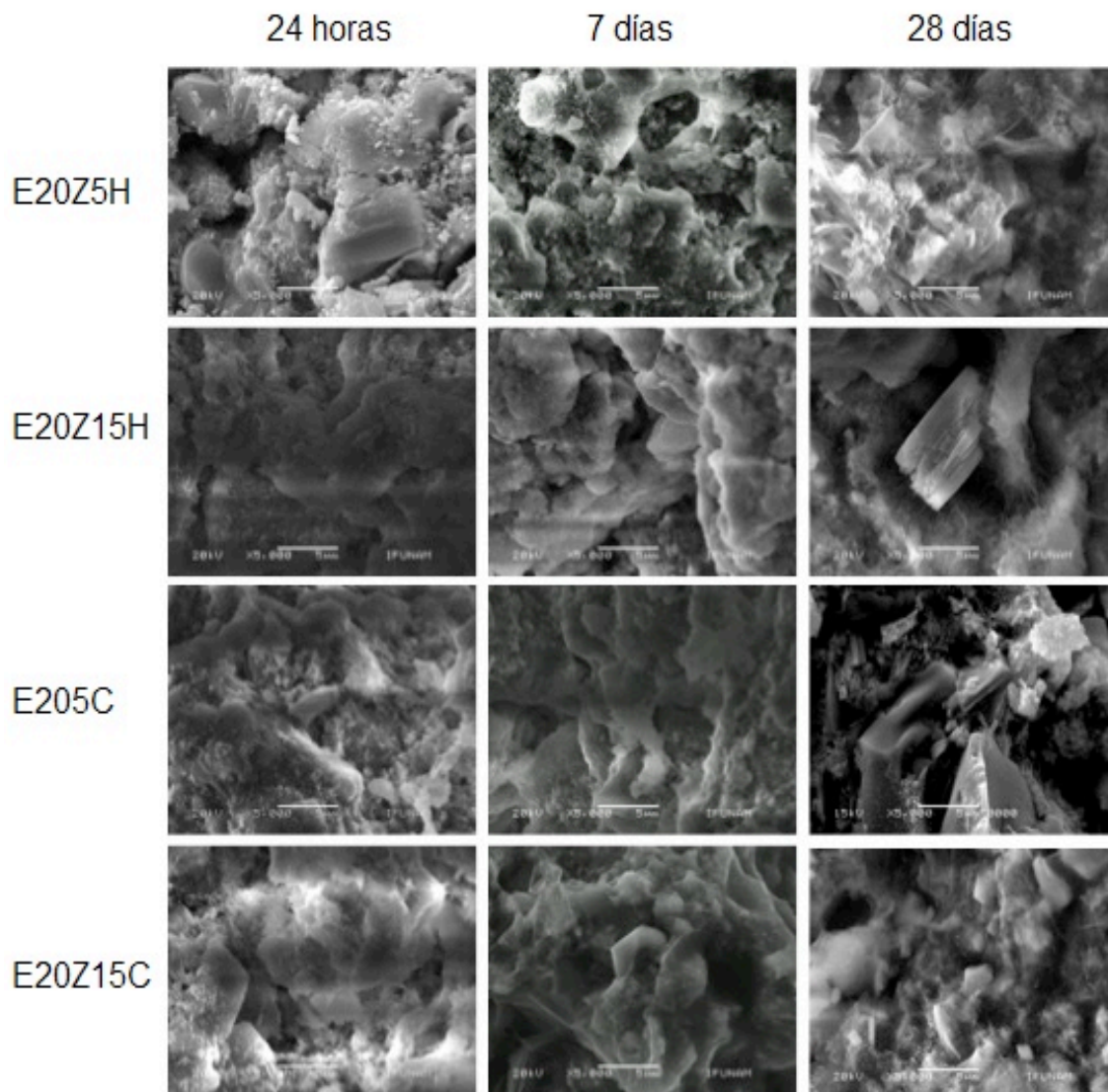


Figura 38. Micrografías SEM de los grupos experimentales EZ5H, EZ15H, EZ5C y EZ15C en polvo y a distintos tiempo de fraguado.

Para confirmar lo anterior, se decidió realizar un análisis elemental con EDS.

3.4.4 EDS

El análisis de EDS (Energy Dispersive Spectrometry) arrojó que dentro de los componentes que se presentan en mayor cantidad en los tres cementos es carbono, oxígeno. En Biod y E20Z se observa en menor cantidad están el zirconio por ser el agente radiopacador. MTA-Ang mostró, además de los componentes anteriormente mencionados, sodio, aluminio y bismuto (agente radiopacador). Los resultados se muestran en la Figura 39.

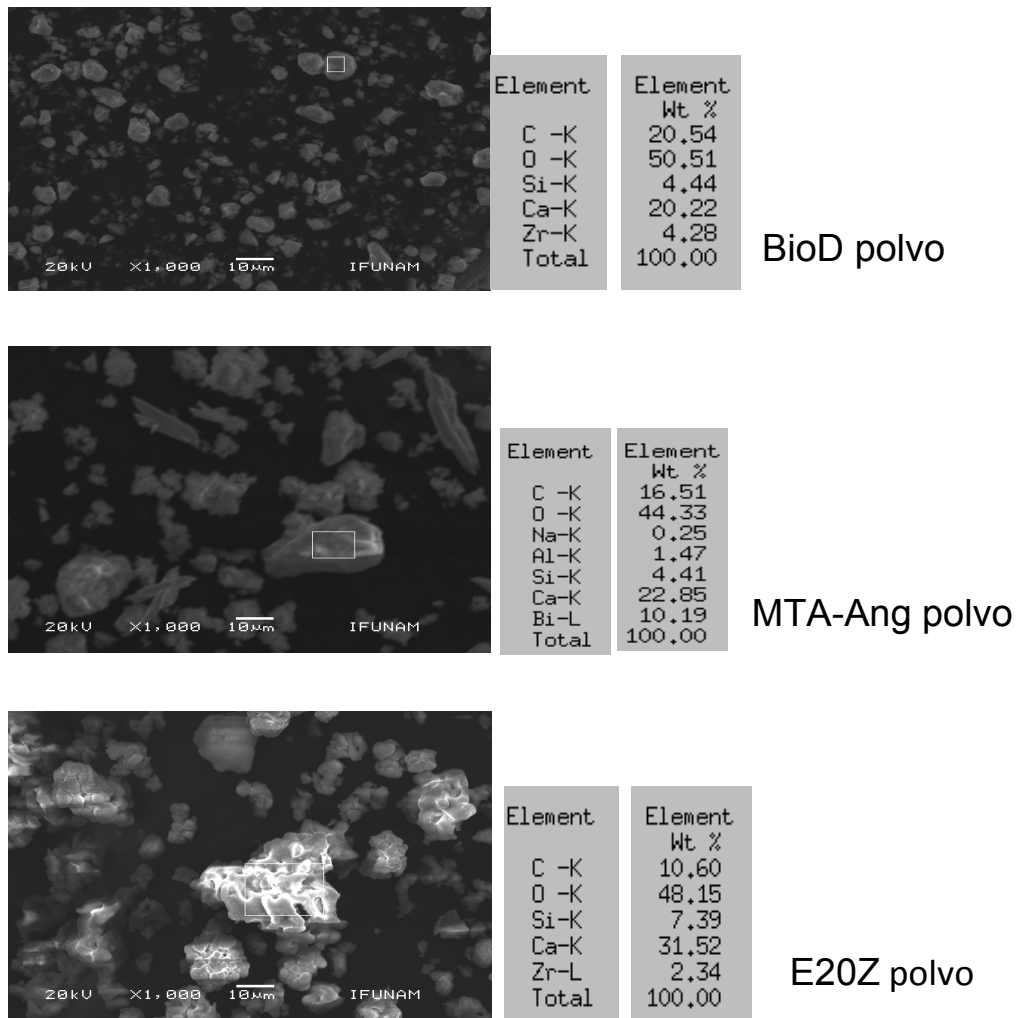


Figura 39. Análisis EDS de los grupos control y experimental.

En la Tabla 14 se muestra el porcentaje en elementos de los tres cementos, tanto comerciales como experimental (sin aditivos). Se observan los elementos principales en los tres cementos, como son: calcio, silicio, oxígeno. Tanto en Biod y clinker el calcio es el elemento en mayor cantidad seguido por el oxígeno. Se observa sodio y bismuto, en grandes cantidades este último, solamente en MTA-Angelus. El zirconio está presente en Biod, pero no en clinker. Las imágenes y los EDS se muestran en la Figura 40.

Tabla 14. Porcentaje elemental promedio (Wt%) de los cementos comerciales y el experimental a diferentes tiempos de endurecimiento.

	Biod			MTA-Ang			clinker		
	24h	7d	28d	24h	7d	28d	24h	7d	28d
C	6.3	1.6	4.0	16.6	23.0	3.4	18.1	14.5	23.0
O	30.1	38.7	43.3	44.3	37.0	13.0	45.1	39.7	0.0
Ca	51.7	51.7	42.5	11.4	17.4	11.6	23.8	33.1	59.7
Si	9.6	4.8	6.6	4.5	2.7	2.2	9.2	6.5	6.82
Cl	2.32	0.5	2.5	0.0	0.0	0.0	3.9	5.0	4.8
Al	0.0	0.26	0.0	1.5	1.1	0.5	0.7	1.3	8.8
Zr	0.0	2.4	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Na	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Bi	0.0	0.0	0.0	19.2	18.7	69.0	0.0	0.0	0.0
% Final	100	100	100	98	100	100	100	100	100

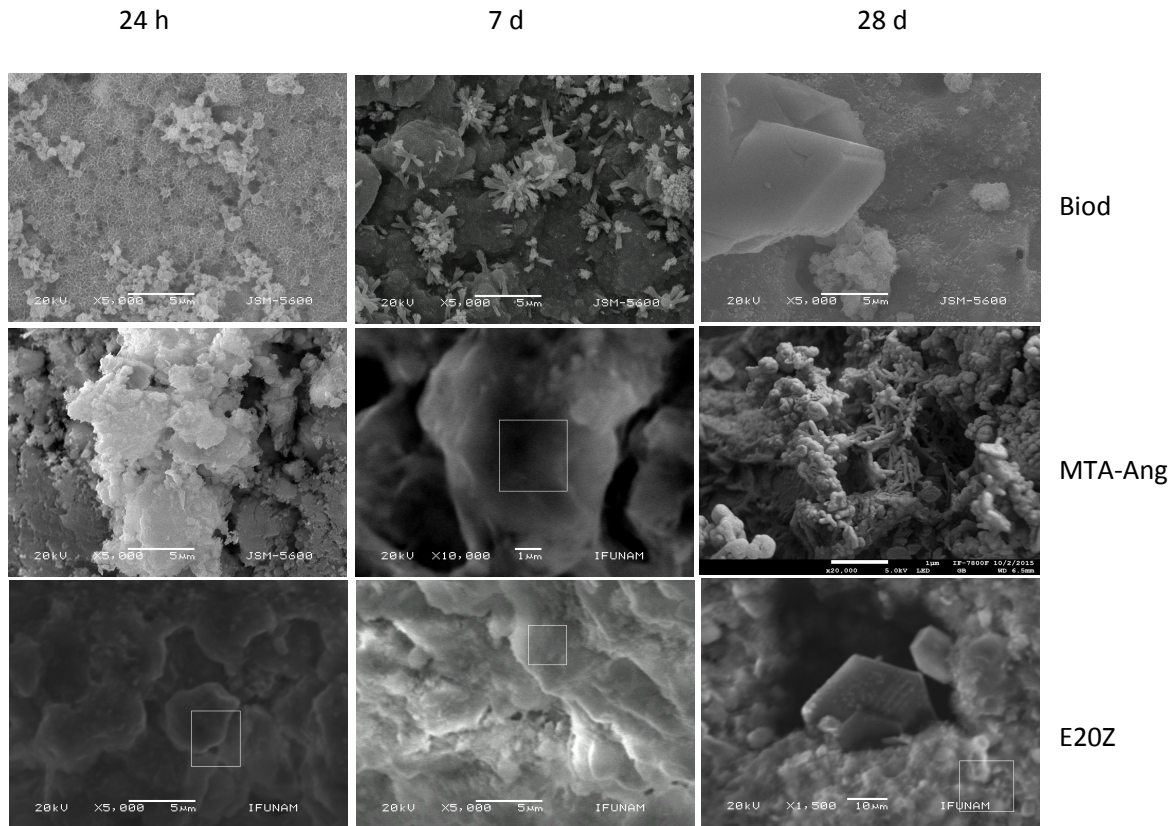


Figura 40. Micrografías y análisis EDS de las muestras de los cementos comerciales y experimental.

