

BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS DE POSGRADO

PROYECTO

**“EFECTO DE LA ADICIÓN DE ÓXIDO DE ESTRONCIO EN LAS PROPIEDADES
FISICOQUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DEL MTA”**

que para obtener el grado de:

**MAESTRÍA EN ESTOMATOLOGÍA
CON TERMINAL EN ENDODONCIA**

PRESENTA:

C.D. MORALES DE LA ROSA KATHERINE PRISCILA

MATRICULA: 224450003

RESPONSABLE DEL PROYECTO

D.C. ABIGAILT FLORES LEDESMA

ID: 100324622

DIRECTOR DISCIPLINARIO:

**MEE. EDUARDO PEÑALOZA
BRAVO**

ID: 100534412

DIRECTOR METODOLÓGICO:

**MEOITE. ARACELI ACEVEDO
CONTRERAS**

ID: 100438466

ASESOR EXTERNO:

**D.C. KATIA JARQUÍN YÁÑEZ
Facultad de Medicina – UNAM**

ID: 859950

LECTOR DE TESIS:

MCOAE. FRANCISCO JAVIER CASTILLO CANO

ID: 100445599

Febrero 2026.

I. DICTAMEN DE APROBACIÓN DE TESIS (S.I.E.P)



Oficio No. FESIEP/CIFE/007/2026

C. Katherine Priscila Morales de la Rosa
Estudiante de la Maestría en Estomatología
Terminal en Endodoncia
Matrícula No.: 224450003
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
P R E S E N T E

Por medio de la presente, reciba un cordial y respetuoso saludo. En mi doble carácter de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado y Presidenta del Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, me es grato dirigirla estas líneas para felicitarla por el avance significativo alcanzado en su proceso académico.

En atención a su solicitud, me permito informarle que su trabajo de tesis titulado:

"Efecto de la adición de óxido de estroncio en las propiedades físicoquímicas y biológicas del MTA".

ha obtenido la aprobación oficial para su impresión.

Registro institucional

Su tesis ha quedado debidamente registrada de la siguiente manera:

- C.I.F.E.: Libro de Registro No. 09, Página 01, No. de Asignación 2024258.

Dicho registro se encuentra bajo resguardo de esta Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado y forma parte del procedimiento requerido para la presentación de su examen profesional, necesario para la obtención del grado de Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Endodoncia.

Próximos pasos:

- 1** Impresión de la tesis: Proceda con los trámites de impresión conforme a los lineamientos establecidos por la Facultad.
- 2** Revisión final del documento: Verifique que el texto cumpla plenamente con los estándares académicos, formales y editoriales.
- 3** Programación del examen profesional: Comuníquese con el Responsable de la Terminal de la Maestría de su elección para programar su examen de grado y gestionar los trámites administrativos correspondientes.

Se le recuerda que el cumplimiento puntual de los plazos y requisitos es fundamental para asegurar la correcta conclusión del proceso.

Este logro es reflejo de su esfuerzo, constancia y compromiso académico. Le expresamos una sincera felicitación por este avance tan relevante y confiamos en que continuará distinguiéndose por su responsabilidad y profesionalismo.

Para cualquier duda o información adicional, quedamos a su disposición para acompañarlo (a) en esta etapa final de su formación.

Sin otro particular, le reitero mi más atenta y distinguida consideración y le deseo éxito en la etapa final de esta carrera académica.

A t e n t a m e n t e

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a jueves 19 de febrero de 2026.

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología



*C.e.p. Archivo
*MCO. FJMA/MEP. GNRCO/yaneth

Secretaría de Investigación y
Estudios de Posgrado
Facultad de
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

II. AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS RECEPCIONAL**

Para obtener el Grado de: Maestría en Estomatología con opción en Terminal en Endodoncia.

No. Registro CIFE: 2024258. Fecha de Registro ante CIFE: miércoles 24 de abril del 2024.

Título de la Tesis: "Efecto de la adición de óxido de estroncio en las propiedades fisicoquímicas y biológicas del MTA"

Nombre del estudiante: Katherine Priscila Morales de la Rosa.

Matrícula: 224450003.

Domicilio: Circuito Durazno No. 29 Col. Fovisste V Mesa de Otay, C.P 22450, Tijuana, Baja California; México.

No. Cel.: 66*46 69 22 02.

Fecha de ingreso a la Facultad: lunes 08 de enero del 2024.

Firma: _____

Director de Tesis: DC. Abigail Flores Ledesma.

Grado académico: Doctorado en Ciencias.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100324622.

No. Cel. 55*37 37 66 11.

Firma: _____

Director Disciplinario: MEE. Eduardo Peñaloza Bravo. Grado académico: Maestría en Estomatología con opción Terminal en: Endodoncia.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100534412.

No. Cel. 22*21 72 39 35.

Firma: _____

Director Metodológico: MEOITE. Araceli Acevedo Contreras. Grado académico: Maestría en Educación con Orientación en Innovación y Tecnología Educativa.

Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100438466.

No. Cel. 22*23 22 94 18.

Firma: _____

Lector: MCOAE. Francisco Javier Castillo Cano. Grado académico: Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Endodoncia. Adscripción: Facultad de Estomatología.

ID: 100445599

No. Cel. 22*11 17 72 21.

Firma: _____

Nombre y firma de aprobación por parte del Responsable de la Maestría en Estomatología en Terminal en Endodoncia.

EE. Alejandro Gerardo Martínez Guerrero

Firma: _____

La Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado

Facultad de Estomatología,

Autoriza la impresión de la Tesis.

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana



Fecha oficial de emisión: martes 17 de febrero del 2026.

Sello _____

III. OFICIO DE ACEPTACIÓN C.I.F.E



Constancia No. FESIEP/CIFE/251/2024

DC. Abigail Flores Ledesma
Responsable del Proyecto de Investigación
Secretaría de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
PRESENTE

Sirva este medio para enviarle un cordial saludo, asimismo, la que suscribe MEP, Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana en mi calidad de Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado de la Facultad de Estomatología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Es mi deber informarle acerca de una actualización significativa relacionada con el Proyecto de Investigación (Colectivo) que Usted lidera.

Título original:

"Efecto de la adición de óxido de estroncio en las propiedades fisicoquímicas y biológicas del MTA".

Fue presentado por el equipo compuesto por:

No.	Cargos	Nombres	ID - Matrículas
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	DC. Abigail Flores Ledesma	100324622
2	Director Disciplinario:	ML. Eduardo Peñaloza Bravo	100534412
3	Director Metodológica:	DC. Cristian Dionisio Román Méndez	100392244
4	Asesora Externa:	DC. Katia Jarquín Yáñez Facultad de Medicina - U.N.A.M.	S/N
5	Estudiante de Maestría en Estomatología <u>Terminó en Entidad</u>	C. Katherine Priscila Morales de la Rosa	224450003

Dicho proyecto fue registrado en el libro de registros 09, página 01, bajo el No. de asignación 2024258, con fecha asentada el día miércoles 24 de abril del año vigente, ante el Comité de Investigación de la Facultad de Estomatología (C.I.F.E.).

Se hace constar, que, el día jueves 30 de mayo del presente año, el C.I.F.E. recibió su notificación de Cambio de Director Metodológica de su Proyecto de Investigación. Tras su revisión y aprobación:

Se ratifica el Título original:

"Efecto de la adición de óxido de estroncio en las propiedades fisicoquímicas y biológicas del MTA".

La actualización de los integrantes del proyecto queda de la siguiente manera:

No.	Cargos	Nombres	ID - Matrículas
1	Responsable del Proyecto de Investigación:	DC. Abigail Flores Ledesma	100324622
2	Director Disciplinario:	ML. Eduardo Peñaloza Bravo	100534412
3	Directora Metodológica:	CDFF. Araceli Acevedo Contreras	100438466

Secretaría de Investigación y
Estudios de Posgrado
Facultad de
Estomatología
31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.,
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

Página 1 de 2



BUAP

4	Asesora Externa:	DC. Katia Jarquín Yáñez Facultad de Medicina - U.N.A.M.	S/N
5	Estudiante de Maestría en Estomatología <u>Terminal en Endodancia</u>	C. Katherine Priscila Morales de la Rosa	224450003

Sin más por el momento y esperando una colaboración continua, le reitero mi disposición para cualquier consulta o aclaración.

Para los fines legales que los interesados convengan, y sin otro particular, reitero a Usted mi más atenta y distinguida consideración

Atentamente

"Pensar bien, para vivir mejor"

H. Puebla de Z., a jueves 30 de mayo del 2024

MEP. Gisela Nataly Rubin de Celis Quintana
Secretaria de Investigación y Estudios de Posgrado
Facultad de Estomatología



*C.e.p. Archivo
*MCO. FJMA/MEP. GNRCQ/yaneth

Secretaría de Investigación y
Estudios de Posgrado
Facultad de
Estomatología

31 poniente 1304, Col. Volcanes
Puebla, Pue.
C.P. 72410
Tel. Of. 22*22 29 55 00
Ext. 5526

Página 2 de 2

IV. REPORTE DE SIMILITUD

Página 2 de 96 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid::1:3477404976

22% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

Fuentes principales

20%		Fuentes de Internet
6%		Publicaciones
12%		Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alerta de integridad para revisión

**Texto oculto**
75 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Página 2 de 96 - Descripción general de integridad

Identificador de la entrega trn:oid::1:3477404976

V. EVIDENCIA DE PRODUCTOS ACADÉMICOS DERIVADOS DEL PROYECTO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
Facultad de Odontología



Otorgan la Presente

Constancia

Morales De La Rosa Katherine Priscila, Flores-Ledesma Abigail, Peñaloza Bravo Eduardo, Acevedo-Contreras Araceli, Jarquín Yáñez Katya, Martínez Guerrero Alejandro Gerardo.

Por su participación en el **XXVII** Congreso Internacional de Especialidades Odontológicas, celebrado en el Centro Cultural Universitario los días 18 Y 19 de septiembre. Con el trabajo titulado ***Radiopacidad, pH y viabilidad celular en un MTA modificado con óxido de estroncio al 1% y 6% en formato Oral virtual***

ATENTAMENTE
Por la Cultura y la Justicia Social
Tlaxcala, Tlax., a 19 de septiembre del 2025

C.D.E.P. Nohemí Lima Hernández
Directora de la Facultad



FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA
DIRECCIÓN



La Unidad de Bioquímica «Dr. Guillermo Soberón Acevedo» del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición «Salvador Zubirán»

Extiende la presente constancia a:

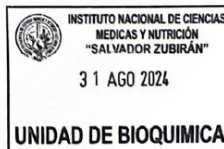
Katherine Priscila Morales de la Rosa

Por su asistencia al curso teórico-práctico «*Técnicas básicas de cultivos de líneas celulares de mamífero*» (10 horas curriculares).

M. En C. José Luis Ventura Gallegos
Técnico Académico Titular «B»
Instituto de Investigaciones Biomédicas
(IIBO), UNAM

Dr. Alejandro Zentella Dehesa
Investigador Titular, Unidad de Bioquímica
IIBO-UNAM, INCMNSZ.

Ciudad de México a 31 de Agosto del 2024



VI. AGRADECIMIENTOS

Expreso mi sincero agradecimiento a mi directora de tesis, la Dra. Abigail Flores Ledesma, a quien admiro y aprecio. Gracias por su guía constante, apoyo, paciencia, disposición y aportaciones que enriquecieron este estudio y mi formación profesional. Este logro es también reflejo de su dedicación y compromiso.

Agradezco profundamente a mi comité tutorial: Dr. Eduardo Peñaloza Bravo, la Dra. Araceli Acevedo Contreras y la Dra. Katia Jarquín Yáñez por su disposición, sus aportaciones académicas, orientación y comentarios constructivos que fueron indispensables para el desarrollo y mejora de esta investigación.

A mis profesores del Posgrado de Endodoncia: Dr. Alejandro Martínez, Dr. Emilio, Dr. Eduardo, Dr. Francisco, Dr. Pablo, Dr. Rodolfo, Dra. Susy, Dra. Briseida, Dra. Milly y Dra. Alma por la orientación y acompañamiento a lo largo de mi preparación profesional. Su compromiso con mi aprendizaje, su calidad humana y su disposición para compartirme sus conocimientos. Gracias por todas las observaciones constructivas y por permitirme crear mi propio pensamiento crítico.

Agradezco al Dr. Efraín Rubio Rosas, Coordinador del Área de Investigación y director de CUVYTT de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por el suministro del tamiz utilizado en el desarrollo de este estudio.

Asimismo, expresé un sincero agradecimiento a la Dra. Lourdes Soledad Bazán Díaz y al Dr. Omar Novelo Peralta del Laboratorio Universitario de Microscopia Electrónica (LUME-UNAM) por su apoyo en la observación y análisis de las muestras mediante microscopía electrónica de barrido. Y a la Mtra. Adriana Tejeda Cruz, del Laboratorio de Rayos X por su orientación y apoyo técnico en análisis de DRX, del Instituto de Investigaciones en Materiales de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Agradezco el financiamiento otorgado a través de los proyectos PAPIIT: IA203025, IN220826 e IT200525, así como al Dr. Andrés Castell Rodríguez, la Dra. Gabriela Piñón Zarate, la Biol. Beatriz Hernández Téllez y al candidato Dr. José Luis Hidalgo Vicelis por su asesoría y apoyo en la realización de las técnicas biológicas empleadas en esta investigación. A la Dra. Blanca Esther Blancas Luciano, del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la UNAM, por facilitar el espectrofotómetro para la lectura de la absorbancia de las muestras.

De igual manera, agradezco la colaboración del Biol. Armando Zepeda Rodríguez y de la Mtra. Irma Elena López Martínez con su ayuda en Microscopia Electrónica de Barrido.

Finalmente, agradezco la asistencia técnica de Manuel Aguilar Franco, de LaNCaM, en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA), campus Juriquilla de la UNAM, por su disponibilidad y apoyo en la realización de los análisis de caracterización por difracción de rayos X de haz rasante (XRD). Cierro estos agradecimientos reconociendo el apoyo del Dr. Carlos Enrique Cuevas por su orientación y disposición durante el desarrollo de este trabajo.

Agradezco profundamente a todas y todos los doctores que colaboraron en la realización de las pruebas de este estudio. Su apoyo, disposición para orientar cada etapa experimental y generosidad al compartir sus conocimientos hicieron posible el desarrollo adecuado de este trabajo. Su contribución fue invaluable.

DEDICATORIA

A Dios, fuente de sabiduría y amor, por guiarme en este camino de formación profesional y por darme fuerzas hasta concluir con mi maestría.

A mis padres, Claudia De La Rosa y Jaime Morales, les expreso mi más profundo agradecimiento por su amor incondicional, apoyo y por poner su confianza en mí. Gracias por ser mi fortaleza, por impulsarme a seguir adelante y por creer en mí para cumplir este sueño. Este trabajo y este grado son reflejo de lo que me han brindado. Nada de esto habría sido posible sin ustedes. Esto también lleva su nombre. Los amo con todo mi corazón.

A mi futuro Dr. Angel De La Rosa, por estar para mí desde el inicio de mi carrera, por apoyarme en mis horas de estudio y por demostrarme su amor aun a la distancia. Te amo hermano.

A mis abuelitos Olga y Víctor De La Rosa, por siempre tenerme en sus oraciones, bendecirme y por todo su amor para mí. Quisiera que fueran eternos en mi vida.

A todos mis tíos y primos por siempre demostrarme su apoyo, estar al pendiente de mí y apoyarme incondicionalmente.

A mis compañeras – endohermanas de generación, Danya, Tere y Gio, ¡Gracias niñas! Por brindarme su amistad, por crear este vínculo tan bonito y por adoptar a esta foránea nortea a su team. Por cada palabra de ánimo, por las risas que aligeraron los días difíciles y por el apoyo sincero que me brindaron. Gracias por hacer de cada momento un recuerdo especial que llevaré en mi corazón siempre. ¡Las quiero mucho!

A mis endohermanos – Ale, Vale y Alan por compartir conmigo 1 año de nuestra formación endodóntica, gracias por todo su cariño, apoyo y crear momentos que siempre recordare. Los quiero mucho y siempre contarán conmigo.

A mis roomies Mónica, Diego, Charlie y José, estoy agradecida con Dios por dármeles de amigos y hermanos. Gracias Puebla, por darme la oportunidad de coincidir con ellos y pasar tantos momentos divertidos y de risas. El vivir esta aventura no hubiera sido lo mismo sin ustedes. Gracias por cada momento feliz, triste, de estudio, de fiesta y por siempre darnos ánimos unos a otros. Los quiero y espero que nuestra amistad perdure para siempre.

Finalmente, mis pedias favoritos Jose y Mariela, porque, aunque nuestros caminos académicos fueron distintos, su compañía fue constante. Gracias por estar presentes, por escucharme y aconsejarme. Los quiero amigos.

“El Señor cumplirá su propósito en mí.”

Salmos 138:8

I. ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN	1
PALABRAS CLAVE.....	1
2 ANTECEDENTES	2
2.1 ANTECEDENTES GENERALES	2
Complejo dentino-pulpar	3
Composición química	3
Matriz orgánica	3
Matriz inorgánica	4
Clasificación histogenética de la dentina	5
Clasificación histotopográfica de la dentina	6
Dentina reparativa y respuesta pulpar relacionada con MMPs.....	7
Agregado Trióxido Mineral.....	8
Aplicaciones clínicas	9
Procesos de su mecanismo de acción	10
1. Interacción química con los tejidos.....	10
2. Elevación de pH y efecto antibacteriano.....	10
3. Formación de hidroxiapatita y sellado biológico	10
Exposición de las DPSCs al MTA	10
Manipulación y tiempo de fraguado.....	11
Óxido de Estroncio	13
Efectos biológicos de los iones de estroncio.....	14
Efectos antiinflamatorios	14
Uso del estroncio como agente radiopacificador	14
Bioactividad.....	15
Procedimiento de la prueba de bioactividad	16
Soluciones y medios fisiológicos en la síntesis y procesamiento de fosfatos de calcio.....	16
Viabilidad Celular	18
2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	21
3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	23
3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	23
4 JUSTIFICACIÓN.....	24
5 HIPÓTESIS	24

5.1 HIPÓTESIS CIENTÍFICA	24
6 OBJETIVOS	25
6.1 OBJETIVO GENERAL.....	25
6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	25
7 MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	26
7.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	26
7.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN.....	27
7.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN.....	27
7.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	27
7.3.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	27
7.4 VARIABLES	28
7.4.1 VARIABLES INDEPENDIENTES.....	28
7.4.2 VARIABLES DEPENDIENTES.....	28
7.5 CONCORDANCIA Y FIABILIDAD.....	29
7.6 UBICACIÓN ESPACIO- TEMPORAL	29
7.7 PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS Y FUENTE DE RECOLECCIÓN.....	30
7.7.1 Preparación de cemento experimental.....	30
7.7.2 Proceso de tamizado	31
7.7.3 Preparación de los 3 grupos.....	32
7.7.4 Elaboración de pastillas.....	33
Preparación de los moldes	33
Preparación de la mezcla	34
Compactación y fraguado	34
7.7.5 Prueba de Radiopacidad	35
Preparación de las muestras	35
Procedimiento radiográfico	35
Análisis de los datos	36
7.7.6 Prueba de pH.....	36
Preparación de las muestras	36
Condiciones de almacenamiento	36
Medición del pH	37
7.7.7 Prueba de Bioactividad.....	37

Preparación de la solución y muestras.	37
Inmersión en SBF.....	38
Preparación para análisis SEM	38
Análisis de difracción de rayos X con incidencia rasante (GIXRD)	39
7.7.8 Prueba de Viabilidad Celular	39
Preparación de las muestras	39
Ensayo de Anexina V y 7-AAD	40
Ensayo PrestoBlue.....	42
7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	43
8. RESULTADOS	44
Radiopacidad.....	44
pH	45
Bioactividad	46
Difracción de Rayos X.....	48
Viabilidad Celular (Ensayo PrestoBlue)	49
Prueba de Citotoxicidad (Anexina V con 7-AAD).....	50
9. DISCUSIÓN.....	52
10. CONCLUSIÓN	58

II. INDICE DE TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICOS

Tablas

Tabla 1 Componentes de la matriz extracelular de la dentina.	4
Tabla 2 Estudios recientes con modificaciones al MTA.	12
Tabla 3 Población y muestra	26
Tabla 4 Distribución porcentual de células viables, apoptosis temprana, apoptosis tardía y necrosis en los grupos experimentales (G1-0%, G2-1% y G3-6%).	51

Figuras

Figura 1 Imagen ilustrativa de la dentina reparativa.	5
Figura 2 Aplicaciones clínicas del MTA.	9
Figura 3 Plugger aplicador de MTA.	11
Figura 4 Aplicación del estroncio en odontología.	13
Figura 5 Componentes de un citómetro.	20
Figura 6 Materiales para preparación de cemento experimental.	30
Figura 7 Tamiz No. 325 cerrado para el método físico de agitación.	31
Figura 8 Cemento sinterizado en tamiz.	31
Figura 9 Preparación de cemento experimental grupo 2.	32
Figura 10 Imagen de cemento experimental y SrO homogeneizado.	32
Figura 11 Materiales utilizados para la elaboración de muestras.	33
Figura 12 Calibración de moldes.	33
Figura 13 Compactación y fraguado de muestra.	34
Figura 14 Rayos X portátil, HyperLight-G Eighteenth.	35
Figura 15 Imágenes radiográficas digitales.	35
Figura 16 Muestras en agua desionizada.	36
Figura 17 Medición de pH.	37
Figura 18 Preparación de solución y muestras para prueba de bioactividad.	37
Figura 19 Muestras sumergidas en solución SBF en posición vertical.	38
Figura 20 Preparación para análisis SEM.	38
Figura 21 Obtención de Bazo.	39
Figura 22 Trituración de bazo hasta suspensión homogénea.	39
Figura 23 Centrifugado de suspensión celular y resuspensión en posillos.	40
Figura 24 Procedimiento de prueba de viabilidad celular.	40
Figura 25 FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit con 7-AAD.	41
Figura 26 Procedimiento para analizar por citometría de flujo.	41
Figura 27 Distribución y conteo de células.	43
Figura 28 Imagen SEM correspondiente al grupo 1 (G1-0%) a los 28 días.	46
Figura 29 Imagen SEM correspondiente al grupo 2 (G2-1%) a los 28 días.	47
Figura 30 Imagen SEM correspondiente al grupo 3 (G3-6%) a los 28 días.	47

