



Revisión
Bibliográfica

Revisión de las diferentes metodologías *in vitro* para el estudio de adaptación de los materiales de obturación en endodoncia

Roc Vázquez C, Antoranz Pereda A, Pérez Alfayate R. Revisión de las diferentes metodologías *in vitro* para el estudio de adaptación de los materiales de obturación en Endodoncia. *Cient. Dent.* 2018; 15; 1; 69-74



Roc Vázquez, Clara
Graduada en Odontología, Universidad Europea de Madrid (UEM). Postgrado en Prótesis Bucofacial, Prótesis SA. Alumna del Máster en Estética y Rehabilitación Oral, Universidad Europea Miguel de Cervantes (UEMC).

Antoranz Pereda, Ana
Doctora en Odontología, Universidad Complutense de Madrid (UCM). Máster en Endodoncia (UCM). Profesora adjunta en la asignatura de "Odontología integrada de adultos" (UEM).

Pérez Alfayate, Ruth
Doctora en Odontología (UEM). Máster en Endodoncia (UEM). Profesora adjunta en la asignatura de "Odontología integrada de adultos" (UEM).

Indexada en / Indexed in:

- IME
- IBECs
- LATINDEX
- GOOGLE ACADÉMICO

Correspondencia:

Clara Roc Vázquez
C/ Alonso Cano 63 2b Izq.
28003-Madrid
Tel.: 617 451 865
clararocv@gmail.com

Fecha de recepción: 19 de diciembre de 2017.
Fecha de aceptación para su publicación:
14 de marzo de 2018.

RESUMEN

El éxito del tratamiento de endodoncia reside en una correcta limpieza y sellado tridimensional del sistema de conductos radiculares. En referencia al sellado, se han realizado numerosas investigaciones con el fin de encontrar el material ideal que evite la filtración tanto coronal como apical. Estos estudios *in vitro* se han llevado a cabo con una amplia gama de sistemas de medición, entre los que destacan los realizados con bacterias, glucosa, diferentes tintes o fluidos y técnicas microscópicas, ya sean ópticas o electrónicas de barrido (SEM).

El objetivo de esta revisión bibliográfica es profundizar en las distintas técnicas de estudio que existen para la evaluación del sellado endodóntico y la filtración *in vitro* para tratar de establecer cuál es la más completa y capaz de aportar los resultados más reales y factibles, que pudieran extrapolarse a la práctica clínica.

PALABRAS CLAVE

Filtración apical; Sellado apical; Tintes; SEM; Microscopía confocal.

REVIEW OF THE DIFFERENT *IN VITRO* METHODOLOGIES FOR THE STUDY OF ADAPTATION OF ENDODONTIC OBTURATION MATERIALS

ABSTRACT

Success of endodontic treatment relies on the correct cleaning as well as on the three dimensional sealing of the root canal system.

Regarding the sealing, many studies have been realized in order to find the ideal material that avoids coronal and apical filtration. This *in vitro* investigations have been carried out with a wide range of measurement systems, among the ones are highlightables those done with bacteria, glucose, different fluid dyes and microscopic techniques, either optical or electronic scanning.

The aim of this bibliographic review is to deep dive into the different techniques available for evaluating both *in vitro* sealing and filtration for try to stablish which is the most complete and accurate when providing results that might be extrapolated to clinical practice.

KEY WORDS

Root-end filtration; Apical sealing; Dyes; SEM; Confocal microscopy.

INTRODUCCIÓN

La endodoncia es el tratamiento odontológico que permite prolongar la continuidad del diente cuando la pulpa se encuentra dañada de forma irreversible, limpiando y sellando de manera tridimensional el sistema de conductos radiculares con un material biocompatible. Pero, la filtración debida a un sellado radicular incorrecto o bien a una desacertada reconstrucción coronal, es una de las principales causas de fracaso del tratamiento^{1,2}.

Hasta la fecha, se han diseñado numerosos estudios sobre dientes exodonciados con el fin de evaluar tanto la filtración coronal como la apical. Sin embargo, este tipo de investigaciones *in vitro*, presentan múltiples desventajas como: la imposibilidad de mantener el sellado en condiciones ideales a largo plazo, la falta de reproductibilidad, tamaño muestral limitado o reducido, además de la falta de estandarización y de correlación entre los diferentes modelos³⁻⁵. Como consecuencia de estas limitaciones, en la actualidad, las experimentaciones de filtración coronal y/o apical presentan relevancia clínica comprometida.

