

## Endodoncia regenerativa: utilización de fibrina rica en plaquetas autóloga en dientes permanentes vitales con patología pulpar. Revisión narrativa de la literatura\*

## Regenerative Endodontic: Use of autologous platelet-rich fibrin in vital permanent teeth with pulpal pathology. Narrative review of the literature

Tatiana Ramírez Giraldo <sup>1</sup>Henry Sossa Rojas <sup>2</sup>

## RESUMEN

Actualmente una de las mayores controversias en el tratamiento de dientes permanentes con diagnóstico de pulpitis está en la decisión de realizar una Terapia Pulpar Vital (TPV) o un tratamiento convencional de conductos. Diferentes estudios han reportado que se pueden obtener resultados previsibles mediante la realización de una TPV. El éxito del tratamiento dependerá de una adecuada comprensión de la biología pulpar, un estricto protocolo de tratamiento y una adecuada selección del caso. Con este fin, diferentes materiales han sido sugeridos. Recientemente se ha utilizado la Fibrina Rica en Plaquetas, biomaterial que cumple con propiedades biológicas para lograr una mayor rapidez y adecuada cicatrización del tejido. Es necesario desarrollar tratamientos dirigidos a preservar la vitalidad de la pulpa, evitando recurrir como primera opción al tratamiento convencional de conductos, teniendo como objetivo conservar o regenerar el complejo dentino pulpar.

## PALABRAS CLAVE

Dientes permanentes, Pulpitis, terapia pulpar vital, fibrina rica en plaquetas, células madre, factores de crecimiento de diferenciación.

## ABSTRACT

Currently one of the controversies principals in the treatment of permanent teeth diagnosed with pulpitis is the decision of whether to perform a vital pulp therapy (VPT) or conventional root canal treatment. Different studies have reported achieving of predictable results by performing VPT. Treatment success depends on a proper understanding of the pulp's biology, strict treatment protocol and adequate case selection. For this purpose, different materials have been suggested. Recently, platelet rich fibrin has been used a biomaterial that fulfills biological requirements to achieve tissue repair. It is important to develop treatments aiming at preserving the vitality of the pulp, avoiding the conventional root canal treatment as a first choice and aiming at preserving or regenerating the dentin-pulp complex.

## KEY WORDS

Permanent teeth, Pulpitis, vital pulp therapy, platelet rich fibrin, stem cells, growth differentiation factors.

\* Artículo de investigación e innovación resultado de procesos de **revisión**. Producto de la investigación realizada para optar al título de Especialista en Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia.

- 1 Odontóloga, Residente de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia. Dirección postal: Calle 7ª No. 73b 98 Int 6 Ofi 305. Correo electrónico: ctramirezg@unal.edu.co
- 2 Profesor asistente, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia. Odontólogo, Universidad Nacional de Colombia, Especialista en Endodoncia, Universidad El Bosque. Dirección postal: Carrera 30 No. 45-30 Edificio 210 Bogotá. Correo electrónico: hsossar@unal.edu.co

## Citación sugerida

Ramírez T, Sossa H. Endodoncia regenerativa: utilización de fibrina rica en plaquetas autóloga en dientes permanentes vitales con patología pulpar. Revisión narrativa de la literatura. *Acta Odontológica Colombiana* [en línea] 2014, [fecha de consulta: dd/mm/aaaa]; 4(1): 91-112. Disponible desde: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/actaodontocol>

Recibido	10 de febrero de 2014
Aprobado	19 de mayo de 2014
Publicado	30 de junio de 2014

## Introducción

La pulpa dental es un órgano único, encapsulado en una capa protectora de dentina que a su vez está protegida por el esmalte. Embriológicamente, histológicamente, y funcionalmente, dentina y pulpa son consideradas en conjunto. Dentro de las causas más frecuentes de patología pulpar se encuentra la caries y el trauma dental, estos eventos comprometen la funcionalidad del diente y su longevidad en boca. La Terapia Pulpar Vital (TPV) se lleva a cabo para preservar y favorecer la permanencia de los dientes en boca. Por esta razón es importante conocer las implicaciones clínicas y biológicas de estos procesos para instaurar la terapéutica más adecuada en cada caso específico y así lograr restablecer la salud y función, además de ofrecer el mejor plan de tratamiento al paciente (1,2,10).

La TPV tiene una larga historia en odontología. Su objetivo es mantener la funcionalidad de la pulpa, no se limita necesariamente a los dientes en desarrollo; en cualquier diente, independientemente del estadio de madurez radicular, es posible mantener la vitalidad pulpar luego de la exposición traumática, accidental o incluso en procesos cariosos (3,10,14).

La Fibrina Rica en Plaquetas (FRP), descrita por primera vez por Choukroun *et al* (2006), es un concentrado de plaquetas de segunda generación, que tiene algunas ventajas sobre el Plasma Rico en Plaquetas (PRP). La FRP ha sido ampliamente utilizada para acelerar la cicatrización de tejidos blandos y biomineralizados en diferentes campos de la odontología (4,5,6).

Uno de los referentes más importantes en endodoncia es la integración de los avances actuales de la investigación en ingeniería, regeneración tisular y la caracterización e identificación de células madre mesenquimales multipotentes en diferentes tejidos dentales para lograr preservar o regenerar las estructuras dentales lesionadas (7).

## Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura indexada, correspondiente al tema, en bases de datos como *Pubmed, EBSCO, Science Direct, OVID, Hinari, Medline y Cochrane reviews*. Se recurrió a las revistas y *journals* más citados en endodoncia y con mayor impacto, tales como: *Journal of Endodontics, International Endodontic Journal, Dental Traumatology, Australian Endodontic Journal, OOO (oral medicine oral pathology oral surgery oral radiology endodontology)*, entre otras. El periodo consultado fue 2006 a 2013, se utilizaron artículos disponibles en texto completo, en idioma inglés. Además fue incluida en la búsqueda, literatura encontrada en Google académico. Los términos de búsqueda utilizados fueron "Dental pulp", "Pulpitis", "Pulpotomy", "dentition, permanent", "transforming growth factors", "Growth Differentiation Factors", "stem cells", "dental pulp capping", "regeneration", "fibrin".

Se tuvo en consideración los siguientes criterios de búsqueda:

Criterios de inclusión:

- El periodo de tiempo seleccionado para la búsqueda de literatura fue entre los años 2006 y 2013, debido a la evolución reciente del tema de fibrina rica en plaquetas autóloga.

- Idioma de redacción y publicación de la literatura que fue aceptada e incluida: español e inglés.
- Referencias de artículos tipo revisiones, tesis y estudios experimentales que tomen como objeto el estudio de TPV y/o de FRP.

Criterios de exclusión:

- Artículos cuyos años de publicación estuviese por fuera del rango establecido.
- Literatura referente a revascularización, necrosis o dientes inmaduros.
- Estudios experimentales en los que los pacientes presentaran algún tipo de compromiso sistémico.

Se encontró un total de 575 estudios potencialmente relevantes, de los cuales se seleccionaron 72, los cuales cumplieron con los criterios. Luego de la recolección de los artículos se organizaron por orden de título, año de publicación, *journal* y tipo de estudio. A continuación se presentan los resultados encontrados en esta revisión de la literatura.

## Resultados

### Respuesta del complejo dentinopulpar a la caries.

La pulpa dental es un órgano neurosensitivo único, ubicado dentro de una capa protectora de dentina, que está encerrada a su vez por una capa de esmalte. Embriológicamente, histológicamente, y funcionalmente, la dentina y la pulpa se consideran en conjunto, y se denominan complejo pulpo-dentinal. Sus principales funciones incluyen (1) formación de dentina, (2) la nutrición a la dentina, la cual es avascular, y (3) la función neurosensitiva, protectora y reparativa (8).