Gráficos

Gráfico 1 Resultados de prueba de radiopacidad expresados en milímetros de aluminio (mm Al).	44
Gráfico 2 Resultados de prueba de pH a los distintos tiempos.	45
Gráfico 3 Análisis XRD	48
Gráfico 4 Viabilidad celular de los grupos experimentales (G1, G2 y G3) determinada mediante el ensayo PrestoBlue, evaluada a 24 horas, 4 y 9 días.....	49
Gráfico 5 Análisis de citotoxicidad de los grupos experimentales en citometría de flujo con Anexina V y 7-AAD.....	50

Abreviaturas

μL	Microlitros
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	Hidróxido de calcio
Ca^{2+}	Iones de calcio
CaP	Fosfatos de calcio
CPB	Cemento Portland Blanco
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMEM-F12	Dulbecco modificado de Eagle-Ham F12
DMP1	Proteína de la matriz dentinaria 1
DMPs	Matriz dentinaria
DPP	Fosforina dentinaria
DPSCs	Células madre de la pulpa dental humana
DRM	Densidad radiográfica de la muestra
DSP	Sialoproteína dentinaria
DSPP	Sialofosfoproteína dentinaria
EBSS	Earle's Balanced Salt Solution
ECF	Fluido extracelular
EDS	Espectroscopia de rayos X por dispersión de energía
Fe	Hierro
g	Gramo
Hap	Hidroxiapatita
HBSS	Hank's Balanced Salt Solution
ICDD	Centro Internacional de Datos de Difracción).
IL	Interleucina
kg	Kilogramo
kg/m^3	Kilogramo sobre metro cúbico
KHB	Krebs-Henseleit buffer
kV	Kilovoltio
MEM	Eagle's Minimum Essential Medium
Mg	Magnesio
mg	Miligramo
Mg^{2+}	Ion de magnesio
mL	Mililitro
mm	Milímetro
mm Al	Milímetros de aluminio
MMP-3	Metaloproteinasas de matriz 3
MMP-9	Metaloproteinasas de matriz 9
MMPs	Metaloproteinasas de matriz
MSCs	Células madre mesenquimales
MTA	Agregado Trióxido Mineral

N	Número de muestras totales
nm	Nanómetro
OH ⁻	Iones hidroxilo
ppm	Partes por millón
RLS	Lactated Ringer's solution
rpm	Revoluciones por minuto
RPMI	Roswell Park Memorial Institute (Medio de cultivo celular)
SBF	Solución Fisiológica Simulada
SEM	Microscopia Electrónica de Barrido
SIBLINGs	Small, Integrin-Binding Ligand, N-linked Glycoprotein
Sr	Estroncio
Sr ²⁺	Iones de estroncio
TGF-β	Factor de Crecimiento Transformante beta
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
TNF-α	Factor de necrosis tumoral alfa
XRD/DRX	Difracción de rayos X
Zn	Zinc
μm	Micrómetro

1 INTRODUCCIÓN

En endodoncia, los procedimientos de reparación resultan esenciales para mantener la integridad estructural y funcional de los dientes tratados. Dentro de este ámbito, los cementos a base de silicato de calcio han adquirido gran relevancia en terapias endodónticas regenerativas, debido a su elevada biocompatibilidad y capacidad bioactiva [1]. Estos materiales hidráulicos, cuyo fraguado ocurre en presencia de humedad, presentan la habilidad de promover la formación de apatita en la interfase dentinaria, favoreciendo su eficacia clínica. [2]

En la naturaleza, se encuentran componentes esenciales que tienen un impacto sobre la dentina. La hidroxiapatita (HAp) representa la estructura cristalina inorgánica primordial de la dentina, que desempeña un papel fundamental en procesos fisiológicos. La dentina tiene la capacidad de incorporar muchos elementos inorgánicos a su estructura de apatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, siendo los más comunes el magnesio (Mg), zinc (Zn), hierro (Fe) y estroncio (Sr).

La existencia de iones Sr puede favorecer la producción de tejido mineralizado, como la osteodentina, en el tejido macerado. Por lo tanto, la incorporación del estroncio en combinación con otros materiales como el Agregado Trióxido Mineral (MTA) podría proteger y estimular a la pulpa dental. El óxido de estroncio (SrO) también inicia significativamente la liberación de iones de calcio, aumentando así la regeneración del tejido óseo.

En este contexto, la combinación del MTA con la adición de estroncio emerge como un área de estudio prometedora para abordar los desafíos actuales en procedimientos endodónticos y regeneración dental.

Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo investigar la influencia de la adición de óxido de estroncio a un cemento MTA en las propiedades fisicoquímicas. Este enfoque permitirá una evaluación más precisa de la viabilidad clínica de este compuesto modificado, proporcionando así información para el desarrollo futuro de terapias endodónticas mejoradas y más efectivas.

PALABRAS CLAVE

Cemento tipo - MTA, óxido de estroncio, radiopacidad, pH, bioactividad, viabilidad celular.

2 ANTECEDENTES

2.1 ANTECEDENTES GENERALES

La endodoncia actual busca ser más conservadora y puntual al remover únicamente tejido dañado. El preservar el tejido pulpar puede prolongar la supervivencia a largo plazo de los órganos dentarios mediante procedimientos mínimamente invasivos como lo es la Terapia Pulpar Vital, por sus siglas en inglés (VPT).

La VPT tiene como objetivo preservar la vitalidad y funcionalidad del tejido pulpar dental comprometido en dientes comprometidos por exposición pulpar por caries, procedimientos restaurativos o traumatismos [3]. Ante la exposición del tejido pulpar y la consecuente contaminación bacteriana, se desencadena una respuesta inflamatoria e inmune que promueve el reclutamiento de células del complejo dentino-pulpar, lo que conduce a la formación de dentina reparadora [4].

Bajo este enfoque conservador la VPT comprende técnicas entre las que se incluyen:

- Excavación gradual.
- Recubrimiento pulpar directo.
- Recubrimiento pulpar indirecto.
- Pulpotomía parcial [3].

El impulso por practicar una endodoncia mínimamente invasiva lleva a mejor comprensión de mecanismos de defensa de la pulpa y la dentina, la introducción de materiales bioactivos ha llevado a que la VPT sea considerada una alternativa terapéutica [5].

Anteriormente el material tradicional utilizado era el hidróxido de calcio, utilizado debido a su accesibilidad, propiedades antibacterianas y formación de dentina terciaria; sin embargo, sus limitaciones como la baja resistencia mecánica y alta solubilidad, ha llevado al desarrollo de otros biomateriales. Los materiales bioactivos, como lo son, el MTA y Biodentine [3] que han demostrado bioactividad comprobada mediante la liberación de iones calcio y su interacción con el tejido dentino-pulpar, lo que fomenta la formación de una capa mineralizada en la interfaz material- dentina y puede estimular diferenciación celular y reparación del tejido duro adyacente al complejo dentino-pulpar [6].

Complejo dentino-pulpar

La dentina, llamada también sustancia ebúrnea o marfil, es el eje estructural del diente y constituye el tejido mineralizado que conforma el mayor volumen del órgano dentario. Su espesor varía según el diente, en incisivos inferiores es mínimo (de 1.0 a 1.5 mm) mientras que en caninos y molares es superior (3.0 mm).

En su estructura se distinguen dos componentes básicos, una matriz mineralizada y túbulos dentinarios que alojan procesos odontoblásticos, terminales nerviosas libres y licor dentinario.

En cuanto a sus propiedades físicas presenta translucidez, dureza, elasticidad, permeabilidad y radiopacidad, la cual depende de su contenido mineral, menor que el esmalte y superior al hueso y cemento [7].

Composición química

Es aproximadamente 18% de materia orgánica (principalmente fibras colágenas), 12% agua y 70% de materia inorgánica, principalmente cristales de hidroxiapatita. La hidroxiapatita (HAp) representa la estructura cristalina inorgánica primordial de la dentina, que desempeña un papel fundamental en procesos fisiológicos [7].

Matriz orgánica

El colágeno que se sintetiza en el odontoblasto, representa el 90% de la matriz, principalmente del tipo I representando el 98%, seguido del colágeno tipo III y V con el 1-2% respectivamente.

Se han detectado proteínas no colágenas que representan el 10% del total. Destacan entre ellas las proteínas fosforiladas de la matriz que se agrupan con la denominación de SIBLINGs (Small, Integrin-Binding Ligand, N-linked Glycoprotein) que están relacionadas con integrina. Entre ellas destacan cuatro proteínas que se localizan en la dentina, aunque también lo hacen en la matriz ósea:

- Fosforina dentinaria (DPP) que, tras el colágeno, es el componente más abundante de la dentina.
- Sialoproteína dentinaria (DSP)
- Sialofosfoproteína dentinaria (DSPP)
- Proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP1).

La proteína DSPP elaborada por el odontoblasto se escinde también en dos proteínas, la DSP y la DPP, relacionadas ambas con el proceso de mineralización y, más concretamente, con el inicio de la nucleación del mineral y el control del

crecimiento de los cristales de hidroxiapatita. Los componentes de la matriz extracelular de la dentina se describen en la tabla 1.

Tabla 1 Componentes de la matriz extracelular de la dentina.

Colágeno (90% de la matriz extracelular)	
Tipos I y I trómero (98%)	Tipo III (1-2%)
Tipo V (1%)	Tipos IV y VI
Proteínas fosforiladas de la matriz (SUBLING)	
Sialofosfoproteína dentinaria (DSPP)	Sialoproteína dentinaria (DSP)
Fosfoforina dentinaria (DPP)	Proteína de la matriz dentinaria 1 (DMP1)
Osteopontina (OPN)	Sialoproteína ósea (BSP)
Fosfoglucopeína extracelular de la matriz (MEPE)	
Proteínas de la matriz no fosforiladas	
Proteína GLA de la matriz	Osteocalcina
Osteonectina	
Proteoglicanos (PG)	
PG con condroitín sulfato (CS) y dermatán sulfato (DS)	PG con keratán sulfato
Osteoadherina	

Proteínas no colágenas (10% de la matriz extracelular)	
Amelogenina	
Factores de crecimiento e inhibición	
TGF- β	ILGF-1 y 2
FGF-2	VEGF
PDGF	EGF
Inhibidor tisular de la metaloproteína (TIMP-1 a 3)	
Metaloproteinasas de la matriz	
Colagenasa (MMP-1)	Gelatinasas (MMP1 y 9)
Estromelina (MMP-3)	Enamelina (MMP-20)
Metaloproteinasas de membrana tipo 1 (MT1-MMP)	
Fosfatasa alcalina	
Proteínas derivadas del suero	
Albumina	Lipoproteínas
LHS2-glucoproteína	
Fosfolípidos	
Fosfolípidos de membrana 66%	
Fosfolípidos asociados al mineral extracelular 33%	

Matriz inorgánica

La matriz inorgánica está compuesta por cristales de HAp, similares, químicamente a los cristales del esmalte, cemento y hueso. Las dimensiones de los cristales son 36 μm de longitud, 25 μm de anchura y 10 μm de altura. Tienen una orientación paralela a las fibras de colágeno de la matriz dentinaria y se disponen entre las fibras (70-75%) así como dentro de las mismas (25-30%), ya que ocupan los espacios entre las moléculas de colágeno que se forman.

Además de los cristales de hidroxiapatita, la fracción mineral de la dentina incluye fosfatos amorfos, carbonatos, sulfatos y oligoelementos, como flúor, cobre, zinc, hierro, magnesio, etc.

Asimismo, parte del calcio se encuentra asociado a componentes de la matriz orgánica, lo que sugiere existencia de un reservorio que participa para la formación de cristales de hidroxiapatita [7]. Por lo tanto, su capacidad de incorporar distintos iones dentro de su red cristalina ha sido aprovechada para modificar sus propiedades. Se ha informado que la hidroxiapatita puede sustituir casi la mitad de los elementos del sistema periódico dentro de su red, debido a la gran flexibilidad de su estructura. Específicamente, las sustituciones catiónicas ocurren en sitios que normalmente son ocupados por Ca^{2+} , incluyendo tanto cationes bivalentes (por ejemplo, Sr^{2+} , Ba^{2+} , Mg^{2+} , etc.) como cationes monovalentes (Na^{+} , K^{+} , etc.) [8].

En este contexto, la HAp dopada con estroncio se ha empleado ampliamente en distintas aplicaciones en cirugías médicas. Marie *et al.*, 1993 [9], reportaron que se ha utilizado en el área odontológica para recubrir implantes de titanio y mejorar su osteointegración. Debido a que los iones de Sr^{2+} puede sustituir a los iones Ca^{2+} dentro de la red cristalina de la HAp, el nivel de sustitución modifica sus propiedades fisicoquímicas, sobre todo la solubilidad, la cual incrementa conforma aumenta la concentración de estroncio.

Estudios *in vitro* como el de Pelepenko *et al.*, 2022 [10] han demostrado que una sustitución del 10% de Sr^{2+} favorece significativamente la proliferación celular, la actividad de fosfatasa alcalina y la síntesis de colágeno tipo I.

Clasificación histogenética de la dentina

Se reconocen tres tipos de dentina, primaria y secundaria, que se forman fisiológicamente en todos los órganos dentarios, y la dentina terciaria (osteodentina), que se produce como respuesta ante una agresión.

En este estudio se dará enfoque en la dentina reparativa, reaccional, irregular o patológica (Figura 1). Es la dentina que se forma más internamente, deformando la cámara, pero solo en sitios donde existe un estímulo localizado. Esta directamente implicada por un estímulo nocivo, de manera que sea posible alejar a la pulpa de la zona afectada, formada por células odontoblastoides, los cuales se originan a partir de células pulpares de reserva.



Figura 1 Imagen ilustrativa de la dentina reparativa.
Elaboración propia (IA)

La osteocalcina, la osteopontina, la osteonectina y la sialoproteína dentinaria participan en distintas fases de este proceso de dentinogénesis reparativa.

La dentina terciaria constituye una protección pulpar de acuerdo con su espesor, la pulpa que se encuentra cerca a la dentina terciaria puede inflamarse y su regulación dependerá de su intensidad y duración del irritante, así como del estado pulpar.

Clasificación histotopográfica de la dentina

En la dentina consideramos tres zonas:

La dentina del manto o palial que es la primera que se forma y se ubica periféricamente.

- a) La dentina circumpulpar que es el resto de la dentina producida y mineralizada.
- b) La predentina, sin mineralizar, que esta adyacente a los odontoblastos de la pulpa.

En el caso de este estudio nos enfocaremos en la predentina, una capa de dentina sin mineralizar, de 20 a 30 μm de ancho, situada entre la dentina circumpulpar y los odontoblastos. Está constituida por una matriz orgánica dentinaria, muy rica en componentes azufrados, que pueden compararse con la sustancia osteoide del hueso. Se localiza entre la dentina mineralizada y el tejido conectivo pulpar.

La presencia de la predentina es importante, ya que es una fuente de producción continua de dentina durante todo el ciclo vital del diente. Su espesor varía en función de la actividad dentinogénica de cada pieza dentaria. Si la predentina se calcifica completamente, la dentina podría comenzar a ser reabsorbida por los odontoclastos (semejantes a los osteoclastos) [7].

Los odontoblastos, una vez elaborada dicha predentina participan en procesos de mineralización de la forma siguiente:

1. Captando y almacenando calcio.
2. Elevando la concentración local de iones fosfatos, mediante la acción de fosfatasa alcalina.
3. Formando las denominadas vesículas matriciales. Las vesículas matriciales, que son la base de la calcificación de esta zona de la dentina, son formaciones esféricas de 100 a 200 μm de diámetro, en su interior se precipitan calcio y fosfato.

Los iones acumulados en las vesículas precipitan como fosfato cálcico amorfo, para, finalmente, transformarse en cristales de hidroxipatita, ricos en magnesio.

El proceso de formación de los cristales es muy complejo y no está del todo aclarado. En primer lugar, aparecen partículas de tamaño nanométrico que constituyen la primera entidad visible del componente mineral. Posteriormente estas partículas se disponen junto a otras en cadenas en forma de aguja de 1 a 2 μm de espesor. La coalescencia de estas cadenas en dirección lateral da lugar a cristales en forma de placa o cinta. Su expansión continua hasta alcanzar la geometría final del cristal. Al crecer, los cristales terminan por romper las vesículas, esparciéndose en la matriz circundante. A partir de cada vesícula se forma un núcleo creciente de cristales de hidroxiapatita. Estos núcleos de calcificación se fusionan con otros vecinos, constituyéndose una frente lineal de calcificación.

La ruptura de las vesículas libera metaloproteinasas de matriz (MMPs) especialmente, MMP-3 que participa en la disolución de los proteoglucanos asociados a las fibras de colágeno preparando la matriz para el proceso de mineralización [7].

Las MMPs son una familia de 28 endopeptidasas modulares implicadas en la remoción de matriz extracelular y su señalización que guían la inflamación, formación ósea y la angiogénesis [11]. Producidas por componentes celulares (células epiteliales, endoteliales, fibroblastos, osteoclastos, osteoblastos, condrocitos, condroclastos, células inflamatorias y odontoblastos) [12].

Dentina reparativa y respuesta pulpar relacionada con MMPs

Las metaloproteinasas expresadas por células de la pulpa (odontoblastos y células endoteliales) no solo degradan matriz, también participan en procesos de señalización que modulan la respuesta ante una lesión y reparación tisular. Li Zheng *et al.*, 2009 [13], reportó que la acción de MMP-3 ha mostrado favorecer a la angiogénesis y a la reparación del tejido pulpar.

La pulpa dental es un tejido conectivo laxo altamente vascularizado e innervado que constituye el núcleo de la estructura dental. Compuesta por (células madre de la pulpa dental “DPSCs”, fibroblastos, odontoblastos, células inmunitarias, redes neurovasculares) y extracelulares (colágena, fibronectina y glicoproteínas) que se presentan en relación con la dentina [14]. Una lesión pulpar provoca una respuesta inflamatoria caracterizada por la invasión de células polimorfonucleares y la liberación de MMP-9, la cual degrada a la dentina dañada expuesta, la angiogénesis y la migración celular, activando así las vías que llevan a una reparación [15].

La reparación o regeneración de la dentina depende invariablemente de la sensibilidad pulpar, así como del reemplazo de la matriz de dentina dañada por odontoblastos proliferantes recién formados y diferenciación de células madre de la pulpa dental humana [15].

Las DPSCs son un tipo de células progenitoras mesenquimales con alta capacidad de autorrenovación y potencial de diferenciación incluyendo células odontoblasticas. Estudios han demostrado que, durante la reparación dentinaria y la diferenciación odontogénica, componentes como la matriz dentinaria (DMPs) procesadas por MMPs pueden facilitar la diferenciación de DPSCs, promoviendo la formación de matriz mineralizada y la dentinogénesis [16]. La respuesta de las DPSCs involucra la participación de distintas MMPs los cuales modulan los procesos como adhesión celular, migración y el ensamblaje de matriz necesaria para que estas células progenitoras completen su diferenciación y contribuyan a la formación de dentina reparativa [17].

Agregado Trióxido Mineral

Considerando que los microorganismos representan el principal factor etiológico de las patologías pulpares y periapicales, el desarrollo y la aplicación de materiales bioactivos ha cobrado relevancia en la terapéutica endodóntica [18]. Durante los procedimientos clínicos puede generarse una comunicación entre el sistema de conductos radiculares y los tejidos periodontales, la cual requiere ser sellada, con el objetivo de prevenir la filtración bacteriana y de fluidos, así como de promover la reparación biológica de los tejidos [19].

El término material bioactivo de acuerdo con la definición de Hench (2006) [20], es aquel material que provoca una respuesta biológica específica en la interfaz del material, estimulando la regeneración de tejidos vivos, como resultado del vínculo formado entre los tejidos vivos y el material.

El Agregado Trióxido Mineral (MTA) fue creado por Torabinejad y Chivian en la Universidad de Loma Linda en 1993 como un material potencial para sellar las vías de comunicación entre los tejidos pulpares y periodontales. Está compuesto por un 80% de cemento Portland y 20% de trióxido de bismuto [21], se presenta en sobres sellados que contienen partículas hidrofílicas de:

- Silicato tricálcico ($3\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$)
- Silicato dicálcico ($2\text{CaO} \cdot \text{SiO}_2$)
- Aluminato tricálcico ($3\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3$)
- Sulfato de calcio dihidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- Óxido de bismuto (Bi_2O_3) como agente de radiopacidad [21].

Actualmente el MTA se clasifica dentro de los cementos hidráulicos, que tienen la capacidad para formar una capa de apatita y se caracterizan por iniciar su reacción de fraguado cuando entran en contacto con agua y fluidos biológicos.

Estos materiales liberan iones de calcio e hidroxilo, lo que da lugar a la formación de hidróxido de calcio y precipitados de hidroxiapatita en la interfase con la dentina,

contribuyendo así a su bioactividad [2]. Estas características hacen del MTA una opción destacada para la reparación y regeneración del tejido pulpar y periapical en diversos procedimientos endodónticos [22] como la capacidad de formar puentes dentinarios [23].

