

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA



**EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE TEJIDO DE HÍGADO Y RIÑÓN EN
MODELO ANIMAL MURINO CON TRATAMIENTO PULPAR CON TÉCNICA
DE FORMOCRESOL EN COMPARACIÓN CON UN GRUPO CONTROL**

Por

ALEJANDRA VILLARREAL SALINAS

Como requisito parcial para obtener el Grado de
Maestría en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría

Mayo, 2025

**EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE TEJIDO DE HÍGADO Y RIÑÓN EN
MODELO ANIMAL MURINO CON TRATAMIENTO PULPAR CON TÉCNICA
DE FORMOCRESOL EN COMPARACIÓN CON UN GRUPO CONTROL**

ALEJANDRA VILLARREAL SALINAS

Comité de Tesis

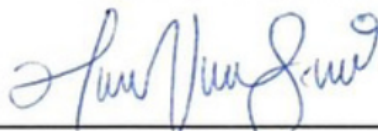
Presidente

Secretario

Vocal

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE TEJIDO DE HÍGADO Y RIÑÓN EN MODELO
ANIMAL MURINO CON TRATAMIENTO PULPAR CON TÉCNICA DE
FORMOCRESOL EN COMPARACIÓN CON UN GRUPO CONTROL

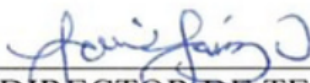
FIRMA TESISTA



ALEJANDRA VILLARREAL SALINAS

Comité de Tesis

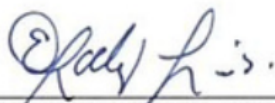
FIRMA



DIRECTOR DE TESIS

SONIA MARTHA LÓPEZ VILLARREAL

FIRMA



CODIRECTOR DE TESIS

OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS

FRIMA



ASESOR METODOLÓGICO

GUSTAVO ISRAEL MARTÍNEZ GONZÁLEZ

FIRMA



ASESOR METODOLÓGICO

CARLOS REYES ESCALERA

AGRADECIMIENTOS

Quiero comenzar expresando mi más sincero agradecimiento a Dios, cuya presencia ha sido mi mayor fortaleza y guía a lo largo de toda mi vida. Ha sido Él quien me ha acompañado en cada momento, iluminando mi camino y brindándome las bendiciones necesarias para superar cada reto que se me ha presentado. Sin Su infinito amor y misericordia, no habría tenido la claridad ni la energía para enfrentar los desafíos que he encontrado en este recorrido académico y personal. A lo largo de este trayecto, he sentido Su apoyo constante, que me ha impulsado a seguir adelante, a perseverar y a buscar siempre lo mejor de mí misma, tanto en mi vida personal como en mi formación profesional.

A mis padres, quienes han sido el pilar fundamental en mi vida, les debo todo lo que soy y lo que he logrado. Ellos han sido el motor que ha impulsado cada uno de mis logros y la razón principal por la que he podido alcanzar mis metas. Su amor incondicional, su fe en mí y su apoyo inquebrantable han sido una fuente de inspiración constante. Desde muy pequeña, me enseñaron el valor del esfuerzo, la perseverancia y el trabajo duro, y han estado a mi lado en cada paso, brindándome el cariño, la comprensión y la motivación necesarios para seguir adelante. Sin su guía y sacrificio, este sueño no habría sido posible, y mi corazón está lleno de gratitud hacia ellos por todo lo que han hecho por mí. Hoy, más que nunca, reconozco que ellos son la razón por la cual estoy donde estoy y he podido alcanzar cada uno de mis objetivos.

También quiero expresar mi profunda gratitud al comité de tesis, quienes han sido fundamentales en mi formación y en la realización de esta tesis. Gracias a su dedicación, compromiso y apoyo, he podido desarrollar mis habilidades y conocimientos en formas que nunca habría imaginado. Su disposición para compartir su sabiduría, experiencia y tiempo ha sido invaluable. Han estado presentes en cada etapa de este proceso, ofreciendo orientación, retroalimentación constructiva y aliento, permitiéndome crecer no solo como estudiante, sino también como individuo. Este proyecto no habría sido posible sin su ayuda constante y su compromiso con mi educación y mi éxito. Me siento afortunada de haber contado con un grupo de docentes y académicos tan comprometidos, apasionados y generosos.

Especial mención merece mi directora de tesis, la Dra. Sonia Martha López Villarreal, una doctora cuya pasión por la docencia y la odontopediatría es verdaderamente inspiradora. Su entusiasmo por el conocimiento y su dedicación hacia sus estudiantes han dejado una marca indeleble en mi vida. A lo largo de este proceso, su guía ha sido no solo académica sino también moral, siempre alentándome a explorar nuevas ideas, a cuestionar y a buscar la excelencia en todo lo que hago.

A todos ellos, mi más sincero agradecimiento. Sin su apoyo, este logro no habría sido posible. Mi gratitud es infinita y mi compromiso es honrar su confianza y esfuerzo, llevando conmigo todo lo que he aprendido en este camino.

TABLA DE CONTENIDO

Sección	Página
Agradecimientos	4
Lista de tablas y gráficos	7
Lista de figuras	8
Nomenclatura	9
Resumen	10
Abstract	11
1. Introducción	12
2. Antecedentes	13
2.1 Caries dental	13
2.2 Pulpotomía	16
2.3 Técnica de pulpotomía	17
2.4 Otros Agentes farmacológicos para realizar pulpotomía	19
2.5 Formocresol	19
2.6 Hidróxido de calcio	21
2.7 Glutaraldehído	22
2.8 Sulfato Férrico	23
2.9 Colágeno	25
2.10 Hipoclorito de sodio	26
2.11 Láseres y electrocirugía	27
2.12 MTA	28
2.13 Biodentine	29

2.14 Norma para el correcto manejo de los animales de laboratorio	31
2.15 Importancia del animal murino para la investigación	33
2.16 Biotipo de ratas	34
2.17 Preparación de tejidos	36
2.18 Microscopía	37
3. Justificación	39
4. Hipótesis	41
5. Objetivos	42
5.1 Objetivo general	
5.2 Objetivos específicos	
6. Métodos	43
7. Resultados	49
8. Discusión	56
9. Conclusiones	58
10. Literatura citada	59
Resumen bibliográfico	69
ANEXO 1: Comité de Bioética: Comisión de Revisión Bioética	70
ANEXO 2: Certificado zoosanitario emitido por el bioterio de la UJAT	73
ANEXO 3: Certificado zoosanitario emitido por SAGARPA	73

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
1. Constantes fisiológicas del ratón	35
2. Sistema semicuantitativo de evaluación histopatológica	47
3. Porcentaje de daño histológico encontrado en el hígado según el momento de la medición. Comparativo con el grupo control	50
4. Porcentaje de daño histológico encontrado en el riñón según el momento de la medición. Comparativo con el grupo control	53

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico	Página
1. Porcentaje de daño histológico encontrado en el hígado según el momento de la medición. Comparativo con el grupo control	50
2. Porcentaje de daño histológico encontrado en el riñón según el momento de la medición. Comparativo con el grupo control	53

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
6.1 Esquema de proceso de distribución de grupos, sacrificio, obtención y estudio de laminillas	44
6.2 Solución de Buckley	45
6.3 Bioterio. Administración de inyección peritoneal. Cabina biológica	48
6.4 Tratamiento y sacrificio de espécimen para obtener hígado y riñón	48
6.5 Proceso de obtención de órganos, colocación de formol al 10% y técnica histológica para la obtención de laminillas	48
6.6 Evaluación al microscopio de cortes histológicos	49
7.1 Resultados del grupo control del hígado	51
7.2 Resultados del grupo del hígado de espécimen tratados con formocresol a las 72 horas	51
7.3 Resultados del grupo del hígado de espécimen tratados con formocresol a los 8 días	52
7.4 Resultados del grupo del hígado de espécimen tratados con formocresol a los 15 días	52
7.5 Resultados del grupo control del riñón	54
7.6 Resultados del grupo del riñón de espécimen tratados con formocresol a las 72 horas	55
7.7 Resultados del grupo del riñón de espécimen tratados con formocresol a los 8 días	55
7.8 Resultados del grupo del riñón de espécimen tratados con formocresol a los 15 días	56

NOMENCLATURA

10x	Magnificación Objetiva Microscópica Media en microscopio
40x	Magnificación Objetiva Microscópica mas alta en microscopio
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AFM	Microscopio de Fuerza Atómica
AMM	Asociación Médica Mundial
CaOH ²	Hidróxido de calcio
CIDICS	Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud
CIT	Caries de la infancia temprana
CITES	Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres
FA	Formaldehído
Fe ² (SO ₄) ³	Sulfato férrico
GAG	Glucosaminoglucanos
HOMD	Human Oral Microbiome Database (Base de datos del microbioma oral humano)
HyE	Hematoxilina y Eosina
IRM	Óxido de zinc reforzado
MEC	Matriz Extracelular
MTA	Agregado de trióxido mineral
OMS	Organización Mundial de la Salud
SAGARPA	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
SEM	Microscopio Electrónico de Barrido
SIVEPAB	Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences (Paquete estadístico para las ciencias sociales)
TEM	Microscopio Electrónico de Transmisión
ZOE	Óxido de zinc-eugenol

TESISTA: ALEJANDRA VILLARREAL SALINAS

DIRECTOR DE TESIS: SONIA MARTHA LÓPEZ VILLARREAL

CODIRECTOR DE TESIS: OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE TEJIDO DE HÍGADO Y RIÑÓN EN MODELO ANIMAL MURINO CON TRATAMIENTO PULPAR CON TÉCNICA DE FORMOCRESOL EN COMPARACIÓN CON UN GRUPO CONTROL

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: Es importante tratar lesiones cariosas cercanas a la pulpa en pacientes pediátricos realizando tratamientos pulpares. Un medicamento muy utilizado es el formocresol que tiene efectos citotóxicos y carcinogénicos sin embargo, se sigue utilizado.

OBJETIVO: Evaluar el daño histológico del tejido hepático y renal de especímenes Sprague-Dawley que recibieron tratamiento pulpar utilizando la técnica de formocresol, en comparación con un grupo control.

METODOLOGÍA: Se trataron 12 especímenes realizando pulpotomía con técnica de formocresol tradicional, 9 especímenes en el incisivo inferior izquierdo y 3 especímenes sin tratamiento. Se obtuvieron cortes histológicos en los cuales se estudió su anatomía microscópica y el daño histopatológico.

RESULTADOS: Se realizó una prueba T de student con un índice de confiabilidad del 95% encontrando un diferencia estadística significativa con un valor $p < 0.001$ a los 3, 8 y 15 días de tratamiento en hígado y riñón, observando alteraciones histológicas en los órganos de las especímenes tratadas con formocresol en comparación con los especímenes del grupo control. Se identificaron cambios morfológicos importantes como un alto nivel de hemosiderina y áreas con congestión y extravasación de células del tejido, así como eritrocitos con depósitos de hemosiderina.

CONCLUSIONES: El formocresol utilizado en pulpotomías provoca daños en el hígado y riñón de ratas Sprague-Dawley observados a las 3, 8 y 15 días después del tratamiento. Los hallazgos incluyen inflamación, necrosis y congestión vascular, lo cual sugiere que el formocresol es tóxico. Es necesario reevaluar su uso en odontología y considerar alternativas más seguras.

TESISTA: ALEJANDRA VILLARREAL SALINAS

DIRECTOR DE TESIS: SONIA MARTHA LÓPEZ VILLARREAL

CODIRECTOR DE TESIS: OSVELIA ESMERALDA RODRÍGUEZ LUIS

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE TEJIDO DE HÍGADO Y RIÑÓN EN MODEL ANIMAL MURINO CON TRATAMIENTO PULPAR CON TÉCNICA DE FORMOCRESOL EN COMPARACIÓN CON UN GRUPO CONTROL

ABSTRACT

INTRODUCTION: It is important to treat carious lesions close to the pulp in pediatric patients by performing pulp treatments. A widely used medication is formocresol, which has cytotoxic and carcinogenic effects, however, it is still used. **OBJECTIVE:** To evaluate the histological damage of liver and kidney tissue of Sprague-Dawley specimens that received pulp treatment using the formocresol technique, in comparison with a control group. **METHODOLOGY:** 12 specimens were treated by performing pulpotomy with traditional formocresol technique on 9 specimens in the lower left incisor and 3 specimens without treatment. Histological sections were obtained in which their microscopic anatomy and histopathological damage were studied. **RESULTS:** A student's T test was performed with a reliability index of 95%, finding a significant statistical difference with a p value < 0.001 at 3, 8 and 15 days of treatment in the liver and kidney, observing histological alterations in the organs of the specimens treated with formocresol compared to the control group specimens. Important morphological changes were identified such as a high level of hemosiderin and areas with congestion and extravasation of tissue cells, as well as erythrocytes with hemosiderin deposits. **CONCLUSIONS:** Formocresol used in pulpotomies causes significant damage to the liver and kidneys of Sprague-Dawley rats observed at 3, 8 and 15 days after treatment. Findings including inflammation, necrosis, and vascular congestion suggest that formocresol is toxic. It is necessary to reevaluate its use in dentistry and consider safer alternatives.

1.- INTRODUCCIÓN

La CIT o caries de la infancia temprana es definida como la presencia de uno o más dientes cariados (cavitados o no), ausentes (debido a caries) o restaurados, en la dentición temporal, en niñas y niños de 60 meses de edad o menores. Según el SIVEPAB 2022 (Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales) representa un 73.2%. Si la caries es profunda y se encuentra cercana a la pulpa se realiza tratamiento pulpar para conservar la pieza dental. El tratamiento de la terapia pulpar en odontopediatría es una parte fundamental de la práctica dental que se enfoca en preservar y reconstruir el diente manteniendo la salud dental de los niños. En este contexto, uno de los agentes químicos más utilizados históricamente ha sido el formocresol, una solución que combina formaldehído y cresol. El formocresol se ha utilizado ampliamente en el tratamiento de pulpotomías, especialmente en dientes primarios, con el objetivo de mantener la vitalidad del tejido pulpar remanente y promover la formación de una barrera protectora. La utilización del formocresol en la terapia pulpar ha sido una práctica habitual entre los odontopediatras debido a sus supuestas propiedades bactericidas y su capacidad para inducir la formación de dentina reparadora. Sin embargo, en los últimos años, se ha puesto en evidencia que este agente presenta potenciales riesgos y se ha comprobado ser tóxico para el ser humano, lo que ha llevado a cuestionar su uso y buscar alternativas más seguras y efectivas. Estudios científicos han demostrado que el formocresol puede liberar formaldehído, un compuesto químico altamente tóxico y carcinógeno, durante su aplicación en el tejido pulpar. La exposición a este compuesto puede tener efectos adversos para la salud, especialmente en los niños, que son más susceptibles a los efectos de sustancias tóxicas. Además, se ha observado que el formocresol puede afectar negativamente la respuesta inmunológica local y sistémica, así como la integridad de los tejidos adyacentes, lo que plantea preocupaciones adicionales sobre su seguridad y efectividad a largo plazo. Como resultado de estos cuestionamientos se han llevado a cabo investigaciones para encontrar alternativas al formocresol en el tratamiento de la terapia pulpar. Se han propuesto diferentes materiales y técnicas, como el uso de hidróxido de calcio, MTA (agregado trióxido mineral) y pulpotomías con láser de alta intensidad, entre otros. Estas alternativas buscan proporcionar un tratamiento efectivo y seguro que preserve la salud pulpar y promueva la regeneración tisular, sin exponer a los pacientes a los posibles riesgos

asociados con el formocresol. Se ha demostrado que este agente es tóxico para el ser humano y presenta potenciales riesgos para la salud, por tanto, es necesario replantear su uso y buscar alternativas más seguras y efectivas que permitan brindar un tratamiento pulpar adecuado y sin comprometer la salud a largo plazo de los pacientes pediátricos. La investigación continua en este campo es fundamental para avanzar hacia prácticas odontopediátricas más seguras y basadas en la evidencia científica. Lo anterior nos lleva a nuestra pregunta de investigación, que es: ¿El formocresol tiene efectos citotóxicos en los tejidos después de realizar un tratamiento pulpar? El objetivo de este estudio es evaluar la respuesta histológica del hígado y del riñón en animal murino posterior al tratamiento de pulpotomía con formocresol.

2. ANTECEDENTES

La caries infantil es la enfermedad infecciosa crónica más común en la niñez y representa un importante problema de salud pública a nivel mundial. Cuando causa dolor, puede afectar negativamente la calidad de vida de los niños, su función, sus interacciones sociales, así como su desarrollo cognitivo y neurológico. Los padres de los niños afectados también pueden experimentar estrés económico y emocional. Según la Academia Americana de Odontología Pediátrica (AAPD), la caries infantil se define como la presencia de lesiones cavitadas o no cavitadas, dientes perdidos u obturados debido a caries en cualquier diente primario en niños menores de 71 meses. La edad del niño y la afectación de la dentición temporal son factores importantes en el diagnóstico de la caries infantil. (Folayan *et al.*, 2018).

Diversos estudios han reportado una prevalencia alta de caries dental tanto en dentición primaria como permanente en niños (Kazeminia *et al.*, 2020). La CIT o caries de la infancia temprana es definida como la presencia de uno o más dientes cariados (cavitados o no), ausentes (debido a lesión de caries) o restaurados, en la dentición temporal, en niñas y niños de 60 meses de edad o menores. Según el SIVEPAB (Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucales, 2022) la caries de la infancia temprana representa un 73.2% en nuestro país.