El resultado obtenido del análisis EDS de los grupos de cemento experimental (E20Z) con agregados de HAp al 5% y 15% (EZ5H, EZ15H, respectivamente) y CaCO_3 al 5% y 15% (EZ5C y EZ15C, respectivamente) se muestra en el conjunto de la Figura 38 y de la Tabla 15. Los resultados son el promedio del análisis realizado en tres zonas diferentes de cada muestra. Las imagenes se muestran en la figura 41.

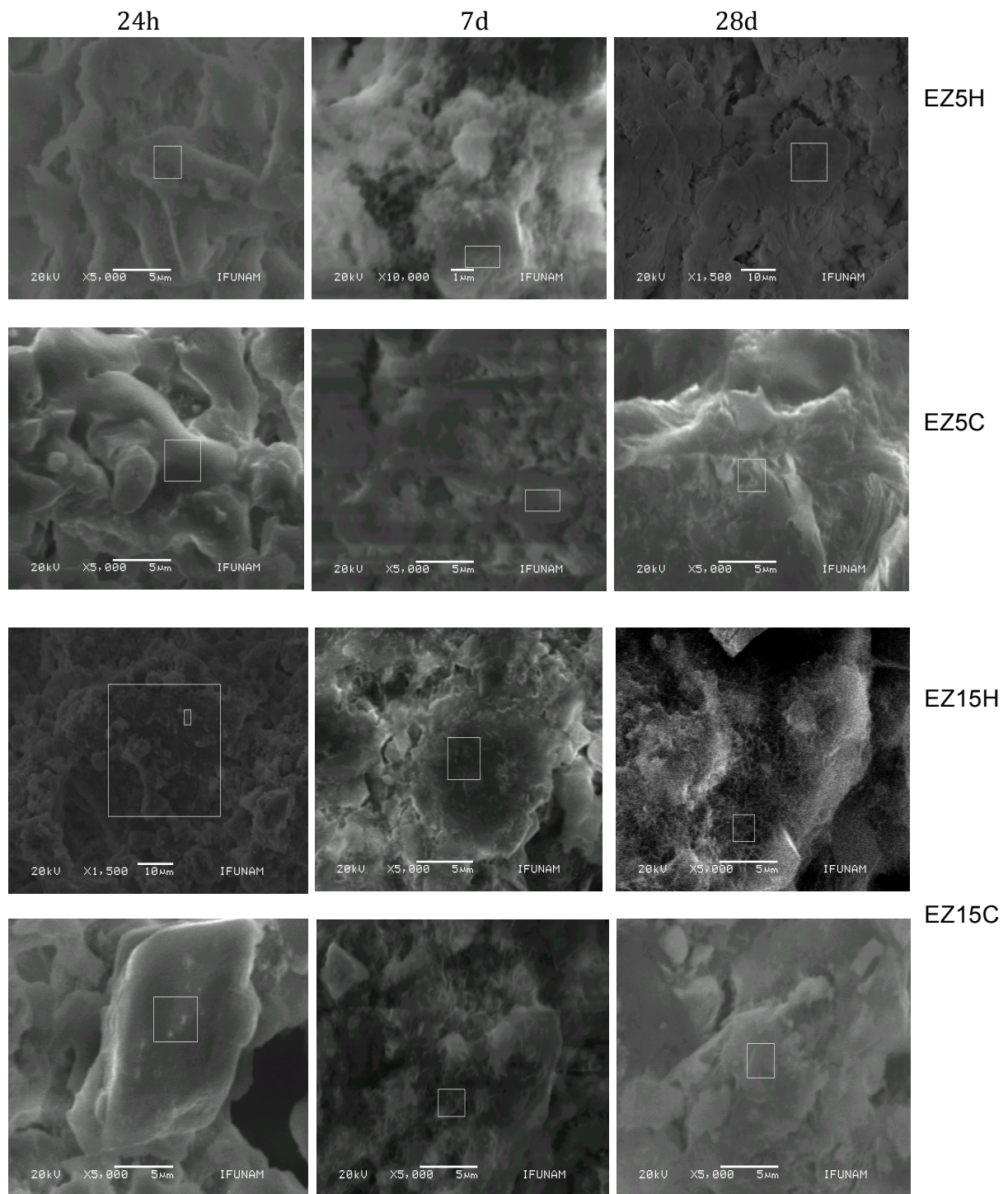


Figura 41. Micrográficas y análisis EDS de las muestras de cemento experimental con agregados de hidroxiapatita y carbonato de calcio.

Tabla 15. Porcentaje elemental promedio (Wt%) del cemento experimental con agregados de hidroxiapatita y carbonato a diferentes tiempos de endurecimiento.

	EZ5H			EZ15H			EZ5C			EZ15C		
	24h	7d	28d	24h	7d	28d	24h	7d	28d	24h	7d	28d
C	11.3	2.1	9.1	12.2	15.2	7.9	21.3	12.2	7.6	10.9	11.7	10.8
O	30.7	24.7	41.6	47.4	34.8	40.5	26.7	40.8	38.1	36.2	30.4	42.2
Ca	46.2	37.5	36.9	22.4	24.2	39.3	35.7	22.7	47.4	43.2	41.8	36.7
Si	5.7	15.8	6.2	7.9	1.6	3.5	6.6	4.5	5.4	3.8	12.4	8.9
Cl	5.4	16.0	3.1	4.0	6.2	4.8	8.8	4.8	0.9	5.4	2.3	1.3
Al	0.7	1.3	3.2	0.5	0.5	3.9	0.9	0.9	0.6	0.5	1.5	0.2
Zr	0.0	2.6	0.0	0.0	11.7	0.0	0.0	14.2	0.0	0.0	0.0	0.0
P	0.0	0.0	0.0	5.6	5.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
% final	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

En estos resultados se puede ver que en la mayoría de las ocasiones a los 28 días hay disminución de C y el Al se encuentra en cantidades muy pequeñas. Se confirma que los elementos presentes en mayor cantidad son Ca, O, C y Si.

3.4.5 Evaluación de la Radiopacidad

MTA-Ang mostró una radiopacidad de 6.5 mmAl en comparación con Biod que mostró 3.6 mm Al y E20Z con 3.5 mm Al. Otro grupo que mostró estar por arriba de los demás fue EZ15C con 4.07 mm Al. Todos los grupos cumplieron con la Norma ISO 6876 (91) de estar por arriba de 3 mm Al. Los datos se muestran en la Figura 42. El grupo que mostró diferencias estadísticamente significativas fue MTA-Ang con todos los grupos (Tabla 16).

Tabla 16. Promedio y desviación estándar de la prueba de Radiopacidad.

Variable	Biod (n=10)	MTA-Ang (n=10)	E20Z (n=10)	EZ5H (n=10)	EZ15H (n=10)	EZ5C (n=10)	EZ15C (n=10)
RO	3.6±.14	6.2±.96	3.5 ±.27	3.5 ±.29	3.7 ±.17	3.6 ±.23	4.1±.40

* ANOVA de una vía, con prueba post hoc Tukey, $p = 0.0001$. Se obtuvo una $F_c = 48.3 > F_t = 2.224$.

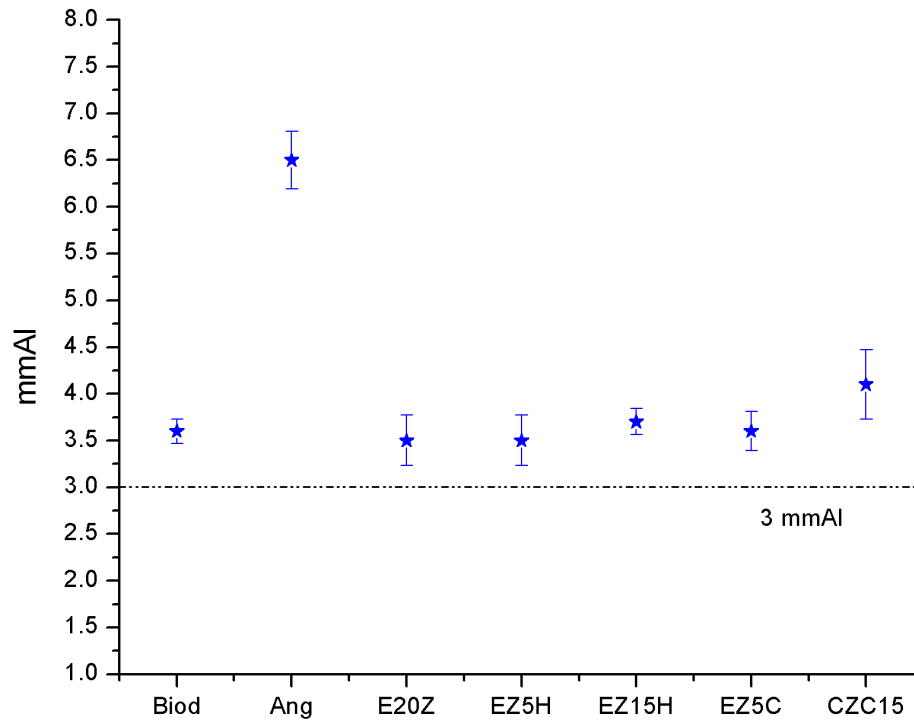


Figura 42. Radiopacidad de todos los grupos de estudio. La línea punteada muestra los mm de Al exigidos por la Norma ISO 6876:2001 para aprobar la prueba.

3.4.6 Evaluación de pH

Se encontró que Biod es el cemento que muestra los valores más altos en pH de 13.8 a los 7 días que posteriormente disminuyó 10.4 a los 28 días. Los cementos experimentales siguieron con valores altos (EZ5H, EZ15H, EZ5C y EZ15C) dentro de las primeras 24 h. Posteriormente, disminuyó notablemente hasta llegar a 8.1 a los 28 días. Sin embargo, el que mostró valores más bajos fue MTA-Ang iniciando con pH 9.8 y terminando con pH 8.3 (Figura 43).

Los grupos que mostraron diferencias estadísticamente significativas fueron los siguientes: a las 24 horas MTA-Ang contra todos los grupos, E20Z contra todos los grupos; 7 días Biod contra todos los grupos; 14 días Biod contra todos los grupos; 21 días Biod contra todos los grupos; 28 días Biod contra todos los grupos. Los datos se explican más específicamente en las Tablas 17 y 18.

Tabla 17. Promedio y desviación estándar de la prueba de pH.

Variable	Biod (n=10)	MTA-Ang (n=10)	E20Z (n=10)	EZ5H (n=10)	EZ15H (n=10)	EZ5C (n=10)	EZ15C (n=10)	
pH	24h	11±0.45*	10±0.41*	11±0.44*	11±1.4*	11±0.85*	12±1*	11±0.6*
	07d	14±3.6*	8±0.26*	8±0.25*	8±0.25*	8±0.36*	8±0.33*	8±0.14*
	14d	12±0.53*	8±0.07*	8±0.14*	8±0.09*	8±0.08*	8±0.24*	8±3.0*
	21d	12±0.84*	8±0.12*	8±0.11*	8±0.10*	8±0.09*	7±2.7*	8±0.1*
	28d	10±1.3*	8±0.07*	8±0.1*	8±0.11*	8±0.04*	8±0.1*	8±0.06*

* ANOVA de una vía, con prueba post hoc Tukey, *p=0.0001

Tabla 18. Resultados del análisis de varianza. Sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Tiempo	F_c vs F_t
24 h	5.752 > 2.254
07 d	21.828 > 2.254
14 d	15.618 > 2.286
21 d	13.53 > 2.286
28 d	7.68 > 2.254

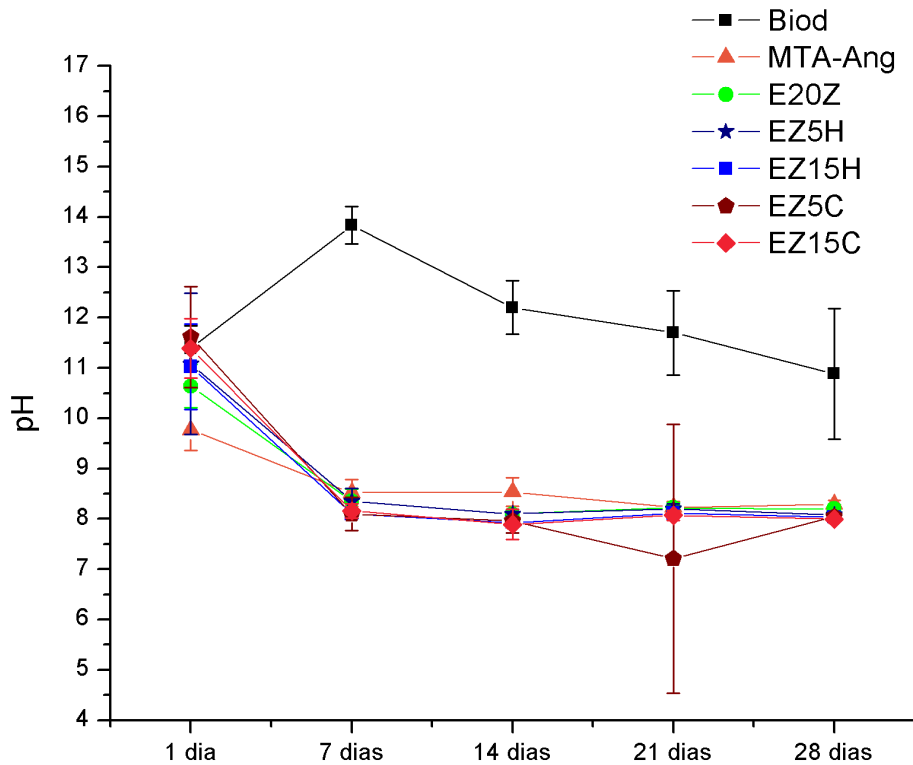


Figura 43. Evaluación del pH de los grupos de estudio. Se muestran las desviaciones estándar de cada grupo.