Después de la mezcla, el MTA alcanza un pH de 10.2, que luego se estabiliza en 12.5 después de tres horas. Este pH, similar al del hidróxido de calcio, podría tener propiedades antibacterianas. Al usar este material como obturador apical, es probable que este pH induzca la formación de tejido duro [24].

No obstante, sus características benéficas, el MTA presenta ciertas limitaciones, como un potencial de regeneración insuficiente debido a la formación de gel de sílice poco cristalizado en la matriz fraguada, comprometiendo así los resultados clínicos a largo plazo.

Dado que la formación exitosa de tejido duro representa el principal desafío, se hace necesario un constante avance y mejora del material. Para superar las limitaciones mencionadas y potenciar su bioactividad, resulta imperativo una nueva conceptualización de una formulación compuesta [22].

Aplicaciones clínicas

Actualmente se emplea como material de elección en procedimientos como terapia pulpar vital (recubrimientos pulpares directos, indirectos y pulpotomías), apexificación, sellado de perforaciones, reabsorciones y apicectomías (Figura 2) [25].



Figura 2 Aplicaciones clínicas del MTA.

Imagen tomada de la Academia Mexicana de Endodoncia.
A.M.E.A.C.

Procesos de su mecanismo de acción

Un material bioactivo a base de silicato de calcio se distingue fundamentalmente por su habilidad para desarrollar una capa superficial con propiedades similares a las de la apatita cuando entra en contacto con fluidos fisiológicos en condiciones *in vivo* o *in vitro*.

De acuerdo con Estrela *et al.*, (2023) [1], el MTA actúa a través de tres procesos:

1. Interacción química con los tejidos

Cuando el MTA entra en contacto con tejido conectivo:

- Se hidroliza y forma hidróxido de calcio, lo que induce la liberación de iones calcio (Ca^{2+}).
- Esta liberación iónica es fundamental para la activación de procesos celulares de reparación.

2. Elevación de pH y efecto antibacteriano

- El MTA genera un entorno alcalino debido a la liberación de hidróxido, lo que crea un ambiente hostil para microorganismos.
- Esta condición contribuye a la reducción de la carga bacteriana en el sitio de aplicación.

3. Formación de hidroxiapatita y sellado biológico

- El MTA fomenta la precipitación de hidroxiapatita en la superficie cuando interactúa con fluidos tisulares.
- Esta precipitación genera una interfase mineralizada que favorece un sellado biológico entre el material y los tejidos dentales o periapicales adyacentes.

Exposición de las DPSCs al MTA

Al estar en exposición las DPSCs al MTA se incrementa la actividad de la fosfatasa alcalina y los transcritos de dentina sialofosfoproteína (DSPP), proteína sialoproteica ósea y osteocalcina. Su colocación sobre el tejido pulpar conduce a la proliferación, migración y diferenciación de células similares a odontoblastos, que producen la matriz de colágeno [26].

Manipulación y tiempo de fraguado.

La pasta de MTA se obtiene mezclando 3 partes de polvo con 1 parte de agua para obtener una consistencia similar a la de una masilla. La mezcla se puede realizar sobre papel o una loseta de vidrio utilizando una espátula de plástico o metal. Esta mezcla se coloca en el lugar requerido y se condensa ligeramente con un algodón húmedo [27].

El MTA puede colocarse en la ubicación deseada usando instrumentos manuales o compactación ultrasónica.

La compactación manual se realiza con la ayuda de un compactador, una punta de papel o una pistola dosificadora [28]. En el estudio de Christopher C. Friedl *et al.*, 2016 [29], se comparó las dos técnicas de colocación *in vitro*. La técnica de condensación manual la realizaron por incrementos de MTA con un plugger níquel-titanio (Figura 3) hasta obtener una obturación completa. La técnica con activación ultrasónica indirecta se realizó de manera incremental con condensación manual sin embargo a esta se le aplicó activación ultrasónica con acción indirecta hacia el plugger en contacto con el MTA a potencia baja. Sus resultados demostraron que la condensación con activación ultrasónica indirecta produjo una obturación más densa y mejor adaptación, con diferencias estadísticamente significativas en cuanto al peso promedio colocado dentro del conducto en ambas técnicas.

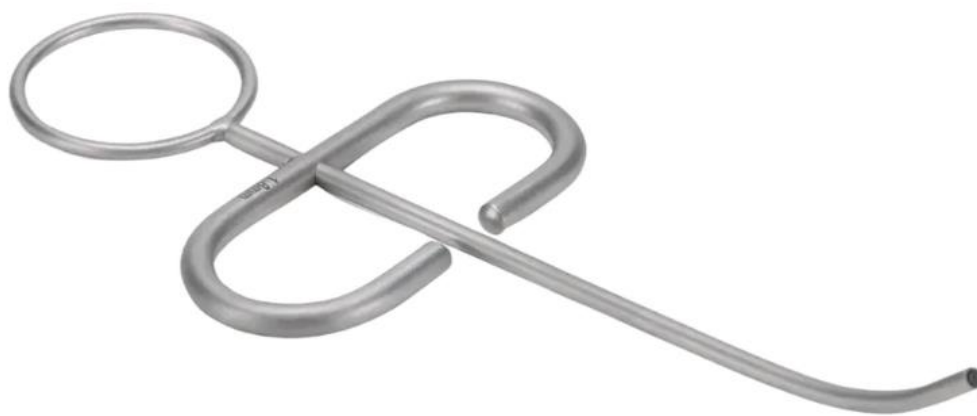


Figura 3 Plugger aplicador de MTA.

Fuente internet.

Diversos estudios han propuesto modificaciones al MTA en su composición original, como la incorporación de óxidos, agentes radiopacificantes y elementos bioactivos. Algunos de ellos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2 Estudios recientes con modificaciones al MTA.

Estudio	Modificación	Ventajas y desventajas
Velickovic <i>et al.</i> 2025. [30] BMC Oral Health	Adición de zeolita natural (5%), zeolita + ZrO_2 , zeolita + Ag/Zn al MTA.	Mejoró la biocompatibilidad, actividad antimicrobiana e inmunomodulación. Modificación de tiempo de fraguado según concentración.
Behnam Bolhari <i>et al.</i> 2024. [31] BMC Oral Health	Adición de $CaCl_2$, Na_2HPO_4 y propilenglicol.	Promovió reparación pulpar y regeneración dentinaria. Aumento de costos y complejidad terapéutica.
Alexandra Kalash <i>et al.</i> 2024. [32] PubMed	Modificación con nanopartículas de sílice dopadas con Cerio (Ce) y Calcio (Ca).	Mayor actividad antibacteriana, mejor proliferación celular. Procesos de síntesis más complejos.
Mariyam Mariyam <i>et al.</i> 2024. [33] Case Studies Chem & Env Eng.	Incorporación de ZnO + quitosano al MTA.	Incrementó propiedades antibacterianas y mecánicas. Cambios potenciales en la manipulación y fraguado.

Óxido de Estroncio

En la naturaleza, se encuentran elementos esenciales como magnesio (Mg), zinc (Zn), hierro (Fe) y estroncio (Sr), que participan en la regulación enzimática, la mineralización y la respuesta celular, desempeñando un papel clave en la homeostasis y regeneración de los tejidos mineralizados.

El estroncio (Sr), es considerado un metal no tóxico y presenta una densidad de 2540 kg/m³ [34]. En el humano está presente en niveles biológicos de 36-140 ppm en hueso y aproximadamente 320 mg en una persona que pese 70 kg. En los tejidos dentales es uno de los elementos indispensables para el crecimiento de osteoblastos y para promover la formación de dentina, siendo así de vital importancia para preservar las distintas funciones mecánicas y características fisiológicas de la misma [35].

El Sr juega un papel fundamental en la inhibición de la expresión de metaloproteinasas de matriz y, por lo tanto, reduce la degradación del colágeno [36]. Sus iones aumentan la expresión genética relacionada con los osteoblastos y la actividad de la fosfatasa alcalina de las células madre mesenquimales al tiempo que inhiben la diferenciación de los osteoclastos. Por lo tanto, el estroncio puede ser eficaz para mejorar la bioactividad y la biocompatibilidad de biomateriales [37].

Se ha demostrado que los iones de estroncio estimulan la formación ósea e inhiben la resorción osteoclástica tanto *in vitro* como *in vivo* [9]. Por lo que se ha añadido vidrios bioactivos a base de Sr a los cementos hidráulicos para mejorar la bioactividad y potencial anticariogénico. También se ha investigado el efecto del Sr en las células madre de la pulpa dental humana. Las propiedades biológicas multifuncionales del estroncio sugieren que no solo podría participar en la reconstrucción de la estructura, sino también ser capaz de crear un ambiente más favorable para la reparación de tejido (Figura 4) [38].

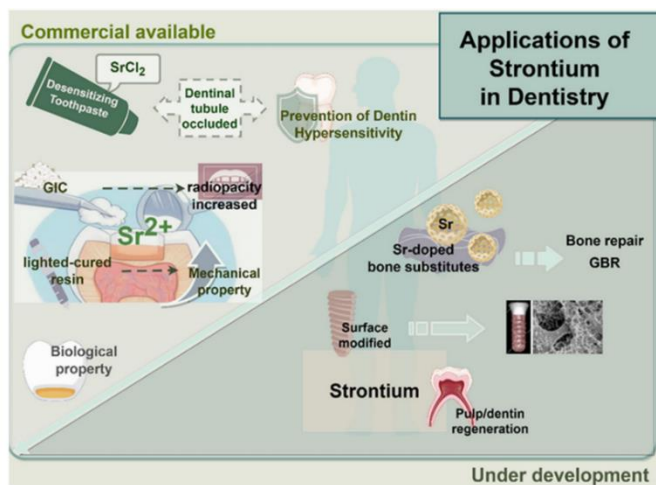


Figura 4 Aplicación del estroncio en odontología.
Fuente tomada de Wenjing Zhang y Lingfei Wei (2025).

Efectos biológicos de los iones de estroncio

El estroncio ha ganado un interés significativo en el campo de la medicina regenerativa debido a sus propiedades biológicas, especialmente en lo que respecta a sus aplicaciones en la reparación de tejidos óseos y orales. El Sr está involucrado en la reparación de tejidos en general al regular diferentes vías de señalización, la diferenciación celular y la reparación tisular [38].

Por lo tanto, la incorporación del estroncio en combinación con otros materiales como el MTA podría proteger y estimular a la pulpa dental. Durante la osteogénesis, el Sr activa la vía de señalización Wnt/ β -catenina, promoviendo la proliferación y el potencial de diferenciación osteogénica de las células madre mesenquimales (MSCs), fomentando su transformación en osteoblastos [39]. Además, promueve la transformación de las MSCs en DPSCs, mejorando su diferenciación osteogénica, aumentando su adhesión y crecimiento. Desempeña un papel importante en la promoción de que estas células se diferencien en odontoblastos [40].

Además, el Sr desempeña un papel relevante en la modulación del envejecimiento celular al favorecer la activación de la autofagia (mecanismo de limpieza y reciclaje celular que retrasa el envejecimiento). Se ha demostrado que el Sr incrementa este proceso en fibroblastos, como los sinoviocitos, lo que contribuye a desacelerar el envejecimiento celular [41].

Efectos antiinflamatorios

Los materiales dopados con estroncio demuestran propiedades antiinflamatorias que se consideran esenciales para la reparación efectiva de los tejidos orales. Promueve el cambio de los macrófagos hacia un tipo M2 antiinflamatorio, marcado por la producción de IL-10, Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF- β) y una reducción en la expresión del Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), IL-6 e IL-1 β [42].

Uso del estroncio como agente radiopacificador

El óxido de estroncio se ha utilizado como agente de radiopacidad en MTA para formar silicato de estroncio, que se utiliza como componente para aumentar la bioactividad [43]. El MTA tiene una medida de radiopacidad de 7.17 mm de equivalencia en aluminio. Una característica deseable en un material de obturación es que sea más radiopaco que las estructuras que lo rodean cuando se introduce en una cavidad [24]. Se espera que la dosificación óptima/necesaria de estroncio en el MTA sea un factor determinante para maximizar los beneficios terapéuticos, y se anticipa que este compuesto modificado aportará un avance a los biomateriales dentales.

La incorporación de óxido de estroncio no solo confiere radiopacidad al MTA, sino que favorece una distribución más homogénea de las partículas dentro de la matriz del cemento, lo cual se relaciona con una estructura más compacta y estable. Esta característica resulta relevante, ya que el estroncio posee propiedades químicas similares al calcio, permitiendo su sustitución parcial dentro de la red del silicato de calcio sin comprometer la integridad del material [44].

Bioactividad

La prueba de bioactividad propuesta por Kokubo y Takadama, 2006 [45], es un ensayo *in vitro* diseñado para evaluar la capacidad de un material biomédico de inducir la formación de una capa de apatita tipo hidroxiapatita sobre su superficie cuando se expone a un ambiente que simula las condiciones fisiológicas del cuerpo humano.

En este contexto, los autores desarrollaron una solución denominada Fluido Corporal Simulado, en inglés como *Simulated Body Fluid* (SBF) [46] cuya composición iónica (Na^+ , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} y SO_4^{2-}) [47] es similar a la del plasma sanguíneo, lo que permite reproducir de manera controlada las interacciones entre el biomaterial y el medio fisiológico.

Gracias a estas características, la prueba de inmersión en SBF ha sido utilizada para evaluar diversos biomateriales, demostrando que materiales como los vidrios bioactivos, cerámicas de silicato de calcio y cementos a base de MTA son capaces de formar una capa de apatita en SBF.

Asimismo, esta metodología ha permitido no solo confirmar la bioactividad de distintos materiales, sino también optimizar sus composiciones, evaluar modificaciones químicas (dopaje iónico como Sr, Zn o Mg) y reducir el uso de modelos animales.

Su hipótesis central del método establece: “La formación de una capa de apatita en la superficie de un material tras su inmersión en SBF es un indicador confiable de su potencial bioactivo y de su capacidad para establecer una unión química con tejido óseo *in vivo*” Kokubo y Takadama, 2006 [45].

Procedimiento de la prueba de bioactividad

Se realiza la preparación de la muestra del material a evaluar, en dimensiones estandarizadas y se deja fraguar.

- Inmersión en SBF
Las muestras se sumergen en SBF a 37°C y pH fisiológico (7.4) durante el periodo requerido para el estudio.
- Renovación del medio
La solución se renueva periódicamente para mantener estabilidad iónica y simular condiciones dinámicas.
- Caracterización de la superficie
La superficie del material se analiza mediante: Microscopia Electrónica de Barrido (**SEM**) para observar su morfología, Espectroscopia de rayos X por dispersión de energía (**EDS**) para identificación la presencia de calcio y fósforo y Difracción de rayos X (**XRD**) para confirmar la formación de apatita cristalina o amorfa.

Soluciones y medios fisiológicos en la síntesis y procesamiento de fosfatos de calcio.

Diversos estudios han señalado que la síntesis y el procesamiento de fosfatos de calcio (CaP) se han realizado tradicionalmente en agua destilada o desionizada, sin embargo, este enfoque no reproduce las condiciones químicas reales del entorno biológico. En este contexto, Cuneyt Tas (2014) [48], analiza el uso de soluciones y medios fisiológicos como alternativa biomimética, destacando que el fluido extracelular humano presenta una elevada fuerza iónica y contiene además de calcio y fosfatos, iones como Na^+ , K^+ , Mg^{2+} y HCO_3^- , los cuales influyen en el crecimiento y nucleación de fases minerales.

Los principales medios y soluciones propuestos incluyen:

- Fluido extracelular (ECF): Medio fisiológico natural con alta fuerza iónica; contiene Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} . Referencia biológica ideal para síntesis biomimética.
- Agua destilada: Medio químico convencional que carece de iones fisiológicos. Usada ampliamente pero no aporta biomimética.
- Solución salina fisiológica (NaCl 0.9%): Su propósito es el mantenimiento osmótico, presentes Na^+ y Cl^- . Sin embargo, no es adecuada para la síntesis biomimética.

- Ringer's solution: Propuesta para estudios fisiológicos, contiene: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , bajo HCO_3^- , usada principalmente para pruebas *in vitro*, no síntesis.
- Lactared Ringer's solution (RLS): Utilizada para uso clínico, similar a Ringer con lactato y no es empleada para síntesis directa de CaP.
- Tyrode's solution: Aplicada en estudios fisiológicos, introduce Mg^{2+} y mayor HCO_3^- . No reportado su uso en síntesis de CaP.
- Krebs-Henseleit buffer (KHB): Propuesta para estudios metabólicos, tiene alta similitud con el plasma sanguíneo y presenta potencial biomimético poco utilizado.
- Earle's Balanced Salt Solution (EBSS): Utilizada en cultivo celular, con composición cercana al ECF y usada para la síntesis biomimética de CaP amorfo con éxito.
- Hank's Balanced Salt Solution (HBSS): Propuesta para cultivo celular, bajo HCO_3^- alto Cl^- , usada para pruebas de estabilidad, no para síntesis.
- Simulated Body Fluid (SBF): Aplicada en evaluaciones de bioactividad, presenta iones similares al ECF, bajo HCO_3^- , produce CaP poco representativo.
- SBF con HCO_3^- fisiológico (SBF-T, SBF-H, SBF-L): Presenta biomimetismo avanzado, HCO_3^- con pH fisiológico y favorece al CaP amorfo y nanocristalino.
- Eagle's Minium Essential Medium (MEM): Utilizada en cultivo celular, contiene aminoácidos y vitaminas. No síntesis de CaP.
- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM): Propuesta para cultivo celular con alto HCO_3^- y nutrientes. No diseñado para síntesis de CaP.
- Soluciones de cultivo celular (general): Propuesta para biología celular, es una mezcla orgánica - inorgánica y no recomendadas para síntesis de CaP.

Aunque la mayoría de estas soluciones se han utilizado para ensayos *in vitro* de bioactividad, los estudios que emplean medios como composición iónica cercana a la fisiológica y condiciones de pH y temperatura corporales reportan la formación de fosfato de calcio amorfo poco cristalino. Asimismo, el Mg^{2+} y el bicarbonato en la

inhibición del crecimiento cristalino y la estabilización de fases nanocristalinas son de lo más representativas del mineral biológico presente en hueso y dentina. Es por ello la importancia de uso de medios fisiológicos definidos para el desarrollo de biomateriales con similitud a los tejidos duros [48].

Viabilidad Celular

Los estudios con células cultivadas han sido ampliamente utilizados en la evaluación de biomateriales dentales. En este contexto, las células de la pulpa dental, particularmente los fibroblastos obtenidos de pulpas dentales de humanos y de pulpas dentales animales, son los modelos preferidos para llevar a cabo pruebas de biocompatibilidad, dado que los efectos citotóxicos impactan directamente en la pulpa dental. Además, los fibroblastos pulpares exhiben una elevada sensibilidad a sustancias tóxicas, convirtiéndolos en candidatos ideales para esclarecer los posibles efectos adversos de materiales restauradores y endodónticos. Es fundamental tener en cuenta que, para que los cultivos celulares sean considerados un modelo aceptable, se requiere demostrar la reproducibilidad de la respuesta celular a los materiales evaluados [49].

Los fibroblastos, células mesenquimales ampliamente distribuidas, representan uno de los tipos celulares más prevalentes en el estroma de diversos tejidos. Su función principal implica la síntesis de componentes clave como el colágeno y la fibronectina, así como la degradación de la matriz extracelular mediante las MMPs. Además, los fibroblastos cumplen funciones significativas en la inmunidad innata y celular, y desempeñan un papel esencial en la regeneración del complejo dentino-pulpar a través de la secreción de factores de crecimiento [49].

La línea celular L-929, derivada del tejido conectivo subcutáneo de un ratón macho C3H/An de 100 días de edad en la década de 1940, son una línea celular de tipo fibroblasto y ha sido fundamental en la investigación biológica y médica debido a su resistencia, facilidad de cultivo y múltiples usos. Estas células se distinguen por su forma alargada y su adherencia al crecimiento, siendo empleadas en diversos campos como pruebas de toxicidad, evaluación de materiales biomédicos y efectos de sustancias, así como en estudios de actividad de citocinas, especialmente en relación con el Factor de Necrosis Tumoral (TNF). Es un recurso indispensable en la investigación científica, proporcionando una plataforma versátil para estudios en citotoxicidad, inmunología, virología y biomateriales [50].

Evaluar la citotoxicidad de los biomateriales *in vitro* requiere ensayos confiables de viabilidad celular [51]. Su medición desempeña un papel importante en todas las formas de cultivo celular. En ocasiones es el objetivo principal de un estudio, como en ensayos de toxicidad, o puede usarse para correlacionar el comportamiento celular con el número de células.

Existen varios tipos de ensayos que se pueden usar para determinar el número de células viables. Estos ensayos se basan en diversas funciones de las células, incluyendo la actividad enzimática, la permeabilidad de la membrana celular, la adhesión celular, la producción de trifosfato de adenosina (ATP), la producción de coenzimas y la actividad de captación de nucleótidos [52].

