

01475



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGIA

EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DE LA COLAGENA
TIPO I DE CERDO E HIDROXIDO DE CALCIO, PARA LA
FORMACION DE PUENTES DENTINARIOS DURANTE SU
APLICACION COMO MATERIAL DE RECUBRIMIENTO
PULPAR.

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRIA EN CIENCIAS ODONTOLOGICAS

P R E S E N T A

ENRIQUE PEREZ GUARNEROS

TUTOR: DR. HIGINIO ARZATE

MEXICO, D. F.

2005

m349105



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Autor: Enrique Guarneros

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: ENRIQUE PÉREZ GUARNEROS

FECHA: 10 - OCTUBRE 2005

FIRMA: [Firma manuscrita]

AGRADECIMIENTOS:

He contado con muchas ayudas al escribir esta tesis . Debo mencionar, en particular, a Inés Guarneros Sánchez y Enrique Pérez Gorostiola, mis padres a quienes debo el haber llegado hasta este momento. A mi madre por su incansable e incondicional amor y ternura, a mi padre cuya luz nunca se apagará.

A mis hermanos

Gerardo, Chelo, Roberto, Rubén, mi agradecimiento por alentarme con su amor y comprensión fraternal, los llevo conmigo.

A mi hermana Lupita

Quien con su esperanza e ilusión me hace encontrar el sentido a la vida.

Aún queda mucho camino por recorrer y aún no podemos avistar su fin, pero es mejor viajar con esperanza que llegar. El afán por descubrir alimenta la creatividad en todos los campos del conocimiento humano. Si llegáramos a la meta, el espíritu humano se marchitaría y moriría. Pero no creo que nunca nos lleguemos a detener: crecemos en complejidad, si no en profundidad, y siempre nos hallaremos en el centro de un horizonte de posibilidades en expansión.

Stephen Hawking.

INDICE:

| | |
|--------------------------------|----|
| I.- TITULO Y RESUMEN | 3 |
| II.-ABSTRACT | 4 |
| III.-INTRODUCCIÓN | 5 |
| IV.-PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 11 |
| V.-JUSTIFICACIÓN | 12 |
| VI.-HIPÓTESIS | 20 |
| VII.-OBJETIVOS | 21 |
| VIII.-MÉTODOS Y MATERIALES | 22 |
| IX.-RESULTADOS | 24 |
| X.-DISCUSIÓN | 33 |
| XI.-CONCLUSIONES | 35 |
| XII.- BIBLIOGRAFÍA | 36 |
| XIII.- GLOSARIO. | 42 |

EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA COLÁGENA TIPO I DE CERDO E HIDROXIDO DE CALCIO, PARA LA FORMACIÓN DE PUENTES DENTINARIOS DURANTE SU APLICACIÓN COMO MATERIAL DE RECUBRIMIENTO PULPAR

. AUTOR : Pérez-Guarneros Enrique.

TUTOR : HIGINIO ARZATE.

RESUMEN.

Introducción: Los procesos reparativos del tejido pulpar y la formación de puentes dentinarios de la pulpa expuesta, han sido estudiados extensamente. En estos estudios se ha observado que el problema principal en el tratamiento de la pulpa es estimular la capacidad regenerativa y reparativa de los odontoblastos sin destrucción del tejido, o formación excesiva de tejido duro.

En el recubrimiento pulpar con hidróxido de calcio se presenta la formación de puentes dentinarios. Esta formación dentinaria es iniciada por la acción de un agente irritante (hidróxido de calcio) el cual provoca una necrosis superficial y estimula la llegada de células inflamatorias aguda para controlar y eliminar el agente irritante; en una segunda fase: inicia el proceso de reparación, por medio de la migración y proliferación celular con la formación de colágena tipo I y la formación de la cicatriz en el sitio de la lesión, lo cual es una característica del hidróxido de calcio. Por otro lado existen antecedentes que apoyan la utilización de colágena tipo I de cerdo como material de recubrimiento pulpar, ya que se menciona que es un biomaterial que posee actividad osteo-conductora que permite el establecimiento de una matriz adecuada para la migración y proliferación celular, acelerando el proceso de reparación formando parte del proceso natural de recuperación del tejido y evitando el proceso inflamatorio **Objetivo:** Determinar la efectividad de la colágena tipo I de cerdo en la formación de puentes dentinarios, en comparación con el hidróxido de calcio. **Método.** Se utilizó colágena tipo I de cerdo vs hidróxido de calcio, los cuales fueron usados como materiales de recubrimiento pulpar en 36 dientes de perro. Ambos materiales fueron colocados en contacto con el tejido pulpar en cavidades clase V con heridas pulpares hechas para tal propósito, colocando una capa de metilcelulosa entre el material de recubrimiento y la curación final a base de IRM para evitar la mezcla entre los materiales. Los dientes tratados fueron observados por examinación histomofológica y estructural después del recubrimiento pulpar por 7 días, 14 días, 21 días, 28 días, 40 días y 60 días. **Resultados.** Después de 14 días se observó una masa de tejido dental y células de tejido reparativo en los dientes tratados con ambos materiales. Después de 28 días, los puentes dentinarios se formaron y aparecieron células degeneradas con la colágena tipo I de cerdo, mientras que con hidróxido de calcio continuaba la masa amorfa de tejido. A los 40 y 60 días se pudieron observar puentes dentinarios densos bien formados con la colágena tipo I, mientras que con hidróxido de calcio continúa la formación de material amorfo. **Conclusiones.** Nuestros resultados sugieren que el uso de la colágena tipo I de cerdo como material de recubrimiento pulpar es más eficaz y promueve la formación de dentina reparativa mejor que el hidróxido de calcio sin irritación del tejido pulpar.

Palabras clave: Dentina, pulpa dental, moléculas bioactivas, recubrimiento pulpar, colágena tipo I

ABSTRACT

Summary.- The reparative processes of the pulp tissue and dental bridges formation of the exposed pulp, they have been studied widely. In these studies it has been observed that the main problem in the treatment of the pulp is to stimulate the regenerative and reparative capacity of the odontoblast cells without destruction of tissue, or excessive formation of hard tissue.

In the pulp capping with hydroxide of calcium, the formation of dental bridges is presented. This formation dentinal is begun by the action of an irritating agent (hydroxide of calcium) which causes a superficial necrosis and it stimulates the sharp arrival of inflammatory cells to control and to eliminate the irritating agent; in a second phase: it begins the reparative process, by means of the migration and cellular proliferation with the formation of collagen type I and the formation of the scar in the place of the lesion, that which is a characteristic of the hydroxide of calcium. On the other hand antecedents that support the use of pig's collagen type I like pulp capping material, exist since it is mentioned that it is a biomaterial that possesses activity inducible osteogenic that allows the establishment of an appropriate womb for the migration and cellular proliferation, accelerating the repair process being part of the natural process of recovery of the tissue and avoiding the process inflammatory **Objective:** To determine the effectiveness of the collagen type I of pig in the formation of dental bridges, in comparison with the hydroxide of calcium. **Method.** It was utilize collagen type I of pig vs hydroxide of calcium, which were used as materials of pulp capping in 36 dog teeth. Both materials were to place in contact with the pulp tissue in cavities class V with wounded pulps made for such a purpose, placing a metylcelulos layer between the material capping and the final cure with the help of IRM to avoid the mixture among the materials. The treated teeth were observed by examination histomorphologic and structural after the pulp capping for 7 days, 14 days, 21 days, 28 days, 40 days and 60 days. **Results.** After 14 days it was observed a mass of dental tissue and cells of reparative tissue in the teeth treatment with both materials. After 28 days, the dentinal bridges were formed and degenerate cells appeared with the collagen pig's type I, while with hydroxide of calcium the amorphous mass of tissue continued. At the 40 and 60 days bridges dense dentinal could be observed very formed with the collagen type I, while with hydroxide of calcium the formation of amorphous material continued. **Conclusions.** Our results suggest that the use of the pig's collagen type I like material of pulp capping is more effective and it promotes the formation of reparative dentine better than the hydroxide of calcium without irritation of the pulp tissue.

Key words: Dentin, Pulp dentin, bioactive molecules, Pulp capping, Collagen type I.

INTRODUCCIÓN

Los procesos reparativos del tejido pulpar y la formación de puentes dentinarios de la pulpa expuesta, han sido objeto de infinidad de investigaciones, en ellas se ha observado que el problema principal en el tratamiento de la pulpa, es estimular la capacidad regenerativa y reparativa de los odontoblastos sin degeneración del tejido o formación excesiva de tejido duro.

En la práctica profesional, esto representa un dilema, pues los criterios para poder determinar la salud del tejido pulpar no han sido claramente establecidos, y muchos de los recubrimientos pulpares están evaluados solamente sobre bases clínicas (ausencia o presencia de dolor y observación radiográfica).¹

Si tomamos en consideración como definición, que la salud pulpar es: La restauración del tejido especializado a su forma y función normal, entonces el recubrimiento pulpar se justifica solo si, los resultados son de regeneración del tejido por debajo de estos materiales.