Por ello, es apropiado revisar cómo evalúan la filtración de los materiales las metodologías tradicionales, para así poder valorar los resultados clínicos obtenidos para cada material⁶.

MÉTODOS DE FILTRACIÓN *IN VITRO*

1.- Estudios con bacterias

Tienen como objetivo la simulación del efecto de bacterias y subproductos de su metabolismo a consecuencia de: filtración coronal, espacios en conductos no instrumentados, pérdida de la restauración oclusal o lesiones periradiculares^{7,8}.

Este modelo tiene como inconveniente la falta de control apropiado en el que se engloba: la filtración entre el cemento radicular y el revestimiento de cera, que hace las veces de ligamento periodontal en los estudios *in vitro*; la posible contaminación de las muestras⁹ y la no distinción entre el sellado de la obturación y los efectos antimicrobianos del material¹⁰. Además, un estudio elaborado por Brosco y cols¹, observó que, tras 120 días testeando el ingreso de *Enterococcus Faecalis* (bacteria frecuentemente hallada en casos de fracaso endodóntico), el medio presentaba ausencia de turbidez. Pero, tras un análisis histopatológico de la muestra, se encontró una alta concentración bacteriana. Por tanto, este modelo necesita apoyarse, además, en las pruebas histológicas para así evitar resultados erróneos.

2.- Estudios con glucosa

Cuantifican la cantidad de glucosa que penetra forzada por presión hidrostática desde coronal y tiene como fin medir la disponibilidad de nutrientes para las bacterias. Sin embargo, se ha demostrado que la glucosa reacciona con algunos cementos selladores, por lo que la validez de estos estudios se ve claramente mermada¹¹.

3.- Estudios con tintes

Es el método más empleado para la evaluación de la adaptación entre materiales de sellado y dentina dado que son muy fáciles de llevar a cabo y no requieren materiales sofisticados¹²⁻¹⁹. Los tintes más empleados son la tinta china, el azul de metileno y rodamina B^{18,20}.

La técnica consiste en humedecer el ápice del diente en un tinte que va a penetrar por capilaridad, a través de cualquier gap o espacio existente entre las paredes dentinarias y el material de relleno¹⁵. Posteriormente, la raíz se segmenta longitudinal o transversalmente obteniendo dos fragmentos donde se va a medir el colorante penetrado en los espacios de forma semicuantitativa y siempre sobre un único plano^{13,15,18,19}.

Existen varios sistemas para medir el colorante, como la diafanización o la disolución del diente en ácido. Se busca que se libere todo el tinte de la interfaz y estudiar la densidad óptica de la solución empleando un espectrofotómetro^{15,16,18}.

A pesar de ser la técnica más extendida, presenta una serie de limitaciones en relación al método y a los propios tintes, como:

1. Seccionar los dientes hace que el propio corte elimine parte del colorante.
2. La desinfección previa del diente con hipoclorito de sodio puede hacer que interaccione el tinte con el desinfectante alterando los resultados de filtración.
3. La presencia de burbujas intraconducto ocasionarán que el tinte se detenga. Debido a ello, se han introducido en la metodología sistemas de presión y máquinas centrifugadoras.
4. Las muestras solo pueden estudiarse una vez, lo que imposibilita realizar estudios reproducibles y comparables¹⁶.

Con respecto a los tintes, se ha observado que la filtración depende, principalmente del grosor de las partículas que los componen, ya que el tamaño difiere para cada uno de los colorantes disponibles. El azul de metileno es quien posee mayor capacidad de penetración debido al menor tamaño de sus partículas en comparación con el resto de tintes disponibles¹⁸.

4.- Estudios con fluidos

Aportan información tanto cuantitativa como cualitativa en la capacidad de sellado de los materiales. Permiten observar el movimiento de las burbujas de aire entre el material y el diente a través de una micropipeta y, calcular así, el porcentaje de muestras en las que se encuentra filtración de fluidos y, como consecuencia, el porcentaje de muestra en la que hay espacios^{14,21-24}.

