

Efecto osteoinductor del mineral trióxido agregado versus el cemento Portland tipo I sobre lesiones óseas mandibulares

Osteoinductive effect of Mineral Trioxide Aggregate versus Portland Cement Type I on mandibular bone lesions

Carlos Humberto Erazo Paredes, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, carloserazo@outlook.com
Eliberto Ruiz Ramirez, Universidad Científica del Sur, Perú, eliberto.ruizr@yahoo.com
Oscar Alberto Barreda Torres, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, oskar_bat@hotmail.com
Elías Ernesto Aguirre Siancas, Universidad Científica del Sur, Perú, elias_aguirre@yahoo.com

RESUMEN

Introducción: Estudio experimental donde se procuró determinar el efecto osteoinductor del mineral trióxido agregado (MTA) versus el cemento Portland tipo I sobre lesiones óseas mandibulares. **Metodología:** Se emplearon 12 conejos machos de la raza New Zealand de 3 meses de edad, los cuales fueron divididos en 4 grupos iguales. Todos los conejos fueron anestesiados utilizando pentobarbital sódico. Se procedió a la incisión en la piel mandibular para exponer el hueso sobre el que se realizó 3 cavidades de 3mm cada una. En una cavidad se colocó MTA, en otra cemento Portland y en la tercera ninguna pasta. Se procedió al sacrificio de los grupos experimentales a la 1^{era}, 2^{da}, 3^{era} y 4^a semana respectiva y se evaluó las muestras obtenidas de las áreas quirúrgicas mediante conteo de osteocitos y osteoblastos. **Resultados:** Tanto el MTA como el cemento Portland poseen la misma capacidad osteoinductiva en la 1^{era}, 2^{da} y 3^{era} semana ($p > 0,05$). Sin embargo, en la 4^a semana el MTA tuvo mayor capacidad osteoinductora al estimular mayor número de osteoblastos que el cemento Portland ($p = 0,024$). **Conclusiones:** El MTA y el cemento Portland tipo I mostraron similar efecto osteoinductor durante las 3 primeras semanas de evaluación. El MTA demostró mayor efecto osteoinductor durante la cuarta semana de valoración.

PALABRAS CLAVE

Mineral trióxido agregado, cemento Portland tipo I, osteoinducción, osteoblastos, osteocitos

ABSTRACT

Introduction: An experimental study was carried out to determine the osteoinductive effect of Mineral Trioxide Aggregate (MTA) versus Portland Cement type I on mandibular bone lesions. **Methodology:** Twelve 3-month-old male New Zealand rabbits were divided into 4 equal groups. All rabbits were anesthetized using Pentobarbital. An incision of the mandibular skin was performed to expose the bone on which 3 cavities of 2mm each one were made. In one cavity MTA was placed, in another Portland Cement type I and the third remained empty. The experimental groups were sacrificed at the 1st, 2nd, 3rd and 4th respective weeks and evaluated histologically by counting osteocytes and osteoblasts. **Results:** Both MTA and Portland cement have the same osteoinductive capacity in the 1st, 2nd and 3rd week ($0.05 < p$). Nonetheless, in the 4th week the MTA had greater osteoinductive capacity by stimulating a greater number of osteoblasts than the Portland Cement ($p = 0.024$). **Conclusions:** The MTA and Portland cement type I showed a similar osteoinductive effect during the first 3 weeks of evaluation, however, MTA had the greatest osteoinductive effect during the fourth week of evaluation

KEYWORDS

Mineral trioxide aggregate, Portland Cement type I, osteoinduction, osteoblasts, osteocytes.

Recibido: 13 mayo, 2017

Aceptado para publicar: 4 noviembre, 2017

INTRODUCCIÓN

El tejido óseo es un tipo especializado conjuntivo, y presenta una matriz intercelular mineralizada; además es muy vascularizado e inervado (Chumpitaz *et ál.*, 2016; Aguirre, 2013). Existe un conjunto de células que regulan el metabolismo óseo. Las células osteoprogenitoras que se diferencian en osteoblastos (las formadoras de la matriz ósea) y luego estos en osteocitos (las células maduras del hueso) (Aguirre, 2014). Por otra parte existe un linaje celular derivado de los monocitos sanguíneos: los osteoclastos los cuales son los encargados de la resorción ósea y que trabajan juntamente con los osteoblastos en la homeostasis del tejido (Arbolea y Castañeda, 2014).

