

0066  
**DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE IL- 6 E IL- 8 EN PULPAS  
DENTALES DESPUES DE UTILIZAR IONOMERO DE VIDRIO COMO BASE  
INTERMEDIA**

**Johana Carolina Coral  
Joyce Adriana Cortes  
Diana Roció Enciso Veloza  
Martha Isabel Gómez  
Julio Roberto Mejía Valdivieso  
María del Mar Polanco  
Victoria Eugenia Ruiz**

**INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
AREA DE EDUCACION AVANZADA Y CONTINUADA  
POSTGRADO DE ENDODONCIA  
BOGOTA D.C.  
2008**

**DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE IL- 6 E IL- 8 EN PULPAS  
DENTALES DESPUES DE UTILIZAR IONOMERO DE VIDRIO COMO BASE  
INTERMEDIA**

**Johana Carolina Coral  
Joyce Adriana Cortes  
Diana Roció Enciso Veloza  
Martha Isabel Gómez  
Julio Roberto Mejía Valdivieso  
María del Mar Polanco  
Victoria Eugenia Ruiz**

**ASESOR CIENTIFICO  
Dr. Víctor Javier Chamorro Micolta Od.  
Especialista en Endodoncia**

**ASESORA METODOLOGICA  
Dra. Claudia Hurtado Arango Od.  
Especialista en Seguridad Social en Salud**

**ASESORA ESTADISTICA  
Dra. Clara López de Meza  
Estadística**

**INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
AREA DE EDUCACION AVANZADA Y CONTINUADA  
POSTGRADO DE ENDODONCIA  
BOGOTA D.C.  
2008**

**DETERMINACION DE LA PRESENCIA DE IL- 6 E IL- 8 EN PULPAS DENTALES  
DESPUES DE UTILIZAR IONOMERO DE VIDRIO COMO BASE INTERMEDIA**

**Johana Carolina Coral  
Joyce Adriana Cortes  
Diana Roció Enciso Veloza  
Martha Isabel Gómez  
Julio Roberto Mejía Valdivieso  
María del Mar Polanco  
Victoria Eugenia Ruiz**

**Trabajo de grado para optar titulo de Endodoncista**

**ASESOR CIENTIFICO  
Dr. Víctor Javier Chamorro Micolta Od.  
Especialista en Endodoncia**

**ASESORA METODOLOGICA  
Dra. Claudia Hurtado Arango Od.  
Especialista en Seguridad Social en Salud**

**ASESORA ESTADISTICA  
Dra. Clara López de Meza  
Estadística**

**INSTITUCION UNIVERSITARIA COLEGIOS DE COLOMBIA  
AREA DE EDUCACION AVANZADA Y CONTINUADA  
POSTGRADO DE ENDODONCIA  
BOGOTA D.C.  
2008**

## **TABLA DE CONTENIDO**

|                                         | <b>PAGINA</b> |
|-----------------------------------------|---------------|
| <b>INTRODUCCION</b>                     |               |
| <b>I. ASPECTOS TEORICOS CIENTIFICOS</b> | <b>9</b>      |
| 1.1 PROBLEMA                            | 9             |
| 1.2 JUSTIFICACION                       | 9             |
| 1.3 PROPOSITO                           | 9             |
| 1.4 MARCO TEORICO                       | 10            |
| 1.5 OBJETIVOS                           | 22            |
| 1.5.1 Objetivo General                  | 22            |
| 1.6 HIPOTESIS                           | 22            |
| 1.6.1 Hipotesis Nula                    | 22            |
| 1.6.2 Hipotesis Alternativa             | 22            |
| <b>II. ASPECTOS METODOLOGICOS</b>       | <b>23</b>     |
| 2.1 TIPO DE ESTUDIO                     | 23            |
| 2.2 POBLACION DE ESTUDIO                | 23            |
| 2.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN              | 23            |
| 2.3.1 Criterios de Inclusión            | 23            |
| 2.3.2 Criterios de Exclusión            | 23            |
| 2.4 MUESTRA                             | 24            |
| 2.5 VARIABLES DE INTERES                | 24            |
| 2.6 MATERIALES Y METODOS                | 25            |
| 2.7 PROCEDIMIENTO                       | 28            |
| 2.8 INSTRUMENTO DE RECOLECCION DE DATOS | 29            |

|                     |    |
|---------------------|----|
| III. RESULTADO      | 30 |
| IV. DISCUSION       | 36 |
| V. CONCLUSIONES     | 38 |
| VI. RECOMENDACIONES | 39 |
| ANEXO               | 40 |
| REFERENCIAS         | 42 |

## INTRODUCCION

La pulpa dental es un tejido único que presenta células altamente especializadas que incluyen odontoblastos, fibroblastos, células presentadoras de antígenos, fibras de tejido conectivo y células del sistema inmune<sup>1</sup>. La pulpa contiene todos los componentes para producir una respuesta de defensa a diferentes estímulos, incluyendo la inflamación pulpar<sup>2</sup>. La respuesta se caracteriza por la acumulación de células como macrófagos y leucocitos polimorfos nucleares, las cuales liberan sustancias mediadoras que inducen una respuesta inflamatoria aguda en el diente.<sup>3</sup>

Durante los procesos de infección, inflamación y cicatrización la prostaglandina E2 (PGE2) es uno de los mediadores que se liberan a nivel celular de la pulpa, participando en el incremento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis y dolor.<sup>4</sup> La formación de PGs a partir del ácido araquidónico es catalizado por las ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2). Se ha observado que en tejido pulpar inflamado los fibroblastos y macrófagos expresan proteínas de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) responsable de la producción de PGE2., adicionalmente la COX-2 es estimulada por sustancias como las citoquinas pro inflamatorias.<sup>5</sup>

Es conocido que la reacción biológica normal de la pulpa dental ante una injuria genera inflamación además de la liberación de sustancias celulares induciendo una respuesta de defensa,<sup>6</sup> Dentro de estas sustancias se encuentra la IL-6 que es una citoquina con actividad pleiotropica que puede ser producida por diferentes células como son: Linfocitos T, linfocitos B, monocitos, macrófagos, fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales y osteoblastos. La función principal de la IL-6 es la regulación de la respuesta inmune induciendo la diferenciación de las células

En células productoras de plasma y anticuerpos, además de activar células T las cuales expresan el receptor de IL-2 en la superficie celular, induciendo hematopoyesis y la subsiguiente leucocitosis; sin embargo, estas reacciones pueden salirse de control durante los procesos de inflamación y por consiguiente ocasionar la destrucción del tejido; de otra parte, en la pulpa humana inflamada se producen altos niveles de IL-6, comparados con pulpas sanas.<sup>7</sup>

La IL-8 es otra citoquina que está considerada como factor quimiotáctico para Neutrófilos humanos; células como monocitos y macrófagos la secretan en respuesta de agentes pro-inflamatorios, en vista de esto, un incremento en su producción es observado en pulpitis irreversible y muy poca cantidad se encuentra presente en pulpas normales.<sup>4</sup>

En la actualidad el propósito de la odontología es solucionar los diferentes tipos de problemas de origen patógeno, en los cuales, es necesario realizar múltiples tratamientos restaurativos, siendo importante considerar que estos tratamientos provocan una respuesta inflamatoria, por lo cual, se han mencionado las bases intermedias como agentes protectores de la pulpa dental ante una injuria.<sup>8</sup>