Aunque existen similitudes con los estudios de filtración de tintes, los fluidos presentan una serie de ventajas que los diferencian:

1. Las muestras no se destruyen, de forma que pueden evaluarse los gaps en diferentes intervalos de tiempo e

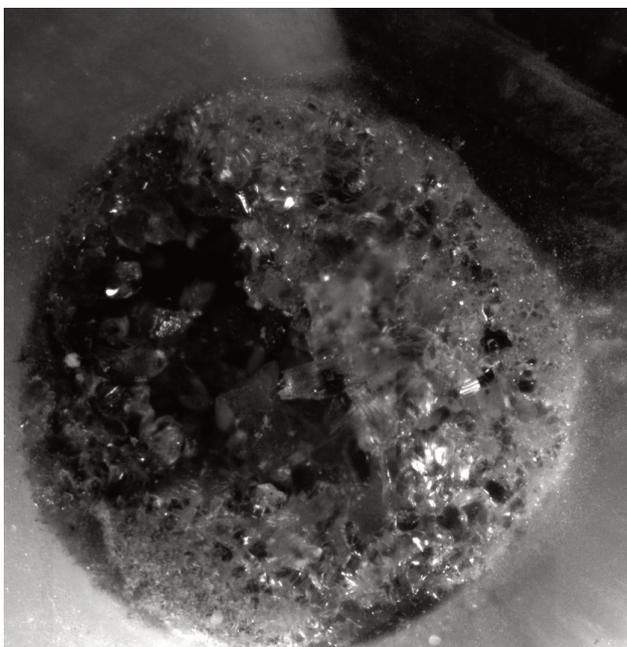


Figura 1. Imagen de microscopía óptica cedida por la Dra. Antoranz Pereda.

incluso usar otros métodos de análisis de sellado en la misma muestra^{14,21,23,25}.

2. Evita los problemas causados por el atrapamiento de aire o fluidos²⁶. Cuanta más presión se utilice, menos errores generados por burbujas de aire habrá¹³.

Sin embargo, presenta una serie de desventajas que hay que tener en cuenta²⁵:

1. Permite calcular el diámetro de los espacios existentes, pero no la longitud de los gaps.
2. El método lleva mucho tiempo, es una técnica muy sensible, y, si no se automatiza, la precisión de las medidas depende de la precisión del ojo humano.
3. Se ve directamente condicionado por el grosor del material a estudiar y el pH ambiental²⁷.

5.- Microscopios

La microscopía se basa en la utilización de instrumentos que permiten observar objetos y pequeñas estructuras, por lo que se consideran aptos para el estudio de la adaptación entre el material de obturación y la dentina.

Encontramos dos tipos:

1. Microscopio óptico:

Tiene como principal ventaja su fácil manejo y calibrado y, sobre todo, que las muestras no requieren un tratamiento previo. Las imágenes obtenidas por esta técnica reproducen fielmente la superficie de las muestras (Figura 1). Los aumentos a los que se puede trabajar con microscopía óptica varían entre x3,5-x100.

Dentro de ellos, existe la variante denominada confocal (Figuras 2- 4), que permite realizar cortes ópticos finos de la muestra y, posteriormente reconstrucciones en 3D.

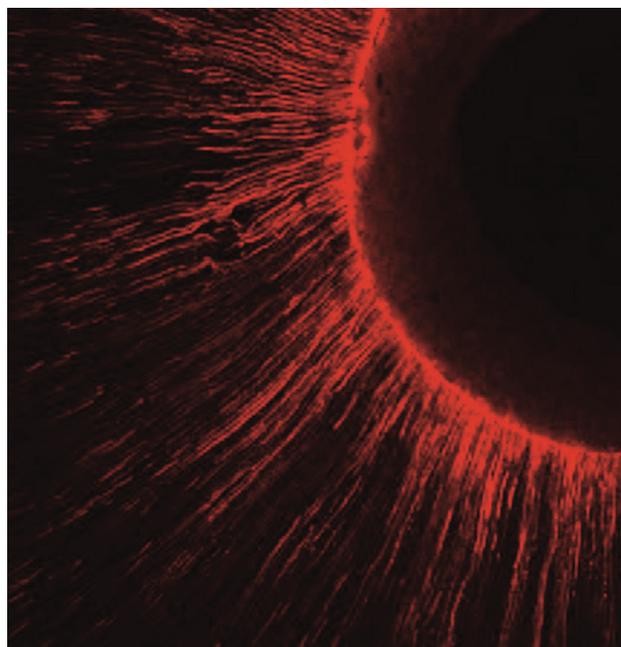


Figura 2. Imagen de microscopía confocal cedida por la Dra. Pérez Alfayate.