3.4.7 Evaluación de la Solubilidad

La Norma ISO 6876 (91) exige que la solubilidad de un cemento MTA no debe de sobrepasar el 3% de pérdida de material. Basado en lo anterior, el grupo que presentó mayor pérdida de material fue MTA-Ang con 8.36% y otro fue EZ5C con 1.18% y el grupo EZ15H mostró 0.21%. A diferencia de todos los demás grupos, Biod más que pérdida de material mostró sorción de agua, que

se obtuvo -0.32% indicando que en vez de perder material, ganó material (Figura 44 y Tabla 19). De acuerdo a la Norma los cementos que cumplen con la prueba de solubilidad son todos, excepto de MTA-Ang.

Tabla 19. Promedio y desviación estándar de la prueba de solubilidad.

Variable	Biod (n=10)	MTA-Ang (n=10)	E20Z (n=10)	EZ5H (n=10)	EZ15H (n=10)	EZ5C (n=10)	EZ15C (n=10)
Solubilidad (%)	-0.003±0.0	0.08±0.23	0.000±0.0	0.001 ±0.0	0.002±0.0	0.012 ±0.01	0.001±0.00

ANOVA de una vía, con prueba post hoc Tukey, $p = 0.370$. Se obtuvo una $F_c=1.109 < F_t=2.224$.

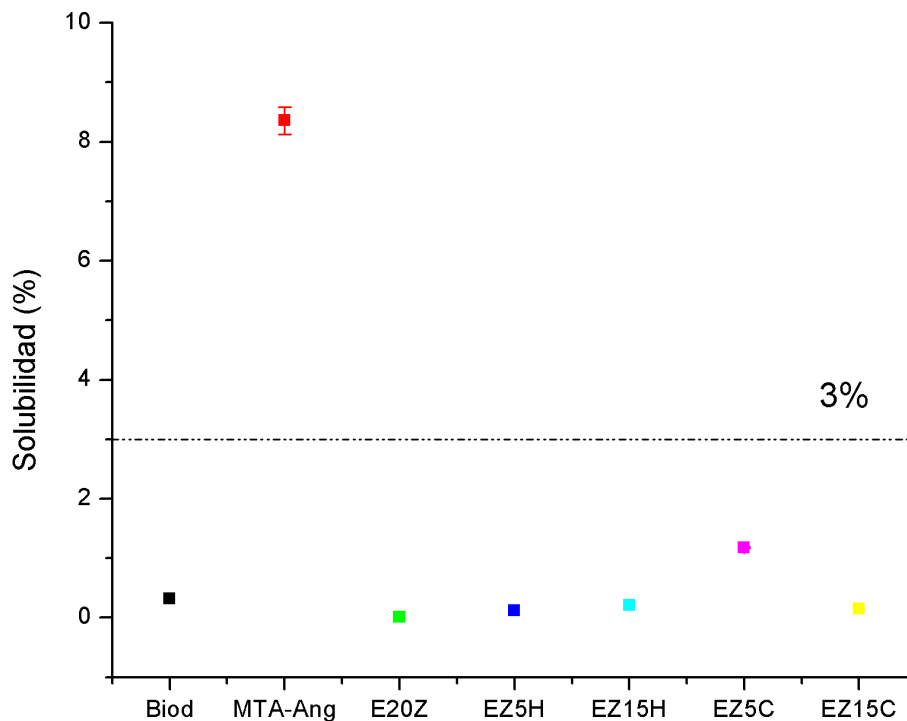


Figura 44. Porcentaje de solubilidad de todos los grupos de estudio.

3.4.8 Evaluación de tiempo de fraguado

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de fraguado entre los tres principales grupos: Biod, MTA-Ang y E20Z, correspondiendo Biod a 26 minutos, MTA-Ang de 27 minutos y E20Z a 28 minutos. Los grupos que sí presentaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 20) fueron MTA-Ang vs EZ5C. Otra diferencia fue entre los grupos de EZ5H vs Biod. Los grupos que mostraron diferencias estadísticamente significativas fueron los siguientes: EZ5H \neq MTA-Ang, E20Z, EZ5C y BioD; BioD \neq EZ5H y EZ15C. Se puede observar en la Figura 45.

Tabla 20. Promedio y desviación estándar de la prueba de Tiempo de fraguado.

Variable	Biod (n=10)	MTA-Ang (n=10)	E20Z (n=10)	EZ5H (n=10)	EZ15H (n=10)	EZ5C (n=10)	EZ15C (n=10)
TF (min)	26.2±2.2	27.4±2.5	27.0±5.9	35.0±3.3	28.5±4.7	28.4±4.1	33.6±7.9

* ANOVA de una vía, con prueba post hoc Tukey, $p = 0.0001$. Se obtuvo una $F_c = 5.078 > F_t = 2.224$.

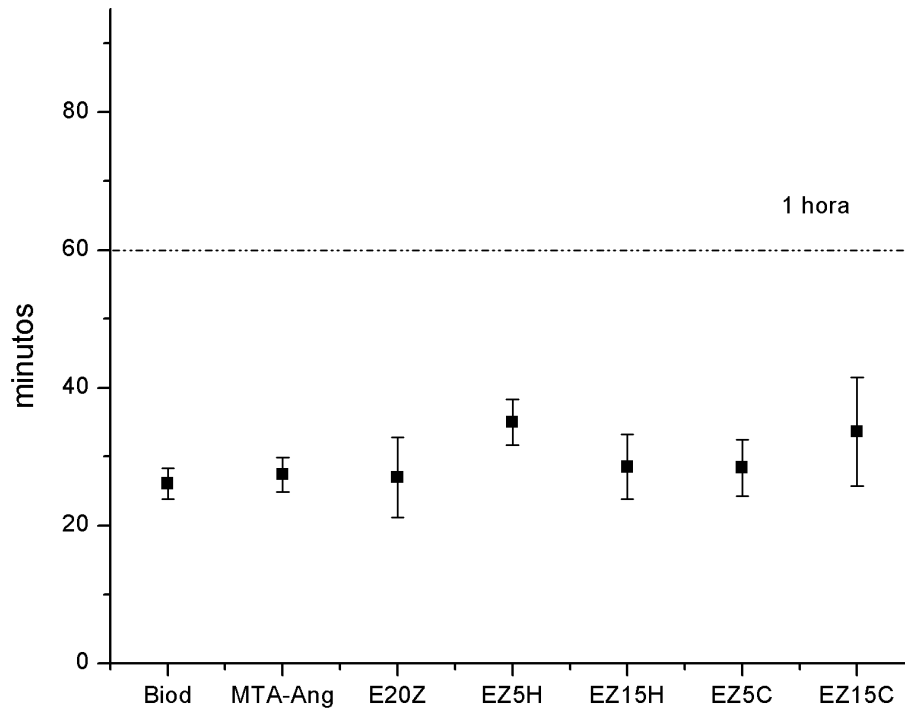


Figura 45. Tiempo de fraguado. La Norma ISO 6876 marca de 2 a 72 h.

Durante esta prueba se observaron los tiempos de manipulación y trabajo de las muestras, los cuales fueron aproximadamente de 2 y 4 minutos para Biod, 30 s a 1.5 minutos para MTA-Ang y, 1 y 3 minutos para el E20Z, respectivamente. Referente a la consistencia de Biod es variante de cápsula a cápsula aún agregando la cantidad recomendada por el fabricante pero con consistencia cremosa y manipulable, MTA-Ang es un poco más arenosa y poco manipulable después de 1.5 minutos de trabajo. Finalmente, el E20Z presenta una consistencia cremosa y manipulable hasta por 2 minutos.

3.4.9 Evaluación de la Resistencia a la compresión

Las muestras que presentaron una mayor resistencia a la compresión a las 24 h, 7 días y 28 días después de haber comenzado el fraguado del material fue Biod, mientras que MTA-Ang fue el más bajo de todos los grupos. Por último, el E20Z se encontró con valores entre los dos grupos control. Los grupos con agregado de 5 y 15% de hidroxapatita y carbonato de calcio que tuvieron los valores más altos fueron: EZ15H y EZ15C a 24 horas 18 y 22 MPa, EZ5H y EZ5C con 59 y 26 MPa a los 7 días y a los 28 días todos presentaron valores altos, excepto EZ5C (Figura 46)

Los grupos que mostraron diferencias estadísticamente significativas fueron los siguientes: a las 24 h MTA-Angelus y Biod diferentes a todos los grupos; 7 días Biod y EZH5 diferente a todos los grupos; 14 días Biod diferente a todos los grupos, MTA-Ang diferente a EZ15H, EZ5C; 21 días Biod diferente a todos los grupos, EZ5C diferente de MTA-Ang, EZ5H, EZ15H; 28 días Biod diferente a todos los grupos (Tabla 21). Las diferencias de F de tablas y F calculada se muestran en la Tabla 22.

Tabla 21. Promedio y desviación estándar de la prueba de Resistencia a la compresión.

Variable	Biod (n=10)	MTA-Ang (n=10)	E20Z (n=10)	EZ5H (n=10)	EZ15H (n=10)	EZ5C (n=10)	EZ15C (n=10)	
RC (MPa)	24 h	81±22*	3±.63*	15±4.1*	13±2.3*	18±3.9*	11±1.5*	22±4.8*
	07 d	105±45*	27±11.7*	23±4.1*	58±111*	24±8.2*	18±6.5*	26±5.3*
	14 d	130±27.7*	43±13.7*	30±5.2*	27±3.4*	39±7.5*	17±4.8*	31±5.7*
	21 d	93±29.5*	35±13.6*	31±9.2*	36±5.9*	41±7.4*	16±2.4*	33±6.9*
	28 d	89±50.8*	23±8.6*	37±9.4*	37±7.2*	36±6.7*	21±7.3*	41±19*

* ANOVA de una vía, con prueba post hoc Tukey, *p=0.0001.

Tabla 22. Resultados del análisis estadístico ANOVA. Sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Tiempo	F_c vs F_t
24 h	86.2 > 2.254
07 d	4.7 > 2.254
14 d	92.9 > 2.254
21 d	31.4 > 2.254
28 d	10.8 > 2.254

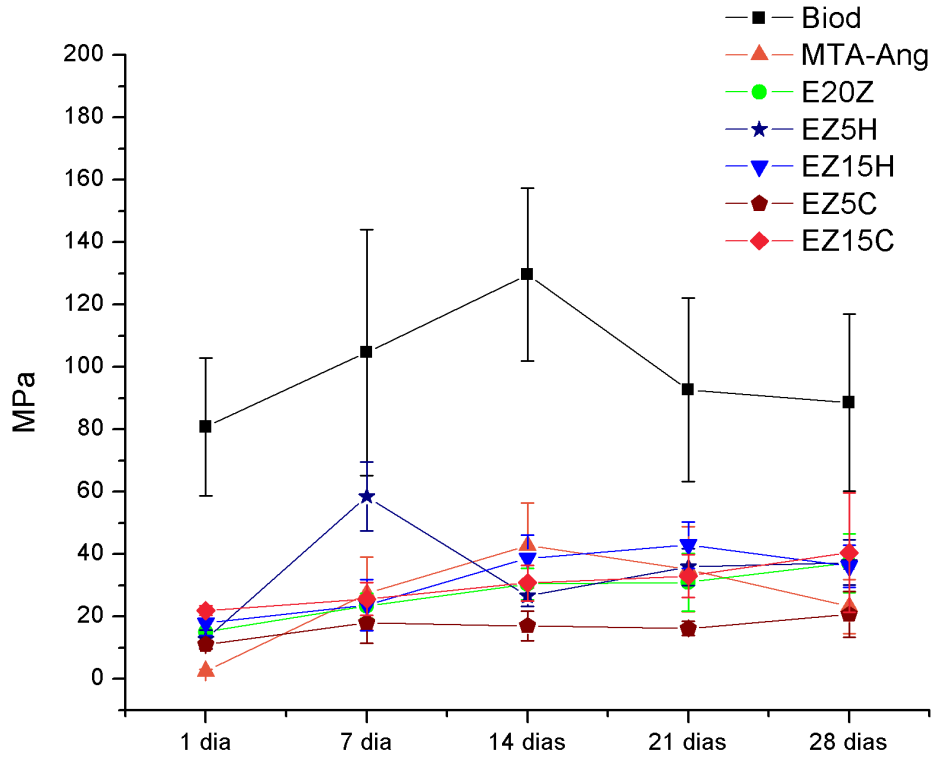


Figura 46. Resistencia a la compresión de todos los grupos de estudio.

