

Comparación de la citotoxicidad del biocerámico frente al mineral trióxido agregado en cultivos celulares de fibroblastos de pulpa dental humana estudio piloto

*Almanza A., Mosquera V., Romero H.

**Bonilla A

***Malaver P.

***Suarez A

**** Cubides J

Resumen

Objetivo: Comparar la citotoxicidad del biocerámico con la de MTA, en cultivos celulares de fibroblastos a diferentes periodos de tiempo (4, 24, 48, 72 horas y 1 semana). **MÉTODO:** Estudio experimental *in vitro*, en cultivos celulares (línea celular de fibroblastos de pulpa dental humana) estandarizados con ensayo de linealidad celular. Se emplearon placas de 96 pozos donde se sembraron 10.000 células por pozo y se permitió la adherencia por 24 horas, para posteriormente, aplicar los materiales experimentales. Se evaluaron tres grupos (cinco repeticiones o pozos por tratamiento), grupo 1: control cultivo sin ningún material experimental, 2 grupo: cultivo expuestos al Biocerámico. 3 grupo: cultivo expuestos al MTA. Se clasificaron las cinco placas de acuerdo con los tiempos de lectura: 4, 24, 48, 72 horas y una semana, en los cuales se evaluó el grado de citotoxicidad por medio del test de Resazurina (ensayo colorimétrico para la viabilidad celular y la proliferación). La lectura se realizó con el lector TECAN GENios. Finalmente se realizó un análisis estadístico para comparar el grado de viabilidad celular, los resultados se sometieron a una Prueba de t student y análisis de varianza completamente al azar con arreglo factorial (A x B) usando el Software SPSS 20. **RESULTADOS:** Al evaluar el grado de citotoxicidad de los dos materiales biocerámico MTA se comprueba que no hay diferencias ($p > 0.05$) en promedio entre los dos materiales en los tiempos de evaluación 4, 48, 72 horas y una semana post aplicación al cultivo. A las 24 horas si se presentaron diferencias significativas entre los materiales. Se presentó un cambio dependiente del tiempo, a las 72 horas la viabilidad celular presento un aumento en los dos grupos experimentales. **CONCLUSIONES:** la viabilidad celular de los dos materiales evaluados tiene un comportamiento diferente a las 24 horas post aplicación de los materiales. El tiempo tiene un efecto directo sobre la proliferación de los cultivos dado que a las 72 horas aumenta independientemente del material evaluado

Palabras Clave: Citotoxicidad, Biocerámico, Mineral Trióxido Agregado, Fibroblastos pulpaes.

ABSTRACT

Objective: Compare the cytotoxicity of Bioceramic with MTA in fibroblast cell cultures at different periods of time (4, 24, 48, 72 hours and 1 week). **Method:** An experimental study *in vitro*, in cell cultures (cell line fibroblasts of dental human pulp) standardized with a cellular linearity assay. 96-well plates where 10,000 cells per well were seeded and was allowed adherence per 24 hours for subsequent application of the experimental materials. Three groups were evaluated (five repetitions or wells per treatment). Group 1: Control culture without any experimental material. Group 2: culture exposed to Bioceramic. Group 3: culture exposed to MTA. Five plates were classified according to the reading times: 4, 24, 48, 72 hours and one week, in which the degree of cytotoxicity was assessed by the Resazurin test (colorimetric assay for cell viability and proliferation). The reading was performed with the TECAN GENIOS plate reader. Finally, a statistical analysis was performed to compare the degree of cell viability, the results were subjected to a t student test and completely randomized to a factorial arrangement (A x B) using the software SPSS 20. **Results:** Evaluating the degree of cytotoxicity of both materials, Bioceramics and MTA, it is found that there is no difference ($p > 0.05$) on average between the two materials at the time of assessment; 4, 48, 72 hours and one week after application from material to the culture. But 24 hours later significant differences between the materials were revealed. It occurred a change independent from time, at the 72 hours the cellular viability showed an increase in both experimental groups. **Conclusions:** According to the data obtained in this study cell viability both evaluated materials be have differently while 24 hours post application, also time has a direct effect on the proliferation of cultures due to at 72 hours increases regardless from material evaluated

Keywords: Cytotoxicity, Bioceramic, Mineral Trioxide Aggregate, pulp fibroblasts.