El grosor del remanente dentinal (RDT) bajo preparaciones cavitarias ha sido materia de debate en cuanto a modificar la respuesta pulpar ante el uso de materiales dentales, al respecto, Pameijer y col. en 1991 reportaron que el RDT de 1mm o más puede ser suficiente para proteger los tejidos pulpares de los efectos citotóxicos como Ionómero de Vidrio con resina modificada. Stanley en 1994 sugirió que el RDT de 2mm protege la pulpa de injurias causadas por procedimientos y materiales restaurativos.<sup>10</sup>

Dentro de estos materiales, el Ionómero de vidrio se asocia a una irritación pulpar o posible necrosis pulpar debido a la reacción ácido base que se produce durante los primeros 10 minutos<sup>11, 12</sup>

Los cementos de Ionómero de vidrio y resina modificada (RMGICs) son materiales híbridos los cuales presentan una reacción ácido base y además presentan polimerización a través de radicales libres ya que contiene grupos de metacrilato polimerizable.<sup>13</sup> Pueden presentar variaciones en su composición por su diferencia comercial, encontrando Ionómeros de vidrio con fluoro aluminio silicato y solución acuosa de un co-polímero de acrílico y ácido maleico, 2-hidroxi-etil metacrilato (HEMA), agua y activadores. Algunos RMGICs presentan su composición libre de HEMA, y al utilizar el ácido amino amifílico en lugar de HEMA se observa mayor biocompatibilidad con los tejidos dentales.<sup>13</sup>

Finalmente, la actividad inflamatoria de la pulpa dental y la respuesta a la colocación de cementos como ionómero de vidrio dependerá de la preparación cavitaria y de las variables en la restauración realizada en presencia o ausencia de bacterias.<sup>14</sup>

Con base a lo anterior, el objetivo de esta investigación, es determinar la presencia de citoquinas pro-inflamatorias IL-6 e IL-8, en pulpas de dientes humanos posterior a la utilización del ionómero de vidrio como base intermedia.

La hipótesis nula del estudio es que no existen diferencias estadísticamente significativas en el aumento en la expresión de citoquinas en el tejido pulpar de dientes humanos utilizando ionómero de vidrio como base intermedia.

## **I. ASPECTOS TEORICOS CIENTIFICOS.**

### **1.1 PROBLEMA**

El proceso de Inflamación Pulpar ante una injuria es un mecanismo de defensa que presenta a las citoquinas como sustancias que regulan este proceso.

Diferentes materiales odontológicos causan inflamación a nivel pulpar, por esta razón surge el siguiente problema

¿Es la colocación del Ionómero de vidrio como base intermedia la causa de una respuesta inflamatoria que nos genere en pulpitis Irreversible o necrosis pulpar?

### **1.2 JUSTIFICACIÓN**

Uno de los objetivos de la Odontología es mantener la vitalidad del tejido pulpar.

El Ionómero de vidrio es un material utilizado rutinariamente en la práctica clínica como base intermedia el presente estudio proporciona elementos científicos que permitirá el uso de forma más segura de este tipo de materiales.

### **1.3 PROPOSITO**

Determinar la presencia de la IL-6 e IL-8 producidas en pulpas dentales humanas utilizando Ionómero de vidrio como base intermedia en cavidades clase V.

## **1.4 MARCO TEORICO**

La pulpa dental es un tejido único que presenta células altamente especializadas como odontoblastos, fibroblastos, células presentadoras de antígenos, fibras de tejido conectivo y células inmunes. (Digka A 2006)

Situada en el interior de un entorno rígido de dentina mineralizada, innervada e irrigada densamente, tiene todos los componentes para producir una respuesta de defensa a diferentes estímulos, incluyendo la inflamación pulpar. (Seltzer.2002)

Presentando una respuesta caracterizada por la acumulación de células como macrófagos y leucocitos polimorfos nucleares, las cuales liberan sustancias mediadoras que inducen una respuesta inflamatoria aguda en el diente. (Min K 2006)

La inflamación pulpar es un proceso complejo con amplia variedad de reacciones vasculares, claves de un fenómeno neurogénico que conlleva a la necrosis pulpar; adicionalmente, este proceso es un evento crítico debido al medio que rodea la pulpa, el cual le confiere una baja adaptabilidad, al limitar su habilidad para aumentar el volumen en episodios de vasodilatación y aumento de permeabilidad vascular, donde la regulación del flujo sanguíneo es importante. ( Seltzer.2002, Kim.1990)

En la pulpa dental los Irritantes microbiales, químicos y mecánicos pueden producir respuestas de dolor e inflamación. Inicialmente células inflamatorias

como: leucocitos, linfocitos y macrófagos se infiltran en la pulpa, afectando la cicatrización de la misma, el estado final dependerá de las células pulpares y su habilidad para proliferar y migrar hacia la superficie injuriada para secretar proteínas de matriz dentinal induciendo una proliferación de fibroblastos y odontoblastos formando nueva dentina. (Chang M 2006)

Durante los procesos de infección, inflamación y cicatrización la prostaglandina E2 (PGE2) es uno de los mecanismos que regulan la función celular de la pulpa, participando en el incremento de la permeabilidad vascular, quimiotaxis y dolor. (Issett J, 2003)

La formación de PGs a partir del ácido araquidónico es catalizado por las ciclooxygenasas (COX-1 y COX-2). Se ha observado que en tejido pulpar inflamado, fibroblastos y macrófagos expresan proteínas de la ciclooxygenasa-2 (COX-2) responsable de la producción de PGE2 y de igual forma la COX-2 es estimulada por sustancias llamadas citoquinas pro inflamatorias. (Chang M 2006, Chang Yu 2003)

La reacción biológica normal de la pulpa dental ante una injuria es inflamación y liberación de sustancias celulares induciendo a una respuesta de defensa. Las citoquinas son proteínas intercelulares reguladoras que median en funciones biológicas inmunológicas y no inmunológicas (Abbas 2005, Pezelj-Ribaric, 2002)

Se producen en respuesta a microorganismos y otros antígenos, mediando y regulando las reacciones inmunitarias e inflamatorias de las células; Son

sintetizadas por linfocitos, monocitos y diferentes células tisulares, tales como células endoteliales y epiteliales, dentro de la población de linfocitos son predominantes en tejido pulpar inflamado las células T y responsables de la activación de leucocitos específicos por medio de Quimiocinas es decir citoquinas quimiotácticas. Debido a que muchas citoquinas son producidas por los leucocitos y cuando actúan sobre ellos reciben el nombre de interleuquinas (IL). El término de interleuquinas es usado para describir a una citoquina responsable de la comunicación intercelular. (Abbas 2005, Rauscherberg C 1997, Nakanishi T 2005)

La secreción de las citoquinas es un acontecimiento breve y autolimitado, no se almacenan como moléculas preformadas, su síntesis mediante una nueva transcripción génica es resultado de una transcripción celular. (Abbas 2005)

Las acciones de las citoquinas son pleiotrópicas y redundantes, es decir la capacidad de una citoquina de actuar en diferentes tipos de células (pleiotropismo). La redundancia es la capacidad de varias citoquinas de tener los mismos efectos funcionales, por lo cual la inhibición de un gen de ellas puede no tener consecuencia funcional ya que otra citoquina puede compensar su función.

La acción de las citoquinas pueden ser locales y sistémicas. La mayoría actúa por acción **autocrina** es decir en la misma célula que la secreta, o en una célula próxima por acción **paracrina**, al producirse en grandes cantidades pueden entrar en la circulación y actuar a distancia del sitio de producción por acción **endocrina**. (Abbas 2005)

En particular la interleuquina -1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-ALFA) intervienen en la respuesta inmune del organismo al despliegue de los agentes patógenos, siendo investigada en inflamación aguda. (Min K 2006, Rauscherberg C 1997.)