Durante una intervención quirúrgica sobre el tejido óseo, como por ejemplo en una osteotomía, predominan los mecanismos de formación, debido a la necesidad de una recuperación eficaz, desempeñando las células osteoprogenitoras y los osteoblastos un rol fundamental durante la reparación ósea (Aguirre, 2014). En la regeneración ósea intraoral está comprometido un conjunto de estrategias terapéuticas que se basan en los principios de la osteogénesis, osteoconducción y osteoinducción y que origina una respuesta en la que se hallan relacionados los vasos sanguíneos, las células y la matriz extracelular (Mamalis y Cochran, 2011; Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006). La osteogénesis es la transferencia directa de elementos celulares vitales hacia el área destinada de regeneración ósea. La osteoconducción proporciona la plataforma o el sustrato para los procesos celulares y bioquímicos que conducen a la formación ósea, y finalmente la osteoinducción dirige la diferenciación de células mesenquimales pluripotenciales

hacia células osteoformadoras en presencia de sustancias polipeptídicas (Mamalis y Cochran, 2011; D'Antó *et ál.*, 2010; Fernández-Tresguerres *et ál.*, 2006).

Diversas complicaciones endodónticas pueden lacerar la matriz ósea circundante al diente, entre las cuales se pueden nombrar a las falsas vías y las perforaciones del piso cameral, entre otras (Khalil *et ál.*, 2012). Para el manejo de dichas complicaciones se utilizan diversos materiales, que han demostrado una actividad positiva en la regeneración del tejido óseo lesionado (Khalil *et ál.*, 2012; Rahimi *et ál.*, 2012; Yildirim *et ál.*, 2005). El mineral trióxido agregado (MTA), se ha venido utilizando con buenos resultados en el manejo de dichas situaciones, con diversos estudios que demuestran su actividad osteoinductora tanto clínicamente como in vitro (D'Antó *et ál.*, 2010; Parirokh y Torabinejad, 2010; Srinivasan *et ál.*, 2009; Gallas *et ál.*, 2004; Koh y Torabinejad, 1997), habiéndose determinado que dicho agente estimula en los fibroblastos la producción tanto de la proteína morfogenética ósea tipo 2 como del factor de crecimiento transformante (Darvell y Wu, 2011; Guven *et ál.*, 2007).

El cemento Portland tipo I fue inventado y patentado por Koseph Aspdin en 1824 en Inglaterra, y es el más empleado en todo el mundo, en el ámbito de la ingeniería para la construcción de edificaciones (Camilleri *et ál.*, 2005). Sus componentes como silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato tricálcico, aluminoferrato tetracálcico, y sulfato de calcio hidratado son muy similares a la composición del MTA, el cual difiere del cemento Portland por la presencia de óxidos de bismuto (Yildirim *et ál.*, 2016). A diferencia del MTA, el cemento Portland tiene un menor costo de producción, pero sola-

mente posee estudios in vitro en los que se sugiere que podría tener un efecto positivo sobre la fisiología ósea (Yildirim *et ál.*, 2016; Camilleri, 2010).

Por lo expuesto, en este trabajo se comparará el efecto osteoinductor del MTA versus el cemento Portland, correctamente procesados para la interacción con el tejido óseo, sobre lesiones óseas mandibulares en conejos, y donde se ha empleado como indicador el conteo histológico de osteoblastos y de osteocitos.