La pulpa contiene numerosos tipos de células: odontoblastos, fibroblastos, histiocitos, células dendríticas intersticiales, linfocitos, mastocitos, y células madre mesenquimales multipotentes (1,2,3). Los odontoblastos son células especializadas derivadas de la cresta neural craneal, responsables de la formación de la dentina. Los odontoblastos maduros y funcionales están organizados en una unicapa formando una empalizada pseudoestratificada a lo largo de la interfaz entre la pulpa dental y la dentina, con procesos citoplasmáticos largos que se extienden dentro de la matriz mineralizada dándole a la dentina la característica tubular. Estas células, sintetizan y secretan principalmente colágeno tipo I, colágeno tipo V, proteoglicanos, glicoproteínas y fosfoproteínas dentinales (7,11,12); tienen procesos citoplasmáticos que se extienden en los túbulos dentinarios y ocupan la mayor parte del espacio de estos. Algunos estudios han demostrado que los procesos citoplasmáticos se limitan hasta la tercera parte interior de la dentina y otros estudios han demostrado que se extienden hasta la unión amelodentinaria (9,10).

Además de su actividad secretora, los odontoblastos son esenciales en los mecanismos de defensa y la estimulación de la respuesta inflamatoria contra la invasión de patógenos a través de los túbulos dentinales. Los complejos de unión intercelular entre odontoblastos crean una barrera

pre-dentina-odontoblastos, que constituye la primera línea de defensa contra los microorganismos. Debido a su ubicación, los odontoblastos pueden detectar de forma temprana componentes bacterianos a través de receptores de membrana *like toll* (TLR) 2 y 4, y luego de su activación, desencadenar una respuesta inmune innata del sistema, a través de la secreción de citoquinas que facilitan las reacciones inmunes y reparación de la dentina (10,11).

Si la caries progresa hasta el complejo pulpo-dentinal, se desencadena un proceso inflamatorio mediado inicialmente por quimioquinas (interleuquina-8, interleuquina-1  $\beta$  y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ), secretadas por la primera línea de defensa celular: el odontoblasto y las células dendríticas. Estas quimioquinas interactúan con el endotelio vascular aumentando la permeabilidad vascular, extravasación de proteínas plasmáticas y la subsecuente migración y aumento de células inflamatorias en la zona, junto con la producción de proteínas de fase aguda. La eliminación de la caries puede disminuir la respuesta, pero la producción continua de estas citoquinas proinflamatorias, podría conducir a un daño irreversible pulpar seguido de una necrosis (12).

De manera contraria a la mayoría de los tejidos conectivos, la pulpa dental no tolera fácilmente la inflamación y es más vulnerable a esta por tres razones fundamentales: 1) se trata de una gran cantidad de tejido con un pequeño volumen de suministro sanguíneo; 2) es una circulación terminal con pocos vasos sanguíneos colaterales, y 3) el tejido pulpar está confinado en las paredes rígidas de la dentina (13).

Por tanto, el complejo pulpo-dentinal presenta un amplio rango de respuestas resultado de la interacción y equilibrio entre la lesión, la defensa y eventos de reparación. Las contribuciones relativas y las interacciones de estas respuestas relacionadas entre sí son críticas en la determinación del destino del complejo pulpo-dentinal y su capacidad para sobrevivir a la caries (14).

Los estudios clásicos de Kakehashi *et al* en 1965 (15), describen a la infección bacteriana como un factor etiológico fundamental para que se dé una necrosis pulpar. La extensión del daño de la colonización microbiana puede variar en función del tamaño y la cronicidad de la exposición, el estado de la pulpa y el material utilizado para sellar la exposición. Varios estudios sugieren que el tamaño de la exposición pulpar puede influir en la selección de los casos, debido a que las grandes exposiciones pulpares pueden tener mayor riesgo de microfiltración y ser difíciles de restaurar (15).

### Células Madre

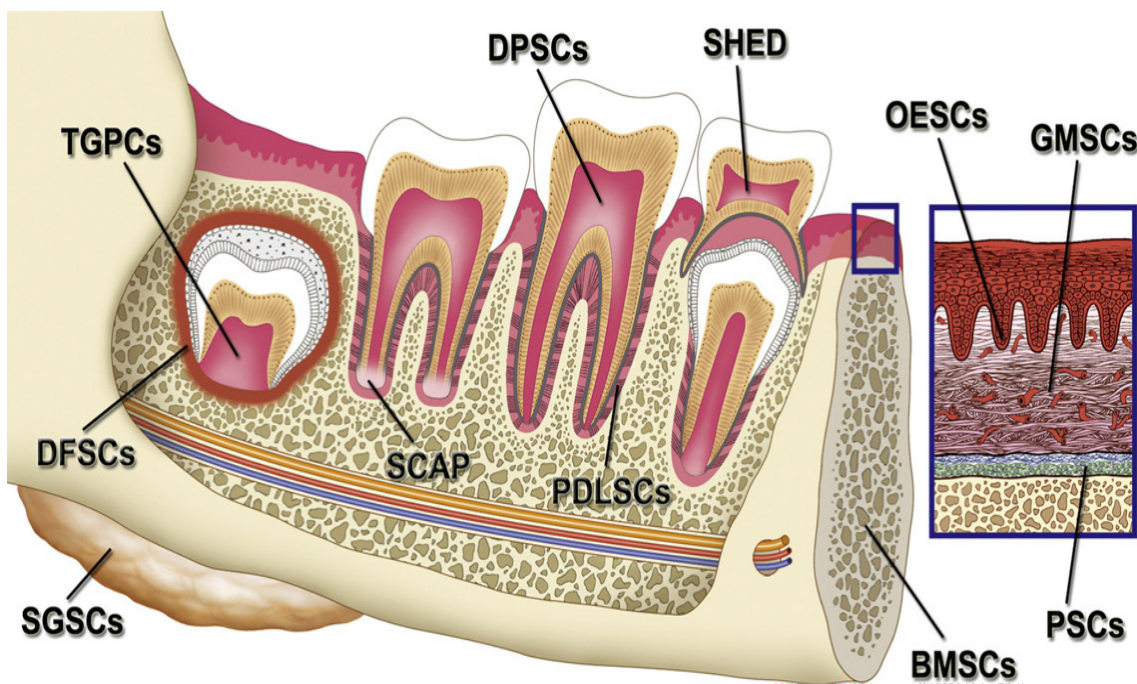
Las células madre son inmaduras, no especializadas y tienen el potencial de diferenciarse en múltiples linajes. Estas células pueden autorenovarse indefinidamente y varían en función de su ubicación en el cuerpo y el tipo de células que pueden producir. Estudios recientes revelan que los tejidos de la boca, algunos de fácil acceso para los odontólogos, son una rica fuente de células madre mesenquimales multipotentes que cumplen los requisitos de: adherirse al plástico, expresar CD73, CD90, CD105 y tener la capacidad de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos *in vitro* e *in vivo* (7,16,19,20).

Teniendo en cuenta sus habilidades únicas, las células madre son particularmente importantes para el desarrollo de estrategias biológicas innovadoras en el campo de la ingeniería de tejidos, ya sea para regenerar o para reemplazar tejidos enfermos, lesionados o perdidos e incluso órganos por manipulación *in vitro* de células madre mesenquimales, andamios tridimensionales y moléculas

bioactivas. Hoy en día en el campo de la odontología, también se considera a la ingeniería de tejidos como una nueva frontera y alternativa de tratamiento en la regeneración de tejidos dentales (17,18,19).

Se han identificado múltiples poblaciones de estas células en diferentes partes del tejido dental, tales como: DPSCs, células madre mesenquimales de la pulpa dental; SCAPs, células madre mesenquimales de la papila apical; PDLSCs, células madre mesenquimales del ligamento periodontal; DFPCs, células madre mesenquimales del folículo dental; y SHEDs, células madre mesenquimales pulpares de dientes temporales exfoliados (19,20). (Ver figura 1).

**Figura 1.** Fuentes de células madre o stem cells en la región oral y maxilofacial.



**BMSCs** (bone marrow-derived MSCs from orofacial bone): células madre derivadas de la médula ósea; **DPSCs** (dental pulp stem cells): células madre de la pulpa dental; **SHED** (stem cells from human exfoliated deciduous teeth): células madre de dientes humanos exfoliados; **PDLSCs** (periodontal ligament stem cells): células madre del ligamento periodontal; **DFSCs** (dental follicle stem cells): células madre del folículo dental; **TGPCs** (tooth germ progenitor cells): células madre de los gérmenes dentales; **SCAP** (stem cells from the apical papilla): células madre de la papila apical; **OESCs** (oral epithelial progenitor/stem cells): células madre o células progenitoras del epitelio oral; **GMSCs** (gingiva-derived MSCs): células madre derivadas de la encía; **PSCs** (periosteum-derived stem cells): células madre derivadas del periostio; **SGSCs** (salivary gland-derived stem cells): células madre derivadas de las glándulas salivares.