El TNF es una citoquina inicialmente identificada como causante de hemorragia en algunos tumores, la cual más tarde fue observada en enfermedades crónicas. La TNF es secretada por monocitos y células T, existen dos variedades: TNF alfa y TNF beta, la primera es producto de macrófagos mientras que la segunda es producto de leucocitos. Ambas moléculas son moduladoras de resorción ósea e inhibidores de producción de colágeno. El TNF y La IL-1 presentan función en la activación de osteoclastos.(Pezelj- Ribaric S. 2002)

En un estudio se observó que la IL-1 B y el TNF – alfa inducen la producción de PGE2 de células pulpares indicando que las células pro-inflamatorias pueden regular el comportamiento celular de la misma, mientras que el RNA-m de La COX-2 y de la IL-6 son expresados por la inducción de IL-1 alfa y el TNF alfa. (Chang M 2006).

IL-1  $\alpha$  ha sido implicada en lesiones como pulpitis y periodontitis, así mismo asociada a la estimulación de metaloproteinazas de matriz (MMPs) familia de endopeptidasas dependientes de Zinc, produciendo degradación de matriz extracelular incluyendo colágeno y proteoglicanos. (Wisithphrom K 2005)

La interleuquina -2 es un potente inmuno- estimulante produciendo y secretando principalmente células T ayudadoras, induce la expansión colonial de células T ayudadoras activando a otras citoquinas, orquestando la respuesta del tejido conectivo por medio de sus células; De igual manera controla el flujo sanguíneo, regulando estadios de inflamación y reparación. (Min K 2006, Rauscherberg C 1997.)

La interleuquina -6 es una citoquina con actividades pleiotropicas por lo cual pueden ser producidas por diferentes células incluidas linfocitos T y B, monocitos, macrófagos, fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales y osteoblastos. Presentando un role importante en la regulación de la respuesta inmune induciendo la diferenciación de las células B en células productoras de plasma y anticuerpo además de activar células T la cual expresa el receptor de IL-2 en la superficie celular, induciendo la hematopoyesis y la subsiguiente leucocitosis. Sin embargo estas reacciones pueden salirse de control durante los procesos de inflamación y por consiguiente la destrucción del tejido. Altos niveles de IL-6 se producen en pulpa dental humana inflamada comparados con pulpas sanas. (Sze- Kwan L 2002)

Los leucocitos se presentan como marcadores de inflamación en los tejidos, presentando una barrera defensiva ante una infección e injuria. La IL-8 es considerada como factor quimiotactico para neutrofilos humanos, células como: monocitos, macrófagos y neutrofilos la secretan en respuesta de agentes pro-

inflamatorio, en vista de esto un incremento en su producción es observado en pulpitis irreversible y muy poca cantidad se encuentra presente en pulpas sanas (Isett J 2003)

Procesos como la angiogenesis ocurren bajo condiciones fisiológicas y patológicas, reguladas por citoquinas y factores de crecimiento. Muchos mediadores químicos han sido descritos en tejido inflamado. La angiogenesis Per se puede incrementar la severidad de los procesos inflamatorios por el aumento de células, nutrientes y oxígeno al sitio de la inflamación. Un estudio inmunohistoquímico demostró que la interleuquina-1 y el factor de necrosis tumoral alfa se encuentran presentes en lesiones pulpares y periapicales después de una exposición pulpar. (Chu S, 2004)

En procesos de inflamación pulpar se ha observado al plasminogeno activador de tejido (t-PA) como un importante factor de proteolisis. Investigaciones han observado que la IL-1  $\alpha$  estimula los niveles de t-PA en pulpa humana. (Huang F, 2005)

Estudios previos demostraron que la IL-1  $\alpha$  y el TNF-  $\alpha$  regulan la metaloproteinasa de matriz, ciclooxygenasa-2 e interleuquina-6, Derivado celulares de la pulpa y el tejido periapical. Estas investigaciones demuestran el alto significado de las citoquinas pro-inflamatorias en la injuria periapical y pulpar. Las citoquinas pro-inflamatoria contribuyen a la destrucción de la pulpa y tejidos

periapicales a través de la expansión de la red vascular y la progresión de la inflamación. (Chu S, 2004)

En la actualidad el propósito de la odontología es solucionar los diferentes tipos de problemas de origen patógeno, en los cuales es necesario realizar múltiples tratamientos restaurativos, siendo importante considerar que los tratamientos son realizados cotidianamente provocando una respuesta inflamatoria, por lo cual se han mencionado a las bases intermedias como agentes protectores de las pulpa dental ante una injuria. (Dasilva R.2006)

Las preparaciones cavitarias producen inflamación pulpar producidas por calor ante la fricción de la pieza de mano de alta velocidad, causando en la dentina cambios en los túbulos dentíales y una respuesta concomitante en la capa odontoblastica e incrementando la temperatura intrapulpar. (Zach L, 1972).

Los procedimientos restaurativos sobre la dentina y la pulpa representan una respuesta combinada ante la preparación y restauración. Las reacciones tempranas incluyen desplazamiento de la capa odontoblastica, pasando hasta 4 semanas para la formación de dentina reparativa. La combinación de instrumentos de alta velocidad y de anestésicos vasoconstrictores deben de tomarse con precaución por el daño que puedan ocasionar a la pulpa, observando que la disminución del fluido sanguíneo pulpar es el resultado de soluciones anestésicas con epinefrina (Mjor I, 2001).

Los anestésicos locales adicionando vasoconstrictor prolongan el efecto anestésico como la lidocaina al 2% 1:100000 empleada en odontología general y es capaz de alterar el flujo sanguíneo pulpar. (Kim S, 1984).

El grosor del remanente dentinal (RDT) bajo preparaciones cavitarias ha sido materia de debate en cuanto a modificar la respuesta pulpar ante el uso de materiales dentales. Stanley en 1994 sugirió que el RDT de 2mm protege la pulpa de injurias causadas por los procedimientos y materiales restaurativos. Pameijer y col en 1991 reportaron que el RDT de 1mm o más puede ser suficiente para proteger los tejidos pulpares de los efectos citotóxicos como Ionómero de vidrio con resina modificada. Recientemente se ha sugerido que las preparaciones cavitarias profundas dejando un grosor de 0.5mm presentan poco o ningún efecto sobre la capa de odontoblastos. (Murray P 2003).