4.1 CARIES DENTAL

La caries es una lesión y una enfermedad compleja, dinámica y no contagiosa que está influenciada por diversos factores, como la dieta y las biopelículas. Esta enfermedad provoca

una pérdida neta de minerales en los tejidos dentales duros y se produce debido a una interacción de factores biológicos, conductuales, psicosociales y ambientales. La consecuencia de esta interacción es la formación de lesiones cariosas en los dientes (Splieth *et al.*, 2020). Además, existen otros aspectos relevantes que deben ser considerados, tales como una higiene oral deficiente o una remoción insuficiente de la placa bacteriana, los cuales pueden intensificar la evolución de la caries, dañar la estructura dental y causar molestias en los niños. Los niños que experimentan caries en sus dientes primarios son más susceptibles a desarrollar caries en sus dientes permanentes (Meyer *et al.*, 2018). El término 'caries de la primera infancia' se refiere a diferentes patrones de caries que incluyen las caries de enfermería, las caries rampantes, el 'síndrome del biberón', la 'caries de la lactancia' o la 'caries de la boca del biberón'. Estos nombres se utilizan para describir la presencia de caries más graves en los incisivos superiores temporales y los molares en los niños (Tungare *et al.*, 2022). Se ha observado que en países desarrollados la prevalencia de caries ha disminuido gracias a los programas de prevención y control, pero en países como México, la caries sigue siendo un problema significativo para muchos niños menores de 8 años y adultos, con una incidencia del 95% y 99%, respectivamente. Este problema se debe a varios factores, como la dieta y la falta de conocimiento sobre la higiene dental en relación al consumo de azúcares (Molina *et al.*, 2015). Para tratar las lesiones de caries en los dientes primarios y prevenir problemas dentales, la terapia pulpar es una opción valiosa. La pulpotomía es uno de los procedimientos más recomendados para tratar caries extensas en molares primarios, y su éxito depende de factores como la técnica utilizada, la precisión en el diagnóstico, el método de eliminación de la caries, el material utilizado en la aplicación pulpar, la calidad de la restauración final y la habilidad del operador (Igna *et al.*, 2021). A lo largo del tiempo, se han desarrollado diferentes materiales para el tratamiento de pulpotomía que han permitido la preservación de la pulpa radicular y la desvitalización de la pulpa cameral. Entre estos materiales se encuentran el formocresol, sulfato férrico, hipoclorito de sodio, hidróxido de calcio y biomateriales a base de silicato de calcio, como el MTA. La hemostasia es crucial para este tratamiento, y algunos de los materiales mencionados anteriormente se utilizan para lograrla, ya sea en combinación con otros agentes o como medicación independiente. El formocresol ha sido utilizado ampliamente desde que fue introducido por Buckley en 1904, con el objetivo de momificar, esterilizar y fijar la pulpa radicular remanente. Sin embargo,

existen preocupaciones sobre su uso debido a los posibles efectos secundarios locales y sistémicos, como la inflamación, necrosis pulpar local, citotoxicidad general, efectos mutagénicos/carcinogénicos, alteraciones sistémicas y respuestas inmunológicas. Aunque los programas de control y prevención de caries han disminuido su prevalencia en países desarrollados, en países como México, la caries sigue siendo un problema importante debido a factores como la dieta y la falta de conocimiento sobre el cuidado dental en relación con el consumo de azúcares. La terapia pulpar es una opción valiosa para preservar los dientes primarios y evitar problemas dentales en niños con lesiones de caries extensas, y la pulpotomía es uno de los procedimientos más recomendados. El éxito de este tratamiento depende de varios factores, incluyendo la técnica utilizada, la precisión en el diagnóstico, el método de remoción de la caries, el material utilizado en la aplicación pulpar, la calidad de la restauración final y la habilidad del operador (Smail *et al.*, 2018). Los microorganismos proliferan en la cavidad oral debido a su temperatura, humedad y nutrientes óptimos para la supervivencia, lo que resulta en la formación de biopelículas complejas, conocidas como placa dental. Los estreptococos son los microorganismos más prevalentes en la cavidad oral, y se destacan por su capacidad para metabolizar carbohidratos y tolerar ambientes ácidos. La placa dental es una de las comunidades microbianas más estudiadas del cuerpo humano y se ha demostrado que está relacionada con enfermedades como la caries dental y la periodontitis. La caries dental es una enfermedad multifactorial, en la que tanto la dieta alta en carbohidratos como la composición microbiana oral son factores importantes en su desarrollo y progresión (Abranches *et al.*, 2018). El HOMD (Human Oral Microbiome Database por sus siglas en inglés) es una base de datos que recopila información sobre el microbioma oral humano, y es la primera de su tipo en ser curada y enfocada en los humanos. Esta base de datos ofrece herramientas para ayudar a comprender el papel del microbioma en la salud y la enfermedad. El objetivo principal del HOMD es proporcionar una descripción completa de las aproximadamente 700 especies de procariotas que se han identificado en el microbioma oral humano a la comunidad científica (Gao *et al.*, 2018). La caries dental, una enfermedad infecciosa crónica, es muy común y es causada principalmente por bacterias que pueden degradar el tejido duro del diente de forma continua y progresiva en diversas situaciones. Las caries pueden aparecer en cualquier momento de la vida, desde la niñez hasta la vejez, y son altamente prevalentes. En particular, la caries dental en la primera infancia es

especialmente destructiva y es un problema de salud pública global muy extendido, donde muchos factores, incluyendo el microbioma oral, influyen en su desarrollo (Gao *et al.*, 2018). La caries dental sigue siendo un problema de salud significativo en niños de todo el mundo en 2021, y es altamente prevalente. A menudo, debido a la falta de educación dental adecuada, la falta de acceso a la atención dental y la ausencia de síntomas tempranos, el tratamiento suele iniciarse cuando la caries ha avanzado a un estado cavitado profundo, lo que puede afectar la pulpa dental. En el caso de la dentición temporal, el objetivo principal del tratamiento de la pulpa es conservar la salud de los dientes y sus tejidos de soporte, mantener las funciones orofaciales adecuadas, como la masticación, el habla y la estética, y mantener las piezas dentales en su lugar para preservar el contorno del arco dental (Igna *et al.*, 2021).

4.2 PULPOTOMÍA

En odontopediatría, se realiza frecuentemente la pulpotomía en molares primarios con caries extensa, lo que implica la eliminación de la pulpa coronal y la preservación de la pulpa radicular. Este procedimiento conservador se basa en la capacidad de curación del tejido pulpar restante después de la extirpación quirúrgica de la pulpa coronal afectada e infectada. Después de lograr la hemostasia, los muñones pulpares expuestos se cubren con un agente de recubrimiento pulpar que promueve la cicatrización o con un agente para fijar el tejido subyacente (Igna *et al.*, 2021). Las modalidades de pulpotomía se pueden clasificar, según los objetivos del tratamiento, en tres categorías: desvitalización, preservación y regeneración. El primer abordaje en pulpotomía de dientes temporales es el abordaje de desvitalización, que fue diseñado para momificar completamente el tejido e incluye formocresol (Yousef *et al.*, 2015). La pulpotomía es un procedimiento que implica la eliminación de la porción coronal de la pulpa de un diente vital en situaciones en las que hay una exposición pulpar extensa debido a un trauma o durante la eliminación de tejido cariado. En estos casos, se mantiene la pulpa radicular vital y se trata con medicamentos como hidróxido de calcio, formocresol o sulfato férrico. Actualmente, también se utiliza electro cauterización, MTA o proteínas dentinogénicas para preservar la integridad de la porción radicular. Después de este tratamiento, se rellena la cámara pulpar con una base y se restaura el diente con un material que evite la microfiltración. La indicación principal de la pulpotomía en dientes deciduos es

la exposición pulpar durante la remoción del tejido cariado, siempre que la pulpa sea sana o presente pulpitis reversible, o después de una exposición pulpar traumática. El procedimiento consiste en la amputación de la pulpa coronaria, mientras que el tejido pulpar radicular remanente es evaluado como vital mediante criterios clínicos, tales como el color del sangrado y la consistencia del tejido no amputado. Además, se debe observar la capacidad de hemostasia y la ausencia de signos y síntomas de alteraciones pulpares irreversibles, como dolor espontáneo, edema o fístula. Desde un punto de vista radiográfico, no debe haber presencia de radiolucidez peri e interradicular, ni de reabsorciones internas o externas no fisiológicas. Los objetivos de la pulpotomía son preservar la salud de la pulpa radicular, sin signos ni síntomas clínicos, ni evidencia radiográfica de reabsorciones radiculares patológicas internas o externas, y evitar dañar el diente sucesor permanente.

La pulpotomía se basa en la premisa de que la pulpa radicular esté en buen estado de salud o tenga la capacidad de cicatrizar después del procedimiento. El tratamiento implica la eliminación de la pulpa coronal afectada o infectada, pero debe evitarse en presencia de inflamación, fístula, movilidad patológica, reabsorción radicular interna o periapical, radiotransparencia interradicular, calcificaciones pulpares o un sangrado excesivo después de la amputación. El agente de sellado de la pulpa radicular debe ser bactericida, no tóxico para la pulpa y los tejidos circundantes, promover la cicatrización de la pulpa radicular y no interferir con el proceso fisiológico de reabsorción radicular. Existe controversia sobre el mejor material de vendaje para la pulpotomía y, por desgracia, aún no se ha identificado el material 'ideal' (Subramananyam *et al.*, 2020).

4.3 TÉCNICA DE PULPOTOMÍA

Antes de la administración de anestesia local, se debe repetir un examen clínico completo, que incluya el examen visual vestibular y la palpación de la zona en dientes afectados y vecinos. Después de administrar anestesia local, se coloca un aislamiento absoluto. Todas las caries superficiales deben eliminarse antes de la exposición pulpar para minimizar la contaminación bacteriana. El procedimiento para retirar el techo de la cámara pulpar implica la eliminación de los cuerpos pulpares mediante el uso de una fresa, usualmente una fresa número 330, en una pieza de mano con turbina de alta velocidad y refrigeración por agua. Luego, se procede a la amputación de la pulpa coronal utilizando una cucharilla de dentina,

una excavadora afilada o una fresa redonda, en una pieza de mano de baja velocidad con refrigeración, con el fin de prevenir lesiones adicionales a la pulpa y evitar la perforación del piso pulpar. Es importante realizar este procedimiento con precaución. Se debe tener cuidado para asegurar que se haya eliminado todo el tejido pulpar de la cámara. Después de la amputación pulpar coronal, se deben colocar bolitas de algodón estériles para generar hemostasia. El sangrado excesivo persistente, a pesar de realizar la hemostasia, puede indicar que la inflamación se ha extendido a la pulpa radicular. Estos signos indican que el diente no es un buen candidato para pulpotomía y se debe realizar la pulpectomía o, en su defecto, la extracción. Después de la hemostasia, se humedece una bolita de algodón estéril con la solución de Buckley (concentración total o preparado al 1/5) y se coloca sobre los conductos durante un máximo de 4 minutos. Sin embargo, un estudio ha sugerido que una exposición de 1 minuto a formocresol puro es suficiente y comparable en éxito clínico a la técnica de 4 minutos, aunque se debe considerar que el uso de formocresol de manera pura y directa conlleva un mayor riesgo de toxicidad. Cuando se retira el sedimento, el sitio de amputación debe aparecer entre marrón o rojo oscuro; en este momento ya no debe haber ningún tipo de hemorragia, y se coloca una base de ZOE sobre el sitio de la amputación, que se condensa para cubrir el piso pulpar. Luego, se condensa una segunda capa para llenar completamente la abertura de acceso. Al final, se realiza la restauración; es preferible colocar una corona de acero cromo, que debe colocarse de preferencia en la misma cita en que se realizó el tratamiento pulpar, para asegurar que no habrá fracturas ni microfiltraciones y así evitar una contaminación. En algunos otros procedimientos en donde se utiliza MTA o sulfato férrico los pasos son esencialmente los mismos, con cualquiera de los medicamentos utilizados en lugar de formocresol. El MTA se prepara según las instrucciones del fabricante. Se aplica pasta de MTA para cubrir la superficie expuesta de la pulpa radicular con un margen de no menos de 1 mm más allá de la interfase pulpo-dentinal. Cuando se utiliza sulfato férrico, las pulpas amputadas en los orificios del canal se limpian con una solución astringente al 15,5% durante 10 a 15 segundos. Sin embargo, el uso de sulfato férrico no está indicado, debido a que algunos estudios demostraron efectos adversos en los dientes permanentes. Los estudios clínicos y radiográficos han demostrado que las pulpotomías con formocresol tienen tasas de éxito que van del 70% al 97%. El uso de una quinta parte de formocresol ha sido defendido por varios autores, debido a su supuesta igual efectividad y potencial para una menor

toxicidad. Esta solución se prepara haciendo un diluyente de 3 partes de glicerina y una parte de agua (Subramanyam *et al.*, 2018).

4.4 OTROS AGENTES FARMACOLÓGICOS PARA REALIZAR PULPOTOMÍA

Los agentes de pulpotomía han evolucionado a lo largo del siglo, desde la acción de desvitalización, momificación y cauterización, hasta la preservación de la pulpa radicular con una desvitalización mínima, no inductiva, y, en última instancia, hasta la regeneración tisular reparadora e inductiva. A lo largo del tiempo, se han utilizado diferentes materiales populares para la pulpotomía, entre ellos: formocresol, sulfato férrico, hipoclorito de sodio, hidróxido de calcio, así como biomateriales a base de silicato de calcio, como el MTA, Biodentine y pasta/masilla biocerámica.

Algunas sustancias, como el sulfato férrico y el hipoclorito de sodio, se utilizan para lograr la hemostasia, que es un requisito esencial en el tratamiento de pulpotomía, ya sea como medicación independiente o en combinación con otros agentes. El vendaje pulpar ideal debe tener ciertas características, entre ellas: tener propiedades bactericidas, ser capaz de reducir la inflamación, no ser dañino para la pulpa o los tejidos circundantes, favorecer la cicatrización de la pulpa radicular, no interferir con la reabsorción radicular normal, y mantener la pulpa radicular sana, sin signos clínicos ni radiográficos de daño (Subramanyam *et al.*, 2018).

4.5 FORMOCRESOL

Buckley presentó el formocresol en 1905, y Sweet lo destacó en 1932 como un agente para la pulpotomía en dientes de leche, deciduos o temporales. La solución de formocresol de Buckley contiene 19% de formaldehído, 35% de cresol, 17.5% de glicerina y agua. Se agrega glicerina para evitar la polimerización del formaldehído a paraformaldehído. La presencia de paraformaldehído provoca el enturbiamiento de la solución. Este material previene la autólisis tisular al unirse a la proteína. Inhibe la enzima que descompone aún más el tejido pulpar, lo que da como resultado la fijación del tejido pulpar radicular restante. Es un agente bactericida que fija el tejido pulpar. Se considera que el formocresol es el medicamento principal utilizado en la pulpotomía; sin embargo, su uso ha sido objeto de controversia debido a su posible efecto mutagénico, carcinogénico y de sensibilización inmunológica. En

junio de 2004, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasificó al formaldehído como un agente carcinogénico para los seres humanos. Varios estudios en animales han demostrado que se producen alteraciones cromosómicas y cancerígenas en el epitelio debido a la exposición y uso del formocresol. Puede causar cánceres nasofaríngeos en humanos y, cuando se absorbe sistémicamente, produce defectos hipoplásicos o de hipomineralización en sucesores permanentes (Subramanyam *et al.*, 2018). El formocresol ha sido ampliamente utilizado en odontología durante muchos años y, a pesar de no tener propiedades curativas específicas, ha demostrado ser clínicamente efectivo y ha ganado gran popularidad. El uso del formocresol en odontología comenzó en 1904, cuando Buckley descubrió que podía fijar la pulpa necrótica mediante formaldehído, tricresol, glicerina y agua, para aumentar la solubilidad y difusión del compuesto. Sweet, posteriormente, extendió su uso para la fijación del tejido pulpar en tratamientos endodónticos parciales (Morales *et al.*, 1998). Estudios posteriores demostraron su toxicidad y se le atribuyen efectos citotóxicos en la pulpa, lo que generó numerosos estudios clínicos y experimentales que convirtieron al formocresol en un medicamento controvertido. Los tratamientos endodónticos parciales se recomiendan principalmente en dientes vitales. En el caso de los dientes temporales, el objetivo principal de las pulpotomías con formocresol ha sido mantener el diente asintomático hasta su exfoliación natural, evitando así las pulpectomías totales, que son más complicadas debido a la morfología característica de los dientes temporales y la cooperación limitada de los pacientes infantiles (Sánchez Ortega *et al.*, 2006).

Algunos autores sugieren que diluir el formocresol puede reducir su toxicidad cuando se aplica durante 5 minutos en pulpas vitales de dientes temporales, evitando así el daño a las capas más profundas. También se han reportado casos de reparación ósea en dientes permanentes con pulpa vital irreversible y reabsorción radicular, donde se recomienda la técnica de formocresol en 2 visitas en dientes temporales no vitales (Matencio *et al.*, 2010). Existen contraindicaciones para el uso del formocresol, como una excesiva reabsorción radicular, reabsorción interna y compromiso de la furcación en dientes temporales. Se han realizado diversos estudios sobre el uso del formocresol y se han comparado con otros procedimientos, lo que ha generado resultados diversos y controversias en cuanto a su eficacia. Según una investigación en Toronto, Canadá, la mayoría de los especialistas

(92.4%) utiliza el formocresol puro o diluido como medicamento de elección en pulpas vitales de dientes temporales (Cardoso *et al.*, 2008).

En resumen, aunque el formocresol ha demostrado ser clínicamente efectivo, su toxicidad y controversias asociadas han llevado a investigar otros procedimientos y compuestos como alternativas. Aunque no se han realizado estudios específicos en este contexto, se propone realizar una técnica de pulpotomías con formocresol diluido en pulpas vitales y evaluar los resultados clínicos y radiográficos, tanto en pulpas vitales como en pulpas no vitales con o sin áreas de rarefacción apical.

4.6 HIDRÓXIDO DE CALCIO

En 1920, Hermann empleó el hidróxido de calcio como sustancia de relleno en conductos radiculares. Durante los años 1928 a 1930, investigó su respuesta en el tejido pulpar sano para demostrar su compatibilidad biológica. Aunque varios autores han sugerido la aplicación directa de hidróxido de calcio en el recubrimiento pulpar, no fue hasta la mitad del siglo XX que se estableció como el tratamiento preferido. En las décadas siguientes, se ha convertido en el estándar de oro para la terapia pulpar vital en dientes permanentes. Si bien se introdujo en odontopediatría como alternativa al formocresol para el tratamiento pulpar vital en dientes primarios, se ha observado reabsorción interna y externa como una respuesta posterior (Subramanyam *et al.*, 2018). Uno de los medicamentos que cumple con todos estos requisitos es el hidróxido de calcio. Su propiedad antimicrobiana ha sido investigada en numerosos estudios con diferentes metodologías. Estudios histopatológicos han demostrado que acelera la reparación natural de las lesiones periapicales al eliminar progresivamente las bacterias presentes en los conductos radiculares, lo que favorece la obturación convencional de los mismos. El hidróxido de calcio fue introducido en la profesión odontológica por Hermann en 1922, y sus primeros casos exitosos se remontan a 1934 (Yepes *et al.*, 1995). El hidróxido de calcio se presenta como un polvo blanco, alcalino (pH de 12,6 a 12,8) y es poco soluble en agua (1,2 g/L a 25°C). Su peso molecular es de 74,08 y se obtiene mediante la calcinación del carbonato de calcio hasta su transformación en óxido de calcio (cal viva). Las propiedades del hidróxido de calcio se derivan de su disociación en iones de calcio (Ca^{++} , 54,11%) e iones hidroxilo (OH^- , 45,89%). La acción de estos iones sobre los microorganismos y los tejidos determina sus propiedades enzimáticas

de reparación y antimicrobiana (Mendez *et al.*, 2015). Numerosas investigaciones a lo largo de décadas han demostrado que la variación del pH del medio interfiere en el crecimiento bacteriano, ya que altera la actividad enzimática y afecta el transporte de nutrientes a través de la membrana, lo cual es necesario para el desarrollo de las funciones metabólicas y la proliferación celular. En condiciones de pH elevado o baja concentración de iones H^+ , la actividad enzimática se ve inhibida, lo que afecta el transporte químico. La mayoría de las bacterias patógenas son neutrófilas y crecen mejor en medios neutros, aunque hay algunas que pueden crecer en pH alto (9), como *Streptococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*, que son alcalófilas. Se ha observado que la inactivación enzimática reversible puede ocurrir cuando se altera el pH por encima o por debajo del valor ideal para su funcionamiento, y una vez que se restablece el pH adecuado, las enzimas recuperan su actividad catalítica. Sin embargo, en condiciones extremas de pH durante períodos prolongados, puede producirse una pérdida total de la actividad biológica. Además, se ha observado que la cantidad de iones hidroxilo presente puede alterar el transporte químico en la membrana celular a través de la peroxidación lipídica. La pérdida de integridad de la membrana ocurre cuando los iones hidroxilo eliminan átomos de hidrógeno de los ácidos grasos insaturados, lo que genera radicales lipídicos libres que se unen al oxígeno molecular y forman radicales peróxidos lipídicos. Este proceso de peroxidación lipídica puede continuar en cadena si hay nuevos inductores de iones hidroxilo que toman átomos de hidrógeno de otros ácidos grasos insaturados (Rodríguez Gutiérrez *et al.*, 2005).