En el campo de los procesos formativos y reparativos de los puentes dentinarios, existe una gran variedad de opiniones y materiales que se presentan con el propósito de dar solución a este problema, diversos materiales se han utilizado de forma experimental e incluso clínica, sin embargo, la destrucción y exposición de la capa odontoblástica en el tejido subyacente a una lesión, tendrá que ser sustituida para su regeneración, por células que tengan capacidad de organización y producción de matriz dentinaria, similar a los odontoblastos originales.^{2, 3}

Siendo el tejido pulpar, responsable del crecimiento, vitalidad, desarrollo y reparación del tejido dentinario, lo es también de su renovación, ya que es a

través del riego sanguíneo que desecha y remueve los productos indeseables, provee de anticuerpos y otros mecanismos de defensa, particularmente se pone en alerta en casos de agresión o lesión.

En este sentido, existe la necesidad de hacer una evaluación de la secuencia de los procesos de formación del puente dentinario, y establecer claramente los mecanismos reparativos de las células odontoblasticas, para poder definir claramente, la organización temprana de las células pulpares en el sitio de la lesión, ya que es un paso importante en el proceso de formación de los puentes dentinarios.⁴

El hidróxido de calcio, ha sido utilizado de manera extensa como un agente de recubrimiento pulpar, en una gran variedad de problemas asociados a la pulpa dental vital, así como a la pulpa no vital.

La terapéutica que se lleva a cabo con hidróxido de calcio para dientes no vitales, incluye los procedimientos de apexificación para la formación completa de la raíz dental, reparación de las perforaciones con resorción interna o perforaciones que se llevaron a cabo por medios mecánicos; así como la reparación de defectos de resorción radicular derivada de la inflamación pulpar. Sin embargo, de entre todas las utilidades del hidróxido de calcio las más solicitadas dentro de la práctica odontológica, es su uso como agente de recubrimiento pulpar directo e indirecto sobre pulpas vitales, derivado esto, de los grados de agresión de microorganismos integrados en el proceso de caries, que se lleva a cabo dentro de los tejidos dentarios; conduciendo a una contaminación bacteriana, que llega a afectar directamente a los odontoblastos, principal componente del órgano dentario que forma parte del tejido conectivo laxo, (células mesenquimatosas).⁵

Es a través de un recubrimiento pulpar directo, con productos que contienen hidróxido de calcio principalmente u otros agentes de recubrimiento pulpar; que se presenta la formación de un puente dentinario, producido a través de dentina irritativa, la cual es una característica de la curación de la pulpa dental.⁶

Por otro lado, se ha observado que la dentina contiene información específica a través de la matriz dentinaria, que es capaz de inducir la diferenciación de las células pulpares hacia odontoblastos; los implantes de matriz dentinaria promueven un efecto sobre la diferenciación de células ectomesenquimatosas de la pulpa y sitios de la papila, dentro de la formación de células de la matriz; y de la interacción de células pulpares-matriz dentinaria, resulta la histogénesis de dentina; la interacción de células papilares-matriz dentinaria, resulta la histogénesis de tejido óseo; y así también la interacción de células pulpares con matriz ósea, resulta la histogénesis de osteodentina.⁷

Dentro de los agentes de recubrimiento pulpar directo, se ha comprobado que el hidróxido de calcio en crema (Dycal; Dentsplay), y en especial el hidróxido de calcio con solución salina; son los medicamentos con mayor éxito para la estimulación de la reparación de la herida en tejido pulpar, con un puente dentinario y una exposición pulpar a la inflamación.⁸

Dentro de las formas de aplicación del hidróxido de calcio, se han realizado estudios en perros, utilizando la presentación en pasta y polvo, sin encontrar diferencias en los resultados de la acción propiamente del hidróxido de calcio, concluyendo que si existen diferencias entre los resultados de una a otra presentación, se deben directamente a la técnica de aplicación del material⁸

Así también, se han realizado diversos estudios para evaluar la calidad del puente dentinario formado a través de la medicación con hidróxido de calcio, en el que una vista pulpar del puente, de las superficies coronales y apicales del tejido duro formadas, presentaron un gran número de orificios ovales o circulares de un diámetro entre 20 y 250 μm , originando esto una gran permeabilidad del puente dentinario observado a través de la tinción con azul de metileno; por lo que, dicho puente queda expuesto al medio ambiente oral, facilitando la penetración de bacterias u otras toxinas que pueden afectar al tejido pulpar remanente.^{8,9}

Posteriormente se describe la secuencia observada de la reacción tisular que sigue al recubrimiento con hidróxido de calcio, en la cual en una primera fase, se observa la llegada de células inflamatorias de migración y proliferación, para controlar y eliminar el agente irritante (que en este caso es el propio hidróxido de calcio); en una segunda fase, ocurre el proceso de reparación, con migración y proliferación de las células pulpares mesenquimatosas endoteliales, y la formación de colágena tipo I, así como la formación de la cicatriz.^{8,9}

Con la ayuda de un mediador como la fibronectina (FN), en las conexiones mecánicas entre las superficies y la membrana plasmática de las células pulpares, siendo posible con la correlación de glicoproteínas adhesivas la polarización de los odontoblastos durante el desarrollo del diente, se ha demostrado la intervención de la FN en la iniciación después del desarrollo de la dentinogenesis.⁹

Cuando la pulpa es protegida de la irritación, la formación de tejido disminuye, las células pulpares se diferencian en odontoblastos y el tejido formado asume la apariencia de dentina, es decir, la función de dentina normal.

La necrosis provocada por el hidróxido de calcio, causa la irritación pulpar y estimula a las células pulpares a defenderse y reparar.¹⁰

Algunos de los cementos que contienen hidróxido de calcio reportan la inducción de una barrera de tejido duro en contacto con el medicamento; esta no es razón para suponer, sin embargo, que el efecto de tales cementos debe ser biológicamente diferente, desde que se inducen por el hidróxido de calcio como tal.¹¹

El hidróxido de calcio en suspensión sólo se ha usado como material de obturación radicular después de la pulpotomía, en dientes permanentes; para promover el cierre apical en la incompatibilidad del desarrollo dental o para promover el proceso de recuperación de lesiones apicales; esta suspensión de hidróxido de calcio es responsable de la disolución y resorción, además durante este proceso se observa tejido necrótico, células inflamatorias y extravasación de eritrocitos (estudio hecho en monos).^{11,12} Por tal motivo se han desarrollado diversos bio-materiales para tratar de modificar la respuesta ontogénica.

Para comprender mejor el comportamiento de estos materiales, en primer lugar, hay que establecer dos conceptos importantes, para lograr una recuperación óptima de los tejidos; primero, se ha establecido como osteoinducción, la diferenciación de células osteogénicas y el comienzo de la producción de hueso nuevo dentro de un implante o en las cercanías de éste; y segundo se ha establecido como osteoconducción, a la sustitución progresiva y crecimiento de hueso nuevo dentro de la estructura que sirva como matriz cuando ésta se coloca dentro o cerca del hueso.^{13, 14}

Debido a las semejanzas que guardan las células osteogénicas con las dentinogénicas, ya que derivan del mismo extracto celular mesenquimatoso; los logros que se produzcan en cuanto a la obtención de nuevos biomateriales que fomenten la osteoconducción, pueden ser aplicados para la dentinoconducción, evitando así la formación de tejidos duros de mala calidad y de gran irritación para las células odontoblasticas.¹⁵

Por esto, se busca la aplicación de materiales para uso dental biocompatibles con el tejido pulpar, en especial con la matriz dentinaria, el cual evite el proceso inflamatorio que produce el hidróxido de calcio al tener un pH mucho más alcalino que el tejido pulpar vital, y que en lugar de fomentar la formación de un puente dentinario de baja calidad a través de la irritación del tejido conectivo, sea parte del proceso natural de regeneración dentinaria de los odontoblastos, con la producción de tejidos duros de mayor calidad (osteoconducción).¹⁶

Todo esto, con el propósito de dar una mejor oportunidad de regeneración a la pulpa ya irritada por un proceso bacteriano, derivado de los microorganismos formadores de caries y los desechos que producen e irritan al odontoblasto.^{17, 18}

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la efectividad de colágena tipo I de cerdo e hidróxido de calcio para la formación de puentes dentinarios durante su aplicación como material de recubrimiento pulpar ?

Justificación:

La dentinogenesis, ha sido estudiada extensamente por un sin número de investigadores, con la intención de comprender mejor la formación y mineralización del tejido conectivo colagénico que es un tejido muy parecido al hueso, pero con sus características propias.