La biocompatibilidad de los materiales dentales es para el Odontólogo y el Especialista de gran importancia, pero la inconsistencia de muchos estudios en lo concerniente a biocompatibilidad, presenta materia de debate en cual material se debe o no elegir, para realizar procedimientos restaurativos. Un estudio de cultivo celular referente a la capacidad citotóxica de cementos de Ionómero y otros agentes restaurativos encontró que son citotóxicos, reduciéndose después de 6 semanas. Investigaciones presentadas acerca del Ionómero de vidrio refieren estar indicados en tratamientos de restauraciones traumáticas, preservando la estructura dental. El cemento de Ionómero de vidrio tiene óptimas características

como Actividad mecánica, biocompatibilidad, liberación de fluor, contracción volumétrica y un componente de expansión térmica similar a la del diente. (Dasilva, R.2006, Schedle A. 1999)

Los cementos a base de Ionómero (GICs) fueron introducidos por Wilson y Kent a inicios de los años setentas presentando adhesión química a la estructura dental y liberación de fluor. Los GICs se producen por una reacción de ácido a base de vidrio de fluoraluminosilicato (polvo) con una solución acuosa de polímeros ácidos como ser ácido acrílico/ copolímeros ácidos. (De Souza Costa C. 2003)

El desarrollo de Gics de fotocurado híbrido han sido desarrollado en el proceso de los años. En esta segunda generación de GICs, monómeros hidrofílicos e iniciadores de polimerización han sido adheridos a los componentes convencionales creando las resinas modificadas de Ionómero de vidrio o RMGICs. (De Souza Costa C. 2003. Souza C 2003)

Los cementos de Ionómero de vidrio y resina modificada (RMGICs) son materiales híbridos los cuales presentan una reacción ácido base y además presentan polimerización a través de radicales libres ya que contiene grupos de metacrilato polimerizable. (Xie Dong, 2004)

En los cementos de Ionómero de vidrio (GICs) con la excepción de los iones de sodio la reacción de el ácido base y la liberación de iones se presenta en los primeros diez minutos, después de este tiempo otros procesos ocurren. La

reacción del ácido base ha sido asociado a irritación pulpar y necrosis pulpar (Stephen Crisp 1973, Smith D 1986).

Los efectos hidrodinámicos producidos en la pulpa dental por difusión de iones hidrógeno en la pulpa cuando el remanente dentinal es delgado y producidos por el efecto del ácido al disolver el barrillo dentinario incrementan la permeabilidad de la dentina e incrementando los efectos tóxicos tanto de bacterias, iones hidrógeno y el fluor silicato del Ionómero. Se ha encontrado que el pH en los primeros cinco minutos es de 2 y a los diez minutos un pH de 3 con el uso de Ionómero de vidrio (Smith D 1986).

Los RMGICs han sido utilizados como cementos y bases además de material restaurativo en áreas de no estrés. (Demirci Mustafa 1998)

Este tipo de cementos presentan hoy mejores propiedades que los Ionómeros convencionales (CGICs) reduciendo los problemas de sensibilidad y baja fuerza mecánica temprana. Se ha reportado que la fuerza de tensión y de flexión de los RMGICs es de dos a tres veces más alto que los CGICs. (Xie Dong, 2003)

Los cementos de resina modificada de Ionómero de vidrio (RMGICs) pueden presentar variaciones en su composición por su diferencia comercial donde encontramos Ionómeros con vidrio de fluoro aluminio silicato y solución acuosa de

un co-polímero de acrílico y ácido maleico, 2-hidroxi-etil metacrilato (HEMA), agua y activadores. (Xie Dong, 2003)

Otra composición a base de lantano de sodio, vidrio de fluoro silicato y aluminio de calcio combinado con un co-polímero de acrílico y ácido maleico en forma seca y una solución de monómeros poliremisables y oli gomeros, HEMA, agua y activadores. Por ultimo una composición de fluoro aluminio silicato de calcio y solución acuosa de un co-polímero de acrílico y ácido itaconico con grupos de metacrilato, HEMA, agua y activadores. (Xie Dong, 2003)

HEMA ha sido utilizado porque actúa como solvente y co-monómero conteniendo poli-ácidos de vinil. Ha sido reportado que presenta citotoxicidad en contacto con la pulpa dental y los osteoblastos. RMGICs como Vitremer presentan su composición libre de HEMA y utilizando el ácido amino amifilico en lugar del HEMA, presenta mayor biocompatibilidad con los tejidos dentales. (Xie Dong, 2003)

Se ha observado que el HEMA puede difundirse a través de la dentina contribuyendo a la citotoxicidad de los RMGICs, interfiriendo en la diferenciación de células pulpares en odontoblastos, inhibiendo el colágeno tipo 1, osteonectina y sialoproteína dentinaria. (Chang H, 2004)

Investigaciones demostraron que los cementos RMGICs que presentan HEMA, presenta mayor citotoxicidad que los GICs. (Aranha A. 2006)

Estudios In Vitro han demostrado que componentes de sistemas adhesivos son citotóxicos en células fibroblásticas, concentraciones pequeñas de 2-hidroxietilmetacrilato (HEMA) bis glicidil metacrilato (BIS-GMA) bis fenol A (BPA) Trietil-ene glicol di metacrilato (TEGDMA) han sido definidos como citotóxicos en cultivos celulares. Estos componentes causan inhibición sobre la síntesis de DNA contenido de las proteínas totales y síntesis de proteínas. (De Souza costa 2001)

En un estudio In vivo en animales induciendo exposición pulpar y utilizando RMGICs como base intermedia en el grupo control, se observó después de 7 días tejido necrótico parcial, desorganización de tejido pulpar y congestión de vasos sanguíneos asociado a formación de puente dentinal (Costa C, Oliveira M. 2003)

La actividad inflamatoria de la pulpa dental y la respuesta a la colocación de cementos como Ionómero de vidrio dependerá de la preparación cavitaria y variables en la restauración en presencia y ausencia de bacterias. (Murray P 2002, 2001, 2003)

## **1.5 OBJETIVOS**

### **1.5.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la presencia de citoquinas proinflamatorias IL-6 e IL-8 en pulpas dentales humanas expuestas al tratamiento con ionómero de vidrio como base intermedia

## **1.6 HIPOTESIS**

### **1.6.1 HIPOTESIS NULA**

No existe un aumento en la presencia de Citoquinas en tejido pulpar de dientes humanos utilizando Ionómero de vidrio como base intermedia.

### **1.6.2 HIPOTESIS ALTERNATIVA**

Existe un aumento en la presencia de Citoquinas en tejido pulpar de dientes humanos utilizando Ionómero de vidrio como base intermedia.

## **II. ASPECTOS METODOLÓGICOS**

### **2.1 TIPO DE ESTUDIO**

Ensayo clínico Controlado aleatorizado ciego

### **2.2 POBLACIÓN**

11 Pacientes con Exodoncias indicadas en premolares con fines ortodónticos del Colegio Odontológico.

### **2.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

#### **2.3.1 Criterios de Inclusión**

- Pacientes entre 14 y 25 años que autorizaron donar para el estudio los premolares que fueran extraídos con fines ortodónticos
- Los dientes fueron premolares sanos con ápices cerrados

#### **2.3.2 Criterios de Exclusión**

Pacientes sistémicamente comprometidos

## 2.4 MUESTRA

- 22 primeros premolares superiores e inferiores distribuidos en forma aleatoria en dos grupos uno experimental y uno control
- Grupo A experimental: 11 primeros premolares superiores e inferiores con cavidad clase V, utilizando Ionómero de vidrio como base intermedia
- Grupo B control: 11 primeros premolares superiores e inferiores con cavidad clase V

## 2.5 VARIABLES

| Variable                                            | Definición                                                 | Operacionalización                                                             | Escala de medición |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 1. Liberación de citoquinas                         | Respuesta celular ante un estímulo                         | Porcentaje                                                                     | Discreta           |
| 2. Exposición al tratamiento con Ionómero de vidrio | Reacción pulpar ante la colocación del Ionómero de vidrio. | SI (exposición al tratamiento con IV)<br>NO (exposición al tratamiento con IV) | Nominal            |

## 2.6 MATERIALES Y METODOS

### *Estandarización del operador*

Previo a realización del estudio fue importante establecer la estandarización de todos los procedimientos para toma de muestras, inicialmente se estandarizó el operador que realizó la apertura de cavidades en premolares extraídos tomando en consideración radiografía, profundidad de la cavidad (2X3mm), concordancia y precisión en cada una de ellas, la proximidad a pulpa dental, la habilidad del operador y el tiempo utilizado para el diseño de la cavidad (Índice de Kappa); se tomaron radiografías previas a 70 dientes, inicialmente seleccionaron 35 dientes divididos en 7 grupos de 5 dientes, posteriormente siete operadores realizaron cavidades clase I, con una pieza de alta velocidad de triple irrigación Cavo. utilizando fresas redondas de diamante # 2 con una profundidad de 2mm y fresa # 3 con una profundidad de 3mm, corroborando clínicamente y radiográficamente la profundidad con una sonda periodontal, se tomó los 35 dientes restantes y se realizó el mismo procedimiento con cavidades clase V, de acuerdo a la observación clínica y radiográfica se determinó que por su proximidad a la pulpa dental sin depender de la anatomía oclusal que es dependiente de la posición de los cuernos pulpares, siendo la cavidad clase V más apropiada para el estudio.