4.7 GLUTARALDEHÍDO

Se ha propuesto el uso de glutaraldehído como sustituto del formocresol en las pulpotomías en dientes primarios. Gravenmade sugirió que el glutaraldehído actúa como un fijador pulpar y ofrece las mismas características que el formocresol, pero sin efectos secundarios, al unir proteínas mediante sus dos sitios activos. Además, se ha demostrado que el glutaraldehído tiene una capacidad superior para fijar los tejidos con baja inmunogenicidad y mínima difusión a través de los tejidos. Rushmah y Rahim informaron que el glutaraldehído tamponado al 2% no se difundió fuera del cemento y la dentina de dientes primarios tratados con pulpotomía, sin evidencia de inflamación periapical, y se observó una menor distribución sistémica en comparación con el formocresol. García Godoy y Fuks *et al.*, realizaron

pulpotomías en piezas temporales utilizando una solución tamponada al 2% de glutaraldehído, con seguimientos de 19 a 42 meses, y reportaron un éxito clínico y radiográfico del 98% y 94%, respectivamente, demostrando su eficacia como agente para pulpotomía (Yousef *et al.*, 2015). El glutaraldehído es un compuesto químico ampliamente utilizado en odontología, incluyendo el campo de las pulpotomías en dientes primarios. Se trata de un agente antimicrobiano y desinfectante que ha demostrado ser eficaz en la eliminación de bacterias y otros patógenos presentes en la cavidad pulpar. Su uso en pulpotomías tiene como objetivo principal desinfectar la zona afectada y prevenir infecciones secundarias (Rizk *et al.*, 2020). El glutaraldehído se aplica directamente en la cámara pulpar después de la remoción de la pulpa coronal. Este agente actúa penetrando en los tejidos y eliminando bacterias, hongos y virus que puedan estar presentes en la zona. Además de su actividad antimicrobiana, el glutaraldehído también tiene propiedades de fijación de proteínas, lo que ayuda a formar una capa protectora en la dentina y favorece la cicatrización (Eidelman *et al.*, 2001). La concentración de glutaraldehído utilizada en pulpotomías varía según el protocolo clínico y la preferencia del odontólogo. Por lo general, se utiliza una solución al 2% o al 5% de glutaraldehído. Es importante tener en cuenta que el glutaraldehído es un compuesto tóxico y debe ser manejado con precaución. Se recomienda el uso de protección personal y una adecuada ventilación durante su aplicación (Prabhakar *et al.*, 2010). Los estudios científicos han investigado ampliamente el uso del glutaraldehído en pulpotomías en dientes primarios. Se han evaluado parámetros como la tasa de éxito clínico, la formación de dentina reparadora, la respuesta inflamatoria y la preservación de la vitalidad pulpar (Al-Saeed *et al.*, 2018). Los resultados han sido variados, con estudios que respaldan su eficacia como agente desinfectante y otros que sugieren la necesidad de realizar más investigaciones para confirmar su efectividad a largo plazo (Rajput *et al.*, 2019).

4.8 SULFATO FÉRRICO

Durante la búsqueda de un sustituto del formocresol para las pulpotomías de dientes primarios, algunos autores sugirieron usar una solución diluida 1:5 de formocresol estándar como medida temporal. El glutaraldehído y el sulfato férrico surgieron como posibles alternativas menos tóxicas al formocresol. El sulfato férrico ha sido ampliamente utilizado con buenos resultados clínicos y radiográficos, ya que produce una mínima desvitalización y

preservación del tejido pulpar. Además, tiene una buena acción hemostática y antimicrobiana. La eficacia antibacteriana del sulfato férrico contra microorganismos orales como *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus salivarius* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ha sido demostrada en estudios *in vitro*, mostrando una eficacia similar al digluconato de clorhexidina al 0,12%. Aunque el sulfato férrico muestra una buena tasa de éxito a largo plazo, la reabsorción interna es una falla común de este agente, como también se ha observado en el uso del formocresol y glutaraldehído para las pulpotomías. Sin embargo, algunos autores creen que la reabsorción interna no afecta la supervivencia de la pieza dental en los casos estudiados (Subramanyam D *et al.*, 2018). El sulfato férrico, también conocido como sulfato de hierro (III), es una sustancia que ha ganado atención en el campo de la odontología pediátrica como una opción para la pulpotomía en los dientes primarios. Se ha observado que el sulfato férrico presenta propiedades hemostáticas, bactericidas y efectos astringentes, lo que lo convierte en un agente prometedor para el control de la hemorragia y la desinfección de la pulpa dental durante el procedimiento de pulpotomía (Zaror *et al.*, 2011). Un estudio clínico reciente realizado por Silvia Parvina evaluó la eficacia del sulfato férrico en las pulpotomías de los dientes primarios y encontró resultados alentadores. Los investigadores observaron un adecuado control de la hemorragia y una respuesta clínica favorable en la mayoría de los casos tratados. Además, el uso de sulfato férrico en la pulpotomía mostró una alta tasa de éxito a corto y mediano plazo, con una disminución significativa en los casos de fracaso o necesidad de retratamiento (Silva *et al.*, 2016). Una de las principales ventajas del sulfato férrico es su facilidad de aplicación y disponibilidad en el mercado. A diferencia de otros materiales utilizados en las pulpotomías, como el formocresol, el sulfato férrico no presenta preocupaciones significativas en términos de toxicidad y se ha demostrado que es seguro para su uso en pacientes pediátricos. Además, el costo del sulfato férrico es relativamente bajo en comparación con otras opciones de tratamiento, lo que lo convierte en una alternativa atractiva tanto para los profesionales de la odontología como para los padres de los niños (Porras, G. *et al.*, 2013). Es importante destacar que, si bien el sulfato férrico muestra resultados prometedores, aún se requiere más investigación y estudios a largo plazo para validar su eficacia a largo plazo y su impacto en la salud dental a largo plazo. También se deben tener en cuenta las consideraciones

específicas para cada paciente, como la edad, la extensión de la lesión pulpar y la cooperación del niño durante el procedimiento (González *et al.*, 2018).

4.9 COLÁGENO

Un estudio realizado por Nervins (2015) examinó el uso de un gel de colágeno con fosfato cálcico en pulpotomías en nueve monos rhesus durante un período de 4 a 8 meses. En 14 de los 16 dientes, se observó la reabsorción del gel y la formación de tejido duro sin inflamación. Otro estudio histológico, informado por los mismos autores, utilizó una solución de colágeno enriquecida con nutrientes celulares en pulpotomías en perros jóvenes, lo que resultó en la regeneración completa del tejido pulpar después de 30 días. Fuks *et al.* (2011) utilizaron una solución de colágeno enriquecida en pulpotomías en dientes primarios de monos, y después de 60 días, todos los dientes tratados con colágeno mostraron una apariencia radiográfica sin patología y formación de puente dentinario. El 80% de los dientes presentaron pulpa vital y el otro 20% presentó inflamación severa (Yousef *et al.*, 2015).

El colágeno es una proteína estructural abundante en el cuerpo humano y desempeña un papel crucial en la formación y mantenimiento de los tejidos conectivos (Bressani *et al.*, 2017). En el contexto de la realización de pulpotomías en dientes primarios, el colágeno ha sido ampliamente estudiado como un material de obturación y regeneración de tejido pulpar (Silva *et al.*, 2018). Se ha demostrado que el colágeno posee propiedades biocompatibles y estimula la regeneración tisular, lo que lo convierte en una opción prometedora para mejorar los resultados de las pulpotomías en dientes temporales (El-Meligy *et al.*, 2018).

El uso de colágeno en pulpotomías implica su aplicación directa en el área pulpar después de la eliminación de la pulpa afectada. El colágeno puede ser utilizado en forma de esponjas, geles o membranas, y su objetivo principal es promover la regeneración de tejido pulpar sano (Kucukyilmaz *et al.*, 2019). El colágeno actúa como una matriz tridimensional que favorece la proliferación celular y la deposición de tejido conectivo, estimulando así la formación de una barrera protectora alrededor de la pulpa residual. Además de sus propiedades de regeneración tisular, el colágeno también proporciona un sellado efectivo de la cavidad pulpar. Su capacidad para adherirse a las paredes dentinarias y formar una capa protectora evita la entrada de bacterias y otros irritantes, reduciendo así el riesgo de infección secundaria y promoviendo la cicatrización adecuada (Yaman SD *et al.*, 2020). La literatura científica ha

investigado extensamente el uso del colágeno en pulpotomías en dientes primarios. Los estudios han evaluado diferentes formas de colágeno, métodos de aplicación y técnicas de seguimiento (Paschos E *et al.*, 2021). Se han analizado parámetros como la tasa de éxito clínico, la formación de dentina reparadora, la reabsorción radicular y la respuesta inflamatoria. Los resultados han sido alentadores, mostrando una mejora significativa en la regeneración del tejido pulpar y una alta tasa de éxito a corto y largo plazo (Patil *et al.*, 2020).

4.10 HIPOCLORITO DE SODIO

Se encontró que una solución comúnmente utilizada como agente de irrigación en conductos radiculares es también adecuada para llevar a cabo pulpotomías en dientes primarios y puede usarse como agente hemostático y para eliminar desechos y biopelículas. La pulpotomía realizada con hipoclorito de sodio al 5% como desinfectante ha demostrado tener una tasa de éxito clínico y radiográfico similar al formocresol. Además, se ha observado la formación de puentes dentinarios en los casos tratados con hipoclorito de sodio. El uso de esta solución como agente antimicrobiano antes de la aplicación del agente de pulpotomía mejoró la tasa de éxito de las pulpotomías con hidróxido de calcio, equiparándola a la tasa de éxito de las pulpotomías con MTA (Subramanyam *et al.*, 2018). La Asociación Americana de Endodoncia ha descrito el hipoclorito de sodio como un líquido claro, pálido, verde-amarillento, altamente alcalino y con un fuerte olor a cloro. Este líquido tiene propiedades disolventes sobre tejido necrótico y restos orgánicos, además de ser un potente agente antimicrobiano. Durante la Primera Guerra Mundial, en 1915, Dakin introdujo la solución de hipoclorito de sodio en una concentración de 0.45 a 0.50% para desinfectar heridas abiertas e infectadas. En 1917, Barret promovió el uso de esta solución en odontología, especialmente para la irrigación de los conductos radiculares, y reportó su eficacia como antiséptico. Más tarde, Coolidge también utilizó el hipoclorito de sodio para mejorar el proceso de limpieza y desinfección de los conductos radiculares (Cárdenas *et al.*, 2012). Uno de los pioneros en el uso del hipoclorito de sodio al 5.0% como solvente de materia orgánica y germicida potente fue el Dr. Blass. Sus experiencias fueron publicadas en la 5ta edición del Formulario Nacional. En 1936, Walker mencionó la utilización del hipoclorito de sodio al 5.0% en la preparación de conductos radiculares con pulpas necróticas. En 1954, Lewis mencionó el uso del hipoclorito de sodio de la marca comercial *Clorox*, que contiene una concentración de

5.25% de cloro disponible. En 1970, Shih estudió *in vitro* la acción antibacteriana del hipoclorito de sodio al 5.25% sobre *E. faecalis* y *S. aureus* utilizando la marca comercial Clorox. En 1977, Trepagnier y colaboradores concluyeron en un estudio *in vitro* que el hipoclorito de sodio al 5.0% es un potente disolvente de tejido, y que diluirlo en partes iguales con agua (2.5%) no afecta significativamente su acción disolvente (Sánchez *et al.*, 2009).

A pesar de que el hipoclorito de sodio se utiliza ampliamente en endodoncia, no existe un consenso sobre la concentración ideal. El uso frecuente de una solución de hipoclorito de sodio al 2.5% para la irrigación puede mantener una cantidad suficiente de cloro para eliminar un número significativo de células bacterianas, compensando el efecto irritante causado por concentraciones más altas. Estas soluciones tienen la capacidad de disolver tejido orgánico, facilitando la remoción de fragmentos de pulpa sólidos del sistema de conductos radiculares. Aunque no se ha estudiado a fondo la concentración de las soluciones comerciales de hipoclorito de sodio, el objetivo de este estudio fue determinar las concentraciones mediante titulaciones yodométricas, y compararlas con las concentraciones consideradas óptimas en la literatura (Marín *et al.*, 2019).

4.11 LÁSERES Y ELECTROCIRUGÍA

En odontología, la electrocirugía ha sido empleada para extirpar partes de tejido blando y controlar el sangrado en procedimientos quirúrgicos orales y periodontales. En 1957, Leyes utilizó la electrocoagulación para llevar a cabo pulpotomías en dientes permanentes de pacientes de entre 11 y 27 años. Después de cuatro meses, se observó inflamación en el 37% de los casos, así como reabsorción radicular y patología en la furca. Leyes también demostró que el uso combinado de la electrocirugía con el formocresol no mejoró los resultados en comparación con el uso exclusivo de electrocirugía (Yousef *et al.*, 2015). La electrocirugía es una técnica que utiliza corriente eléctrica de alta frecuencia para cortar, coagular o destruir tejido biológico (Yagci *et al.*, 2013). En la pulpotomía, se utiliza un electrodo específico para eliminar selectivamente la pulpa afectada. La corriente eléctrica se aplica al tejido a través del electrodo, lo que provoca la desnaturalización de las proteínas y la coagulación del tejido. A medida que el tejido se coagula, se logra el sellado de los vasos sanguíneos y se minimiza el sangrado (Günbay *et al.*, 2016).

Ventajas de la electrocirugía en pulpotomía:

- Control preciso y selectivo de la eliminación del tejido afectado.
- Sellado eficaz de los vasos sanguíneos, lo que reduce el sangrado.
- Menor tiempo del procedimiento y recuperación en comparación con otros métodos.
- Menor riesgo de infección debido a la cauterización del tejido.

Láseres en pulpotomía:

Los láseres dentales son dispositivos que emiten luz coherente de alta energía, utilizada para realizar una variedad de procedimientos dentales. En la pulpotomía, los láseres de baja y media potencia se utilizan para eliminar el tejido pulpar afectado. Dependiendo del tipo de láser utilizado, la luz láser puede cortar o vaporizar el tejido pulpar de manera selectiva y precisa (Walsh *et al.*, 2011).

4.12 MTA (Agregado de trióxido mineral)

En 1993, Torabinejad M. introdujo un cemento endodóntico a base de silicato de calcio llamado MTA, que desde entonces ha sido utilizado con éxito por odontopediatras en diversas aplicaciones de endodoncia y restauración. Se ha comprobado mediante estudios con animales y humanos que el MTA es altamente biocompatible y posee un gran potencial como agente para la pulpotomía y el recubrimiento pulpar. Esto se debe a su capacidad para inducir la formación de puentes dentinarios y a su potencial regenerativo, lo que lo convierte en una opción muy eficaz. En comparación con otros medicamentos, el MTA ha mostrado reducir las fallas clínicas y radiológicas con diferencias estadísticamente significativas a los 12 y 24 meses. También se ha demostrado que el MTA tiene efecto antibacteriano contra *Enterococcus faecalis* y *Streptococcus sanguis*, pero no contra los anaerobios. Aunque el MTA es útil para el contacto directo con la pulpa dental, presenta algunas desventajas en la práctica, como un tiempo de fraguado prolongado, la posibilidad de decoloración y un procedimiento más largo. Adicionalmente, un análisis de toxicidad realizado *in vitro* que comparó distintos agentes utilizados en pulpotomías demostró que el uso de MTA en la pulpotomía de dientes primarios no genera efectos negativos en los dientes permanentes que los suceden (Subramanyam *et al.*, 2018). Los avances tecnológicos y bioquímicos han permitido el desarrollo de nuevos materiales dentales con propiedades físicas, químicas y biológicas mejoradas, lo cual ha sido crucial en el campo de la estomatología. A lo largo de

los años, se han estudiado diversos materiales para su uso en apicectomías y obturaciones retrógradas, pero hasta ahora no se ha encontrado un material de obturación ideal que cumpla con todos los requisitos necesarios para la odontología moderna (Chaple *et al.*, 2007).

El material ideal debe ser no tóxico, bacteriostático, no reabsorbible y promover la cicatrización tisular, además de proporcionar un sellado hermético óptimo. Algunos de los materiales utilizados para estos propósitos incluyen amalgama, cemento de óxido de zinc y eugenol, cemento de oxifosfato de zinc, gutapercha, cementos zinquenólicos mejorados, ionómeros de vidrio, hidróxido de calcio, agentes de enlace, cementos de óxido de zinc mejorados, hidroxiapatita y el Agregado de Trióxido Mineral (MTA) (Lee *et al.*, 2001). El MTA, desarrollado en 1993 por Lee, Torabinejad y colaboradores, ha sido ampliamente estudiado como material para sellar las comunicaciones entre los conductos radiculares y los tejidos perirradiculares. Aunque existen estudios *in vitro* e *in vivo* que respaldan sus propiedades, aún no se han realizado estudios a largo plazo. Sin embargo, se ha demostrado que el MTA es prometedor para su uso en perforaciones radiculares, obturaciones retrógradas y tratamientos de exposiciones pulpares debido a su capacidad para formar puentes dentinarios, su biocompatibilidad, pH alcalino y falta de propiedades inflamatorias (Andreasen *et al.*, 2006). El MTA recibió la aprobación de la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) en 1998 y ha sido utilizado tanto en aplicaciones quirúrgicas como no quirúrgicas. Está compuesto principalmente por silicato tricálcico, silicato dicálcico, aluminato férrico tetracálcico, sulfato de calcio dihidratado, óxido tricálcico y óxido de silicato, además de una pequeña cantidad de óxidos minerales que le proporcionan radio-opacidad. El MTA presenta propiedades físicas y químicas como un tiempo de fraguado de tres a cuatro horas, un pH alcalino de 12.5, baja solubilidad, baja fuerza compresiva y una mayor radiopacidad que la dentina. También ha demostrado ser biocompatible, tener un buen sellado contra la microfiltración y una buena adaptación marginal, además de reducir la microfiltración bacteriana (Estrela *et al.*, 2000).