Esta característica única de la dentina, es su mineralización en las cercanías del tejido pulpar, pues el tejido desmineralizado aumenta gradualmente su grosor a expensas del espacio previamente ocupado por la pulpa.¹⁹

La pulpa dental, no solamente es conocida por su capacidad para proveer de nutrientes y dar sensibilidad a la dentina, sino que también tiene su propia capacidad reparativa. Este potencial tiene importantes implicaciones en la terapia dental.

Es en este sentido que el uso de biomoléculas (colágena tipo I) como materiales de recubrimiento pulpar, son de vital importancia para comprender mejor la capacidad reparativa del tejido conectivo de la pulpa.²⁰

Los espacios extracelulares en los tejidos son llenados con matriz extracelular organizada (MEC), la cual esta compuesta de proteinglicanos; como las proteínas fibrosas: colágena, elastina y fibrina; moléculas de adhesión: como la fibronectina y laminina; y diferentes tipos de metaloproteinasas (MMPs) que juegan un papel importante en las señales y actividad celular.

Las colágenas son el mayor grupo de proteínas fibrosas de la MEC, con estructura helicoidal de triple hélice, de cadenas alfa, en las diferentes colágenas. Como dato

diremos, que de 19-20 tipos de colágena han sido identificados, así como su naturaleza molecular y función.²¹

La Colágena tipo I, es el mayor componente de la MEC en piel, tejido óseo, ligamentos, etc., esta compuesta de glicina y prolina, y dos cadenas alfa1(I) y una alfa 2(I), ambas, reguladas por dos genes de cadenas polipeptídicas pro-COL1A1 y COL1A2 localizados en el cromosoma 17q21.31-22.05 y en el 7q21.3-22.1 respectivamente, las cuales son sintetizadas por fibroblastos, osteoblastos y **odontoblastos** en el interior del retículo endoplásmico rugoso, donde una prolina específica y residuos de lisina, son hidroxilados hacia hidroxiprolina e hidroxilisina respectivamente, lo cual ayuda a las cadenas pro-alfa a combinarse con otras cadenas, mediante uniones de puentes hidrógeno, formando la triple hélice de la procolágena.²²

La procolágena es secretada por células como los fibroblastos y odontoblastos, a través del aparato de Golgi en el espacio extracelular, en donde la porción N-terminal y C-terminal propeptídicas, son cortadas por proteasas específicas.²³

El proceso de maduración de las moléculas de colágena, dan como consecuencia la forma larga de las fibras; que ayudan a la formación de la MEC con otros componentes.

Por lo tanto la estructura, función, producción y depósito de la colágena tipo I en la MEC son regulados en varios pasos. Las anomalías en cualquiera de estos pasos trae como consecuencia la osteogénesis y dentinogénesis imperfecta.^{24, 25}

La colágena tipo I es un biomaterial con actividad de osteoconducción, que permite el establecimiento de una biomatriz adecuada para la migración e invasión

de células osteoprogenitoras, que probablemente favorece la migración de células inmunoreactivas como la osteopontina y a la osteonectina acelerando el proceso de reparación.²⁶

Se ha demostrado que las biomatrices de tejidos desmineralizados, tienen capacidad de inducir la formación de tejido nuevo en sitios ectópicos al de su origen. El aislamiento, la identificación y la clonación de los componentes de la matriz dentinaria con potencial inductivo, han mostrado que pertenecen a la súper familia de TGF- β . Estos componentes llamados proteínas morfogénicas óseas (PMO), implantados en sitios ectópicos inducen la formación de hueso, a través de los procesos que ocurren en la osificación endocondral.^{27, 28}

Siendo la colágena tipo I la mayor proteína de la MEC, comprendiendo un 90% de ésta, juega un papel importante en la reparación ósea, por lo que la convierte en un buen osteoconductor, de la formación radicular en dientes jóvenes, sin producir irritación pulpar en el proceso.²⁹

Por otro lado la implantación de colchones de colágena en defectos de hueso de la mandíbula mostró osificación más rápida.

Para establecer el origen de las células que reemplazan a los odontoblastos dañados, se hace necesario conocer también la secuencia de mineralización del tejido formado. Se ha sugerido que estas células de reemplazo son fibroblastos multipotenciales alrededor del tejido dañado.³⁰

Este punto de vista puede ser interesante para determinar el efecto de este tipo de moléculas sobre la diferenciación de los odontoblastos, expresión del gene,

síntesis de proteínas, producción de matriz dentinaria, regeneración, y reparación pulpar.³¹

Algunos investigadores, han demostrado que la permeabilidad de la dentina es afectada después de las primeras horas de la preparación de cavidades; lo cual significa que la dentina puede alterar su permeabilidad antes que la pulpa pueda responder con la formación de nuevo tejido.

Esto hace pensar que la respuesta pulpar requiere de un estado de salud y microcirculación adecuada en estados de agresión, pues la reacción pulpar puede provocar la fuga de proteínas plasmáticas de alto peso molecular de capilares cercanos a la región o que están en los túbulos dentinarios; en donde son absorbidas por las paredes de los túbulos, generando una elevación local y temporal de la presión sanguínea del tejido pulpar, lo cual produce una disminución del riego sanguíneo.³²

Pase lo que pase, la dentina puede afectar a la pulpa y viceversa, también, el tejido periapical puede ser afectado por la relación y apertura de estos vasos que permiten el paso de toxinas y agentes irritantes:

En investigaciones recientes, con análisis bioquímicos, se ha reportado la importancia de los mecanismos humorales y neuroquímicos; como el efecto de la bradiquinina y trombina sobre la formación de prostaglandinas en la biosíntesis de colágena tipo I y la proliferación celular de la pulpa que está involucrada en el control del riego sanguíneo y en la respuesta del tejido pulpar al daño.³³

Esto ha sugerido que existe la formación de una capa de células multipotenciales en los alrededores de la zona dañada, en donde se inicia la dentinogenesis,

siendo los principales componentes orgánicos del tejido pulpar, la colágena tipo I, glicosaminoglicanos, proteínas morfogénicas (BMP 1, 2) y la osteopontina (OPN); que es una fosfoproteína relacionada con la mineralización secundaria de la dentina irritativa.^{34, 35}

Es en esta parte del proceso, en donde la síntesis de ADN y la actividad mitótica de estas células son un paso importante en el proceso de diferenciación celular.³⁶

Siendo este proceso de síntesis muy breve, en donde se observa una intensa actividad organizativa de las células cercanas al material de recubrimiento; con un aumento relativo de la actividad fibroblástica comparada con la actividad celular del endotelio. Podríamos decir que aparentemente la población de fibroblastos puede ser el inicio del reemplazo de los odontoblastos dañados o perdidos.^{37, 38}

Estos hechos están basados en la afirmación de que la síntesis de ADN es un prerrequisito para el reemplazo celular, ya que generalmente, en el área de amputación, después de haber colocado el material de recubrimiento, este generalmente se mezcla con sangre y la zona amputada esta macerada, necrosada o coagulada.^{39, 40, 41}

Para el caso del hidróxido de calcio, se ha observado el desarrollo de una delgada capa de tejido pulpar coagulado y necrosado a los pocos minutos de aplicarse el medicamento, a los 7 días después de la aplicación en la zona de amputación, se observó un marcado aumento de capilares, justamente por debajo de la zona dañada, estos vasos estaban siempre dilatados y casi siempre con pequeñas hemorragias dentro del tejido pulpar; observándose una matriz intercelular prominente con calcificación primaria.^{42, 43}

Cercana a esta zona se ha observado una zona de células degeneradas, con formación de zonas de calcificación distrófica, justamente a los 14 días después de la amputación; con la formación de un plexo sanguíneo subodontoblastico por debajo de las células que formaban dentina permanente.⁴⁴

Sin embargo, a cierta distancia del sitio de la lesión, los odontoblastos fueron estimulados fuertemente y produjeron grandes cantidades de dentina secundaria rápidamente, formando los márgenes laterales de los puentes dentinarios; la superficie del puente dentinario se formó por la coalescencia de calcosferitos con numerosos orificios circulares u ovals de 20 a 250 μm de diámetro.⁴⁵

La permeabilidad fue evaluada con un colorante de fácil difusión mostrando una intensa filtración a través de los orificios.

La calcificación primaria, fue probablemente producto de la degeneración celular, mientras que los puentes de dentina permanente fueron formados como resultado de un proceso celular vital.^{46, 47} Para comprobar a que nivel está actuando la colágena tipo I, se evalúa la expresión de la OPN, FN y osteonectina (ONC) durante el proceso de reparación.

La osteopontina, es una proteína que se expresa y sintetiza por los osteoblastos y se deposita en la matriz ósea, participando en la mineralización de la matriz extracelular, durante la formación del tejido duro la fibronectina, se expresa en aquellos sitios donde ocurre la migración de los osteoblastos.⁴⁸

La alta expresión de la OPN y ONC en las lesiones tratadas con colágena tipo I, podría indicar que a ese nivel es donde ocurre la aceleración de la consolidación ósea.