METODOLOGÍA

Estudio experimental y prospectivo. Se emplearon 12 conejos machos New Zealand de 3 meses de edad, con un peso entre 1800 a 2800 g, provenientes del centro de producción de animales de experimentación del Instituto Nacional de Salud, de Lima-Perú. Los animales fueron acondicionados y ambientados durante 7 días en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos mantenidos a una temperatura ambiente entre 19° a 22° C, con una humedad de 40% a 50%, en periodos de luz/oscuridad de 12 horas de forma alternada iniciados a las 8 a.m. Se les suministró agua y alimentación balanceada ad libitum (Fuentes *et ál.*, 2010), siguiendo las recomendaciones éticas de la guía para experimentación en animales de laboratorio *Guide for the care and use of laboratory animals* y la Declaración de Helsinki. Después de la semana de ambientación, los animales fueron divididos al azar en 4 grupos de 3 integrantes cada uno y nominados como grupo A, B, C y D.

Procedimiento experimental. El día 0 del experimento todos los grupos fueron anestesiados utilizando pentobarbital sódico (Halatal), el cual se administró a una

dosis de 35 mg/kg por vía intraperitoneal. A continuación se les retiró el pelo de la zona de la piel mandibular del lado derecho con una crema de depilación, y luego se procedió a realizar la asepsia y antisepsia con iodopovidona. Se expuso la parte ósea del borde mandibular mediante una incisión de la piel de aproximadamente de 4 cm con hoja de bisturí n°15 (Figura 1). Se separó el tejido blando con una legra quirúrgica para luego hacer tres cavidades de 3mm de diámetro por 2 mm de profundidad cada una en el hueso mandibular, con 5mm de separación entre cada cavidad, utilizando una pieza de mano de alta velocidad con una fresa redonda de carburo tungsteno de 3mm y abundante irrigación de solución salina estéril (Figuras 2 y 3). Se preparó las pastas por experimentar de MTA marca Angelus (Industria de Productos Odontológicos Ltda, Londrina, Brasil) siguiendo las instrucciones del fabricante y de cemento Portland tipo I marca Sol (Cementos Lima, Lima, Perú) el cual se esterilizó con óxido de etileno y luego se mezcló con agua destilada hasta producir una pasta homogénea (De-Deus et ál., 2006) y se colocó cada una de ellas en la primera y la segunda cavidad con diferentes instrumentadores transportadores de cemento (instrumento de Ward) estériles, y en la tercera cavidad no se puso ninguna pasta (Figura 4). Luego de la colocación de las pastas se procedió a reposicionar los tejidos blandos y a realizar la sutura por planos respectivos.

Las pastas colocadas se mantuvieron en el hueso mandibular en un periodo de 1, 2, 3 y 4 semanas correspondientes a los grupos experimentales A, B, C y D, respectivamente. Al término del tiempo correspondiente, se procedió a sacrificar por sobredosis de anestesia a los miembros de cada grupo para extraerles la mandíbula.

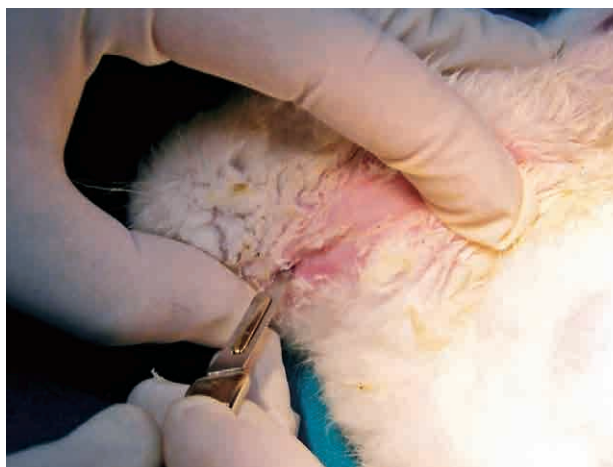


Figura 1. Incisión en el área quirúrgica sobre la piel ya depilada.