*Odontólogos(as) Residente(s) posgrado de Endodoncia UNICOC-Bogotá

** Asesora científica. Odontóloga Especialista en Endodoncia

*** Asesora metodológica. Odontóloga. Msc. en Biología Énfasis Genética Humana.

*** Asesora metodológica. Odontóloga, Especialista en Epidemiología. Universidad El Bosque

**** Asesor estadístico. Md. Veterinario. Esp. En Bioestadística

Introducción

La pulpa dental forma parte del complejo dentino pulpar, el cual tiene su origen embriológico, en la papila dental (tejido ectomesenquimático). Está compuesto por matriz colágena, rica en proteínas, en la cual existe un intercambio de nutrientes. En la zona periférica de la pulpa se encuentra una zona rica en células, que tienen la característica de diferenciarse, siguiente a esta zona se encuentra una zona pobre de células y en lo más profundo se encuentra la pulpa propiamente dicha. ⁽¹⁻⁴⁾

La pulpa está formada por una variedad de células, como los odontoblastos, fibroblastos y células del sistema inmune. Los odontoblastos son las células encargadas de la formación de la pulpa dental y de la dentina, también tienen la función de realizar la formación de todos los tipos de dentina durante los procesos de reparación. Los fibroblastos son las células encargadas de la síntesis de las fibras colágenas, reticulares, y elásticas, y de los carbohidratos complejos de las sustancias fundamentales y capaces de producir todos los componentes de la matriz extracelular, por último se encontró las células del

sistema inmune como lo son los macrófagos, linfocitos, leucocitos y polimorfonucleares, las cuales actuarán en los procesos inflamatorios. ¹⁻⁴

La pulpa dental al ser parte del complejo dentino pulpar se puede ver afectada por patologías externas tales como la caries, el trauma dental o procesos de restauración, cuando esta se ve involucrada, la primera patología pulpar que se observa es la pulpitis reversible. ⁽¹⁻⁴⁾

La pulpitis reversible es un estado de la pulpa dental donde se presenta una inflamación leve, en este estado la pulpa puede recuperarse cuando la causa de la patología es eliminada con el tratamiento adecuado. La característica de esta patología es la presencia de un dolor leve o severo, cuando se presenta un estímulo y cesa cuando se retira el estímulo. El tratamiento a realizar es una terapia pulpar vital con el fin de mantener las funciones normales de la pulpa y su vitalidad. Como parte de las terapias pulpares vitales se encuentra el recubrimiento pulpar directo, las pulpotomías y el recubrimiento pulpar indirecto, se realizan las dos primeras terapias cuando existe una exposición real

de la pulpa dental y la última cuando existe una caries con gran compromiso de la dentina.¹⁻⁴

La pulpotomía y el recubrimiento pulpar directo, tienen como objetivo conservar la vitalidad del tejido pulpar, prevenir el dolor y la inflamación. Al realizar este tipo de procedimientos, se debe tener en cuenta que existe un contacto directo con las células vitales de la pulpa dental pre-existente. Identificar cuáles son los efectos adversos generados por los materiales a nivel celular, es de gran importancia y ayuda, ya que esto nos ayudara a identificar que las terapias pulpares vitales mantengan su objetivo, el cual es preservar la pulpa dental.⁽⁵⁾

La realización de la terapia vital pulpar, debe ser realizada con materiales biocompatibles, que presenten características óptimas que proporcionen la salud y tasas de éxito esperadas de la terapia, tales características son: ser bactericida, promover la reparación, baja toxicidad, no generar pigmentación, promocionar la diferenciación celular, presentar buena manipulación.⁽⁶⁻⁹⁾

Se han empleado diversos materiales para realizar dichos tratamientos, tales como hidróxido de calcio, formocresol, sulfato férrico y el óxido de zinc eugenol, a los cuales se les ha atribuido diversas ventajas y desventajas.⁽⁶⁻⁹⁾

Durante mucho tiempo el Gold estándar de los materiales para la terapia vital pulpar, fue el Hidróxido de calcio, el cual presenta capacidades antimicrobianas y ayuda para la formación de dentina secundaria, forma una capa de células mesenquimatosas indiferenciadas y proliferación de fibroblastos que luego van a dar lugar a diferenciación celular tales como odontoblastos donde estas dan formación de un proceso de calcificación y se puede observar un puente dentinario. Desventajas del hidróxido de calcio es su reabsorción.⁽¹⁰⁻¹¹⁾

La endodoncia ha evolucionado, con el fin de lograr una mayor tasa de éxito, en los tratamientos; el desarrollo de recientes materiales tales como el Mineral Trióxido Agregado (MTA) y los biocerámicos, los cuales han sido estudiados y se ha demostrado que son materiales compatibles, que pueden ser usados en

diversos tratamientos de la práctica endodóntica. Conocido lo anterior, resulta relevante identificar las propiedades, comportamiento, viabilidad y citotoxicidad de estos materiales, al ser usados en los tratamientos de terapia pulpar vital, ya que en estos procedimientos se encuentra en contacto directo con las células de la pulpa dental. (12-13)

El objetivo del presente estudio fue Comparar la citotoxicidad del biocerámico con la de MTA, en cultivos celulares de fibroblastos a diferentes periodos de tiempo (4, 24, 48, 72 horas y 1 semana).