Los ensayos de viabilidad celular pueden clasificarse en términos generales como:

- Ensayos de exclusión de colorante (Trypan blue, eosina, rojo Congo): Son los métodos más sencillos que se basan en el uso de diferentes tintes como el azul de tripán, eosina, rojo Congo y eritrosina B.
- Ensayos colorimétricos (MTT, XTT, MTS, WST, SRB): Se basan en la medición de un marcador bioquímico para determinar la actividad metabólica de las células. Es un ensayo sencillo y económico.
- Ensayos fluorométricos (Resazurina/Alamar Blue): Pueden realizarse con fluorómetro, microlector de placas de fluorescencia o citómetro de flujo. Es un ensayo sensible.
- Ensayos luminométricos (ATP): Se produce una señal persistente y estable de tipo resplandor tras la adición de reactivo. Estos métodos comprenden ensayos ATP y de viabilidad en tiempo real [52].
- Ensayo de citometría de flujo (Anexina V): La citometría de flujo, inventada por primera vez a finales de 1960, es una herramienta versátil y poderosa para el análisis cuantitativo y cualitativo de células de manera individual. Mientras las células permanecen en una solución tamponada, pasan a través de múltiples láseres. Cada partícula que pasa es contada y analizada por dispersión de luz visible y por parámetros fluorescentes. En un citómetro se generan dos señales: una utilizando ángulos de dispersión cercanos a la dirección del haz laser y otra con un rango de ángulos amplio alrededor de los 90° (Figura 5) [53], lo que hace que esta tecnología sea especialmente adecuada para medir la progresión compleja de la muerte celular. Puede ser medida por medio de análisis de apoptosis. La apoptosis o muerte celular programada es un fenómeno que se examina con frecuencia en el área de inmunología. Se utiliza para mantener la homeostasis del sistema inmunológico eliminando células sin desencadenar una respuesta inflamatoria [54].

El ensayo de citometría de flujo presenta las siguientes características:

Ventajas:

- Alta sensibilidad.
- Rapidez.
- Análisis multiparamétrico.
- Bajo volumen de muestra.
- Posibilidad de purificación celular (cell sorting).
- Alta productividad (medición de más de 10,000 células por segundo).
- Estudia el fenotipo y genotipo de las células. [55]

Limitaciones:

- Alto costo del equipo y reactivos.
- Necesidad de personal capacitado [56]

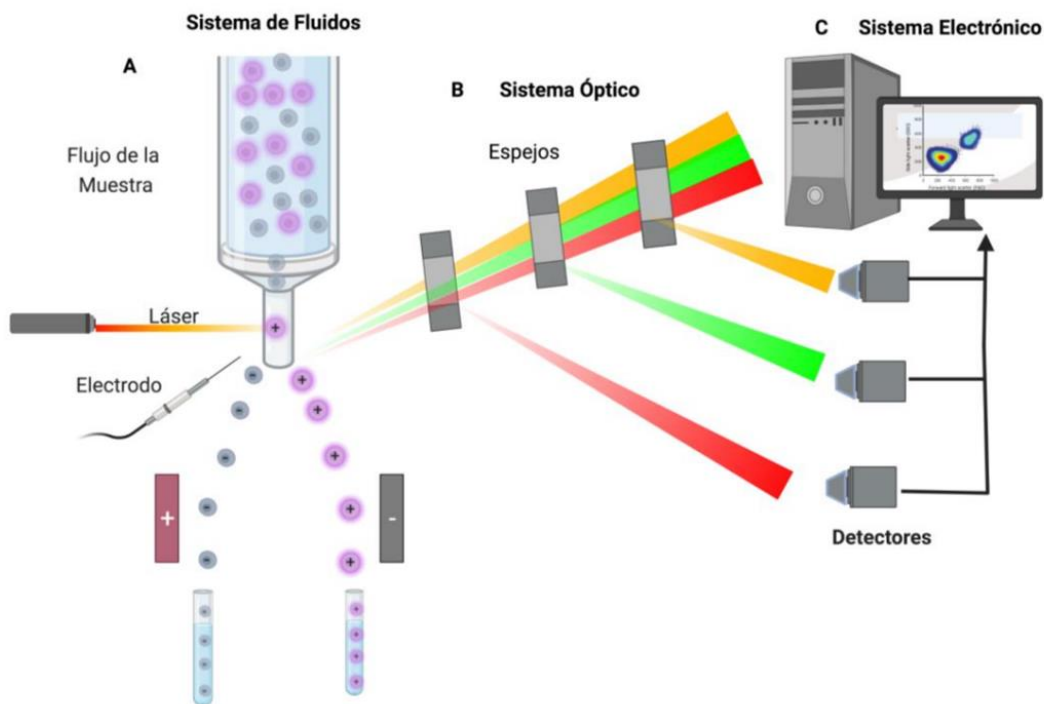


Figura 5 Componentes de un citómetro.

Fuente: Tomado de Kamiloglu S, Sari G, Ozdal T, Capanoglu E. Guidelines for cell viability assays. Food Frontiers. 2020;1:1. Doi: 10.1002/fft2.44

2.2 ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

Torabinejad et al., en 1995 [57] señalaron que el MTA ha sido clasificado como un material bioactivo con capacidad para estimular la formación de tejido duro. Este material presenta propiedades de regeneración en diversos procedimientos en el área de la endodoncia. Además, cabe destacar que su pH inicial es de 10.2, alcanzando 12.5 aproximadamente tres horas después de su aplicación

Fridland et al., en 2005 [58] informaron que el MTA exhibe una gran similitud con el cemento Portland, principalmente debido a la presencia de una matriz de sílice que conserva su estructura incluso en presencia de humedad. Esto implica que los operadores no tienen que preocuparse por la disolución del MTA. Aunque se reconoce que sus propiedades fisicoquímicas pueden presentar ciertos inconvenientes según la aplicación específica

Flores Ledesma et al., en 2016 [59] llevaron a cabo una comparación de la composición química entre el Cemento MTA Angelus® y un cemento Portland Blanco (CPB-CA) mediante técnicas como la Emisión de Rayos X inducido por partículas (PIXE), Calorimetría diferencial de barrido (DSC), termogravimetría (TGA) y difracción de Rayos X (DRX). Los resultados obtenidos a través de PIXE revelaron que los componentes más abundantes en ambos cementos fueron aluminio, silicio, calcio y bismuto. Además, se detectaron elementos como el cobre y estroncio

Román Damián-Morales et al., en 2019 [60] determinaron la citotoxicidad de fibroblastos del ligamento periodontal humano expuestos a medios de cultivo condicionados con Biodentine, IRM y MTA. En las células expuestas a MTA se observó un aumento significativo en la viabilidad a los 7 días comparado contra 24 horas. En los tres procedimientos utilizando distintos medios de cultivo condicionados, la viabilidad celular fue principalmente de naturaleza proliferativa. No obstante, se observó una tendencia superior en las células expuestas a Biodentine en comparación con la MTA.

Lunawat et al., en 2023 [22] evaluaron la incorporación de estroncio en MTA. Se prepararon polvos de vidrio SrFPG optimizados y se incorporaron en diferentes proporciones (1, 5, 10% en peso) para obtener los bio-compuestos SrMT1, SrMT5 y SrMT10, respectivamente. Los bio-compuestos se caracterizaron mediante XRD, FTIR y SEM-EDAX antes y después de sumergirlos durante 28 días en una solución SBF. Para evaluar las propiedades mecánicas y la biocompatibilidad de los bio-compuestos preparados, se realizaron análisis de densidad, pH, resistencia a la compresión y evaluación de citotoxicidad mediante ensayo MTT antes y después de la inmersión en la solución SBF durante 28 días. Los resultados mostraron una variación no lineal en la resistencia a la compresión y los valores de pH. El bio-compuesto SrMT10 demostró una rica formación de apatita en los análisis de XRD, FTIR y SEM con análisis EDAX. El ensayo MTT mostró un aumento de la viabilidad celular en todas las muestras antes y después de los estudios in vitro.

Yuliatun et al., en 2025 [44] evaluaron la influencia de distintos agentes radiopacificadores sobre las propiedades radiográficas y fisicoquímicas del mineral trióxido agregado (MTA) sintetizado a partir de nanosílice y carbonato de calcio derivado de conchas marinas. Los resultados demostraron que el MTA modificado con SrO presentó valores de radiopacidad promedio de 4.17 ± 0.10 mm Al, superando el mínimo establecido por la norma ISO 6876.

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de los avances en los materiales odontológicos, persisten limitaciones en términos de la eficacia de los tratamientos endodónticos. En este contexto, la combinación del MTA con la adición de estroncio emerge como un área de estudio prometedora para abordar los desafíos actuales en procedimientos endodónticos y regeneración dental.

Sin embargo, a pesar de las evidencias iniciales que sugieren beneficios significativos, aún falta comprender los mecanismos y la efectividad real de esta combinación en contextos específicos de odontología. Las cuestiones relacionadas con la dosificación óptima, la respuesta biológica del tejido dental y la seguridad a largo plazo de esta combinación no han sido completamente exploradas.

Por lo tanto, el presente estudio tiene como objetivo investigar la influencia de la adición de óxido de estroncio a un cemento MTA experimental en las propiedades fisicoquímicas. Este enfoque permitirá una evaluación más precisa de la viabilidad clínica de este compuesto modificado, proporcionando así información para el desarrollo futuro de terapias endodónticas mejoradas y más efectivas.

3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Por lo que surge la pregunta de investigación:

¿Cuál es el efecto in vitro del óxido de estroncio al 1% y 6% en la radiopacidad, pH, bioactividad y la viabilidad celular del MTA?

4 JUSTIFICACIÓN

Como se ha mencionado, la incorporación del SrO ha sido prometedora en la estimulación de células hacia un fenotipo mineralizado. Su incorporación a otros materiales sugiere beneficios significativos en las propiedades mecánicas. Por lo que su adición a un cemento MTA experimental, podría mejorar tanto propiedades físicas como químicas, de manera que evaluar dichas propiedades, así como bioactividad y viabilidad celular, podría surgir como una posible mejora para su aplicación clínica.

5 HIPÓTESIS

5.1 HIPÓTESIS CIENTÍFICA

H10- No existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en la radiopacidad de un MTA.

H1a- Existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en la radiopacidad de un MTA.

H20- No existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en el pH de un MTA.

H2a- Existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en el pH de un MTA.

H30- No existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en la bioactividad de un MTA.

H3a- Existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en la bioactividad de un MTA.

H40- No existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en la viabilidad celular de un MTA.

H4a- Existe efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en la viabilidad celular de un MTA.

6 OBJETIVOS

6.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en la radiopacidad, pH, bioactividad y viabilidad celular del MTA.

6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar la radiopacidad del cemento tipo MTA en adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en un periodo de 24 horas.
- Medir pH del cemento tipo MTA en adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en un periodo de 0, 3h, 24h, 7,14, 21 y 45 días.
- Evaluar la bioactividad del cemento tipo MTA en adición de estroncio al 1% y 6% en un periodo de 28 días.
- Evaluar la viabilidad celular del cemento tipo MTA en adición de óxido de estroncio al 1% y 6% en un periodo de 24h, 4 y 9 días.

7 MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio es experimental, prospectivo, longitudinal e *in vitro* por el tipo de intervención, tiempo y tipo de medición.

7.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

Se llevó a cabo un estudio experimental *in vitro*, para el cual se realizó el cálculo del tamaño de la muestra con el fin de garantizar la validez estadística de los resultados. Las muestras fueron distribuidas en tres grupos experimentales:

G1-0%

G2-1%

G3-6%

los cuales fueron evaluados en diferentes tiempos, de acuerdo con los requerimientos específicos de cada prueba realizada.

Tabla 4 Población y muestra

Pruebas	N
Radiopacidad	N= 18 (n=6 por grupo).
pH	N= 18 (n=6 por grupo).
Bioactividad	N= 9 (n=3 por grupo).
Difracción de rayos X	N= 6 (n=2 por grupo).
Viabilidad celular	
Ensayo Anexina V y 7ADD	N=20 (n= 5 por grupo experimental, 5 grupo control).
Ensayo PrestoBlue	N= 27 (n= 9 por grupo experimental).

Número de muestras totales (N) para cada una de pruebas realizadas.

7.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

7.3.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Cemento tipo MTA.
- Óxido de estroncio (SrO).

7.3.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Muestras que durante el trabajo experimental se fracturen.
- Muestras que durante el trabajo experimental se contaminen.

7.3.3 CRITERIOS DE ELIMINACIÓN

- Muestras que durante el trabajo experimental se fracturen.
- Muestras que durante el trabajo experimental se contaminen.

7.4 VARIABLES

7.4.1 VARIABLES INDEPENDIENTES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Variables Independientes				
Cemento tipo MTA	Cemento hidráulico compuesto por silicato dicálcico, silicato tricálcico, aluminato y trióxido de bismuto.	Cemento tipo MTA con 1-6% de óxido de estroncio.	Nominal Policotómica.	G1-Cemento experimental sin óxido de estroncio. G2-Cemento experimental con óxido de estroncio (1%). G3-Cemento experimental con óxido de estroncio (6%).
Tiempo	Periodo determinado durante el que se realiza una acción o se desarrolla un acontecimiento.	Periodo en días en los cuales se evaluarán las propiedades como: pH, viabilidad celular a los distintos tiempos.	Cuantitativa discreta.	Días.

7.4.2 VARIABLES DEPENDIENTES

Variables Dependientes				
Radiopacidad	Característica de los materiales dentales que posibilita su reconocimiento en el análisis radiográfico.	La muestra y la radiografía se situarán en una base de plomo y se realizará la irradiación con un aparato de Rayos-X (65±5 kV) a una distancia del punto focal de 30 cm y expuesta durante 0.15 s.	Cuantitativa.	mm Al
pH	El pH mide la acidez o alcalinidad de una solución en una escala de 0 a 14. pH = 7 → neutro pH < 7 → ácido pH > 7 → básico o alcalino.	Medida del grado de acidez o alcalinidad de los cementos al estar inmersos en SBF a 0h,3h,24h,7,14,21 y 45 días.	Cuantitativa.	0-14
Bioactividad	Capacidad del material para interactuar de manera beneficiosa con los tejidos biológicos circundantes.	Evaluar la bioactividad del cemento tipo MTA en adición de estroncio al 1 y 6% de óxido de estroncio en un periodo de 28 días.	Cualitativa nominal dicotómica.	SI/NO
Viabilidad celular	La viabilidad celular se refiere a la capacidad de las células para mantenerse con vida y realizar sus funciones biológicas normales.	Viabilidad celular es la proporción de células vivas y funcionales existentes en una población celular a 24h, 4 y 9 días.	Cuantitativa.	%

7.5 CONCORDANCIA Y FIABILIDAD

El alumno investigador fue capacitado en la metodología de cada prueba por el docente responsable; la prueba de radiopacidad y pH se realizó en el laboratorio de biomateriales dentales con base en la norma ISO 6876 (17). Fue asesorado en interpretación de los resultados por los investigadores participantes en el proyecto.

Así mismo, se realizó un curso teórico práctico “Técnicas básicas de cultivos de líneas celulares de mamífero” en la Unidad de Bioquímica – Dr. Guillermo Soberón Acevedo – del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” el 31 de agosto del 2024.

7.6 UBICACIÓN ESPACIO- TEMPORAL

Las pruebas de radiopacidad, pH y bioactividad se realizaron en la Facultad de Estomatología BUAP, en el Laboratorio de Materiales Dentales de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.

La prueba de viabilidad celular se realizó en el Laboratorio de Inmunoterapia Experimental e Ingeniería de Tejidos de la Facultad de Medicina de la UNAM.

El análisis de caracterización por XRD se realizó en el Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA), campus Juriquilla de la UNAM.

Las imágenes SEM que se obtuvieron de la prueba de bioactividad se realizaron en el Instituto de Investigación en Materiales en el Laboratorio Universitario de Microscopia Electrónica (LUME) de la UNAM.

7.7 PROCEDIMIENTOS, TÉCNICAS Y FUENTE DE RECOLECCIÓN

7.7.1 Preparación de cemento experimental

El MTA experimental se preparó utilizando un Cemento Portland Blanco (CPB) previamente caracterizado (CPO40B, Cruz Azul, Ciudad de México, México) (Figura 6). (Con la ayuda de una balanza analítica, se añadió el 20% de trióxido de bismuto (Aldrich Chemical Company Inc., Burlington, MA, USA) en una relación de 4:1, realizando la siguiente ecuación:

- Peso total del MTA en frasco: 101.6284 gramos - 80%
- $127.0355 - 20\% = 25.4071$ gramos de óxido de bismuto.

Una vez preparado el cemento MTA experimental, se agregó el 1% o 6% en porcentaje de peso, los cementos fueron homogenizados mediante trituración manual en un mortero químicamente inerte.



Figura 6 Materiales para preparación de cemento experimental.

Fuente propia.

7.7.2 Proceso de tamizado

El tamizado fue un método físico que consistió en homogeneizar el tamaño de partícula a menos de 45 micras. Se utilizó un tamiz con malla de aberturas No. 325 (203 mm, 8 in de diámetro) (Figura 7).



Figura 7 Tamiz No. 325 cerrado para el método físico de agitación.

Fuente propia.

El cemento sinterizado se colocó en el tamiz y, mediante golpes secos, se procuró que la totalidad de la muestra circulara por toda la superficie del tamiz. Este proceso se acompañó de golpes secos para facilitar el paso de las partículas que, debido a su tamaño, quedaban retenidas en la malla (Figura 8).



Figura 8 Cemento sinterizado en tamiz.

Fuente propia.

7.7.3 Preparación de los 3 grupos



Figura 9 Preparación de cemento experimental grupo 2.

A) Reactivo Óxido de Estroncio (SrO). B) Balanza analítica OHAUS Pioneer con precisión 0.0001 g. Fuente propia.

Se realizaron los cálculos para la preparación del cemento experimental según los grupos descritos:

Grupo 1- 0%: Cemento experimental sin óxido de estroncio.

Grupo 2- 1%: Cemento experimental con óxido de estroncio (Figura 9A) al 1%. Se utilizó 12 gramos de cemento experimental y se añadió el 1% de óxido de estroncio, realizando el siguiente cálculo: $1\% \text{ de } 12 \text{ gramos} = 1/100 \times 12 = 0.12 \text{ gramos}$. Por lo tanto, se obtuvieron 11.88 gramos de cemento experimental (Figura 9B).

Grupo 3- 6%: Cemento experimental con óxido de estroncio al 6%. Se utilizó la misma fórmula para obtener el 6% de 12 gramos de cemento experimental, resultando en 0.72 gramos. Por lo tanto, se obtuvieron 11.28 gramos de cemento experimental.

Estos procedimientos aseguraron la correcta preparación y homogeneización de los diferentes grupos experimentales (Figura 10).



Figura 10 Imagen de cemento experimental y SrO homogeneizado.

Fuente propia.

7.7.4 Elaboración de pastillas

Preparación de los moldes

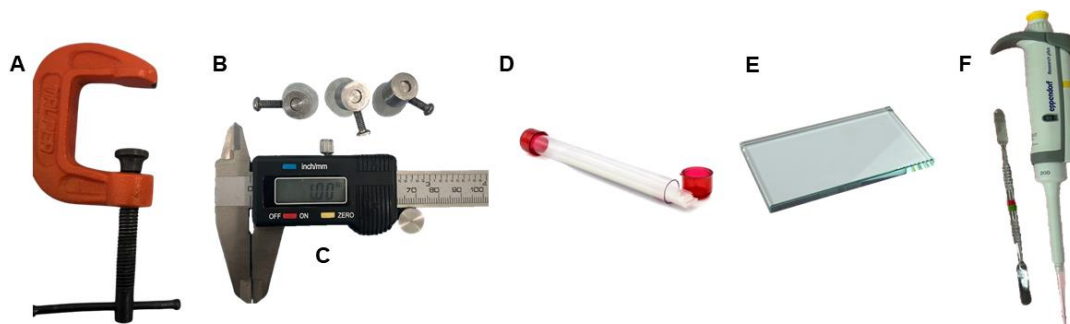


Figura 11 Materiales utilizados para la elaboración de muestras.

A) Prensa nodular en "C". B) Moldes metálicos. C) Calibrador digital. D) Banda celuloide. E) Loseta de vidrio. F) Espátula metálica y micropipeta.

Fuente propia

Los moldes metálicos fueron limpiados y calibrados a 1 mm utilizando un calibrador digital (Figura 12A y 12B). Posteriormente, se ajustó el tornillo de cada molde para mantener la medida establecida. Con ayuda de un microbrush se aplicó una capa ligera de aceite de silicón en la zona calibrada con el fin de facilitar el desmolde.



Figura 12 Calibración de moldes.

A) Calibrador digital a 1 mm. B) Calibración de molde.

Fuente propia.

Preparación de la mezcla

El cemento experimental fue mezclado con agua desionizada en proporciones de 0.2 g y 66 μL . La mezcla obtenida se colocó en los moldes metálicos empleando una espátula, aplicando movimientos de presión para favorecer la compactación del material. Posteriormente, se colocó una banda de celuloide sobre la superficie para dar forma a la pastilla.

Compactación y fraguado

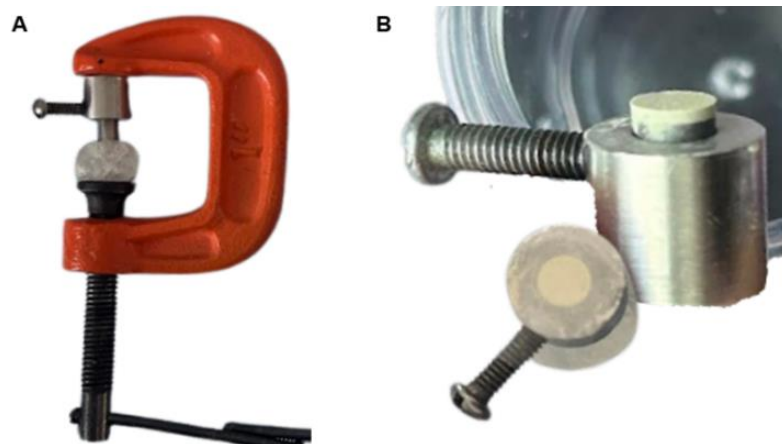


Figura 13 Compactación y fraguado de muestra.