4. 13 BIODENTINE

En 2009, Septodont lanzó Biodentine™, un cemento de silicato tricálcico que se asemeja en composición al MTA y que fue desarrollado para ser un material de "reemplazo de dentina". Biodentine™ es altamente biocompatible y biológicamente activo, y se ha demostrado que

tiene múltiples indicaciones clínicas. Los estudios han demostrado que Biodentine™ tiene el potencial de inducir la diferenciación de las células formadoras de dentina a partir de células pulpares y de formar puentes de dentina completos y homogéneos, sin signos de respuesta pulpar inflamatoria (Borkar *et al.*, 2015). Debido a su alcalinidad, Biodentine™ tiene la capacidad de superar las principales desventajas del MTA, como un tiempo de fraguado inicial prolongado, y una resistencia a la flexión y capacidad de sellado inferiores. Además, Biodentine™ tiene una solubilidad reducida en ambientes ácidos, lo que lo hace más resistente que otros cementos a base de agua, como los ionómeros de vidrio. Estudios han demostrado que Biodentine™ presenta un gran potencial como agente para pulpotomías, y su efectividad clínica es comparable a la del MTA. Ambos materiales son superiores al formocresol, sulfato férrico e hidróxido de calcio en lo que se refiere a su uso como agentes para pulpotomías en la dentición temporal. Además, Biodentine™ puede utilizarse como sustituto de la dentina y para la restauración temporal del esmalte por un período de hasta 6 meses (Subramanyam *et al.*, 2018). Mantener la vitalidad de la pulpa dental es crucial para la supervivencia a largo plazo de los dientes. La terapia pulpar vital (VPT) se utiliza para preservar y mantener la vitalidad del tejido pulpar en dientes que han sido afectados por traumatismos, caries o restauraciones. El objetivo es estimular la formación de dentina terciaria para mantener el diente como una unidad funcional. Los procedimientos de VPT abarcan desde enfoques más conservadores, como el recubrimiento pulpar indirecto y directo, hasta tratamientos más invasivos, como la pulpotomía parcial y completa (Soni *et al.*, 2016). Anteriormente, los procedimientos de recubrimiento pulpar directo se recomendaban principalmente para dientes permanentes jóvenes con exposiciones pulpares traumáticas o mecánicas (iatrogénicas). Sin embargo, la introducción de los cementos de silicato de calcio (CSC) ha cambiado este enfoque en el tratamiento conservador de caries profundas y VPT. Históricamente, el hidróxido de calcio (CH) era el material estándar utilizado en el recubrimiento pulpar directo debido a su capacidad para estimular la formación de dentina terciaria. Sin embargo, el CH ha mostrado desventajas significativas debido a su disolución con el tiempo, la formación de defectos de túnel debajo de los puentes dentinarios y un sellado deficiente. Recientemente, se han propuesto CSC alternativos, como el agregado de trióxido mineral (MTA) y el Biodentine™ (Septodont, Saint-Maur-des-Fossès, Francia), como materiales de recubrimiento pulpar (Stringhini *et al.*, 2019).

El MTA fue introducido por primera vez en 1993 y se basa en cemento Portland ordinario, con silicato tricálcico, aluminato tricálcico, silicato dicálcico y aluminoferrita tetracálcica como componentes principales, junto con óxido de bismuto y sulfato de calcio. Posteriormente, se desarrolló una variante de MTA blanca para superar la decoloración causada por el MTA gris. El MTA blanco tiene una composición similar al MTA gris, pero carece de aluminoferrita tetracálcica y tiene niveles más bajos de aluminato. Sin embargo, el MTA presenta desventajas como un tiempo de fraguado prolongado, decoloración dental y dificultades en su manejo (Haikal *et al.*, 2020). El Biodentine™, introducido en 2011, es un sustituto de dentina bioactiva que fragua rápidamente. Está compuesto principalmente por silicato tricálcico altamente purificado (80.1%), carbonato de calcio (14.9%) como relleno y óxido de circonio como radiopacificador. El líquido de Biodentine™ contiene agua, cloruro de calcio (acelerador de fraguado) y un polímero hidrosoluble como agente reductor de agua. A diferencia del MTA, el Biodentine™ no contiene aluminato de calcio, sulfato de calcio ni óxido de bismuto. La ausencia de óxido de bismuto en el Biodentine™ es importante, ya que el óxido de bismuto presente en el MTA retrasa el fraguado, afecta negativamente la biocompatibilidad y puede causar decoloración (Taha *et al.*, 2018). Las variaciones en el proceso de fabricación y las proporciones de los constituyentes influyen en el comportamiento clínico de los CSC. Se ha informado que el Biodentine™ muestra mejores propiedades mecánicas, mayor estabilidad del color, menos decoloración dental, una aplicación más fácil y un tiempo de fraguado inicial más corto (12-16 min frente a 3-4 horas) en comparación con el MTA. Sin embargo, su baja radiopacidad y la dificultad para obtener la consistencia deseada son consideradas como sus principales desventajas (Bakhtiar *et al.*, 2017).

4.14 NORMA PARA EL CORRECTO MANEJO DE LOS ANIMALES DE LABORATORIO

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación publicó en el Diario Oficial del Gobierno Mexicano, el 28 de junio del 2001, la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, llamada “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”, en la cual se especifican ciertos puntos: “Que es función de la SAGARPA fomentar la producción, el cuidado y el uso de los animales de laboratorio

mediante la aplicación de técnicas tendientes a garantizar la producción, proteger la salud y favorecer el buen uso de los animales de laboratorio.” “Que en la actualidad, la falta de planeación en la producción de animales de laboratorio y la carencia de criterios uniformes relacionados con las actividades encaminadas al cuidado, manejo y utilización de animales con fines de investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y enseñanza han provocado que el cuidado, el trato y la aplicación de técnicas experimentales practicadas en estos animales sean ejercidos de forma inadecuada, representando graves daños en el bienestar de los mismos.” (Falconi *et al.*, 2010). Esta norma especifica las características que deben tener los bioterios privados e institucionales en cuanto a su ubicación, ventilación y áreas de actividades; la adquisición de los animales; el tamaño de las jaulas para las diferentes especies; los ingredientes de los alimentos; las obligaciones de la institución para vigilar el buen funcionamiento, la higiene y el bienestar animal; el tipo de personal con el que deben contar, y la preparación y los conocimientos que este, tanto técnicos como académicos, debe tener. También explica las indicaciones acerca del traslado de animales, las características del confinamiento y del tipo de transporte, y los cuidados durante el mismo. En la norma se encuentran, además, lineamientos referentes a técnicas experimentales, anestesia, analgesia, administración de fluidos y de otras sustancias, la obtención de sangre y los métodos de bioseguridad y salud ocupacional para el personal. En los apéndices informativos se encuentran datos sobre zoonosis que afectan a los animales y al ser humano, así como una clasificación de las actividades experimentales de acuerdo con el grado de invasión, molestia o daño producido. Con esta norma se proporciona un cuidado y uso adecuados de los animales de laboratorio, asegurando el éxito de sus actividades científicas (De Aluja *et al.*, 2002). Es obligación de quien manipula animales con fines de estudio procurar darles un trato y cuidado apropiados y dignos, desde los procedimientos de captura y durante su mantenimiento en condiciones de cautiverio previo al manejo en el laboratorio. La misma norma aplica el principio de las 3R, que se refiere a Reemplazar, Reducir y Refinar. En el apartado de Reemplazar se refiere a la utilización de alternativas que produzcan los mismos resultados, tales como experimentos *in vitro*, cultivos celulares, modelos inanimados y modelos por computadora. En el área de Reducir, se comenta sobre utilizar un número mínimo de animales para su estudio, y en el área de Refinar se sugiere utilizar técnicas adecuadas para evitar al máximo su sufrimiento. Para la captura de los

animales se deberá consultar previamente el CITES (Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres), así como la NOM-056-SEMARNAT-2001, ya que por ningún motivo se deberá realizar la captura o muerte de especies en peligro de extinción. Los animales deberán ser transportados al laboratorio en contenedores específicos de acuerdo con la especie; en el caso de animales de laboratorio, es conveniente hacer uso de las cajas transportadoras. Dependiendo de la duración del viaje, será necesario mantenerlos con suficiente alimento y agua, condiciones higiénicas adecuadas y de forma segura para no producir tensión innecesaria sobre estos.

4.15 IMPORTANCIA DEL ANIMAL MURINO EN LA INVESTIGACIÓN

Se han utilizado animales en estudios e investigaciones a lo largo de la historia de la humanidad. La evidencia muestra que, incluso en la antigua Grecia, Aristóteles y muchos científicos reconocidos utilizaron animales en sus estudios y experimentos para avanzar en la comprensión de la vida. Gracias a su utilización en la investigación, se ha podido desarrollar una mejor comprensión sobre la anatomía, fisiología, patología y farmacología tanto de los animales como de los humanos. La posibilidad de experimentar con un control adecuado de las condiciones biológicas de las enfermedades humanas y animales reforzó el desarrollo de métodos científicos y la creación del concepto de modelos biológicos. Los modelos animales han sido responsables de los avances más importantes en el conocimiento en el campo biológico (Davidson *et al.*, 1987). Los experimentos con animales también han contribuido significativamente al desarrollo de vacunas, antibióticos y a nuestra comprensión fundamental de los procesos de enfermedades humanas. Se han desarrollado la vacuna contra la polio, la utilización de la insulina y el estudio de la efectividad de los antibióticos gracias a los experimentos en animales antes de su uso en humanos. La investigación con animales ha hecho una serie de contribuciones significativas a la salud humana y ha proporcionado datos invaluable para aliviar el sufrimiento humano (Robinson *et al.*, 2019). Hay dos amplias clases de modelos murinos: los basados en analogía y los basados en homología. Existen cuatro categorías principales de modelos animales: 1) modelos inducidos o experimentales, que intentan reproducir las condiciones que se encuentran en la especie original, 2) modelos espontáneos o naturales, que se reconocen como similares a alguna condición de la especie original, 3) modelos negativos o no reactivos, que son las contrapartes

normales de un modelo de enfermedad, y 4) modelos huérfanos, que son enfermedades animales para las que no se conoce una contraparte humana o animal.

La selección de cualquier modelo, especialmente los modelos animales para la investigación, debe basarse en las siguientes consideraciones(Davidson *et al.*, 1987):

- 1) Idoneidad como análogo
- 2) Transferibilidad de la información
- 3) Uniformidad genética de los organismos
- 4) Conocimiento previo de las propiedades biológicas
- 5) Costo y disponibilidad
- 6) Generalización de los resultados
- 7) Facilidad y adaptabilidad a la manipulación experimental
- 8) Ecología
- 9) Implicaciones éticas

4.16 BIOTIPO DE RATAS

La experimentación en animales desempeña un papel crucial en la investigación biomédica y en la garantía de la seguridad y eficacia de los productos y tratamientos utilizados en humanos. Antes de que cualquier sustancia o procedimiento se aplique en seres humanos, es esencial evaluar su impacto en modelos animales para minimizar los riesgos y asegurar la salud y el bienestar de las personas. Los estudios en animales permiten obtener información sobre la toxicidad, los efectos secundarios y la eficacia de medicamentos, vacunas y terapias, brindando una base científica sólida para la toma de decisiones en la atención médica (Rennie *et al.*, 2018). Estos estudios también ayudan a comprender mejor la fisiología y los mecanismos de las enfermedades humanas, proporcionando conocimientos fundamentales para el desarrollo de nuevos tratamientos. Muchas enfermedades humanas tienen similitudes en términos de patología y respuesta a los fármacos en modelos animales, lo que permite a los investigadores investigar y probar hipótesis antes de realizar ensayos clínicos en humanos. Además, la experimentación en animales también ha sido fundamental para el avance de la cirugía, el desarrollo de técnicas de diagnóstico y la comprensión de procesos biológicos complejos (Russell *et al.*, 1959). El ratón, un mamífero, comparte ciertas características anatómicas y fisiológicas con otros mamíferos, incluidos los seres humanos.

Estas similitudes incluyen la sangre caliente, la presencia de pelo y un corazón dividido en cuatro compartimentos, y son fundamentales para realizar comparaciones entre ratones y humanos. Debido a que los ratones envejecen aproximadamente 30 veces más rápido que los humanos, se pueden observar los resultados de ciertos estudios a lo largo de varias generaciones en períodos de tiempo más cortos (Seok *et al.*, 2013).

Los ratones pertenecen al orden de los roedores, que es el grupo más abundante dentro de la clase de mamíferos. Estos animales requieren acceso constante a agua y comida para su subsistencia. En la investigación, se utilizan diversas cepas de ratones. La cepa Sprague-Dawley es una rata albina conocida por ser tranquila y fácil de manejar en el entorno de laboratorio. La cepa Wistar crece más lentamente que la Sprague-Dawley y también es albina. Por otro lado, la cepa Long Evans se utiliza en estudios de psicología y comportamiento y no presenta albinismo. La cepa Fisher F344 se emplea en investigaciones relacionadas con inmunología y teratología. Por último, las cepas SHR y WKY se utilizan específicamente para estudiar la hipertensión (Pound *et al.*, 2017).

Constante	Promedio
Temperatura rectal	37.4°
Movimientos respiratorios por minuto	84-230
Frecuencia cardiaca	330-780
Peso corporal	0.025 kg (adulto)
Pubertad	35-40 días de vida

Tabla 1. Constantes fisiológicas del ratón (Festing *et al.*, 2011).

A pesar de que las ratas Sprague-Dawley exóгамas son comúnmente utilizadas en estudios de comportamiento, fisiología y farmacología, pueden surgir diferencias notables en las respuestas de las ratas obtenidas de diferentes proveedores, incluso cuando se mantienen constantes factores como el sexo, la edad y las condiciones ambientales (Festing *et al.*, 2011). La AMM (Asociación Médica Mundial) ha realizado actualizaciones y revisiones continuas de la Declaración de Helsinki, estableciendo un conjunto de principios y criterios de actuación que se aplican mediante protocolos adicionales. Estos principios tienen como

objetivo garantizar el respeto por la vida y la dignidad del paciente, considerando la investigación como un medio para promover la salud y el bienestar en el entorno social y en cada individuo (Knight *et al.*, 2007).

4.17 PREPARACIÓN DE TEJIDOS

La preparación de tejidos histológicos es un proceso fundamental en el estudio de la estructura y composición de los tejidos a nivel microscópico. Después de la fijación, que preserva la morfología de las células y previene su descomposición, se llevan a cabo una serie de pasos para preparar los tejidos para su estudio histológico (Bancroft, Gamble., 2007). El primer paso en la preparación de los tejidos es la obtención de la muestra. Esto implica la extracción del tejido de interés, ya sea mediante una biopsia o una autopsia. Una vez obtenida la muestra, se realiza la fijación. La fijación es un proceso en el que el tejido se trata con un agente fijador, como el formaldehído, para estabilizar las estructuras celulares y prevenir la degradación. La fijación puede llevarse a cabo mediante inmersión del tejido en el agente fijador o mediante perfusión, en la cual el fijador se introduce en los vasos sanguíneos para una mejor penetración (Kiernan *et al.*, 2008). Después de la fijación, algunos tejidos pueden requerir descalcificación si contienen depósitos de sales de calcio. Esto se realiza sumergiendo el tejido en una solución descalcificante que disuelve estas sales y permite una mejor visualización de las estructuras celulares (Suvarna *et al.*, 2018). Una vez que el tejido está fijado y descalcificado, se procede a la inclusión. En este paso, el tejido se impregna con una sustancia de inclusión, como la parafina o la resina plástica, que lo hace rígido y permite obtener secciones delgadas para su examen microscópico. Para la inclusión en parafina, el tejido se sumerge en una serie de solventes y luego se impregna con parafina caliente que se solidifica al enfriarse. Por otro lado, la inclusión en resina plástica implica la impregnación del tejido con una resina líquida que se endurece después de la polimerización (Pearse *et al.*, 1985). Una vez que el tejido está incluido, se realiza el corte de secciones delgadas mediante un microtomo. Estas secciones se adhieren a portaobjetos de vidrio y luego se someten a tinción. La tinción tiene como objetivo resaltar diferentes componentes celulares para facilitar su visualización. Los colorantes utilizados en histología pueden ser ácidos o básicos. Los colorantes ácidos, como el eosinato de sodio, se unen a componentes básicos de las células, como las proteínas, y los tiñen de color rosa o rojo. Por otro lado, los colorantes

básicos, como la hematoxilina, se unen a componentes ácidos de las células, como los ácidos nucleicos, y los tiñen de color azul oscuro o púrpura (Carson *et al.*, 2009)(Luna *et al.*,1992). La hematoxilina es uno de los colorantes más utilizados en histología. Se trata de un colorante básico que se une a los ácidos nucleicos, como el ADN (ácido desoxirribonucleico), y tiñe los núcleos de las células de color azul oscuro. La hematoxilina se aplica después de la tinción con un colorante ácido, como la eosina, que tiñe otros componentes celulares de color rosa o rojo, lo que permite una mejor diferenciación de las estructuras (Gabe *et al.*, 1992).

Después de la tinción, las secciones teñidas se montan en cubreobjetos utilizando un medio de montaje transparente, como la resina sintética o el gel de montaje, que protege las secciones y facilita su visualización bajo el microscopio (Dapson *et al.*, 2013).

4.18 MICROSCOPIA

La microscopía es una técnica fundamental en el campo de la ciencia y la investigación, que permite el estudio detallado de estructuras y organismos a nivel microscópico. Existen diferentes tipos de microscopios, cada uno con sus propias características y aplicaciones específicas (Murphy *et al.*, 2012). Una clasificación común de los microscopios se basa en el tipo de interacción con la muestra:

1. Microscopios ópticos: Utilizan luz visible para iluminar la muestra y permitir la visualización. Incluyen microscopios de campo claro, microscopios de contraste de fase, microscopios de fluorescencia y microscopios confocales.
2. Microscopios electrónicos: Utilizan haces de electrones en lugar de luz para generar imágenes de alta resolución. Incluyen el TEM (microscopio electrónico de transmisión) y el SEM (microscopio electrónico de barrido).
3. Microscopios de fuerza atómica: Utilizan una sonda muy fina para mapear la superficie de la muestra a nivel atómico o molecular (Bradbury *et al.*, 2002).

El microscopio óptico de campo claro es el más utilizado y ampliamente conocido. Utiliza luz transmitida a través de la muestra y lentes para formar una imagen ampliada en el ocular del microscopio. Es útil para observar estructuras celulares y tejidos con una resolución de hasta aproximadamente 0.2 micrómetros (Pawley *et al.*, 2006).