Después de haber realizado las cavidades los dientes fueron enumerados, Se procedió a la selección del operador por lo cual un observador ajeno al estudio y el director científico con experiencia y habilidad clínica evaluaron las cavidades

desconociendo el orden de los operadores. Después de la observación clínica y radiográfica realizaron mediciones y comparaciones radiográficas respectivas, eligiendo el operador que acercaba al tamaño, forma, y profundidad de la preparación cavitaria y colocación del Ionómero de vidrio.

Posteriormente se procedió a la calibración del operador para la disección del diente para la extracción de la pulpa, para esto se utilizaron los 35 dientes con cavidad clase V , teniendo en cuenta la habilidad y el tiempo mínimo requerido para la disección del mismo.

Se selecciono el operador que realizo las exodoncias por su alta experiencia, habilidad, y conocimiento.

**Prueba Piloto Determinante en el procedimiento a seguir y que define la metodología a realizar**

Pacientes hombres y mujeres de las clínicas de Postgrado del COLEGIO Odontológico con indicaciones de exodoncia de premolares para tratamiento ortodontico, en un rango de edad de 14 a 25 años, evaluados, con previo consentimiento informado, para las necesidades del estudio.

Se tomo un grupo experimental de 20 pacientes, con 40 premolares indicados para exodoncia con fines ortodonticos, dientes con pulpas sanas, los 40 dientes fueron divididos en 2 grupos: el grupo 1 experimental (20 dientes) con

cavidad clase V con Ionómero de vidrio, el grupo 2 control (20 dientes) con cavidad clase V sin Ionómero de vidrio.

Para la exodoncia se realizo previa asepsia y antisepsia del campo operatorio, se utilizo anestesia sin vasoconstrictor (3%) para maxilar superior, técnica anestésica infiltrativa para el bloqueo del nervio alveolar medio, y técnica troncular para el bloqueo del nervio palatino mayor, y para el maxilar inferior, Técnica troncular para bloqueo nervio dentario inferior, bucal largo y nervio mentonero .

Se realizo aislamiento del campo operatorio y se procedió a realizar la preparación cavitaria cavidad clase V en el diente control y el diente experimental , utilizando una pieza de alta velocidad de triple irrigación con una fresa #2 redonda con una profundidad de 2mm y una diámetro de 3 mm, posteriormente se verifico las medidas con una sonda periodontal y se procedió a la colocación del Ionómero de vidrio en el diente experimental como base intermedia con un grosor de 1 mm, esperando 10 minutos, pasado este tiempo se realizo la exodoncia. inmediatamente obtenida la muestra se secciona el diente con fresa zecrya, separando los fragmentos del diente con el periostotomo, dejando expuesto el tejido pulpar, tomando la muestra con una cucharilla, realizando este proceso en el menor tiempo posible, se lleva la muestra en el medio de transporte ( transfix) se procede a realizar el procedimiento de disgregación de la pulpa con mango de bisturí y hoja numero marca en la caja de petri, con jeringa hipodérmica se recoge la muestra aproximadamente de 1 ml se transfiere al **medicons** marca, se lleva medimachin en donde se realiza la disgregación completa de la pulpa,

programado por 1 minuto este procedimiento es realizado 2 veces, con una jeringa se extrae la muestra para ser llevada al medio de transporte transfix, luego se procede a realizar el marcaje intracitoplasmático:

1. Se prepara las células de interés 100ml muestra
2. fijar las células 1ml de fijación e incubar T.A x 20M SIN LUZ.
3. 1ml de buffer permeabilización durante 5 min, se retira sobrenadante
4. 1ml de buffer permeabilización durante 5 min, se retira sobrenadante
5. Se re-suspende las células en 100ul de buffer permeabilización
6. Diluir la concentración óptima del fluorocromo en 20 ul de buffer de permeabilización
7. adiciona la cantidad apropiada al tubo (20ml) Mezclar
8. incubar a TEMPERATURA AMBIENTE oscuridad por 20min
9. Adicionar 1 ml de buffer permeabilización
- Se centrifuga durante 5 min. y se elimina el sobrenadante
10. se re suspende el pellet en 0.5 ml de buffer de citometria
11. Análisis de muestra en el Citómetro

## **2.7 PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS**

- Los datos fueron tabulados en Excel versión 2007, se procesaron en SPSS versión 13
- El análisis estadístico se realizó mediante prueba T- Student para datos pareados.

- $P \leq 0.005$  y con coeficiente de correlación y concordancia (CCC)

## 2.8 IMPLICACIONES ÉTICAS

De acuerdo a la **resolución 8430** de **1993** el riesgo del estudio es clasificado por el comité de ética institucional: **sin riesgo**.

En las historias clínicas del Postgrado de Ortodoncia y Ortopedia Maxilar de la Institución Universitaria Colegios de Colombia, se dejará constancia escrita de la correspondiente autorización de los pacientes participantes en el estudio.

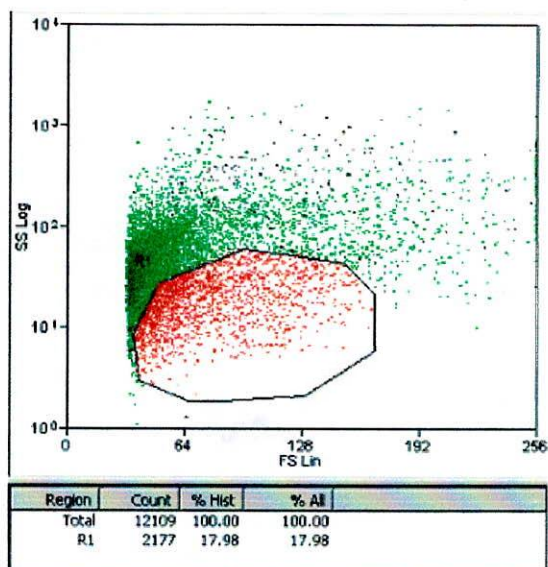
### III. RESULTADOS

De las 22 pulpas evaluadas se encontró que no existe diferencias estadísticamente significativas en la liberación de IL-6 ( $p=0.687$ ) y IL-8 ( $p=0.625$ ) en ambos grupos, tanto experimental como control

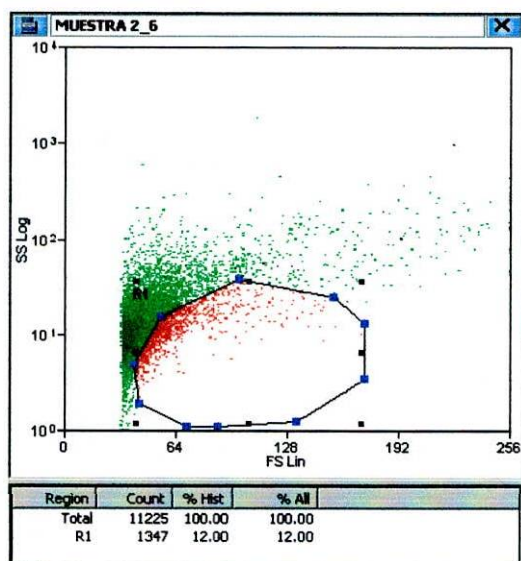
No hubo diferencias estadísticamente significativas en el aumento de IL-6 en el grupo experimental al comparar con el grupo control.