Fuente: Egusa H, Sonoyama W, *et al.* Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources (20).

La creciente evidencia ha demostrado que la cavidad oral es una excelente fuente de células madre mesenquimales multipotentes y debemos reconocer la promesa del emergente campo de la odontología regenerativa. Se puede concluir que existe por tanto un argumento biológico razonable para llevar a cabo la TPV como un posible tratamiento alternativo endodóntico en los dientes permanentes maduros con inflamación pulpar (21,22).

## Terapia Pulpar Vital (TPV)

La vitalidad del complejo pulpo-dentinal es fundamental para la salud de los dientes. Es importante reconocer que la interacción y el equilibrio relativo entre la lesión, la defensa y los procesos regenerativos en el complejo pulpo-dentinal será el determinante principal de la vitalidad del tejido y la supervivencia del diente (23).

La pulpotomía es una TPV en la cual se remueve la pulpa coronal o cameral, y el remanente del tejido radicular es recubierto con un material adecuado que protege la pulpa y permite promover la cicatrización. La pulpa dental puede estar expuesta por caries o por trauma. El pensamiento tradicional contempla el requerimiento de tratamiento de conductos para las pulpas expuestas en dientes permanentes maduros. La justificación de esta selección de tratamiento se basa en la falta de fiabilidad de las estadísticas de TPV en estos dientes y la alta probabilidad de éxito (96%) si la terapia de conducto radicular se realiza de manera óptima en un diente vital. Sin embargo, la terapia pulpar biológica debe ser el tratamiento indicado si se cumple con los parámetros indicados para su selección (23-26,30,39).

La TPV ha sido sugerida como una alternativa de tratamiento en exposiciones pulpares. Con el fin de incrementar la tasa de éxito, existe una necesidad crítica para desarrollar nuevas bases terapéuticas que biológicamente permitan reducir la inflamación pulpar y promover la formación de tejidos pulpo-dentinales (26).

La TPV tiene una alta tasa de éxito, 94% o más (38), si se cumplen las siguientes condiciones: la pulpa no debe estar inflamada irreversiblemente, esto clínicamente se puede determinar por la cantidad de hemorragia observada al realizar el procedimiento, una hemorragia profusa que es difícil de detener indica una inflamación pulpar irreversible, por lo tanto la hemorragia se debe controlar adecuadamente, adicionalmente se debe aplicar un material de recubrimiento no citotóxico y debe existir un selle adecuado de la cavidad con una excelente restauración final evitando la microfiltración bacteriana (25,27).

Aunque se ha demostrado que el tratamiento del conducto radicular en dientes con pulpa vital da un resultado confiable, el pronóstico en términos de supervivencia de dientes tratados endodónticamente no es tan bueno como el de un diente vital. Las posibles razones podrían incluir la pérdida de función propioceptiva y de sensibilidad dental, que son proporcionadas por la pulpa vital como mecanismo de defensa de los estímulos nocivos (28). Por lo tanto, creemos que la pulpa vital debe ser preservada en lo posible.

Desde hace décadas, Seltzer *et al* (1963), entre otros autores, han discutido acerca del reto sobre cómo podemos evaluar con precisión el estado de la pulpa como reversible o irreversible. Los signos y síntomas clínicos tales como el grado o característica del dolor no reflejan con precisión la condición de la pulpa (29).

Las pruebas de sensibilidad pulpar, las térmicas o eléctricas, dan como respuesta sólo un sí o un no; sin embargo a estas solo responden las fibras A $\beta$  y A $\delta$  localizadas en la región subodontoblástica y no miden la microcirculación que es el parámetro válido para determinar vitalidad. Matsuo, *et al* (1996), sugirieron observar el grado de hemorragia pulpar en lugar de basarse en los signos clínicos y síntomas preoperatorios (10,14,23,25,30).

La literatura sugiere varios métodos para controlar la hemorragia pulpar, que es un factor crítico para obtener buenos resultados. Muchos estudios han demostrado que el hipoclorito de sodio en concentraciones del 2.5%, 3% o 5.25%, es una solución efectiva para lograr hemostasia en un procedimiento de recubrimiento pulpar (31-33), otros materiales utilizados incluye la solución salina fisiológica (34,35), el peróxido de hidrógeno o presionando con una mota de algodón estéril humedecida en solución fisiológica (36).

Soluciones desinfectantes como la clorhexidina también se han descrito como un hemostático efectivo para el recubrimiento pulpar, sin embargo, el hipoclorito de sodio en concentraciones que varían del 1,25% al 6% se recomienda comúnmente debido a que adicionalmente aporta una importante propiedad bactericida (36,37).

Si el sangrado no se detiene a los 10 minutos, esto sugiere que la pulpa inflamada no ha sido eliminada por completo o que la inflamación pulpar ha progresado en la pulpa radicular. En ese caso el procedimiento de tratamiento debe ser modificado, por ejemplo, pasar de una pulpotomía parcial a una total, o de una pulpotomía total a una pulpectomía y endodoncia convencional.

Se ha demostrado que las pulpas vitales expuestas por caries no siempre están totalmente infectadas, dependiendo de la duración y la severidad de la lesión cariosa. En ocasiones, la inflamación se localiza adyacente a la lesión de caries, no se extiende a toda la pulpa coronal y radicular. Si se elimina el tejido infectado, es posible mantener la salud del tejido pulpar restante (38).

### Consideraciones en el tratamiento de pulpas expuestas

#### Tiempo de exposición

Comúnmente se considera que una pulpa expuesta por más de 24 a 48 horas, tiene pocas posibilidades de sobrevivir. Este es un error muy lamentable, el cual ha dado lugar a la eliminación innecesaria de pulpa vital, pulpa que podría conservarse. Al igual que los tejidos de otros tipos de heridas, la pulpa expuesta pronto desarrolla tejido de granulación para proteger la superficie de la herida expuesta. Es cierto que las bacterias invaden el tejido pulpar gradualmente, pero puede tomar varios días para que las bacterias penetren incluso algunos milímetros (38,66).

Cvek demostró que la técnica de pulpotomía, realizada correctamente se podría hacer incluso varios días después de la exposición pulpar. Es ideal proceder tan pronto como sea posible, pues siempre y cuando la pulpa esté vital se podrá tratar (38-40).

#### Desarrollo radicular

Existen reportes que demuestran que cuando la fractura se produce en un permanente con la raíz completamente formada, este puede ser restaurado mediante la colocación de una resina compuesta o volviendo a colocar el segmento fracturado, además puede recibir la misma TPV recomendada para los dientes en desarrollo de pacientes jóvenes; si en cambio el plan de tratamiento incluye una corona protésica, es probable que sea más práctico llevar a cabo el tratamiento endodóntico antes de restaurar el diente (40).

## Materiales de Recubrimiento Pulpar

### Hidróxido de Calcio

En 1929, Hess publicó una técnica de pulpotomía utilizando hidróxido de calcio, este se ha utilizado como material estándar para la protección de la pulpa expuesta. En los tiempos modernos, tal vez nadie promovió más el uso de hidróxido de calcio que Miomir Cvek, un odontopediatra en Estocolmo (Suecia), que era a la vez investigador y médico. Su técnica se conoce como la pulpotomía de Cvek y probablemente miles de dientes han sido salvados mediante ella (41).

La pulpotomía de Cvek consiste en aislar el diente, desinfectar la estructura dental cercana a la exposición pulpar, usar una fresa de diamante para eliminar cuidadosamente el tejido pulpar a una profundidad de aproximadamente 2 mm, realizar hemostasia, lavar suave para eliminar el coágulo sanguíneo, colocar hidróxido de calcio sobre la pulpa expuesta y finalmente, proteger el hidróxido de calcio con un cemento dental. Luego restaurar el diente (41).

El hidróxido de calcio es un agente antibacterial y debido a su alto pH (alrededor de 12.5) causa neutralización del pH en las capas profundas de la pulpa y por ende una necrosis por coagulación de la superficie pulpar en la unión del tejido vital y necrótico, con una irritación leve de la pulpa. Esta irritación menor estimula una respuesta inflamatoria, que en ausencia de bacterias, podrá cicatrizar con una barrera biomineralizada de dentina reparativa (34,42).