Materiales y métodos

Diseño de estudio: Experimental *In vitro*

La unidad de observación analizada en el presente estudio fueron los fibroblastos del tejido pulpar.

Las variables analizadas fueron:

Variables Dependiente: Citotoxicidad

Muerte celular

Variable Independiente: Tiempo

Cultivos celulares

Se realizaron las pruebas con línea celular de fibroblastos de pulpa dental humana, del centro de investigación UIBO. (Figura 1.)

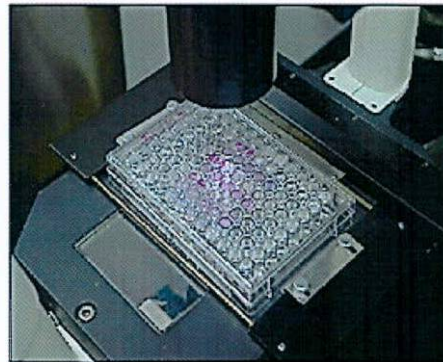


Figura 1. Observación bajo el microscopio para verificar la adherencia de las células

2.7.2. Ensayo de Linealidad

Se realizó un ensayo de linealidad celular, por medio del cual se conoció la densidad celular ideal para realizar las pruebas de citotoxicidad. Para ello se evaluaron diferentes densidades desde 2.000 hasta 20.000 células por pozo, se evaluaron tres tiempos (24, 48 y 72 horas) (Figura.2). Después de este tiempo de incubación las células fueron sometidas a tinción con resazurina 4.4 μ M, y se procedió a realizar la lectura en el equipo TECAN GENIOS a una longitud de onda de excitación de 535 nm y 595 nm de emisión. (Figura 3.)

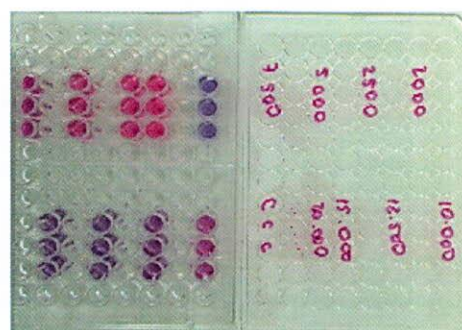
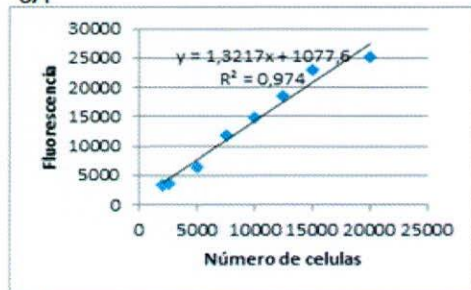
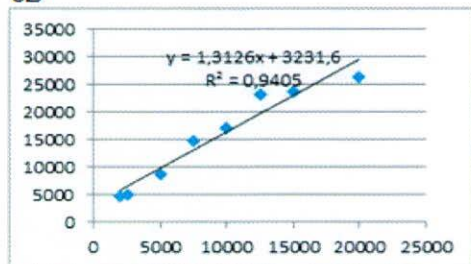


Figura 2 Cultivos de fibroblastos pulpares con diferente densidad celular, para realizar el ensayo de linealidad

3A



3B



3C

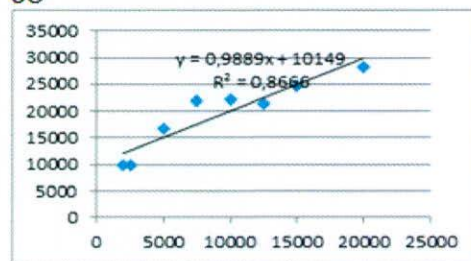


Figura 3. Representación gráfica del ensayo de linealidad para conocer la densidad celular ideal para realizar las pruebas de citotoxicidad. 3A ensayo de linealidad a las 24 horas. 3B. ensayo de linealidad a las 48 horas. 3C ensayo de linealidad a las 72 horas

Preparación del Biocerámico y Mineral Trióxido Agregado

Los materiales Biocerámico y el Mineral Trióxido Agregado se prepararon de acuerdo con las instrucciones del fabricante bajo condiciones de esterilidad. El Biocerámico su presentación comercial es en jeringas que permite la dosificación del mismo, el Mineral Trióxido De Agregado (MTA) se prepara mezclando el polvo con

agua estéril en una proporción de 3:1, en loseta estéril, con espátula de metal, luego del espatulado por un minuto, fue suficiente para hidratar todas las partículas del polvo y darle al material una consistencia cremosa. Este material tiene un tiempo de trabajo de cuatro a cinco minutos. La mezcla se lleva con un transportador de metal hasta los cultivos experimentales.