La IL-8 se libero en menor porcentaje con respecto a la IL-6 en los grupos.

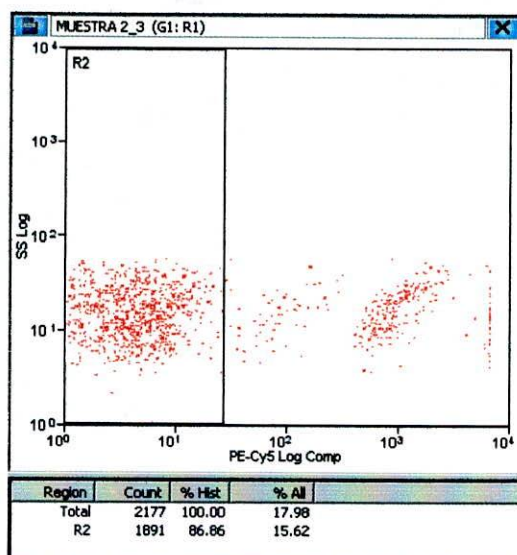
La prueba de correlación y concordancia CCC para la IL-6 tuvo un valor  $r=0.823$  lo que indica que no hubo concordancia entre grupo experimental y control, igualmente sucedió en la prueba de los dos grupos con IL-8 donde el valor  $r=0.382$



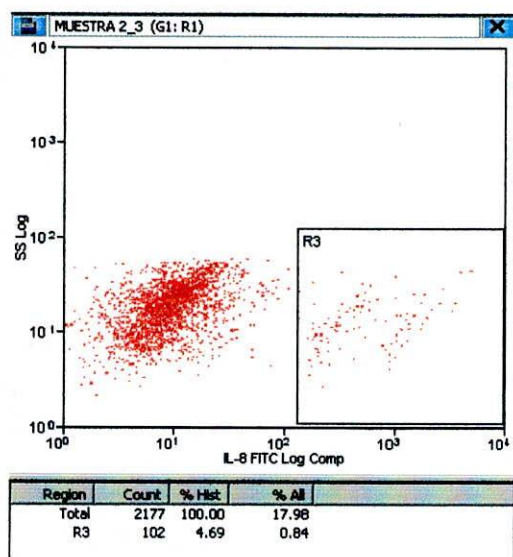
**GRAFICA 1 Población de células sin marcar.**



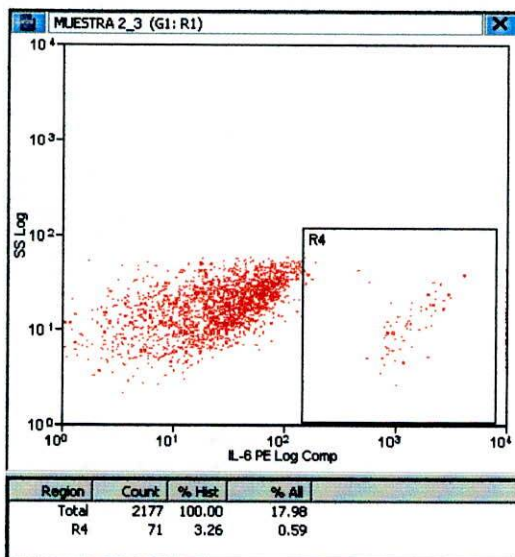
**GRAFICA 2 Población celular muestra experimental.**



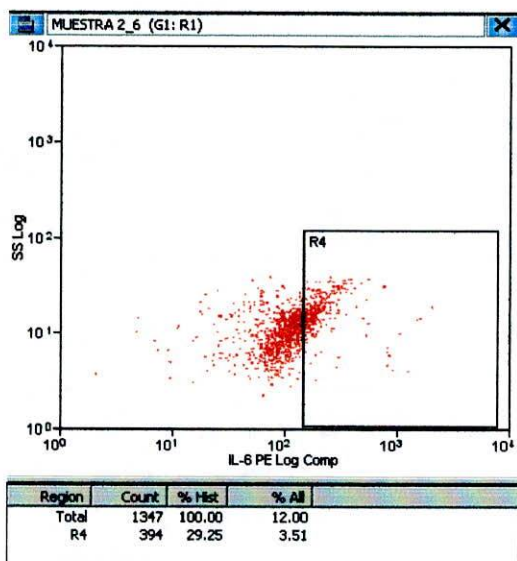
**GRAFICA 3 Determinación celular muestra control**



**GRAFICA 4 Determinación muestra control en Gate 3.**

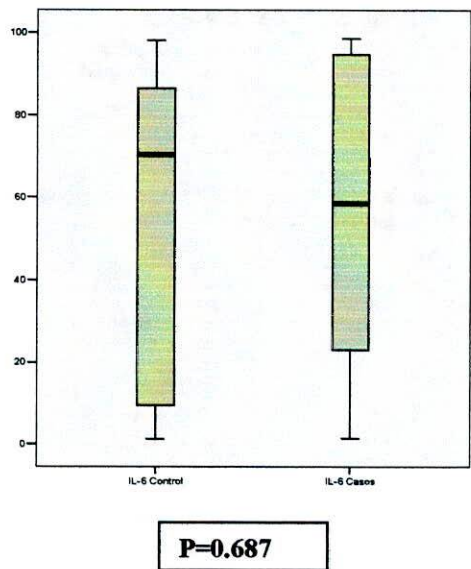


**GRAFICA 5 Determinación muestra control en el Gate 4**

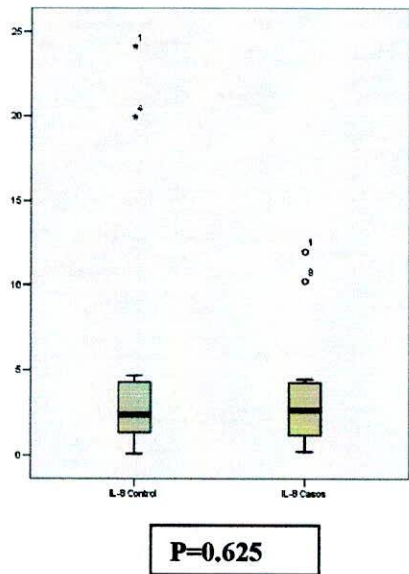


**GRAFICA 6. Determina muestra experimental en Gate 4**

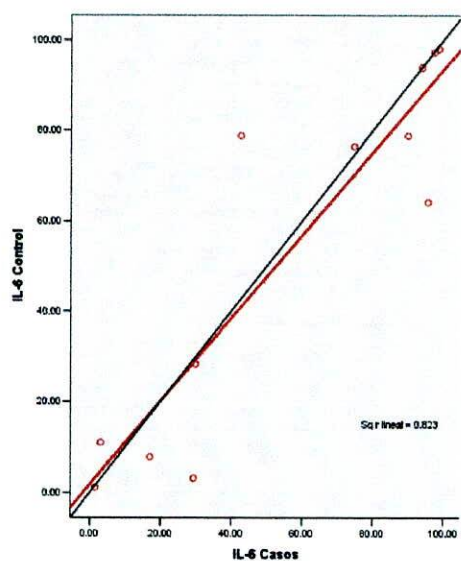
**Grafica 1. Prueba T- Student para valores de IL-6 – grupo control y casos.**