A) Compactación del material con prensa nodular. B) Fraguado y obtención de muestra.

Fuente propia.

Los moldes fueron posicionados en una prensa nodular de carpintería (Figura 13A), lo que permitió mantener fija la posición de las pastillas y asegurar una correcta compactación del cemento (Figura 13B). Las prensas se colocaron dentro de un recipiente hermético con una pequeña cantidad de agua para generar condiciones de humedad, y se mantuvieron a 37 °C durante 25 minutos para permitir el fraguado. Se elaboraron las pastillas para las pruebas correspondientes.

7.7.5 Prueba de Radiopacidad

Preparación de las muestras

De acuerdo con la norma ISO 6876, el cemento se preparó mediante su mezcla y se elaboraron discos de 10 ± 0.1 mm de diámetro y 1 ± 0.01 mm de altura. Los discos fueron sometidos a presión entre planchas de vidrio para obtener superficies lisas, homogéneas y libres de poros. Se prepararon diez muestras por grupo y por tiempo ($n=10$).

Procedimiento radiográfico

Cada disco fue colocado en el centro de una radiografía oclusal junto a un indicador de radiopacidad, consistente en una gradilla de aluminio escalonada con incrementos de 0.5 mm por cada escalón. La gradilla, las muestras y la radiografía fueron posicionadas sobre una base de plomo. La irradiación se realizó con un aparato de rayos X a una intensidad de 65 ± 5 kV (Figura 14 y 15), a una distancia de 30 cm desde el punto focal y con un tiempo de exposición de 0.15 segundos.



Figura 14 Rayos X portátil, HyperLight-G Eighteeth.

Fuente propia.

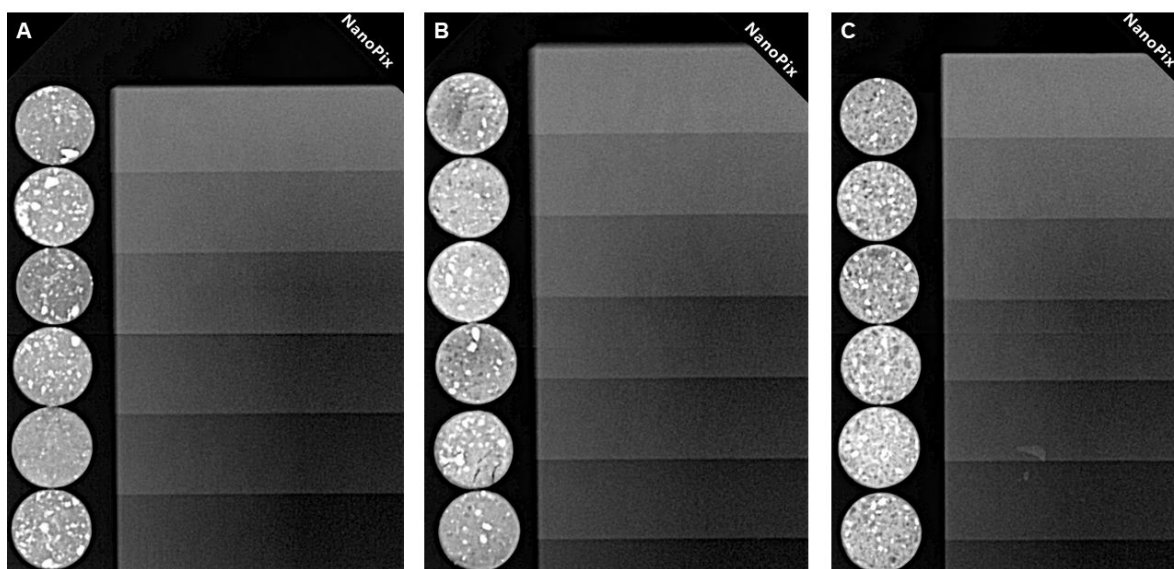


Figura 15 Imágenes radiográficas digitales.

A) Radiografía digital Grupo 1-0%. B) Radiografía digital Grupo 2-1%. C) Radiografía digital Grupo 3-6%.

Fuente propia.

Análisis de los datos

La clasificación de los datos de radiopacidad se efectuó mediante la interpretación de los tonos grises, los cuales fueron convertidos a unidades de milímetros de aluminio (mm Al). La conversión se llevó a cabo utilizando la fórmula descrita por Vivian [62]:

$$\frac{Ax2}{B} + \text{mm Al inmediatamente debajo de DRM.}$$

Donde:

- **A** corresponde a la densidad radiográfica de la muestra (DRM) menos la densidad radiográfica del incremento de la gradilla de aluminio inmediata inferior.
- **B** corresponde a la densidad radiográfica del incremento de la gradilla de aluminio inmediata superior a la DRM menos la densidad radiográfica del incremento inmediato inferior.

7.7.6 Prueba de pH

Preparación de las muestras

Se prepararon diez muestras en forma de disco por grupo y por tiempo (n=6), empleando un molde de acero inoxidable con dimensiones de 10 mm de diámetro × 1.5 mm de altura. Posteriormente, las muestras fueron mantenidas en reposo durante 1 hora a 37 °C y 95 % de humedad relativa. Con el fin de obtener discos densos, planos y libres de poros internos, se utilizó una prensa en forma de “C”.

Condiciones de almacenamiento

Una vez obtenidos, las pastillas fueron colocadas en botellas de vidrio que contenían 5 mL de agua desionizada y se almacenaron a 37 °C hasta el momento de las mediciones (Figura 16).



Figura 16 Muestras en agua desionizada.

Fuente propia.

Medición del pH

Previo a la medición del pH, el potenciómetro (Thermo Scientific, Orion Star Series, Singapore) fue calibrado mediante soluciones tampón con valores de pH de 7.00 (Figura 17A), 4.00 y 10.00. Posteriormente, el electrodo fue colocado en contacto con las muestras correspondientes (Figura 17B) y se procedió a la obtención de las lecturas de pH a las 3 y 24 horas, así como a los 7, 14 y 21 días (Figura 17C).



Figura 17 Medición de pH.

A) Calibración de potenciómetro. B) Toma de pH. C) Valor pH en potenciómetro (Thermo Scientific).
Fuente propia.

7.7.7 Prueba de Bioactividad

Preparación de la solución y muestras.

La prueba de bioactividad se realizó siguiendo la norma ISO/FDIS 23317 [63]. Se preparó solución SBF [64] (Figura 18A) de acuerdo con la metodología establecida por Kokubo [45]. Para cada grupo, se confeccionaron discos con dimensiones de 1.5 mm de diámetro y 1 mm de espesor (Figura 18B). Las muestras fueron mantenidas en reposo durante 1 hora a 37 °C y con un 95 % de humedad relativa.

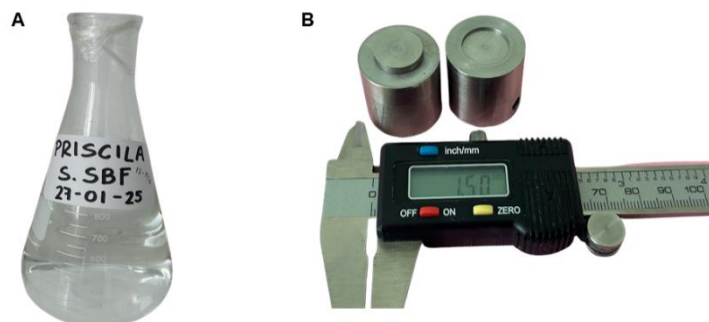


Figura 18 Preparación de solución y muestras para prueba de bioactividad.

A) Solución SBF. B) Calibrador digital y moldes para muestras de 1.5 mm
Fuente propia.

Inmersión en SBF

Posteriormente, las muestras fueron sumergidas verticalmente en SBF (Figura 19). durante 28 días, realizando recambios semanales de la solución.

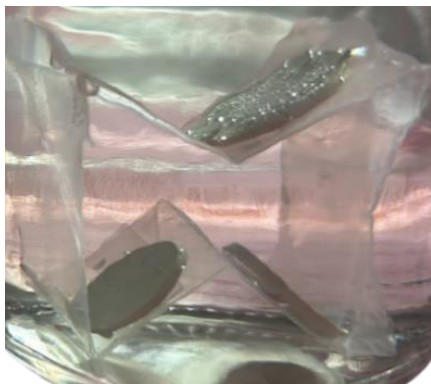


Figura 19 Muestras sumergidas en solución SBF en posición vertical.

Fuente propia.

Preparación para análisis SEM

Tras cada periodo de inmersión, los discos fueron sometido a recubrimiento con oro para obtener imágenes de superficie mediante microscopía electrónica de barrido (SEM, JSM-7800F, JEOL Ltd., Akishima, Tokio, Japón) (Figura 20).

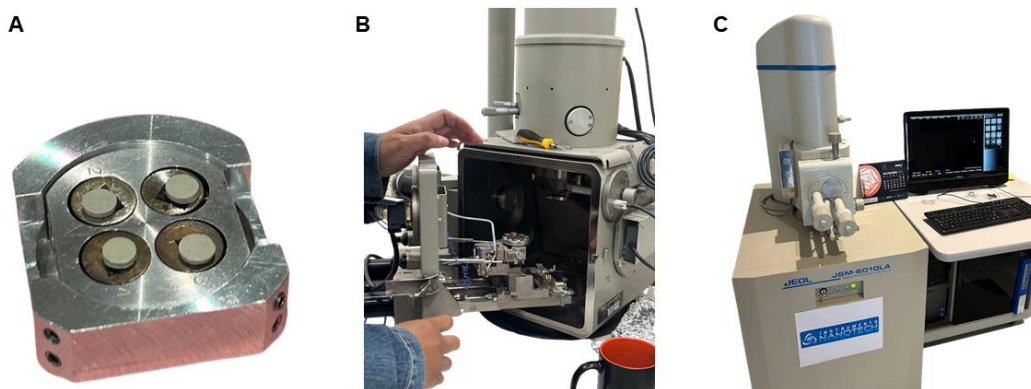


Figura 20 Preparación para análisis SEM.

A) Colocación de muestras sobre lámina de oro. B) Colocación de muestras dentro del SEM. C) Utilización de microscopio de electrones retrodispersados (JEOL: JSM-6010LA) a 11 mm.

Fuente propia.

Análisis de difracción de rayos X con incidencia rasante (GIXRD)

Se evaluó la formación de apatita, utilizando difracción de rayos X de haz rasante, en donde se colocaron las pastillas en el portamuestras. Las muestras fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X (XRD) utilizando un difractómetro de rayos X Anton Paar, modelo XRDynamic 500, con una longitud de onda correspondiente a 1.54 Å, utilizando radiación Cu K α 1, en un rango de $2\theta = 20-50^\circ$. Las reflexiones se compararon con la base de datos del International Centre for Diffraction Data (ICDD PDF-2; Ates-Rector SD, Blanton TN. ICDD Database PDF-2, 2018).

7.7.8 Prueba de Viabilidad Celular

Preparación de las muestras

Se utilizaron células de un ratón macho de la cepa C57BLACK aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM para la extirpación del bazo (Figura 21). Tras el sacrificio, el órgano fue colocado en un tubo Eppendorf estéril con solución de HANKS y trasladado al cuarto de cultivo. Bajo condiciones estériles en una campana de flujo laminar, se procedió a su limpieza y desinfección. Posteriormente, el bazo se transfirió a un nuevo tubo Eppendorf estéril con 5 mL de solución de HANKS, se agitó y se repitió el procedimiento una vez más.



*Figura 21 Obtención de Bazo.
Fuente propia.*



*Figura 22 Trituración de bazo hasta
suspensión homogénea.
Fuente propia.*

A continuación, el bazo fue colocado sobre dos mallas esterilizadas en una caja Petri y se añadió 1 mL de medio RPMI, procediéndose a su trituración con el émbolo de una jeringa de 10 mL hasta obtener una suspensión homogénea (Figura 22).

Las mallas se retiraron con pinzas previamente flameadas en alcohol al 95% y se enjuagaron con 1 mL de RPMI antes de desecharse. La suspensión celular se homogenizó con micropipeta y se transfirió a un tubo Eppendorf estéril (Figura 23A)

para centrifugación (Universal 32R- Hettich Zentrifugen. Alemania), a 1800 rpm durante 5 minutos. Tras la decantación (Figura 23B), el botón celular se resuspendió en 1 mL de medio RPMI y se distribuyó equitativamente en 15 pocillos de cultivo, los cuales contenían las muestras clasificadas por grupos (Figura 23C): G1-0%(A), G2-1%(B), G3-6%(C), (con 3 muestras por grupo y 1 posillo sin tinción, 1 para anexina y 1 para 7AAD).

Se depositó 67 μ L de RPMI en cada uno, y posteriormente se añadieron 800 μ L adicionales de medio en cada pocillo. Las placas se colocaron en incubadora (Nuair Model UN-4750, USA), a 37.1 y 4.7% CO₂ hasta el día siguiente, momento en que se realizó la tinción correspondiente.

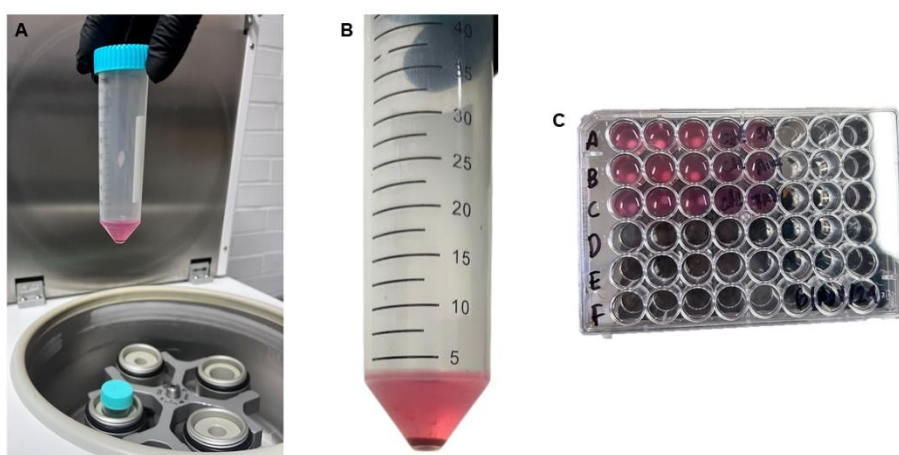


Figura 23 Centrifugado de suspensión celular y resuspensión en posillos.

A) Suspensión celular en tubo eppendorf estéril para centrifugado. B) Botón celular. C) Resuspensión en 15 posillos. Fuente propia.



Figura 24 Procedimiento de prueba de viabilidad celular.

A) Resuspensión celular en posillos. B) Incubadora (Nuair, USA). Fuente propia.

Ensayo de Anexina V y 7-AAD



Figura 25 FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit con 7-AAD

Fuente tomada de internet.

Para la Anexina V (FITC, BioLegend, San Diego, CA, EE. UU.) (Figura 25), transcurridas 24 horas, las placas fueron retiradas de la incubadora y el medio de cultivo de las 15 muestras se recolectó en tubos Eppendorf de 1.5 mL, los cuales fueron centrifugados a 1800 rpm durante 1 minuto.

Las células se lavaron dos veces con 1000 μ L de BioLegend's Cell Staining Buffer frío y se resuspendieron en 100 μ L de suspensión celular, añadiéndose 5 μ L de 7AAD Viability Staining Solution y 5 μ L de Anexina V. La mezcla se agitó suavemente e incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente (25°C) en la oscuridad. Finalmente, se añadieron 400 μ L de tampón de unión de Anexina V a cada tubo (Figura 26A-B) y las muestras fueron analizadas mediante citometría de flujo utilizando la configuración adecuada del equipo (Figura 26C)

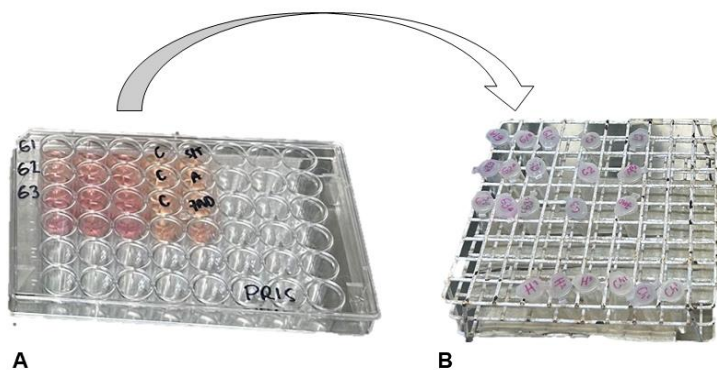


Figura 26 Procedimiento para analizar por citometría de flujo.

A) Placa de posillos con suspensión celular. B) Tubos eppendorf de 1.5 mm con Anexina V. C) Muestra colocada para conteo celular en citómetro.

Fuente propia.

Ensayo PrestoBlue

Preparación de las células

Se sembraron fibroblastos siguiendo los procedimientos establecidos del laboratorio. Se decantó el medio de cultivo de las botellas para eliminar el contenido residual y se realizaron dos lavados con 5 mL de solución de Hanks. Posteriormente, el contenido fue decantado y se añadieron 3 mL de tripsina. Las botellas se incubaron durante 3 minutos a 37°C. Tras la incubación, las botellas fueron retiradas de la incubadora y se agitó suavemente para favorecer el desprendimiento de las células, el cual fue confirmado mediante observación al microscopio. Se añadieron 4 mL de medio Dulbecco modificado de Eagle-Ham F12 (DMEM-F12) alto en glucosa, y todo el contenido se transfirió a un tubo de 50 mL utilizando una pipeta graduada.

Ensayo PrestoBlue se sembraron a una densidad de 1×10^4 células en cada grupo experimental y en una placa de cultivo de 96 pocillos para el control. Los cultivos se mantuvieron en medio DMEM-F12 suplementado con 10% de suero fetal bovino y 1% de antibiótico a 37 °C en 5% de CO₂, con evaluaciones en los días 1, 4 y 9. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Se utilizó el kit PrestoBlue a base de resazurina (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, EE. UU. 2600129/ REF: A13261) siguiendo las instrucciones del fabricante para evaluar la actividad mitocondrial de las células viables. La intensidad de absorbancia se midió a una longitud de onda de 570 nm usando un lector de microplacas Thermo Labsystems 354 Multiskan Ascent (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.), y las lecturas se obtuvieron utilizando el software Ascent versión 2.6 para múltiples capas.

Distribución y seguimiento de células

El conteo celular obtenido se dividió entre el número total de pocillos utilizados. Las células se distribuyeron de manera uniforme, obteniéndose aproximadamente $10,200 \pm$ células por pocillo (Figura 27A-B). La viabilidad y proliferación se observaron a los 1, 4 y 9 días posteriores a la siembra, registrando sus resultados (Figura 27 C-D).

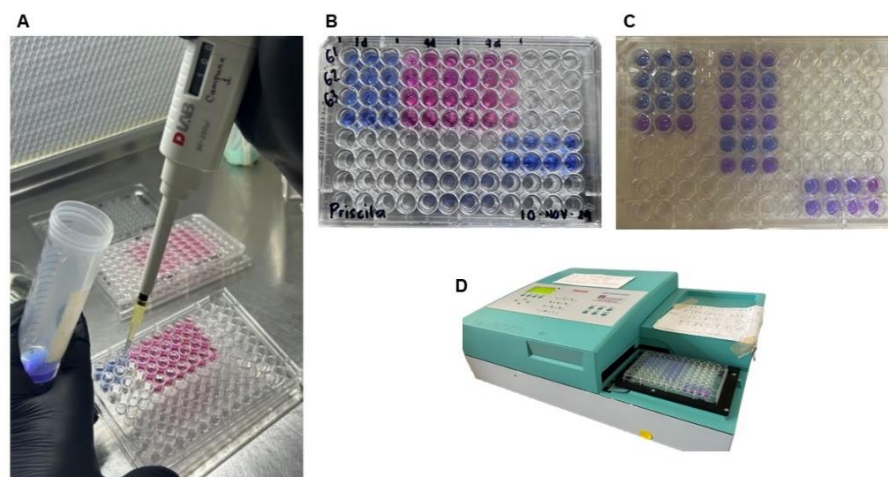


Figura 27 Distribución y conteo de células.

A) Suspensión celular en placa de cultivos de 48 pocillos. B) Etiqueta de placa correspondiente al grupo y a los días a evaluar. C) Placa de cultivos lista para conteo celular (se observa fluorescencia). D) Espectrofotómetro.

Fuente propia.

7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se analizarán mediante el software estadístico SPSS. Para el análisis estadístico, se realizará una prueba de normalidad, a través de Shapiro Wilk (muestras pequeñas) y posteriormente se realizará prueba ANOVA y comparaciones múltiples con la prueba *post hoc* Tukey.

8. RESULTADOS

Radiopacidad

Todos los grupos evaluados presentaron valores de radiopacidad superiores al mínimo establecido por la norma ISO 6876:2001 (≥ 3 mm Al). El grupo G1-0% mostró un valor promedio de radiopacidad de 8.15 mm Al, mientras que el grupo G2-1% presentó 8.30 mm Al y el grupo G3-6% alcanzó el valor más alto, con 8.57 mm Al.