Esta proteína (colágena tipo I), se expresa también en odontoblastos, osteoblastos, en células de medula ósea y condrocitos hipertróficos; su función está asociada con la unión de la colágena tipo I al calcio y a la hidróxiapatita sugiriendo un papel muy importante en la mineralización de la matriz ósea.

Finalmente la expresión de la fibronectina no se ve alterada por el tratamiento con colágena tipo I; lo que sugiere que está actúa en el ámbito de células óseas promoviendo la expresión de moléculas (OPN y ONC) que participan en la formación, remodelación y mineralización de dentina y hueso.^{49, 50}

La utilización de colágena tipo I como material de recubrimiento del tejido pulpar, a llamado últimamente la atención, debido a que sus funciones biológicas poseen excelentes propiedades "*in vivo*" como material de implantes, membranas de regeneración y como inductor de formación ósea.⁵¹

La colágena tipo I utilizada como agente hemostático en extracciones dentarias ha demostrado que acelera la cicatrización ósea, promueve la formación y contracción del coágulo; en resumen acelera la respuesta del tejido a la reparación absorbiéndose el material completamente en pocas semanas.^{52, 53}

Se ha demostrado en procesos de reparación de defectos que la colágena tipo I tiene la capacidad de formación ósea con reemplazo del tejido fibroso.

En tejido pulpar, se ha visto que induce la formación de dentina reparativa, provocando una respuesta fibroblástica estimulada por la invasión angiogénica de

OP-1 y la fibronectina que se unen a las fibras procolágeno, que se están formando alterando la cinética de formación de fibrillas en la matriz pericelular.^{54, 55}

En el tejido pulpar la regeneración es el resultado de un proceso de neoformación de tejido lo más parecido a su forma y función original.^{56, 57}

La utilización de biomateriales como la colágena tipo I en las exposiciones pulpares, son de importancia para determinar si estos materiales tienen la capacidad de inducir los mecanismos que inician la regeneración del tejido pulpar, sustituyendo los odontoblastos dañados, controlando y acelerando los procesos inflamatorios, para reducir los tiempos de recuperación del tejido y devolverle su capacidad de respuesta conservando sus propiedades biológicas y neurofisiológicas.^{58, 59}

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Tomando en consideración las evidencias que existen del hidróxido de calcio y la colágena tipo I de cerdo como materiales de recubrimiento pulpar, suponemos que; la colágena tipo I de cerdo, aplicada localmente en el sitio de la lesión, tendrá mayor efectividad en la formación de puentes dentinarios que el hidróxido de calcio.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar la efectividad de la colágena tipo I de cerdo como material de recubrimiento pulpar.

Objetivos específicos:

Determinar la efectividad del hidróxido de calcio como material de recubrimiento pulpar en la formación de puentes dentinarios.

Comparar la efectividad de ambos materiales en la formación de puentes dentinarios.

MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO:

Experimental, prolectivo, longitudinal, comparativo

| VARIABLES | DEFINICIÓN | TIPO | NIVELES DE MEDICIÓN | CATEGORÍA | PRUEBAS |
|----------------------------------|--|---------------|--|---------------------|--------------|
| COLÁGENA TIPO I DE CERDOS | Protelna fibrosa de la matriz extracelular | INDEPENDIENTE | Si forma puente dentinario no forma puente dentinario | Cualitativa nominal | Chi-cuadrada |
| HIDRÓXIDO DE CALCIO | Reactivo en polvo blanco con pH 12.5 | INDEPENDIENTE | Si forma punte dentinario No forma puente dentinario | Cualitativa nominal | Chi-cuadrada |
| FORMACIÓN DE Puentes DENTINARIOS | Tejido atubular amorfo e irregular con reemplazo de células inertes o dañadas por células sanas. | DEPENDIENTE | POSITIVA NEGATIVA | Cualitativa nominal | Chi-cuadrada |
| PULPA DENTAL | Tejido conectivo laxo de células ectomesenquimatosas | INTERVINIENTE | Leve, moderado, severo | Cualitativa ordinal | Chi-cuadrada |

Se utilizaron 36 dientes de 3 perros, de raza mestiza de la misma edad, sexo, peso y alojados para cumplir cuarentena y estandarizar alimentación basándose en alimento balanceado a base de croquetas Proplan^{MR}.

Cada espécimen fue sedado con una dosis de atropina como preanestésico a una dosis de 0.45 mg./Kg. IV. ; hidrocloreuro de xílazina 0.5mg- 1.0 mg./Kg IM. y pentobarbital sódico 55mg/Kg IV.

En cada perro las arcadas fueron divididas en cuadrantes formando cuatro cuadrantes (superior, inferior, derecho e izquierdo) en donde en cada cuadrante se seleccionaron 3 dientes para el estudio, dejándose los caninos como grupo control

sin tratamiento; los 2° premolares como tratamiento (A) para hidróxido de calcio y tratamiento (B) Los 1° molares de cada cuadrante para colágena tipo I de cerdo.

En todos los dientes de cada grupo se prepararon cavidades clase V bucal con una fresa de carburo bola de ½ mm SS White y una pieza de mano de baja velocidad e irrigación con agua destilada resultando una exposición pulpar con destrucción de la capa odontoblástica.

La hemostasis fue realizada con torundas de algodón estériles y la exposición pulpar fue cubierta con hidróxido de calcio en polvo mezclado con agua bidestilada y colágena tipo I (Aspid) respectivamente en cada grupo.

Las cavidades fueron selladas con una delgada capa metilcelulosa e IRM (caulk) para evitar la mezcla de los materiales en estudio.

Bajo anestesia los perros fueron perfundidos con una solución de azul de metileno al 1% y paraformaldehído al 4% para permeabilidad dentinaria, posteriormente los dientes se fijaron en esta solución por espacio de 4 hrs.

Los perros fueron sacrificados a intervalos de 2, 4 y 8 semanas obteniéndose muestras dentarias de 7, 14, 28, 40 y 60 días.

Los dientes fueron desmineralizados en EDTA al 10% pH 8.0 a 4°C y agitación durante cuatro semanas, posteriormente lavados en agua destilada y deshidratados en concentraciones ascendentes de alcohol etílico 25%, 50%, 75%, 100% y clareados en Xílol al 100% finalmente las muestras fueron orientadas y embebidas en parafina.

Se obtuvieron secciones de 6 micras de manera longitudinal, y transversal incluyendo el ápice y teñidas con Hematoxilina y Eosina.

Los cortes histológicos realizados fueron evaluados determinando los cambios ocurridos en los dientes tratados con colágena tipo I de cerdo e hidróxido de calcio comparándolos entre sí, y poder establecer las diferencias morfológicas y de formación dentinaria entre ellos, comparándolos a su vez con el grupo control.

Para el diseño estadístico se utilizó el programa SPSS versión 12.0 y se calcularon porcentajes y χ^2 con un nivel de confianza del 95%.

RESULTADOS

Las observaciones microscópicas de las exposiciones pulpares en los dientes controles desde el 7 a los 60 días postoperatorios, revelaron una dentina irritativa amorfa y discontinua. Esto confirma la validez del modelo para evaluar la formación de dentina irritativa (reparativa) como consecuencia de la acción de diferentes biomateriales.

En los grupos experimentales de los tratamientos A y B respectivamente para el hidróxido de calcio y la colágena tipo I de cerdo, se observó la formación de dentina reparativa hasta la consolidación y mineralización en ambos casos.

Sin embargo, basados en los resultados estadísticos obtenidos, en el 92.3% de dientes tratados con colágena tipo I de cerdo, formaron tejido de reparación.(Cuadro .1).

CUADRO.-1 FORMACIÓN DENTINA REPARATIVA POR GRUPO EXPERIMENTAL

| TIPO TRATAMIENTO | FRECUENCIA | | PORCENTAJE | |
|--|------------|----------|------------|----------|
| | Negativa | Positiva | Negativo | Positivo |
| GRUPO CONTROL | 9 | 3 | 75% | 25% |
| TRATAMIENTO A (Hidróxido de calcio) | 5 | 7 | 41.7% | 58.3% |
| TRATAMIENTO B (Colágena) | 1 | 11 | 7.7% | 92.3%* |

El cuadro muestra la frecuencia y el porcentaje de respuesta después de la aplicación de la colágena tipo I de cerdo y el hidróxido de calcio donde se puede observar que la colágena tipo I de cerdo tiene mejor respuesta.

* $p < 0.05$

En las observaciones histológicas encontramos diferencias en la velocidad de formación, calidad y regeneración del tejido pulpar.

En el tratamiento A.- Se trataron 12 dientes con hidróxido de calcio; el primer efecto sobre las células pulpares fue, la destrucción y necrosis. Observándose en esta zona un edema debido a la presión aplicada y la presión del edema de la

zona adyacente, más tarde la zona mostró una zona de licuefacción resultado de una lesión química con zonas de coagulación, necrosis y la llegada de células vasculares e inflamatorias de migración y proliferación para controlar y eliminar el agente irritante que en este caso es el propio hidróxido de calcio.