La utilidad de un microscopio radica en su capacidad para proporcionar una ampliación y una resolución adecuadas, lo que permite visualizar detalles a nivel microscópico que no son

visibles a simple vista. El poder de resolución de un microscopio se refiere a su capacidad para distinguir dos puntos separados en una muestra. Cuanto menor sea el límite de resolución, mayor será la capacidad de distinguir detalles finos (Cremer *et al.*, 2001).

Los microscopios ópticos tienen una amplia gama de aumentos disponibles, que se logran mediante combinaciones de objetivos y oculares. Los aumentos típicos de los objetivos varían desde 4x hasta 100x, mientras que los oculares pueden tener aumentos adicionales de 5x, 10x o más. El aumento total que proporciona un microscopio se calcula multiplicando el aumento del objetivo por el aumento del ocular. Por ejemplo, con un objetivo de 40x y un ocular de 10x, el aumento total sería de 400x (Luby *et al.*, 2000). El poder de resolución es un parámetro importante en la microscopía, ya que determina la capacidad de un microscopio para distinguir detalles finos en una muestra. Se define como la mínima distancia entre dos puntos que aún pueden ser visualizados como objetos separados. En la microscopía óptica, el poder de resolución está limitado por la longitud de onda de la luz utilizada y la apertura numérica del sistema óptico. Para superar esta limitación, se han desarrollado técnicas como la microscopía de superresolución, que permiten obtener imágenes con resolución subdifractiva (Reimer *et al.*, 1997). Los objetivos son una parte fundamental de un microscopio óptico y determinan el nivel de aumento y la calidad de la imagen. Los objetivos se clasifican en diferentes magnificaciones, desde baja (por ejemplo, 4x) hasta alta (por ejemplo, 100x o incluso mayores). Además de la magnificación, los objetivos pueden tener diferentes correcciones ópticas, como corrección de color o corrección de la aberración esférica, que mejoran la calidad de la imagen (Hohmann *et al.*, 2011). Además de los objetivos, los microscopios ópticos también están equipados con oculares, que se colocan en el tubo de observación y contribuyen al aumento total. Los oculares típicos tienen un aumento de 10x, pero pueden variar según el modelo del microscopio (Weiss *et al.* 1997). En la microscopía electrónica, los electrones reemplazan a la luz como fuente de iluminación. Los microscopios electrónicos, como el TEM y el SEM, pueden lograr una resolución mucho mayor que los microscopios ópticos, permitiendo la observación de detalles a nivel atómico. Sin embargo, la preparación de muestras para microscopía electrónica es más compleja y requiere técnicas de fijación, deshidratación y recubrimiento con metales pesados. El AFM (microscopio de fuerza atómica) es otra técnica de microscopía que utiliza una sonda muy fina para mapear la superficie de una muestra a nivel atómico o molecular. Permite la

observación de estructuras tridimensionales y la medición de fuerzas a nivel nanométrico (Higgins *et al.*, 2014).

3. JUSTIFICACIÓN

La dentición temporal, también denominada decidua, desempeña un papel fundamental en el adecuado crecimiento y desarrollo craneofacial de los pacientes pediátricos, por lo que su mantenimiento y tratamiento deben ser equivalentes a los de la dentición permanente utilizando biomateriales que sean lo menos tóxicos posible. La odontopediatría se fundamenta en la prevención, y la preservación de los dientes primarios de manera rigurosa es esencial, ya que favorece el desarrollo óptimo de los maxilares y la armonización de la estructura craneofacial así como un correcto desarrollo del lenguaje. La pérdida prematura de estas piezas dentales puede generar disfunciones en la erupción de los dientes permanentes, alterar la secuencia de recambio dentario y comprometer la oclusión, lo que repercute en la morfogénesis maxilofacial.

Ante la presencia de lesiones cariosas extensas con afectación pulpar, la terapia pulpar de elección sería la pulpotomía, la cual constituye el procedimiento para mantener la funcionalidad del diente y evitar su exodoncia manteniendo la pulpa radicular vital. Este tratamiento implica la remoción parcial del tejido pulpar afectado y la aplicación de agentes antimicrobianos y bioactivos que promuevan la regeneración pulpar y permitan la permanencia del órgano dentario hasta su exfoliación fisiológica.

Desde 1950, el formocresol ha sido el agente más empleado en la pulpotomía debido a su elevada tasa de éxito, estimada entre el 80 y 90%. No obstante, su uso ha sido objeto de debate, ya que diversos estudios clasificaron el vapor de formaldehído como carcinógeno, estableciendo su asociación con el desarrollo de carcinoma nasofaríngeo y neoplasias del tracto respiratorio superior. Esta evidencia ha impulsado líneas de investigación orientadas a la identificación de biomateriales alternativos con eficacia comprobada para el tratamiento de la pulpotomía.

Ante estos hallazgos, es fundamental realizar una evaluación exhaustiva de materiales biocompatibles que no solo mantengan una alta tasa de éxito clínico, sino que también favorezcan la regeneración pulpar sin comprometer la salud sistémica del paciente. La revisión de estos biomateriales debe incluir un análisis de sus propiedades fisicoquímicas, su

mecanismo de acción, su capacidad para inducir la reparación tisular y su impacto a largo plazo en el desarrollo dentoalveolar. Solo mediante una investigación rigurosa y basada en evidencia se podrá establecer un material óptimo que sustituya de manera segura y eficaz al formocresol, garantizando así un abordaje terapéutico que priorice tanto la funcionalidad del órgano dentario como el bienestar del paciente pediátrico.

4.HIPÓTESIS

Se evidencia daño histológico en hígado y riñón de modelo animal murino posterior a terapia pulpar con formocresol en comparación con grupo control.

5. OBJETIVOS

3.1 Objetivos Generales

Evaluar la respuesta histológica del tejido hepático y renal en ratas Sprague Dawley tratadas con terapia pulpar con formocresol tradicional en comparación a un grupo control.

4.2 Objetivos Específicos

1. Tratar con pulpotomía a 9 ratones Sprague-Dawley utilizando técnica de formocresol tradicional en el incisivo inferior izquierdo y como control 3 especímenes sin tratamiento realizando previa adaptación en el bioterio por 2 o 3 semanas.
2. Efectuar sacrificio al cumplir 72 horas (3 días), 8 y 15 días de los especímenes obteniendo el hígado y el riñón fijándolos en formaldehído al 10% para su posterior evaluación histológica.
3. Emplear la técnica histológica para la preparación de los cortes histológicos.
4. Analizar bajo la observación del microscopio óptico los cortes histológicos en 10x y 40x teñidos con la técnica de HyE (hematoxilina – eosina).
5. Comparar la respuesta histológica del hígado y el riñón de los especímenes tratadas con pulpotomía con técnica de formocresol y los especímenes control.
6. Medir los patrones histológicos mediante análisis patológico morfométrico y realizar estadística.

6. MÉTODOS

Para este estudio, se seleccionaron 12 especímenes Sprague-Dawley hembras con un peso entre 150 y 250 gramos, adquiridas en el bioterio de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), las cuales fueron enviadas por paquetería de aerolínea comercial con su correspondiente certificado zoosanitario emitido por la UJAT (Anexo 2) y por la SAGARPA (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural) (Anexo 3). Estos especímenes fueron recibidos y adaptados en el bioterio de la Unidad de Apoyo e Investigación en Modelos Biológicos del CIDICS (Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud) de la Universidad Autónoma de Nuevo León con su debido certificado de procedencia y tratados siempre mediante la presencia del médico veterinario responsable del bioterio. Por sus condiciones de adaptación ambiental, fisiología, genética y su embriogénesis similar al humano se eligió la rata Sprague-Dawley. Debido a las condiciones de la variable que se evaluó, se estimó el tamaño de la muestra mediante una fórmula general que fue aplicada, obteniendo un resultado de 12 ratas en total para realizar esta investigación. Durante el estudio, los especímenes se mantuvieron en el bioterio, donde se mantuvieron a una temperatura de 20 a 25°C, con una humedad del 60 al 65% y con ciclos de luz y oscuridad en intervalos de 12 horas diarias. El experto en veterinaria recomendó 2 a 3 semanas de adaptación desde la llegada de los especímenes al bioterio del centro de investigación para comenzar el tratamiento ya que este tipo de adaptación se considera indispensable para trabajar en cualquier modelo animal, durante los días de adaptación se les pesó y proporcionó alimento, el cual consistió en 200g de nutricubos por semana y 350 mL de agua *ad libitum* (libre demanda). Nueve especímenes fueron tratados con pulpotomía y sacrificados en tres tiempos con triplicado, Los ratones se asignaron aleatoriamente en tres grupos (n=3), que recibieron tratamiento y un grupo control sin tratamiento durante 3, 8 y 15 días respectivamente de la siguiente manera: el tratamiento consistió en la realización de una pulpotomía con técnica de formocresol con la solución de Buckley en el incisivo inferior izquierdo y obturación tradicional con óxido de zinc y eugenol (IRM) en el incisivo inferior izquierdo y se utilizaron 3 especímenes como control sin tratamiento, considerando también una previa adaptación de 2 a 4 semanas, resultando en un total de cuatro subgrupos, como se muestra en la Figura 6.1.

- Grupo A: ratones tratados con solución de Buckley y sacrificados a las 72 horas.

- Grupo B: ratones tratados con solución de Buckley y sacrificados a los 8 días.
- Grupo C: ratones tratados con solución de Buckley y sacrificados a los 15 días.
- Grupo D: ratones del grupo control sin tratamiento

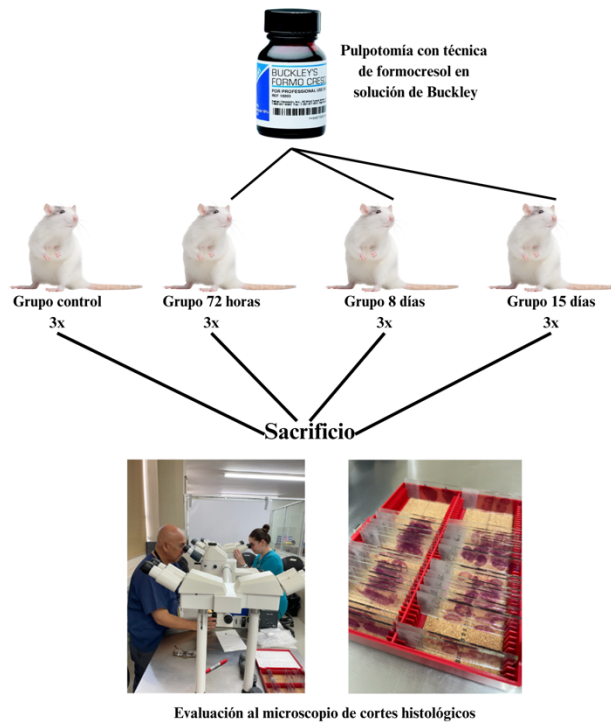


Figura 6.1. Esquema de proceso de distribución de grupos, sacrificio, obtención y estudio de laminillas.

6.1 Tratamiento

Se siguieron todos los procedimientos de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UANL (Anexo1), y el programa estadístico utilizado fue SPSS 25 (Statistical Package for the Social Sciences). Se eligió esta raza de ratas debido a su capacidad de adaptación al ambiente del bioterio, su docilidad y la amplia información anatómica, fisiológica y genética disponible. Además, su desarrollo embrionario es similar al del ser humano y los mecanismos de crecimiento son parecidos. Para la selección de las ratas, se establecieron criterios de inclusión, exclusión y eliminación para asegurar que las ratas estuvieran sanas y sin alteraciones sistémicas o congénitas. Esta raza de ratas proporciona cantidades adecuadas de tejido para ser utilizadas en trabajos experimentales, permitiendo

que el tamaño de la muestra sea pequeño. Estas ratas son utilizadas en varias áreas de investigación, como genética, reproducción, medicina y odontología, gracias a su adaptación y propensión sin mayores complicaciones. Las ratas fueron adaptadas durante 2 a 3 semanas antes del tratamiento, y se obtuvo su peso antes de la pulpotomía.

Se realizaron las pulpotomías a los especímenes en los órganos dentales de los incisivos inferiores izquierdos, utilizando la técnica de formocresol diluido en proporción 1:5 de Buckley, aplicándolo de 3 a 5 minutos en caso de presentarse una pulpa vital.

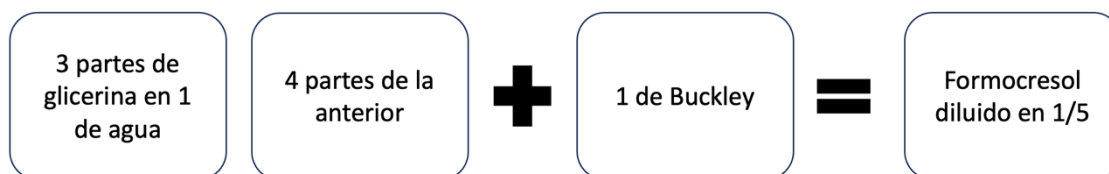


Figura 6.2 Solución de Buckley (formocresol diluido 1/5)

6.2 Sacrificio

Al completar el tratamiento los especímenes fueron sacrificados por inyección peritoneal y sobredosis de anestesia de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999. El sacrificio se efectuó en tres grupos: el grupo A se sacrificó a los 3 días (72 horas), el grupo B a los 8 días y el grupo C a los 15 días posteriores al tratamiento. Para el aislamiento del hígado y riñón se realizó el procedimiento antiséptico y una incisión en la línea media para realizar una exploración abdominal. Se retiró el hígado y riñón de cada espécimen con ayuda de pinzas hemostáticas. Posterior a la disección del hígado y el riñón para su estudio histológico, se fijaron en una solución de formol al 10% con su etiquetado correspondiente. La fijación fue realizada para preservar las estructuras tisulares y celulares, de tal forma que muestren el mayor parecido posible a su estado in vivo para su posterior estudio. Los animales fueron desechados de acuerdo con los estándares establecidos por el comité de ética concerniente.

6.3 Preparación de los cortes histológicos

Las muestras extraídas de hígado y riñón se fijaron en formaldehído al 10% y se sometieron a un procesamiento histológico convencional. Tras la deshidratación con alcoholes y el

aclaramiento con xilol, fueron incluidas en cera de parafina. Se realizaron cortes de 5 μ m de grosor utilizando un microtomo, los cuales fueron montados en portaobjetos, desparafinados, rehidratados y teñidos con hematoxilina-eosina (H y E) para visualizar la morfología tisular. Se capturaron tres imágenes microscópicas por espécimen en cada uno de los aumentos 4x, 10x y 40x para hígado y riñón, con el fin de documentar las alteraciones histológicas.

6.4 Observación al microscopio

La evaluación histológica se realizó por dos expertos patólogos certificados y se utilizaron parámetros histopatológicos como edema, congestión vascular, hemorragia, infiltrado agudo/crónico en el sitio o sobrepasando el sitio de la reacción, disociación celular y necrosis y la respuesta categorizada como ausente, muy leve, leve, moderada o severa. Se observaron los cortes de los órganos al microscopio óptico con aumentos de 4x, 10x y 40x para capturar los datos necesarios. Se llevó a cabo una evaluación histopatológica mediante un sistema semicuantitativo, con el objetivo de determinar con precisión y objetividad los cambios tisulares observados en las muestras hepáticas y renales obtenidas de cada uno de los grupos experimentales. Este sistema se fundamenta en la Norma ISO 10993-6 para la evaluación biológica.

Parámetro histopatológico	Ausente (0)	Muy leve (1)	Leve (2)	Moderado (3)	Severo (4)
Edema	No presente	Edema muy ligero focal	Ligero edema focal	Edema evidentemente parcial	Edema generalizado extenso
Congestión vascular	No presente	Vasos muy ligeramente dilatados	Vasos ligeramente dilatados	Vasos moderadamente dilatados	Marcada dilatación vascular
Hemorragia	No presente	Muy escasa extravasación focal	Escasa extravasación focal	Extravasación moderada focalizada	Extensa extravasación celular
Infiltrado agudo/crónico (en el sitio de la reacción)	No presente	Muy escaso infiltrado focal	Escaso infiltrado focal	Moderado infiltrado, parcialmente afectado	Intenso infiltrado con marcada acumulación celular
Infiltrado agudo/crónico (sobrepasando el sitio de la reacción)	No presente	No presente	Ligero infiltrado ligeramente extendido	Moderado infiltrado extendido en zonas periféricas	Extenso infiltrado, sobrepasa ampliamente el sitio de reacción
Disociación celular	No presente	No presente	No presente	Moderada separación, pérdida parcial de arquitectura	Marcada separación, pérdida extensa de arquitectura celular
Ausencia celular (necrosis)	No presente	No presente	No presente	No presente	Extensas áreas de pérdida celular completa.

Tabla 6.1. Sistema semicuantitativo de evaluación histopatológica. Norma ISO 10993-6 para la evaluación biológica.



Figura 6.3. Bioterio. Administración de anestesia intraperitoneal. Cabina de bioseguridad Beli Tecniplast BS48.

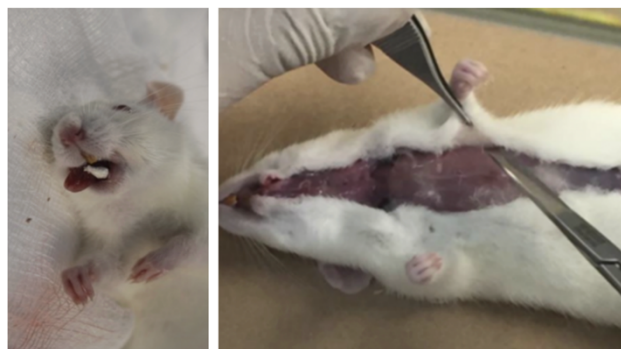


Figura 6.4. Tratamiento y sacrificio del espécimen para obtener hígado y riñón.



Figura 6.5. Proceso de obtención de órganos, colocación en formol al 10% y técnica histológica para la obtención de laminillas.

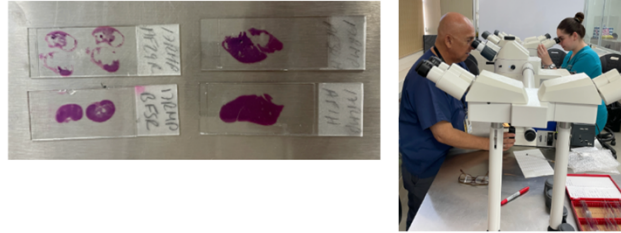


Figura 6.6. Evaluación al microscopio de cortes histológicos.

6.5 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de cada ensayo se empleó el programa estadístico IBM SPSS (Statistical Program for Social Sciencies) versión 26.0. Para las pruebas se realizaron 3 repeticiones en cada tiempo y los datos se analizaron por medio de una *T de student* con un IC del 95% ($p < 0.05$). También se realizó una estadística descriptiva.

7. RESULTADOS

Los resultados obtenidos muestran hallazgos de cambios histológicos de los órganos de los ratones tratados con formocresol en comparación con los especímenes del grupo control que no fueron tratados. Se encontraron cambios morfológicos significativos como un alto grado de hemosiderina y de zonas con congestión y extravasación de células del tejido y eritrocitos con hemosiderina. Las imágenes histopatológicas fueron observadas bajo al microscopio en vistas de 10x y 40x en los diferentes diferentes tiempos.