Se observó un incremento progresivo de la radiopacidad conforme aumentó la concentración del material radiopaco, siendo el grupo G3-6% el que presentó los valores más elevados, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (ANOVA $p > 0.05$) (Gráfico 1)

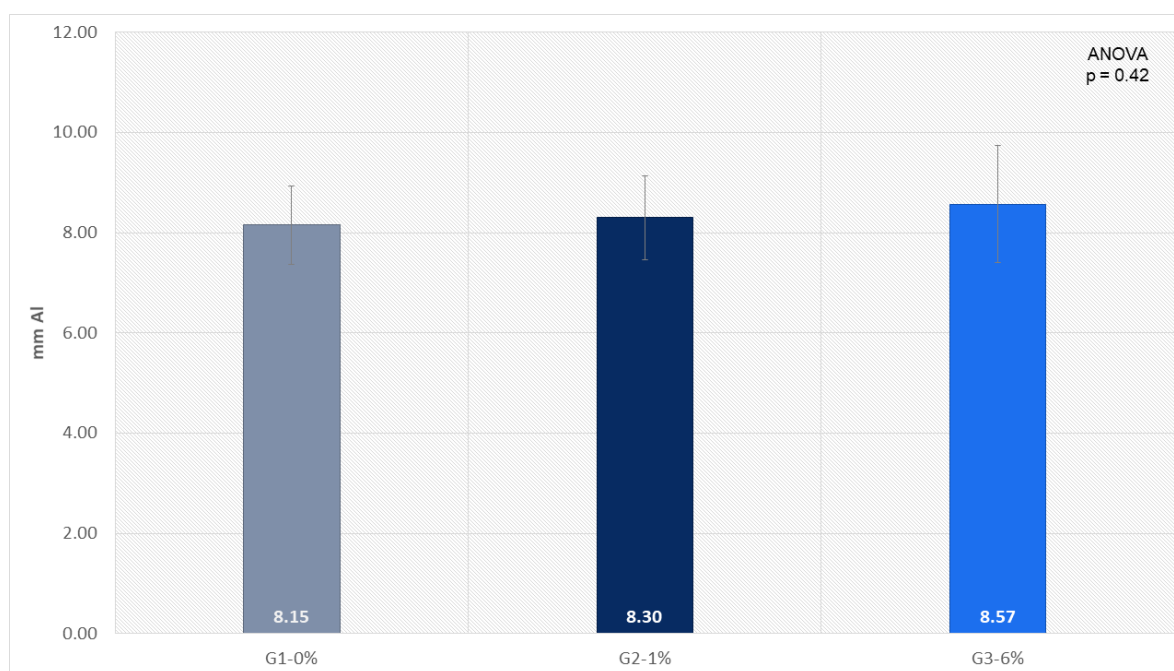


Gráfico 1 Resultados de prueba de radiopacidad expresados en milímetros de aluminio (mm Al).

Fuente propia.

pH

Los tres grupos evaluados mostraron un incremento inmediato del pH a partir de las primeras horas, pasando de valores cercanos a la neutralidad ($\text{pH} \approx 7.0$ a 0 h) a valores alcalinos a las 3 h, el grupo G3-6% presentó el pH más elevado en este intervalo (11.97), seguido del grupo G1-0% (11.82) y el grupo G2-1% (11.31). Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre G1-0% vs G2-1% y G2-1% vs G3-6% (ANOVA $p=0.05$, *post hoc* Tukey $p<0.05$).

A las 24 h, se mantuvo el carácter alcalino en todos los grupos, observándose el valor máximo en el grupo G3-6% (12.20), mientras que los grupos G1-0% y G2-1% registraron valores de 11.50 y 11.48, respectivamente. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre G1-0% vs G3-6% y G2-1% y G3-6% (ANOVA $p=0.05$, *post hoc* Tukey $p<0.05$).

A partir de los 7 días, se evidenció una disminución progresiva del pH en todos los grupos, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre G2-1% vs G3-6%, manteniéndose en un rango alcalino durante todo el periodo de evaluación.

En los tiempos posteriores (14, 21 y 45 días), los valores de pH mostraron una tendencia a la estabilización. Al final del periodo experimental (45 días), el grupo G1-0% presentó un pH de 10.01, el grupo G3-6% de 9.31 y el grupo G2-1% de 8.85, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Gráfico 2).

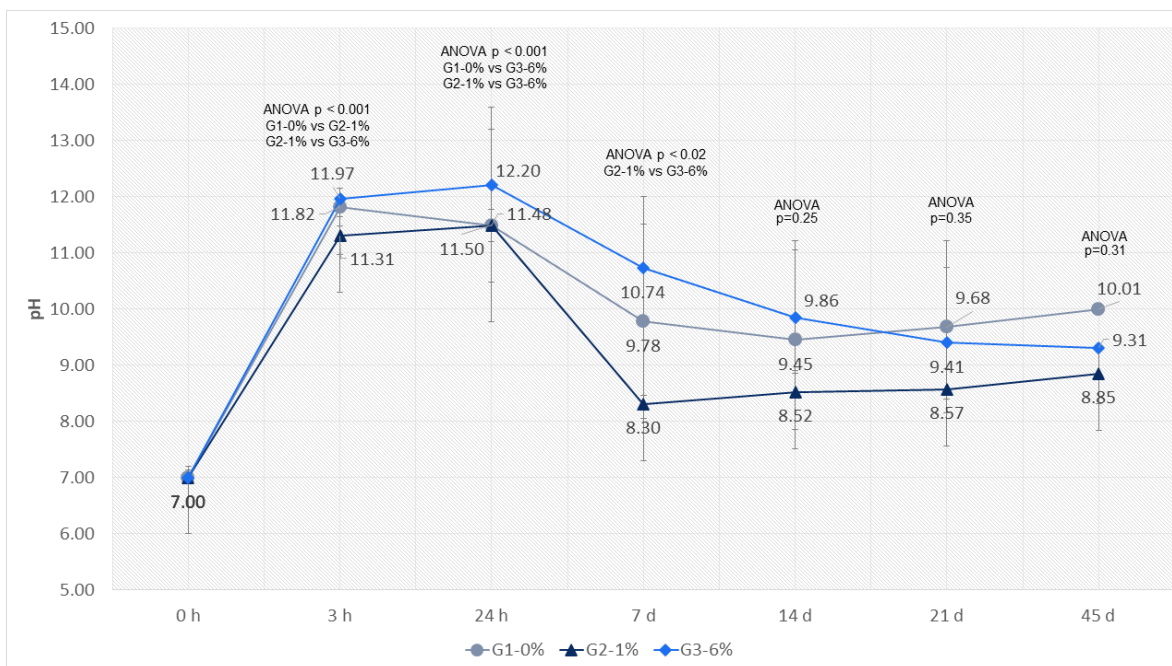


Gráfico 2 Resultados de prueba de pH a los distintos tiempos.

Fuente propia.

Bioactividad

Las imágenes obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) a 1,000× evidencian la formación progresiva de estructuras cristalinas sobre la superficie del material a los 28 días. Se observan cristales con morfología predominantemente acicular (en forma de agujas), así como agregados de apariencia granular, características compatibles con la formación de cristales de hidroxiapatita.

La distribución de estas estructuras cristalinas es heterogénea. En el grupo de mayor concentración (Grupo 3–6%) (Figura 30), se observa una superficie más densamente cubierta por agregados cristalinos, con morfología globular y coalescente, lo que sugiere una mayor bioactividad del material.

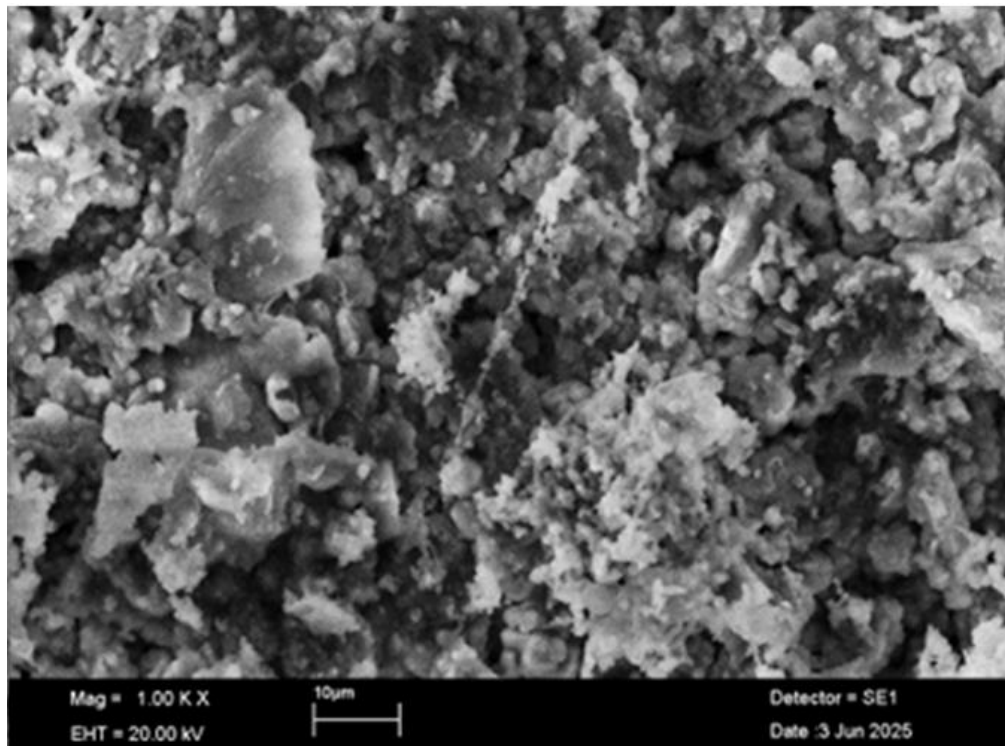
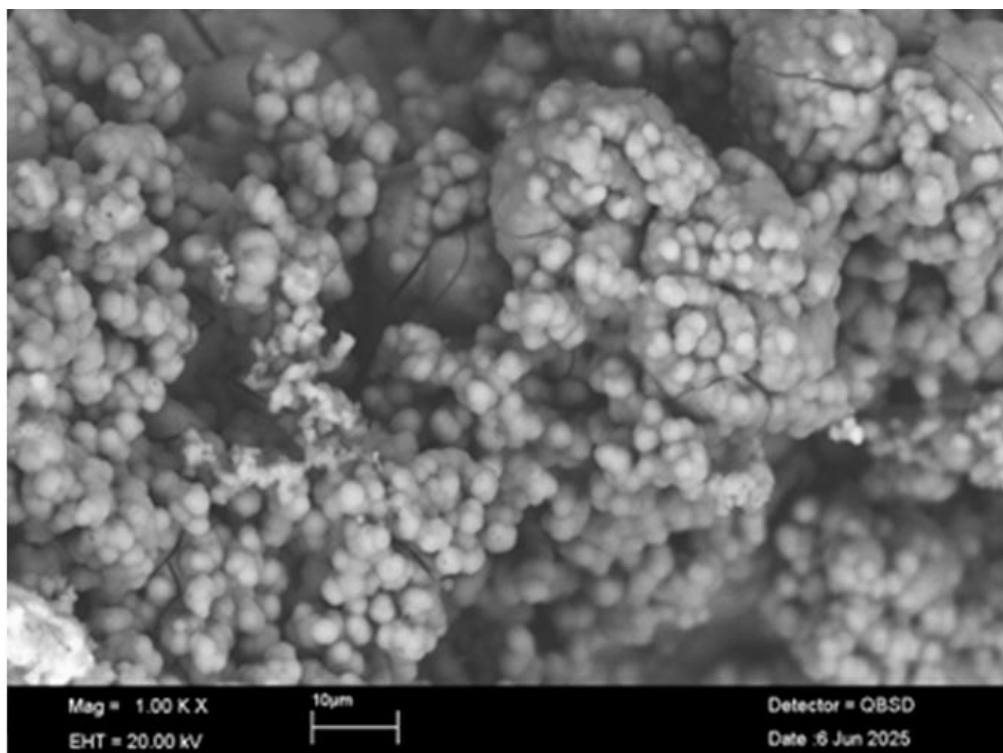
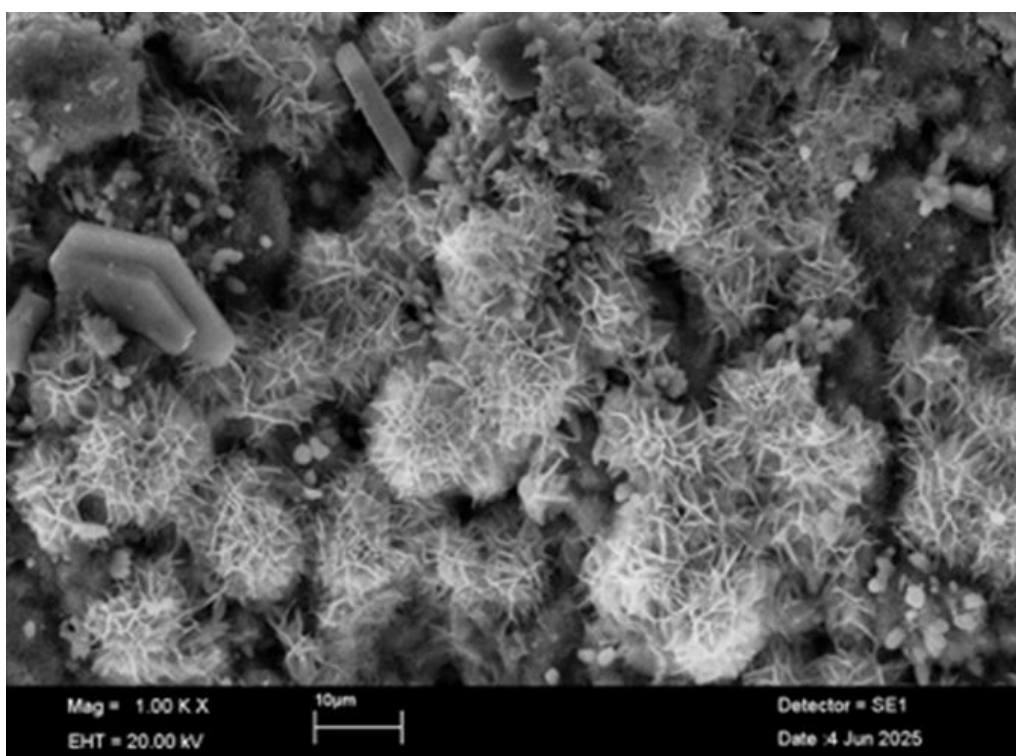


Figura 28 Imagen SEM correspondiente al grupo 1 (G1-0%) a los 28 días.

Fuente propia.



*Figura 29 Imagen SEM correspondiente al grupo 2 (G2-1%) a los 28 días.
Fuente propia.*



*Figura 30 Imagen SEM correspondiente al grupo 3 (G3-6%) a los 28 días.
Fuente propia.*

Difracción de Rayos X

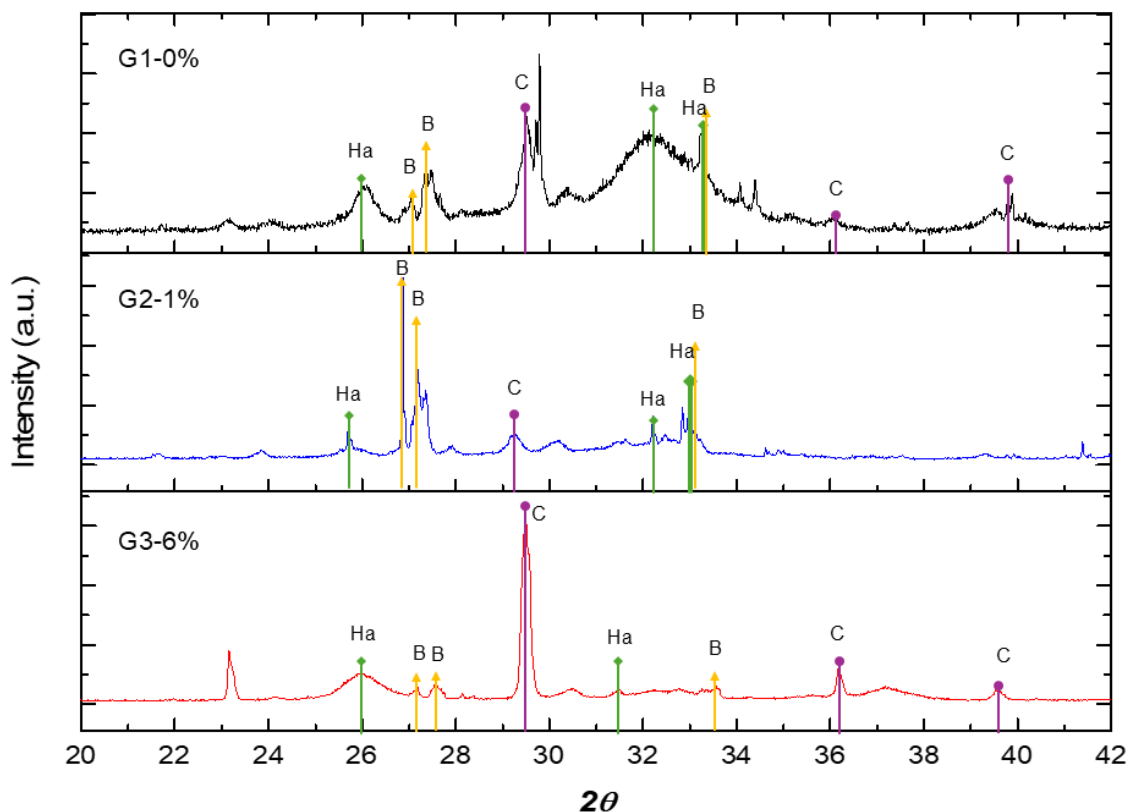


Gráfico 3 Análisis XRD.

El análisis cualitativo identificó tres fases minerales en los tres grupos: bismita (PDF 41-1449) identificada como B (línea amarilla), calcita (PDF 05-586) identificada como C (línea morada) e hidroxiapatita carbonatada (PDF 19-0272) identificada como Ha (línea verde).

Fuente propia.

Los patrones de DRX se presentan en el Grafico 3; el análisis cualitativo identificó tres fases minerales en los tres grupos: bismita (PDF 41-1449) identificada B (línea amarilla), a los 26.9, 27.4 y 33.2°, Calcita (PDF 05-586) identificada como C (línea morada) a los 29.4, 35.9 y 39.4°, Hidroxiapatita carbonatada (PDF 19-0272) identificada como Ha (línea verde) a los 26, 31.8 y 33°.

Viabilidad Celular (Ensayo PrestoBlue)

Los resultados de la prueba de viabilidad celular mediante el ensayo PrestoBlue mostraron que los tres grupos experimentales (G1-0%, G2-1% y G3-6%) mantuvieron porcentajes de viabilidad celular superiores al 70% en todos los tiempos evaluados, lo que indica una adecuada compatibilidad celular.

A las 24 horas, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (ANOVA, $p = 0.22$), presentando valores de viabilidad celular comparables entre sí.

A los 4 días, los grupos continuaron mostrando altos porcentajes de viabilidad celular, con una ligera variación entre ellos; no se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.07$).

A los 9 días, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0.05$). En este tiempo, el grupo G3-6% presentó el mayor porcentaje de viabilidad celular, seguido del grupo G1-0%, mientras que el grupo G2-6% mostró los valores más bajos, aunque manteniéndose dentro de rangos considerados biocompatibles.

En general, los resultados indican que la viabilidad celular se mantuvo elevada a lo largo del tiempo en todos los grupos evaluados, con una tendencia a incrementarse en el grupo G3-6% al día 9 de la evaluación (Gráfico 3).

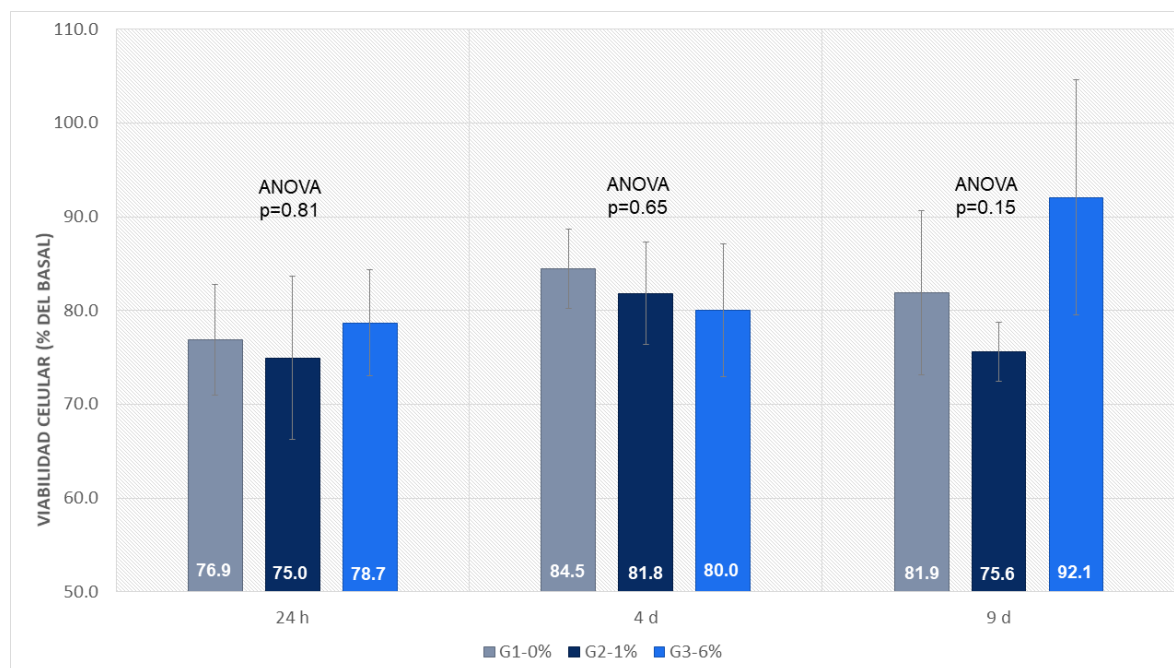


Gráfico 4 Viabilidad celular de los grupos experimentales (G1, G2 y G3) determinada mediante el ensayo PrestoBlue, evaluada a 24 horas, 4 y 9 días.