Tratamiento de las células

Las células fueron cultivadas en placas de 96 pozos a una densidad de 10.000 células por pozo en 100 ml de medio de crecimiento. Después de 24 horas de incubación, las células fueron sometidas a dos tratamientos diferentes. Se establecieron tres grupos experimentales: grupo control (células sin estímulo), grupo Mineral Trióxido Agregado, y grupo Biocerámico. Se llevaron las células para el ensayo de rezasurina, para realizar la prueba de citotoxicidad del Biocerámico y Mineral Trióxido Agregado, en los fibroblastos pulpaes. (Figura 4.)

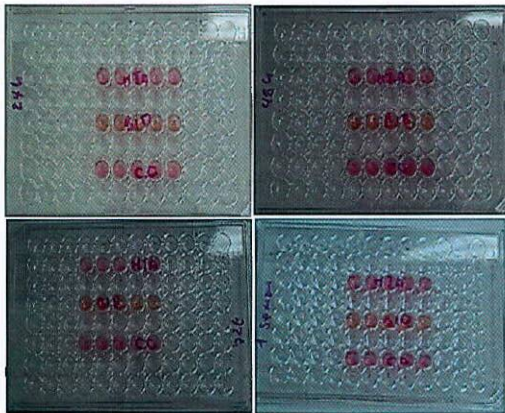


Figura 4. Cultivos de Fibroblastos pulpaes sometidos a los dos materiales experimentales Mineral Trióxido Agregado y Biocerámico

Ensayo de citotoxicidad (Resazurina)

Los ensayos de citotoxicidad se realizaron en placas de 96 pozos, en los cuales, se encontraban las células 10.000 células/pozo en un volumen de 100 μ L/pozo. Se evaluaron tres grupos (cinco repeticiones por tratamiento), grupo 1: control cultivo sin ningún material experimental, grupo 2: cultivo expuestos al MTA, grupo 3: cultivo expuestos al Biocerámico. Se clasificaron las cinco placas de acuerdo con los tiempos de lectura: 4, 24, 48, 72 horas y una semana, en los cuales se evaluó el grado de citotoxicidad por medio del test de Resazurina (ensayo fluorométrico para la viabilidad celular y la proliferación). La lectura se realizó con el lector TECAN GENIOS (Figura 5.) a una longitud de onda

de excitación de 535 nm y 595 nm de emisión.



Figura 5. Lecturas en el TECAN GENIOS de los cultivos

Método Estadístico:

Posterior a las observaciones en el microscopio los resultados fueron sometidos a una Prueba de t student y análisis de varianza factorial (A x B), para lo cual se utilizó el Software **SPSS versión 20**. En este estudio se consideró que existían diferencias estadísticamente significativa cuando $p < 0.05$. Nivel de confianza de 95%

Hipótesis Nula

No existen diferencias entre el comportamiento, viabilidad y citotoxicidad entre el Biocerámico y el MTA

Hipótesis Alternas

Existen diferencias entre el comportamiento, viabilidad y citotoxicidad entre el Biocerámico y el MTA

Resultados

Para este estudio y según la metodología se efectuó ensayo de citotoxicidad, con el test de Resazurina, para lo cual se realizaron tres cultivos, correspondiente a: Control, MTA y Biocerámico, los cuales se analizaron en cinco tiempos post exposición:

Tiempo 1 a: 4 Horas

Tiempo 2: 24 horas

Tiempo 3: 48 horas

Tiempo 4: 72 horas

Tiempo 5: a la semana.