Al 7º día, se observa la formación de una capa de colágena adyacente a la zona de necrosis con focos de mineralización en el fondo de la capa haciéndose más homogénea en contacto con tejido vital (Figura. 1 y 2).

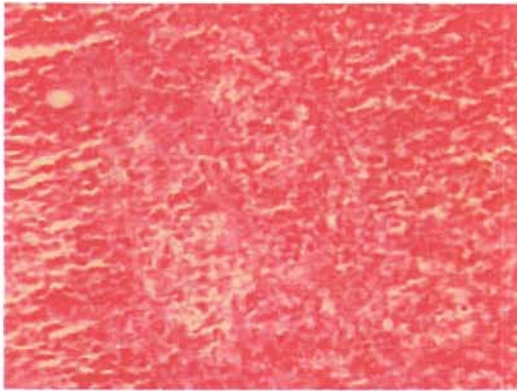


Figura 1. Se observa tejido inflamado y necrosado por acción del hidróxido de calcio.

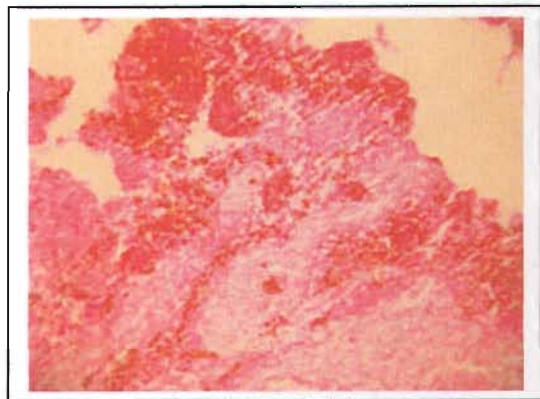


Figura 2. Respuesta inflamatoria aguda. Hiperemia pulpar clásica

Al día 15 se observa aún tejido necrótico, amorfo con infiltrado inflamatorio, crónico, migración y proliferación de células pulpares mesenquimatosas y endoteliales con aumento en la formación de colágena, así como la formación de la cicatriz .(Figura 3.)



Figura 3. Se observa: 1. La zona de la cavidad de acceso con restos de hidróxido de calcio. 2. Zona de necrosis amplia y severa en la superficie del corte; 3. La reparación en zonas más profundas con formación de dentina reparativa en la zona

Asimismo, a los 30 días postoperatorios se encontró una barrera consistente de tejido parecido a la predentina en unión con células parecidas a odontoblastos y un infiltrado crónico con una capa de predentina bien definida con abundantes fibras de colágena.

Al día 40, la zona de necrosis pulpar desapareció y en su lugar se encontró tejido parecido a dentina y tejido pulpar bien vascularizado.

En algunos especímenes, se encontraron fragmentos de tejido necrótico con formación predentinaria y algunos vasos.

Al día 60, se observó tejido dentinario en dos capas una primera de tejido irregular de dentina bien mineralizada con pocos tubos dentinarios y una línea de nuevos odontoblastos.

Cabe mencionar que en el 40% de los dientes tratados con hidróxido de calcio se observó solo infiltrado inflamatorio crónico y fragmentos de tejido necrótico (Figura 4).

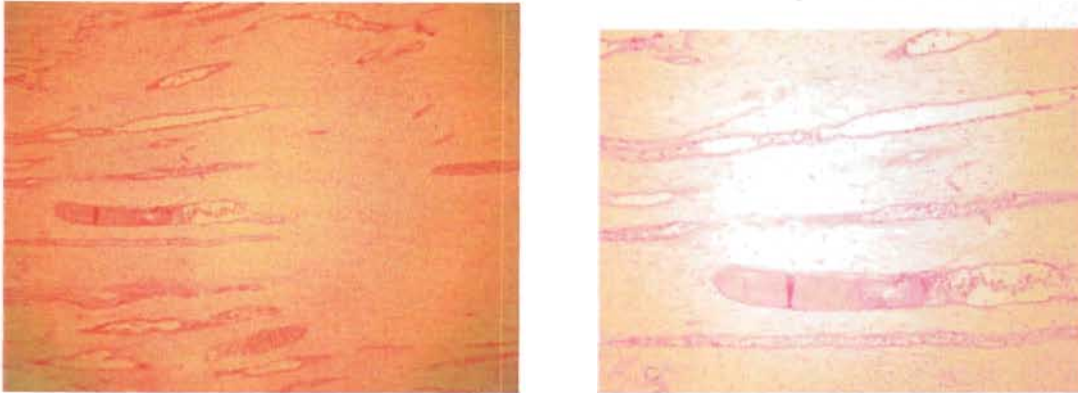


Figura 4. En estas figuras se puede observar el proceso inflamatorio del tejido conectivo pulpar

En el tratamiento B, Los 12 dientes tratados con colágena tipo I de cerdo, encontramos que mas 90% de los dientes tratados presentaron un grado mayor de formación del tejido pulpar desde el 7° día hasta el 15° día postoperatorio que los dientes tratados con hidróxido de calcio ($p < 0.05$).

En está fase, se observa tejido pulpar normal con tejido parecido a la preentina, células parecidas a odontoblastos y capa de tejido conjuntivo laxo bien vascularizado con fibroblastos y escasas células inflamatorias con tejido apical conservado.

En los días 40 y 60 se observó tejido conjuntivo fibroso denso, fibroblastos y numerosos vasos sanguíneos con formación de dentina bien mineralizada y pocos túbulos dentinarios. El tejido pulpar normal con su capa de células odontoblasticas.

Al finalizar el período experimental la histología del tejido dental fue muy similar en ambos grupos, pero en los dientes en donde se colocó colágena tipo I de cerdo, la formación de dentina se observa más densa cuando se compara con el grupo de hidróxido de calcio. Lo cual hace pensar, tomando en consideración la información

hasta ahora existente, que la colágena tipo I de cerdo favorece la migración de moléculas inmunoreactivas como la osteopontina y osteonectina acelerando el proceso de reparación dentinaria. (Cuadro 2) (Figura 5 y 6).

CUADRO 2.- EFECTOS DE LA COLÁGENA TIPO I DE CERDO E HIDRÓXIDO DE CALCIO.

| HIDRÓXIDO DE CALCIO | COLÁGENA TIPO I DE CERDO |
|--|---|
| 1ª FASE | 1ª FASE |
| Destrucción y necrosis Edema y licuefacción del tejido Zonas de coagulación Migración cel. Inflamatorias agudas | Formación de tejido amorfo. Expresión de glicoproteínas de alto peso molecular con capacidad inductiva como OPN, OCN y FN. |
| 2ª FASE | 2ª FASE |
| Presencia de cel. Inflamatorias crónicas Y síntesis de colágena con formación de la cicatriz. | Expresión de MEC, migración y proliferación de células formadoras de dentina. Mineralización del tejido. |

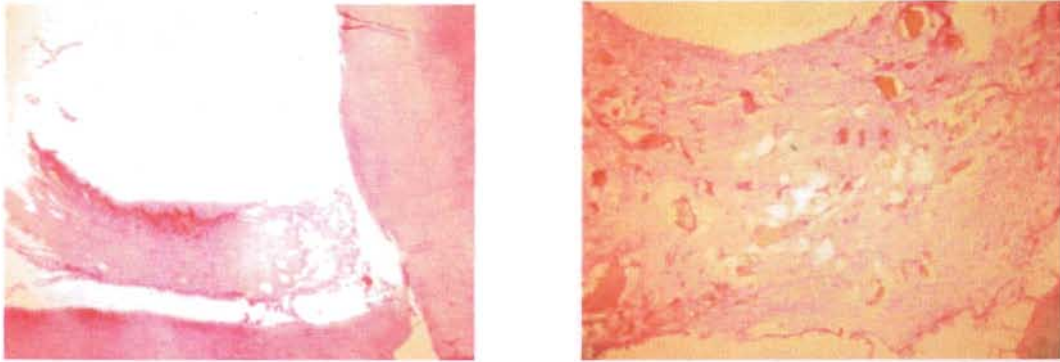


Figura 5. Formación de puente dentinario con aplicación de colágena tipo I de cerdo y reparación del tejido con sugerencia de mineralización.