Fuente propia.

Prueba de Citotoxicidad (Anexina V con 7-AAD)

Los resultados de la prueba de citotoxicidad mediante Anexina V y 7-AAD mostraron diferencias en la distribución de células viables, en apoptosis y en necrosis entre los grupos experimentales evaluados.

El grupo G1-0% presentó el mayor porcentaje de células viables (79.3 ± 1.65 %), seguido del grupo G2-1% (76.5 ± 1.74 %), mientras que el grupo G3-6% mostró el valor más bajo de viabilidad celular (70.9 ± 2.77 %). El análisis estadístico evidenció diferencias estadísticamente significativas entre los grupos G1-0%-G3-6% y G2-1%-G3-6% en cuanto a células viables (ANOVA, $p = 0.0076$).

En relación a la necrosis, se observaron diferencias significativas entre los grupos G1-0%-G3-6% y G2-1%-G3-6% de ($p = 0.0073$). El grupo G3-6% presentó el mayor porcentaje de necrosis (28.17 ± 2.31 %), seguido del grupo G2-1% (23.10 ± 1.61 %) y del grupo G1-0% (20.47 ± 1.79 %) (Gráfico 4) (Tabla 4).

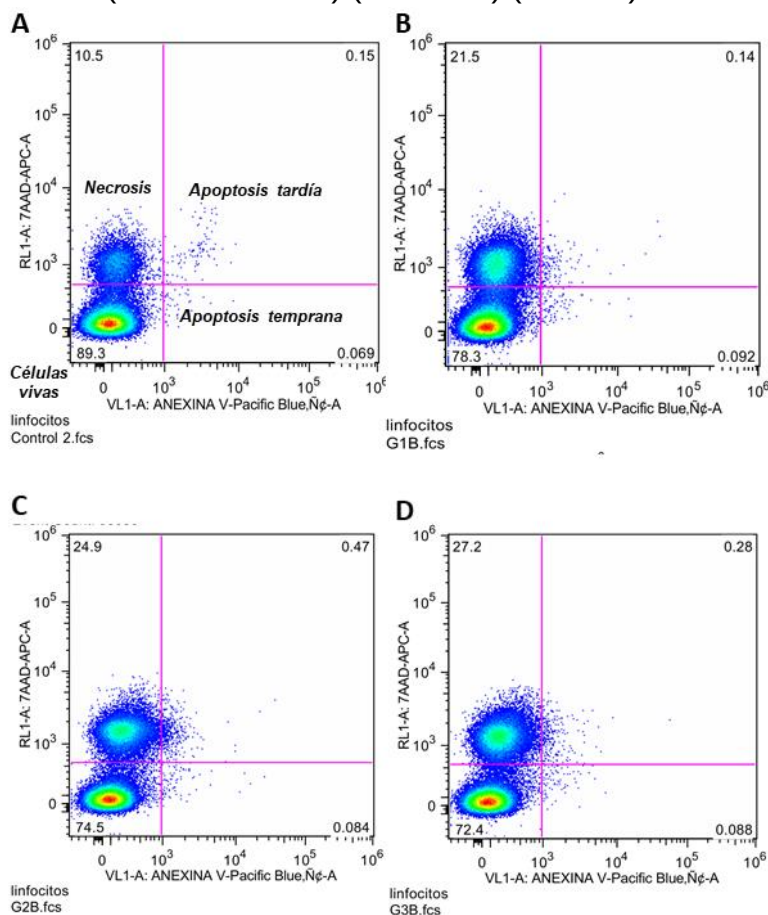


Gráfico 5 Análisis de citotoxicidad de los grupos experimentales en citometría de flujo con Anexina V y 7-AAD. El gráfico mostró la distribución de células viables, apoptosis temprana, apoptosis tardía y necrosis. A) Gráfico de grupo control. B) G1-0%. C) G2-1%. D) G3-6%.

Fuente propia.

Tabla 6 Distribución porcentual de células viables, apoptosis temprana, apoptosis tardía y necrosis en los grupos experimentales (G1-0%, G2-1% y G3-6%).

	Células vivas (%)	Apoptosis temprana (%)	Apoptosis tardía (%)	Necrosis (%)
G1- 0%	79.3 (1.65)	0.10 (0.05)	0.14 (0.06)	20.47 (1.79)
G2- 1%	76.5 (1.74)	0.09 (0.01)	0.31 (0.15)	23.10 (1.61)
G3- 6%	70.9 (2.77)	0.15 (0.05)	0.77 (0.53)	28.17 (2.31)
ANOVA	0.0076*	0.2758	0.1194	0.0073*

*Se evaluó mediante citometría de flujo utilizando Anexina V y 7-AAD. * Presenta diferencias significativas. Los datos se expresan como media $\pm$ desviación estándar entre paréntesis; análisis estadístico con ANOVA.*

Fuente propia.

9. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como propósito evaluar el efecto de la adición de óxido de estroncio (SrO) al MTA en concentraciones del 1% y 6%, con el objetivo de analizar su influencia sobre propiedades fisicoquímicas relevantes para su desempeño clínico y su potencial bioactividad.

La radiopacidad constituye una propiedad indispensable en materiales utilizados en endodoncia, ya que permite su identificación radiográfica sobre los tejidos duros dentales y estructuras adyacentes, lo que permite evaluar la colocación correcta del material durante y después del tratamiento (58). En este estudio, todos los grupos experimentales presentaron valores de radiopacidad superiores al mínimo establecido por la norma ISO 6876:2001 (≥ 3 mm Al) [1], incluyendo el grupo control sin SrO (G1-0%) lo que confirma que el cemento experimental, aun sin la adición de SrO, cumple con los criterios internacionales para su uso clínico. Estos resultados coinciden con lo reportado en la literatura por Sen *et al.*, 2023 [66], donde los cementos a base de silicato de calcio consistentemente superan los requisitos de radiopacidad y permiten una visualización diagnóstica adecuada en procedimientos endodónticos. El incremento observado en la radiopacidad tras la incorporación de óxido de estroncio (G1-0% < G2-1% < G3-6%) sugiere que la adición de estroncio contribuye positivamente a la absorción de rayos X del material. Aunque dicho aumento no fue estadísticamente significativo, este comportamiento es concordante con lo reportado por Leny *et al.*, (2025) (39), quienes señalaron que el incremento de la radiopacidad se relaciona directamente con la presencia de elementos de mayor número atómico, como el estroncio y el bario, incorporados a la matriz del material (59).

La incorporación de agentes radiopacos a cementos a base de silicato de calcio aporta un importante desarrollo a nuevos materiales endodónticos, ya que facilita la correcta colocación de dichos materiales o en su caso también defectos clínicos. Diversos estudios sobre MTA y otros cementos fabricados a base de silicato de calcio han demostrado que la elección del agente radiopacificante puede alterar los valores de radiopacidad del material; estos cambios dependen de la naturaleza como de la cantidad del radiopacificador incorporado [44]. Flores Ledesma *et al.*, (2019) [67]. Menciona que un material con radiopacidad insuficiente puede dificultar su diferenciación de estructuras anatómicas como la dentina, el hueso alveolar y el ligamento periodontal. En contraste, un material excesivamente radiopaco y con alto contraste puede generar una percepción errónea de una obturación compacta y uniforme, ya que podría ocultar defectos en zonas donde el material no ha sido adaptado correctamente.

En relación con el comportamiento del pH, los resultados mostraron un patrón característico de los materiales a base de silicatos de calcio, incluido el MTA con adición de óxido de estroncio. Durante las primeras horas de evaluación, particularmente a las tres h, los tres grupos experimentales presentaron valores alcalinos superiores al pH neutro (≈ 7.0) observándose un incremento adicional a las 24 h y 7 días, seguido de una disminución progresiva a los 14, 21 y 45 días. Este comportamiento coincide con lo descrito para cementos de silicato de calcio, en los cuales la reacción de hidratación conduce a la formación de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), con la consecuente liberación de iones hidroxilo (OH^-) responsables del aumento inicial del pH en el entorno líquido tras la manipulación y el fraguado del material [68]. La persistencia de un medio alcalino resulta clínicamente relevante, ya que se ha demostrado que valores elevados de pH ejercen un efecto antimicrobiano, particularmente frente a microorganismos implicados en infecciones endodónticas, lo cual favorece la reparación de tejidos periapicales [69]. En este estudio, la adición de óxido de estroncio no modificó de forma significativa el comportamiento del pH, lo cual concuerda con reportes recientes que indican que la incorporación de estroncio en cementos de silicato no altera esta propiedad, aunque sí puede influir en otras características fisicoquímicas como la resistencia mecánica y la bioactividad (5).

La disminución progresiva del pH observada en tiempos posteriores puede atribuirse a la estabilización gradual de la reacción de hidratación y a la reducción en la liberación de iones hidroxilo, fenómeno descrito previamente en estudios comparativos de pH y liberación iónica en materiales a base de silicato de calcio [70]. Este descenso no implica una pérdida de efectividad biológica, ya que el material mantiene un entorno alcalino compatible con su bioactividad, particularmente en las fases iniciales, donde su influencia es más marcada. La adición de SrO , por lo tanto, no compromete esta propiedad fundamental del MTA.

La bioactividad de los materiales endodónticos se caracteriza por su capacidad para inducir la formación de una capa superficial de apatita como resultado de su interacción con los tejidos circundantes. En el presente estudio, el análisis mediante microscopía electrónica de barrido permitió evaluar el efecto de la adición de SrO sobre la morfología superficial del MTA y la formación de fases bioactivas tras 28 días de inmersión.

Las micrografías SEM correspondientes al grupo control (G1-0%) al día 28 evidenciaron una superficie irregular y heterogénea, y escasa formación de estructuras cristalinas organizadas. Este comportamiento coincide con lo descrito por Camilleri (2008) [71], quien reportó patrones morfológicos similares y señaló que la presencia de cristales aciculares y agregados globulares es indicativa de procesos de biomineralización superficial.

En el grupo con adición del 1% de óxido de estroncio (G2-1%) a los 28 días se observaron modificaciones en la morfología superficial, caracterizadas por una distribución más homogénea de los depósitos minerales, así como una cubierta de agregados cristalinos en comparación al grupo control. Se observan estructuras cristalinas con morfología globular y coalescente, formando una capa continua sobre la superficie del material.

Por su parte, el grupo con mayor concentración de óxido de estroncio (G3-6%) mostró diferencias más marcadas en las micrografías SEM, con una superficie cubierta por agregados cristalinos de mayor tamaño, lo que dio lugar a una capa continua y altamente mineralizada. Estos hallazgos sugieren que concentraciones más elevadas de SrO pueden potenciar la bioactividad del MTA. En concordancia, Liu *et al.*, (2021) [72] reportaron que materiales con alto contenido de estroncio presentan una mayor tasa de formación de apatita.

Lulian Antoniac *et al.*, (2016) [8], reportó que la incorporación vicaria de iones dentro de la red de la hidroxiapatita influye en su velocidad de disolución, mejorando la proliferación de células similares a osteoblastos *in vitro*. En el caso de sustituciones con iones bivalentes (por ejemplo, Mg^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+}), no ocurre ningún desequilibrio de carga dentro de la red de apatita, mientras que en el caso de sustituciones con iones monovalentes (por ejemplo, Na^+ y K^+) es necesario un desequilibrio de carga para su neutralización. La presencia de Sr^{2+} en la estructura cristalina de HAp influye en los parámetros de la red y promueve a la cristalinidad y tamaño del cristal. La presencia de iones de estroncio dentro de la red de hidroxiapatita ha demostrado mejorar su biocompatibilidad y bioactividad, promoviendo el proceso de osteointegración, debido al mayor radio iónico del Sr.

En el presente estudio las principales fases minerales observadas por DRX de haz rasante fueron: calcita (PDF 05-586), hidroxiapatita carbonatada (PDF 19-0272) y bismita (PDF 41-1449) en los tres grupos. La fase de calcita (PDF 05-586) se ha encontrado en otras ocasiones como resultado de hidratación en cementos que habían sido sumergidos en SBF reportó Flores Ledesma *et al.* (2020) [73]. Esto es consistente con lo encontrado en estudios donde la calcita se detecta como producto secundario en cementos de silicato de calcio analizados por XRD proporcionando estabilidad al material [74].

La fase de bismita está presente en todos los grupos con picos cerca de 26.9° , 27.4° y 33.22° 2θ , el cual está presente en cementos de MTA que contienen trióxido de bismuto como agente de radiopacidad. Se ha sugerido que esta fase actúa como material de relleno durante el proceso de hidratación [73]. Su presencia sugiere que el material conserva ese componente incluso con la adición de estroncio.

También se detectó la fase de hidroxiapatita carbonatada (Ha) con picos cerca de 26.0° , 31.8° y 33.0° 2θ como se reporta en otros estudios [73]. Su identificación en

todas las muestras respalda la bioactividad potencial del material adicionado con estroncio, lo que coincide con evidencia reciente donde mencionan que el Sr favorece la formación de apatita en materiales con fosfatos de calcio [22].

En la Grafica 3 se observan picos más amplios correspondientes al grupo (G1-0%) lo cual coincide con la imagen SEM (Figura 28) en donde se puede observar las estructuras correspondientes a apatitas menos cristalinas y poco aglomeradas.

Tal como lo señala Islam *et al.*, (2006) [75] la identificación de fases mediante XRD puede verse comprometida por la superposición de picos, errores asociados a patrones de referencia en la base de datos PDF y la presencia de fases con bajo grado de cristalinidad, lo cual dificulta su detección como puede ser el caso de los picos característicos de los silicatos de calcio presentes en el MTA, debido a su baja concentración o presentar picos de baja intensidad, los cuales podrían ser enmascarados por picos superpuestos de otras fases.

La evaluación de la viabilidad celular constituye un parámetro fundamental en el análisis de biomateriales endodónticos, ya que permite determinar su biocompatibilidad y su capacidad para mantener la actividad metabólica de las células en contacto con el material. Este aspecto resulta particularmente relevante en materiales destinados a interactuar con tejidos pulpaes y periapicales, donde una respuesta celular favorable es determinante para el éxito clínico y los procesos de reparación tisular.

En el presente estudio, la evaluación de la viabilidad celular mediante el ensayo PrestoBlue mostró que la adición de óxido de estroncio (SrO) al MTA no compromete la biocompatibilidad del material, ya que todos los grupos experimentales (G1-0%, G2-1% y G3-6%) mantuvieron porcentajes de viabilidad superiores al 70% en todos los tiempos evaluados. Estos resultados sugieren que, aun con la incorporación de estroncio, las células conservaron una actividad metabólica adecuada. Resultados similares han sido reportados por Jaberiansari *et al.*, (2015) 66), quienes evaluaron la viabilidad celular de distintas formulaciones de MTA (ProRoot MTA, MTA Angelus y Root MTA) mediante el ensayo Mosmann's Tetrazolium Toxicity (MTT) a las 24, 48 y 72 h, observando un comportamiento biocompatible frente a células madre de la pulpa dental humana. En dicho estudio, no se identificaron diferencias significativas en la viabilidad celular a las 24 h respecto al grupo control, mientras que a las 48 y 72 h todas las formulaciones de MTA promovieron un incremento significativo y dependiente del tiempo, manteniendo porcentajes de viabilidad superiores al 90%, lo que confirmó la ausencia de citotoxicidad.

En este estudio, a las 24 h no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales (ANOVA, $p = 0.22$), lo que indica que la adición de óxido de estroncio en concentraciones del 1% y 6% no generó efectos adversos tempranos sobre la viabilidad celular. A las 48 h, los grupos continuaron mostrando altos porcentajes de viabilidad, con ligeras variaciones entre ellos,

aunque sin diferencias estadísticamente significativas, lo que sugiere que la liberación iónica del MTA adicionado con SrO no afecta negativamente la proliferación ni la supervivencia celular a mediano plazo.

A las 72 h se identificaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales, siendo el grupo G3-6% el que presentó el mayor porcentaje de viabilidad celular, seguido del grupo control (G1-0%) y del grupo G2-1%. Este comportamiento dependiente de la concentración podría reflejar un efecto favorable del estroncio sobre la actividad metabólica y proliferativa celular cuando se emplea en concentraciones elevadas.

El estroncio ha sido ampliamente reconocido por su capacidad para estimular células osteogénicas y modular procesos de proliferación y diferenciación celular. No obstante, Basheer *et al.*, (2021) [40], reportaron una menor proliferación celular en materiales con fosfato tricálcico sustituido con estroncio en comparación con el MTA, atribuyendo este efecto a una concentración elevada de estroncio (10%), la cual podría disminuir la proliferación celular y, simultáneamente, favorecer etapas tempranas de diferenciación celular, confirmando que el MTA favorece la supervivencia y proliferación de las células pulpares, respaldando su biocompatibilidad y su uso clínico en terapia pulpar vital.

En el presente estudio, la citotoxicidad se evaluó mediante la tinción con Anexina V y 7-AAD empleando citometría de flujo, lo que permitió cuantificar y distinguir los distintos estados celulares tras la exposición de las células a MTA con y sin adición de óxido de estroncio. Este método es ampliamente utilizado para identificar los diferentes estadios de la muerte celular, incluyendo apoptosis temprana, apoptosis tardía y necrosis [72]. Los resultados mostraron que el grupo sin adición de óxido de estroncio (G1-0%) presentó el mayor porcentaje de células viables, seguido del grupo con baja adición de estroncio (G2-1%), mientras que el grupo con mayor contenido de SrO (G3-6%) registró la viabilidad más baja ($79.3 \pm 1.65\%$ vs. $70.9 \pm 2.77\%$). Estos hallazgos concuerdan con lo reportado en la literatura, ya que Pelepenko *et al.*, (2022) [10], observaron que el contacto directo de fibroblastos murinos con lixiviados de vidrios bioactivos que contenían estroncio y magnesio se asoció con una reducción en la viabilidad celular. En dicho estudio, los vidrios bioactivos sustituidos con estroncio mostraron una disminución de la actividad biológica, atribuida al bloqueo de los sitios activos de crecimiento del fosfato de calcio por iones Sr^{2+} , así como a una reducción en la proliferación celular y en la actividad de la fosfatasa alcalina.

En conjunto, estos resultados sugieren que la adición de SrO puede modular la respuesta celular y disminuir la viabilidad cuando se emplea en concentraciones elevadas. Este comportamiento dosis-dependiente se ve respaldado por el estudio de Alves Côrtes *et al.*, (2024) [77], quienes demostraron que la incorporación de estroncio en biomateriales presenta un efecto biológico condicionado por su concentración, reportando que concentraciones bajas a moderadas (0.5–5%) se asocian con la estimulación de la diferenciación osteoblástica, evidenciada por el

aumento en la actividad de la fosfatasa alcalina. Estos hallazgos subrayan la importancia de optimizar la cantidad de estroncio incorporada a los biomateriales para maximizar su potencial regenerativo sin comprometer la viabilidad celular.

En conclusión, los resultados del presente estudio indican que la adición de óxido de estroncio al MTA, en concentraciones del 1% y 6%, no compromete sus propiedades fisicoquímicas ni biológicas fundamentales. La radiopacidad se mantuvo dentro de los valores establecidos por la normativa, el pH conservó un comportamiento alcalino característico, y la bioactividad se evidenció mediante la formación de fases mineralizadas sobre la superficie del material. Asimismo, los análisis de viabilidad celular y citotoxicidad demostraron que la respuesta biológica al MTA modificado es dependiente de la concentración de estroncio, donde concentraciones bajas a moderadas resultan compatibles con la viabilidad celular, mientras que concentraciones más elevadas pueden modular la respuesta celular sin inducir citotoxicidad significativa. Estos hallazgos resaltan la importancia de optimizar la cantidad de estroncio incorporada al MTA, y aportan evidencia que respalda su potencial aplicación en el desarrollo de biomateriales endodónticos con propiedades bioactivas mejoradas.