Para el tiempo 1 (4h), se obtuvieron resultados de viabilidad celular del 55,8% para el MTA y del 64,9% para el Biocerámico, en comparación con el control que representa el 100%. Se comprueba la igualdad estadística en las varianzas con el test Levene trabajado con un $p > 0.05$, siendo los valores ($p=0.299$) y ($p=0.304$) respectivamente, se observa que no existen diferencias estadísticamente representativas entre los dos materiales. (Figura.6). Mediciones realizadas bajo observación en microscopio invertido Zeiss (Axiovert 40CFL) y el software Zen 2012; analizando cambios morfológicos en las células, así como espacios sin células (Figura.7)

Para el tiempo 2 (24h), la viabilidad celular fue 75,6% para el MTA y 48,3% para el Biocerámico, comparado con el grupo control de 100%, se evidencia igualdad de varianzas con el test de Levene con $p < 0.05$, ($p=0.034$) y ($p=0.034$) con un nivel de confianza del 95%, evidenciando que muestran diferencias en promedio entre los dos materiales siendo mayor el tratado con MTA. (Figura.6). Observación de células bajo el microscopio invertido (Figura.7)

Para el tiempo 3 (48h), la viabilidad celular fue 90,2% para el MTA y 78,1% para el Biocerámico, comparado con el grupo control 100%. Se comprueba la igualdad de varianzas con el test de Levene ($p=0.507$) y ($p=0.518$). Donde no se demuestran diferencias estadísticamente significativas entre los dos materiales a las 48 horas post aplicación al cultivo. (Figura.6). se registra fotografía bajo microscopio invertido, después de realizar la prueba de viabilidad celular (Figura.8)

Para el tiempo 4 (72h) la viabilidad celular fue 114,1% para el MTA y 101,4% para el Biocerámico, comparado con el control. Se comprueba la igualdad de varianzas con el test de Levene ($p=0.519$) y ($p=0.531$), se

evidencia que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los dos materiales a este periodo de tiempo. (Figura.6). Fotografía bajo microscopio invertido de los cultivos celulares. (Figura.8)

Para el tiempo 5, cultivos expuestos y, leídos a la semana, la viabilidad celular fue 91,0% para el MTA y 64,4% para el Biocerámico, comparado con el control (100%). Se demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas en las varianzas con el test de Levene con $p > 0.05$, siendo los valores p : 0.140 y 0.141, un nivel de confianza del 95%, (Figura.6). Al evaluar el grado de citotoxicidad de los dos materiales Biocerámico y MTA se comprueba que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en promedio entre los dos materiales en los tiempos de evaluación 4 ($p = 0.299-0.304$) 48 ($p = 0.507-0.518$), 72 horas ($p = 0.519-0.531$) y una semana ($p = 0.140-0.147$) post aplicación al cultivo, pero a las 24 horas ($p = 0.034$) si se presentaron diferencias significativas entre los materiales.

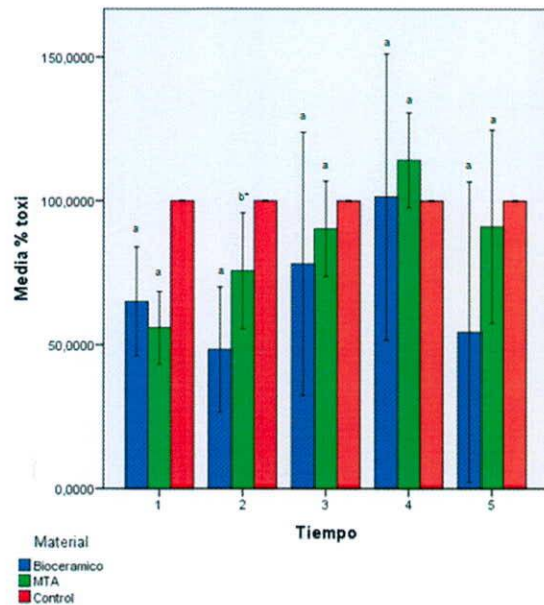


Figura 6. * Letras diferentes indican significativas ($p < 0.05$) con Anova de una vía.