Cambios histopatológicos en hígado del espécimen tratado con formocresol

La figura 7.1 muestra la observación histológica del grupo control en el cual podemos encontrar espacios vasculares, células de apariencia normal, hepatocitos normales y alineados y con cordones de forma radial, adipocitos de aspecto normal y se observa la arteria principal y la cápsula.

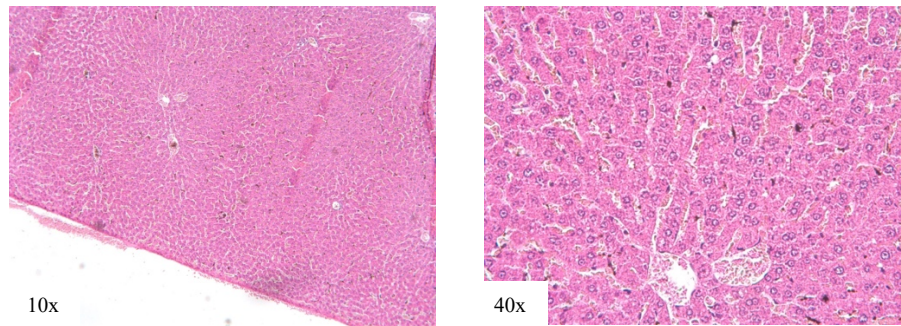


Figura 7.1. Observación histológica del grupo control. Los cortes histológicos de hígado del grupo control muestran espacios vasculares, células de apariencia normal, hepatocitos normales y alineados y con cordones de forma radial, adipocitos de aspecto normal y se observa la arteria principal y la cápsula.

La figura 7.2 muestra los cambios histopatológicos en hígado del espécimen tratado con formocresol a los 3 días (72 horas) en donde podemos observar que el 66% de los especímenes mostraron edema, congestión vascular, ausencia de células inflamatorias en el sitio de reacción, mientras que el 34% mostró edema, congestión vascular, focos hemorrágicos, infiltrado agudo (leucocitos polimorfonucleares) e infiltrado crónico, en el sitio de reacción. Algunos especímenes muestran la estructura del hepatocito normal con ligera congestión.

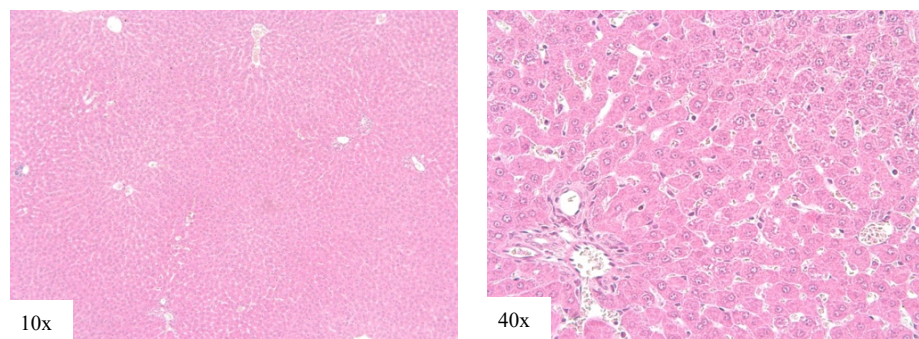


Figura 7.2 Cambios histopatológicos en hígado del espécimen tratado con formocresol a los 3 días (72 horas). Los cortes histológicos del hígado a las 72 horas muestran edema y congestión vascular.

La figura 7.3 muestra los cambios histopatológicos en hígado del espécimen tratado con formocresol a los 8 días en donde se observa edema, congestión vascular, focos hemorrágicos, infiltrado agudo (leucocitos polimorfonucleares) o infiltrado crónico, en el sitio de reacción mostrando vacuolización citoplasmática en la periferia.

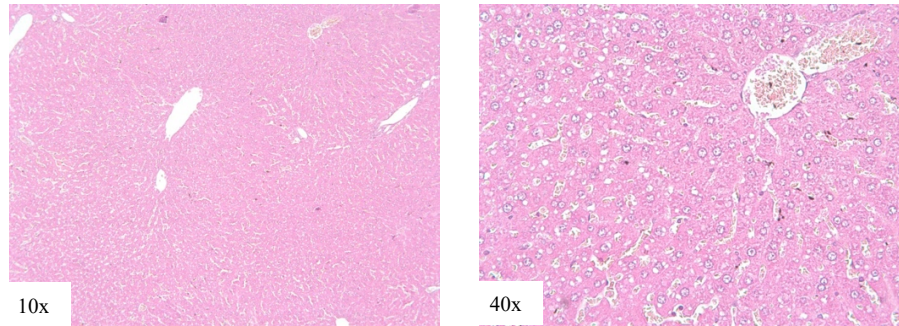


Figura 7.3. Cambios histopatológicos en hígado del espécimen tratado con formocresol a los 8 días. Los cortes histológicos del hígado a los 8 días muestran vacuolización citoplasmática en la periferia, focos hemorrágicos e infiltrado agudo y crónico.

La figura 7.4. muestra los cambios histopatológicos en hígado del espécimen tratado con formocresol a los 15 días, observando que el 100% de los especímenes presenta edema, congestión vascular, infiltrado agudo (leucocitos polimorfonucleares) o infiltrado crónico sobrepasando el sitio de la reacción, mostrando hepatocitos cohesivos, gran extravasación celular y congestión de vasos sanguíneos en la periferia.

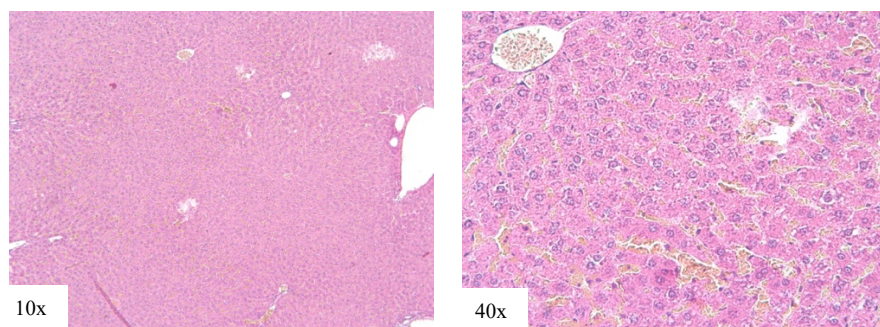


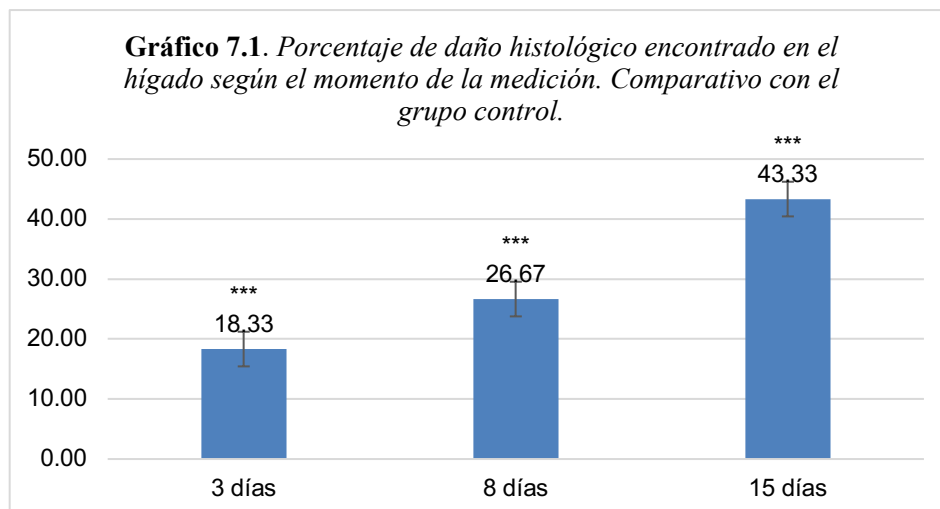
Figura 7.4. Cambios histopatológicos en hígado del espécimen tratado con formocresol a los 15 días. Los cortes histológicos del hígado a los 15 días muestran hepatocitos cohesivos, hay una extravasación de células y congestión de vasos sanguíneos en el área de la periferia.

La tabla y gráfico 7.1 muestran el porcentaje de daño histológico encontrado en el hígado según el momento de la medición, comparado con el grupo control. Los datos fueron analizados mediante la prueba *t*, obteniendo un alto índice de confiabilidad y muestran la respuesta inflamatoria en los tejidos hepáticos tras la aplicación de formocresol en distintos periodos de tiempo. Se observa un aumento progresivo en la infiltración de linfocitos y neutrófilos, alcanzando su punto máximo a los 15 días. Estos hallazgos sugieren que el formocresol induce una inflamación aguda inicial, que posteriormente evoluciona hacia alteraciones degenerativas en los hepatocitos.

Tabla 7.1.

Porcentaje de daño histológico encontrado en el hígado según el momento de la medición. Comparativo con el grupo control.

Días	Media	DE	IC 95%		Prueba <i>t</i>	Valor <i>p</i>
3	18.33	2.887	11.16	25.50	10.99	< 0.0001
8	26.67	2.887	19.50	33.84	15.99	< 0.0001
15	43.33	2.887	36.16	50.50	25.99	< 0.0001



Cambios histopatológicos en riñón del espécimen tratado con formocresol

Las imágenes histopatológicas de riñón fueron observadas bajo el microscopio en vistas de 10x y 40x en diferentes tiempos. La figura 7.5 muestra la observación histológica del grupo control en donde se observa tejido y células normales, glomérulos y tejido conectivo de aspecto normal, vascularidad y celularidad normales y tejido sano sin hemorragia, extravasación ni edema.

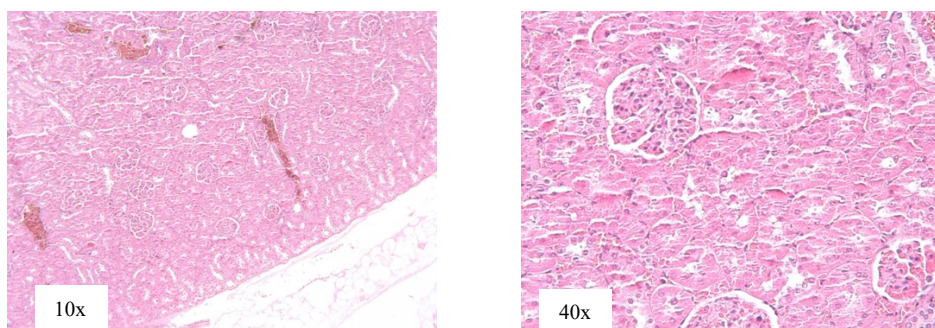


Figura 7.5 Observación histológica del grupo control. Los cortes histológicos del riñón del grupo control muestran tejido y células normales, glomérulos normales, tejido conectivo de aspecto normal, vascularidad y celularidad de aspecto normal.

La figura 7.6 muestra los cambios histopatológicos en riñón del espécimen tratado con formocresol a los 3 días (72 horas) los cuales mostraron edema, congestión vascular, focos hemorrágicos, infiltrado agudo (leucocitos polimorfonucleares) o infiltrado crónico, en el sitio de reacción, observándose congestión de gran cantidad de vasos y eritrocitos.

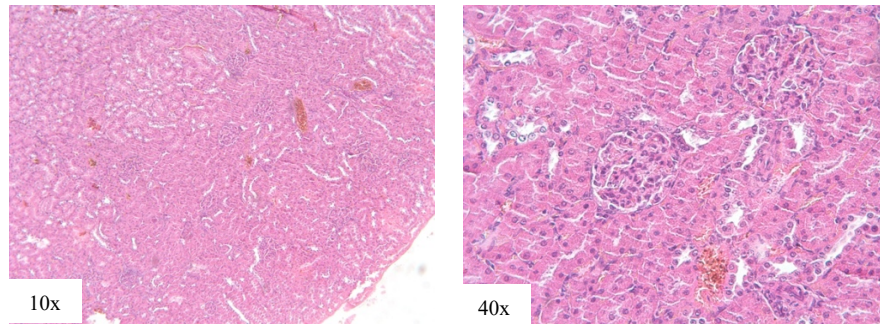


Figura 7.6 Cambios histopatológicos en riñón del espécimen tratado con formocresol a los 3 días. Los cortes histológicos del riñón a las 72 horas muestran congestión de gran cantidad de vasos y eritrocitos.

La figura 7.7. muestra los cambios histopatológicos en riñón del espécimen tratado con formocresol a los 8 días en donde podemos observar que el 66% de los especímenes presentaron edema, congestión vascular, focos hemorrágicos, infiltrado agudo (leucocitos polimorfonucleares) o infiltrado crónico, en el sitio de la reacción y el 34% de los especímenes presentaron edema, congestión vascular, infiltrado agudo (leucocitos polimorfonucleares) o infiltrado crónico que sobrepasa el sitio de la reacción, podemos observar extravasación y congestión de sangre en las células del tejido, los eritrocitos se observan con hemosiderina.

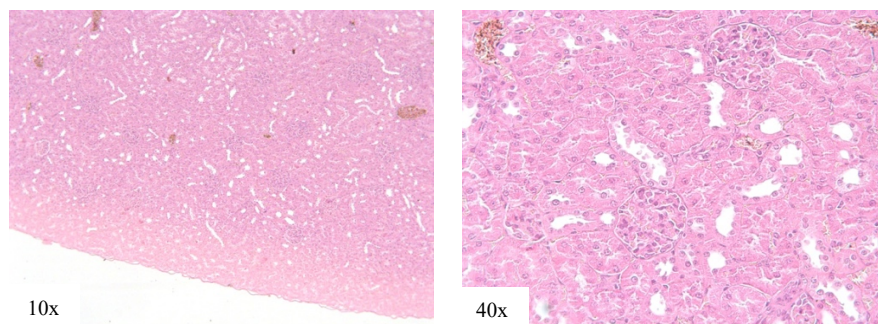


Figura 7.7. Cambios histopatológicos en riñón del espécimen tratado con formocresol a los 8 días. Los cortes histológicos del riñón a los 8 días muestran extravasación y congestión de sangre en las células del tejido, los eritrocitos se observan con hemosiderina.

La figura 7.8 muestra los especímenes observados a los 15 días, de los cuales el 100% presentaba edema, congestión vascular, infiltrado agudo (leucocitos polimorfonucleares) o infiltrado crónico observándose congestión de vasos pequeños y hemociderina y en un espécimen disociación celular.

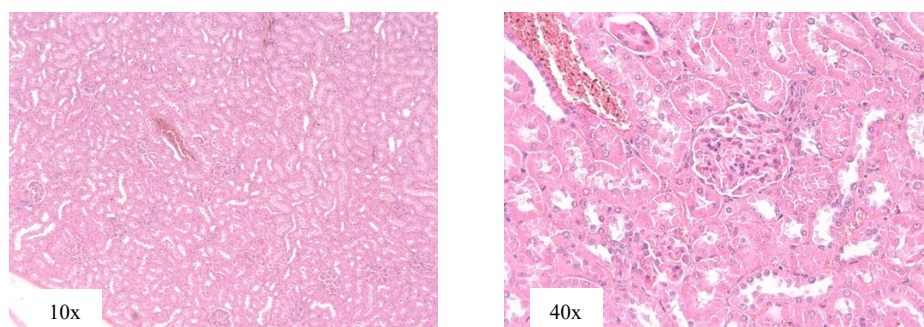


Figura 7.8 Cambios histopatológicos en riñón del espécimen tratado con formocresol a los 15 días. Los cortes muestran congestión de vasos, hemosiderina e infiltrado agudo/crónico.

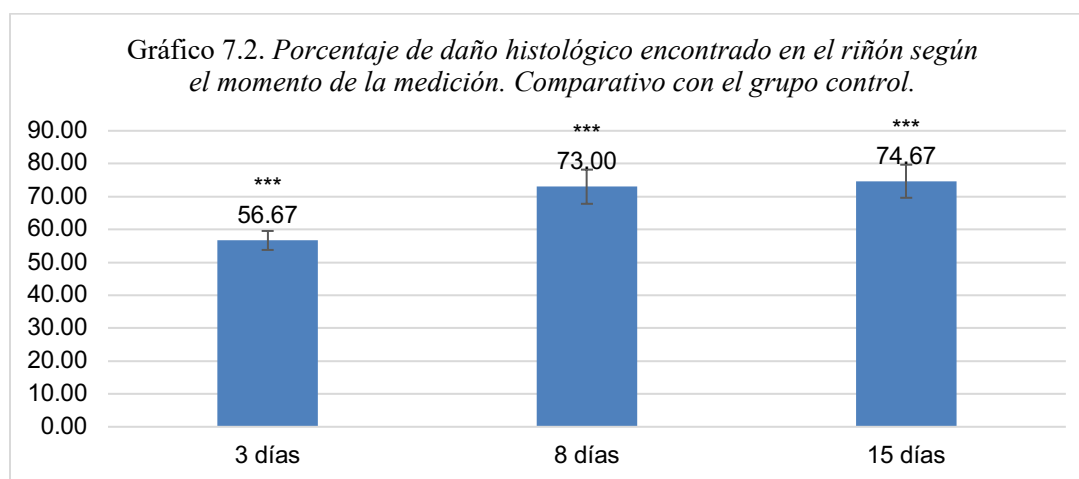
La tabla y gráfico 7.2 muestran los porcentajes de daño histológico observados en el riñón en distintos momentos de evaluación, en comparación con el grupo control. Los datos fueron analizados mediante la prueba t , obteniendo un alto índice de confiabilidad. Los resultados muestran la respuesta inflamatoria en los tejidos renales tras la aplicación de formocresol en diferentes periodos de tiempo, evidenciando un aumento progresivo en la infiltración de

linfocitos y neutrófilos, alcanzando su punto máximo a los 15 días. Estos hallazgos sugieren que el formocresol induce una inflamación aguda inicial, que posteriormente evoluciona hacia alteraciones degenerativas en los vasos sanguíneos y en los eritrocitos.

Tabla 7.2

Porcentaje de daño histológico encontrado en el riñón según el momento de la medición. Comparativo con el grupo control.

Días	Media	DE	IC 95%		Prueba t	Valor p
3	56.67	2.887	49.50	63.84	33.99	< 0.0001
8	73.00	5.196	60.09	85.91	24.32	< 0.0001
15	74.67	5.033	62.16	87.17	25.69	< 0.0001



8. DISCUSIÓN

La aplicación de formocresol en pulpotomías ha sido objeto de debate debido a su potencial toxicidad sistémica. Estudios han demostrado que el formaldehído, componente principal del formocresol, puede distribuirse sistémicamente y acumularse en órganos como el hígado y los riñones. Por ejemplo, Cortés y cols. (2010) observaron que altas dosis de formaldehído intravenoso en ratas no causaron lesiones hepáticas agudas, pero sí cambios bioquímicos y estructurales en el hígado. Estos hallazgos sugieren que, aunque el formocresol puede no

causar daño hepático inmediato, su acumulación podría tener efectos a largo plazo que requieren más investigación (Cortpes *et al.*, 2007). Nuestro estudio sugiere cambios histológicos hepáticos y renales que aumentan con el tiempo.