10. CONCLUSIÓN

- Con base en los resultados obtenidos en la prueba de pH, se observó que todos los grupos presentaron un entorno alcalino característico de los cementos a base de silicato de calcio. Durante los primeros tiempos de evaluación, particularmente a las 3 y 24 h, se registraron los valores máximos de pH, posteriormente a partir de los 7 días, se evidenció una disminución progresiva, manteniéndose dentro del rango alcalino. Sugiere una estabilización de pH gradual conforme avanza el proceso de hidratación y fraguado del cemento, conservando una propiedad química relevante asociada tanto a su efecto antimicrobiano como a su potencial bioactivo.
- Los resultados de radiopacidad indican que la adición de óxido de estroncio al MTA en concentraciones del 1% y 6% no compromete esta propiedad, cumpliendo con los requisitos establecidos por la norma ISO 6876:2001 (≥ 3 mm Al) para su adecuada visualización radiográfica en aplicaciones clínicas. Adicionalmente, se observó una tendencia al incremento de la radiopacidad conforme aumentó la concentración de SrO, lo cual puede atribuirse al mayor número atómico del estroncio.
- El MTA convencional forma cristales de hidroxiapatita catalizado por la liberación de Ca^{2+} y un pH alcalino. La adición de óxido de estroncio mejora la formación y densidad de cristales de apatita, estimulando respuestas celulares favorables para su bioactividad. A mayor concentración de estroncio, se observa mayor densidad y tamaño de cristales, lo cual se puede asociar a una mejor capacidad de integración.
- El análisis de XRD mediante incidencia rasante permitió identificar de manera consistente la presencia de bismita, calcita e hidroxiapatita carbonatada en todos los grupos estudiados, independientemente del porcentaje de adición de estroncio. La detección de hidroxiapatita carbonatada confirma la capacidad bioactiva del material, al evidenciar una fase mineral compatible con los tejidos duros. Asimismo, la bismita se asocia con la conservación de la radiopacidad presente en el MTA, mientras que la calcita corresponde a procesos secundarios de los cementos a base de silicato de calcio. La adición de estroncio no alteró la formación de sus fases cristalinas de apatita, lo que sugiere que no compromete su estructura mineral básica, sino que la mejora.
- En cuanto a su respuesta biológica, la incorporación de óxido de estroncio al MTA no afectó negativamente la viabilidad celular y, a una concentración del 6% incluso mostró un efecto favorable sobre la actividad celular tras los periodos estudiados. Resulta relevante para aplicaciones clínicas donde se requiere que los materiales bioactivos no solo sean inertes, sino que promuevan una respuesta celular efectiva. De acuerdo con los resultados de la prueba de Anexina V con 7 AAD la adición de SrO sugiere un efecto dosis-dependiente, aspecto que debe considerarse al optimizar biomateriales modificados con estroncio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Estrela C, Cintra LTA, Duarte MAH, Rossi-Fedele G, Gavini G, Damião Sousa-Neto M. Mechanism of action of Bioactive Endodontic Materials. *Braz Dent J* 2023;34:1–11. <https://doi.org/10.1590/0103-6440202305278>.
- [2] Camilleri J, Atmeh A, Li X, Meschi N. Present status and future directions: Hydraulic materials for endodontic use. *Int Endod J* 2022;55:710–77. <https://doi.org/10.1111/iej.13709>.
- [3] Asgary S, Nosrat A. Vital Pulp Therapy: Evidence-Based Techniques and Outcomes. *Iran Endod J* 2025;20. <https://doi.org/10.22037/iej.v20i1.47141>.
- [4] Xavier MT, Costa AL, Ramos JC, Caramês J, Marques D, Martins JNR. Calcium Silicate-Based Cements in Restorative Dentistry: Vital Pulp Therapy Clinical, Radiographic, and Histological Outcomes on Deciduous and Permanent Dentition—A Systematic Review and Meta-Analysis. *Materials* 2024;17. <https://doi.org/10.3390/ma17174264>.
- [5] Philip N, Suneja B. Minimally invasive endodontics: a new era for pulpotomy in mature permanent teeth. *Br Dent J* 2022;233:1035–41. <https://doi.org/10.1038/s41415-022-5316-1>.
- [6] Kunert M, Piwonski I, Hardan L, Bourgi R, Sauro S, Inchingolo F, et al. Dentine Remineralisation Induced by “Bioactive” Materials through Mineral Deposition: An In Vitro Study. *Nanomaterials* 2024;14. <https://doi.org/10.3390/nano14030274>.
- [7] Gomez de Ferraris ME, Campos Muñoz Antonio. *Histología, embriología e ingeniería tisular bucodental*. 3rd ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2009.
- [8] Vasile Antoniac Iulian. *Handbook of Bioceramics and Biocomposites*. Springer International Publishing Switzerland; 2016. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-12460-5>.
- [9] Marie Pierre J, Hott Monique, Modrowski Dominique, De Pollak Cinderella, Guillemain Joel, Deloffre Pascale, et al. An Uncoupling Agent Containing Strontium Prevents Bone Loss by Depressing Bone Resorption and Maintaining Bone Formation in Estrogen-Deficient Rats. *JOURNAL OF BONE AND MINERAL RESEARCH* 1993;8:607–15. <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650080512>.
- [10] Pelepenko LE, Marciano MA, Francati TM, Bombarda G, Bessa Marconato Antunes T, Sorrentino F, et al. Can strontium replace calcium

in bioactive materials for dental applications? J Biomed Mater Res A 2022;110:1892–911. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.37421>.

- [11] Löffek S, Schilling O, Franzke CW. Series “matrix metalloproteinases in lung health and disease” edited by J. Müller-Quernheim and O. Eickelberg number 1 in this series: Biological role of matrix metalloproteinases: A critical balance. European Respiratory Journal 2011;38:191–208. <https://doi.org/10.1183/09031936.00146510>.
- [12] Goldberg M, Septier D, Bourd K, Hall R, George A, Goldberg H, et al. Immunohistochemical localization of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, and TIMP-2 in the forming rat incisor. Connect Tissue Res 2003;44:143–53. <https://doi.org/10.1080/03008200390223927>.
- [13] Zheng L, Amano K, Iohara K, Ito M, Imabayashi K, Into T, et al. Matrix metalloproteinase-3 accelerates wound healing following dental pulp injury. American Journal of Pathology 2009;175:1905–14. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080705>.
- [14] Goldberg M, Kulkarni AB, Young M, Boskey A. Dentin: Structure, Composition and Mineralization: The role of dentin ECM in dentin formation and mineralization. Front Biosci (Elite Ed) 2011;3:711–35. <https://doi.org/10.2741/e281>.
- [15] Guirado E, George A. Dentine Matrix Metalloproteinases As Potential Mediators Of Dentine Regeneration. Eur Cell Mater 2021;42:392–400. <https://doi.org/10.22203/eCM.v042a24>.
- [16] Chaussain C, Eapen AS, Huet E, Floris C, Ravindran S, Hao J, et al. Mmp2-Cleavage Of Dmp1 Generates A Bioactive Peptide Promoting Differentiation Of Dental Pulp Stem/Progenitor Cells. Eur Cell Mater 2009;18:84–95. <https://doi.org/10.22203/ecm.v018a08>.
- [17] Iohara K, Nakashima M, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A. Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. J Dent Res 2004;83:590–5. <https://doi.org/10.1177/154405910408300802>.
- [18] Wang Z, Shen Y, Haapasalo M. Antimicrobial and Antibiofilm Properties of Bioceramic Materials in Endodontics. Materials 2021;14:7594–606. <https://doi.org/10.3390/ma14247594>.
- [19] Flores-Ledesma A, Tejeda-Cruz A, Moyaho-Bernal MA, Wintergerst A, Moreno-Vargas YA, Rodríguez-Chávez JA, et al. Physical properties, marginal adaptation and bioactivity of an experimental mineral trioxide aggregate-like cement modified with bioactive materials. J Oral Sci 2023;65:141–7. <https://doi.org/10.2334/josnurd.22-0449>.

- [20] Hench Larry L. The story of Bioglass®. *J Mater Sci Mater Med* 2006;17:967–78. <https://doi.org/10.1007/s10856-006-0432-z>.
- [21] Flores-Ledesma A, Barceló Santana F, Bucio L, Arenas-Alatorre JA, Faraji M, Wintergerst AM. Bioactive materials improve some physical properties of a MTA-like cement. *Materials Science and Engineering C* 2017;71:150–5. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.09.079>.
- [22] Lunawat K, Kavitha S, Rajkumar G, Dhivya V, Ravi Kumar N, Mahalaxmi S, et al. Influence of strontium containing fluorophosphate glass onto structural and mechanical behavior of MTA network. *J Mech Behav Biomed Mater* 2023;140:105750–60. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2023.105750>.
- [23] Drouri S, El merini H, Sy A, Jabri M. Evaluation of Direct and Indirect Pulp Capping With Biodentine in Vital Permanent Teeth With Deep Caries Lesions: A Case Series. *Cureus* 2023;15:1–7. <https://doi.org/10.7759/cureus.39374>.
- [24] Chaple Gil Alain M., Herrera Herrera Lien. Generalidades Del Agregado De Trióxido Mineral (MTA) Y Su Aplicación En Odontología: Revisión De La Literatura. 2007.
- [25] Camilleri J, Atmeh A, Li X, Meschi N. Present status and future directions: Hydraulic materials for endodontic use. *Int Endod J* 2022;55:710–77. <https://doi.org/10.1111/iej.13709>.
- [26] Seo MS, Hwang KG, Lee J, Kim H, Baek SH. The effect of mineral trioxide aggregate on odontogenic differentiation in dental pulp stem cells. *J Endod* 2013;39:242–8. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2012.11.004>.
- [27] Singh S, Mandlik J, Kanyal K, Danle R, Jadhav A. Mineral Trioxide Aggregate-A Review. *Indian Journal of Conservative and Endodontics* 2017;2:16–21.
- [28] Torabinejad M, Chivian N. Clinical Applications of Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 1999;25:197–205. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(99\)80142-3](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(99)80142-3).
- [29] Friedl CC, Williamson AE, Dawson D V., Gomez MR, Liu W. Comparison of mechanical and indirect ultrasonic placement technique on mineral trioxide aggregate retrofill density in simulated root-end surgery. *J Endod* 2016;42:650–3. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2016.01.008>.
- [30] Velickovic S, Pavlovic S, Simovic Markovic B, Jovanovic I, Zornic S, Kragovic M, et al. Evaluation of biocompatibility, antimicrobial activity,

and immunomodulatory effects of mineral trioxide aggregate modified with zeolite-clinoptilolite as a root-end filling material. *BMC Oral Health* 2025;25:1159. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-06587-x>.

- [31] Bolhari B, Noori F, Assadian H, Raee A, Ghabraei S, Shamshiri AR, et al. The effect of three additives on properties of mineral trioxide aggregate cements: a systematic review and meta-analysis of in vitro studies. *BMC Oral Health* 2024;24:1–22. <https://doi.org/10.1186/s12903-024-04103-1>.
- [32] Kalash A, Tsamesidis I, Pouroutzidou GK, Kontonasaki E, Gkiliopoulos D, Arhakis A, et al. Effect of Modified Bioceramic Mineral Trioxide Aggregate Cement with Mesoporous Nanoparticles on Human Gingival Fibroblasts. *Curr Issues Mol Biol* 2024;46:3005–21. <https://doi.org/10.3390/cimb46040188>.
- [33] Mariyam M, Sunarintyas S, Yuliatun L, Irnawati D, Hatmanto AD, Nuryono N. Physicochemical and antibacterial properties of ZnO/chitosan-modified mineral trioxide aggregate composites. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering* 2024;9:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2024.100749>.
- [34] John Emsley. *The Elements*. 2da ed. Clarendon Press; 1998.
- [35] Jayasree R, Kumar TSS, Mahalaxmi S, Abburi S, Rubaiya Y, Doble M. Dentin remineralizing ability and enhanced antibacterial activity of strontium and hydroxyl ion co-releasing radiopaque hydroxyapatite cement. *J Mater Sci Mater Med* 2017;28:1–12. <https://doi.org/10.1007/s10856-017-5903-x>.
- [36] Saghiri MA, Vakhnovetsky J, Vakhnovetsky A, Ghobrial M, Nath D, Morgano SM. Functional role of inorganic trace elements in dentin apatite tissue—Part 1: Mg, Sr, Zn, and Fe. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2022;71:120–6. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2022.126932>.
- [37] Bulina N V., Chaikina M V., Prosanov IY, Dudina D V. Strontium and silicate co-substituted hydroxyapatite: Mechanochemical synthesis and structural characterization. *Materials Science and Engineering: B* 2020;262:1–18. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114719>.
- [38] Zhang W, Wei L. Harnessing strontium in regenerative dentistry: progress and perspectives. *Front Bioeng Biotechnol* 2025;13:1–16. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2025.1724610>.
- [39] Sun T, Ma D, Song Y, Hu J, Yang Z, Wang X, et al. Effects of 0.01 mM strontium on human periodontal ligament stem cell osteogenic

- differentiation via the Wnt/ β -catenin signaling pathway. *Journal of International Medical Research* 2025;53:1–16. <https://doi.org/10.1177/03000605251315024>.
- [40] Basheer N, Madhubala MM, Jayasree R, Mahalaxmi S, Sampath Kumar TS. Effect of Strontium Substituted Tetracalcium Phosphate Cement on Proliferation and Mineralization Potential in Human Dental Pulp Stem Cells. *Eur Endod J* 2021;6:295–302. <https://doi.org/10.14744/eej.2021.98704>.
 - [41] Liao B, Ding M, Wang Y, Xu H, Shangguan L. Strontium ion attenuates osteoarthritis through inhibiting senescence and enhancing autophagy in fibroblast-like synoviocytes. *Mol Biol Rep* 2023;50:1437–46. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-08112-7>.
 - [42] Harshini S, Shanmugam R, Govindharaj S. Green Synthesis of Mimosa pudica-Mediated Strontium Nanoparticles and its Anti-Inflammatory Activity. *J Pharm Bioallied Sci* 2024;16:S1335–9. https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_586_23.
 - [43] Yuliatun L, Kunarti ES, Widjijono W, Nuryono N. Enhancing Compressive Strength and Dentin Interaction of Mineral Trioxide Aggregate by Adding SrO and Hydroxyapatite. *Indonesian Journal of Chemistry* 2022;22:1651–62. <https://doi.org/10.22146/ijc.76231>.
 - [44] Yuliatun L, Lubis MAR, Kusala MKJ, Destiarti L, Betriani R, Budiarta J, et al. Radiographic, mechanical, and chemical properties of mineral trioxide aggregate from nanosilica and clam shell calcium carbonate. *Polyhedron* 2025;278. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2025.117590>.
 - [45] Kokubo T, Takadama H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials* 2006;27:2907–15. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>.
 - [46] Baino F, Yamaguchi S. The use of simulated body fluid (SBF) for assessing materials bioactivity in the context of tissue engineering: Review and challenges. *Biomimetics* 2020;5:1–19. <https://doi.org/10.3390/biomimetics5040057>.
 - [47] Zadpoor AA. Relationship between in vitro apatite-forming ability measured using simulated body fluid and in vivo bioactivity of biomaterials. *Materials Science and Engineering C* 2014;35:134–43. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.10.026>.
 - [48] Tas AC. The use of physiological solutions or media in calcium phosphate synthesis and processing. *Acta Biomater* 2014;10:1771–92. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.047>.

- [49] Álvarez-Vásquez JL, Castañeda-Alvarado CP. Dental Pulp Fibroblast: A Star Cell. *J Endod* 2022;48:1005–19. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2022.05.004>.
- [50] Torabi S, Oleimani S, Mahravani H, Ebrahimi MM, Shahsavandi S. Mouse Fibroblast L929 Cell Line as a Useful Tool for Replication and Adaptation of Infectious Bursal Disease Virus. *Arch Razi Inst* 2023;78:863–71. <https://doi.org/10.22092/ARI.2023.361584.2663>.
- [51] Samuel BJ, Jin Z, Brauer DS, Matziolis G, Horbert V. Evaluating cell viability assessment techniques: a comparative study of flow cytometry and fluorescence microscopy in response to bioactive glass exposure. *Biomed Eng Online* 2025;24. <https://doi.org/10.1186/s12938-025-01452-y>.
- [52] Kamiloglu S, Sari G, Ozdal T, Capanoglu E. Guidelines for cell viability assays. *Food Front* 2020;1:332–49. <https://doi.org/10.1002/fft2.44>.
- [53] Drescher H, Weiskirchen S, Weiskirchen R. Flow cytometry: A blessing and a curse. *Biomedicines* 2021;9:1–12. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9111613>.
- [54] McKinnon KM. Flow cytometry: An overview. *Curr Protoc Immunol* 2018;2018:5.1.1-5.1.11. <https://doi.org/10.1002/cpim.40>.
- [55] Astakhova EA, Gubaeva AS, Naumova DA, Egorova AE, Maznina AA, Rybkina IG, et al. Spectral Flow Cytometry: The Current State and Future of the Technology. *Int J Mol Sci* 2025;26. <https://doi.org/10.3390/ijms26125911>.
- [56] Sánchez-Torres LE, Espinosa-Bonilla A, Diosdado-Vargas F. Flow cytometry, a universe of possibilities in the veterinary field. Review. *Rev Mex Cienc Pecu* 2022;13:763–86. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v13i3.5985>.
- [57] Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and Chemical Properties of a New Root-End Filling Material. *J Endod* 1995;21:349–53. [https://doi.org/10.1016/S0099-2399\(06\)80967-2](https://doi.org/10.1016/S0099-2399(06)80967-2).
- [58] Fridland M, Rosado R, Eng C. MTA Solubility: A Long Term Study. *J Endod* 2005;31:376–9. <https://doi.org/10.1097/01.don.0000140566.97319.3e>.
- [59] Abigail Flores Ledesma, Federico H Barceló Santana, Lauro Bucio Galindo, Jesús Ángel Arenas Alatorre, José Luis Ruvalcaba Sil. Elemental chemical composition and phase analysis by means of PIXE, DSC, TGA, and DRX of MTA Angelus® and a white Portland cement.

- [60] Damián-Morales R, Fernando Jacinto-Alemán L, Portilla-Robertson J, Itzel Mendoza-Espinosa B, Tinajero-Morales C. Evaluación de la citotoxicidad de Biodentine, IRM y MTA en cultivos de fibroblastos del ligamento periodontal humano. *Revista ADM* 2019;76:72–6.
- [61] INTERNATIONAL STANDARD ISO 6876 Dental root canal sealing materials. 2001.
- [62] Vivan RR, Ordinola-Zapata R, Bramante CM, Bernardineli N, Garcia RB, Hungaro Duarte MA, et al. Evaluation of the radiopacity of some commercial and experimental root-end filling materials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 2009;108:35–8. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.07.037>.
- [63] International Organization for Standardization. ISO 23317. 2014. Implants for surgery-In vitro evaluation for apatite-forming ability of implant materials COPYRIGHT PROTECTED DOCUMENT. 2014.
- [64] Baino F, Yamaguchi S. The use of simulated body fluid (SBF) for assessing materials bioactivity in the context of tissue engineering: Review and challenges. *Biomimetics* 2020;5:1–19. <https://doi.org/10.3390/biomimetics5040057>.
- [65] Gündoğdu C, Akgül S. Radiopacity evaluation of different types of resin restorative materials using a digital radiography system. *Oral Radiol* 2023;39:646–53. <https://doi.org/10.1007/s11282-023-00679-6>.
- [66] Sen HG, Helvacioğlu-Yigit D, Yilmaz A. Radiopacity evaluation of calcium silicate cements. *BMC Oral Health* 2023;23. <https://doi.org/10.1186/s12903-023-03182-w>.
- [67] Flores-Ledesma A, Gutiérrez-Estrada K, Bucio-Galindo L. Estimación de la cantidad de trióxido de bismuto como agente radiopacificador en dos cementos minerales trióxido agregado mediante una prueba de radiopacidad. *Revista Odontológica Mexicana* 2019;23:139–48. <https://doi.org/10.22201/fo.1870199xp.2019.23.3.75622>.
- [68] Batista LCN, Crivelari JM, Pegoraro JV da C, Janini ACP, Marciano MA, Lopes CS, et al. Physicochemical evaluation of mineral trioxide aggregate and five mineral oxides calcium silicate-based cements. *BMC Oral Health* 2025;25:1–9. <https://doi.org/10.1186/s12903-025-06428-x>.
- [69] Fredholm YC, Karpukhina N, Brauer DS, Jones JR, Law R V., Hill RG. Influence of strontium for calcium substitution in bioactive glasses on

degradation, ion release and apatite formation. *J R Soc Interface* 2012;9:880–9. <https://doi.org/10.1098/rsif.2011.0387>.

- [70] Ziada S, Mabrouk NA, Benneji T, Sahtout S. Evaluation of pH Variation and the Release of Calcium Ions in three Endodontic Sealing Cements: BioRoot RCS, MTA Fillapex, and Acroseal. *Open Dent J* 2023;17:1–10. <https://doi.org/10.2174/0118742106257034231013044700>.
- [71] Camilleri J. Characterization of hydration products of mineral trioxide aggregate. *Int Endod J* 2008;41:408–17. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2007.01370.x>.
- [72] Liu M, He L, Wang H, Su W, Li H. Comparison of in vitro biocompatibility and antibacterial activity of two calcium silicate-based materials. *J Mater Sci Mater Med* 2021;32. <https://doi.org/10.1007/s10856-021-06523-9>.
- [73] Abigail Flores-Ledesma, Adriana Tejeda-Cruz, Lauro Bucio, Ana María Wintergerst, Jacqueline Adelina Rodríguez-Chávez, Yoshamin Abnoba Moreno-Vargas, et al. Hydration products and bioactivity of an experimental MTA-like cement modified with wollastonite and bioactive glass. *Ceram Int* 2020;46:15963–71. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.03.146>.
- [74] Alejandra Citlalli Rodríguez Rocha, Genoveva Hernández Padrón, Margarita V García Garduño, Raúl Luis García Aranda. Physicochemical analysis of MTA Angelus® and Biodentine® conducted with X ray diffraction, dispersive energy spectrometry, X ray fluorescence, scanning electron microscope and infra red spectroscopy. *Revista Odontológica Mexicana* 2015;19:170–6. <https://doi.org/10.1016/j.rod mex.2016.02.023>.
- [75] Islam I, Chng H, Yap A. X-ray diffraction analysis of mineral trioxide aggregate and Portland cement. *Int Endod J* 2006;39:220–5. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2006.01077.x>.
- [76] Jaberiansari Z, Naderi S, Tabatabaei S. Cytotoxic Effects of Various Mineral Trioxide Aggregate Formulations, Calcium-Enriched Mixture and a New Cement on Human Pulp Stem Cells. *IEJ Iranian Endodontic Journal* 2014;9:271–6.
- [77] Alves Côrtes J, Dornelas J, Duarte F, Messoria MR, Mourão CF, Alves G. The Effects of the Addition of Strontium on the Biological Response to Calcium Phosphate Biomaterials: A Systematic Review. *Applied Sciences* (Switzerland) 2024;14:1–26. <https://doi.org/10.3390/app14177566>.