3.4.10 Evaluación del Cambio dimensional

De acuerdo con lo que señala la Norma ISO 6876 (91), en la prueba de contracción, el cemento no debe de sobrepasar el 1% y, en la de expansión el 0.1%. De acuerdo con esta prueba de cambio dimensional en contracción los grupos que cumplen con ella son: EZ5H, EZ5C y EZ15C. EZ15H sólo cumple hasta llegar al tiempo de fraguado de 14 días (Figura 47). Los grupos que no cumplieron fueron los dos cementos comerciales Biod y MTA-Ang, este último mostrando mucho cambio dimensional. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ningún grupo (Tablas 23 y 24).

Tabla 23. Promedio y desviación estándar de la prueba de cambio dimensional.

Variable		Biod (n=10)	MTA-Ang (n=10)	E20Z (n=10)	EZ5H (n=10)	EZ15H (n=10)	EZ5C (n=10)	EZ15C (n=10)
CD	24 h	0.32±0.1*	0.16±0.05*	0.14±0.04*	0.09±0.03*	0.16±0.05*	0.1 ±0.05*	0.1±0.04*
	07 d	0.04±0.01†	0.16±0.05†	0.15±0.05†	0.09±0.03†	0.16±0.05†	0.12±0.04†	0.12±0.04†
	14 d	0.16±0.05°	0.16±0.05°	0.14±0.05°	0.09±0.03°	0.16±0.05°	0.1±0.03°	0.1±0.04°
	21 d	0.14±0.04+	0.14±0.04+	0.15±0.05+	0.09±0.03+	0.16±0.05+	0.09±0.03+	0.12±0.04+
	28 d	0.03±0.01†	0.16±0.05†	0.16±0.05†	0.1±0.03†	0.15±0.05†	0.09±0.03†	0.12±0.04†

*ANOVA de una vía, con prueba post hoc Tukey, *p=0.414, †p=0.002, +p=0.124, °p=0.639.

Tabla 24. Resultados del análisis estadístico ANOVA. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Tiempo F_c vs F_t

24 h 0.823 < 2.254

07 d 0.651 < 2.254

14 d 0.0386 < 2.254

21 d 1.338 < 2.254

28 d 1.217 < 2.254

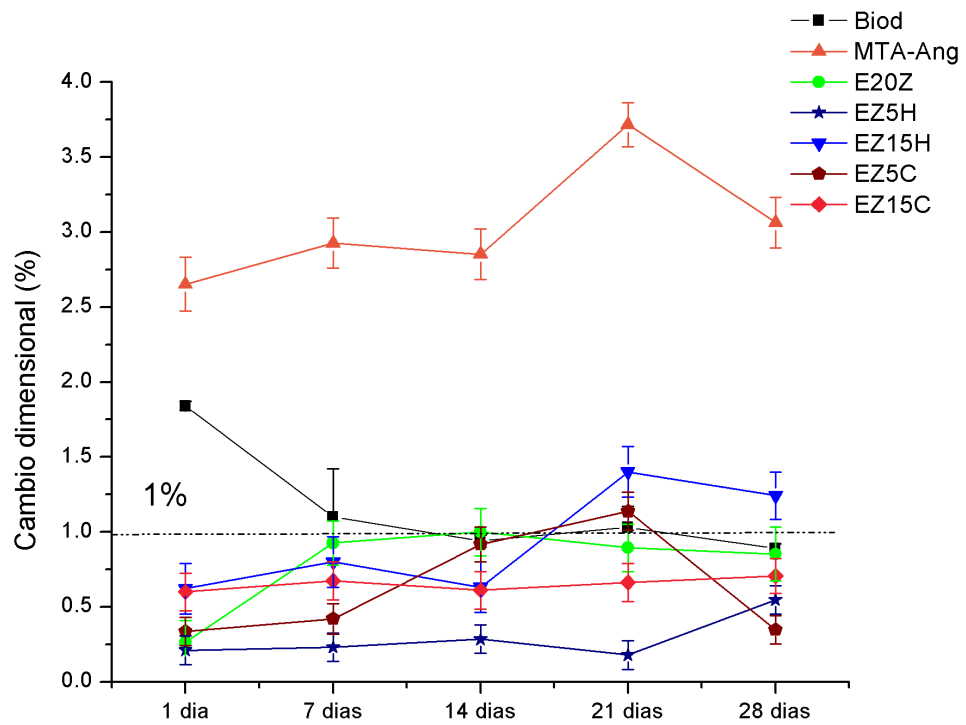


Figura 47. Cambio dimensional de todos los grupos de estudio.

3.4.11 Evaluación de la Reabsorbilidad

Para poder determinar si existía formación de hidroxiapatita en la superficie del cemento y con ello ayudar a un mejor sellado con el diente. Las muestras se analizaron mediante la prueba de Difracción de rayos X con haz rasante, para solo analizar la superficie del cemento.

Por medio de esta prueba se pudo observar que Biod, MTA-And y E20Z presentan formación de hidroxiapatita al mes de estar en inmersión en solución SBF (Figura 48).

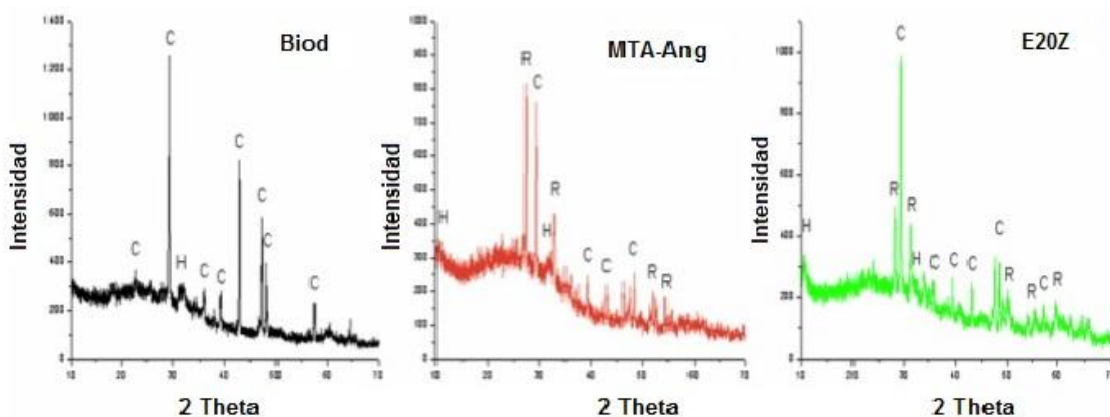


Figura 48. Muestra presencia de hidroxiapatita en los cementos fraguados tanto controles como experimental. Donde **H** es hidroxiapatita, **C** es CaCO₃ y **R** radiopacador.

De la misma manera puede observarse que los grupos con aditivos de hidroxiapatita 5 y 15 % tienen un incremento notable en la intensidad de acuerdo con la cantidad de aditivo. Mientras que en los grupos con aditivo de CaCO₃, no se observa hidroxiapatita (Figura 49) ni en MTA-Ang o E20Z.

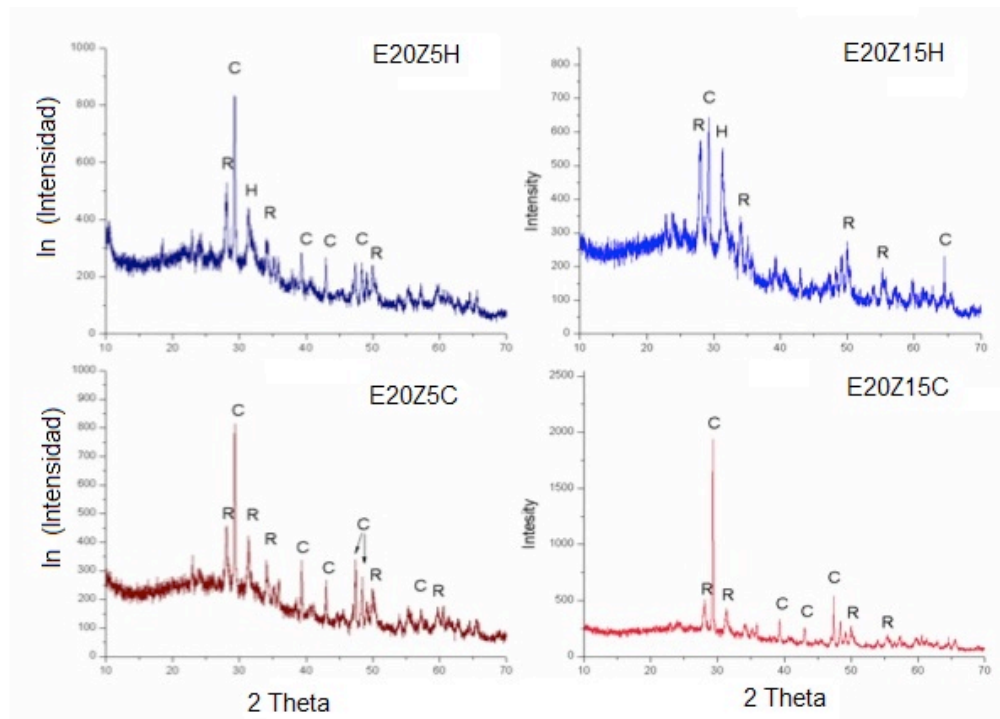


Figura 49. Muestra presencia de hidroxiapatita en los cementos experimentales con aditivos. Donde **H** es hidroxiapatita, **C** es CaCO_3 y **R** radiopacador.

Capítulo 4

Discusión

El MTA es un cemento de obturación retrógrada ampliamente utilizado en odontología, dejando atrás a la amalgama dental, IRM y Súper EBA, debido a sus diversas aplicaciones. Sin embargo, a pesar de ser un material que tiene muchas aplicaciones, también tiene algunas desventajas, como son el largo tiempo de fraguado y la baja resistencia a la compresión. Por lo que, en este estudio, fueron evaluados dos cementos de origen comercial y uno experimental al que se le agregaron nanopartículas de hidroxiapatita y carbonato de calcio como material de relleno.

Micro-Raman es considerada una herramienta importante para el estudio de los cementos, la cual se ha utilizado desde hace tres décadas (102). Por esto fue una técnica utilizada para la realización del análisis tanto de las nanopartículas de hidroxiapatita como del cemento hidratado y no hidratado, como un análisis complementario a XRD.

Dicho análisis se empleó para confirmar la fase correspondiente a la nHAp encontrada por medio de XRD, así como para confirmar, junto con FT-IR, la presencia de carbonato en las muestras HAp4, HAp5 y HAp7. Con respecto a esto, Lafon et al. (95) mencionaron que a veces los iones fosfato de hidrógeno pueden estar presentes en la estructura de las apatitas sintéticas carbonatadas debido a la fácil sustitución de fosfatos en HAp durante la síntesis, verificada por una banda a 875 cm^{-1} difícil de encontrar en los espectros (95).

Potgieter-Vermaak (102) reportó los modos vibracionales de la alita triclínica (C3S) en $\nu_1\text{ SiO}_4$ y sus satélites. En otro estudio se mencionó la vibración de la belita (C2S) en 860 cm^{-1} (109); sin embargo, Remy la encontró en 977 cm^{-1} (103), correspondiendo a la frecuencia más alta.