Sin embargo, el uso del hidróxido de calcio como material de recubrimiento tiene varias desventajas: alta solubilidad, es un material que tiende a disolverse dejando vacíos, por lo tanto proporciona un selle inadecuado, la matriz biomineralizada que forma es porosa y presenta una inadecuada adherencia a la dentina (43).

Teniendo en cuenta lo mencionado y observando tanto sus ventajas y desventajas, el hidróxido de calcio continuará siendo un material importante para la TPV, sin embargo, existen otros materiales, como el Agregado de Trióxido Mineral (MTA) que ofrece mejores resultados en nuestra terapia (43,44).

### Sistemas Adhesivos

Otros materiales han sido propuestos como agentes de recubrimiento pulpar, entre esos se encuentran el óxido de zinc y eugenol, los ionómeros de vidrio, y los sistemas adhesivos, entre otros (10).

La literatura reporta más desventajas que ventajas respecto al uso de sistemas adhesivos como agentes de recubrimiento pulpar. Se ha encontrado que la aplicación de ácido en pulpas expuestas causa hemorragia la cual es difícil de controlar. Así, lograr un selle eficaz en tales condiciones es casi imposible, y por ende, la falta de un cierre hermético adecuado, sin duda, contribuye a pobres resultados (45).

Los riesgos potenciales de utilizar sistemas adhesivos son el daño directo a las células (citotoxicidad) y la inducción de reacciones de hipersensibilidad. Los monómeros de resina, tales como el metacrilato 2-hidroxiethyl (HEMA) y el dimetacrilato de trietilenglicol (TEGDMA), han mostrado tener una influencia en la diferenciación de células pulpares humanas en odontoblastos. Los estudios



han demostrado previamente que el HEMA induce la apoptosis en diferentes tipos de células y también en las células madre de la pulpa dental y en las células similares al odontoblasto (10,14,45).

El argumento fundamental en contra del recubrimiento pulpar con sistemas de resina no se trata de la barrera de tejido duro, sino de la persistencia de una inflamación intensa y de reacciones a cuerpo extraño que a menudo acompañan la aplicación de dichos procedimientos, por esta razón no es aconsejable utilizar este tipo de materiales para realizar recubrimientos pulpares (46).

#### Agregado de trióxido mineral (MTA)

El MTA se ha sugerido como un material adecuado en el tratamiento de dientes vitales con exposición pulpar, la razón es su potencial de reparación del tejido remanente, biocompatibilidad, propiedad hidrofílica y capacidad de selle relacionada a su insolubilidad. En el primer informe de MTA en pulpotomías en dientes permanentes maduros, una serie de casos de 14 molares humanos maduros permanentes con pulpitis irreversible, reveló la completa formación del puente dentinario, la vitalidad pulpar y la ausencia de inflamación en todos los casos (47-49).

Inicialmente, el MTA se utilizó en endodoncia para sellar todas las vías de comunicación entre el sistema del canal radicular y la superficie externa del diente. Pitt Ford *et al*, fueron los primeros en evaluar el rendimiento del MTA para recubrimiento pulpar en dientes de primates y demostraron un rendimiento superior de este en comparación con el hidróxido de calcio. Asimismo se ha evidenciado, que tanto con hidróxido de calcio o con MTA hay una formación de tejido duro, de un puente dentinal, completo o parcial, sin embargo este tejido difiere en calidad, siendo mejor el generado por el MTA. Nair *et al* demostraron disminución en la inflamación cuando se usaba MTA en comparación con hidróxido de calcio. Adicionalmente, cuando se utiliza MTA no hay formación de una capa de necrosis (49,50).

A nivel celular se ha demostrado que el MTA induce el reclutamiento, proliferación y diferenciación de células madre mesenquimales pulpares para formar el puente dentinario (48,49) y reduce la inflamación en comparación con el hidróxido de calcio. A nivel molecular se ha demostrado que el MTA induce la secreción de factores angiogénicos, como el factor de crecimiento vascular endotelial, que desempeña un papel importante en la cicatrización (54). Además se ha demostrado que el MTA induce que las células secreten IL-8 e IL-1 $\beta$ . Se ha demostrado que la IL-1 $\beta$  induce la síntesis de colágeno, que resulta en una respuesta más organizada de la pulpa favoreciendo los procesos de cicatrización (51).

Recientemente, Murray *et al* demostraron que la actividad reparadora de la pulpa se produce más fácilmente por debajo de materiales que impiden la microfiltración bacteriana, una característica que favorece el uso de recubrimiento con MTA. El principal problema con el uso de MTA para pulpotomías es que, debido a su color gris, tiende a dar a los dientes un aspecto oscuro. Ese problema se ha corregido en gran medida con el desarrollo del MTA blanco (37). Sin embargo, todavía puede presentarse una ligera decoloración, pero ésta pueda controlarse realizando su colocación mediante una técnica adecuada. Actualmente el MTA es el material indicado para usar en la TPV (52-54).

Finalmente, son coadyuvantes exitosos para el uso del MTA en el TPV, el Plasma Rico en Plaquetas PRP y la Fibrina Rica en Plaquetas PRF Autólogas.

### Concentrados de plaquetas de primera generación – Plasma Rico en Plaquetas (PRP)

Los concentrados de plaquetas surgieron basados en la necesidad de utilizar un material biológico que permitiera la rápida activación, migración, proliferación y diferenciación celular, conduciendo a la neoformación de una matriz extracelular que favorezca la regeneración tisular. A finales de la década de los noventa se publicaron los primeros resultados prometedores de la terapia basada en la utilización del PRP y sus más de cien factores de crecimiento en la terapia regenerativa en cirugía maxilofacial (4-6,55).

Consiste en la extracción de sangre del paciente mediante venopunción en la región antecubital; dicha sangre, que se mezcla en un tubo de ensayo con citrato sódico para evitar su coagulación, se centrifuga inicialmente a 1400 r.p.m durante 7 minutos. Se extrae el plasma amarillento (PPP) del tubo de sangre con una jeringuilla y posteriormente se introduce en un nuevo tubo y se realiza el segundo centrifugado a 2000 r.p.m durante 7 minutos, de forma que se separan, como en los procedimientos anteriores, los elementos formes más pesados de los más ligeros, para su posterior decantación (56).

El objetivo de la segunda centrifugación es separar y concentrar más las plaquetas obteniendo como producto final el plasma rico en plaquetas. Con este último proceso los tubos presentan una franja superior de suero sobrenadante de color amarillo claro, que contiene fibrinógeno y una concentración muy baja de plaquetas, y una franja inferior generalmente de color rojizo formada por PRP muy concentrado. Posteriormente se pipetea el suero sobrenadante, quedando un remanente de PRP de 0,5 mm aproximadamente en cada tubo. La concentración normal de las plaquetas en el hematocrito es de 33-40%, pero tras el proceso de doble centrifugado se puede obtener una concentración del 330% aproximadamente (56,57).

### Concentrados de plaquetas de segunda generación – Fibrina Rica en Plaquetas (PRF)

La PRF es un concentrado de plaquetas de segunda generación, desarrollado en Francia por Choukroun, *et al* (2006), para su uso específico en cirugía oral y maxilofacial. Ha sido referida como un concentrado que ha evidenciado tener muchas ventajas sobre el PRP preparado tradicionalmente. Sus ventajas principales incluyen: fácil preparación y la no manipulación bioquímica de la sangre, es decir, no se requiere de ningún tipo de anticoagulantes, trombina o cloruro de calcio (4-6,55-58).

A diferencia del PRP, la PRF no se disuelve rápidamente después de la aplicación; la liberación de factores de crecimiento ocurre aproximadamente durante 4 a 7 días en comparación con PRP cuya liberación aproximada se da de 7 a 14 horas. Aquí, se recolecta la sangre sin algún anticoagulante y se centrifuga inmediatamente. El proceso fisiológico de la coagulación se produce entonces y permite la recolección fácil de PRF y leucocitos. La PRF ha sido ampliamente utilizada para acelerar la cicatrización de tejido blando y duro (57-60).