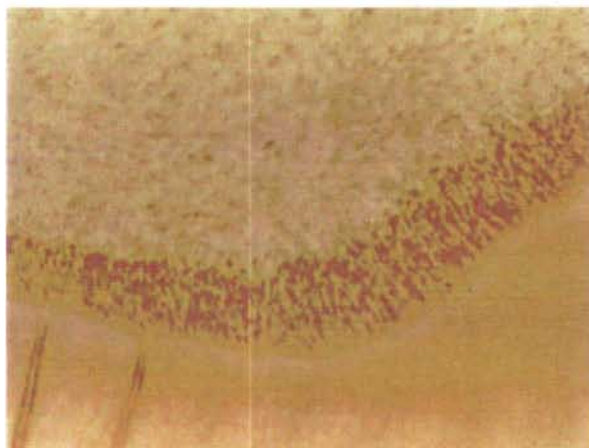


Figura 6. Reparación del tejido pulpar

Estadísticamente se pudo comprobar que existe diferencia en los porcentajes de los dientes tratados de los tres grupos ($p < 0.05$) (Ver cuadro 1)

La colágena tipo I de cerdo, demostró tener un 90% mejor respuesta a la formación de puentes dentinarios que el hidróxido de calcio como puede observarse en el gráfico (1, 2 y 3).

GRAFICO PORCENTAJE COMPARATIVO DE RESPUESTA PULPAR POSITIVA DE LOS TRES GRUPOS

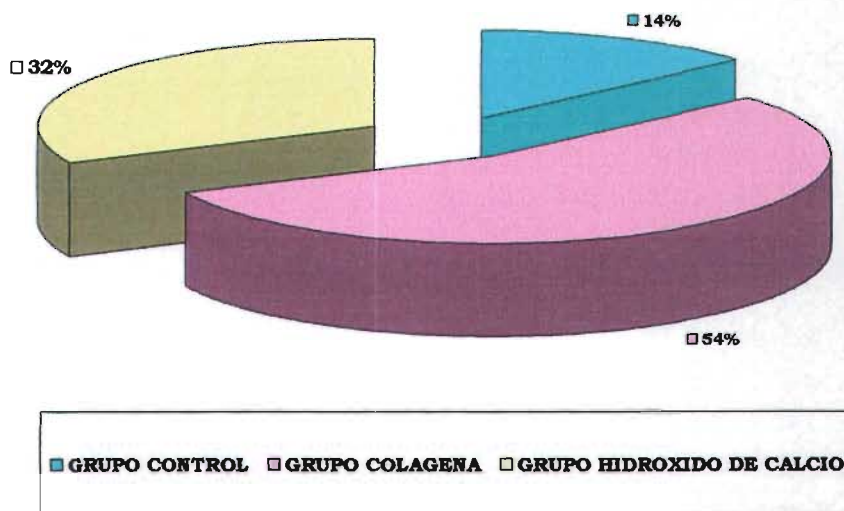
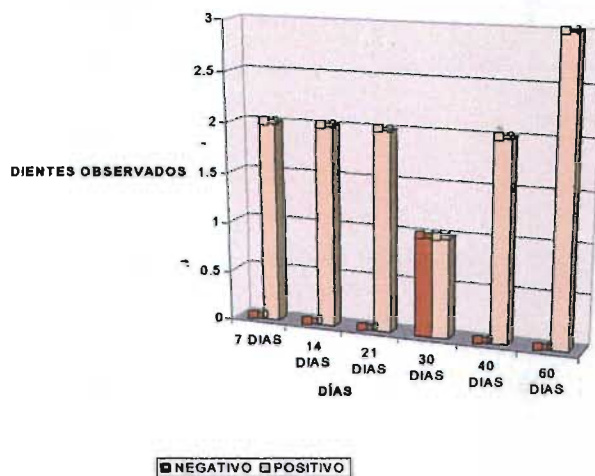


Gráfico 1. Muestra el porcentaje de respuesta pulpar positiva a los diferentes materiales.

RESULTADO DE LA FORMACIÓN DE TEJIDO DEL GRUPO COLAGENA POR DIA



PORCENTAJES FORMACIÓN TEJIDO

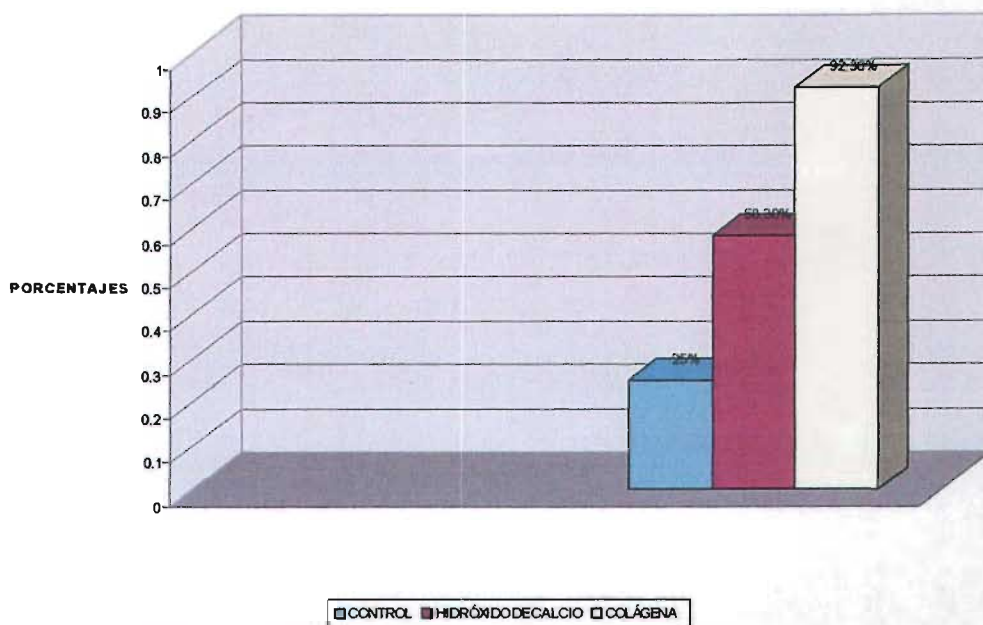


Gráfico 2. Respuesta del tejido pulpar a la colágena tipo I durante el período experimental.

GRAFICO DE PORCENTAJE COMPARATIVO DE LA FORMACIÓN DE TEJIDO EN LOS TRES GRUPOS

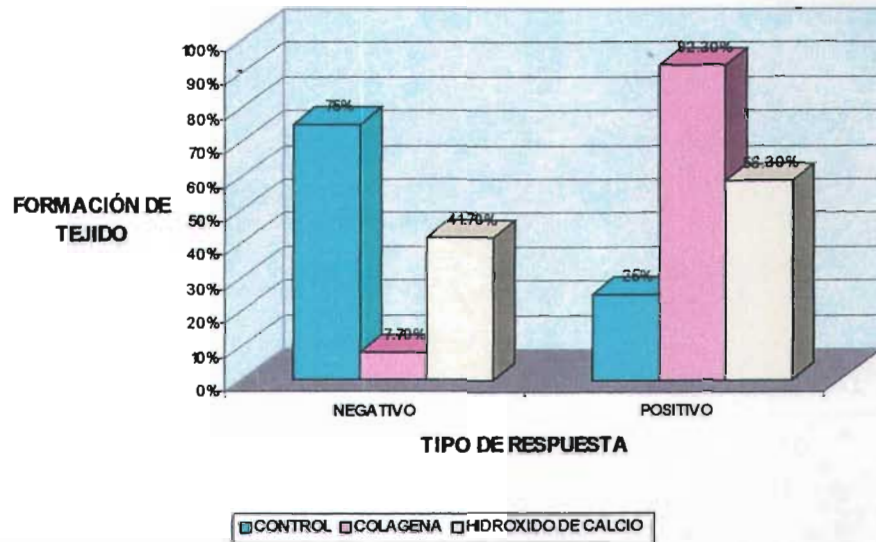


Grafico 3.- Muestra el porcentaje de formación de tejido de los dientes a los diferentes materiales.

DISCUSIÓN.

La regeneración, es un proceso biológico durante el cual ocurren una serie de procesos en secuencia que dan lugar a la formación completa de estructuras complejas.

En el caso de la dentina, la regeneración se lleva a cabo mediante señales de moléculas inmunoreactivas como son: ONC, OPN y FN. Por lo tanto, en este estudio, la colágena tipo I de cerdo e hidróxido de calcio son considerados como materiales con capacidad osteoconductiva, esto es que permiten el establecimiento de todas las condiciones ambientales para la regeneración pulpar, tales como: la presencia de una matriz extracelular adecuada que favorece la invasión y migración de células progenitoras formadoras de dentina, que surgen de las zonas cercanas a la lesión pulpar.

Sin embargo, la respuesta del tejido pulpar, la colágena tipo I de cerdo aceleró la formación de tejido dentinario promoviendo a la vez la expresión de glicoproteínas de alto peso molecular como la fibronectina, que tienen un importante papel en la regulación de la adhesión, migración y diferenciación celular durante el desarrollo y reparación del tejido, puesto que es bien conocido que la diferenciación de las células que forman la matriz dentinaria (odontoblastos) es controlada por señales específicas de las interacciones entre la matriz dentinaria y células mesenquimatosas ($p < 0.05$), en comparación con hidróxido de calcio, cuya respuesta reparativa es debido a señales inductivas no específicas que parecen ser mediadas por un aumento progresivo de la síntesis de fibronectina en las células pulpares, en la elaboración de la matriz fibrosa parecida a dentina, durante las reacciones defensivas de la pulpa

El efecto inicial del hidróxido de calcio en pulpas expuestas, es el desarrollo de una superficie de necrosis. El efecto benéfico del hidróxido de calcio, es considerado como resultado de una lesión química causada por iones hidróxido,

limitada por una zona de necrosis en tejido vital, y la tolerancia a los iones Ca^{++} por el tejido.