La fase de aluminato tricálcico (C3A) ha sido asignada a la vibración AlO_4 en PC (cemento Portland), misma que se localiza en E20Z. Según algunos

estudios, esta fase aparece en menor proporción con respecto a la alita y belita en el cemento Portland blanco (110), por lo que se puede decir que el cemento Portland (PC por sus siglas en inglés), MTA-Ang y clinker tienen un material de base similar. Bensted (111) previamente reportó una fuerte dispersión inelástica Raman para C3S en 848 cm^{-1} y -C2S en 864 cm^{-1} . También asignaron las vibraciones AlO_4 en 740 y 756 cm^{-1} para la fase de C3A. La diferencia entre este estudio y el estudio de Potgieter-Vermaak (102) fue que Bensted utiliza un láser de Ar^+ con una longitud de onda de 488 nm y aquí se usó un láser de He-Ne con una longitud de onda de 632.8 nm como fuentes de excitación.

Por medio de TEM se confirmó que el tamaño de partícula de la nHAp sintetizada es de 40 nm . Lo que se logró debido a que de acuerdo lo reportado por Bouyer et al en el 2000 (112), el usar hasta $60\text{ }^\circ\text{C}$ durante la síntesis se da una disminución de la velocidad de nucleación y aumenta la velocidad de crecimiento de las partículas. El tener partículas tan pequeñas puede resultar en ventaja debido a que el tamaño obtenido en este estudio es similar al encontrado en cristales naturales de hueso y cristales de hueso alveolar humano, el cual es de 47 nm (114). Ayudando en la integración del cemento con el tejido duro vivo.

Para confirmar lo anterior se empleó la proporción Ca/P que fue entre 1.35 y 1.25 correspondiendo a la fase apatítica mineral no-estequiométrica o dicho en otras palabras deficiente en calcio. Lo que resulta similar a los cristales nanométricos del hueso natural con relación Ca/P entre 1.5 y 1.67 (114), lo que podría hacerla apta para aplicación médica.

Por otra parte, al hidratar el cemento ocurre una reacción compleja la cual no es bien conocida. Durante esta reacción se forma silicato de calcio hidratado y portlandita a partir de silicato tricálcico y dicálcico, generando tres veces más portlandita a partir del silicato de tricálcico (C3S) que por silicato dicálcico (C2S). Estas fases se observaron en los tres cementos analizados en este estudio. Sin

embargo, fue Biod el que mostró con mayor claridad la formación de la fase amorfa de C-S-H gel (fase que se forma durante el fraguado del cemento). Ya que mediante difracción de rayos X se notó que en Biod, al aumentar la fase del gel C-S-H, disminuye el C3S, mientras que en el caso de MTA-Ang y del E20Z también disminuye el C2S.

Al comparar el cemento hidratado con el no hidratado se observaron desplazamientos de bandas y fases que aumentan de intensidad, así como otras que desaparecen conforme avanza el tiempo de hidratación (115), al igual que en el análisis de difracción de rayos X.

Como se mencionó anteriormente, la fase del gel C-S-H fue difícil de observar, tanto en difracción como en espectroscopía Raman, debido a su naturaleza amorfa (107). Sin embargo, la importancia de saber si se está formando el C-S-H durante el proceso de hidratación de los cementos es debido a que es la fase de unión primaria en el cemento y son partículas nanoporosas amorfas que rodean los granos de cemento, formando una red (116). Según Jönsson, conforme va avanzando la hidratación esta red se estabiliza a los pocos minutos de haber comenzado la hidratación, formándose más partículas de gel C-S-H, aumentando con ello la resistencia a la compresión, gracias a la cohesión de las partículas (116). Al mismo tiempo, la fase de portlandita (CH) nuclea y crece dentro de huecos vacíos o entre los espacios de los poros (117), elevando la resistencia del cemento, lo que concuerda con la prueba de resistencia a la compresión que se observa en Biod, ya que al inicio del endurecimiento del cemento se observaron valores de 80 MPa a las 24 h, con un pico muy alto a los 14 días con 130 MPa, pero al llegar a los 28 días de endurecimiento estos valores disminuyeron, posiblemente debido al decrecimiento de portlandita a los 28 días, fase que fue observada claramente por espectroscopía Raman. Esto se debe posiblemente a que la fase encargada

de la resistencia a la compresión, dentro de los primeros días, es la C3S, y en semanas es la C2S (118).

Con respecto al cemento experimental se observó un incremento constante en la resistencia a los distintos tiempos de evaluación, como la muestra EZ5H que mostró los valores más altos de resistencia a la compresión (en comparación con los otros grupos experimentales con agregado) de 59 MPa a los 7 días debido a que se encontró que los cristales de las nanopartículas de hidroxiapatita dan el efecto de mejorar la resistencia a la compresión (119), coincidiendo con el comportamiento observado en Biod. Lo que no fue el caso para EZ15H posiblemente debido al efecto del crecimiento de los cristales de las nHAp en esta muestra, de acuerdo con los resultados reportados por Lu y Zhou en 2009 donde obtienen el mismo comportamiento bajo diferentes porcentajes de hidroxiapatita (120), apreciándose por las fuertes bandas presentadas en los espectros Raman, contrastando con las bandas más débiles observadas para el cemento EZ5H. Aparentemente, este último cemento continúa presentando hidroxiapatita de tamaño nanométrico según los espectros Raman. De manera similar, la muestra EZ15H mostró un aumento de resistencia a la compresión a lo largo del tiempo, comenzando con 22 MPa a 1 día y terminando con 40,5 MPa a los 28 días, coincidiendo con un estudio en (121) donde informan que la adición de CaCO_3 ayuda con efectos positivos en términos de resistencia a la compresión y aceleración de la tasa de hidratación.

MTA-Ang también presentó el mismo comportamiento, aunque con valores más bajos, ya que presenta una resistencia a la compresión de 3 MPa a las 24 h, un pico alto a los 14 días de 43 MPa y de 23 MPa a los 28 días. Este comportamiento de MTA-Ang posiblemente se deba a que la hidratación de este material se lleva a cabo en un periodo más largo, a diferencia de los otros dos cementos (116), como se puede determinar por medio de espectroscopía Raman y XRD.

Otra fase que aparentemente no interfiere en las propiedades del cemento y está presente tanto en Biod como en E20Z, es el ZrO_2 tetragonal y monoclinico (105), respectivamente (122,123), contrario al Bi_2O_3 (presente en el MTA-Ang), ya que aún en pequeñas cantidades tiende a cambiar la estructura interna de la celda cristalina (122), modificando las propiedades del cemento (124,125). La razón de su utilización como agente radiopacador es debido a que es biocompatible (126) y altamente radiopaco (124,126,127).

Mediante SEM se observaron partículas compactas en los tres cementos, sin embargo no se hizo una distinción de las fases por medio de imagen, como lo reporta Comi-Chiaramonti (128), quienes lograron observar cada una de las fases por medio de microscopio mineralógico, debido a que no era objetivo de este trabajo.

En este estudio se realizaron tres mediciones en tres zonas diferentes y en todas ellas no se veían diferencias, por lo que no se realizó el mismo análisis debido a que es un método cualitativo y subjetivo, debido a que lograr determinar cada uno de los componentes de la hidratación por medio de imágenes es muy complicado ya que muchas veces sólo se asume la presencia de dicha fase. El análisis de EDS de cada muestra a los diversos tiempos confirmó la interpretación realizada por medio de XRD y Raman. Sin embargo, en cuanto al Zr, sólo se observó a los 7 días en los grupos EZ5H, EZ15H y EZ5C, debido a que en el grupo clinker aún no contenía el material radiopacador.

De acuerdo con los resultados obtenidos con los análisis anteriormente mencionados, y como forma de continuar comparando al cemento experimental con los cementos comerciales, se realizaron una serie de pruebas fisico-mecánicas para su valoración. Como se vio anteriormente, Biod y E20Z, junto con sus 4 grupos con agregados de hidroxiapatita y calcita, tienen como agente

radiopacador al ZrO_2 , mientras que el MTA-Ang tiene Bi_2O_3 . Este último, ha sido utilizado por muchos años en el cemento MTA demostrando buena biocompatibilidad (126), así como gran radiopacidad, la cual está reportada en 7.17 mm Al aproximadamente (124,126) no encontrando gran diferencia con el presente estudio, ya que aquí se obtuvo 6.5 mm Al de radiopacidad en MTA-Ang, discrepando con los 3 mm Al reportados por Tanomaru en 2008 (127). El valor arrojado por MTA-Ang se encuentra muy por encima de Biod y E20Z que utilizan como agente radiopagador el ZrO_2 . De acuerdo con lo exigido por la norma ISO 6876 (91) de 3 mmAl los tres cementos cumplen con ella, ya que Biod presenta 3.6 mm Al y E20Z 3.5 mm Al.

Una ventaja de utilizar ZrO_2 como radiopacador es que no afecta las propiedades del cemento ya que aparentemente no interfiere en el proceso de fraguado (122,123). Todo lo contrario con el Bi_2O_3 , que se ha demostrado que disminuye la resistencia a la compresión, aumenta el tiempo de fraguado (124), incrementa la solubilidad y porosidad, así como la degradación del material (125). Se ha reportado que esto se debe a que actúa como fallas dentro de la matriz del cemento (125). Por lo tanto, recomiendan utilizar hasta un 15% de Bi_2O_3 y no el 20% como actualmente se emplea (129).

El pH alcalino en los cementos MTA es un factor muy importante porque les confiere la propiedad bactericida (130), biocompatibilidad (131) y disminución de la microfiltración (44). En Biod se observó variación en el pH a lo largo de los distintos tiempos. Al inicio fue de 11.3 y al finalizar de 10.4, con valores más altos en etapas intermedias, teniendo relación con los resultados de difracción de rayos X y de espectroscopía Raman, en los que se observa el aumento de la fase de portlandita y posteriormente, a los 28 días, claramente una disminución. A diferencia del MTA-Ang, E20Z y sus variaciones de grupos, en donde los valores de pH son altos a las 24 horas pero que disminuyen hasta llegar a los 28 días. Posiblemente esta baja de pH sea debido a que por su composición, donde

hay más C2S, y durante la reacción, se comporta más lentamente que el C3S. Además de que un gramo de C3S genera 50% de Ca(OH)_2 y 75% de gel C-S-H, en tanto que el C2S genera 22.6% de Ca(OH)_2 y 104.2% de C-S-H (56). En los grupos con nHAp y calcita hay un incremento de pH debido a la liberación de OH^- o O^- , los cuales pueden unirse al H^+ del agua, a diferencia de Biodentine, que está conformado en su mayoría por C3S. Otra explicación sobre su alto pH es el contenido de CaCl_2 como acelerador del fraguado (132). Podría pensarse que al perderse alcalinidad resulta en menor efectividad del cemento; sin embargo, hay reportes que mencionan que el pH se mantiene por más tiempo dentro de los conductos dentinarios (133).

Una propiedad relacionada con la anterior es la solubilidad, de la que se reporta (134) que a pesar de que algunos cementos tipo MTA son más solubles que otros, se encuentran dentro de lo establecido por la Norma ISO 6876 (91). Fridland (135) menciona que el pH depende de la solubilización del cemento en una solución acuosa. Y reporta que la solubilidad más alta se presenta dentro de las primeras 24 horas y posteriormente disminuye con el tiempo de inmersión, reportando un pH entre 11 y 12 (135), lo cual no concuerda con los resultados obtenidos aquí debido a que, posterior a las 24 horas de inmersión, se encontró una ligera disminución del pH y solubilidad en el cemento experimental y MTA-Ang, a diferencia de Biod, que se presenta hasta los 14 días. Una posible explicación a la baja solubilidad observada en el cemento experimental es que la proporción A:P fue de 0.25, disminuyendo la porosidad. En cuanto a la diferencia de pH es posible que sea debida a la diferencia en los métodos ya que en este trabajo se utilizó agua desionizada y no solución de Hank que podría aportar sales (135,136). Cabe mencionar que a pesar de esto, los valores no fueron tan bajos como los encontrados por otro estudio (134), los cuales oscilaban entre 0.33 y 0.72% de pérdida de material. Grech encontró que la solubilidad de Biod es de -0.0028%, datos muy diferentes a los nuestros debido al método empleado (123).

Un aditivo que podría influir para disminuir la solubilidad del material es el uso de un acelerador como el sulfato de calcio o cloruro de calcio (46,132,134,137-139) ya que éste promueve el fraguado más rápidamente (137) y que el tiempo aproximado de fraguado de un MTA se encuentra entre 2 horas 45 minutos, aproximadamente (124). Este aditivo logra disminuir el tiempo de fraguado hasta en un 50% (45,140,141), ayudando a disminuir la microfiltración (142). Esta disminución en el tiempo se debe a que el CaCl_2 permite una mejor y mayor hidratación del cemento y provee de una gran cantidad de Ca^{2+} , acelerando su endurecimiento (137,142), resultando en el incremento del grado de nucleación y crecimiento (143). Pero no deben de emplearse grandes cantidades de aditivo ya que existe el riesgo de contracción al fraguado y reducción de la resistencia al final del proceso (47). Cabe mencionar que el MTA-Ang también mostró tiempo corto de fraguado sin encontrar CaCl_2 dentro de sus componentes, así como sin rastros de anhidrita, por lo que el tiempo de fraguado se le puede atribuir a la presencia o no de sulfato de calcio (144).