La fibrina es la forma activada de una molécula plasmática llamada fibrinógeno. Esta molécula fibrilar soluble se presenta masivamente tanto en el plasma y en los gránulos  $\alpha$  de las plaquetas, los cuales juegan un papel determinante en la agregación de plaquetas durante la hemostasia. Este se transforma en una especie de pegamento biológico capaz de consolidar el grupo inicial de plaquetas, esto constituye una pared de protección a lo largo de las brechas vasculares durante la coagulación. De hecho, el fibrinógeno es el sustrato final de todas las reacciones de la coagulación.

Al ser una proteína soluble, el fibrinógeno se transforma en una fibrina insoluble por la trombina, mientras que el gel de fibrina polimerizada constituye la primera matriz cicatrizal del sitio de la lesión (59,60,61).

Los factores de crecimiento liberados por los gránulos abarcan un grupo de polipéptidos de citoquinas con un peso molecular relativamente bajo, en un rango de 6-45 kDa. Entre ellos se incluyen los factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF). El Factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1), que está presente en el plasma, puede ejercer efectos quimiotácticos hacia osteoblastos humanos (61,62). (Ver tabla 1).

Es necesario para la comprensión del campo de la endodoncia regenerativa, el conocimiento de la actividad de los diferentes factores de crecimiento que afectan a una amplia gama de actividades celulares incluyendo la migración, la proliferación, la diferenciación y la apoptosis de todas las células de la pulpa dental, incluyendo las células madre progenitoras. Los factores de crecimiento y citoquinas pueden actuar como moléculas de señalización que modulan el comportamiento celular por mediación de la comunicación intracelular (18,19,63).

#### Implicaciones clínicas de la PRF

La PRF puede considerarse un biomaterial favorable para el desarrollo de una microvascularización, que adicionalmente es capaz de guiar la migración y actividad celular.

Durante cualquier fenómeno hemostático y de cicatrización, el coágulo de fibrina atrapa a las células madre que en la circulación son llevadas al sitio de la herida gracias a la neovascularización inicial. La PRF, como una matriz de fibrina fisiológica, sirve como una red para las células madre, especialmente cuando una neovascularización acelerada se desarrolla en la membrana de fibrina (19-21,64).

Las células madre mesenquimales de la médula ósea contribuyen a la regeneración de diferentes tejidos. Estas células no diferenciadas son reclutadas desde la sangre a los tejidos lesionados, donde son capaces de diferenciarse en diferentes tipos de células. Esta diferenciación inicial se produce necesariamente en una matriz cicatrizal transitoria formada por fibrina y fibronectina. Esa es la razón por la cual la fibrina se utiliza preferentemente como matriz de soporte para el trasplante de estas células (22,65).

En resumen, podemos decir que la PRF puede ser considerada un biomaterial apropiado para el desarrollo de diferentes terapias. Su estructura molecular con baja concentración de trombina es una matriz óptima para la migración de células endoteliales y fibroblastos. La PRF es, no sólo una membrana de fibrina sencilla, sino una matriz que contiene todos los elementos moleculares y celulares que permiten una cicatrización óptima. Este biomaterial puede considerarse un concentrado fisiológico ya que se obtiene sin ninguna adición o manipulación (4-6,55-58).

A pesar del hecho que las citoquinas atrapadas en la PRF se liberan gradualmente y son capaces de acelerar el fenómeno celular, la estructura de la red de fibrina es el elemento clave de los procesos de cicatrización generados por ella. Por último, desde un punto de vista clínico, este biomaterial parece acelerar la cicatrización fisiológica y sus múltiples perspectivas clínicas, aunque clínicamente aún no han sido probado todas (65).

**Tabla 1.** Fuente, actividad y utilidad de los factores de crecimiento

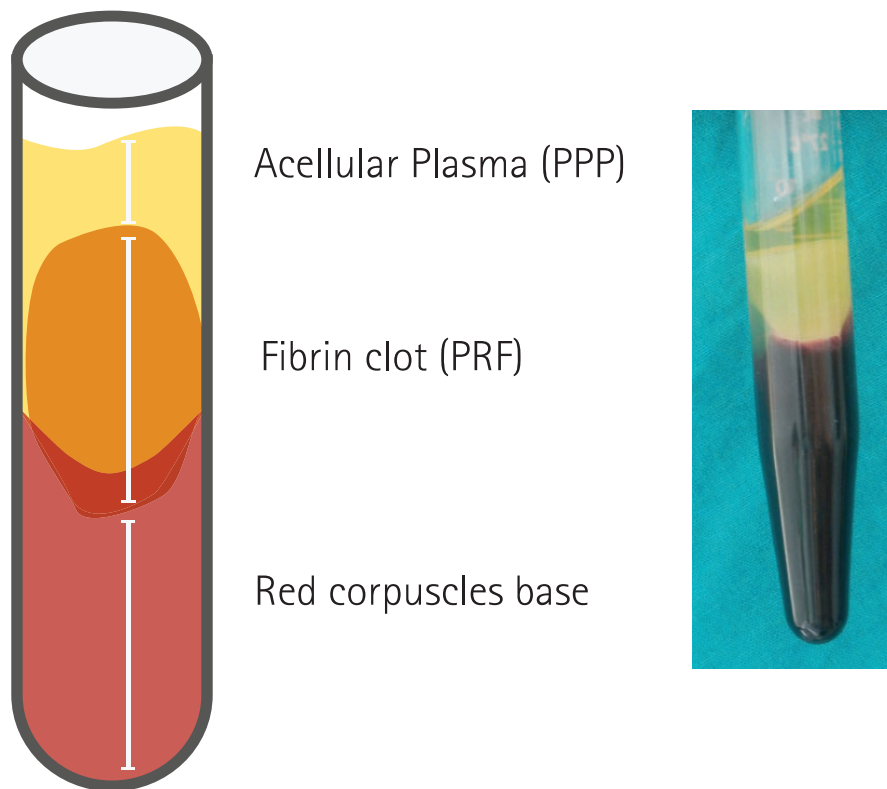
<b>Factor/Abreviatura</b>	<b>Fuente primaria</b>	<b>Actividad</b>	<b>Utilidad</b>
Proteínas morfogenéticas óseas ( <b>BMP</b> )	Matriz ósea	BMP induce la diferenciación de osteoblastos y la mineralización ósea	BMP es usada para hacer que las células madre se sinteticen y secreten una matriz mineral
Factor estimulante de colonias ( <b>CSF</b> )	Un amplio rango de células	CSFs son citoquinas que estimulan la proliferación de células madre óseas pluripotentes específicas	CSF puede ser usada para incrementar el número de células madre
Factor de crecimiento epidermal ( <b>EGF</b> )	Glándulas submaxilares	EGF promueve la proliferación de células mesenquimales, gliales y epiteliales.	EGF puede ser usada para incrementar el número de células madre
Factor de crecimiento fibroblástico ( <b>FGF</b> )	Un amplio rango de células	FGF promueve la proliferación celular	FGF puede ser usada para incrementar el número de células madre
Factor de crecimiento de Insulínico I o II ( <b>IGF</b> )	I Hígado II Variedad de células	IGF promueve a proliferación celular	IGF puede ser usada para incrementar el número de células madre
Interleuquinas IL- 1 a IL 13 ( <b>IL</b> )	Leucocitos	IL son citoquinas que estimulan las respuestas inmunes celulares y humorales	Promueve la actividad celular inflamatoria
Factor de crecimiento derivado de plaquetas ( <b>PDGF</b> )	Plaquetas, células endoteliales, placenta	PDGF promueve la proliferación del tejido conectivo, glial y células de músculo liso	PDGF puede ser usada para incrementar el número de células madre
Factor de crecimiento transformante Alfa ( <b>TGF <math>\alpha</math></b> )	Macrófagos, células del cerebro y queratinocitos	TGF $\alpha$ puede ser importante para un proceso de cicatrización normal	TGF $\alpha$ Induce desarrollo de la estructura tisular y epitelial
Factor de crecimiento transformante beta ( <b>TFG <math>\beta</math></b> )	Matriz dentinal, Células T Helper (TH) activadas, y células Natural Killer (NK)	TFG $\beta$ es un anti-inflamatorio, promueve la cicatrización, inhibe la proliferación de macrófagos y linfocitos	TFG $\beta$ está presente en la matriz dentinal y ha sido usada para promover la mineralización del tejido pulpar
Factor de crecimiento nervioso ( <b>NGF</b> )	Una proteína secretada por un tejido diana neuronal (por un tejido diana de una neurona).	NGF es crítico para la supervivencia y viabilidad de neuronas simpáticas y sensoriales	NGF promueve la supervivencia de las células neuronales

Fuente: Murray PE, García-Godoy F, Hargreaves KM. Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for action. JOE 2007 (18).