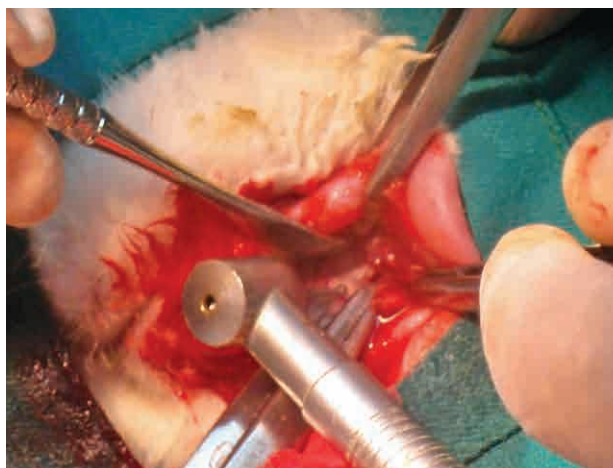


Figura 2. Osteomía sobre el hueso mandibular utilizando una turbina dental de alta velocidad.



Figura 3. Vista de las tres cavidades luego de concluir las osteotomías mandibulares.

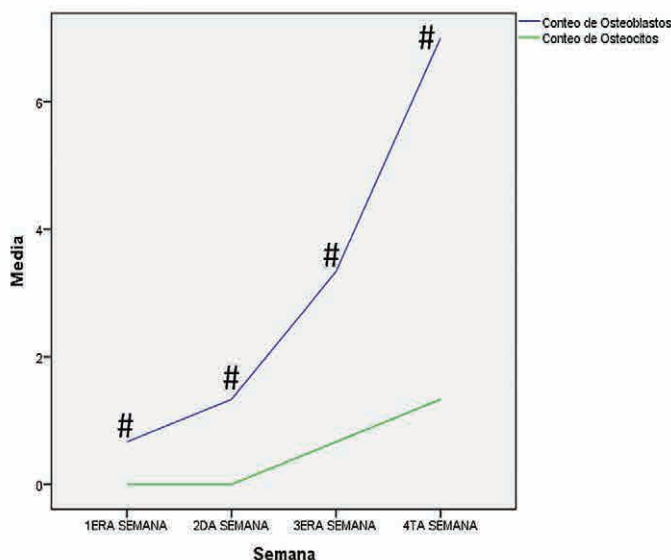


Figura 4. Colocación del agente inductor (MTA) sobre una de las cavidades en el hueso mandibular.

De esta se seccionó solo la zona en la que se realizaron las 3 cavidades. Las muestras fueron fijadas en formol al 10%, y se procedió a la preparación de las muestras para su estudio histológico. Se utilizó la técnica por descalcificación con ácido nítrico al 5%. Una vez descalcificadas, se realizó un corte longitudinal a las muestras que incida en las 3 cavidades. Los bloques óseos fueron descalcificados en una solución acuosa de EDTA

al 12,5% durante 3 semanas. Luego se realizaron cortes de 7 micrómetros de espesor. Estos tajos fueron colocados en parafina por la metodología convencional y se tiñeron con hematoxilina-eosina. Para registrar los datos histológicos de la muestra procesada, se seleccionó de esta un área de manera aleatoria, que incluía la totalidad del tejido procesado. Dicha sección estudiada fue de 800 x 400 micrómetros cuadrados.

Gráfico 1. Comparación de las medias de osteocitos y osteoblastos en cada semana de evaluación por el uso de cemento Portland tipo I



PROCESAMIENTO DE DATOS

Luego de la recolección de los datos, estos fueron procesados en una computadora Intel Core i7 utilizando los siguientes programas: procesador de texto Microsoft Word 2013, Microsoft Excel 2013, SPSS versión 21. Debido a que no se halló normalidad en el comportamiento de las variables estudiadas se emplearon pruebas no paramétricas como la prueba de Kruskal-Wallis para determinar si existieron diferencias entre el grupo control y los conjuntos experimentales en cada semana. Además se utilizó la prueba de Friedman para evaluar la actividad osteoinductora de cada uno de los agentes usados independientemente durante las 4 semanas de experimentación. La significancia empleada fue de 0,05.