La secuencia observada de estas reacciones del tejido, es como cuando el tejido es lesionado; y la secuencia inicia, con la migración y proliferación de células vasculares e inflamatorias, para controlar y eliminar el agente irritante, seguido del proceso de reparación, incluyendo la migración y proliferación de células endoteliales y mesenquimatosas pulpaes con formación de colágena.

La mineralización de la colágena, inicia con una calcificación distrófica en la zona de necrosis y la capa de células degeneradas en el tejido adyacente; llevando minerales a la colágena nuevamente formada. La presencia del Ca^{++} provoca la precipitación de carbonato de calcio en el área de la herida y por ello contribuye al inicio de la mineralización.

Esta forma de respuesta pulpar, se basa en el pH y la liberación de iones hidróxilo y iones calcio. **Por ello decir que, los factores que afectan la recuperación y reestablecimiento del tejido pulpar son: el grado de inflamación, el tiempo de irritación e infección y la localización de la exposición.**

En contraste con la respuesta a la colágena tipo I de cerdo es importante hacer notar, que esta, acelera la formación de tejido dentinario, al estimular la expresión de moléculas que favorecen la formación de matriz dentinaria, lo que sugiere que la colágena tipo I de cerdo, podría formar una matriz más adecuada; que favorece la invasión y migración de células progenitoras formadoras de dentina, establece señales específicas y el medio adecuado para la expresión de moléculas que aceleran la síntesis de matriz dentinaria de las células de reemplazo del tejido dañado; formando parte del proceso natural de recuperación del tejido, sin pasar por el proceso inflamatorio; en comparación con lo obtenido con el hidróxido de calcio.

Finalmente, también podemos concluir que existe diferencia significativa entre los porcentajes de los grupos; y que el tiempo y la calidad de la dentina reparativa para la formación de puentes dentinarios es diferente en los tres grupos.

CONCLUSIONES.

Se sabe que la colágena tipo I de cerdo, forma un gel a 37 °C, y esto favorece la formación más rápida de la matriz extracelular y la expresión de moléculas como las proteínas morfogénicas de hueso (BMP), a expensas de las cuales inicia el proceso de formación y depósito de dentina.

En cambio, el hidróxido de calcio forma una mezcla de cemento que provoca una reacción similar, pero a expensas de la zona necrosis, el efecto benéfico del hidróxido de calcio es considerada como resultado de una lesión química, causada por los iones hidroxilo, limitada por una zona de necrosis en el tejido vital, y la tolerancia de iones calcio por el tejido.

Esta secuencia observada de las reacciones del tejido, es similar cuando el tejido conectivo es lesionado.

Tomando en consideración los resultados obtenidos de este estudio, a través de la comprensión de los distintos procesos biológicos que involucran la reparación y protección del tejido pulpar; y considerando que el uso de biomateriales como la colágena tipo I de cerdo, tienen potencial en el tratamiento de cavidades expuestas para la protección pulpar, ya que evitan los efectos dañinos de los distintos cementos de hidróxido de calcio, y conservan la integridad del tejido y la pared dentinaria; a través, de una dentinogénesis reparativa.

Se sugiere, la aplicación terapéutica de esponjas de colágena tipo I de cerdo, en el tratamiento de lesiones pulpares, para la conservación de tejido pulpar vital, así como para la terapia de conductos radiculares en el sellado del canal radicular; estableciendo finalmente que puede ser el siguiente paso en la clínica dental, como un parte aguas entre los tratamientos tradicionales, y la nueva era de la estomatología moderna, que amplíe el horizonte, en la conservación y regeneración de la pulpa dental y otros tejidos dentarios .

BIBLIOGRAFÍA.

1. Oguntelo B R, Heaven T, Clark A E, Pink E.F. Quantitative assessment of dentón bridge formation following pulp-cappin in miniature swine. *J. Endo* 1995; 21:79-82.
2. Sena M, Yamashita Y, Nakano Y, Ohgaki M, Nakamura S, Yamashita K, Takagi Y. Octacalcium phosphate-based cement as a pulp-capping agent in rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 97: 749-755.
3. Heys D.R., Cox C.F., Heys R.J., Avery J.K. Histological considerations of direct pulp capping agents. *J Dent Res* 1981; 60:1371-1379.
4. Tzaifas D. Kolokoris I. Inductive influences of desmineralized dentin and bone matrix on pulp Cells: an approach of secondary dentinogenesis. *J Dent Res* 1990; 69:75-81.
5. Pereira J.C., Bramante C.M., Berberi A., Mondelli J. Effects of calcium hidroxide in powder or in paste form on pulp-capping procedures: histologic and radiographic analysis in dog´s pulp. *Oral Surg* 1980; 50:176-186
6. Goldberg M., Smith A. J. Cells and extracellular matrices of dentin and pulp. A bilogical basis for repair and tissue engineering. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine* 2004; 15:13-27.
7. Schröder U. Efects of calcium hidroxide-containing pulp-capping agents on pulp cell migration proliferation, and differentiation. *J Dent Res* 1985; 64 :541-548. The Biology of Dentin and Pulp Proceeding of an international Workshop at the University of North Carolina Charlotte, North Carolina .
8. Horstedp., Attar El., Langeland K., Denmark A.,farmington.Capping of monkey pulps with dycal and a ca-eugenol cement. *Oral Surg* 1981; 52: 531-553.
9. Tzaifas D., Panagiotakopoulos N., Komnenou A.Immunolocalization of fibronectina during the early response of dog dental pulp to demineralized dentine or calcium hidroxide-containing cement. *Arch. Oral Biol* 1995; 40:23-31.

10. Almazán D.A., de la Cruz G.J., Lira R.J., Arrelin G., Chimal M.J., Díaz L.L., Furuzawa C.J., Krötzch G. F., Investigación experimental de la regeneración ósea en fémures de rata después de la aplicación de colágena 1 polimerizada: Estudio radiológico, histológico e histoquímico. *Rev. Mex Ortp Traum* 1996;10:142-152.
11. Asish K. Ghosh. Factors involved in the regulation of type I collagen gene expression: Implication in fibrosis. *Exp Biol and Med* 2002; 227: 301-314.
12. Maglorie H., Joffre A., Bleicher F. An in vitro model of human dental pulp repair. *J. Dent Res* 1996; 75: 1971-1978.
13. Rutherford B., Fitzgerald M. A new biological approach to vital pulp therapy. *Crit Rev in Oral Biol Med* 1995; 6:218-229.
14. Dominguez M.S., Witherspoon D.E., Gutmann J.I., Opperman A. Histological and scanning electron microscopy assessment of various pulp-therapy materials. *J. Endodontics* 2003; 29: 324-333.
15. Tzaifas D. Basic mechanisms of cytodifferentiation and dentinogenesis during dental pulp repair. *Int J Dev Biol* 1995 ; 39: 281-290
16. Schuurs AHB, Gruthuysen RJM, Wesselink PR. Pulp capping with adhesive resin-based composite vs. calcium hydroxide: *Endod Dent Traumatol* 2000; 16: 240-250.
17. Lara V.S., Figueiredo F., da Silva T.A., Cunha F.Q. Dentin-induced in vivo inflammatory Response and in vitro activation of murine macrophages. *J Dent Res* 2003; 82: 460-465.
18. Amemiya K., Kaneko Y., Muramatsu T., Shimono M., Inoue T. Pulp cell responses during hypoxia and reoxygenation in vitro. *Eur J Oral Sci* 2003; 111: 332-338.
19. Kinney J.H., Habelitz S., Marshall S.J., Marshall G. W. The importance of intrafibrillar mineralization of collagen on the mechanical properties of dentin. *J Dent Res* 2003; 82: 957-961.
20. Golberg M., Six N, Decup F, Lasfargues J J, salih E, Tompkins K, Veis A. Bioactive molecules and the future of pulp Therapy. *Am J Dent.* 2003 ; 16: 66-76