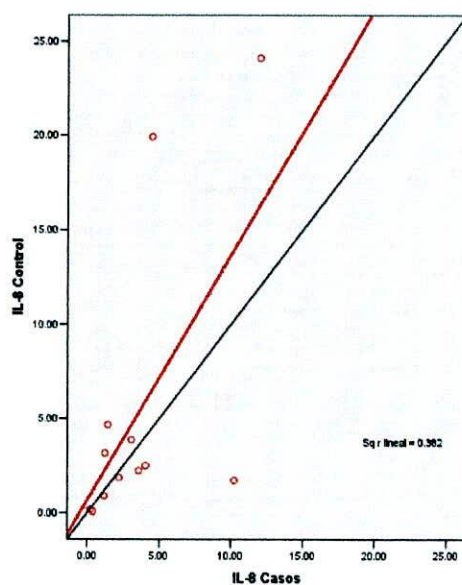
**Grafica 2. Prueba T- Student para valores de IL-6 – grupo control y casos.**



**Grafica 3. Correlación muestras experimentales y controles IL-6  $r=0,823$**



**Grafica 4. Correlación muestras experimentales y controles IL-8  $r=0,382$**



#### **IV. DISCUSION**

Zse Kwan y col, mencionan que la IL-6 se aumenta en procesos inflamatorios y se libera en poco porcentaje en pulpas clínicamente sanas.

Se ha reportado en la literatura la acción de los materiales dentales sobre el proceso inflamatorio causando en algunos casos injuria sobre el tejido pulpar.

Los materiales dentales presentan una actividad química que es causa de inflamación pulpar, relacionado con una alta permeabilidad dentinal, característica propia de la estructura dental.

El presente estudio en dientes con preparaciones cavitarias con y sin Ionómero mostró que no existe diferencias estadísticamente significativas entre los casos y controles de cada muestra de IL-6 e IL-8, esto posiblemente debido a que no existe un aumento en la liberación de citoquinas en el tejido pulpar de dientes humanos, aplicando RGICs, esto, podría explicarse por los procesos basales de tipo reversible presentados fisiológicamente en la pulpa ante una injuria.

Es importante aclarar que las preparaciones cavitarias fueron estandarizadas, sin embargo no se valoró el grosor de remanente dentinal de las muestras, este factor puede producir efectos en los hallazgos emitidos en este estudio.

Eventos críticos fueron presentados en dos de las muestras debido a una elevación en los niveles de IL-6, relacionado posiblemente a la respuesta del sistema inmunológico de cada paciente, donde es factible un aumento o disminución en la respuesta celular.

La IL-8 presentó menos liberación, diferente a lo reportado en estudios previos como el estudio de Isett J y col. en 2003, entre otros, en los que se muestra niveles más altos de IL-8, esto debido a que los diente diagnosticados con pulpitis irreversible en esos estudios,

## **V. CONCLUSIONES**

En las 22 pulpas estudiadas, se observó que no existía un aumento en la expresión de citoquinas en el tejido pulpar de dientes utilizando el ionómero de vidrio como base intermedia.

El Ionómero de vidrio (RGICs) como base intermedia de resina de autocurado, libre de HEMA, por su composición, presenta características compatibles con la estructura dentaria que le confieren baja citotoxicidad y alta capacidad de adhesión a la dentina.

En pulpas clínicamente sanas, que han sido sometidas a un factor externo que desencadene el proceso transitorio de activación celular fisiológico, es normal encontrar liberación de IL-6.

La IL-8 presentó menor porcentaje de liberación en pulpa dental durante el proceso experimental en el cual se presentó algún grado de injuria.

## **VI. RECOMENDACIONES**

Los investigadores recomiendan realizar estudios donde el tiempo de exposición de la pulpa sobre el ionómero de vidrio sea más prolongado determinando los niveles de liberación de la IL-6 e IL-8

Realizar estudios con grupos comparativos en dientes con compromiso pulpar.

Se recomienda incluir las variables en cuanto al remanente dentinal que no pueden ser obtenidas con radiografía.

## ANEXO 1

### Consentimiento informado

#### COLEGIO ODONTOLÓGICO POSTGRADO ENDODONCIA

El Colegio Odontológico realizará una investigación en pulpas dentales humanas en pacientes a los que por requerimientos ortodonticos solicitan exodoncias de premolares el objetivo es determinar la liberación de citoquinas después de colocar una base intermedia a base de Ionómero de vidrio.

Para la toma de los datos necesarios en esta investigación, se le realizará a cada paciente un examen odontológico que durará aproximadamente 30 minutos, con instrumental odontológico estéril, utilizando anestesia sin vasoconstrictor para realizar cavidad con fresa redonda según (estándar) De diamante, después se coloca Ionómero de vidrio y pasados 10 minutos se realiza la exodoncia:

1. Recopilación de datos del paciente y autorización para procedimiento, firma consentimiento informado.
2. Toma radiografía inicial.
3. Anestesia sin vaso constrictor colocada con aguja corta técnica infiltrativa.
4. Apertura de la cavidad con fresa redonda cavidad clase I.
5. Secar cavidad con gasa.
6. Colocar Ionómero de vidrio
7. Esperar 10 minutos
8. Realizar exodoncia
9. Al diente al que se le realiza la exodoncia es transportado en un medio ideal para preservar la vitalidad de la pulpa, el transporte se realiza en el menor tiempo posible, el procedimiento es seccionar el diente con una fresa zecrya para retirar el tejido pulpar completo, colocarlo con los reactivos y procesarlos en medimachin después es pasado por el clitómetro de flujo para realizar la lectura.

La participación en este estudio es voluntaria teniendo en cuenta la aceptación y aprobación firmando el consentimiento informado, la no participación no traerá ninguna consecuencia para usted. Puede negarse a firmar este consentimiento y puede retirarse del estudio en cualquier momento, si así lo considera necesario. No se ofrece ninguna compensación por participar en el estudio. El presente estudio de acuerdo a la Resolución expedida por el Ministerio de Protección Social # 008430 de 1993, está clasificado como una **Investigación con riesgo mínimo**.

Esta investigación será realizada por profesionales calificados y especialistas, el Director del proyecto es el Dr. Víctor Javier Chamorro Micolta y los investigadores examinadores serán: Dr. Julio Mejía, Dra. Victoria Ruiz, Dra. María del Mar Polanco, Dra. Joyce Adriana Cortez, Dra. Carolina Coral, Dra. Martha Gómez, Dra. Diana Enciso.

Cualquier información adicional acerca de los derechos de los participantes y de la investigación será resuelta antes de firmar el consentimiento por el Dr. Víctor Javier Chamorro Micolta personalmente o en el teléfono 310 242 2530 o en el e-mail victorjavier.chamorro@gmail.com.

He comprendido que participar en esta investigación no representa ningún riesgo o peligro para mí, ni para ninguna otra persona. Entiendo que toda la información es estrictamente CONFIDENCIAL y será utilizada para cumplir objetivos académicos y científicos, que traerá como beneficio un resumen de la investigación y adicionalmente un beneficio para la comunidad.

Yo \_\_\_\_\_ identificada con Cédula  
Número \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ leí los objetivos y el  
procedimiento descrito anteriormente y voluntariamente doy el consentimiento  
para que mi hijo \_\_\_\_\_ participe en este  
estudio.