La elección de ratas Sprague-Dawley es común en estudios toxicológicos debido a su sensibilidad y respuesta predecible. La aplicación de formocresol en pulpotomías ha mostrado que el formaldehído puede ser absorbido y distribuirse sistémicamente (Gisour *et al.*, 2024). Myers y cols. encontraron que la administración sistémica de formocresol en perros provocó cambios histológicos en el hígado y los riñones, indicando una posible toxicidad sistémica (Myers *et al.*, 1983). La evaluación en diferentes intervalos permite observar la progresión de posibles lesiones. Estudios han demostrado que los efectos del formocresol pueden variar con el tiempo. Por ejemplo, Boj y cols. observaron que la toxicidad renal inducida por formaldehído en ratas era más evidente en etapas tempranas. Esto resalta la importancia de analizar múltiples puntos temporales para comprender completamente los efectos del formocresol (Boj *et al.*, 2007). En este estudio observamos que el formocresol induce una inflamación aguda inicial, que posteriormente evoluciona hacia alteraciones degenerativas en los vasos sanguíneos y en los eritrocitos del hígado y riñón.

La preparación adecuada de cortes histológicos es crucial para una evaluación precisa. La tinción con hematoxilina y eosina (HyE) permite identificar cambios celulares y estructurales. Ranly y Horn utilizaron esta técnica para evaluar la toxicidad sistémica del formocresol, observando alteraciones en tejidos hepáticos y renales (Kahl *et al.*, 2008). La observación microscópica permite detectar cambios como necrosis, inflamación y edema. Myers y cols. reportaron edema en los glomérulos renales y alteraciones en los sinusoides hepáticos tras la exposición al formocresol. Estos hallazgos son consistentes con los efectos tóxicos observados en nuestro estudio y en estudios similares (Issrani *et al.*, 2023).

Comparar los tejidos tratados con los controles permite identificar cambios atribuibles al formocresol. Estudios han mostrado que el formocresol puede inducir cambios histológicos significativos en órganos distantes del sitio de aplicación. Por ejemplo, Cortés y cols. encontraron alteraciones en el hígado de ratas tras la administración de formaldehído. (Lorente *et al.*, 2016). El análisis morfométrico cuantifica los cambios histológicos, proporcionando datos objetivos para la comparación. Ranly y Horn en 1987 utilizaron este

enfoque para evaluar la toxicidad del formocresol, encontrando diferencias significativas en los tejidos analizados. La aplicación de análisis estadísticos robustos fortalece la validez de los hallazgos (Aarthi *et al.*, 2019). En nuestro estudio pudimos observar que al realizar tratamiento dental con formocresol a los especímenes, fueron evidentes cambios histológicos significativos en órganos distantes del sitio de aplicación como el hígado y riñón. Los estudios recientes respaldan la preocupación sobre la toxicidad sistémica del formocresol, especialmente en órganos como el hígado y riñón. Aunque su uso en pulpotomías ha sido efectivo, los riesgos asociados han llevado a considerar alternativas más seguras. Es esencial continuar investigando para garantizar tratamientos dentales seguros y efectivos.

9. CONCLUSIONES

El presente estudio logró cumplir con todos los objetivos propuestos, evaluando de forma integral la respuesta histológica del hígado y riñón en un modelo animal murino (ratas Sprague-Dawley) sometido a tratamiento dental pulpar con formocresol, en comparación con un grupo control sin intervención. Los hallazgos obtenidos permiten confirmar que el uso de formocresol en terapias pulpares puede generar daño histológico en órganos distantes como el hígado y el riñón. Durante el análisis microscópico, se evidenció una serie de alteraciones morfológicas progresivas que fueron más notorias en los especímenes tratados, en comparación con el grupo control. A las 72 horas se observaron signos tempranos de congestión vascular y edema en ambos órganos, particularmente en las regiones centrolobulillares del hígado y en la zona cortical del riñón. Estas lesiones se intensificaron a los 8 y 15 días, donde además se identificó infiltrado inflamatorio, dilatación sinusoidal hepática, y en algunos casos, desorganización tisular moderada en las nefronas. Estas manifestaciones indican una evolución del daño compatible con una respuesta tóxica sistémica secundaria a la aplicación local de formocresol. La técnica histológica empleada permitió visualizar con precisión estas alteraciones, gracias a la tinción con hematoxilina-eosina y el análisis bajo aumentos de 4x, 10x y 40x. La captura sistemática de imágenes contribuyó al análisis morfométrico comparativo, el cual mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo experimental y el grupo control, reforzando la validez de los resultados.

Este estudio respalda lo reportado en literatura reciente, donde se ha cuestionado la inocuidad del formocresol debido a su capacidad de difusión sistémica, acumulación en tejidos y potencial citotoxicidad. Aunque su efectividad clínica como agente pulpar es reconocida, los resultados aquí obtenidos confirman que su uso no está exento de riesgos, especialmente cuando se considera la posibilidad de afectar órganos vitales fuera del sitio de aplicación. Por lo tanto, se concluye que la utilización del formocresol en tratamientos de pulpotomía, si bien eficaz en su acción local, conlleva un riesgo potencial de toxicidad sistémica que puede traducirse en daño histológico hepático y renal. Estos hallazgos enfatizan la necesidad de reevaluar el uso de este compuesto en la práctica odontológica, especialmente en pacientes pediátricos, y motivan la búsqueda de alternativas biocompatibles con menor impacto sistémico.

10. REFERENCIAS

1. Aarthi, J. (2019). Formocresol: Mitos y realidades. *Revista India de Investigación y Desarrollo en Salud Pública*, 10(12), 70–74.
2. Abranches, J., Zeng, L., Kajfasz, J. K., Palmer, S. R., Chakraborty, B., Wen, Z. T., Richards, V. P., Brady, L. J., Lemos, J. A. (2018). Biology of oral streptococci. *Microbiology Spectrum*, 6(5), GPP3-0042-2018. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0042-2018>
3. Al-Saeed, M. H., Balto, K., Mohamed, R. N., et al. (2018). Histologic evaluation of the effects of different concentration of glutaraldehyde on the pulp of primary teeth: An in-vivo study. *Saudi Dental Journal*, 30(4), 370–376. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2018.01.004>
4. Andersen, M. L., Winter, L. M. (2017). Animal models in biological and biomedical research—Experimental and ethical concerns. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 91(1), 1–14. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201720160630>
5. Andreasen, J. O., Munksgaard, E. C., Bakland, L. K. (2006). Comparación de la resistencia a la fractura en conductos radiculares de dientes de oveja inmaduros después de obturar con hidróxido de calcio o MTA. *Traumatología Dental*, 22(3), 154–156.

6. Bakhtiar, H., Nekoofar, M. H., Aminishakib, P., Abedi, F., Moosavi, F. N., Esnaashari, E., About, I. (2017). Human pulp responses to partial pulpotomy treatment with TheraCal LC, Biodentine, and ProRoot MTA. *Journal of Endodontics*, 43(11), 1786–1791. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2017.06.013>
7. Bancroft, J. D., Gamble, M. (2007). *Theory and practice of histological techniques* (6th ed.). Churchill Livingstone.
8. Bono, R., Munnia, A., Romanazzi, V., Bellisario, V., Cellai, F., Peluso, M. E. M. (2016). Formaldehyde-induced toxicity in the nasal epithelia of workers of a plastic laminate plant. *Toxicology Research*, 5(3), 752–760. <https://doi.org/10.1039/C6TX00017F>
9. Borkar, S. A., Ataide, I. (2015). Biodentine pulpotomy several days after pulp exposure: Four case reports. *Journal of Conservative Dentistry*, 18(1), 73–76. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.148915>
10. Bradbury, S., Bracegirdle, B. (2002). *Introduction to light microscopy: Tips and tricks for beginners*. Scion Publishing.
11. Bressani, A. E., Hauben, E., Siqueira, W. L. (2017). Collagen-based biomaterials and their use in clinical practice. *Dental Materials*, 33(4), e129–e143. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2017.01.005>
12. Cárdenas-Bahena, Á., Sánchez-García, S., Tinajero-Morales, C., González-Rodríguez, V. M., Baires-Vázquez, L. (2012). Hipoclorito de sodio en irrigación de conductos radiculares: Sondeo de opinión y concentración en productos comerciales. *Revista Odontológica Mexicana*, 16(4), 252–258.
13. Cardoso, M. L., Aguirre, M. V., Quintero de Lucas, G. V., Brandan, C. N. (2008). Toxicidad in vitro del formocresol y sulfato férrico sobre macrófagos murinos. *Odontología Pediátrica*, 17(3), 153–162.
14. Carson, F. L. (2009). *Histotechnology: A self-instructional text* (3rd ed.). ASCP Press.
15. Chaple Gil, A. M., Herrero Herrera, L. (2007). Generalidades del agregado de trióxido mineral (MTA) y su aplicación en odontología: Revisión de la literatura. *Acta Odontológica Venezolana*, 45(3), 467–472.

16. Cortes, O., Beltri, P., Miegimolle, M., Ortego, G., Barrachina, M., Hernández, M. (2010). Tratamientos pulpares en dentición temporal. *Odontología Pediátrica*, 18(2), 153–158.
17. Cortés, O., Fernández, J., Boj, J. R., Canalda, C. (2007). Effect of formaldehyde on rat liver in doses used in pulpotomies. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 31(3), 179–182.
18. Cremer, C., Cremer, T. (2001). Considerations on a laser-scanning microscope with high resolution and depth of field. *Microscopy Research and Technique*, 55(5), 378–386. <https://doi.org/10.1002/jemt.1175>
19. Dapson, R. W., Horobin, R. W. (2013). *Understanding histology: Textbook and color atlas*. Elsevier Health Sciences.
20. Davidson, M. K., Lindsey, J. R., Davis, J. K. (1987). Requirements and selection of an animal model. *Israel Journal of Medical Sciences*, 23(6), 551–555.
21. De Aluja, A. S. (2002). Animales de laboratorio y la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999). *Gaceta Médica de México*, 138(3), 295–298.
22. Eidelman, E., Holan, G., Fuks, A. B. (2001). Mineral trioxide aggregate vs. formocresol in pulpotomized primary molars: A preliminary report. *Pediatric Dentistry*, 23(1), 15–18.
23. El-Meligy, O. A., Avery, D. R., Dreyer, C. J. (2018). The regenerative potential of resorbable collagen membrane in the management of deep carious lesions in primary teeth. *Pediatric Dentistry*, 40(2), 96–101.
24. Estrela, C., Bammann, L. L., Estrela, C. R. D. A., Silva, R. S. D., Pécora, J. D. (2000). Estudio antimicrobiano y químico de MTA, cemento Portland, pasta de hidróxido de calcio, Sealapex y Dycal. *Journal of Applied Oral Science*, 8(1), 1–6.
25. Falconi, E., García, M. L., Marín, R. O., Padrón, L. R. M., Rivas, A. M. G., Vargas, S. G. (2010). *Manual para el manejo de animales con fines de experimentación y enseñanza*. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
26. Festing, S., Wilkinson, R. (2011). The ethics of animal research: Talking point on the use of animals in scientific research. *EMBO Reports*, 12(11), 1057–1060. <https://doi.org/10.1038/embor.2011.184>

27. Folayan, M., Olatubosun, S. (2018). Early childhood caries: A diagnostic enigma. *European Journal of Paediatric Dentistry*, 19(2), 88–92.
28. Fortis Rivas, K. D. (2015). *Tratamientos pulpares en pacientes odontopediátricos atendidos en las clínicas de Odontopediatría II de la Universidad San Gregorio de Portoviejo* [Tesis de licenciatura, Universidad San Gregorio de Portoviejo].
29. Gabe, M. (1992). *Techniques histologiques*. Dunod.
30. Gao, L., Xu, T., Huang, G., Jiang, S., Gu, Y., Chen, F. (2018). Oral microbiomes: More and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*, 9(5), 488–500. <https://doi.org/10.1007/s13238-018-0537-x>
31. Gisour, E. F., Jahanimoghadam, F., Karimipour, P. (2024). Clinical and radiographic comparison of primary molar pulpotomy using formocresol, portland cement, and NeoMTA Plus: A randomized controlled clinical trial. *Scientific Reports*, 14(1), 29690. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-00000-0>
32. González, A. H., González, L. B. (2018). Pulpotomía en dientes temporales: Estudio comparativo de dos materiales. *Revista Psychologia Latina*, 9(1), 101–112.
33. Günbay, T., Küçükkaya Eren, S., Ertürk, M. S. (2016). Comparison of electrosurgery and diode laser in pulpotomy in primary molars: A randomized clinical study. *Lasers in Medical Science*, 31(7), 1313–1319. <https://doi.org/10.1007/s10103-016-1982-1>
34. Haikal, L., Dos Santos, B. F., Vu, D. D., Braniste, M., Dabbagh, B. (2020). Pulpotomías con Biodentine en dientes permanentes traumatizados con fracturas coronarias complicadas. *Revista de Endodoncia*, 46(9), 1204–1209.
35. Higgins, M. J., Peña, D. A. (2014). *Transmission electron microscopy of minerals and rocks*. Cambridge University Press.
36. Hohmann-Marriott, M. F., Blankenship, R. E. (2011). Evolution of photosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 62, 515–548. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042110-103811>
37. Igna, A. (2021). Vital pulp therapy in primary dentition: Pulpotomy—A 100-year challenge. *Children (Basel)*, 8(10), 841. <https://doi.org/10.3390/children8100841>
38. Issrani, R., Prabhu, N., Bader, A. K., Alfayyadh, A. Y., Alruwaili, K. K., Alanazi, S. H., Alam, M. K. (2023). Explorando las propiedades del formocresol en odontología: Una revisión exhaustiva. *Revista de Odontología Clínica Pediátrica*, 47(3), 179–182.

39. Jafari, M. J., Rahimi, A., Omid, L., Behzadi, M. H., Rajabi, M. H. (2016). Occupational exposure and health impairments of formaldehyde on employees of a wood industry. *Health Promotion Perspectives*, 5(4), 296–303. <https://doi.org/10.15171/hpp.2016.48>
40. Juiña Iza, D. C. (2020). *Frecuencia de tratamientos de pulpotomía y pulpectomía realizados en pacientes atendidos en las Clínicas de Odontopediatría de la UCE en el periodo 2013–2018*.
41. Kahl, J., Easton, J., Johnson, G., Zuk, J., Wilson, S., Galinkin, J. (2008). Formocresol blood levels in children receiving dental treatment under general anesthesia. *Pediatric Dentistry*, 30(5), 393–399.
42. Kang, D. S., Kim, H. S., Jung, J. H., Lee, C. M., Ahn, Y. S., Seo, Y. R. (2021). Formaldehyde exposure and leukemia risk: A comprehensive review and network-based toxicogenomic approach. *Genes and Environment*, 43(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s41021-021-00186-9>
43. Kang, D. S., Lee, N., Shin, D. Y., Jang, Y. J., Lee, S. H., Lim, K. M., Ahn, Y. S., Lee, C. M., Seo, Y. R. (2022). Network-based integrated analysis for toxic effects of high-concentration formaldehyde inhalation exposure through the toxicogenomic approach. *Scientific Reports*, 12(1), 5645. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-09521-7>
44. Kazemina, M., Abdi, A., Shohaimi, S., Jalali, R., Vaisi-Raygani, A., Salari, N., Mohammadi, M. (2020). Dental caries in primary and permanent teeth in children worldwide, 1995 to 2019: A systematic review and meta-analysis. *Head and Face Medicine*, 16(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s13005-020-00237-3>
45. Kiernan, J. A. (2008). *Histological and histochemical methods: Theory and practice* (4th ed.). Scion Publishing.
46. Knight, A. (2007). Systematic reviews of animal experiments demonstrate poor human clinical and toxicological utility. *Alternatives to Laboratory Animals*, 35(6), 641–659. <https://doi.org/10.1177/026119290703500611>
47. Kucukyilmaz, E., Savas, S., Darendeliler-Yaman, S. (2019). Effect of collagen membrane on clinical and radiographic success of pulpotomy treatment in primary

- molars: A randomized clinical trial. *Journal of Dentistry for Children (Chicago, Ill.)*, 86(2), 56–62.
48. Kwon, S. C., Kim, I., Song, J., Park, J. (2018). Does formaldehyde have a causal association with nasopharyngeal cancer and leukemia? *Annals of Occupational and Environmental Medicine*, 30, 5. <https://doi.org/10.1186/s40557-018-0216-6>
 49. Leal, M. P., Brochetti, R. A., Ignácio, A., Câmara, N. O. S., da Palma, R. K., de Oliveira, L. V. F., da Silva, D. F. T., Lino-Dos-Santos-Franco, A. (2018). Effects of formaldehyde exposure on the development of pulmonary fibrosis induced by bleomycin in mice. *Toxicology Reports*, 5, 512–520. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2018.04.002>
 50. Lee, D. S. D. J., Bogen, G. (2001). Multifaceted use of ProRoot™ MTA root canal repair material. *Pediatric Dentistry*, 23(4), 326–330.
 51. Lewis, B. (2009). The obsolescence of formocresol. *British Dental Journal*, 207(11), 525–528. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2009.1123>
 52. Li, L., Hua, L., He, Y., Bao, Y. (2017). Differential effects of formaldehyde exposure on airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness in BALB/c and C57BL/6 mice. *PLoS ONE*, 12(6), e0179231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179231>
 53. Lorente, A. A., Lillo, O. C., Sánchez, M. Á. G., Jordana, M. C. (2016). Respuesta pulpar al hueso liofilizado en dientes de rata. *Revista de Investigación Clínica*, 10(1), 45–50.
 54. Luby-Phelps, K. (2000). Cytoarchitecture and physical properties of cytoplasm: Volume, viscosity, diffusion, intracellular surface area. *International Review of Cytology*, 192, 189–221. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)60527-6](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)60527-6)
 55. Luna, L. G. (1992). *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology* (3rd ed.). McGraw-Hill.
 56. Marín Botero, M. L., Gómez Gómez, B., Cano Orozco, A. D., Cruz López, S., Castañeda Peláez, D. A., Castillo Castillo, E. Y. (2019). Hipoclorito de sodio como irrigante de conductos. Caso clínico y revisión de literatura. *Avances en Odontoestomatología*, 35(1), 33–43. <https://doi.org/10.4321/S0213-12852019000100005>

57. Matencio Garcés, A., Sáez Martínez, S., Guinot Jimeno, F., Cuadros Fernández, C., Bellet Dalmau, L. J. (2010). Alternativas al formocresol a lo largo de la historia: Revisión de la literatura. *Dentum*, 102–112.
58. Méndez, Y., Caridad, M. D. C. (2015). Propiedad antimicrobiana del hidróxido de calcio. *ODOUS Científica*, 9(1), 40–44.
59. Meyer, F., Enax, J. (2018). Early childhood caries: Epidemiology, aetiology, and prevention. *International Journal of Dentistry*, 2018, 1415873. <https://doi.org/10.1155/2018/1415873>
60. Molina-Frechero, N., Durán-Merino, D., Castañeda-Castañeda, E., Juárez-López, M. L. (2015). Dental caries experience and its relation to oral hygiene in Mexican children. *Revista Odontoestomatología*, 151(4), 485–490.
61. Morales de Armas, M., Cabañas Lores, C., Cardoso, R. (1998). Uso de formocresol diluido en dientes temporales. *Revista Cubana de Estomatología*, 35(1), 5–10.
62. Murphy, D. B., Davidson, M. W. (2012). *Fundamentals of light microscopy and electronic imaging* (2nd ed.). Wiley.
63. Myers, D. R., Pashley, D. H., Whitford, G. M., McKinney, R. V. (1983). Cambios tisulares inducidos por la absorción de formocresol en sitios de pulpotomía en perros. *Pediatric Dentistry*, 5(1), 6–8.
64. Myers, D. R., Pashley, D. H., Whitford, G. M., Sobel, R. E., McKinney, R. V. (1981). Toxicidad aguda de altas dosis de formocresol administrado sistémicamente en perros. *Odontología Pediátrica*, 3(1), 37–41.
65. Paschos, E., Riggs, S., Huth, K. C. (2021). Evaluation of collagen sponge and mineral trioxide aggregate as pulpotomy agents in primary teeth: A systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Dental Association*, 152(3), 210–217. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2020.12.012>
66. Patil, S., Dodamani, A., Sarda, K. (2020). Clinical and radiographic evaluation of collagen membrane as a pulpotomy dressing material in primary teeth: A randomized controlled trial. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 13(2), 134–139. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1735>
67. Pawley, J. B. (Ed.). (2006). *Handbook of biological confocal microscopy* (3rd ed.). Springer.