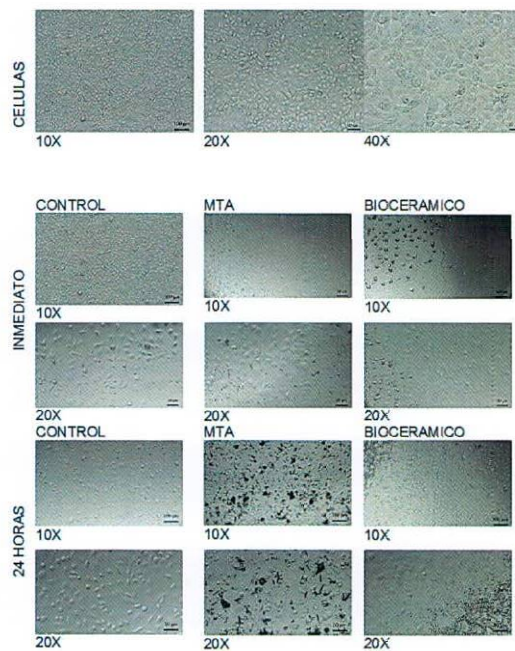


Figura 7. Fotografía bajo microscopio invertido Zeiss (axiovert 40CFL) software Zen 2012. 3A. cultivo de fibroblastos pulpaes observados bajo magnificación de 10X, 20X y 40X. 3B. cultivo de fibroblastos pulpaes grupos control, Mineral Trióxido Agregado y biocerámico observados a las 4 horas, en una magnificación de 10X Y 20X. 3C. cultivo de fibroblastos pulpaes grupos control, Mineral Trióxido Agregado y biocerámico observados a las 24 horas, en una magnificación de 10X Y 20X.

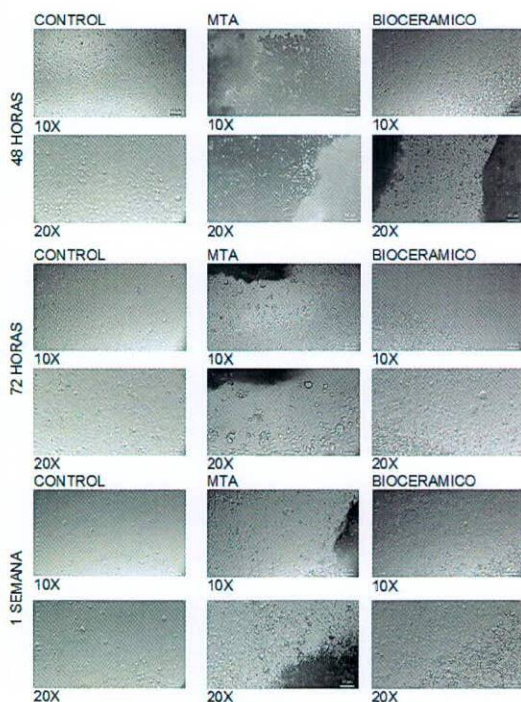


Figura 8. Fotografía bajo microscopio invertido Zeiss (axiovert 40CFL) software Zen 2012. 4A. Cultivo de fibroblastos pulpaes grupos control, Mineral Trióxido Agregado y biocerámico observados a las 48 horas, magnificación de 10X Y 20X. 4B, cultivo de fibroblastos pulpaes grupos control, Mineral Trióxido Agregado y biocerámico observados a las 72 horas, en una magnificación de 10X Y 20X. 4C, cultivo de fibroblastos pulpaes grupos control, Mineral Trióxido Agregado y biocerámico observados a una semana de exposición, magnificación de 10X Y 20X.

Discusión

El presente estudio es un estudio piloto, por lo tanto la evidencia científica referente a las observaciones de los tiempos planteados, es limitada, frente al estudio que se realizó.

El presente ensayo de citotoxicidad no mostró ninguna diferencia significativa en relación al patrón de citotoxicidad entre MTA y el Biocerámico para todos los tiempos experimentales, ($p > 0.05$) definido como diferencia estadísticamente significativa, por tal razón la hipótesis nula es aceptada, así como las hipótesis alternas se rechazan.

En esta temática se pueden citar investigaciones como la de Hirschman y colaboradores¹⁴ quienes evaluaron la viabilidad celular in vitro, de fibroblastos de dermis humana con 4 materiales dentales AMTA, ERRM, UBP, y Dycal, demostrando que el ERRM era más tóxico que el AMTA a las 48 horas, pero fue igual a los 5 días y menos tóxico en 8 días. En el presente estudio el MTA y el Biocerámico, se comportaron de maneras similares y a las 72 horas mostrando un aumento de la viabilidad celular, respecto a los otros 4 tiempos, sin embargo no se consideró estadísticamente significativa.¹⁴

Ma y col¹⁵ observaron que la viabilidad celular de fibroblastos se correlacionó significativamente con el tipo de material, el tiempo de fraguado, y tiempo de incubación. Se evidenció la viabilidad de fibroblastos expuestos con ERRM masilla, ERRM pasta, MTA e IRM y Cavit G, demostrando que las células expuestas a ERRM masilla y MTA presentaron altos niveles de viabilidad celular en todas las concentraciones, mientras que las células expuestas a IRM y Cavit G, mostraron las viabilidades más bajas. De esta manera, la viabilidad celular

con ERRM pasta, fue ligeramente inferior a las altas concentraciones del ERRM masilla y MTA, pero similar, en concentraciones de extracto inferiores.¹⁵