Una propiedad que se puede considerar ligada al tiempo de fraguado es la resistencia a la compresión. Debido a que los cementos endurecen de la superficie hacia el centro, varios días después de iniciada la reacción de fraguado continua el endurecimiento del mismo, denominándose tiempo de endurecimiento. En este estudio se pudo observar que el cemento con mayor resistencia a la compresión fue Biod con 120 MPa, lo que es comparable con otros cementos dentales de alta resistencia. Sin embargo, Grech y cols. (123) reportan que la resistencia a la compresión de Biod es de 67.18 MPa a los 28 días, valor que se encuentra muy por debajo del obtenido aquí, mismo que puede deberse al tipo de solución empleada.

El MTA-Ang presentó los valores más bajos a las 24 horas, a diferencia de E20Z, el cual logró valores intermedios pero constantes incrementándose hacia los 28 días, resultado que era de esperarse debido al aditivo CaCl_2 y a los

aditivos de nHAp y calcita. Los altos valores encontrados en Biod se pueden atribuir a que la fase predominante es el C3S, así como a la presencia de CaCl_2 como acelerador, y por la presencia de un polímero soluble en agua, ayudando éste a que la proporción polvo:líquido sea menor, incrementando las propiedades del cemento (145). No obstante, aún cuando MTA-Ang y E20Z se encuentran muy por debajo de los valores obtenidos por Biod, la principal aplicación del cemento MTA es como material de obturación retrógrada, y, por consiguiente, no es un requisito que cuente con gran resistencia compresiva (134).

El MTA es un cemento ampliamente estudiado y a pesar de ello, aún falta información sobre el cambio dimensional. Islam reporta cambio dimensional en WMTA (white-MTA) y PMTA (Portland-MTA) de 0.30% y 0.28%, respectivamente (134), concordando con lo obtenido aquí para Biod, no así con MTA-Ang y E20Z, con los que se obtuvieron valores más bajos pero por arriba de 0.1%. No obstante y de acuerdo con lo que señala la Norma ISO 6876 (91), ninguno de estos cementos cumple con el requisito de no más de 0.1% de cambio dimensional en expansión, exceptuando los grupos EZ5H y EZ5C, los cuales obtuvieron valores por debajo a lo señalado por la Norma. Cabe mencionar que la importancia de esta prueba se debe a que una considerable expansión del material podría llegar a ser contraproducente a causa de que existe la posibilidad de generar fractura a nivel de ápice (18,29,146,147).

Otra propiedad atribuida al MTA es su habilidad de sellado y biocompatibilidad, las cuales se han investigado utilizando diferentes soluciones con contenido de fosfato como PBS, Hanks Balanced Salt Solution (HBSS) y Synthetic Tissue Fluid (STF) (148,150), así como Simulated Body Fluid (SBF) (92), empleándose este último para la realización de la prueba en este estudio. Se observó que solo Biod tiene formación de hidroxiapatita por lo que concuerda con Wang quien reporta que desde los 7 días ya hay depósito de hidroxiapatita

en la superficie a causa de la desaparición de Ca(OH)_2 . Sin embargo, Kim observó en TEM que Biodentine no tiene formación de HAp, sino que es fosfato de calcio amorfo, brindando como posible explicación que se debe a su corto tiempo de fraguado, el cual impide la interacción del cemento con los fosfatos del SBF, afectando esta propiedad biológica tan importante (151). Cabe señalar que en el presente estudio se observó formación de HAp en la superficie de Biod utilizando la técnica de XRD de haz rasante.

Un estudio realizado por Pedrosa dice que es posible que el MTA pueda promover un sitio de nucleación de hidrogeles de Ca-Si y que una supersaturación relativamente alta da lugar a un conjunto compacto y aleatorio de cristalitas de HAp mejorando la interacción del cemento con las células (152). Por lo que aunado al usar de nHAp como material de relleno es muy posible que se puedan obtener una mejor respuesta del cemento a nivel celular.

Capítulo 5

Conclusiones

1. La adición de hidroxiapatita nanométrica (40 nm de tamaño de partícula) al 5% ayuda a mejorar las propiedades del cemento, como aumentar la resistencia a la compresión, sin elevar el tiempo de fraguado o la radiopacidad del cemento. Confirmando la gran importancia de emplear nanopartículas en vez de partículas micrométricas.
2. El agregar carbonato de calcio al 5 o 15% no interfiere con las propiedades del cemento pero tampoco ayuda a mejorar las propiedades. Por lo que no se pueden atribuir a éste los altos valores presentes en uno de los cementos comerciales.
3. Al agregar hidroxiapatita nanométrica al cemento experimental se obtuvieron valores más altos en resistencia a la compresión que en los grupos en los que se agregó carbonato de calcio. Dejando ver que la partícula nanométrica esta funcionando como un material de reforzamiento y no solo de relleno.
4. Biodentine™ fue el cemento que arrojó los valores más altos en resistencia a la compresión, pH y fraguado. Y MTA-Angelus™ los más bajos, exceptuando en radiopacidad.
5. Biodentine™ a pesar de mostrar los valores más altos requiere de equipo especial con ciertas especificaciones para su manipulación, lo cual podría dificultar su uso en ciertas regiones del país, así como desviaciones estandar grandes y poco homogeneas. Así como también mostró una gran variabilidad en el comportamiento físico y mecánico a diferencia de los grupos de cemento experimental, quienes arrojaron desviaciones estándar muy pequeñas y constantes.
6. En las pruebas físico-mecánicas (resistencia a la compresión, tiempo de fraguado, pH) en general el E20Z muestra valores por debajo de Biodentine™, pero más altos que MTA-Angelus™.
7. Se cumplio con el objetivo planteado sobre obtener un cemento tipo MTA que cumpliera con un tiempo de fraguado corto y con buena consistencia de manipulación, sin modificar la propiedades fisico-macánicas.

Capítulo 6

Perspectivas

Posterior a este trabajo se propone realizar pruebas biológicas para continuar con el análisis del cemento experimental.

Las pruebas a realizar serían:

- Citotoxicidad
- Viabilidad celular
- Pruebas de genotoxicidad
- Influencia del pH a nivel tisular
- Formación de puente dentinario por estimulación odontoblástica

Entre otras

Referencias

1. Royal Society. UK National Academy of Science and Royal Academy of Engineering. 2004.
2. Gorman M, Groves J, Shrager J. Societal dimensions of nanotechnology as a trading zone: results from a pilot project In: Baird D, Norman A and Schummer J. *Discovering the nanoscale*. Netherlands: IOS Press;2004. p. 63-70.
3. Cantin M, Vilos C and Suazo I. Nanodontología: el futuro de la odontología basada en sistemas nanotecnológicos. *Int J Odontostomat*. 2010;4(2):127-132.
4. Barrancos J. *Operatoria dental. Integración clínica*. 4^a ed. Argentina: Medica Panamericana; 2006. 261–79 p.
5. Eduardo L. *Operatoria dental. Estética y adhesión*. 1^a ed. Buenos Aires: Grupo Guía; 2005. 13–9 p.
6. Gómez de Ferraris M, Campos A. *Histología, embiología e ingeniería tisular bucodental*. 3^a ed. México: Mexicana Paramericana; 2009. 13–424 p.
7. Niño J, Garzón D. Does the geometric location of odontoblast differentiation and dentinal tubules depend on a reaction-diffusion system between BMP2 and Noggin? A mathematical model. 2012;38(12):1635–8.
8. Chogle S, Goodis H, Kiaia B. Pulpal and periradicular response to caries. Current management and regenerative options. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2012 sep [citado 10 sep 2017]; 56 (3):521–36. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cden.2012.05.003>.
9. Kim SG. Biological molecules for the regeneration of the pulp-dentin complex. *Dent Clin North Am*; 2017;1(1):127–41.
10. Lindhe J, Lang N. *Peridontología clínica e implantología odontológica*. 6^a edición Buenos Aires. Médica Panamericana Argentina; 2017. 3–30 p.
11. Judith Ottoni LFM. *Cirugía plastica, Periodontal y periimplantar*. In: Editorial Medica Panamericana. 2007.
12. Narisawa N. Development, characterization and ecological implications of a smooth colony variant of biofilm forming cariogenic streptococcus mutans. *J Oral Biosci* [Internet]. 2010 sep [citado 10 sep 2017]; 52(3):245–51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2330/joralbiosci.52.245>
13. Hoefler V, Nagaoka H, Miller C. Long-term survival and vitality outcomes of permanent teeth following deep caries treatment with step-wise and partial-caries-removal: A systematic review. *J Orofac Orthop*. 2016;54:25–32.
14. Iandolo A, Iandolo G, Malvano M, Pantaleo G, Simeone M. Scindedirect modern technologies in endodontics moderne tecnologie in endodonzia. *G Ital Endod*. 2016;30(1):2–9.

15. Larsson C, Wennerberg A. The clinical success of zirconia-based crowns: A systematic review [Internet]. 2014 sep [citado 10 sep 2017]; 27(1):33–43. Disponible en: <http://ds.doi.org/10.11607/ijp.3647>
16. Mathur A, Mathur A, Jain M, Shah P, Pareek V, et al. Dental caries experience among kindergarten school going children of, India. *Pediatr Dent J*. 2011;21(1):1–5.
17. Accorinte M, Loguercio A, Reis A, Bauer J, Grande R, Murata S, et al. Evaluation of two mineral trioxide aggregate compounds as pulp-capping agents in human teeth. *Int Endod J*. 2009;42(2):122–8.
18. Adamo H, Buruiana R, Schertzer L, Boylan RJ. A comparison of MTA, Super-EBA, composite and amalgam as root-end filling materials using a bacterial microleakage model. *Int Endod J*. 1999;32(3):197–203.
19. Nageswar R, Rao R. *Endodoncia avanzada*. 1ª edición Venezuela: Almolca. 2011. p. 32–33.
20. Ma J, Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Biocompatibility of two novel root repair materials. *J Endod* [Internet]. 2011 sep [citado 10 sep 2017];3 7(6):793–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.joen.2011.02.019>
21. Barceló F, Palma J. *Materiales dentales. Conocimientos básicos aplicados*. 3a ed. México: Trillas; 2004. 83-132 p.
22. Torabinejad M. Tood filling material and method of use. United States Patent. Patent number 5-769-638, 1998.
23. Torabinejad M, Watson T, Pitt Ford T. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* [Internet]. 1993 sep [citado 10 sep 2017]; 19(12):591–5. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80271-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80271-2)
24. Markowitz K, Moynihan M, Liu M, Kim S. Biologic properties of eugenol and zinc. A clinical oriented review. *Oral Surg Oral Mrd Oral Pathol*. 1992;73:729-37.
25. Zmener O, Martínez R, Pameijer C, Chaves C, Kokubu G and Grana D. Reaction of rat subcutaneous connective tissue to a mineral trioxide aggregate–based and a zinc oxide and eugenol sealer. *J Endod*. 2012;38(9):1233–8.
28. Sellamuthu R. Environmental Fate and Behavior. *Encyclopedia of Toxicology*. 2014;2:539–41.
27. Wälivaara D-åke, Abrahamsson P, Fogelin M and Isaksson S. Super-EBA and IRM as root-end fillings in periapical surgery with ultrasonic preparation: a prospective randomized clinical study of 206 consecutive teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2011;112(2):258–63.