## Técnica PRF

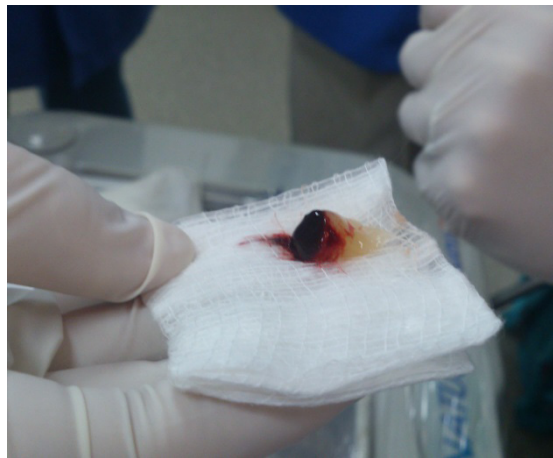
Esta tecnología requiere de una centrifuga de mesa y un kit de recolección de la sangre para realizar el proceso. El protocolo de PRF es muy simple: una muestra de sangre se toma sin anti-coagulante en un tubo de 10 ml, se centrifuga inmediatamente a 3000 rpm (aproximadamente 400 g) durante 10 min. Después de la centrifugación, se formarán tres capas: una capa de base de glóbulos rojos, una capa acelular superior y plasma, y un coágulo de PRF en el medio (ver figura 2).

Figura 2. Obtención de PRF



Fuentes: Dohan D, Choukroun J, Diss A, *et al.* Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution; Hiremath H, Saikalyan S, Kulkarni S, *et al.* Second generation platelet concentrate (PRF) as a pulpotomy medicament in a permanent molar with pulpitis: a case report (4,24).

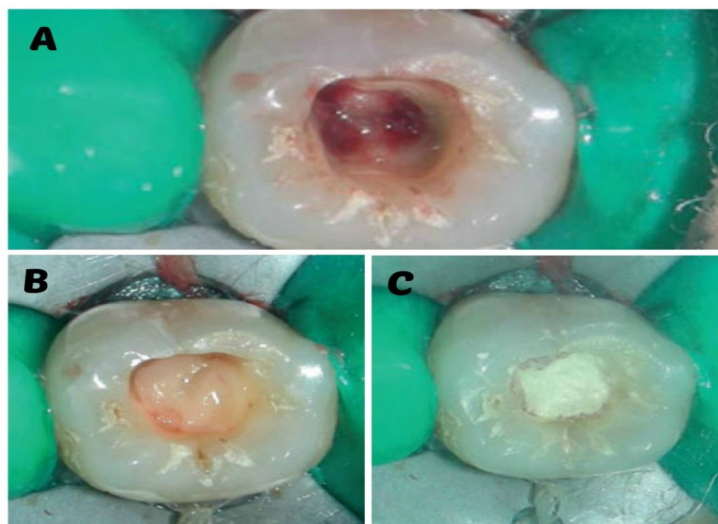
Según análisis histológicos la distribución de plaquetas dentro de las capas del tubo se acumulaban en mayor proporción en la parte inferior del coágulo de fibrina, principalmente en la unión entre los glóbulos rojos y el propio coágulo de PRF. Esta última observación subraya la idea que el extremo rojo de la PRF en unión con el coágulo de fibrina puede ser de interés para uso clínico y aún más eficaz que la parte superior del coágulo de fibrina (4-6).



Fuente: caso clínico realizado en el Posgrado de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia

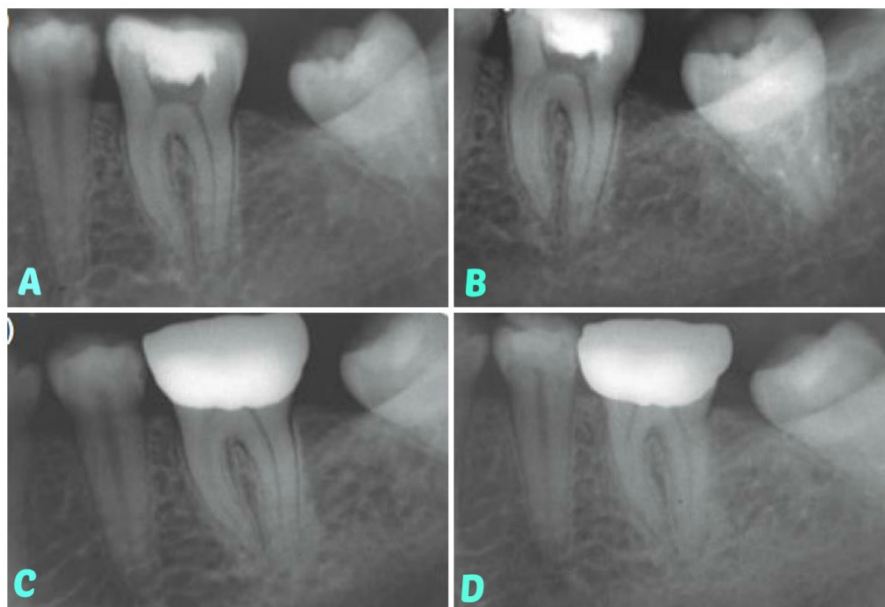
En un caso reportado con fibrina rica en plaquetas se hizo un esfuerzo para utilizar factores de crecimiento, los cuales participarían en la reparación de un diente con pulpitis. Se utilizó el protocolo previamente mencionado. La PRF se preparó con la propia sangre del paciente y se colocó en la cámara pulpar después de un procedimiento de pulpotomía. Inmediatamente se colocó una capa de MTA sobre la PRF y la restauración final con ionómero de vidrio. El MTA fue elegido ya que es hidrófilo y requiere humedad para fraguar, la cual es una propiedad favorable cuando existe la posibilidad de contaminación de la humedad en el entorno clínico. También se creó un doble selle coronal para eliminar la microfiltración. A los 6, 12, 18 y 22 meses, el diente se encontró asintomático y respondió positivamente a las pruebas de sensibilidad (ver figura 4 y 5) (24).

Figura 4. Caso clínico diente 36 con diagnóstico de Pulpitis Irreversible



Fuente: caso clínico realizado en el Posgrado de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia

Figura 4. Controles radiográficos caso clínico con PRF.



A) 6 meses B) 12 meses C) 18 meses D) 22 meses.

Fuente: caso clínico realizado en el Posgrado de Endodoncia, Facultad de Odontología, Universidad Nacional de Colombia

#### Protocolo sugerido técnica PRF

1. Historia Clínica y selección adecuada del caso.
2. Toma de muestra de sangre al paciente sin anticoagulante, tubo 10 ml (La Facultad de Odontología cuenta con la colaboración del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina).
3. Centrifugación de la sangre a 3000 rpm (aproximadamente 400 g) durante 10 minutos.
4. Anestesia infiltrativa sin vasoconstrictor o troncular con vasoconstrictor.
5. Aislamiento absoluto del campo operatorio con tela de caucho, opcionalmente se puede aplicar alrededor de la grapa dycal, duralay o cemento temporal Temp Bond para mejorar el selle y evitar filtración de saliva.
6. Acceso cavitario con fresa redonda diamantada adecuada al tamaño de la cámara pulpar del diente a tratar.
7. Remoción de tejido pulpar inflamado irreversiblemente (pulpotomía parcial, total o pulpectomía parcial).
8. Control de la hemorragia con torunda de algodón estéril humedecida y escurrida con hipoclorito de sodio al 5.25% realizando presión firme y constante en la zona durante 5 minutos.