21. Kuo MY, Lan WH, Lin SK, Tsai KS, Hahn Lj. Collagen gene expression in human dental pulp cell cultures. *Arch Oral Biol.* 1992 ; 37:945-952.
22. Palosaari H, tasanen K, Risteli J, Larmas M, Salo T, Tjaderhane L. Baseline expresión and effect of TGFbeta 1 on type I and III collagen mRNA and protein synthesis in human odontoblasts and pulp cells in vitro. *Calcif Tissue Int.* 2001; 68: 122-129
23. Scarano A, Manzon L, Di Giorgio R, Orsini G, Tripodi D, Piattelli A. Direct capping with four different materials in humans: histological analysis of odontoblast activity. *J. Endo* 2003; 29: 729-734.
24. Kirk E, Lim KC, Khan M.O.G. A comparison of dentinogenesis on pulp capping with calcium hidroxide in paste and cement form. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1989; 68: 210-218.
25. Aeinehchi M, Eslami B, Ghanbariha M, Saffar A. S. Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium hydroxide as pulp-capping agents in human teeth: a preliminary report. *Int Endod Journal* 2002; 36: 225-231.
26. Telles S, Hanks, Machado, Nör J.E. Lipoteichoic acid up-regulates VEGF expression in macrophages and pulp cells. *J Dent Res* 2003; 82: 466-470.
27. Higashi T. Okamoto H. Electron microscopic study on Interodontoblastic collagen fibrils in amputated canine dental pulp. *J. Endodontics* 1996; 22: 116-119.
28. Palosaari H, Pennington CJ, Larmas, Edwards M, Tjäderhane L, Salo T. Expression profile of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of MMPs in mature human odontoblasts and pulp tissue. *Euro J Oral Sci* 2003; 111: 117-127
29. Tziafas. D The future role of a molecular approach to pulp-dentinal regeneration. *Caries Res* 2004; 38:314-320
30. Kalajzic Z, Liu P, Kalajzic I, Du Z, Braut A, Mina M, Canalis, E, Rowe DW. Directing the expression of a green fluorescent protein transgenic in differentiated osteoblasts: comparison between rat type I collagen and rat osteocalcin promoters. *Bone* 2002 ; 31:654-660.

31. Maglorie H, Romeas A, Melin M, Couble ML, Bleicher F, Farges JC. Molecular regulation of odontoblast activity under dentin injury. *Adv Dent Res* 2001 ; 15:46-50.
32. Tjaderhane L, Palosaari H, Wahlgren J, Larmas M, Sorsa T, Salo T. Human odontoblast culture method: the expression of collagen and matrix metalloproteinases (MMPs). *Adv Dent Res* 2001 ;15:55-58.
33. About I, Camps J, Burger AS, Mitsiadis TA, Butler WT, Franquin JC. Polymerized bonding agents and the differentiation in vitro of human pulp cells into odontoblast-like cells. *Dent Mater* 2005 ; 21:156-163.
34. Tziafas D, Veis A, Alvanou A. Inability of calcium hydroxide to induce reparative dentinogenesis at non-peripheral sites of dog dental pulp. *Eur. J. Oral Sci* 1996; 104:623-6.
35. About I, Bottero MJ, de Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production in vitro. *Exp Cell Res* 2000 10; 258:33-41.
36. Mizuno M, Miyamoto T, Wada K, Watatani S, Zhang GX. Type I collagen regulated dentin matrix protein-1 (Dmp-1) and osteocalcin (OCN) gene expression of rat dental pulp cells. *J Cell Biochem* 2003 15; 88:1112-1119.
37. Gracia JM, Martins MD, Jaeger RG, Marques MM. Immunolocalization of bone extracellular matrix proteins (type I collagen, osteonectin and bone sialoprotein) in human dental pulp and cultured cells. *Int Endod J* 2003; 36:404-410.
38. Golberg M, Six N, Decup F, Bourd K, Palmier K, Salih E, Veis A, Lasfargues JJ. Mineralization of the dental pulp: contributions of tissue engineering to tomorrow's therapeutics in odontology. *Pathol Biol* 2002 ; 50:194-203.
39. Tziafas D, Kalyva M, Papadimitriou S. Experimental dentin-based approaches to tissue regeneration in vital pulp therapy. *Connect Tissue Res* 2002; 43:391-395.
40. Goldberg M, Six N, Decup F, Buch D, Soheili Majd E, Lasfargues JJ, Salih E, Stanislawski L. Application of bioactive molecules in pulp-capping situations. *Adv Dent Res* 2001; 15:91-95.

41. Tzaifas D, Belibasakis G, Veis A, Papadimitriou S. Dentin regeneration in vital pulp therapy: design principles. *Adv. Dent Res* 2001; 15:96-100.
42. Nakao K, Itoh M, Tomita Y, Tsuji T. FGF-2 potently induce both proliferation and DSP expression in collagen type I gel cultures of adult incisor immature pulp cells. *Biochem Biophys Commun* 2004 325:1052-1059.
43. Liesi P, Kaupilla T. Induction of type IV collagen and other basement-membrane-associated proteins after spinal cord injury of the adult rat may participate in formation of the glial scar. *Exp Neurol* 2002; 173:31-45.
44. Tziafas D. Alvanou A. Panagiotakopoulos N. Smith AJ. Lesot H. Komnenou A. Ruch JV. Induction of odontoblast-like cell differentiation in dog dental pulps after in vivo implantation of dentine matrix components. *Arch. Oral Biol* 1995; 40: 883-893.
45. About I, Mitsiadis Ta. Molecular aspects of tooth Pathogenesis and repair: in vivo and vitro models. *Adv Dent Res* 2001; 15:59-62.
46. Ritchie HH, Liu J, Kasugai S, Moller P. A mineralizing rat dental pulp cell sub line expressing collagen type I and dentin sialoprotein-phosphophoryn transcripts. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2002; 38:25-29.
47. Shiba H, Fujita T, Doi N, Nakamura S, Nakanishi K, Takemoto T, Hino T, Noshiro M, Kawamoto T, Kurihara H, kato Y. Differential effect of various growth factors and cytokines on the syntheses of DNA, type collagen, laminin, fibronectin, osteonectin/secreted protein, acidic and rich in cystein (SPARC), and alkalina phosphatase by human pulp cells. *Physiol* 1998; 174:194-205.
48. Grande JP, Melder DC, Zinsmeister Ar. Modulation of collagen gene expression by cytokines: stimulatory effect of transforming growth factor-beta-1, with divergent effects of epidermal growth factor and tumor necrosis factor-alpha on collagen type I and collagen type IV. *J Lab Clin Med* 1997; 130:455-458.
49. Demon S, Shimokawa H, Yamaguchi S, Soma K. Temporal and spatial mRNA expression of bone sialoprotein and type I collagen during rodent tooth movement. *Euro J Orthod* 2001; 23:339-348.

50. Breaut A, Edward J, Kollar. Mina, Mina. Analysis of the odontogenic and osteogenic potentials of dental pulp in vivo using a Col1a1-2.3-GFP transgenic. *Int J Dev Biol* 2003; 47:281-292.
51. Mina M, Braut A. New insight into progenitor/stem cells in dental pulp using Col1a1-GFP transgen. *Cells tissues Organs* 2004; 176:120-133
52. Italo Madeiros Faraco Junior, Holland Roberto. Histomorphological response of dogs' dental pulp capped with white mineral trioxide aggregate. *Braz Dent J* 2004;15:1-9
53. Chimal –Monroy J, Bravo-Ruíz T, Krötzsch-Gómez F. E., Diaz de León, Arrellin G. Collagen –PVP accelerates new bone formation of experimentally induced bone defects in rat Skull and promotes the expression of osteopontin and sparc during bone repair of rat femora fractures. *Ann New York Acad Sci* 1998; 857:232-236
54. Keni Gu, Richard H. Smoke, R. Bruce Rutherford. Expression of genes for bone morphogenetic proteins and receptors in human dental pulp. *Arch. Oral Biol* 1996; 41: 919-923
55. Levy JR, Schoen FJ, Sherman FS, Nichols J, Hawley Ma, Lu SA. Calcification of subcutaneous implanted type 1 collagen sponges. *Am J Pathol* 1986 ; 122:71-82.
56. Shimizu Y., mavimoto, Teramatsu T., Okamura S., Hino T. Studies on composites of collagen and synthetic polymer. *Biomat. Med. Dev. Art. Org* 1978; 6: 375-391.
57. Murray PE, Hafez AA, Smith AJ, Cox CF. Hierarchy of pulp capping and repair activities responsible for dentin bridge formation. *Am J Dent* 2002; 15:236-243.
58. Tziafas et. Al. Role of exogenous TGF-beta in induction of reparative dentinogenesis in vivo. *Eur. J. Oral. Sci* 1998; 106 1:192-6.
59. Subay R, Demirci M. Pulp tissue reactions to a dentin-bonding agent as a direct capping agent. *J Endod* 2005; 31:201-20

GLOSARIO

EDTA Etilendiamino tetra acético

FN: Fibronectina

MEC: Matriz extracelular

MMPs Metalo-proteinasa

OCN: Osteonectina

OPN: Osteopontina

OPN-1 Osteopontina-1

PMO: Proteínas morfogénicas óseas

TGF- β Factor de crecimiento tumoral – beta.