68. Pearse, A. G. E. (1985). *Histochemistry: Theoretical and applied* (Vol. 1, 4th ed.). Churchill Livingstone.
69. Porras, G. A. G., Ramírez, M. A. M., Velázquez, M. D. L., Leyva, D. C., Hernández, H. I., Castillo, J. A. Q. (2013). Estudio clínico y radiográfico de EMDOGAIN y sulfato férrico en pulpotomías de dientes primarios de perros. *Oral*, 14(44), 953–955.
70. Pound, P., Bracken, M. B., Iskander, J. K., Ioannidis, J. P. A. (2017). Uncertainty in the approval of animal drugs. *PLOS Biology*, 15(7), e2001818. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2001818>
71. Prabhakar, A. R., Yavagal, C. M., Keluskar, V. (2010). Comparison of mineral trioxide aggregate and glutaraldehyde for pulpotomy in primary molars: An in vivo study. *Journal of Oral Science*, 52(3), 455–461. <https://doi.org/10.2334/josnusd.52.455>
72. Puchtler, H., Meloan, S. N., Waldrop, F. S. (1986). Application of current chemical concepts to metal-hematein and -hematoxylin stains. *The Histochemical Journal*, 18(9), 457–476. <https://doi.org/10.1007/BF01675890>
73. Rajput, A., Srivastava, A., Saha, S. G. (2019). Comparison of clinical and radiographic success rates of three different pulpotomy agents in primary molars: A 2-year randomized controlled trial. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 37(1), 43–49. https://doi.org/10.4103/JISPPD.JISPPD_107_18
74. Ranly, D. M., Horn, D., Hubbard, G. B. (1989). Evaluación de la distribución sistémica y la toxicidad del glutaraldehído como agente para pulpotomía. *Odontología Pediátrica*, 11(1), 8–13.
75. Reimer, L. (1997). *Transmission electron microscopy: Physics of image formation and microanalysis*. Springer.
76. Rennie, J. (2018). The ethics of animal research. *EMBO Reports*, 19(5), e45753. <https://doi.org/10.15252/embr.201845753>
77. Rizk, H. M., Selim, M. M., El-Housseiny, A. A. (2020). Pulpotomy of primary molars using glutaraldehyde versus ferric sulfate: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 44(1), 1–10. <https://doi.org/10.17796/1053-4628-44.1.1>

78. Robinson, N. B., Krieger, K., Khan, F. M., Huffman, W., Chang, M., Naik, A., Yongle, R., Hameed, I., Girardi, L. N., Gaudino, M. (2019). The current state of animal models in research: A review. *International Journal of Surgery*, 72, 9–13. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2019.10.015>
79. Rodríguez Gutiérrez, G., Álvarez Llanes, M., García Boss, J., Arias Herrera, S. R., Más Sarabia, M. (2005). El hidróxido de calcio: Su uso clínico en la endodoncia actual. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 9(3), 143–152.
80. Russell, W. M. S., Burch, R. L. (1959). *The principles of humane experimental technique*. Methuen (UFAW reprint edition).
81. Sánchez Ortega, J. (2006). *Pulpotomías al formocresol y por electrofulguración en molares primarios: Evaluación clínica y radiológica a doce meses en la facultad de odontología Mexicali*.
82. Sánchez Ruiz, F. H., Furuya Meguro, A. T., Arroniz Padilla, S., Gómez Moreno, A., Gómez, L. (2009). Comparación de la acción bactericida de hipoclorito de sodio y Microcyn 60. *Revista Odontológica Mexicana*, 13(1), 28–32.
83. Sant'Anna, A. T., Spolidório, L. C., Ramalho, L. T. (2008). Histological analysis of the association between formocresol and endotoxin in the subcutaneous tissue of mice. *Brazilian Dental Journal*, 19(1), 40–45. <https://doi.org/10.1590/S0103-64402008000100007>
84. Seok, J., Warren, H. S., Cuenca, A. G., Mindrinos, M. N., Baker, H. V., Xu, W., Remick, D. G. (2013). Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(9), 3507–3512. <https://doi.org/10.1073/pnas.1222878110>
85. Silva Parvina, M. (2016). *Uso del sulfato férrico en pulpotomía de dientes primarios en paciente con tratamiento odontológico integral*.
86. Silva, E. J. N. L., Rosa, T. P., Herrera, D. R. (2018). Collagen matrix as a pulp dressing for regenerative endodontics: A systematic review and meta-analysis. *International Endodontic Journal*, 51(5), 547–565. <https://doi.org/10.1111/iej.12890>
87. Smaïl-Faugeron, V., Glenney, A. M., Courson, F., Durieux, P., Muller-Bolla, M., Fron-Chabouis, H. (2018). Pulp treatment for extensive decay in primary teeth.

- Cochrane Database of Systematic Reviews*, 5, CD003220.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD003220.pub2>
88. Soni, H. (2016). Pulpotomía con Biodentine en molar permanente maduro: Reporte de un caso. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(7), ZD09–ZD10.
<https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/20053.8233>
 89. Splieth, C. H., Banerjee, A., Bottenberg, P., Breschi, L., Campus, G., Ekstrand, K. R., Giacaman, R. A., Haak, R., Hannig, M., Hickel, R., Juric, H., Lussi, A., Machiulskiene, V., Manton, D. J., Jablonski-Momeni, A., Opdam, N. J. M., Paris, S., Santamaría, R. M., Schwendicke, F., Doméjean, S. (2020). How to intervene in the caries process in children: A joint ORCA and EFCD expert Delphi consensus statement. *Caries Research*, 54(4), 297–305. <https://doi.org/10.1159/000507692>
 90. Stringhini Junior, E., Dos Santos, M. G. C., Oliveira, L. B., Mercadé, M. (2019). MTA y Biodentine para pulpotomía de dientes primarios: Una revisión sistemática y metanálisis de ensayos clínicos. *Investigaciones Orales Clínicas*, 23, 1967–1976.
<https://doi.org/10.1590/1678-7757-2018-0634>
 91. Subramanyam, D., Somasundaram, S. (2020). Clinical and radiographic evaluation of Aloe vera vs Formocresol as a pulpotomy medicament in primary molars: A double-blinded randomized controlled trial. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 13(2), 138–143. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1736>
 92. Suvarna, S. K., Layton, C., Bancroft, J. D. (2018). *Bancroft's theory and practice of histological techniques* (8th ed.). Elsevier Health Sciences.
 93. Taha, N. A., Abdulkhader, S. Z. (2018). Full pulpotomy using Biodentine in symptomatic young permanent teeth with carious exposure. *Journal of Endodontics*, 44(6), 932–937. <https://doi.org/10.1016/j.joen.2018.02.016>
 94. Tungare, S., Paranjpe, A. G. (2022). Early childhood caries. *StatPearls*. PMID: 30570970. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538523/>
 95. Walsh, L. J. (2011). Laser therapy in paediatric dentistry. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 12(2), 68–75. <https://doi.org/10.1007/BF03262869>
 96. Weiss, D. G., Götz, W. (1997). Principles of confocal microscopy. *Methods in Cell Biology*, 53, 107–152. [https://doi.org/10.1016/S0091-679X\(08\)60214-5](https://doi.org/10.1016/S0091-679X(08)60214-5)

97. Yagci, A., Uysal, İ., Uysal, Ö., Akkurt, M. (2013). A treatment alternative for the radicular pulp of primary teeth. *European Journal of Dentistry*, 7(1), 90–95. <https://doi.org/10.4103/1305-7456.119074>
98. Yaman, S. D., Saritas, S., Elbay, U. (2020). Clinical and radiographic evaluation of collagen and calcium hydroxide-based pulpotomy procedures in primary teeth. *European Journal of Paediatric Dentistry*, 21(2), 157–163. <https://doi.org/10.23804/ejpd.2020.21.02.13>
99. Yepes, F. L., Velez, F. H. (1995). El hidróxido de calcio en la odontología actual. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*, 7(1), 23–32.
100. Yousef, H. (2015). Pulpotomy medicaments used in deciduous dentition: An update. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 16(6), 486–503. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1709>
101. Zaror Sánchez, C., Vergara González, C., Díaz Melendez, J., Aracena Rojas, D. (2011). Pulpotomías con sulfato férrico y MTA en dientes primarios: Serie de casos. *International Journal of Odontostomatology*, 5(1), 77–82.

RESUMEN BIOGRÁFICO

Alejandra Villarreal Salinas

Candidata para el Grado de

Maestra en Ciencias Odontológicas en el Área de Odontopediatría

Tesis: EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE TEJIDO DE HÍGADO Y RIÑÓN EN
MODEL ANIMAL MURINO CON TRATAMIENTO PULPAR CON TÉCNICA DE
FORMOCRESOL EN COMPARACIÓN CON UN GRUPO CONTROL

Campo de Estudio: Ciencias de la Salud

Datos Personales: Nacida en Sabinas Coahuila de Zaragoza el 23 de Octubre de 1996, hija
de Fernando Villarreal Siller y Rosy Salinas de la Garza

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Cirujana
Dentista 2021.

Anexo 1 Comité de Bioética: Comisión de Revisión Bioética



SPSI – 010613
Folín: 00287

Comisión de Revisión Bioética

Para: Dra. Myriam Angélica De La garza Ramos
Fecha de recepción: Noviembre 2023
Título: Evaluación histológica de tejido de hígado y riñón en modelo animal murino con tratamiento pulpar con técnica de formocresol en comparación con un grupo control

Para: Alejandra Villarreal Salinas

El presente es referencia para protocolo de investigación mencionado en la parte superior. En la deliberación de este comité, los procedimientos en dicha aplicación conformada por las reglas y el reglamento del DHHS y de la FDA en relación con los temas de uso humano. La aprobación se otorga durante un año.

Como condición para aprobar la investigación, el responsable de la investigación debe de haber leído, establecido y firmado el escrito adjunto de nuestro Documento Federal de Seguridad.

Además, el responsable de la investigación acuerda lo siguiente:

1. A dar información mediante un reporte de revisión periódica, necesaria para la revisión de este protocolo por parte del comité, en intervalos apropiados para evitar el riesgo y asegurar que el protocolo está siendo guiado con las recomendaciones y la supervisión del comité, pero dichos intervalos no deben tener más de un año desde su inicio.
2. Proveer al comité la forma del reporte periódico de revisión, así como el reporte final cuando concluya su proyecto.
3. El uso como documento de consentimiento informado para este estudio, el reporte final aprobado por el comité IRB impreso definiendo su periodo de aprobación.
4. Reportar cualquier evento adverso relacionado con el estudio y que pudiera afectar la salud mental y física del paciente.
5. Este estudio está sujeto a registro durante este periodo de tiempo.

Los registros relacionados con las acciones del comité referentes a este protocolo están en el archivo en la oficina de División de Estudios de Posgrado y de Investigación de esta Facultad.

Fecha de aprobación: Noviembre del 2023
Periodo aprobado: Noviembre del 2024
Responsable de la Investigación: Dra. Sonia Martha López Villarreal

Comité Institucional Investigador



SPSI – 010613

Folio: 00287


Dra. Jaime Adrián Mendoza Tijerina


Dra. Margarita Reyna Maldonado


Dra. Myriam Angelica de la Garza Ramos

La siguiente información describe las responsabilidades tomadas del Documento de archivo de Múltiple Seguridad, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Odontología, junto con la Ley Federal de Salud en Materia de Investigación para la Salud (SS, 1987) ANEXO I.

La aprobación del protocolo está sujeta a estas reglas:

- a) Los investigadores declaran y aceptan su responsabilidad para la protección de los derechos y el bienestar del humano así como garantizar su integridad.
- b) Los investigadores que intenten involucrar investigaciones con humanos no estarán exentos de la aplicación de nuestras leyes federales y universitarias.
- c) Los investigadores son responsables de otorgar una copia de la aprobación del IRB firmada, y el documento de consentimiento de cada periodo de tiempo a menos que el IRB elimine este requerimiento. Todos los documentos de consentimiento firmados se guardados en la oficina administrativa de investigación.
- d) Los investigadores reportaran con rapidez los cambios propuestos en las actividades de investigación relacionados con humanos al IRB.
- e) Los investigadores son responsables para reportar el progreso de la investigación a la oficina administrativa de investigación, tan a menudo como se describe en las bases de riesgos del IRB, pero no menos de una vez al año.
- f) Ni el investigador, ni asociados interinstitucionales, no institucionales en acuerdos de investigación podrán buscar para su beneficio obtención de créditos, la utilización de la información de las intervenciones con el paciente que constituyan una violación a las garantías de su atención médica, sin la aprobación del IRB. Un médico deberá proveer seguridad ética/médica al paciente con la revisión y aprobación del IRB, exigido por la ley.



SPSI – 010613

Folio: 00287

- g) Los investigadores deberán notificar al IRB, a la oficina de Investigación Administrativa y a las instituciones oficiales el intento para la admisión de material humano que vayan a ser utilizados en los protocolos de investigación.

Capítulo 1, capítulo 13. Prevalecerá el criterio de respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar, por lo cual se solicitará a los pacientes su aprobación voluntaria.

Artículo 14. Fracción V. Se contará con el consentimiento informado y por escrito del sujeto de investigación, en este caso se solicitará el consentimiento informado del paciente previo a la aplicación de los instrumentos.

Fracción VI. Todos los estudios serán realizados por profesionales de la salud con conocimiento y experiencia para cuidar la integridad del ser humano, bajo la responsabilidad de una institución de atención a la salud.

Fracción VII y VIII. Se contará con el dictamen favorable de la Comisión de Investigación y Bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Nuevo León; la colecta de los datos se realizará solo cuando se cuente con dicha autorización.

Anexo 2: Certificado de los ratones emitido por el bioterio de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT)

CERTIFICADO DE SALUD
UPCEA /001/17

En cumplimiento de la NOM-062-ZOO-1999, por este conducto certifico que los animales amparados por el pedido N.º 1 de la Unidad de Producción, Cuidado y Experimentación Animal se encuentran sano, libre de enfermedades infecciosas y de ectoparásitos.

Estos animales fueron producidos y mantenidos en la UPCEA (Unidad de Producción y Cuidado y Experimentación Animal) - DACS (División Académica de Ciencias de la Salud) un sistema de barrera que brinda las condiciones técnicas y científicamente óptimas, para la crianza de animales de laboratorio libres de patógenos específicos (SPF).

El estado de salud de todos los animales y la autenticidad genética de la cepa endogámica Wistar en la UPCEA son provenientes del (Centro UNAM-Harlan), se evalúan periódicamente y los resultados se publican trimestralmente en www.Harlan.com. Se extiende al presente certificado, el cual se expide en la Ciudad de Villahermosa, Tabasco.

Total de animales: 30 ♀

Anexo 3: Certificado zoosanitario de los ratones emitido por SAGARPA (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural)

SAGARPA
Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural

SENASICA
Servicio Nacional de Sanidad, Inmunización y Apoyo a las Estrategias de Producción

DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD ANIMAL
División de Campañas Zoosanitarias
"2017, Año del Centenario de la Investigación de los Contagios Polares de los Estados Unidos Mexicanos"

N.º de Oficio B00.02.02.824

Ciudad de México,

JEFE DE LA UNIDAD DE PRODUCCIÓN, CUIDADO Y EXPERIMENTACIÓN ANIMAL, UPCEA-DACS PRESENTE:

Hago referencia a su solicitud del 4 de mayo del presente año, mediante la cual solicita la expedición del *Certificado Zoosanitario de Movilización (CZM)* para el envío aéreo de 130 ratas hembras Sprague Dawley recién destetadas criadas en un sistema de barreras libres de patógenos específicos, los cuales se movilizarán de la ciudad de Villahermosa, Tabasco a la ciudad de Monterrey, Nuevo León bajo el siguiente calendario de envío:

- Un envío en el mes de mayo
- Un envío en el mes de agosto
- Un envío en el mes de noviembre

Sobre el particular, hago de su conocimiento que las especies de fauna doméstica antes descritos, no requieren tramitar *Certificado Zoosanitario de Movilización*.

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

SENASICA
DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD ANIMAL

ATENTAMENTE
LA DIRECTORA DE
CAMPAÑAS ZOOSANITARIAS

DIRECCIÓN DE CAMPAÑAS ZOOSANITARIAS

C.C.P. LIC. ARANDO CESAR LÓPEZ AMADOR, DIRECTOR GENERAL DE INSPECCIÓN ZOOSANITARIA - Para conocimiento
INV. JOAQUÍN BRAVO DELGADO LO ALVAREZ, DIRECTOR GENERAL DE SALUD ANIMAL - Para conocimiento
INV. GIORI ROMERO SORA, DIRECTOR DE LA CPA - Para conocimiento

Boulevard Adolfo Ruiz Cortines s/n, P.O. Box 3
Col. Insurgentes Cuicuilco, Otepec, Ciudad de México, C.P. 04530.
Tel. +52 (55) 5905 10 00, 5905 1000 ext. 11079, ciudad.forestal@senasica.gob.mx