9. Se obtiene el coágulo de PRF del tubo previamente centrifugado.
10. Se coloca la matriz de PRF sobre el coágulo estable en el tejido pulpar remanente.
11. Se aplica una capa de 3 mm de espesor de MTA blanco (ProRoot®) preparado en una proporción 3:1 con agua destilada sobre la PRF para favorecer el selle y contrarrestar la microfiltración. Posteriormente se coloca una torunda de algodón humedecida en agua destilada durante 15 minutos sobre el MTA para favorecer el fraguado.
12. Se coloca una base intermedia de 3 mm de Ionómero de vidrio de fotopolimerización encima sobre el MTA.
13. Se toma la radiografía (Rx) digital final.
14. Se deben realizar controles clínicos al paciente a los ocho días luego a los quince días, y posteriormente se llevarán a cabo controles clínicos y radiográficos al mes, tres y seis meses y al año. Y cada año durante cinco años de ser posible.
15. Si al mes del procedimiento hay ausencia de signos y síntomas clínicos patológicos, se remite al paciente para la realización de la restauración definitiva. Es muy importante ser muy claros con el paciente con relación a los alcances del TPV sobre todo en aquellos cuyos dientes requieren restauración tipo corona completa.

## Discusión

El análisis del estado del arte sobre la TPV denota una marcada tendencia a evaluar de la mejor manera cada caso, resaltando que existe la posibilidad de ofrecer una alternativa terapéutica biológica al paciente.

La vitalidad del complejo pulpo-dentinal es fundamental para la salud de los dientes y una prioridad para orientar las estrategias clínicas. Aunque el pensamiento tradicional ha contemplado el requerimiento del tratamiento de conductos para las pulpas expuestas en dientes permanentes maduros, se debe considerar a la TPV como una opción de tratamiento. Es importante desarrollar tratamientos biocompatibles dirigidos a mantener la vitalidad pulpar e incrementar la longevidad del diente. Como lo han demostrado diferentes estudios mencionados en este trabajo, el pronóstico en términos de supervivencia de dientes tratados endodónticamente no es tan bueno como los dientes vitales.

Es razonable señalar que el diagnóstico de los dientes con exposición por caries no siempre es pulpitis irreversible y por lo tanto algunas veces no requerirán de una pulpectomía, de allí la importancia de diagnosticar adecuadamente.

La clave para el éxito del tratamiento, en gran parte, consiste en ser estrictos con el protocolo de tratamiento, el uso de materiales y de procedimientos técnicos apropiados, una adecuada comprensión de la biología y fisiopatología pulpar, y fundamentalmente realizar una adecuada selección del caso.



La FRP es un biomaterial que cumple con requisitos biológicos satisfactorios para lograr la regeneración o reparación dentino-pulpar. Este material forma una matriz estable de fibrina con arquitectura tridimensional, esta estructura fisiológica puede promover la activación, proliferación y migración celular en el tejido afectado.

Otros materiales recomendados en este trabajo como el MTA son fundamentales para nuestra terapia, pes un gran número de estudios han reportado características y propiedades benéficas respecto a la reparación del tejido remanente como la biocompatibilidad del material y su capacidad de selle, entre otras. A diferencia del hidróxido de calcio, que tradicionalmente ha sido utilizado como material de recubrimiento pulpar; sin embargo, sus propiedades no son las adecuadas respecto al selle y biocompatibilidad requeridos para el éxito de la TPV.

Es importante mencionar que el enfoque presentado en esta revisión es una alternativa clínica a la usualmente realizada con hidróxido de calcio o con MTA y aun más con la endodoncia convencional. Se busca una alternativa biológica de tratamiento que preserve el remanente pulpar vital, disminuyendo la respuesta inflamatoria y para este fin uno de los factores importantes a tener en cuenta como coadyuvante en el tratamiento es la FRP. Sin embargo, el objetivo en nuestros tratamientos es lograr una regeneración, esto quiere decir que un futuro cercano se pueda colocar algún tipo de material biológico y/o inerte en el tejido pulpar y este se mantenga en las mismas condiciones ideales de normalidad.

## Conclusiones y recomendaciones

Es importante evaluar adecuadamente cada caso, resaltando que existe la posibilidad de brindar otra alternativa terapéutica a nuestros pacientes. Sigue siendo de gran importancia en cualquier tratamiento endodóntico realizar una adecuada historia clínica con un diagnóstico acertado.

Riesgo Vs. Beneficio: tanto para el clínico como para el paciente va a ser más favorable intentar realizar una TPV como primera opción en lugar del tratamiento de conductos.

El éxito del tratamiento es multifactorial, se debe realizar una selección adecuada del caso, realizar un protocolo estricto, utilizar materiales y procedimientos técnicos apropiados, y tener una adecuada comprensión de la biología y fisiopatología pulpar.

El fundamento científico detrás del uso de la FRP está en el hecho que los gránulos de las plaquetas son reservorios de diversos factores de crecimiento, los cuales cumplen un papel crucial en el mecanismo de *homing* o *quimioatracción celular*, requisito para lograr la reparación de los tejidos afectados a partir de promover la migración, proliferación y diferenciación celular buscando restablecer la arquitectura tisular en el tejido afectado.

El presente y futuro de la endodoncia estará en la integración de los avances actuales de la investigación en el campo de la ingeniería de tejidos para tratar de preservar o regenerar las estructuras dentales lesionadas.

Al ser un campo prometedor, se recomienda desarrollar una guía de manejo en la utilización de la TPV como alternativa y coadyuvante en el tratamiento endodóntico, que sea inicio de un ensayo clínico aleatorizado en el cual se emplee dicho protocolo en pacientes que asistan a las Clínicas de

la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional de Colombia buscando mejorar el nivel de evidencia en las TPV.

## Referencias bibliográficas

1. **Goldberg M, Farges JC, Lacerda-Pinheiro S, et al.** Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. *Pharmacol Res* 2008; 58(2): 137–47.
2. **Veerayutthwilai O, Byers MR, Pham TT, et al.** Differential regulation of immune responses by odontoblasts. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(1): 5–13.
3. **Takeuchi O, Akira S.** Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140(6): 805–20.
4. **Dohan D, Choukroun J, Diss A, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101(3): E37–44.
5. **Dohan D, Choukroun J, Diss A, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part II: Platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3): E45–50.
6. **Dohan D, Choukroun J, Diss A, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3): E51–5.
7. **Huang GT, Gronthos S, Shi S.** Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine. *J. Dent. Res* 2009; 88(9): 792–806.
8. **Hahn CL, Liewehr FR.** Relationships between caries bacteria, host responses and clinical signs and symptoms of pulpitis. *J Endod* 2007; 33(3): 213–9.
9. **Farges JC, Keller JF, Carrouel F, et al.** Odontoblasts in the dental pulp immune response. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 2009; 312B(5): 425–36.
10. **Cohenca N, Paranjpe A, Berg J.** Vital Pulp Therapy. *Dental Clinics of North America* 2013; 57(1): 59–73.
11. **Li Y, Lu X, Sun X, et al.** Odontoblast-like cell differentiation and dentin formation induced with TGF- $\beta$ 1. *Archives of oral biology* 2011; 56(11): 1221–9.
12. **Couve E, Osorio R, Schmachtenberg O.** The amazing odontoblast: activity, autophagy, and aging. *J Dent Res* 2013; 92(9): 765–72.
13. **Fristad I, Bletsa A, Byers M.** Inflammatory nerve responses in the dental pulp. *Endodontic Topics* 2010; 17(1): 12–41.