Liu y colaboradores¹⁶ evaluaron el efecto de Biocerámico en la proliferación de las células de la pulpa dental humana (hDPCs). Evidenciando un óptimo crecimiento celular, incluso en el lugar en contacto con Mineral Trióxido Agregado o Biocerámico. El ensayo MTT se empleó para investigar la proliferación de hDPCs. La proliferación de hDPCs en el grupo de MTA mejoro en los días 5 y 7, mientras que Biocerámico aumentó el número de células en los días 1 a 7. Biocerámico mejorando la proliferación significativamente de hDPCs los días 1 y 3 en comparación con MTA. Estos datos coinciden con los resultados obtenidos en nuestro estudio donde se evidencia que la viabilidad celular se incrementó con el tiempo de exposición, no obstante a la semana comenzó a disminuir.¹⁶

De-Deus y colaboradores¹⁷ en el 2009 analizaron la citocompatibilidad de un biocerámico con las células mesénquimales primarias humanas, en un modelo in vitro

con raíces de premolares, teniendo en cuenta tres grupos MTA, Biocerámico y control encontrando que la viabilidad celular medida por los estándares XTT, NR, y CVDE después de 24 horas en cultivo con MTA o con Biocerámico no hubo ninguna diferencia estadística en cualquiera de los tiempos experimentales 24, 48 y 72 horas. El presente estudio arrojó resultados similares donde a los diferentes tiempos post exposición, 4, 24, 48, 72 y una semana entre los dos materiales estudiados no se encuentra diferencias estadísticamente significativas con respecto a la viabilidad celular, cabe resaltar que a las 24 horas donde se observó que existe diferencia mayor que los demás tiempo sin embargo, frente al $p > 0.05$ definido no se puede considerar estadísticamente significativa, siendo el Mineral Trióxido Agregado presenta mayor viabilidad celular con respecto al Biocerámico.

De-Deus y colaboradores¹⁸ en el 2012 evaluaron la citocompatibilidad del, Mineral trióxido agregado y el Biocerámico en osteoblastos donde se demostró que el Mineral trióxido agregado mostró un patrón de citocompatibilidad muy similar al grupo

control negativo. Por otra parte, Mineral trióxido agregado no tuvo ningún efecto en función del tiempo, ya que la viabilidad celular se mantuvo estable después de 48 h post-exposición. El Biocerámico mostró resultados similares a Mineral trióxido agregado y el grupo de control negativo a las 24 h de la exposición. Sin embargo, Biocerámico disminuyó la viabilidad celular significativamente más que los otros dos grupos después de 48 h de exposición. Respecto al presente estudio se observó que la viabilidad celular si tuvo cambios de acuerdo al tiempo y siempre varió a medida que aumentaban las horas después de la exposición y que su punto más alto fue a las 72 horas.¹⁸

Al evaluar el grado de citotoxicidad de los dos materiales biocerámicos y MTA, se comprueba que no hay diferencias en promedio entre los dos materiales en los tiempos de evaluación 4, 48, 72 horas y una semana post aplicación al cultivo, pero a las 24 horas sí se presentaron diferencias significativas entre los materiales. Con el análisis de varianza y un nivel de confianza del 95%, se encontró que no hay efecto de los materiales en cambio hay efecto del

tiempo dado que a las 72h la viabilidad de ambos materiales aumento.

Conclusiones

De acuerdo con los datos obtenidos en el presente estudio la viabilidad celular con los dos materiales evaluados tienen un comportamiento diferente a las 24 horas después de la aplicación de los materiales, además el tiempo tiene un efecto directo sobre la proliferación de los cultivos dado que a las 72 horas aumenta sin importar el material evaluado.

El Mineral Trióxido Agregado y Biocerámico expuestos a cultivos de fibroblastos pulpaes son estadísticamente similares en la no afectación celular, ya que ninguno mostro nivel de citotoxicidad

El biocerámico presenta una óptima biocompatibilidad con los fibroblastos de pulpa dental, después ser expuestos. Asimismo, el ensayo in vitro de Resazurina demostró que el Mineral Trióxido Agregado y el Biocerámico presentan viabilidad celular similar. Y el biocerámico como el Mineral Trióxido Agregado logra aumentar la viabilidad celular a las 72 horas después de su exposición.

Recomendaciones

Teniendo en cuenta los resultados del presente estudio se sugiere realizar investigaciones adicionales, *in vivo e in vitro*, relacionadas con el uso de biocerámico, con el fin de conocer su comportamiento en tejidos vitales. Lo anterior, permitirá conocer sus características y posiblemente, validar su pertinencia como material óptimo en recubrimientos pulpaes directos.