RESULTADOS

Empleando la prueba de Friedman, se determinó que no hubo diferencias significativas en el conteo de osteocitos entre las cuatro semanas de evaluación al comparar independientemente la osteoinducción del MTA, cemento Portland y el grupo control ($p > 0,05$) ni tampoco en el conteo de osteoblastos al comparar independientemente durante las cuatro semanas el efecto del MTA y el grupo control ($p > 0,05$). Pero sí se encontró diferencias estadísticas entre las 4 semanas de evaluación ($p = 0,032$) en el conteo de osteoblastos por el uso del cemento Portland tipo I (Gráfico 1).

DISCUSIÓN

El modelo para estudiar la reparación ósea o el efecto de materiales de regeneración sobre esta ha sido frecuentemente la tibia de animales pequeños (Koh y Torabinejad, 1997). El hueso de la mandíbula se ha recomendado para las pruebas de materiales de endodoncia desde cementos interradiculares hasta

Tabla 1. Evaluación de la actividad osteoinductora del MTA y del cemento Portland tipo I durante las 4 semanas de experimentación

Grupo	Agente osteoinductor	Media de osteocitos	Desviación estándar	P	Media de osteoblastos	Desviación estándar	P
A Semana 1	MTA	1,33	1,73	0,232	11,67	3,59	0,061
	Cemento Portland	0	0		0,67	1,16	
	Control	1	1		11	1	
B Semana 2	MTA	0,33	0,58	0,376	8,67	1,16	0,058
	Cemento Portland	0	0		1,33	0,58	
	Control	0	0		6,67	3,79	
C Semana 3	MTA	1	1	0,741	13,33	4,51	0,054
	Cemento Portland	0,67	0,58		3,33	1,16	
	Control	1	0		10,33	2,52	
D Semana 4	MTA	0	0	0,086	17	1	0,027#
	Cemento Portland	1,33	1,53		7	1	
	Control	2,33	0,58		12	1	

Diferencias estadísticamente significativas

los que se ponen en contacto íntimo con los tejidos perirradiculares (Parirokh *et ál.*, 2010). En general, las pruebas de biocompatibilidad sobre biomateriales óseos tales como los aplicados en endodoncia se deben realizar en los huesos específicos. La Organización Internacional de Normalización (ISO), recomienda huesos, como la tibia, el fémur y la mandíbula de los animales de laboratorio para la investigación de la implantación de material, pero el empleo de pequeños animales como conejos, ratas, cobayas y gatos son los más populares (Khalil *et ál.*, 2012). En la presente investigación, el tipo de animales utilizados (conejos) está en conformidad con las recomendaciones de la ISO y que fueron aplicados por Gallas *et ál.*, 2004.

El MTA es un material desarrollado para uso endodóntico que tiene mejoras significativas sobre otros utilizados para los procedimientos en los tejidos óseos (Hashiguchi *et ál.*, 2011; Schembri *et ál.*, 2010; Parirokh y Torabinejab, 2010). Además de las aplicaciones de endodoncia, el MTA también puede tener otros usos clínicos. Una incógnita es si el MTA puede

ser utilizado junto con técnicas de injerto óseo: por ejemplo, si una perforación radicular ha causado un importante defecto periodontal intraóseo, surge la pregunta de si esa perforación podría ser reparada con MTA.

Otro aspecto que consideramos en este estudio fue del tipo de implantación del material en el hueso. No se hizo uso de tubos de teflón ni de silicona como un vehículo para llevar a MTA, debido a que se ha informado que la presencia de células inflamatorias en las preparaciones histológicas es causada más por las propiedades del material del vehículo que por la citotoxicidad del material osteoinductor (Silva *et ál.*, 2010). La única premisa para poner a prueba un nuevo material tiende a ser que debe estar en contacto con el tejido óseo (Gallas *et ál.*, 2004). Hallazgos histológicos anteriores revelaron que la aplicación de MTA como un material de relleno apical no impide la regeneración de los tejidos dentales y óseos (Zairi *et ál.*, 2012).