28. Yaccino JM, William AW, Carnes DL, Schindler WG. Longitudinal microleakage evaluation of Super-EBA as a root-end sealing material. *J Endod.* 1999;25(8):552–4.
29. Pantschev A, Carlsson A and Andersson L. Retrograde root filling with EBA cement or amalgam. A comparative study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1994;78:101–4.
30. Cohen S. *Vías de la pulpa*. 11a ed. Barcelona: Kenneth y Louis Editores; 2016.
31. 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.
32. Enkel B, Dupas C, Armengol V, Akpe Adou J, Bosco J, Daculsi G, et al. Bioactive materials in endodontics. *Expert Rev Med Devices* [Internet]. 2008 sep [citado 10 sep 2017]; 5(4):475–94. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1586/17434440.5.4.475>
33. Moretton TR, Brown CE, Legan JJ, Kafrawy AH. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. *J Biomed Mater Res.* 2000;52:528-33.
34. Gandolfi M, Van Landuyt K, Taddei P, Modena E, Van Meerbeek B, Prati C. ESEM-EDX and Raman techniques to study MTA calcium-silicate cements in wet conditions and in real-time. *J Endod.* 2010; 36(5):851–7.
35. Hsien H, Cheng Y, Lee Y, Lan W, Lin C. Repair of perforating internal resorption with mineral trioxide aggregate: a case report. *J Endod.* 2003;29(8):538–9.
36. Faraco I, Holland R. Histomorphological response of dogs' dental pulp capped with white mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J.* 2004;15:104–8.
37. Menezes R, Bramante C, Letra A, Carvalho V, Garcia R. Histologic evaluation of pulpotomies in dog using two types of mineral trioxide aggregate and regular and white Portland cements as wound dressings. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2004;98(3):376–9.
38. Holland R, de Mello W, Nery M, de Souza V, Bernabe P and Otoboni F. Healing process of dog dental pulp after pulpotomy and pulp covering with calcium hydroxide in powder or paste form. *Acta Odontol Pediatr.* 1981;2:47–51.
39. Felipe W, Felipe M, Rocha M. The effect of mineral trioxide aggregate on the apexi cation and periapical healing of teeth with incomplete root formation. *Int Endod J.* 2006;2–9.
40. Holland R, de Souza V, Nery M, Otoboni F, Bernabé P, Dezan E. Reaction of dogs' teeth to root canal filling with mineral trioxide aggregate or a glass ionomer sealer. *J Endod.* 1999;25(11):728–30.

41. Asgary S, Ehsani S. MTA resorption and periradicular healing in an open-apex incisor: A case report. *Saudi Dent J.* 2012;24(1):55–9.
42. Antonio H, Juárez N. Capacidad selladora del Pro Root, MTA Angelus y Súper EBA en obturaciones retrógradas, empleando el sistema de filtración de fluidos (estudio *in vitro*). *Rev Sanid Milit Mex.* 2007;61(4):244–50.
43. De-Deus G, Reis C, Brandão C, Fidel S and Fidel R. The Ability of Portland cement, MTA, and MTA Bio to prevent through-and-through fluid movement in repaired furcal perforations. *J Endod.* 2007;33(11):1374–7.
44. Camilleri J, Pitt Ford T. Evaluation of the effect of tracer pH on the sealing ability of glass ionomer cement and mineral trioxide aggregate. *J Mater Sci Mater Med.* 2008;19(8):2941–8.
45. Kogan P, He J, Glickman GN, Watanabe I. The effects of various additives on setting properties of MTA. *J Endod.* 2006;32(6):569–72.
46. Ber B, Hatton J, Stewart G. Chemical modification of ProRoot MTA to improve handling characteristics and decrease setting time. *J Endod.* 2007;33(10):1231–4.
47. Obando-Pereda G, Torres-Chávez K, Salas-Beltrán H, Hofling J. Análisis de la composición química, capacidad de sellado apical y propiedades antimicrobianas del MTA y del cemento Portland. *Endodoncia* 2009;vol 27(3):11-120.
48. Dentsply Sirona. ProRoot MTA Root repair material white refill kit. [citado 21 octubre 2017]. Disponible en: <https://www.dentsplysirona.com/en-us/products/endodontics/obturation.html/Endodontics/Obturation/Cements/ProRoot-MTA-Root-Repair-Material/p/TUL-PRCEMW/c/1000145.html>.
49. Ficha técnica MTA Angelus. [citado 21 octubre 2017] Disponible en: https://www.proclinic.es/media/fichas_tecnicas/59473_instrucc.pdf
50. Catalogo MTA Angelus. [citado 21 octubre 2017]. Disponible en: <https://erp.somuden.es/folleto/031-1.pdf>
51. Valencia C, Jesús J. A new bioactive dentine substitute. Purified Tricalcium Silicate. *Rev RODYB.* 2013;II:1–19.
52. R and D Department. Biodentine. Active biosilicate technology. Septodont. [citado 21 octubre 2017]. Disponible en: http://www.plandent.no/images/Marketing/Infosenter/Biodentine%20Scientific%20File_web_dokumentasjon.pdf
53. Biodentine. Primera y única dentina en una cápsula. Septodont. [citado 22 septiembre 2017]. Disponible en: http://www.septodont.es/sites/es/files/2016-11/brochure%20Biodentine%20Spanish%20HD_0.pdf

54. Aronov, D.; Karlov, A.; Rosenman, G. Hydroxyapatite nanoceramics: Basic physical properties and biointerface modification. *J Eur Ceram Soc* 2007, 27, 4181-4186.
55. M. I. Kay, R. A. Y., and A. S. Posner Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature* 1964, 204, 3.
56. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1-2):55–63.
57. Oreffo R, Bennett A, Carr A, Triffitt J. Patients with primary osteoarthritis show no change with ageing in the number of osteogenic precursors. *Scand J Rheumatol*. 1998;27(6):415–24.
58. Fernández Montes B. Optimización de materiales para regeneración ósea . Estudio de las interacciones de hidroxiapatita con proteínas y preparación de andamios porosos [tesis doctoral en Internet]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. 2013 [citada 10 sep 2017]. 176 p. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/22334/1/T34626.pdf>
59. Yuan Y, Liu C, Qian J, Wang J, Zhang Y. Size-mediated cytotoxicity and apoptosis of hydroxyapatite nanoparticles in human hepatoma HepG2 cells. *Biomaterials* 2010; 31:730-740.
60. Bloebaum R, Zou L, Bachus K, Shea K, Hofmann A, Dunn H. Analysis of Particles in Acetabular Components From Patients With Osteolysis. *Clin Orthop Relat R* 1997;338:109-118.
61. Hara T, Hayashi K, Nakashima Y, Kanemaru T, Iwamoto Y. The effect of hydroxyapatite coating on the bonding of bone to titanium implants in the femora of ovariectomised rats. *J Bone Joint Surg Br* 1999;81:705-709.
62. Habibovic P, Barrère F, Van Blitterswijk C, de Groot K, Layrolle P. Biomimetic Hydroxyapatite Coating on Metal Implants. *J Am Ceram Soc* 2002;85:517-522.
63. James R, Deng M, Laurencin C, Kumbar S. Nanocomposites and bone regeneration. *Front Mater Sci* 2011;5:342-357.
64. Spencer M, Grynypas M. Hydroxyapatite for chromatography : I. Physical and chemical properties of different preparatios. *J Chromatogr A* 1978;166:423-434.
65. Dupoirieux C. Hydroxyapatite cement for calvarial reconstruction. *Oral Surg Oral Med O* 2000;89:3.
66. Salles L, Gomes-Cornélio A, Guimarães F, Herrera B, Bao S, et al. Mineral Trioxide Aggregate-based Endodontic Sealer Stimulates Hydroxyapatite Nucleation in Human Osteoblast-like Cell Culture. *J Endodont* 2012;38:971-976.
67. Kim H. Ceramic bioactivity and related biomimetic strategy. *Curr Opin Solid State Mater Sci*. 2003;7(4-5):289–99.

68. Fathi M, Hanifi A, Mortazavi V, Balázs C, Gouma PI, Chae C, et al. Nanostructured Hydroxyapatite Composite for Medical Applications. 5^a Europ Confer of the Internat Feder for Med and Biol Engen. 2011;37:996–9.
69. Ramesh S, Tan C, Bhaduri S, Teng W, Sopyan I. Densification behaviour of nanocrystalline hydroxyapatite bioceramics. *J Mater Process Technol.* 2008;206(1-3):221–30.
70. Liao Y, Feng Z, Li S. Preparation and characterization of hydroxyapatite coatings on human enamel by electrodeposition. *Thin Solid Films.* 2008;516(18):6145–50.
71. Zhu P, Masuda Y, Koumoto K. The effect of surface charge on hydroxyapatite nucleation. *Biomaterials.* 2004;25(17):3915–21.
72. Martínez A, Esparza H, Carbajal G and Ortiz J. Caracterización estructural y morfológica de hidroxapatita nanoestructurada: estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis. *Superf y Vacío.* 2008;21(4):18–21.
73. Lazić S, Zec S, Miljević N, Milonjić S. The effect of temperature on the properties of hydroxyapatite precipitated from calcium hydroxide and phosphoric acid. *Thermochim Acta.* 2001;374(1):13–22.
74. LeGeros R, LeGeros J. Calcium phosphate bioceramics: past, present and future. *Key Eng Mater.* 2003;240-242:3–10.
75. Riman R. Suchanek W, Byrappa K, Chen C, Shuk P and Oakes C. Solution synthesis of hydroxyapatite designer particulates. *Solid State Ionics.* 2002;151(1-4):393–402.
76. Wang Y, Zhang S, Wei K, Zhao N, Chen J, Wang X. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanopowders using cationic surfactant as a template. *Mater Lett.* 2006;60(12):1484–7.
77. Padmanabhan, S. K.; Balakrishnan, A.; Chu, M.-C.; Lee, Y. J.; Kim, T. N.; Cho, S.-J. Sol-gel synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods. *Particuology* 2009, 7, 466-470.
78. Guo, G.; Sun, Y.; Wang, Z.; Guo, H. Preparation of hydroxyapatite nanoparticles by reverse microemulsion. *Ceram Int* 2005, 31, 869-872.
79. Loo, S.; Siew, Y.; Ho, S.; Boey, F.; Ma, J. Synthesis and hydrothermal treatment of nanostructured hydroxyapatite of controllable sizes. *J Mater Sci: Mater M* 2008, 19, 1389-1397.
80. Kamitakahara, M.; Kimura, K.; Ioku, K. Synthesis of nanosized porous hydroxyapatite granules in hydrogel by electrophoresis. *Colloid Surface B* 2012, 97, 236-239.

81. Wang, Y.; Zhang, S.; Wei, K.; Zhao, N.; Chen, J.; Wang, X. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanopowders using cationic surfactant as a template. *Mater Lett* 2006, 60, 1484-1487.
82. Garrault S, Behr T, Nonat A. Formation of the C-S-H Layer during early hydration of tricalcium silicate grains with different sizes. *J Phys Chem B*. 2006;110(1):270–5.
83. Laurent P, Camps J and About I. Biodentine™ induces TGF-β1 release from human pulp cells and early dental pulp mineralization. *Int Endod J*. 2012;45(5):439–48.
84. Ficha de seguridad de Cloruro de calcio (CaCl₂). Pontificia Universidad Javeriana. p. 1–6. Disponible en: <http://portales.puj.edu.co/doc-quimica/fds-labqca-dianahermith/CaCl2.pdf>
85. Nutrición durante períodos específicos del ciclo vital: embarazo, lactancia, infancia, niñez y vejez. FAO. Departamento de Agricultura. Capítulo 6. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s0a.htm>
86. Aquilina JW. The physical properties of accelerated Portland cement. MSc Proj Report, University of London, London. 1999. p.
87. Rivera G. Capítulo 11: Aditivos Para Mortero Y Concreto. *Concreto simple*. p. 231–55. Disponible en: <ftp://ftp.unicauca.edu.co/cuentas/geanrilo/docs/FIC%20y%20GEOTEC%20SEM%202%20de%202010/Tecnologia%20del%20Concreto%20-%20%20PDF%20ver.%20%202009/Cap.%2011%20-%20Aditivos%20para%20morteros%20o%20concretos.pdf>
88. Abdullah D, Pitt Ford T, Papaioannou S, Nicholson J, McDonald F. An evaluation of accelerated Portland cement as a restorative material. *Biomaterials*. 2002;23(19):4001–10.
89. Bortoluzzi E, Juárez N, Monteiro C, Brandao R, Gomes I, Bernardineli N. Sealing ability of MTA and radiopaque portland cement with or without calcium chloride for root-end filling. *J Endod*. 2006;32(9):897–900.
90. Vázquez F. Efecto de las nanopartículas de hidroxiapatita en líneas celulares en cáncer de mama [tesis doctoral]. Ciudad de México: Centro de Investigación y Estudios superiores, Cinvestav-IPN, Programa de Doctorado de Nanociencias y Nanotecnología; (2017).
91. International Standards Organization. ISO 6876. Dental root canal sealing materials. 2001.
92. Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?. *Biomaterials*. 2006;27:2907–15.