Las principales ventajas que ofrece el microscopio confocal son: poca preparación y no desecación de las muestras, obtención de imágenes con gran resolución y el hecho de que la visión de las muestras es directa^{27,28}.

Además, la microscopía confocal permite la opción de poder añadir un tinte fluorescente (fluoroforos o fluorocromos) que facilite el estudio de la adaptación entre el diente y el material de obturación²⁹. Esta técnica fue descrita por primera vez por Watson y Boyde²⁹ y se propuso la Rodamina B como fluorocromo a emplear.

Estos primeros autores propugnaban el uso de tintes fluorescentes mezclados con componentes de sistemas adhesivos para realzar la interfase de adhesión. Desde entonces, son muchos los estudios en los que se ha utilizado esta técnica³⁰⁻³² pero con una amplia variedad de metodologías, que imposibilitan la comparación entre las investigaciones.

2. Microscopio electrónico de barrido (SEM):

El SEM se puede emplear para el estudio de la capacidad de sellado entre la dentina y los materiales endodónticos, gracias a la magnificación y resolución a las que trabaja^{27,28,33}. Por ello, las imágenes que se obtienen con el SEM son consideradas de gran calidad (Figura 5).

Las principales desventajas del SEM se describirán a continuación. Por una parte, las imágenes que se obtienen muestran superficies planas que no permiten ser reconstruidas en tres dimensiones^{27,33}.

Sin embargo, a día de hoy, la que se considera principal desventaja del SEM es que, en el interior de la cámara de muestras, se somete a éstas a alto vacío pudiendo generar artefactos, como cracks en los tejidos duros,

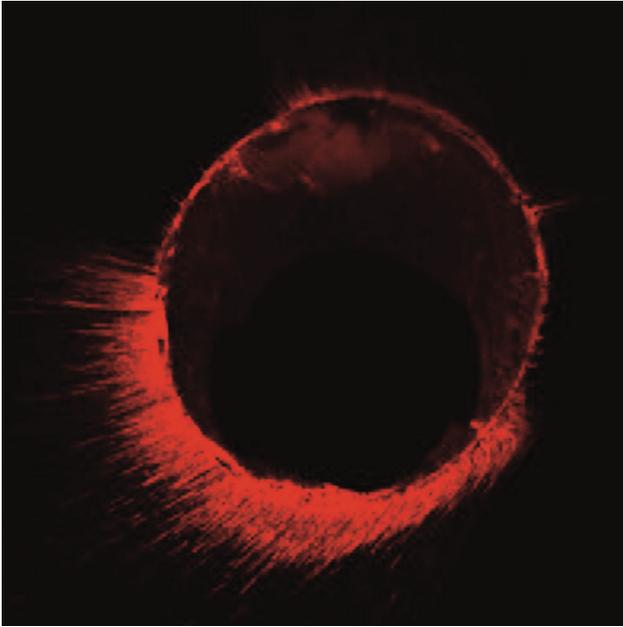


Figura 3. Imagen de microscopía confocal cedida por la Dra. Pérez Alfayate.

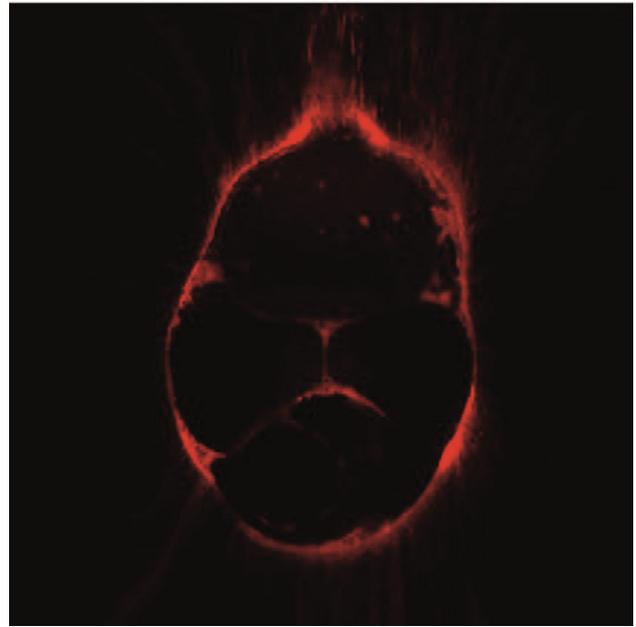


Figura 4. Imagen de microscopía confocal cedida por la Dra. Pérez Alfayate.