El MTA ha demostrado ser biocompatible en estudios realizados por Khalil *et ál.*, 2012, Zairi *et ál.*,

2012; Rahimi *et ál.*, 2010; Bedoya y García, 2009. Además ha probado ser osteoinductivo en estudios realizados por Silva *et ál.*, 2010; Gallas *et ál.*, 2004, y en la presente investigación. Esencialmente, para concluir que los materiales estudiados poseen potencial osteoinductor, la característica histológica de actividad osteoblástica y osteocítica debe estar presente, como se ha dado en este estudio.

La composición del MTA es la misma que la del cemento Portland tipo I sin aditivos. Al comparar las propiedades de ambos, se demostró que los dos elementos tenían los mismos atributos, al poseer casi idénticos ingredientes químicos, excepto el óxido de bismuto, que le da la propiedad de radiopacidad al MTA (Yildirim *et ál.*, 2016); y al ser analizados por medio de la prueba de defracción a los rayos X, tanto macroscópica como microscópicamente, ambos cementos demostraron ser casi idénticos (Camilleri *et ál.*, 2005). El MTA tiene una baja resistencia a la compresión, a diferencia del cemento Portland tipo I, lo cual es una desventaja para su uso como un sellador en perforaciones ra-

diculares porque el movimiento dental a expensas del periodonto puede producir su fractura (Steffen y Van Waes, 2012). Al realizar estudios de biocompatibilidad entre el cemento Portland y MTA en cultivos de células osteoblásticas se demostró una similar respuesta entre ambos materiales. (De-Deus *et ál.*, 2006). Silva *et ál.*, 2010, demostró en su estudio la capacidad osteoinductora del cemento Portland, como se evidencia en la presente investigación.

El sustituto óseo ideal debe ser biocompatible y osteoinductivo e idealmente también osteoconductor, y debería tener propiedades mecánicas satisfactorias (Scott *et ál.*, 2013). Entre los materiales inorgánicos, las sales de calcio fueron las primeras sustancias implantadas para ser utilizados con éxito en la práctica clínica como sustitutos óseos (Mainard, 2014). Tienen la ventaja de simular la fase mineral del hueso humano y su principal propiedad es la bioactividad, que permite intercambios con las células, tejidos y líquidos circundantes. (Mainard, 2014). Los iones de calcio y fósforo son los principales iones presentes en la composición de MTA y del cemento Portland tipo I, pues se ha encontrado que pueden llegar a ser biocompatibles cuando se usan en contacto con las células óseas y tejidos duros, porque estos iones son también los principales componentes de estos tejidos (Koh y Torabinejad, 1997). Nuestro estudio histológico demostró ninguna o una reacción inflamatoria mínima de MTA y del cemento Portland implantados en el hueso. Además se observó capacidad osteoinductiva de estos cementos, con presencia de osteoblastos y osteocitos en los grupos experimentales al evaluar independientemente el uso de cada cemento durante las 4 semanas de experimentación, de acuerdo con Silva *et ál.*, 2010 y Gallas *et ál.*,

2004, pero sólo siendo estadísticamente significativo el conteo de osteoblastos por el uso del cemento Portland, se coincide en general con los resultados encontrados por Silva *et ál.*, 2010. Por otra parte, al comparar el efecto osteoinductor de los cementos entre sí, se observó diferencias significativas entre los grupos control, MTA y cemento Portland a la 4^{ta} semana. El MTA tuvo mayor efecto osteoinductor que el cemento Portland en esta semana, lo cual se evidenció también en el estudio realizado por Bedoya y García en 2009.

Finalmente, los resultados del presente estudio confirman la capacidad osteoinductiva del MTA y cemento Portland, además de su biocompatibilidad, lo que nos permite concluir que la implantación de este material, en los defectos óseos de tamaño crítico, resulta en la regeneración ósea, aunque no a una considerable tasa de crecimiento.

CONCLUSIÓN

El MTA y el cemento Portland I mostraron similar efecto osteoinductor durante las 3 primeras semanas de evaluación; sin embargo, el MTA demostró mayor efecto osteoinductor durante la cuarta semana de evaluación. Además se evidenció, por el conteo de osteoblastos, que la capacidad osteoinductiva del cemento Portland tipo I fue aumentando a medida que avanzaban las semanas. ■■■

Autores:

Primer autor:

Carlos Humberto Erazo Paredes.