Firma de Tutor legal o familiar: \_\_\_\_\_  
Nombre: \_\_\_\_\_  
C.C: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_  
Parentesco: \_\_\_\_\_

Huella digital del tutor legal o familiar  
Dirección: \_\_\_\_\_ Municipio \_\_\_\_\_  
Teléfono: \_\_\_\_\_

Firma del Director del proyecto: \_\_\_\_\_  
Nombre: \_\_\_\_\_  
Registro: \_\_\_\_\_ C.C: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

Firma del testigo: \_\_\_\_\_  
Nombre del testigo: \_\_\_\_\_  
C.C: \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_ Municipio \_\_\_\_\_  
Teléfono: \_\_\_\_\_

## REFERENCIAS

1. Digka A, Lyrroudia K, Jirasek T, Kasampalidis I, Karayannopolou G, Kubinova L. Visualization of human Dental Pulp Vasculature by Immunofluorescent detection of CD34: A comparative Study. Australian Endodontic journal, 32; 101-106. 2006
2. SELTZER AND BENDER, DENTAL PULP, Quintessence, 2002. Cap 11, Molecular Mediators of Pulpal Inflammation.
3. Min Kyung, Kwon Y, Lee H. Effects of Proinflammatory Cytokines on Expression of mineralization Markers and Heme Oxygenase. Journal of Endodontics , 32; 1.2006.
4. KIM S. Neurovascular interactions in the dental pulp in health and inflammation. Journal of endodontics, 16, 48- 53. 1990.
5. Chang M, Chen Y, Tai T, Tai M, Tsai L, Lan W, Wang L, Jeng J. Cytokine-induced prostaglandin E2 production and cyclooxygenase-2 expression in dental pulp cells: downstream calcium signalling via activation of prostaglandin EP receptor. International Endodontic Journal, 39; 819-826. 2006.
6. Isett James, Reader Al, Gallatin Erik, Beck Mike, Padgett David. Effect of intraosseous injection of Depomedrol on Pulpal concentrations of PgE-2 and IL-8 in Untreated Irreversible Pulpitis. Journal of Endodontics, 29; 4. 2003

7. Chang Yu- Chao, Yang S, Huang F. Proinflammatory Cytokines Induce Cyclooxygenase- 2m RNA and Protein Expression in Human Dental Pulp cell cultures. *Journal of Endodontics*, 29; 3.2003.
8. Abbas. *Immunology* .2005.
9. Pezelj-Ribaric S, Anic I, Brekalo I, Hasan M, Soskic M. Detection of tumor necrosis Factor Alpha In Normal and Inflamed Dental Pulps. *Archives of Medical Research*, 33; 482-484. 2002.
10. Rauschemberg C, Bailey J, Cootauco C. detection of human IL-2 in normal and inflamed dental pulps. *Journal of Endodontics*, 23; 6.1997.
11. Nakanishi T, Takahashi K, Hosokawa Y, Adachi t, Nakae H, Matsuo T. Expression of Macrophage inflammatory Protein 3 alpha in Human Inflamed Dental Pulp Tissue. *Journal of Endodontics*, 31; 2. 2005.
12. Wisithphrom K, Murray P, Windsor J. Interleukin-1 $\alpha$  Alters the expression of Matrix metalloproteinases and collagen degradation by pulp fibroblasts. *Journal of Endodontics*, 32; 3. 2005.
13. Chu S, Tsai C, Yang S, Huanf F. Induction of vascular Endothelial Growth factor gene expression by proinflammatory Cytokines in Human Dental Pulp and Gingival Fibroblasts. *Journal Of Endodontics*, 30; 10. 2004.
14. Huang F, Tsai C, Chen Y, Chou M, Chang Y. Examination of the signal transduction pathways leading to Upregulation of tissue type Plasminogen activator by interleukin-1  $\alpha$  in Human Pulp Cells. *Journal of Endodontics*, 32, 1; 2005.

15. Lin Sze, Wang C, Huang S, Lee j. Induction of Dental Pulp Fibroblasts Matrix Metalloproteinase -1 and Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Gene Expression by Interleukin-1 and Tumor Necrosis Factor Alpha Through a Prostaglandin-Dependent Pathway. *Journal of Endodontics*, 27; 3. 2001.
16. DASILVA RENATA, CILENSE A, Surface roughness of glass ionomer cements indicated for atraumatic restorative treatment. *Brazilian Dental Journal*, 17; 2.2006.
17. Zach L pulp lability and repair, effect of restorative procedures. *Oral surgery*.33:1,111-121. 1972
18. Mjor I. A. Pulp dentin biology in restorative dentistry. part II: initial reactions to preparations of teeth for restorative procedures. *Quintessence Int*: 32: 537-551. 2001
19. kim S, L Edwall, H. Trowbridge And S Chien. Effects of locals anesthetics on pulpal blood flow in dogs. *Journal dental restaurative*. 63:5:650-652. 1984
20. Murray P E, Smith AJ, Windsor LJ and Mjor IA. Remaining dentine thickness and human pulp responses. *Journal international endodontics* 36,33-43,2003
21. Schedle A. Franz A, Rausch-Fan X. Cytotoxic Effects of Dental Composites, Adhesive substances, Compomers and Cements. *Dental Material*, 14; 429-440. 1999
22. De Souza Costa C, Hebling J, Garcia-Godoy F. In Vitro cytotoxicity of five glass-ionomer cements *Biomaterials* 24:3853-3858. 2003.

23. Souza C, Giro E, Batista A, Teixeira H. Short- term evaluation of pulpo-dentin complex response to a resin modified glass ionomer cement and bonding applied in deep cavities. *Dental materials*, 19; 739-746. 2003
24. Xie Dong Chung I, Lemons J, Puckett A. An Amino Acid-modified and non-HEMA containing Glass -Ionomer Cement. *Biomaterials*, 25; 1825-1830. 2003
25. Stephen Crisp, Alan Wilson. Reaction in Glass Ionomer Cements: decomposition of the powder. London national research development corporation august 17, 1973
26. Smith DC and Ruse ND. Acidity of glass ionomer cements during setting and its relation to pulp sensitivity. *JADA* vol 112 : 654-657. 1986
27. Demirci Mustafa, ucok Mete. Pulp reaction to a tri -cure resin-modified glass ionomer. *Oral surgery Oral medicine Oral pathology oral radiology endodontology* 1998;85:712-719.
28. Chang H, Guo M, Kasten F. Stimulation of glutathione depletion, ROS production and Cell cycle arrest of dental pulp cells and gingival epithelial cells by HEMA. *Biomaterials*, 26; 745-753. 2005.
29. Aranha A, Giro E, Souza P. Effect of Curing Regime on the Cytotoxicity of resin Modified glass-Ionomer living Cements applied to an odontoblast -cell line. *Academy Of Dental Material. Dental Materials*, 22; 864-869. 2006
30. De Souza Costa C, Lopes do Nascimento A. response of human pulps capped with a self-etching adhesive System. *Dental materials* 17: 230-240. 2001.
31. costa C, oliveira M. biocompatibility of resin based materials used as pulp-capping agents. *International endodontic journal*. 36, 831-839. 2003

32. Murray P, Hafeez A, Smith A, Cox C. Bacterial Microleakage and pulp inflammation associated with various restorative materials. *Dental materials*, 18; 470-478.2002.
33. Murray P, About I. Restorative pulpal and repair responses. *JADA* 132:4. 2001