93. Balamurugan A, Rebelo A, Lemos A, Rocha J, Ventura J, et al. Suitability evaluation of sol–gel derived Si-substituted hydroxyapatite for dental and maxillofacial applications through in vitro osteoblasts response. *Dent Mater* 2008;24:1374-1380.
94. Doi Y, Shibutani T, Moriwaki Y, Kajimoto T, Iwayama Y. Sintered carbonate apatites as bioresorbable bone substitutes. *J Biomed Mater Res* 1998;39:603-610.
95. Lafon J, Champion E, Bernache-Assollant D. Processing of AB-type carbonated hydroxyapatite $\text{Ca}^{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x-2y}(\text{CO}_3)_y$, ceramics with controlled composition. *J Eur Ceram Soc* 2008;28:139-147.
96. Kovaleva E, Shabanov M, Putlyaev V, et al. Bioresorbable carbonated hydroxyapatite $\text{Ca}^{10-x}\text{Na}_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_2$ powders for bioactive materials preparation. *Cent Eur J Chem*. 2009;7:168-174.
97. Wei M, Evans J, Bostrom T, et al. Synthesis and characterization of hydroxyapatite, fluoride-substituted hydroxyapatite and fluorapatite. *J Mater Sci: Mater M*. 2003;14:311-320.
98. Penel G, Leroy G, Rey C, Bres E. MicroRaman spectral study of the PO_4 and CO_3 vibrational modes in synthetic and biological apatites. *Calcified Tissue Int*. 1998;63:475-481.
99. Sauer G, Zunic W, Durig J, Wuthier R. Fourier transform Raman spectroscopy of synthetic and biological calcium phosphates. *Calcified Tissue Int*. 1994;54:414-420.
100. Ylmén R, Jäglid U, Steenari BM, Panas I. Early hydration and setting of Portland cement monitored by IR, SEM and Vicat techniques. *Cem Concr Res*. 2009;39(5):433–9.
101. Gandolfi M, Van Landuyt K, Taddei P, Modena E, Van Meerbeek B and Prati C. Environmental scanning electron microscopy connected with energy dispersive X-ray analysis and raman techniques to study ProRoot mineral trioxide aggregate and calcium silicate cements in wet conditions and in real time. *J Endod*. 2010;36(5):851–7.
102. Potgieter-Vermaak S, Potgieter J, Van Grieken R. The application of Raman spectrometry to investigate and characterize cement, Part I: A review. *Cem Concr Res*. 2006;36(4):656–62.
103. Remy C, Reynard B, Madon M. Raman spectroscopic investigations of dicalcium silicate: polymorphs and high-temperature phase transformations. *J Am Ceram Soc*. 2005;80(2):413–23.

104. Gomez C, Depablos O, Silva P, Muhl S, Zeinert A, Lejeune M, et al. Opto-electronic properties of bismuth oxide films presenting different crystallographic phases. *Thin Solid Films*. 2015;578:103–12.
105. Barberis P, Merle T, Quintard P. On Raman spectroscopy of zirconium oxide films. *J Nucl Mater*. 1997;246(2-3):232–43.
106. Kim B, Hamaguchi H. Mode assignments of the Raman spectrum of monoclinic zirconia by isotopic exchange technique. *Phys Stat Sol*. 1997;203(2):557–63.
107. Kirkpatrick R, Yarger J, McMillan P, Ping Y, Cong X. Raman spectroscopy of C-S-H, tobermorite, and jennite. *Adv Cem Based Mater*. 1997;5(3-4):93–9.
108. Mateos L, Mora M, Muñoz I, Carmona R, Jiménez C, Ruiz J. Análisis por microespectroscopia Raman de pigmentos decorativos procedentes de la Villa Romana de El Ruedo, Almedinilla (España). Disponible en: <http://www.ecomuseoriocaicena.es/wp-content/uploads/2015/04/raman.pdf>
109. Conjeaud M, Boyer H. Some possibilities of Raman microprobe in cement chemistry. *Cem Concr Res*. 1980;10(1):61–70.
110. Camilleri J. Hydration mechanisms of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2007;40(6):462–70.
111. Ramachandra V. Concrete Admixtures Handbook. Properties, science and technology [Internet]. Concrete Admixtures Handbook. 2^a ed. United States of America. 1996 [citado 10 sep 2017]. 1077-1111 p.
112. Bouyer E, Gitzhofer F, Boulos M. Morphological study of hydroxyapatite nanocrystal suspension. *J of Mat. Sci: Mat in Med*. 2000;11:523-531
113. Müller-Mai C, Stupp S, Voigt C, Gross U. Nanoapatite and organoapatite implants in bone: Histology and ultrastructure of the interface. *J Biom Mat Res*. 1995;29:9–18.)
114. Spadavecchia U y González G. Obtención de hidroxiapatita nanométrica para aplicaciones médicas. *Rev Fac Ing U.C.V*. 2007;22(4):37-44.
115. Tarrida M, Madon M, Le Rolland B, Colombet P. An in-situ Raman spectroscopy study of the hydration of tricalcium silicate. *Adv Cem Based Mater*. 1995;2(1):15–20.
116. Jönsson B, Wennerström H, Nonat A, Cabane B. Onset of cohesion in cement paste. *Langmuir*. 2004;20(16):6702–9.
117. Zhao W, Wang J, Zhai W, Wang Z, Chang J. The self-setting properties and in vitro bioactivity of tricalcium silicate. *Biomaterials*. 2005;26(31):6113–21.

118. Steven H, Kosmatka SH, Kerkhoff B, Panarese WC, Tanesi J, Diseño y control de mezclas de concreto [Internet]. 1ª edición EEUU: Portland Cement Association; 2004 [citado 10 sep 2017]. Disponible en: https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/49513425/PCA_Disenoy_Control_de_Mezclas_de_Concreto.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1505086290&Signature=XLeL49SdJnEye44E0f%2BxQXQGTQ8%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DPCA_Disenoy_Control_de_Mezclas_de_Concr.pdf
119. Belío-Reyes IA, Bucio L, Cruz-Chavez E. Phase Composition of ProRoot Mineral Trioxide Aggregate by X-Ray Powder Diffraction. *J Endod.* 2009;35(6):875–8.
120. PATENTE-442,193.pdf.
121. Raki L, Beaudoin J, Alizadeh R, Makar J, Sato T. Cement and concrete nanoscience and nanotechnology. *Materials.* 2010;3(2):918–42.
122. Camilleri J, Cutajar A, Mallia B. Hydration characteristics of zirconium oxide replaced Portland cement for use as a root-end filling material. *Dent Mater.* 2011;27(8):845–54.
123. Grech L, Mallia B, Camilleri J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. *Dent Mater.* 2013;29(2):e20–8.
124. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root-end filling material. *J Endod.* 1995;21(7):349–53.
125. Coomaraswamy K, Lumley P, Hofmann M. Effect of bismuth oxide radiopacifier content on the material properties of an endodontic Portland Cement-based (MTA-like) system. *J Endod.* 2007;33(3):295–8.
126. Chiang T, Ding S. Comparative physicochemical and biocompatible properties of radiopaque dicalcium silicate cement and mineral trioxide aggregate. *J Endod.* 2010;36(10):1683–7.
127. Tanomaru M, Ferreira G, Hungaro M, Gonçalves M, Guerreiro J. Radiopacity evaluation of root-end filling materials by digitization of images. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(6):376–9.
128. Comin-Chiaramonti L, Cavalleri G. Crystallochemical comparison between Portland cements and mineral trioxide aggregate (MTA). *J Appl Biomater Biomech.* 2009;7(3):171–8.
129. Viván R, Ordinola-Zapata R, Bramante C, Bernardineli N, Garcia R, Hungaro M, et al. Evaluation of the radiopacity of some commercial and experimental root-end filling materials. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(6):e35–8.

130. Estrela C, Sydney G, Bammann L, Felipe Jr O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J.* 1995;6(2):85–90.
131. Massi S, Tanomaru M, Silva G, Duarte M, Grizzo L, Buzalaf M, et al. pH, calcium ion release, and setting time of an experimental mineral trioxide aggregate-based root canal sealer. *J Endod.* 2011;37(6):844–6.
132. Bortoluzzi E, Juárez N, Hungaro M, Cardoso A, Monteiro C. The use of a setting accelerator and its effect on pH and calcium ion release of mineral trioxide aggregate and white Portland cement. *J Endod.* 2006;32(12):1194–7.
133. Santos A, Moraes J, Araújo E, Yukimitu K, Valério W. Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. *Int Endod J.* 2005;38(7):443–7.
134. Islam I, Kheng Chng H, Jin Yap AU. Comparison of the physical and mechanical properties of MTA and portland cement. *J Endod.* 2006;32(3):193–7.
135. Fridland M, Rosado R. MTA solubility: a long term study. *J Endod.* 2005;31(5):376–9.
136. Camilleri J. Characterization and hydration kinetics of tricalcium silicate cement for use as a dental biomaterial. *Dent Mater.* 2011;27(8):836–44.
137. Bortoluzzi E, Broon N, Bramante C, Felipe W, Tanomaru M, Esberard R. The influence of calcium chloride on the setting time, solubility, disintegration, and pH of mineral trioxide aggregate and white Portland Cement with a radiopacifier. *J Endod.* 2009;35(4):550–4.
138. Camilleri J. Evaluation of the physical properties of an endodontic Portland cement incorporating alternative radiopacifiers used as root-end filling material. *Int Endod J.* 2010;43(3):231–40.
139. AlAnezi A, Zhu Q, Wang Y, Safavi K, Jiang J. Effect of selected accelerants on setting time and biocompatibility of mineral trioxide aggregate (MTA). *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2011;111(1):122–7.
140. Wiltbank K, Schwartz S and Schindler W. Effect of selected accelerants on the physical properties of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *J Endod.* 2007;33(10):1235–8.
141. Harrington P and Virginia W. Post retention with mineral trioxide aggregate and accelerated Portland cement. West Virginia University; 2005.
142. Hsieh S, Teng N, Lin Y, Lee P, Ji D, Chen C, et al. A novel accelerator for improving the handling properties of dental filling materials. *J Endod.* 2009;35(9):1292–5.

143. Peterson V and Garci M. Time-resolved quasielastic neutron scattering study of the hydration of tricalcium silicate: Effects of CaCl_2 and sucrose. *Phys B Condens Matter*. 2006;385-386:222–4.
144. Hungaro M, Minotti P, Rodrigues C, Zapata R, Bramante C, Filho M, et al. Effect of different radiopacifying agents on the physicochemical properties of white portland cement and white mineral trioxide aggregate. *J Endod*. 2012;38(3):394–7.
145. Camilleri J, Sorrentino F, Damidot D. Investigation of the hydration and bioactivity of radiopacified tricalcium silicate cement, Biodentine and MTA Angelus. *Dent Mater*. 2013;29:580–93.
146. Torabinejad M, Smith P, Kettering J, Pitt Ford T. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root-end filling materials. *J Endod*. 1995;21(6):295–9.
147. Fischer E, Arens D, Miller C. Bacterial leakage of mineral trioxide aggregate as compared with zinc-free amalgam, intermediate restorative material, and Super-EBA as a root-end filling material. *J Endod*. 1998;24(3):176–9.
148. Tay F, Pashley D, Rueggeberg F, Loushine R, Weller R. Calcium phosphate phase transformation produced by the interaction of the Portland Cement component of white mineral trioxide aggregate with a phosphate-containing fluid. *J Endod*. 2007;33(11):1347–51.
149. Sarkar N, Caicedo R, Ritwik P, Moiseyeva R, Kawashima I. Physicochemical basis of the biologic properties of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J*. 2005;31(2):97–100.
150. Gandolfi M, Taddei P, Tinti A, De Stefano Dorigo E, Rossi PL, Prati C. Kinetics of apatite formation on a calcium-silicate cement for root-end filling during ageing in physiological-like phosphate solutions. *Clin Oral Investig*. 2010;14(6):659–68
151. Kim JR, Nosrat A, Fouad AF. Interfacial characteristics of Biodentine and MTA with dentine in simulated body fluid. *J Dent*. 2015;43(2):241–7.
152. Pedrosa L, Gomes A, Coutinho F, Schneider B, Nair S et al. Mineral Trioxide aggregate-based endodontic sealer stimulates hydroxyapatite nucleation in human osteoblast-like cell culture. *J Endod*. 2012;38:971-76.

Apéndice

8.1 PUBLICACIONES

8.1.1 Moreno-Vargas YA, Luna-Arias JP, Flores-Flores J, Bucio L. *Hydration reactions and physicochemical properties in a novel tricalcium-dicalcium silicate-based cement containing hydroxyapatite nanoparticles and calcite: a comparative study*. Ceram Int. 2017;3(16):13290-98.

8.1.2 Vázquez-Hernández F, Terlakis-González J, **Moreno-Vargas Y**, Herrera-Pérez JL, Mendoza-Alvarez J y Luna-Arias JP. *Colloidal Gold nanofilms fabricated and characterized for future use as biological sensors*. Superficies y Vacío. 2014;27(3):98-101.