Correo electrónico:

carloserazo@outlook.com

Filiación institucional:

Cirujano dentista. Facultad de Odontología.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Segundo autor:

Eliberto Ruiz Ramírez.

Correo electrónico:

eliberto.ruizr@yahoo.com

Filiación institucional:

Docente e investigador. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Científica del Sur.

Tercer autor:

Oscar Alberto Barreda Torres.

Correo electrónico:

oskar_bat@hotmail.com

Filiación institucional:

Cirujano dentista. Facultad de Odontología.

Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Cuarto autor:

Elías Ernesto Aguirre Siancas.

Correo electrónico:

elias_aguirre@yahoo.com

Filiación institucional:

Docente e investigador. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Científica del Sur. Concytec-Regina. Reg. 598.

Agradecimientos:

Al Mg. Miguel Rodríguez Alfaro por su apoyo en el manejo tanto quirúrgico como farmacológico de los animales empleados en la investigación, así como por la revisión y corrección final del presente artículo.

País: Perú

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre-Siancas, E., (2014). *Influencia de la variación de la presión de oxígeno ambiental en la formación ósea en cuyes nativos del nivel del mar. Anales de la Facultad de Medicina*; 75: 125-9.

Aguirre-Siancas, E., (2013). *Influencia de la hipoxia sobre el metabolismo óseo. Rol central del factor inducible por hipoxia. Anales de la Facultad de Medicina*; 74: 321-5.

Arboleya, L., Castañeda, S., (2015). *Osteoclastos: mucho más que células remodeladoras del hueso. Rev Osteoporos Metab Miner*; 6: 109-121.

Bedoya, A., García, C., (2009). *Efecto del mineral trióxido agregado, cemento Portland e hidróxido de calcio en el proceso de reparación de perforaciones radiculares en dientes de canis familiaris. Rev Estomatol Herediana*; 19: 103-10.

Camilleri, J., Montesin, F., Di Silvio, L., Pitt Ford, T. (2005). *The chemical constitution and biocompatibility of accelerated Portland cement for endodontic use. Int Endod J*; 38: 834-42.

Camilleri J. (2010). *Evaluation of the physical properties of an endodontic Portland cement incorporating alternative radiopacifiers used as root-end filling material. Int Endod J*; 43: 231-40.

Chumpitaz-Cerrate, V., Franco-Quino, F., Aguirre-Siancas, E., Mallma-Medina, A., Rodríguez-Vargas, C., Castro-Rodríguez, C. (2016). *Influencia de la presión de oxígeno ambiental sobre la regeneración ósea guiada. Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral. <http://dx.doi.org/10.1016/j.piro.2016.08.001>.*

I.D'Antó, V., Di Caprio, M., Ametrano, G., Simeone, M., Rengo, S., Spagnuolo, G., (2010). *Effect of mineral trioxide aggregate on mesenchymal stem cells. J Endod*; 36: 1839-43.

Darvell, B., Wu, R. (2011). *MTA—An Hydraulic Silicate Cement: Review update and setting reaction. Dental Materials*; 27: 407-22.

De-Deus, G., Petruccelli, V., Gurgel-Filho, E., Coutinho-Filho, T. (2006). *MTA versus Portland cement as repair material for furcal perforations: a laboratory study using a polymicrobial leakage model. Inter Endod J*; 39: 293-8.

Fernández-Tresguerres, I., Alobera, M., Del Canto, M., Blanco, L., (2006). *Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. Med Oral Patol Oral Cir Bucal*; 11: 47-5.

Fuentes, E, Mendoza, R., Rosales, A., Cisneros, R. (2010). *Guía de Manejo y cuidado de animales de laboratorio : Conejo. 1ª ed. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.*

Gallas, M., Dos Santos, A., Rodríguez, M., Fuentes, I., Crespo, A., (2004). *The osteoinductive potential of MTA (Mineral Trioxide Aggregate): a histologic study in rabbits. Eur J Anat*; 8: 101-5.