Figura 5. Imagen de microscopía electrónica (SEM) cedida por la Dra. Antoranz Pereda.

deshidratación y contracción y/o expansión tanto en los dientes como en los materiales a estudiar^{27,28,33}.

Incluso, el vacío podría ocasionar separación entre el diente y el material de restauración, falseando los resultados de adaptación^{27,28,33}. Esta situación adversa puede evitarse utilizando réplicas, que consisten en una impresión de la superficie a estudiar con un material plástico, que luego podría vaciarse en resina^{27,28,33}.

Sin embargo, el uso de réplicas no está exento de posibles limitaciones, pues es necesario que la impresión sea correcta, sin presencia de burbujas, que la resina polimerice bien y que la réplica no se fracture antes de poder ser estudiadas con el SEM²⁸.

Dentro de los SEM, existe la variedad ambiental (environmental SEM o ESEM). Éstos permiten el estudio de las muestras estando hidratadas, ya que emplean diferentes modos de va-

TABLA. PRINCIPALES DIFERENCIAS ENTRE MICROSCOPIO ÓPTICO Y SEM³⁵.

CARACTERÍSTICAS	MICROSCOPIO ÓPTICO	SEM
Iluminación de la muestra	Haz de luz	Haz de electrones
Lentes	Vidrio	Bobinas magnéticas
Observación	Lente ocular (o pantalla, si se acopla una cámara CCD)	Pantalla
Aumentos	1.000	100.000
Poder de resolución	200 nm	3,5 a 5 nm

cío^{19,23}. En caso de emplear bajo vacío, se limitará la resolución a utilizar para estudiar las muestras^{33,34}. La gran ventaja de esta variedad de SEM es que no es necesario pretratar las muestras (fijado, secado y metalizado) y, por tanto, no hará falta confeccionar réplicas^{33,34}.

Las principales diferencias entre los microscopios ópticos y SEM son el mayor poder de resolución y mayor profundidad de campo por parte de SEM³⁵. En la Tabla se resumen las principales diferencias entre ambos tipos de microscopía.

Para poder adquirir digitalmente las imágenes observadas con los microscopios, el SEM estará conectado a un ordenador y el microscopio óptico lo estará a una cámara digital que, a su vez, se conectará a un ordenador.

PROBLEMÁTICA ACTUAL DE LOS ESTUDIOS DE FILTRACIÓN *IN VITRO*

En la actualidad, aunque los modelos de filtración *in vitro* se han utilizado por los fabricantes para realizar los primeros screening de nuevos materiales y técnicas para la obturación

de los conductos radiculares y para justificar su superioridad para su aplicación clínica, pero tienen una relevancia clínica limitada, basada sobre todo en:

1. Falta de correlación entre los resultados *in vivo* e *in vitro*

El Dr. Thomas Pitt Ford fue uno de los primeros, en 1983, en alertar que el valor que se le ha dado a los modelos de filtración *in vitro* se ha sobrestimado tras no encontrar una correlación entre la filtración apical de dientes con conductos obturados e inmersos en eosina y la respuesta tisular de raíces de dientes de perro obturados con el mismo material³⁶.

2. Falta de metodología común y apropiada para los estudios *in vitro*

De la misma manera, Oliver y Abott observaron que el éxito del tratamiento no dependía del resultado obtenido de la filtración apical, pues no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los dientes evaluados que presentaban fracaso del tratamiento y los que no³⁷. En este estudio se advirtió una filtración de la tinta del 99,5% de las muestras observadas bajo el efecto de vacío. Los autores concluyeron que la presencia de tinta en el conducto es un indicador pobre de si el material o la técnica de obturación serían la clave en el éxito del tratamiento.