Bibliografía

1. Yu C., Abbott P.V. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. Australian Dental Journal Supplement. 2007;52:S4-S16.
2. Smaïl-Faugeron V, Courson F, Durieux P, Muller-Bolla M, Glenny AM, Fron Chabouis H. Pulp treatment for extensive decay in primary teeth (Review). Copyright © 2014 The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd. 1-196.
3. Caicedo R, Abbott PV, Alongi DJ, Alarcon MY. Clinical, radiographic and histological analysis of the effects of mineral trioxide aggregate used in direct pulp capping and pulpotomies of primary teeth. Australian Dental Journal 2006;51:(4):297-305
4. Fuks A. B, Vital Pulp Therapy with New Materials for Primary Teeth: New Directions and Treatment Perspectives. Fuks Pediatric Dentistry. 2008; 30: 211-219
5. Smaïl-Faugeron V, Courson F, Durieux P, Muller-Bolla M, Glenny AM, Fron Chabouis H. Pulp treatment for extensive decay in primary teeth (Review). Copyright © 2014 The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd. 1-196.
6. Dean J.A, Mack R.B, Fulkerson B.T, Sanders B.J. Comparison of electrosurgical and formocresol pulpotomy procedures in children. International Journal of Paediatric Dentistry. 2002; 12:177-182
7. Agamy H.A, Bakry N.S, Mounir M. M.F, Avery D.R. Comparison of Mineral Trioxide Aggregate and Formocresol as Pulp-capping Agents in Pulpotomized Primary Teeth. *Pediatr Dent*. 2004; 26:302-309

8. Jayam C, Mitra M, Mishra J, Bhattacharya B, Jana B. Evaluation and comparison of white mineral trioxide aggregate and formocresol medicaments in primary tooth pulpotomy: Clinical and radiographic study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*. 2014; 32: 13-18
9. Arzu Pinar Erdem A, Guven Y, Balli B, Ilhan B, Sepet E, Ulukapi I, Aktoren O. Success Rates of Mineral Trioxide Aggregate, Ferrico Sulfate, and Formocresol Pulpotomies: A 24-month Study. *Pediatr Dent* 2011;33:165-170
10. Ciasca M, Aminoshariae A, Jin G, Montagnese T, Mickel A. A comparison of the Cytotoxicity and Proinflammatory Cytokine Production of EndoSequence Root Repair Material and ProRoot Mineral Trioxide Aggregate in Human Osteoblast Cell Culture Using Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction. *Journal of Endodontics*. 2012;38:486-489
11. De-Deus G, Canabarro A, Alves G.G, Marins J.R, Linhares A. B. R, Granjeiro J. M. Cytocompatibility of the ready-to-use bioceramic putty repair cement iRoot BP Plus with primary human osteoblasts. *International Endodontic Journal*. 2012;45: 508- 513
12. Yuan Z, Peng B, Jiang H, Bian Z, Yan P. Effect of Bioaggregate on Mineral-associated Gene Expression in Osteoblast Cells. *Journal of Endodontics*. 2010; 36:1145-1148
13. Ross-Pawlina, *Histología texto y atlas color con biología celular y molecular*, editorial medica panamericana. 5 edición. P 182
14. AAE Consensus Conference Recommended Diagnostic Terminology. *Journal Of Endodontics*. 2009;35.12.1634
15. Casas M.J, Kenny D.J, Johnston D.H, Judd P.L. Long-term Outcomes of Primary Molar Ferric Sulfate Pulpotomy and Root Canal Therapy. *Pediatric Dentistry* . 2014; 26; 44- 48
16. Arzu Pinar Erdem A, Guven Y, Balli B, Ilhan B, Sepet E, Ulukapi I, Aktoren O. Success Rates of Mineral Trioxide Aggregate, Ferrico Sulfate, and Formocresol Pulpotomies: A 24-month Study. *Pediatr Dent* 2011;33:165-170

17. Dean J.A, Mack R.B, Fulkerson B.T, Sanders B.J. Comparison of electrosurgical and formocresol pulpotomy procedures in children. International Journal of Paediatric Dentistry. 2002; 12:177–182
18. Bahrololoomi Z, Moeintaghavi A, Emtiazi M, Hosseini G. Clinical and radiographic comparison of primary molars after formocresol and electrosurgical pulpotomy: A randomized Clinical trial. Indian J Dent Res.2008; 19: 219-223