Guven, G., Cehreli, Z., Ural, A., Serdar, M., Basak, F., (2007). *Effect of mineral trioxide aggregate cements on transforming growth factor beta1 and bone morphogenetic protein production by human fibroblasts in vitro. J Endod*; 33(4): 447-50.

Hashiguchi, D., Fukushima, H., Yasuda, H., Masuda, W., Tomikawa, M., Morikawa, K. (2011). *Mineral Trioxide Aggregate Inhibits Osteoclastic Bone Resorption. J Dent Res*; 90: 912-7.

Khalil, I., Isaac, J., Chaccar, C., Sautier, J., Berdal, A., Naaman, N. (2012). *Biocompatibility assessment of modified Portland cement in comparison with MTA: In vivo and in vitro studies. Saudi Endodontic Journal*; 2: 6-12.

Koh, E., Torabinejad, M., (1997). *Mineral trioxide aggregate stimulates a biological response in human osteoblasts. J End*; 37: 432-9.

Mainard, D. (2014). *Sustitutos óseos. EMC - Aparato Locomotor*; 47: 1-11.

Mamalis AA, Cochran DL., (2011). *The therapeutic potential of oxygen tension manipulation via hypoxia inducible factors and mimicking agents in guided bone regeneration. A Review. Archives of Oral Biology*; 56: 1466-1475.

Parirokh, M., Torabinejad, M., (2010). *Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review-Part III: Clinical Applications, Drawbacks, and Mechanism of Action. J Endod*; 36: 400-13.

Rahimi, S., Mokhtari, H., Shahi, S., Kazemi, A., Asgary, S., Eghbal, M. (2012). *Osseous reaction to implantation of two endodontic cements: Mineral trioxide aggregate (MTA) and calcium enriched mixture (CEM). Med Oral Patol Oral Cir Bucal*; 17: 907-11.

Schembri, M., Peplow, G., Camilleri, J., (2010). *Analyses of heavy metals in mineral trioxide aggregate and Portland cement. J Endod*; 36: 1210-5.

Scott, T., Blackburn, G., Ashley, M., Bayer, I., Ghosh, A., Biris, A., Biswas, A. (2013). *Advances in Bionanomaterials for Bone Tissue Engineering. J. Nanosci. Nanotechnol*; 13: 1-22.

Silva Neto, J., Brito, R., Schnaider, T., Gragnani, A., Engelman, M., Ferreira, L., (2010). *Root perforations treatment using mineral trioxide aggregate and Portland cements. Acta Cir Bras*; 25: 479-84.

Srinivasan, V., Waterhouse, P., Whitwhort, J., (2009). *Mineral trioxide aggregate in paediatric dentistry. International Journal of Paediatric Dentistry*; 19: 34-7.

Steffen, R., Van Waes, H., (2009). *Understanding mineral trioxide aggregate/Portland-cement: a review of literature and background factors. Eur Arch Paediatr Dent*; 10(2): 93-7.

Yildirim, C., Basak, E, Marti, O., Guven, G., Altun, C. (2016). *Clinical and Radiographic Evaluation of the Effectiveness of Formocresol, Mineral Trioxide Aggregate, Portland Cement, and Enamel Matrix Derivative in Primary Teeth Pulpotomies: A Two Year Follow-Up. The Journal of Clinical Pediatric Dentistry*; 40: 14-20.

Yildirim, T., Gencoglu, N., Firat, I., Perk, C., Guzel, O., (2005). *Histologic study of furcation perforations treatment with MTA or Super EBA in dogs' teeth. OOOOE*; 100: 120-124.

Zairi, A., Lambrianidis, T., Pantelidou, O., Papadimitriou, S., Tziafas, D. (2012). *Periradicular Tissue Responses to Biologically Active Molecules or MTA When Applied in Furcal Perforation of Dogs' Teeth. International Journal of Dentistry*, 2012, 257832. <http://doi.org/10.1155/2012/257832>