3. Falta de control en el tamaño muestral de las investigaciones

Muchos de los estudios coinciden en que es importante tener una muestra amplia para hacer que los resultados de una investigación sean fiables. De los 39 artículos empleados para esta revisión, 26 analizaban muestras, de los cuales sólo 5 tuvieron más de 100 piezas. El que más dientes analizó el ensayo llevado a cabo por Sjögren con un total de 635 muestras².

Estas tres circunstancias han generado gran discrepancia entre los estudios realizados con filtración con tintes³⁹. Debido a ello, el Journal of Endodontics (2007) y más tarde, el International Endodontic Journal²³, han establecido un posicionamiento sobre este tipo de investigaciones, no aceptando estudios futuros que hagan comparaciones de materiales de obturación utilizando únicamente estos modelos *in vitro* de filtración.

CONCLUSIONES

1. A día de hoy, no existe una técnica ideal de evaluación de filtración *in vitro*.
2. Cada método tiene sus ventajas e inconvenientes, por lo que sería necesario encontrar la técnica ideal capaz de aunar las distintas técnicas.



BIBLIOGRAFÍA

1. Brosco VH, Bernardineli N, Torres SA, Consolaro A, Bramante CM, De Moraes y cols. Bacterial leakage in obturated root canals – part 2: a comparative histologic and microbiologic analyses. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 788-794.
2. Sjögren U, Häggglund B, Sundqvist G, Wing K. Factors affecting the long-term results of endodontic treatment. *J Endod* 1990; 10: 498-504.
3. Schuur A, Wu M-K, Wesselink PR, Duivenvoorden HJ. Endodontic leakage studies reconsidered. Part II. Statistical aspects. *Int Endod J* 1993; 26: 44-52.
4. Al-Ghamdi A, Wennberg A. Testing of sealing ability of endodontic filling materials. *Endod Dent Traumatol* 1994; 10: 249-255.
5. Lucena C, López JM, Pulgar R, Abalos C, Valderrama MJ. Potential errors and misuse of statistics in studies on leakage in endodontics. *Int Endod J* 2012; 46: 323-331.
6. Li GH, Niu LN, Zhang W, Olsen M, De-Deus G, Eid AA y cols. Ability of new obturation materials to improve the seal of the root canal system: a review *Acta Biomater* 2014; 10: 1050-63.
7. Montellano A, Schwart S, Beeson T. Contamination of tooth-colored mineral trioxide aggregate used as a root-end filling material: a bacterial leakage study. *J Endod* 2006; 32: 452-455.
8. Saghir MA, Lofti M, Saghir AM, Vosoughhosseini S, Fatemi A, Shiezadeh V, Ranjesh B. Effect of pH on sealing ability of White mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 2008; 34: 1226-1229.
9. Scheerer S, Steiman R, Cohen J A comparative evaluation of three root-end filling materials: an *in vitro* leakage study using *Prevotella nigrescens*. *J Endod* 2001; 27: 40-42.
10. Heyder M, Kranz S, Völpel A, Pfister W, Watts DC, Jandt KD, Sigusch BW. Antibacterial effect of different root canal sealers on three bacterial species. *Dent Mater* 2013; 29: 542-549.
11. Shemesh H, Souza EM, Wu M-K, Wesselink PR. Glucose reactivity with filling materials as a limitation for using the glucose leakage model. *Int Endod J* 2008; 41: 869-872.
12. Torabinejad M, Watson TF, Ford TR. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *J Endod* 1993; 19: 591-595.
13. Bates C, Carnes D, del Río C. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root-end filling material. *J Endod* 1996; 22: 575-578.
14. Wu M-K, Kontakiotis E, Wesselink P. Long term seal provided by some root-end filling materials. *J Endod* 1998; 24: 557-560.
15. Camps J, Pashley D. Reliability of the dye penetration studies. *J Am Dent Assoc* 2003; 29: 592-594.
16. Hamad H, Tordik P, McClanahan S. Furcation perforation repair comparing gray and White MTA: a dye extraction study. *J Endod* 2006; 32: 337-340.
17. Hashem A, Hassanien E. Proroot MTA, MTA-Angelus and IRM used to repair large furcation perforations: sealability study. *J Endod* 2008; 34: 59-61.