14. **Chogle S, Goodis H, Kiaia BM.** Pulpal and Periradicular Response to Caries Current Management and Regenerative Options. *Dent Clin N Am* 2012; 56(3): 521–36.
15. **Takehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ.** The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20(3): 340–9.
16. **Rodríguez-Lozano, Bueno C, Insausti L, et al.** Mesenchymal stem cells derived from dental tissues. *International Endodontic Journal* 2011; 44(9): 800–6.
17. **Murray PE, García-Godoy F.** The outlook for implants and endodontics: a review of the tissue engineering strategies to create replacement teeth for patients. *Dent Clin North Am* 2006; 50(2): 299–315.
18. **Murray PE, García-Godoy F, Hargreaves KM.** Regenerative Endodontics: A Review of Current Status and a Call for action. *JOE* 2007; 33(4): 377–90.
19. **Slack JM.** Origin of stem cells in organogenesis. *Science* 2008; 322(5907): 1498–501.
20. **Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, et al.** Stem cells in dentistry – Part I: Stem cell sources. *Journal of Prosthodontic Research* 2012; 56(3): 151–65.
21. **Egusa H, Sonoyama W, Nishimura M, et al.** Stem cells in dentistry – Part II: Clinical applications. *Journal of Prosthodontic Research* 2012; 56(4): 229–48.
22. **Volponi AA, Pang Y, Sharpe P.** Stem cell-based biological tooth repair and regeneration. *Trends in Cell Biology December* 2010; 20(12): 715–22.
23. **Miyashita H, Worthington HV, Qualtrough A, et al.** Pulp management for caries in adults: maintaining pulp vitality. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 18(2): CD004484.
24. **Hiremath H, Saikalyan S, Kulkarni S, et al.** Second generation platelet concentrate (PRF) as a pulpotomy medicament in a permanent molar with pulpitis: a case report. *International Endodontic Journal* 2012; 45(1): 105–12.
25. **Swift EJ, Trope M, Ritter AV.** Vital pulp therapy for the mature tooth – can it work? *Endodontic Topics* 2003; 5(1): 49–56.
26. **Asgary S, Eghbal MJ.** A clinical trial of pulpotomy vs. root canal therapy of mature molars. *Journal of Dental Research* 2010; 89(10): 1080–5.
27. **Huang FM, Yang SF, Zhao JH, et al.** Platelet-rich Fibrin Increases Proliferation and Differentiation of Human Dental Pulp Cells. *JOE* 2010, 36(10): 1628–32.
28. **Al-Hiyasat AS, Barrieshi-Nusair KM, Al-Omari MA.** The radiographic outcomes of direct pulp-capping procedures performed by dental students: A retrospective study. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(12): 1699–70.

29. **Seltzer S, Bender IB, Turkenkopf S.** Factors affecting successful repair after root canal treatment. *J Am Dent Assoc* 1963; 67: 651–62.
30. **Matsuo T, Nakanishi T, Shimizu H, et al.** A clinical study of direct pulp capping applied to carious-exposed pulps. *J Endod* 1996; 22(10): 551–6.
31. **Bogen G, Kim JS, Bakland LK.** Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: an observational study. *J Am Dent Assoc* 2008; 139(3): 305–15.
32. **Dammaschke T, Stratmann U, Wolff P, et al.** Direct Pulp Capping with Mineral Trioxide Aggregate: An Immunohistologic Comparison with Calcium Hydroxide in Rodents. *JOE* 2010; 36(5): 814–9.
33. **De Rosa T.** A retrospective evaluation of pulpotomy as an alternative to extraction. *Gen Dent* 2006; 54(1): 37–40.
34. **Qudeimat MA, Barrieshi-Nusair KM, Owais AI.** Calcium hydroxide vs mineral trioxide aggregates for partial pulpotomy of permanent molars with deep caries. *Eur Arch Pediatr Dent* 2007; 8(2): 99–104.
35. **Barrieshi-Nusair KM, Qudeimat MA.** A prospective clinical study of mineral trioxide aggregate for partial pulpotomy in cariously exposed permanent teeth. *J Endod* 2006; 32(8): 731–5.
36. **Mente J, Geletneky B, Ohle M, et al.** Mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide direct pulp capping: An analysis of the clinical treatment outcome. *J Endod* 2010; 36(5): 806–13.
37. **Bogen G, Kim JS, Bakland LK.** Direct pulp capping with mineral trioxide aggregate: An observational study. *J Am Dent Assoc* 2008; 139: 305–15.
38. **Aguilar P, Linsuwanont P.** Vital Pulp Therapy in Vital Permanent Teeth with Cariously Exposed Pulp: A Systematic Review. *JOE* 2011; 37(5): 581–7.
39. **Bakland LK.** Revisiting Traumatic Pulpal Exposure: Materials, Management Principles, and Techniques. *Dent Clin N Am* 2009; 53(4): 661–73.
40. **Law AS.** Considerations for Regeneration Procedures. *JOE* 2013; 39(3S): S44–56.
41. **Cvek M.** A clinical report on partial pulpotomy and capping with calcium hydroxide in permanent incisors with complicated crown fractures. *J Endod* 1978; 4(8): 232–7.
42. **Güven EP, Yalvac ME, Sahin F, et al.** Effect of dental materials calcium hydroxide-containing cement, mineral trioxide aggregate, and enamel matrix derivative on proliferation and differentiation of human tooth germ stem cells. *J Endod* 2011; 37(5): 650–6.

43. **Nair PN, Duncan HF, Pitt Ford TR, et al.** Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to experimental capping with Mineral Trioxide Aggregate: a randomized controlled trial. *Int Endod J* 2009; 42(5): 422–44.
44. **Wang X, Jong G, Lin LM, et al.** EphB–EphrinB Interaction Controls Odontogenic/Osteogenic Differentiation with Calcium Hydroxide. *JOE* 2013; 39(10): 1256–60.
45. **Washington JT, Schneiderman E, Spears R, et al.** Biocompatibility and osteogenic potential of new generation endodontic materials established by using primary osteoblasts. *J Endod* 2011; 37(8): 1166–70.
46. **Trope M.** Regenerative Potential of Dental Pulp. *JOE* 2008; 34(7s): S13–S17.
47. **Ji YM, Jeon SH, Park JY, et al.** Dental stem cell therapy with calcium hydroxide in dental pulp capping. *Tissue Eng Part A* 2010; 16(6): 1823–33.
48. **Parirokh M, Torabinejad M.** Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part I: Chemical, Physical, and Antibacterial Properties. *JOE* 2010; 36(1): 16–27.
49. **Torabinejad M, Parirokh M.** Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part II: Leakage and Biocompatibility Investigations. *JOE* 2010; 36(2): 190–202.
50. **Parirokh M, Torabinejad M.** Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part III: Clinical Applications, Drawbacks, and Mechanism of Action. *JOE* 2010; 36(3): 400–13.
51. **Nair PN, Duncan HF, Pitt Ford TR, et al.** Histological, ultrastructural and quantitative investigations on the response of healthy human pulps to experimental capping with mineral trioxide aggregate: a randomized controlled trial. *Int Endod J* 2008; 41(2):128–50.
52. **Murray PE, García-Godoy F.** The incidence of pulp healing defects with direct capping materials. *Am J Dent* 2006;19(3): 171–7.
53. **Dammaschke T, Wolff P, Sagheri D, et al.** Mineral trioxide aggregate for direct pulp capping: a histologic comparison with calcium hydroxide in rat molars. *Quintessence Int* 2010; 41(2): e20–30.
54. **Paranjpe A, Zhang H, Johnson J.** Effects of Mineral Trioxide Aggregate on Human Dental Pulp Cells after Pulp-capping Procedures. *JOE* 2010; 36(6): 1042–7.
55. **Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al.** Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85(6): 638–46.

56. [Dohan D, Rasmusson L, Albrektsson T.](#) Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) Trends in Biotechnology 2009; 27(3): 158–67.
57. [Beca T, Hernández G, Morante S, et al.](#) Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. *Av Periodon Implantol* 2007; 19(1): 39–52.
58. [Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al.](#) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics* 2006; 101(3): E56–60.
59. [Hargreaves K, Diogenes A, Teixeira F.](#) Treatment Options: Biological Basis of Regenerative Endodontic Procedures. *JOE* 2013; 39(3s): S30–43.
60. [Murray PE.](#) Constructs and Scaffolds Employed to Regenerate Dental Tissue. *Dent Clin N Am* 2012; 56(3): 577–588.
61. [Dohan E, De Peppo GM, Doglioli P, et al.](#) Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* 2009; 27(1): 63–9.
62. [Su CY, Kuo YP, Tseng YH, et al.](#) In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108(1): 56–61.
63. [Kim S, Zhou J, Solomon C, et al.](#) Effects of Growth Factors on Dental Stem/Progenitor Cells. *Dent Clin N Am* 2012; 56(3): 563–575.
64. [Smith AJ, Smith JG, Shelton RM, et al.](#) Harnessing the Natural Regenerative Potential of the Dental Pulp. *Dent Clin N Am* 2012; 56(3): 589–601.
65. [Obeid M, Saber Sel D, Ismael Ael D, et al.](#) Mesenchymal Stem Cells Promote Hard-tissue Repair after Direct Pulp Capping. *JOE* 2013; 39(5): 626–631.
66. [Nagaoka S1, Miyazaki Y, Liu HJ, et al.](#) Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teet. *Dental Traumatology* 1995; 11(1):6–9.