18. Tabares P, García E. Análisis de los métodos de filtración. *Cient Dent* 2008; 6: 21-28.
19. Rekab MS, Ayoubi R. Evaluation of the apical sealability of mineral trioxide aggregate and portland cement as root canal filling cements: an *in vitro* study. *J Dent (Tehran)* 2010; 7: 205-13.
20. Camilleri J. Evaluation of the effect of intrinsic material properties and ambient conditions on the dimensional stability of White mineral trioxide aggregate and portland cement. *J Endod* 2011; 37: 239-245.
21. Hardy I, Liewehr F, Joyce A, Agee K, Pashley DH. Sealing ability of one-up bond and MTA with and without a secondary seal as furcation perforation repair materials. *J Endod* 2004; 30: 658-661.
22. Santos AD, Moraes JCS, Araújo EB, Yukimitu K, Valério Filho WV. Physico-chemical properties of MTA and a novel experimental cement. *Int Endod J* 2005; 38: 443-7.
23. De-Deus G, Reis C, Brandao C, Fidel S, Fidel RA. The ability of Portland cement, MTA, and MTA bio to prevent through-and-through fluid movement in repaired furcal perforations. *J Endod* 2007; 33: 1374-77.
24. Gandolfi M, Sauro S, Mannocci F, Watson T, Zanna S, Capoferri M, Prati C, Mongiorgi R. New tetrasilicate cements as retrograde filling material: an *in vitro* study on fluid penetration. *J Endod* 2007; 33: 742-45.
25. De Brunyne MAA, Rosiers L, De Moor R.J. Longitudinal study on microleakage of three root-end filling materials by the fluid transport method and by capillary flow porometry. *Int Endod J* 2005; 38: 129-136.
26. Gondim E Jr, Kim S, Souza-Filho FJ. An investigation of microleakage from root-end fillings in ultrasonic retrograde cavities with or without finishing: a quantitative analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: 755-760.
27. Torabinejad M, Parirokh M. Mineral trioxide aggregate: A comprehensive literature review- Part II: leakage and biocompatibility investigations. *J Endod* 2010; 36:190-202.
28. Camilleri J, Pitt Ford TR. Evaluation of the effect of tracer pH on the sealing ability of glass ionomer cement and mineral trioxide aggregate. *J Mater Sci* 2008; 19: 2941-48.
29. Watson TF. Fact and artefact in confocal microscopy. *Adv Dent Res* 1997; 11: 433-441.
30. Schüpbach P, Krejci I, Félix L. Dentin bonding: effect of tubule orientation on hybrid-layer formation. *Eur J Oral Sci* 1997; 105: 344-352.
31. Griffiths BM, Watson TF, Sherriff M. The influence of dentine bonding systems and their handling characteristics in the morphology and microporosity of the dentine adhesive interface. *J Dent* 1999; 27: 63-71.
32. Pioch T, Stotz S, Staehle HJ, Duschner H. Applications of confocal laser scanning microscopy to dental bonding. *Adv Dent Res* 1997; 11: 453-461.
33. Shipper G, Grossman ES, Both AJ, Cleaton-Jones PE. Marginal adaptation of mineral trioxide aggregate (MTA) compared with amalgam as a root-end filling material: a low-vacuum (LV) versus high-vacuum (HV) SEM study. *Int Endod J* 2004; 37: 325-36.
34. Gundam S, Patil J, Venigalla BS, Yadana-parti S, Maddu R, Gurram SR. Comparison of marginal adaptation of trioxide aggregate, glass ionomer cement and immediate restorative material as root-end filling materials, using scanning electron microscope: an *in vitro* study. *J Conserv Dent* 2014; 17: 566-70.
35. Martín Fernández S. Cómo funciona el microscopio electrónico. *100cias UNED* 2006; 9: 151-5.
36. Pitt Ford TR. Relation between seal of root fillings and tissue response. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1983; 55: 291-4.
37. Oliver CM, Abbott PV. Correlation between clinical success and apical dye penetration. *Int Endod J* 2001; 34: 637-44.
38. Souza EM, Pappen FG, Shemesh H, Bonanato-Estrela C, Bonetti-Filho I. Reliability of assessing dye penetration along root canal fillings using methylene blue. *Aust Endod J* 2009; 35: 158-63.
39. Shanahan D.J, Duncan H.F. Root canal filling using resilon: a review. *Br Dent J* 2011; 211: 81-8.